

Nature et signification des microparticules dans le sepsis*

The nature and significance of microparticles in sepsis

J. Boisramé-Helms · X. Delabranche · F. Toti · F. Meziani

Reçu le 11 septembre 2012 ; accepté le 16 octobre 2012
© SRLF et Springer-Verlag France 2012

Résumé Le choc septique est caractérisé par une intense activation cellulaire inflammatoire, à l'origine d'un remodelage de la membrane aboutissant à la libération de microparticules. Les microparticules constituent une réserve de bio-effecteurs qui modulent de nombreuses fonctions vasculaires. Au cours du choc septique, l'interaction hôte-pathogène peut être responsable de la génération de microparticules procoagulantes d'origine endothéliale, plaquettaire, érythrocytaire ou granulocytaire, susceptibles d'activer la réponse inflammatoire, l'apoptose cellulaire et la coagulation. Certaines microparticules pourraient promouvoir l'importante dysfonction vasculaire observée au cours du choc septique, participer à la modulation du statut oxydant ou encore, participer à la génération d'un état de coagulopathie disséminée. Ce travail constitue une mise au point sur les dernières connaissances accumulées sur les propriétés biologiques des microparticules pour tenter d'identifier leur implication dans le choc septique, comme marqueur biologique ou cible thérapeutique potentielle.

Mots clés Microparticules · Sepsis · Dysfonction endothéliale · Coagulation · Inflammation

J. Boisramé-Helms · X. Delabranche · F. Meziani (✉)
Service de réanimation médicale, nouvel hôpital civil,
hôpitaux universitaires de Strasbourg, 1, place de l'Hôpital,
F-67091 Strasbourg cedex, France
e-mail : ferhat.meziani@chru-strasbourg.fr

J. Boisramé-Helms · X. Delabranche · F. Toti · F. Meziani
UMR 7213 CNRS, Faculté de pharmacie,
Université de Strasbourg, Illkirch, France

F. Toti
Institut d'hématologie et d'immunologie,
Université de Strasbourg,
Faculté de médecine, Strasbourg, France

* Cet article correspond à la conférence faite par l'auteur au congrès de la SRLF 2013 dans la session : *Voies de recherche dans le sepsis*.

Abstract Septic shock is characterized by an increased inflammatory process and cell activation, inducing membrane remodeling and microparticles release. These microparticles represent a pool of bioactive effectors that modulate several vascular functions. During sepsis, host-pathogen interaction leads to the generation of endothelium-, platelet-, erythrocyte- and granulocyte-derived procoagulant microparticles, which could promote cellular inflammatory response, apoptosis and activate coagulation. Microparticles may also potentially participate in the arterial dysfunction characterizing septic shock, tune the oxidative status and induce procoagulant state. This review focuses on the latest knowledge accumulated on the biological properties of microparticles in order to identify their involvement in sepsis or septic shock, as a biological marker or potential therapeutic target.

Keywords Microparticles · Sepsis · Endothelial dysfunction · Coagulation · Inflammation

Introduction

Le choc septique est caractérisé par une intense dysfonction vasculaire, avec une vasoplégie réfractaire aux traitements vasopresseurs et associée à une défaillance multiviscérale [1], dont les mécanismes ne sont pas encore parfaitement élucidés. Ils associeraient des anomalies de la coagulation et de la perfusion à une atteinte cytotoxique directe par les agents infectieux, ou indirecte par les médiateurs de l'inflammation. Au cours du choc septique, l'intense activation cellulaire est à l'origine du bourgeonnement de la membrane plasmique qui est caractérisée par la libération de microparticules dans le milieu environnant.

Bientôt cinquantenaires dans leur description, les microparticules connaissent un intérêt croissant en recherche clinique, alors qu'elles ont longtemps été considérées comme des débris cellulaires dépourvus de fonction biologique propre, témoins d'une activation ou d'une destruction cellulaire [2]. Ces « entités membranaires » se comportent

comme de véritables effecteurs cellulaires capables de moduler de nombreuses réponses vasculaires et tissulaires [3]. En effet, elles véhiculent un signal biologique propre aux conditions de leur émission par la cellule parentale ; leurs caractéristiques membranaires leur confèrent des propriétés généralement procoagulantes, pro-inflammatoires et pro-apoptotiques, mais aussi pro-fibrinolytiques. Selon le contexte physiopathologique, les microparticules peuvent s'avérer bénéfiques ou délétères pour l'organisme [4]. Chez l'homme, en dehors de toute situation pathologique, les microparticules sont détectables à de faibles concentrations dans le sang et dans les fluides biologiques et témoignent de l'homéostasie cellulaire des tissus [5,6]. Dans le compartiment vasculaire, elles seraient principalement d'origine plaquettaire [7]. Des taux élevés de microparticules circulantes sont retrouvés dans de nombreuses pathologies thrombotiques, inflammatoires, traumatiques ou cancéreuses [8-12].

Au cours du choc septique, une génération excessive de microparticules d'origine endothéliale, plaquettaire et monocyttaire, mais aussi érythrocytaire ou granulocytaire, est rapportée. Dans ce contexte particulier, leurs propriétés pro-inflammatoires et pro-apoptotiques favoriseraient la survenue d'un syndrome de défaillance multiviscérale. Chez le rat, il a été démontré que les microparticules pourraient ainsi promouvoir l'importante dysfonction vasculaire observée au cours du choc septique, participer à la modulation du statut oxydant ou encore contribuer à un état procoagulant [13].

Cette revue décrit brièvement les différentes propriétés des microparticules et leurs effets sur les réponses vasculaires mises en jeu au cours du sepsis ou du choc septique, ainsi que leur intérêt comme marqueur biologique ou cible thérapeutique.

Propriétés physicochimiques des microparticules

Les microparticules libérées dans l'espace extracellulaire et détectées dans les fluides biologiques sont des fragments sub-microniques de membrane plasmique dont la taille varie de 0,05 à 1 μm de diamètre [14]. Elles sont émises par la cellule parentale sous l'effet d'un stress provoquant le réarrangement des phospholipides anioniques entre les deux feuillettes de la membrane qui, déstabilisée, bourgeonne [15]. Toute cellule est susceptible d'émettre des microparticules pour autant qu'un stress approprié lui soit appliqué. Les microparticules détectées dans le plasma dérivent pour leur majorité des cellules circulantes (plaquettes, leucocytes et érythrocytes) et des cellules qui composent la paroi vasculaire, principalement les cellules endothéliales, les macrophages et les cellules musculaires lisses [14]. Les microparticules portent les caractères spécifiques de la cellule émettrice. Ainsi, les

antigènes de surface permettent l'identification de l'origine cellulaire, parfois même du type de stress appliqué lorsqu'il se traduit par des modifications de la composition protéique membranaire [16]. Les microparticules ont la capacité de fusionner avec les membranes plasmiques d'autres cellules ou microparticules, et sont susceptibles d'acquérir des antigènes différents de ceux de la cellule parentale et de les transmettre [17,18]. In vivo, le thrombus en formation constitue un exemple de focalisation des microparticules leucocytaires et plaquettaires favorisant la constitution de nouvelles espèces hybrides exhibant des antigènes propres aux deux lignées [19].

Dans le vaisseau, les microparticules sont considérées comme procoagulantes en raison de la phosphatidylsérine (PhtdSer) exposée dans le feuillet externe de leur membrane. C'est un phospholipide anionique qui constitue la surface catalytique nécessaire à la fixation des facteurs de la coagulation vitamine K-dépendants plasmatiques et à leur assemblage sous la forme des complexes de la cascade de la coagulation. En outre, certaines microparticules émises par les cellules endothéliales ou les monocytes portent du facteur tissulaire (FT) actif, qui est l'initiateur cellulaire de la cascade de la coagulation (voir ci-après).

Les propriétés d'effecteur cellulaire des microparticules reposent sur leur capacité à se lier à des cellules cibles naïves, auxquelles elles transmettent des médiateurs protéiques, lipidiques ou nucléotidiques (miRNA) (Fig. 1).

Composition des microparticules et mécanismes de formation

La membrane des microparticules reflète donc l'état d'activation cellulaire, notamment par la composition du feuillet externe en phospholipides anioniques, mais aussi parfois par l'enrichissement en protéines particulières exprimées en grande proportion par la membrane des cellules activées, comme la E-sélectine, la P-sélectine ou le FT [20,21]. De plus, elles contiennent des protéines et récepteurs transmembranaires ; ceux-ci peuvent être sélectivement exportés ou au contraire exclus de la microparticule en fonction de leur regroupement transversal dans les domaines lipidiques membranaires appelés rafts, qui sont réorganisés au cours du stress, ainsi que des composés cytosoliques (enzymes, facteurs de transcription, ARN messagers, interleukine (IL)-1, regulated and normal T-cell expressed and secreted [RANTES]).

Les microparticules et leurs propriétés sont à distinguer d'une autre forme de vésicule d'origine endosomale, les exosomes qui ne portent pas de PhtdSer, sont de taille inférieure et fortement enrichis en protéines de la famille des tétraspanines [22].

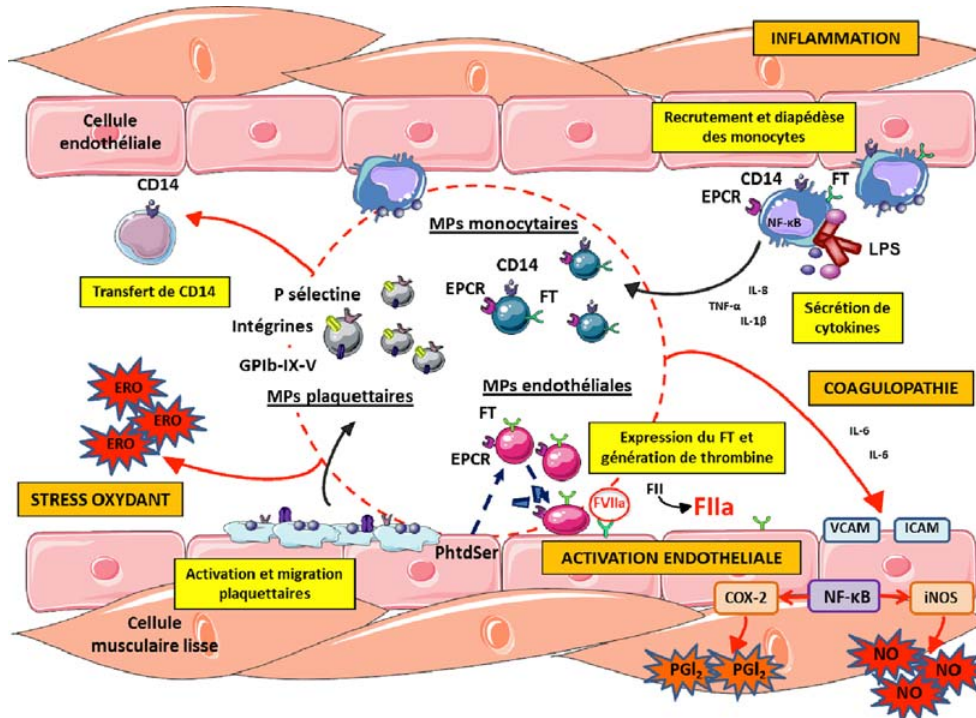


Fig. 1 Au cours du choc septique, l'interaction hôte-pathogène est responsable de la génération de microparticules procoagulantes d'origine endothéliale, plaquettaire, érythrocytaire et granulocytaire. Ces microparticules interviennent dans la régulation de l'homéostasie vasculaire. Il a été démontré dans différentes pathologies inflammatoires que les microparticules sont à l'origine d'une dysfonction endothéliale et d'une altération de la relaxation vasculaire NO-dépendante, induisent l'expression de la de iNOS et de la COX-2 et la production de prostacycline, impliquée dans la vasodilatation et l'inhibition de l'activation plaquettaire, et l'inhibition de la eNOS. Les microparticules porteuses d'anion superoxyde pourraient également augmenter le stress oxydant et diminuer la biodisponibilité du NO en induisant la génération d'espèces réactives de l'oxygène par les cellules endothéliales et musculaires lisses, et en produisant elles-mêmes de l'anion superoxyde. De plus, les microparticules jouent un rôle clé dans la régulation de la coagulation et pourraient intervenir dans la coagulopathie du choc septique : en exprimant la PhtdSer à leur surface, les microparticules permettent l'assemblage des facteurs de la coagulation vitamine K-dépendants et la génération de thrombine ; les microparticules monocytaires et endothéliales portent à leur surface de la thrombomoduline nécessaire à l'activation de la protéine C par la thrombine et le récepteur de la protéine C, EPCR. Enfin, les microparticules monocytaires participent à la dissémination d'un potentiel procoagulant en exprimant le FT à leur surface. CD14 : cluster de différenciation 14 ; COX-2 : cyclo-oxygénase 2 ; EPCR : *endothelial protein C receptor*, récepteur de la protéine C ; ERO : espèces réactives de l'oxygène ; FII : prothrombine ; FIIa : thrombine ; FT : facteur tissulaire ; FVIIa : facteur VII activé ; GPIIb : glycoprotéine Ib ; ICAM-1 : *intercellular adhesion molecule-1*, molécule d'adhésion intercellulaire 1 ; IL-1β : interleukine-1 bêta ; IL-6 : interleukine-6 ; IL-8 : interleukine-8 ; iNOS : NO synthétase inducible ; LPS : lipopolysaccharides ; MPs : microparticules ; Nf-κB : facteur de transcription nucléaire-kappa B ; NO : monoxyde d'azote ; PGI₂ : prostacycline ; PhtdSer : phosphatidylsérine ; TNF-α : facteur de nécrose tumorale-alpha ; VCAM-1 : *vascular cell adhesion molecule-1*, molécule d'adhésion cellulaire vasculaire 1

La distribution asymétrique des phospholipides de la membrane plasmique et sa réorganisation après activation cellulaire sont gouvernés par un ensemble de transporteurs (flippase, floppase et scramblase), qui assurent la translocation des lipides entre les deux feuilletts [23]. Au repos, la PhtdSer et la phosphatidyléthanolamine, les deux aminophospholipides susceptibles d'exhiber une charge négative, sont séquestrés dans le feuillet interne. Elles sont transloquées dans le feuillet externe après activation cellulaire, tandis que les fortes concentrations calciques cytosoliques favorisent l'inhibition de la translocase responsable de

l'internalisation des phospholipides anioniques, mais aussi l'activation des calpaines et la dégradation du cytosquelette qui facilitent le bourgeonnement cellulaire. La redistribution des phospholipides anioniques est généralement considérée comme dépendante des entrées calciques qui peuvent être mobilisées en réponse à un agoniste cellulaire via les canaux SOCE (*Store Operated Channel Entry*), mais aussi d'autres canaux calciques comme P2X1 dans les plaquettes. D'autres canaux ioniques comme les Gardos channels (canaux potassiques) ont été impliqués dans ces remaniements [23].

Microparticules et réponse inflammatoire

Au cours des infections à bacilles gram-négatifs, la réponse inflammatoire induite par le lipopolysaccharide (LPS) constitue un des principaux mécanismes de défense de l'hôte contre l'agent pathogène. Dans le plasma, le LPS est reconnu par les monocytes et macrophages. Il est transporté par la protéine de liaison LBP (*LPS binding protein*) jusqu'à son récepteur. Le complexe LPS-LBP interagit avec le CD14, une glycoprotéine de surface exprimée par les cellules myéloïdes, co-récepteur de *Toll Like Receptor 4* (TLR4). La formation d'un complexe CD14/TLR4 par l'intermédiaire de la protéine membranaire adaptatrice MD2 initie la transduction du signal avec sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, expression du FT et activation de l'apoptose [24].

Dans le monocyte, le LPS active en effet de nombreuses voies de signalisation intracellulaires, dont les voies IκB kinase (IKK)-NF-κB et des MAPK (*mitogen-activated protein kinases*), ERK1 et 2 (*extracellular signal-regulated kinases*), JNK (*c-Jun N-terminal kinase*) et p38 [24]. Dans le vaisseau, les microparticules contribueraient à l'amplification de cette réponse inflammatoire au LPS par différentes voies. En effet, chez les animaux traités par du LPS, les concentrations en microparticules leucocytaires circulantes sont augmentées et il a été démontré *in vitro* que les microparticules leucocytaires favorisent la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-6) par les cellules endothéliales [25]. Les mécanismes d'amplification de la réponse monocyttaire pourraient être relayés par le récepteur P2X7. En effet, l'activation du récepteur P2X7 induit un influx calcique rapide et majeur, stimulant la translocation de la PhtdSer sur le feuillet externe de la membrane cellulaire et aboutissant à la vésiculation membranaire [26]. De plus, suite à un stimulus pro-inflammatoire initial, MacKenzie et al. ont montré que l'activation du récepteur P2X7 serait à l'origine de l'exportation d'IL-1β mature dans les microparticules monocytaires. L'IL-1 délivrée par les microparticules a une action paracrine sur les récepteurs de l'IL-1 des cellules avoisinantes, favorisant la libération de cytokines et contribuant ainsi à une première boucle d'amplification de la réponse inflammatoire [27,28]. En effet, l'activation endothéliale par les monocytes est dépendante de la concentration en IL-1β et promeut la synthèse et l'expression de molécules d'adhésion (ICAM-1 : *intercellular adhesion molecule-1*, VCAM-1 : *vascular cell adhesion molecule-1*) et de E-sélectine, favorisant l'adhésion leucocytaire [29].

La contribution des récepteurs P2X7 à la réponse inflammatoire est multiple et les interactions avec les microparticules restent encore à explorer, notamment au cours de l'extravasation des lymphocytes T vers les sites d'inflammation, mécanisme dans lequel les microparticules ont été impliquées [30]. De manière intéressante, il a été proposé

que les plaquettes, qui possèdent les récepteurs TLR4, soient capables sous l'effet du LPS d'exporter de l'IL-1β dans les microparticules et de participer au couplage inflammation-thrombose en favorisant la production d'ICAM-1 par les cellules endothéliales [31].

Enfin, les microparticules peuvent contenir d'autres protéines impliquées dans les processus inflammatoires, notamment celles constitutives de l'inflammasome, une plateforme fonctionnelle de la réponse innée qui est activée par la reconnaissance de motifs moléculaires particuliers des pathogènes. L'activation de l'inflammasome déclenche la synthèse de cytokines pro-inflammatoires, favorise la maturation de l'IL-1β et peut conduire à la mort cellulaire par pyroptose. La composition de l'inflammasome, essentiellement décrit dans les cellules granulocytaires, varie avec le signal inducteur (LPS, cristaux d'acide urique, composantes virales et bactériennes diverses). Parmi les éléments constitutifs de cet assemblage oligomérique, il y a des récepteurs comme NLRP3 (*nucleotide-binding domain, leucine rich repeat containing protein*) ou certaines caspases pro-inflammatoires comme les caspases 5 et 1 [32].

Effets des microparticules sur l'homéostasie vasculaire

Les microparticules, en tant que bio-effecteurs, pourraient intervenir dans la genèse de la dysfonction cardiocirculatoire caractérisant le choc septique, notamment en agissant sur la régulation du tonus vasculaire. Les microparticules endothéliales circulantes, dont la concentration est peu importante à l'état physiologique, sont augmentées dans de nombreuses pathologies cardiovasculaires (syndrome coronarien aigu, hypertension artérielle sévère, syndrome métabolique, insuffisance rénale terminale, diabète de type 1...); elles constituent un marqueur d'activation, voire d'apoptose, mais aussi de dysfonction endothéliale [33,34]. Dans le compartiment vasculaire, les microparticules circulantes sont capables d'agir à la fois sur les cellules endothéliales qui constituent une surface d'interaction importante [35–37] et parfois sur les cellules musculaires lisses [37,38] avec une action possible sur la réactivité vasculaire, notamment via une régulation de la production cellulaire de monoxyde d'azote (NO), vasodilatateur puissant, antiagrégant plaquettaire et facteur de survie essentiel pour les cellules endothéliales [39]. Au cours de la prééclampsie, les concentrations circulantes des microparticules lymphocytaires et granulocytaires sont augmentées [9]. Ces dernières sont capables d'induire une hyporéactivité vasculaire chez les souris gestantes, via une augmentation de l'expression de la NO synthétase inducible (iNOS) avec surproduction de NO et réduction de la contraction vasculaire, qui va contrecarrer l'augmentation de la synthèse de métabolites vasoconstricteurs dérivant de

la cyclo-oxygénase 2 (COX-2) [40,41]. Chez les patients diabétiques, coronariens ou insuffisants rénaux, il a également été montré que les microparticules diminuent la biodisponibilité du NO et sont à l'origine d'une dysfonction endothéliale et d'une altération de la relaxation vasculaire NO-dépendante [35], par diminution et/ou inhibition de la NO synthétase endothéliale (eNOS) [36,42].

Certaines microparticules pourraient également promouvoir l'importante vasoplégie observée au cours du sepsis [13,43]. L'inoculation des microparticules « septiques » chez le rat sain entraîne une diminution significative de la pression artérielle moyenne sans variation significative des débits carotidien et portal. Le transfert d'acide arachidonique pourrait induire l'expression de la COX-2 et la production de prostacycline impliquée dans la vasodilatation et l'inhibition de l'activation plaquettaire [44]. Plus récemment, il a été montré que des microparticules d'origine lymphocytaire étaient capables d'induire une hyporéactivité vasculaire en induisant la synthèse, dans la média, de la iNOS et de la COX-2 [37].

De plus, certaines microparticules plaquettaires, porteurs d'anion superoxyde pourraient être impliquées dans la dysfonction endothéliale en augmentant le stress oxydant et en diminuant la biodisponibilité du NO [45,46]. Janiszewski et al. ont en effet montré que les microparticules plaquettaires induisent la génération d'espèces réactives de l'oxygène par les cellules endothéliales et musculaires lisses et produisent elles-mêmes de l'anion superoxyde, via la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase [47]. Ces espèces réactives de l'oxygène pourraient par ailleurs être directement impliquées dans l'induction de l'apoptose cellulaire au niveau vasculaire.

Enfin, Pfister et al. ont montré que les microparticules d'origine plaquettaire produisent du thromboxane-A₂, métabolite vasoconstricteur dérivé de l'acide arachidonique et puissant vasoconstricteur, et peuvent ainsi participer à la régulation du tonus vasculaire [38].

Effets des microparticules sur la coagulation

Les infections graves, comme le choc septique, sont caractérisées par une activation de la coagulation, avec globalement un état procoagulant et anti-fibrinolytique. On peut observer la formation de thrombi dans la microcirculation en cas de dérégulation, aggravant ainsi les dysfonctions viscérales par défaut de perfusion. Cet état procoagulant est lié à une activation cellulaire intense via l'induction de cytokines pro-inflammatoires et des modifications phénotypiques de l'endothélium vasculaire, qui prend alors un caractère pro-adhésif, pro-inflammatoire et pro-thrombotique [48]. En outre, les polyphosphates bactériens favoriseraient une activation de la phase « contact » de la coagulation et une inhi-

bition de la fibrinolyse réactionnelle, pouvant prendre la forme d'une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) et se traduisant sur le plan biologique par une thrombopénie, une consommation des facteurs et l'augmentation des D-dimères. De récentes études montrent que la survenue d'une CIVD dans un choc septique est précurseur de syndrome de défaillance multiviscérale [49].

Au cours du sepsis, les processus hémostatiques sont cependant nécessaires à la défense de l'hôte contre l'agent pathogène et seule une production excessive de thrombine peut mener à la dysfonction viscérale. L'activation des réactions de coagulation au cours du sepsis permet de limiter la croissance et la dissémination de l'agent pathogène, constituant ainsi un mécanisme de défense au même titre que l'immunité innée ou l'activation du complément [50]. Les microparticules qui augmentent la surface d'interaction avec les éléments circulants ont alors un effet bénéfique, en favorisant les liaisons récepteurs/ligands et le recrutement des cellules (plaquettes, monocytes, neutrophiles) au site initial de la lésion vasculaire et de la réaction inflammatoire locale.

Les microparticules ont un potentiel procoagulant intrinsèque du fait de PhtdSer, constituant une surface catalytique pour l'assemblage des facteurs de la coagulation vitamine K-dépendants, démontré dans différentes pathologies [51,52]. Dans la coagulopathie du choc septique, le FT porté par les microparticules monocytaires constituerait une deuxième entité procoagulante portée par les microparticules et jouerait donc un rôle clé dans l'initiation et la propagation de la cascade de la coagulation [53]. Il a été montré que les microparticules monocytaires participent à la dissémination d'un potentiel procoagulant en exprimant le FT à leur surface [10,43,54,55]. La génération de thrombine est possible à la surface des microparticules porteuses du FT de façon indépendante du FXII (phase contact). Ces microparticules, et leur capacité à promouvoir la génération de thrombine, ont été rapportées dans l'infection au méningocoque, mais aussi après injection de LPS chez des individus sains. Dans ce dernier cas, une augmentation forte et transitoire des concentrations en microparticules porteuses du FT est observée trois à quatre heures après l'injection de LPS et s'accompagne d'une monocytopenie transitoire, suggérant que les microparticules constitueraient alors le support principal de la réponse procoagulante dépendante du FT [10,52]. Enfin, dans un modèle de thrombose carotidienne, les souris invalidées pour les récepteurs P2X₇ sont protégées de la thrombose, tandis que l'activation des récepteurs conduit à l'émission de microparticules porteuses de FT actif chez la souris sauvage, soulignant l'importance de cette voie dans la génération d'un état procoagulant indépendamment de l'infection [32].

Au cours du sepsis, les microparticules plaquettaires favoriseraient une génération accrue de thrombine dépendant, elle, de l'activation du FXI (plaquettaire) par la

thrombine et du FXII activé par les polyphosphates bactériens [56,57]. Ces dernières réactions sont indépendantes du FT, car elles restent possibles après déplétion en FVII, confirmant ainsi le rôle de la phase contact en pathologie, mais pas en physiologie [58]. On peut noter également que les microparticules endothéliales circulantes contribuent à la formation de larges agrégats plaquettaires dans certaines atteintes cardiovasculaires [59]. Enfin les microparticules, qu'elles soient endothéliales ou leucocytaires, participeraient au couplage entre inflammation et thrombose [60,61].

Les microparticules sont également impliquées dans la régulation de la coagulation et de la fibrinolyse, notamment en exprimant un activateur du plasminogène de type urokinase et son récepteur ; leur rôle dans le choc septique reste à définir [62]. Enfin, les microparticules monocytaires et endothéliales portent à leur surface de la thrombomoduline nécessaire à l'activation de la protéine C par la thrombine et le récepteur de la protéine C, EPCR [21]. Bien que les microparticules monocytaires induites par le LPS soient globalement procoagulantes en raison du FT qui prédomine sur l'activité de la thrombomoduline [22], les capacités cytoprotectrices des microparticules endothéliales et monocytaires dépendront de la loi d'action de masse, c'est-à-dire de la quantité de microparticules nécessaires au déclenchement d'une réaction pro- ou anticoagulante dans la cellule cible [50]. On peut par exemple noter que les microparticules de neutrophiles participent à la protection endothéliale en délivrant de l'annexine A1, une protéine cytoplasmique anti-inflammatoire [63,64].

Les microparticules, marqueur pronostique ?

De nombreuses études cliniques cherchent à définir l'intérêt des microparticules en tant que marqueur d'une altération cellulaire, elle-même caractéristique d'un état pathologique. Cette approche est fondée sur l'idée que les microparticules circulantes reflètent le stress des cellules vasculaires, mais aussi une atteinte tissulaire lorsqu'elles sont émises par les vaisseaux de l'organe lésé dans la circulation systémique. Ainsi, leur détection précoce permettrait un meilleur « monitoring » des patients lorsque les méthodes diagnostiques plus invasives ne sont pas applicables. Les concentrations plasmatiques des microparticules ont initialement été explorées dans des pathologies cardiovasculaires ou métaboliques associées à des désordres thrombotiques ou à des atteintes tissulaires (infarctus du myocarde, rejet de greffe, athérombose, diabète, etc.).

Plusieurs équipes ont montré que les microparticules peuvent constituer un marqueur pronostique en termes de morbi-mortalité. Cela est plus particulièrement démontré pour les microparticules endothéliales qui pourraient représenter un marqueur de dysfonction endothéliale dans les pathologies

cardiovasculaires. Dans l'hypertension artérielle pulmonaire par exemple, Amabile et al. ont mis en évidence que les microparticules endothéliales porteuses de E-sélectine (CD62E) constituent un marqueur pronostique de mortalité à un an et pourraient ainsi permettre de stratifier les patients selon leur gravité [65]. De même, chez le patient insuffisant rénal chronique au stade terminal, le taux de microparticules endothéliales est corrélé au risque de survenue d'événement cardiovasculaire sévère [66]. Elles permettraient également d'évaluer le risque cardiovasculaire chez les insuffisants cardiaques chroniques [67] et les insuffisants coronariens [68], ou encore le risque d'accident vasculaire ischémique chez les patients présentant des facteurs de risque cardiovasculaire [69].

Au cours des maladies infectieuses, les cytokines et chémokines ou les endotoxines bactériennes, comme le LPS, sont capables d'induire la génération de microparticules spécifiques qui pourraient potentiellement jouer un rôle clé dans le processus d'interaction hôte-pathogène [50]. Par ce biais, elles pourraient probablement influencer le pronostic de la pathologie. Dans le sepsis, les microparticules n'ont cependant pas encore été identifiées comme marqueur pronostique.

Les microparticules dans le sepsis, cibles thérapeutiques ?

Les microparticules sont de véritables médiateurs de la communication intercellulaire et participent à de nombreuses boucles d'amplification de la réponse vasculaire. À ce titre, elles apparaissent comme des cibles thérapeutiques potentielles dans différentes situations pathologiques, mais aussi comme des marqueurs pour le suivi des patients et de leur traitement. Les taux plasmatiques et les profils phénotypiques des microparticules peuvent être utilisés comme des marqueurs diagnostiques ou pronostiques dans certaines pathologies [70]. La concentration circulante de microparticules totales n'est pas toujours modifiée en situation pathologique, mais l'augmentation d'un type particulier de microparticules peut se révéler spécifique d'une atteinte cellulaire ou tissulaire donnée, et de ce fait, constituer par exemple un marqueur d'efficacité de traitement. Ainsi, il a été montré qu'un traitement par statines chez des patients diabétiques ou souffrant d'artériopathie permet de diminuer le taux de microparticules plaquettaires porteuses de protéines d'adhésion (GPIIIa, P-sélectine) ou procoagulantes (FT) [71,72]. De même, un traitement par glitazone, un ligand de PPAR- γ , dans le syndrome métabolique, diminue le taux de microparticules endothéliales [73]. Enfin, in vitro, un traitement par glitazone serait capable de moduler l'effet des microparticules monocytaires, en diminuant leurs effets pro-inflammatoires (production d'espèces réactives de l'oxygène, libération de cytokines et activation du NF- κ B) [74]. De nombreux essais cliniques sont actuellement en cours, afin

d'évaluer les microparticules comme biomarqueur de l'efficacité de différents traitements [75].

Dans un autre domaine, en réponse à un traitement par protéine C activée recombinante humaine, des microparticules porteuses du récepteur endothélial de la protéine C, l'EPCR, sont générées, véhiculant un potentiel anticoagulant, capable de retarder la formation de thrombine, et également anti-apoptotique [56]. Ces microparticules pourraient avoir un effet bénéfique dans le choc septique en diminuant la réponse inflammatoire. La protéine C activée est en effet une enzyme anticoagulante et profibrinolytique puissante, capable d'inactiver les facteurs de la coagulation Va et VIIIa et le TFPI (*Tissue Factor Pathway Inhibitor*) [76–79], sans avoir apporté la preuve de son bénéfice sur la mortalité des patients en choc septique [80].

L'utilisation des microparticules comme agent pharmacologique reste un champ d'investigation ouvert. La difficulté réside à la fois dans les connaissances restreintes des mécanismes de clairance et des processus de régulation des concentrations circulantes des microparticules [81]. Un traitement pharmacologique ayant pour cible les microparticules pourra intervenir sur la capacité des cellules à émettre des microparticules pour tenter de restreindre la dissémination du message biologique qu'elles véhiculent. Martinez et al. ont par exemple mis en évidence que les microparticules porteuses de la protéine « Sonic hedgehog » stimulent la néovascularisation des processus tumoraux. Des microparticules issues de cellules déficientes en cette protéine pourraient constituer un leurre noyant le message délétère véhiculé par les microparticules endogènes aux cellules avoisinantes, ralentissant ainsi le développement tumoral [82,83].

Plusieurs médiateurs de réponse cellulaire peuvent contribuer au remodelage de la membrane plasmique et à la libération des microparticules incluant différents transporteurs et canaux calciques, l'ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondriale ou des processus caspase-dépendants [19]. Ces voies peuvent constituer des cibles pharmacologiques et donc moduler l'effet des microparticules dans la coagulation, le remodelage vasculaire et la fibrinolyse, voire le message qu'elles disséminent sous forme d'ARNm ou de protéines [84].

Enfin, les microparticules en tant qu'entités circulantes sont capables de véhiculer des protéines et ligands solubles. Ce paramètre doit être pris en compte à la fois pour la mesure et la caractérisation des microparticules circulantes, mais aussi pour déterminer l'intérêt et les doses efficaces d'un traitement ciblant les microparticules.

Conclusion

Au cours du sepsis, l'interaction hôte-pathogène est à l'origine de la génération de microparticules par vésiculation

membranaire avec un phénotype spécifique. Les microparticules constituent un pool de messagers intercellulaires et par ce biais pourraient jouer un rôle dans la physiopathologie du sepsis et du choc septique. Elles sont notamment capables d'induire une hypotension artérielle, et de disséminer un potentiel procoagulant. Leur rôle dans la physiopathologie de certaines maladies infectieuses, en fonction de l'agent pathogène impliqué, reste peu exploré. Elles constituent enfin un marqueur pronostique dans de nombreuses pathologies et une cible thérapeutique potentielle qui mérite d'être explorée, particulièrement dans le sepsis où elles cumulent des effets pro-inflammatoires, procoagulants et pro-apoptotiques.

Conflit d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références

- Parrillo JE (1993) Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N Engl J Med* 328:1471–7
- Wolf P (1967) The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br J Haematol* 13:269–88
- Morel O, Toti F, Hugel B, Freyssinet JM (2004) Cellular microparticles: a disseminated storage pool of bioactive vascular effectors. *Curr Opin Hematol* 11:156–64
- Tushuizen ME, Diamant M, Sturk A, Nieuwland R (2011) Cell-derived microparticles in the pathogenesis of cardiovascular disease: friend or foe? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31:4–9
- Meziani F (2008) Microparticles are vectors of paradoxical information in vascular cells including the endothelium: role in health and diseases. *Pharmacol Rep* 60:75–84
- Berckmans RJ, Nieuwland R, Boing AN, et al (2001) Cell-derived microparticles circulate in healthy humans and support low grade thrombin generation. *Thromb Haemost* 85:639–46
- Flaumenhaft R, Dilks JR, Richardson J, et al (2009) Megakaryocyte-derived microparticles: direct visualization and distinction from platelet-derived microparticles. *Blood* 113:1112–21
- Mallat Z, Benamer H, Hugel B, et al (2000) Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 101:841–3
- VanWijk MJ, Nieuwland R, Boer K, et al (2002) Microparticle subpopulations are increased in preeclampsia: possible involvement in vascular dysfunction? *Am J Obstet Gynecol* 187:450–6
- Nieuwland R, Berckmans RJ, McGregor S, et al (2000) Cellular origin and procoagulant properties of microparticles in meningococcal sepsis. *Blood* 95:930–5
- Sabatier F, Darmon P, Hugel B, et al (2002) Type 1 and type 2 diabetic patients display different patterns of cellular microparticles. *Diabetes* 51:2840–5
- Leroyer AS, Tedgui A, Boulanger CM (2008) Role of microparticles in atherothrombosis. *J Intern Med* 263:528–37
- Mortaza S, Martinez MC, Baron-Menguy C, et al (2009) Detrimental hemodynamic and inflammatory effects of microparticles originating from septic rats. *Crit Care Med* 37:2045–50
- Freyssinet JM (2003) Cellular microparticles: what are they bad or good for? *J Thromb Haemost* 1:1655–62
- Zwaal RF, Schroit AJ (1997) Pathophysiological implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood* 89:1121–32

16. Baj-Krzyworzeka M, Majka M, Pratico D, et al (2002) Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. *Exp Hematol* 30:450–9
17. Rauch U, Bonderman D, Bohrmann B, et al (2000) Transfer of tissue factor from leukocytes to platelets is mediated by CD15 and tissue factor. *Blood* 96:170–5
18. Scholz T, Temmler U, Krause S, et al (2002) Transfer of tissue factor from platelets to monocytes: role of platelet-derived microvesicles and CD62P. *Thromb Haemost* 88:1033–8
19. Mause SF, Weber C (2010) Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange. *Circ Res* 107:1047–57
20. Morel O, Ohlmann P, Epailly E, et al (2008) Endothelial cell activation contributes to the release of procoagulant microparticles during acute cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 27:38–45
21. Satta N, Freyssinet JM, Toti F (1997) The significance of human monocyte thrombomodulin during membrane vesiculation and after stimulation by lipopolysaccharide. *Br J Haematol* 96:534–42
22. Thery C, Zitvogel L, Amigorena S (2002) Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol* 2:569–79
23. Morel O, Jesel L, Freyssinet JM, Toti F (2011) Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31:15–26
24. Guha M, Mackman N (2001) LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell Signal* 13:85–94
25. Mesri M, Altieri DC (1999) Leukocyte microparticles stimulate endothelial cell cytokine release and tissue factor induction in a JNK1 signaling pathway. *J Biol Chem* 274:23111–8
26. Dubyak GR (2012) P2X7 receptor regulation of non-classical secretion from immune effector cells. *Cell Microbiol* 14:1697–706
27. Chiao CW, Tostes RC, Webb RC (2008) P2X7 receptor activation amplifies lipopolysaccharide-induced vascular hyporeactivity via interleukin-1 beta release. *J Pharmacol Exp Ther* 326:864–70
28. MacKenzie A, Wilson HL, Kiss-Toth E, et al (2001) Rapid secretion of interleukin-1beta by microvesicle shedding. *Immunity* 15:825–35
29. Wang J-G, Williams JC, Davis BK, et al (2011) Monocytic microparticles activate endothelial cells in an IL-1 β -dependent manner. *Blood* 118:2366–74
30. Qu Y, Dubyak GR (2009) P2X7 receptors regulate multiple types of membrane trafficking responses and non-classical secretion pathways. *Purinergic Signal* 5:163–73
31. Brown GT, McIntyre TM (2011) Lipopolysaccharide signaling without a nucleus: kinase cascades stimulate platelet shedding of proinflammatory IL-1 β -rich microparticles. *J Immunol* 186:5489–96
32. Furlan-Freguia C, Marchese P, Gruber A, et al (2011) P2X7 receptor signaling contributes to tissue factor-dependent thrombosis in mice. *J Clin Invest* 121:2932–44
33. Chironi GN, Simon A, Boulanger CM, et al (2010) Circulating microparticles may influence early carotid artery remodeling. *J Hypertens* 28:789–96
34. Densmore JC, Signorino PR, Ou J, et al (2006) Endothelium-derived microparticles induce endothelial dysfunction and acute lung injury. *Shock* 26:464–71
35. Boulanger CM, Scoazec A, Ebrahimian T, et al (2001) Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction. *Circulation* 104:2649–52
36. Martin S, Tesse A, Hugel B, et al (2004) Shed membrane particles from T lymphocytes impair endothelial function and regulate endothelial protein expression. *Circulation* 109:1653–9
37. Tesse A, Martinez MC, Hugel B, et al (2005) Upregulation of proinflammatory proteins through NF-kappaB pathway by shed membrane microparticles results in vascular hyporeactivity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25:2522–7
38. Pfister SL (2004) Role of platelet microparticles in the production of thromboxane by rabbit pulmonary artery. *Hypertension* 43:428–33
39. Martinez MC, Tesse A, Zobairi F, Andriantsitohaina R (2005) Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288:H1004–9
40. Meziani F, Tesse A, David E, et al (2006) Shed membrane particles from preeclamptic women generate vascular wall inflammation and blunt vascular contractility. *Am J Pathol* 169:1473–83
41. Tesse A, Meziani F, David E, et al (2007) Microparticles from preeclamptic women induce vascular hyporeactivity in vessels from pregnant mice through an overproduction of NO. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293:H520–5
42. Amabile N, Guerin AP, Leroyer A, et al (2005) Circulating endothelial microparticles are associated with vascular dysfunction in patients with end-stage renal failure. *J Am Soc Nephrol* 16:3381–8
43. Morel N, Morel O, Delabranche X, et al (2006) [Microparticles during sepsis and trauma. A link between inflammation and thrombotic processes]. *Ann Fr Anesth Reanim* 25:955–66
44. Barry OP, Kazanietz MG, Pratico D, FitzGerald GA (1999) Arachidonic acid in platelet microparticles up-regulates cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin formation via a protein kinase C/mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. *J Biol Chem* 274:7545–56
45. Soriano AO, Jy W, Chirinos JA, et al (2005) Levels of endothelial and platelet microparticles and their interactions with leukocytes negatively correlate with organ dysfunction and predict mortality in severe sepsis. *Crit Care Med* 33:2540–6
46. Brodsky SV, Zhang F, Nasjletti A, Goligorsky MS (2004) Endothelium-derived microparticles impair endothelial function in vitro. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286:H1910–5
47. Janiszewski M, Do Carmo AO, Pedro MA, et al (2004) Platelet-derived exosomes of septic individuals possess proapoptotic NAD(P)H oxidase activity: A novel vascular redox pathway. *Crit Care Med* 32:818–25
48. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM (2005) Septic shock. *Lancet* 365:63–78
49. Dhainaut JF, Charpentier J (2002) CIVD et défaillance d'organes : arguments expérimentaux et cliniques. *Réanimation* 11:599–607
50. Delabranche X, Berger A, Boisramé-Helms J, Meziani F (2012) Microparticles and infectious diseases. *Med Mal Infect* 42:335–43
51. Dignat-George F, Camoin-Jau L, Sabatier F, et al (2004) Endothelial microparticles: a potential contribution to the thrombotic complications of the antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost* 91:667–73
52. Morel O (2005) Les MP circulantes : rôles physiologiques dans les maladies inflammatoires et thrombotiques. *Rev Med Interne* 2:791–801
53. Lane DA, Philippou H, Huntington JA (2005) Directing thrombin. *Blood* 106:2605–12
54. Geisbert TW, Young HA, Jahrling PB, et al (2003) Mechanisms underlying coagulation abnormalities in ebola hemorrhagic fever: overexpression of tissue factor in primate monocytes/macrophages is a key event. *J Infect Dis* 188:1618–29
55. Satta N, Toti F, Feugeas O, et al (1994) Monocyte vesiculation is a possible mechanism for dissemination of membrane-associated procoagulant activities and adhesion molecules after stimulation by lipopolysaccharide. *J Immunol* 153:3245–55
56. Perez-Casal M, Downey C, Fukudome K, et al (2005) Activated protein C induces the release of microparticle-associated endothelial protein C receptor. *Blood* 105:1515–22
57. Meziani F, Delabranche X, Mortaza S, Asfar P (2008) Les microparticules circulantes : un nouvel acteur dans le sepsis ? *Réanimation* 17:120–5

58. van der Meijden PEJ, van Schilfgaarde M, van Oerle R, et al (2012) Platelet- and erythrocyte-derived microparticles trigger thrombin generation via factor XIIa. *J Thromb Haemost* 10:1355–12
59. Héloire F, Weill B, Weber S, Batteux F (2003) Aggregates of endothelial microparticles and platelets circulate in peripheral blood. Variations during stable coronary disease and acute myocardial infarction. *Thromb Res* 110:173–80
60. Leroyer A (2010) Endothelial-derived microparticles: Biological conveyers at the crossroad of inflammation thrombosis and angiogenesis. *Thromb Haemost* 104:456–63
61. Distler JHW, Huber LC, Gay S, et al (2006) Microparticles as mediators of cellular cross-talk in inflammatory disease. *Autoimmunity* 39:683–90
62. Dejouvencel T, Dœuvre L, Lacroix R, et al (2010) Fibrinolytic cross-talk: a new mechanism for plasmin formation. *Blood* 115:2048–56
63. Dalli J, Rosignoli G, Hayhoe RPG, et al (2010) CFTR Inhibition Provokes an Inflammatory Response Associated with an Imbalance of the Annexin A1 Pathway. *The American Journal of Pathology* 177:176–86
64. Morel O, Toti F, Morel N, Freyssinet JM (2009) Microparticles in endothelial cell and vascular homeostasis: are they really noxious? *Haematologica* 94:313–7
65. Amabile N, Heiss C, Chang V, et al (2009) Increased CD62e(+) endothelial microparticle levels predict poor outcome in pulmonary hypertension patients. *J Heart Lung Transplant* 28:1081–6
66. Amabile N, Guérin AP, Tedgui A, et al (2012) Predictive value of circulating endothelial microparticles for cardiovascular mortality in end-stage renal failure: a pilot study. *Nephrol Dial Transplant* 27:1873–80
67. Nozaki T, Sugiyama S, Koga H, et al (2009) Significance of a multiple biomarkers strategy including endothelial dysfunction to improve risk stratification for cardiovascular events in patients at high risk for coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol* 54:601–8
68. Sinning J-M, Losch J, Walenta K, et al (2011) Circulating CD31 +/-Annexin V+ microparticles correlate with cardiovascular outcomes. *Eur Heart J* 32:2034–41
69. Jung K-H, Chu K, Lee S-T, et al (2009) Circulating endothelial microparticles as a marker of cerebrovascular disease. *Ann Neurol* 66:191–9
70. Baron M, Boulanger CM, Staels B, Tailleux A (2012) Cell-derived microparticles in atherosclerosis: biomarkers and targets for pharmacological modulation? *J Cell Mol Med* 16:1365–76
71. Sommeijer DW, Joop K, Leyte A, et al (2005) Pravastatin reduces fibrinogen receptor gpIIIa on platelet-derived microparticles in patients with type 2 diabetes. *J Thromb Haemost* 3:1168–71
72. Mobarrez F, He S, Brøijersen A, et al (2011) Atorvastatin reduces thrombin generation and expression of tissue factor, P-selectin and GPIIIa on platelet-derived microparticles in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Thromb Haemost* 106:344–52
73. Esposito K, Ciotola M, Giugliano D (2006) Pioglitazone reduces endothelial microparticles in the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26:1926
74. Bardelli C, Amoroso A, Federici Canova D, et al (2012) Auto-crine activation of human monocyte/macrophages by monocyte-derived microparticles and modulation by PPAR γ ligands. *Br J Pharmacol* 165:716–28
75. Martinez MC, Tual-Chalot S, Leonetti D, Andriantsitohaina R (2011) Microparticles: targets and tools in cardiovascular disease. *Trends Pharmacol Sci* 32:659–65
76. Sennoun N, Baron-Menguy C, Burbán M, et al (2009) Recombinant human activated protein C improves endotoxemia-induced endothelial dysfunction: a blood-free model in isolated mouse arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297:H277–82
77. Sennoun N, Levy B (2010) Effets hémodynamiques de la protéine C activée dans le choc septique. *Réanimation* 19:142–5
78. Sennoun N, Meziani F, Dessebe O, et al (2009) Activated protein C improves lipopolysaccharide-induced cardiovascular dysfunction by decreasing tissular inflammation and oxidative stress. *Crit Care Med* 37:246–55
79. Perez-Casal M, Thompson V, Downey C, et al (2011) The clinical and functional relevance of microparticles induced by activated protein C treatment in sepsis. *Crit Care* 15:R195
80. Mosnier LO, Zlokovic BV, Griffin JH (2007) The cytoprotective protein C pathway. *Blood* 109:3161–72
81. Rautou PE, Mackman N (2012) Deletion of microvesicles from the circulation. *Circulation* 125:1601–4
82. Martinez MC, Andriantsitohaina R (2011) Microparticles in angiogenesis: therapeutic potential. *Circ Res* 109:110–9
83. Martínez MC, Larbret F, Zobairi F, et al (2006) Transfer of differentiation signal by membrane microvesicles harboring hedgehog morphogens. *Blood* 108:3012–20
84. Zernecke A, Bidzhekov K, Noels H, et al (2009) Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection. *Sci Signal* 2:ra81