

Rôle de l'hémostase dans l'inflammation induite par les virus Influenza A

Fatma BERRI

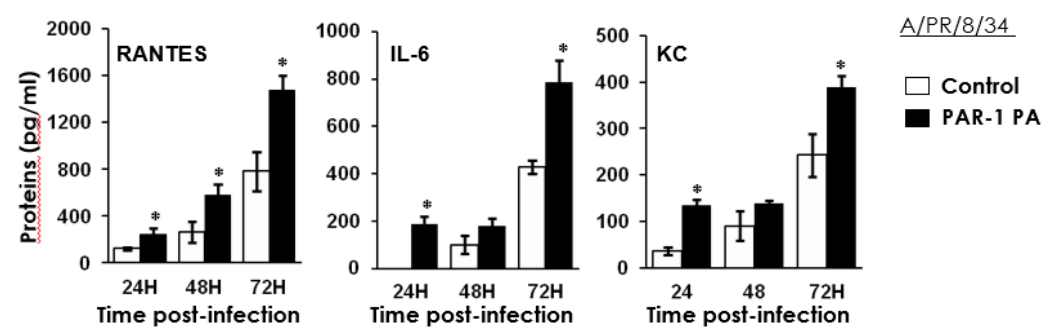
Ce travail de thèse a été réalisé sous la direction du Docteur Béatrice RITEAU
Au sein du laboratoire de Virologie et Pathologie Humaine EA4610 à la faculté de médecine Laennec de Lyon

La grippe est une maladie respiratoire aiguë, due à une infection par des virus influenza. La morbidité et la mortalité, causées par les infections grippales sévères, sont associées à une dérégulation de la réponse immunitaire, au niveau pulmonaire. Cette inflammation délétère serait à l'origine de dommages collatéraux du poumon, entraînant une diminution de la capacité respiratoire du patient. Bien que les mécanismes impliqués ne soient pas totalement élucidés, de récents travaux mettent en évidence un rôle central des cellules endothéliales dans la dérégulation et l'amplification de l'inflammation délétère face à l'infection grippale (1). Lors d'une agression de l'endothélium, le processus physiologique de l'hémostase (activation plaquettaire, coagulation et fibrinolyse) s'active afin de permettre la cicatrisation de la plaie et de maintenir l'intégrité des vaisseaux sanguins. Dans de nombreuses maladies inflammatoires, la seule dérégulation de l'hémostase est directement liée à une réponse inflammatoire délétère.

Nous avons émis l'hypothèse que l'hémostase pouvait être à l'origine de la dérégulation inflammatoire durant les infections grippales. En particulier, nous avons étudié le rôle de deux facteurs fortement impliqués dans l'hémostase et l'inflammation: le récepteur activé par la thrombine, PAR-1 (*Protease Activated Receptor 1*) ainsi que le plasminogène ou sa forme active la plasmine (protéase clé de la fibrinolyse), dans l'inflammation délétère des poumons et dans la pathogénicité des virus influenza A (VIA).

L'approche générale que nous avons utilisée pour d'étudier le rôle de PAR1 dans l'infection grippale, est l'infection *in vivo* chez la souris. Nos résultats ont montré que les souris déficientes en PAR1 ont été protégées de l'infection grippale. Aussi, l'administration intranasale d'agonistes spécifiques de PAR1 augmentait la mortalité induite par le VIA chez la souris, en comparaison avec des souris stimulées avec un peptide contrôle. De manière intéressante, les agonistes de PAR1 n'ont eu aucun rôle sur l'inflammation induite par le VIA chez des souris déficientes en plasminogène (PLG). Ainsi, le rôle délétère de PAR1 dans la pathogénicité des VIA est, du moins en parti, PLG-dépendant. L'administration d'agoniste de PAR1 chez la souris a également augmenté l'inflammation des poumons induite par le VIA (**Figure 1**). Nous avons donc conclu que PAR1 jouait un rôle délétère dans les infections grippales via l'augmentation de l'inflammation. D'une manière intéressante, l'administration intranasale de l'antagoniste de PAR1 (SCH79797) protégeait les souris de la mortalité induite par le VIA, de manière indépendante de la souche grippale et que cette protection était corrélée à une inhibition de l'inflammation pulmonaire (2).

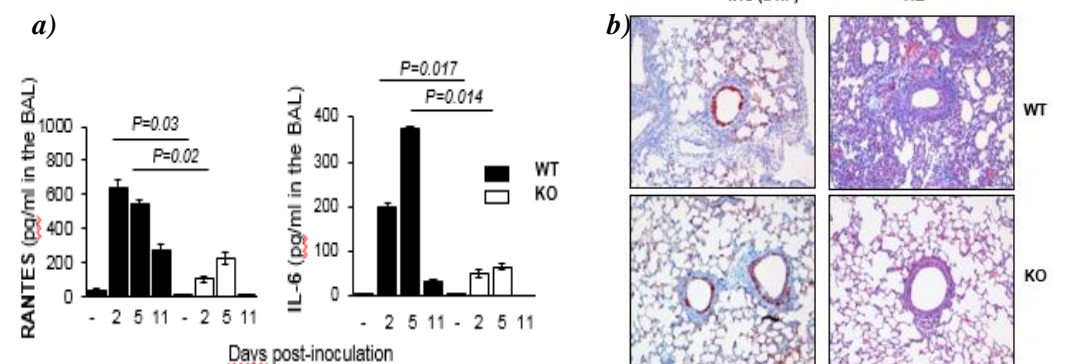
Figure 1 : l'activation de PAR-1 par un agoniste spécifique (PAR-1 PA) augmente l'inflammation induite par le virus influenza.(A/PR/8/34).



Notre deuxième objectif était d'étudier le rôle du PLG, molécule clé de l'hémostase et dont l'activation est à l'origine de la fibrinolyse, dans les infections grippales. Il a été préalablement démontré que la fibrinolyse était activée chez la souris durant les infections grippales (3). Or, ce phénomène libère des produits de dégradation de la fibrine (PDF) qui sont des molécules pro-inflammatoires puissantes (4).

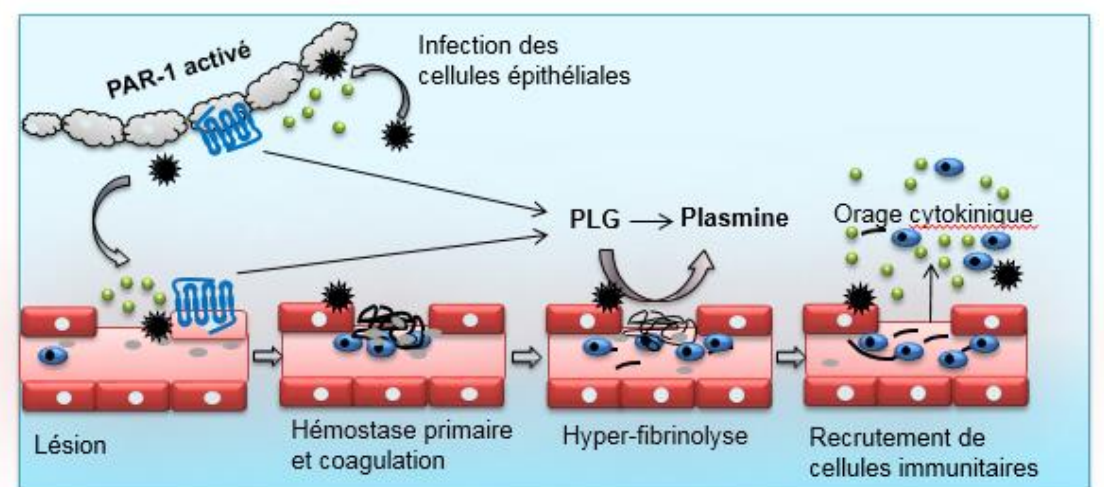
In vivo, nous avons infecté des souris déficientes en PLG ou inhibé pharmacologiquement la transformation du PLG en plasmine. Nous avons observé que les souris déficientes en PLG étaient protégées d'une inflammation délétère des poumons et de l'infection grippale (**figure 2**), d'une manière indépendante de la souche virale (H1N1, et H5N1 hautement pathogènes), en comparaison avec des souris sauvages. Cet effet a été aboli lorsque les souris ont été préalablement traitées avec de l'ancrod, un agent dégradant le fibrinogène. Ainsi, ces résultats ont démontré que l'hyper-fibrinolyse médiée par l'activation du PLG en plasmine joue un rôle important dans l'inflammation délétère des poumons et dans la pathogénicité des virus influenza. De manière intéressante, le traitement des souris avec une molécule anti-fibrinolytique, le 6-AHA (6-Aminohexanoic Acid, Amicar) les a protégées de la mortalité induite par le VIA, également d'une manière indépendante de la souche virale (5).

Figure 2 : l'absence du plasminogène prévient l'inflammation délétère des poumons. Dosage de cytokine inflammatoires dans les lavages broncho-alvéolaires de souris WT et des souris déficientes en plasminogène (PLG-KO) (a) ; analyse histologique des poumons de souris WT et souris PLG-KO (b), infectées par le virus influenza A (A/PR/8/34).



Modèle d'induction de l'avalanche cytokinique durant les infections grippales.

Lors d'une infection grippale sévère, l'endothélium est agressé ou stimulé. L'hémostase est activée, l'activation excessive du plasminogène en plasmine induit une dérégulation de la fibrinolyse. La dissolution du caillot s'effectue avant que la réparation vasculaire n'ait lieu. La perméabilité vasculaire non restaurée conduit à l'avalanche de cytokines et au recrutement des leucocytes dans le poumon infecté. PAR1 agit en augmentant la fibrinolyse induite par les virus influenza.



Outre le rôle de l'hémostase, nous avons également pu mettre en évidence que le virus influenza incorpore des protéines cellulaires dans l'enveloppe virale, lui permettant d'échapper au système immunitaire, ce qui pourrait aussi contribuer à la dérégulation de la réponse de l'hôte (6).

L'ensemble des résultats obtenus ont permis de mieux comprendre les mécanismes à l'origine d'une réponse immunitaire dérégulée dans les infections grippales et de proposer de nouvelles cibles thérapeutiques pour lutter contre la maladie.

- 1)Teijaro JR., et al, 2011. Endothelial cells are central orchestrators of cytokine amplification during influenza virus infection. *Cell* 146: 980-91
- 2)Khouchfi K, Berri F, et al, 2013. PAR1 contributes to influenza A virus pathogenicity in mice. *J Clin Invest*.
- 3)Keller TT, 2006. Effects on coagulation and fibrinolysis induced by influenza in mice with a reduced capacity to generate activated protein C and a deficiency in plasminogen activator inhibitor type 1. *Circ Res*.
- 4)Leavell et al, 1996. The role of fibrin degradation products in neutrophil recruitment to the lung. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 14: 53-60
- 5)Berri F, et al, 2013. Plasminogen Controls Inflammation and Pathogenesis of Influenza Virus Infections via Fibrinolysis. *PLoS Pathog*.
- 6)Berri F, et al, 2014. Annexin V incorporated into influenza virus particles inhibits gamma interferon signaling and promotes viral replication. *J Virol*.