



LEV-9 contient huit domaines CCP, qui sont habituellement présents dans les protéines impliquées dans la voie du complément chez les mammifères. Ceci pourrait être le reflet de l'importance fonctionnelle du système du complément dans le cerveau au cours du développement. Cependant, cette hypothèse n'est pas en accord avec les fonctions synaptiques de LEV-9 puisque la voie du complément n'existe pas chez *C. elegans*. Les analyses phylogénétiques des composants du complément suggèrent que la voie du complément est apparue chez les deutérostomes. Cela s'est réalisé non pas par l'invention de nouveaux domaines mais par la création de nouvelles combinaisons de domaines préexistants [9]. Les domaines CCP ont-ils tout d'abord été utilisés par des protéines neuronales puis assimilés par le système du complément au cours de l'évolution du lignage des deutérostomes ? Récemment, une analyse comparative des protéines présentes aux synapses

des invertébrés et des vertébrés indique que le protéome synaptique a augmenté en complexité lors de la transition des invertébrés aux vertébrés. Ceci s'expliquerait non pas par le recrutement de protéines contenant des nouveaux domaines, mais plus par l'expansion de types de protéines déjà présentes dans la *pool* synaptique [10]. Cela suggérerait que les protéines contenant des domaines CCP jouaient tout d'abord un rôle aux synapses, avant d'être assimilées par le système du complément, prédisant que d'importantes fonctions pour les protéines à domaines CCP restent à identifier dans le cerveau des mammifères. ♦

A new mode of nicotinic receptor clustering via a secreted CCP (complement control protein) containing protein

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Song Y, Balice-Gordon R. New dogs in the dogma: Lrp4 and Tid1 in neuromuscular synapse formation. *Neuron* 2008 ; 60 : 526-8.
2. Kneussel M, Loeblich S. Trafficking and synaptic anchoring of ionotropic inhibitory neurotransmitter receptors. *Biol Cell* 2007 ; 99 : 297-309.
3. Elias GM, Nicoll RA. Synaptic trafficking of glutamate receptors by MAGUK scaffolding proteins. *Trends Cell Biol* 2007 ; 17 : 343-52.
4. Xu D, Hopf C, Reddy R, et al. Narp and NP1 form heterocomplexes that function in developmental and activity-dependent synaptic plasticity. *Neuron* 2003 ; 39 : 513-28.
5. Cho RW, Park JM, Wolff SB, et al. mGluR1/5-dependent long-term depression requires the regulated ectodomain cleavage of neuronal pentraxin NPR by TACE. *Neuron* 2008 ; 57 : 858-71.
6. Gally C, Eimer S, Richmond JE, et al. A transmembrane protein required for acetylcholine receptor clustering in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2004 ; 431 : 578-82.
7. Gendrel M, Rapti G, Richmond JE, et al. A secreted complement-control-related protein ensures acetylcholine receptor clustering. *Nature* 2009 ; 461 : 992-6.
8. Roll P, Rudolf G, Pereira S, et al. SRPX2 mutations in disorders of language cortex and cognition. *Hum Mol Genet* 2006 ; 15 : 1195-207.
9. Nonaka M, Yoshizaki F. Primitive complement system of invertebrates. *Immunol Rev* 2004 ; 198 : 203-15.
10. Emes RD, Pocklington AJ, Anderson CN, et al. Evolutionary expansion and anatomical specialization of synapse proteome complexity. *Nat Neurosci* 2008 ; 11 : 799-806.

NOUVELLE

Les polyphosphates

Nouveaux acteurs plaquettaires qui associent thrombose et inflammation

Danièle Kerbiriou-Nabias

Médecine/Sciences, ADR Inserm, Paris 5,
2, rue d'Alésia, 75014 Paris, France.
daniele.kerbiriou-nabias@inserm.fr

> Les polyphosphates (polyP) sont des polymères linéaires de phosphate inorganique (Figure 1A) dont la présence a été initialement observée dans des organismes procaryotes ou eucaryotes unicellulaires. Dans ces organismes, les polyP sont séquestrés dans des vésicules acides riches en calcium et pompes ioniques appelées acidocalcisomes, qui ont notamment pour rôle de maintenir le pH intracellulaire et la régulation osmotique [1].

Les plaquettes sanguines contiennent des structures de type acidocalcisomes
Chez l'homme, l'existence d'acidocalcisomes n'avait pas été observée jusqu'à ce qu'intervienne la démonstration, en 2004, de fortes similitudes morphologiques et de composition entre ces structures et les granules denses, vésicules intracytoplasmiques des plaquettes sanguines [2]. Ainsi, les granules denses plaquettaires, du fait notamment de leur contenu important en polyP de longueur de chaîne

autour de 80 unités phosphate (polyP₈₀), représentent les seuls organites connus à ce jour qui auraient été conservés de la bactérie à l'homme au cours de l'évolution. Les granules denses jouent un rôle essentiel dans les fonctions des plaquettes activées, grâce à la sécrétion de leur contenu (calcium, sérotonine, ADP, ATP...) susceptible d'agir sur la vasodilatation, sur l'activation d'autres plaquettes, et sur les mécanismes procoagulants. À ces composants, il a donc fallu ajouter les

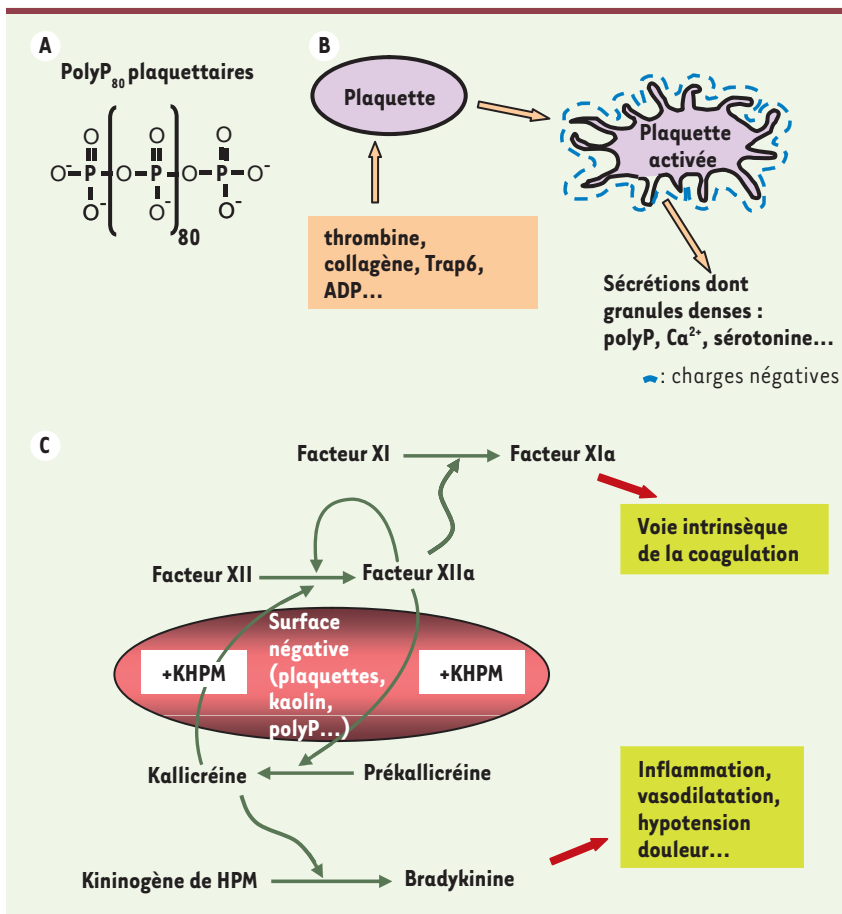


Figure 1. Les polyP plaquettaires sont activateurs de la phase contact de la coagulation et de la libération de bradykinine. **A.** Un polyP est un polymère d'unités orthophosphate liées par des liaisons phosphoanhydride. **B.** Au cours de leur activation, les plaquettes sécrètent de nombreux constituants, dont le contenu des granules denses contenant les polyP. **C.** Les polyP font partie des composants anioniques (considérés ici comme des « surfaces » négativement chargées) capables d'activer la voie intrinsèque (phase contact) de la coagulation (voir aussi la Figure 2). Le FXIIa, produit initialement par l'auto-activation du FXII au contact de la surface, active protéolytiquement la pré-kallikréine plasmatique en kallikréine, ce qui nécessite la présence de kininogène de haut poids moléculaire (KHPM). Celui-ci assure le contact du FXIIa et de la prékallikréine avec la surface. En présence de la surface et du KHPM, la kallikréine active d'autres molécules de FXII et libère le nonapeptide bradykinine par deux clivages protéolytiques à l'intérieur du KHPM (schéma inspiré de Kaplan *et al.* [13]).

polyP sécrétés, comme cela a été démontré *in vitro* sur les plaquettes isolées, sous l'effet d'agonistes activateurs tels que la thrombine (Figure 1B), le collagène ou le peptide 6 activateur du récepteur de thrombine (Trap6) [2, 3]. En corollaire, les polyP de longueur de chaîne supérieure à 45 unités phosphate (polyP₄₅) modulent la coagulation et la fibrinolyse (lyse du réseau de fibrine, Figure 2) dans du plasma dépourvu de plaquettes, car ils activent la voie intrinsèque, dite phase contact, de la coagulation (voir ci-dessous et Figure 1), potentialisent l'activation du Facteur V¹ de coagulation (Figure 2) [4], et solidifient la structure du caillot de fibrine [5]. Enfin, une étude collaborative internationale vient d'être publiée dans la revue *Cell*, démontrant que les polyP sécrétés par les plaquettes activées sont des modula-

teurs non seulement procoagulants mais aussi pro-inflammatoires *in vivo* dans un modèle murin [3], ce qui ajoute un mécanisme nouveau à ceux déjà connus associant thrombose et inflammation [6]. Ces résultats mettent aussi l'accent sur un nouveau rôle physiologique de la voie intrinsèque de la coagulation, considérée comme mineure *in vivo*, situation où prévaut une autre voie, dite extrinsèque (Figure 2). Ci-dessous, après une brève description non exhaustive de la voie extrinsèque, j'exposerai la manière dont les polyP plaquettaires sont impliqués à la fois dans la coagulation, par l'activation de la phase contact, et dans l'inflammation.

Voie extrinsèque, ou du Facteur Tissulaire, initiateur majeure de la coagulation sanguine

Selon le schéma classique, la coagulation qui est enclenchée au niveau d'une blessure résulte d'une cascade d'acti-

tions, par protéolyses enzymatiques, de zymogènes dits Facteurs de coagulation, qui pour la plupart d'entre eux circulent dans le sang où ils ont été sécrétés par les cellules productrices, majoritairement les hépatocytes. Ce processus très rapide qui conduit à la formation de thrombine puis d'un caillot de fibrine (Figure 2) est localement associé à d'autres événements tout aussi essentiels parmi lesquels l'adhésion, l'activation et l'agrégation plaquettaires [7]. La coagulation est initiée au niveau de deux voies distinctes, qui convergent au niveau de l'activation du FIX (Figure 2). L'élément principal déclenchant la coagulation *in vivo* (selon la voie dite extrinsèque) résulte de l'expression de la glycoprotéine membranaire Facteur Tissulaire (FT) par des cellules présentes au niveau de la blessure, suivie de la formation de complexes entre le FT et le FVII activé (a) présent en petite quantité dans le sang circulant. Les complexes FT-FVIIa activent d'autres molécules de FVII

¹ Les facteurs de coagulation sont définis par un nom et (ou) par le mot Facteur ou la lettre F suivi(e) d'un chiffre romain.

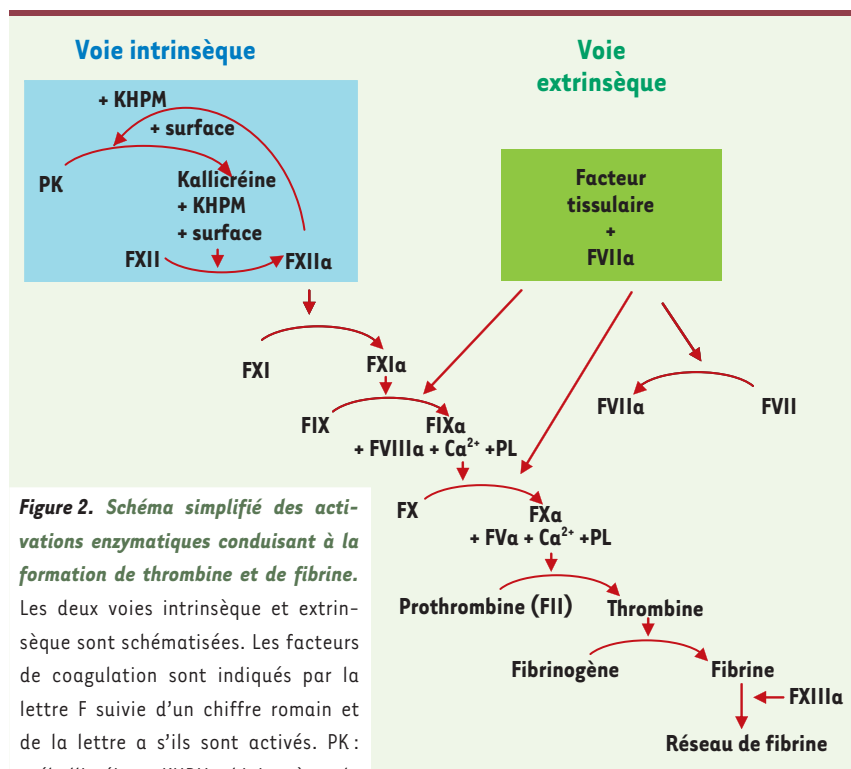


Figure 2. Schéma simplifié des activations enzymatiques conduisant à la formation de thrombine et de fibrine.

Les deux voies intrinsèque et extrinsèque sont schématisées. Les facteurs de coagulation sont indiqués par la lettre F suivie d'un chiffre romain et de la lettre a s'ils sont activés. PK : prékallibréine ; KHPM : kininogène de haut poids moléculaire ; les cofacteurs FVa et FVIIIa résultent de l'activation des FV et FVIII par la thrombine (présente à l'état de trace dans la circulation, puis nouvellement formée). Le FXIII activé par la thrombine (FXIIIa) rend le polymère de fibrine insoluble et stable, ce qui constitue le caillot de fibrine. PL : phospholipides (notamment les phosphatidylsérines présentes à la surface membranaire des plaquettes activées, voir la *Figure 1B*).

et les FIX (le FIXa catalyse la formation de FXa) et FX, essentiels à la transformation protéolytique massive de prothrombine en thrombine (*Figure 2*). Cette cascade de protéolyses est amplifiée par d'autres protéines qui jouent le rôle de cofacteurs et régulée par des inhibiteurs [8].

Voie intrinsèque (ou phase contact) : un lien entre coagulation et inflammation

Activation du FXII et libération de la bradykinine

La voie intrinsèque de la coagulation est induite lorsque du sang est mis *in vitro* au contact d'une surface chargée négativement. Une surface anionique (le kaolin est généralement utilisé dans les analyses standard en laboratoire), provoque un changement de conformation du FXII favorisant son (auto)activation protéo-

lytique en FXIIa. Dans une réaction qui implique un cofacteur, le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM), le FXIIa formé protéolyse la prékallibréine (PK) plasmatique en kallibréine active, qui réciproquement active d'autres molécules de FXII [9] (*Figures 1C et 2*). Ce processus déclenche la cascade de la coagulation par activation par le FXIIa du FXI en FXIa (lui-même activateur du FIX, *Figures 1C et 2*). Nous avons montré en outre que la kallibréine formée clive le kininogène pour en libérer le nonapeptide médiateur d'inflammation bradykinine (BK) [10]. Bien que les réactions de la voie intrinsèque soient nécessaires, en tube à essai, pour une coagulation normale, les personnes ayant un déficit dans l'un des trois facteurs de la phase contact ne manifestent généralement pas de syndrome hémorragique. L'observation des patients présentant un déficit en FXII, dont le cas

princeps, Mr Hageman [11], indiquerait même une légère augmentation du risque thrombogène. Pour cette raison, la phase contact est communément considérée comme ayant peu d'importance pour la coagulation *in vivo*, bien qu'elle puisse jouer un rôle dans l'inflammation, car la BK, en se liant à son récepteur, le récepteur B2 (B2R), active divers signaux à l'origine de la vasodilatation, du chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles, et de l'augmentation de la perméabilité vasculaire. Au bout de plus de 40 ans de recherche, il est démontré que le FXII est activé au contact des plaquettes activées [12] et des cellules endothéliales, mais les mécanismes mis en jeu et la nature des molécules activatrices de la phase contact *in vivo* demeurent hypothétiques. Une variété de surfaces polyanioniques physiologiques (collagène, glycosaminoglycanes, acide ellagique...) activent le FXII *in vitro*, mais leur rôle *in vivo* reste à démontrer.

Les PolyP provoquent l'activation du FXII et la production de BK

Le travail de Müller *et al.* [3] a d'abord confirmé que les polyP (100 µg/ml) activent la phase contact dans les plasmas humain et murin en interagissant fortement avec le FXII, l'hydrolyse préalable des polyP avec la phosphatase abolissant l'activation. Les auteurs ont ensuite pertinemment montré non seulement que les polyP induisent la génération de BK dans les plasmas *in vitro*, mais aussi que leur injection intradermique induit la formation, BK-dépendante, d'œdèmes sur la peau de souris sauvages. Les œdèmes ne sont pas observés si les souris sont invalidées pour les gènes codant pour B2R ou pour le FXII. L'effet prothrombotique des polyP *in vivo* a été ensuite démontré par injection intraveineuse de polyP (300 µg/g de poids corporel) chez la souris. Au bout de 5 min, presque toutes les souris sauvages (14/15) meurent par embolie pulmonaire, alors que les souris FXII^{-/-} sont protégées, 12 d'entre elles (sur 15) survivant au-delà de 30 min.

Cette protection contre la thrombose est abolie chez les animaux *FXII*^{-/-} lorsque l'administration intraveineuse de FXII humain est effectuée avant le traitement par les polyP. Enfin, une dernière illustration de l'importance des polyP pour l'hémostase a été fournie par l'étude des plaquettes isolées de patients souffrant du syndrome Hermanski-Pudlak (HPS), syndrome hémorragique dû à la réduction ou à l'absence des granules denses plaquettaires dans lesquels sont stockés les polyP. *In vitro*, le potentiel procoagulant fortement altéré des plaquettes HPS activées (analysées dans du plasma normal dépourvu de plaquettes) est restauré après addition de polyP. Ainsi, les polyP d'origine plaquettaire paraissent être des inducteurs physiologiques de l'activation de la thrombose par la phase contact de coagulation, et stimulent les processus inflammatoires dépendants de la BK. Dans leur article, Müller *et al.* émettent l'idée que les polyP pourraient donc constituer une nouvelle cible pharmacologique dans les maladies inflammatoires et les thromboses, sans pourtant donner la preuve

que la concentration locale en polyP sécrétés par les plaquettes au cours de ces événements chez l'homme le justifie. Les effets clairement démontrés dans la publication l'ont été à l'aide de quantités substantielles de polyP, très importantes comparé à celles qui peuvent être estimées dans les plaquettes². ♦

Platelet polyphosphates: new mediators linking thrombosis with inflammation

CONFLIT D'INTÉRÊTS

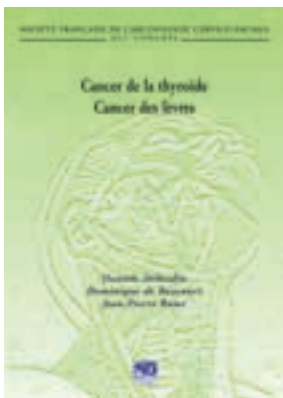
L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Docampo R, de Souza W, Miranda K, *et al.* Acidocalcinsomes—conserved from bacteria to man. *Nat Rev Microbiol* 2005 ; 3 : 251-61.
2. Ruiz FA, Lea CR, Oldfield E, Docampo R. Human platelet dense granules contain polyphosphate and are similar to acidocalcinsomes of bacteria and unicellular eukaryotes. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 44250-7.
3. Müller F, Mutch NJ, Schenk WA, *et al.* Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators *in vivo*. *Cell* 2009 ; 139 : 1143-56.
4. Smith SA, Mutch NJ, Baskar D, *et al.* Polyphosphate modulates blood coagulation and fibrinolysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 903-8.
5. Smith SA, Morrissey JH. Polyphosphate enhances fibrin clot structure. *Blood* 2008 ; 112 : 2810-6.
6. Chu AJ. Tissue factor mediates inflammation. *Arch Biochem Biophys* 2005 ; 440 : 123-32.
7. Collet JP, Choussat R, Montalescot G. L'agrégation plaquettaire et ses inhibiteurs dans les syndromes coronariens aigus. *Med Sci (Paris)* 2004 ; 20 : 291-7.
8. Aiach M, Alhenc-Gelas M, Borgel D, *et al.* Mutations des protéines de la coagulation et thromboses. *Med Sci (Paris)* 2006 ; 22 : 985-9.
9. Griffin JH, Cochrane CG. Mechanisms for the involvement of high molecular weight kinogen in surface-dependent reactions of Hageman factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976 ; 73 : 2554-8.
10. Kerbiriou DM, Griffin JH. Human high molecular weight kinogen. Studies of structure-function relationships and of proteolysis of the molecule occurring during contact activation of plasma. *J Biol Chem* 1979 ; 254 : 12020-7.
11. Ratnoff OD, Colopy JE. A familial hemorrhagic trait associated with a deficiency of a clot-promoting fraction of plasma. *J Clin Invest* 1955 ; 34 : 602-13.
12. Walsh PN, Griffin JH. Contributions of human platelets to the proteolytic activation of blood coagulation factors XII and XI. *Blood* 1981 ; 57 : 106-18.
13. Kaplan AP, Joseph K, Silverberg M. Pathways for bradykinin formation and inflammatory disease. *J Allergy Clin Immunol* 2002 ; 109 : 195-209.

² 10⁸ plaquettes contiennent ~ 0, 9 nmoles de polyP [2], soit 5,7 µg de polyP₈₀ (PM : 6336).

Bon de commande



ISBN : 978-2-8425-4137-8 264 pages

À retourner à EDK, 2, rue Troyon - 92316 Sèvres Cedex
Tél. : 01 55 64 13 93 - Fax : 01 55 64 13 94 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Cancer de la thyroïde – Cancers des lèvres** : 35 € + 3 € de port = **38 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

Par chèque, à l'ordre de EDK

Par carte bancaire : Visa Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | | | | |