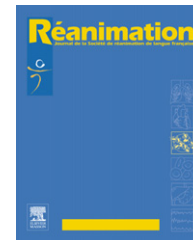




Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com



journal homepage: <http://france.elsevier.com/direct/REURG/>



MISE AU POINT

Inhibiteurs de la coagulation et états infectieux graves

Coagulation inhibitors and severe sepsis: State of the art

F. Fourrier

Service de réanimation polyvalente, département universitaire de réanimation et d'urgences médicales, EA 2689, hôpital Roger-Salengro, CHRU, université de Lille-2, 59037 Lille cedex, France

Disponible sur Internet le 3 avril 2008

MOTS CLÉS

Coagulation ;
Infections sévères ;
Sepsis ;
Inhibiteurs de la
coagulation ;
CIVD ;
TFPI ;
Antithrombine ;
Protéine C

Résumé L'agression infectieuse induit constamment un état procoagulant et antifibrinolytique qui prolonge l'oblitération vasculaire et aggrave les dysfonctions viscérales. Les inhibiteurs naturels de la coagulation (inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI), antithrombine et protéine C) ont pour rôle physiologique de limiter la génération de thrombine en cas d'activation pathologique de la coagulation. Ils sont consommés ou inhibés au cours des états septiques. L'utilisation thérapeutique de ces inhibiteurs dans le sepsis sévère était logique et a justifié la réalisation de grands essais randomisés. Ces études ont montré l'absence d'effet significatif sur la mortalité avec le TFPI recombinant ou les concentrés d'antithrombine, mais il existait des biais méthodologiques et une interaction avec l'héparine. Une réduction de la mortalité des patients présentant deux défaillances viscérales a été observée avec la PC recombinante activée. Les études complémentaires n'ont pas permis d'en confirmer l'efficacité chez les patients de moindre gravité ou chez l'enfant, justifiant le lancement récent de nouveaux essais dans le choc septique. De ces échecs thérapeutiques relatifs, ressortent cependant trois notions importantes : (1), les variations précoces des taux plasmatiques de ces inhibiteurs possèdent un très grande valeur prédictive de la mortalité et des défaillances viscérales ; (2) leurs effets spécifiques sur les troubles de l'hémostase n'ont pas été étudiés prospectivement et il reste ainsi à prouver que le contrôle de la coagulation intravasculaire puisse par lui-même améliorer le pronostic du sepsis ; (3) de très nombreuses études expérimentales et cliniques ont démontré que ces protéines modulent les réactions inflammatoires, la vasomotricité et l'adaptation de la microcirculation à l'état septique, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles applications thérapeutiques.

© 2008 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

KEYWORDS

Sepsis;
Coagulation;
Coagulation
inhibitors;
Tissue factor;
TFPI;
Antithrombin;
Protein C

Summary A pathologic activation of the coagulation system occurs during severe infections and is a major determinant of subsequent organ dysfunction. The natural anticoagulants (Tissue factor pathway inhibitor [TFPI], Antithrombin, and Protein C) serve as potent inhibitors of thrombin generation. They are consumed or inhibited during severe sepsis justifying a therapeutic supplementation. Three large randomized controlled studies were performed with these inhibitors. No effect on mortality could be documented with recombinant TFPI or AT concentrates but a biological interaction with heparin therapy could have biased the results. Treatment with recombinant activated PC was associated with a significant reduction in the mortality rate of severely ill patients but additional studies showed a lack of effect in less severe patients and in children. Two trials are underway to definitely document the reduction of mortality in patients with septic shock. From these different studies, three major applications can be drawn: (1) the early changes in the plasma levels of these inhibitors are strongly predictive of subsequent mortality and organ failure and may be used as prognostic indexes; (2) the specific effects of these inhibitors on the intravascular coagulation process have not been prospectively studied and it remains to be documented if the therapeutic control of haemostasis could decrease by itself the mortality rate; (3) numerous experimental and clinical studies have shown that these inhibitors serve as potent regulators of inflammatory and microcirculatory changes, that could be used in new and specific therapeutic applications.

© 2008 Société de réanimation de langue française. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Les états infectieux graves provoquent un syndrome d'activation anormale de la coagulation, associé à une inhibition de la fibrinolyse réactionnelle. La survenue d'une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) est ainsi la conséquence d'une génération pathologique et explosive de la thrombine conduisant au dépôt intravasculaire de fibrine, à la formation de microthromboses et à la consommation des facteurs d'hémostase. Ces troubles de la coagulation sont observés au cours des infections dues aux bactéries à Gram négatif et à cocci à Gram positif, mais peuvent aussi compliquer les infections fongiques ou parasitaires et certaines viroses [1]. Ils diminuent la délivrance des substrats aux tissus, sont en interaction étroite avec les réactions inflammatoires, et sont aujourd'hui considérés comme jouant un rôle important dans la défaillance multiviscérale des états infectieux graves [2].

Les inhibiteurs physiologiques de la coagulation s'opposent normalement à la génération excessive de la thrombine induite par l'état septique. L'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI) bloque précocement l'activation du complexe facteur tissulaire-facteur VII et inhibe le facteur X. L'antithrombine (AT) inhibe directement les sérines protéases et essentiellement thrombine et facteur X. La protéine C (PC) inhibe les facteurs Va et VIIIa et limite ainsi indirectement la formation de thrombine. Il s'agit dans tous les cas d'inhibiteurs suicides qui sont dégradés au cours du processus. Leurs taux plasmatiques sont précocement et longtemps diminués au cours des états infectieux graves. C'est ce qui a justifié leur utilisation thérapeutique et la réalisation de grands essais randomisés aujourd'hui bien connus. Dans cette mise au point, seront présentés les principaux résultats de ces études, leur interprétation, et des notions plus récentes sur leurs effets physiologiques permettant de comprendre les limites potentielles de leur utilisation thérapeutique.

Traitement des états infectieux graves par les inhibiteurs de la coagulation : résultats des études cliniques

Pour limiter les conséquences viscérales de l'activation de la coagulation, l'organisme dispose de systèmes anticoagulants très efficaces. Lorsque l'agression est modérée et le terrain favorable, la restauration du potentiel anticoagulant est naturellement assurée lorsque la cause est rapidement maîtrisée, l'état hépatique normal et les lésions endothéliales limitées, car les capacités de synthèse de ces systèmes anticoagulants physiologiques sont alors suffisantes pour arrêter le processus thrombotique. Malheureusement, ces capacités sont souvent dépassées par l'intensité du processus infectieux et la génération explosive de la thrombine. Les traitements substitutifs visent ainsi à assurer la restauration du potentiel anticoagulant naturel. Ces anticoagulants sont donc le TFPI, l'antithrombine et la protéine C.

Essais thérapeutiques du TFPI

Les effets de l'inhibition de l'activation du facteur tissulaire (FT) ont été étudiés dans divers modèles animaux, en utilisant soit des anticorps monoclonaux anti-FT, soit du TFPI recombinant. Les résultats les plus probants ont été obtenus dans un modèle de choc septique chez le babouin [3–6]. Chez l'homme, le TFPI recombinant (laboratoires Chiron) a été testé dans deux essais de phase II et III (étude Optimist) [7,8]. Les résultats des deux études ont été négatifs sur la mortalité du sepsis sévère. Dans l'étude Optimist, les inclusions étaient stratifiées en fonction du niveau de l'INR (supérieur ou inférieur à 1,2). La mortalité observée atteignait 34,3% dans le groupe traité contre 33,9% dans le groupe placebo. La mortalité globale était beaucoup plus faible chez les patients présentant à l'inclusion un INR < 1,2 avec une différence non significative en faveur

du traitement (12 % contre 22,9 %, $p=0,051$). Il existait une interaction significative avec l'héparine utilisée à titre antithrombotique et la fréquence des accidents hémorragiques était plus élevée chez les patients traités. L'effet sur la CIVD semblait favorable avec une amélioration significative des marqueurs de coagulation (facteurs 1+2 de la prothrombine, complexes thrombine-antithrombine).

Essais thérapeutiques de l'AT

Les études expérimentales de supplémentation par AT au cours des CIVD septiques ont été menées chez le rat, le hamster, le chien, le porc et le babouin avec des résultats concordants [9,10]. Chez l'homme, une seule étude contrôlée s'est spécifiquement intéressée aux effets sur les troubles de l'hémostase au cours des états de choc septique et a montré une correction significativement plus précoce de la CIVD dans le groupe traité [11]. L'effet des concentrés d'AT sur la mortalité globale a fait l'objet de plusieurs études de phase II. Une méta-analyse incluant 135 patients a montré une tendance non significative à une réduction de mortalité (-22 %) [12] et une étude italienne chez 122 patients a retrouvé une diminution significative de la mortalité en cas de choc septique [13]. L'étude internationale de phase III «*Kybersept*», a comparé en double insu l'effet de concentrés d'AT par rapport à un placebo sur la mortalité des patients présentant un état septique sévère [14]. Les troubles d'hémostase n'étaient pas spécifiquement étudiés. L'étude a inclus 2314 patients et a malheureusement comporté un nombre important de violations du protocole qui de plus, autorisait l'anticoagulation préventive des patients. En intention de traiter, la mortalité à 28 jours n'a pas été modifiée par l'administration d'AT (38,9 % versus 38,7 %). Une incidence accrue de complications hémorragiques a été observée chez les patients traités par AT et recevant une héparinothérapie concomitante.

Essais thérapeutiques de la protéine C

Chez l'animal septique, les concentrés de PC ou la PC activée diminuent la mortalité et améliorent significativement les dysfonctions viscérales [15]. Chez l'homme, l'utilisation de concentrés de PC native extraits du plasma a fait l'objet d'une dizaine d'études ouvertes et d'une étude contrôlée, au cours du purpura fulminans méningococcique [16].

La PCa recombinante humaine (alpha-drotrecogin : Xigris®, laboratoire Eli-Lilly) a fait l'objet d'une étude de phase II et d'une étude multicentrique internationale randomisée en double aveugle contre placebo (étude «*Prowess*») [17]. Dans cette étude, 1728 patients ont été évalués. Le traitement était associé à une réduction du risque relatif de décès de 19,4 %, avec une réduction brute de 6,1 % de la mortalité à 28 jours. L'effet du traitement n'a été significatif que chez les patients présentant un état septique sévère de survenue récente, responsable de deux défaillances viscérales et dont le score de gravité (Apache 2) était élevé. L'incidence des effets adverses hémorragiques survenus au cours de la période de perfusion était significativement plus élevée chez les patients traités, alors même que les patients présentant un risque hémorragique n'étaient pas inclus. L'essai Prowess a fait l'objet de très nombreuses

analyses de sous-groupes et de plusieurs articles détaillant les caractéristiques cliniques et biologiques des patients inclus (principales références dans [18]).

Une étude contrôlée complémentaire (étude Address) qui devait inclure plus de 11 000 patients septiques ne présentant qu'une seule dysfonction viscérale a été réalisée et arrêtée pour «*futilité*». Dans cette étude 2640 patients ont été inclus. Aucun effet sur la mortalité n'a été mis en évidence (17,0 % dans le groupe placebo, 18,5 % dans le groupe traité [19]).

Par ailleurs, il semblait exister une interaction entre la PC activée recombinante et l'héparine. Dans le groupe placebo de l'essai Prowess, la mortalité des patients héparinés atteignait 28,1 %, contre 39,4 % chez les patients non héparinés. Chez les patients sous héparine, la PC activée ne semblait pas apporter de bénéfice supérieur. La pertinence de ces données a été largement débattue car le traitement par l'héparine n'avait pas été randomisé. Les données biologiques plaidaient cependant pour la réalité d'une interaction, l'activité physiologique de l'inhibiteur naturel de la PC (PC inh) étant très augmentée par l'héparine. Cela a justifié une étude complémentaire (étude Xpress) [20], étude d'équivalence comparant chez des patients traités par PC activée recombinante, l'association à un traitement prophylactique par l'héparine ou à un placebo. Cet essai n'a pas conclu à l'équivalence, la mortalité dans le groupe recevant de l'héparine étant plus basse (28,3 % contre 31,9 %, $p=0,08$), et la mortalité des patients recevant un traitement par l'héparine à l'inclusion étant très significativement diminuée par rapport au placebo (26,9 % contre 35,6 % ; $p=0,005$). Ainsi, le sous-groupe des patients chez lesquels le traitement héparinique initial avait été arrêté pour être remplacé par le placebo accusait une mortalité beaucoup plus élevée. L'association avec un traitement antithrombotique par l'héparine ne semblait donc pas antagoniste mais l'arrêt de l'héparine lorsque le traitement par PC activée était mis en route paraissait tout à fait délétère. La fréquence des manifestations thrombotiques veineuses (thrombophlébites, embolie pulmonaire, etc.) n'était pas supérieure dans le groupe placebo témoignant de l'effet préventif de la PC activée sur l'hypercoagulabilité de ces patients alors que celle des accidents vasculaires cérébraux thrombotiques artériels était plus élevée dans le groupe placebo.

Chez l'enfant, de grands espoirs étaient nés de l'utilisation des concentrés de PC dans le *purpura fulminans*. Les résultats de l'étude de la PC activée recombinante étaient donc très attendus. L'étude Resolve [21] n'a malheureusement pas donné de résultats significatifs. L'analyse était fondée sur l'effet du traitement sur un score composite mesurant la résolution des défaillances d'organe. Dans cet essai, 477 enfants ont été inclus et aucune différence n'a pu être observée sur la mortalité ou le score retenu comme critère principal. Malheureusement, le nombre d'enfants présentant un *purpura fulminans* était trop faible pour pouvoir documenter un effet quelconque.

Au total, des trois grands essais réalisés avec le TFPI, l'AT et la PC, seule l'étude Prowess a permis de documenter un effet favorable sur la mortalité. Les polémiques ont été nombreuses et parfois violentes [22] Elles ont conduit à tenter de confirmer aujourd'hui cette efficacité dans un nouvel essai contre placebo chez les patients présentant un état de choc septique. Il faut souligner qu'aucun de ces essais n'a

été consacré à l'évaluation des effets du traitement sur les troubles de l'hémostase. Aucun ne comportait de critères spécifiques de CIVD à l'inclusion et les patients à risque hémorragique en étaient exclus, en particulier lorsqu'il existait une thrombopénie sévère. Très logiquement, le TFPI recombinant n'a pas reçu d'autorisation réglementaire. En France, les concentrés d'AT disposent toujours d'une AMM pour le traitement spécifique des CIVD notamment d'origine septique. Les indications réglementaires actuelles du traitement par la protéine C activée recombinante restent fondées sur la présence d'un état de sepsis sévère compliqué de deux dysfonctions d'organe au moins, mais le produit est bien moins fréquemment utilisé qu'il ne devrait l'être sur ces indications. C'est là simplement le reflet de l'incrédulité de beaucoup de réanimateurs, des doutes persistants sur l'efficacité réelle et des craintes sur les effets hémorragiques de la molécule.

Interprétation physiopathologique et applications actuelles

Depuis la publication de ces trois essais, les connaissances physiopathologiques se sont considérablement enrichies sur les mécanismes d'action et les régulations de ces systèmes inhibiteurs. Ces nouvelles données permettent-elles d'expliquer les différences observées dans les résultats cliniques et quelles applications en retirer aujourd'hui ?

TFPI

Le TFPI est un anticoagulant naturel puissant qui neutralise par complexation lente et réversible le facteur Xa et forme avec les GAGs un complexe quaternaire dans lequel sont également neutralisés le facteur VIIa et le FT. Le TFPI agit donc sur l'étape initiale de l'expression du FT. C'est un inhibiteur de type Kunitz qui module également les réactions inflammatoires par sa liaison avec les récepteurs PAR. La dissociation du TFPI de l'endothélium est augmentée par l'héparine. L'élastase leucocytaire est aussi un inhibiteur puissant de son activité. Expérimentalement, l'injection d'anticorps neutralisant le TFPI induit une CIVD chez l'animal [23,24]. Au cours du choc septique léthal chez le babouin, l'injection de TFPI prévient totalement l'apparition des stigmates de CIVD et assure la survie des animaux [23]. En dehors de ses effets sur la coagulation, le TFPI pourrait inhiber les réactions inflammatoires cellulaires d'origine septique. Lorsque du TFPI est injecté au cours du choc septique à *Escherichia coli*, on observe ainsi une diminution très significative des taux plasmatiques de l'interleukine-6.

Les études cliniques disponibles sur le TFPI ont montré au cours du choc septique une augmentation importante des taux plasmatiques de TFPI en rapport avec un relargage endothélial. Cependant, la diminution du rapport TF/TFPI est en faveur de la constitution d'un déficit relatif en TFPI au cours des infections [24]. La valeur pronostique de ces anomalies reste discutée. Il n'y a pas actuellement d'applications cliniques de ces notions et l'étude des variations des taux plasmatiques de TFPI n'est pas utilisée à titre pronostique, en raison des difficultés techniques du dosage et de son interprétation.

Les résultats négatifs de l'étude *Optimist* étaient probablement entachés de biais liés à l'association avec l'héparine et à des doses utilisées inadéquates, expliquant un taux important d'incidents hémorragiques. Une autre hypothèse plus récemment soutenue à partir d'études biologiques est que les effets anticoagulants du TFPI recombinant puissent être dissociés de ses effets modulateurs de l'inflammation. Aux doses utilisées en clinique, les effets anti-inflammatoires sur les récepteurs PAR paraissent faibles ou nuls alors que les effets purement anticoagulants sont significatifs [25]. Des études expérimentales sont en cours utilisant une molécule de structure modifiée dont les effets modulateurs de l'inflammation pourraient être importants et sans influence sur la coagulation. Enfin, la possibilité que le TFPI puisse améliorer les processus coagulants et inflammatoires survenant au cours des pneumonies communautaires graves fait l'objet actuellement d'une étude contrôlée (essai NTC00084071) qui devrait inclure 2100 patients. Les résultats sont attendus en 2009.

L'AT

L'AT est un inhibiteur irréversible des sérine protéases, neutralisant essentiellement la thrombine et le facteur Stuart, mais aussi les facteurs XIIa, XIa, IXa, et la plasmine. Sa vitesse d'action anticoagulante est considérablement augmentée par les GAGs de la surface endothéliale et par l'héparine. L'AT régule la génération de thrombine initiée par le TF et cet effet est potentialisé par le TFPI [26]. Elle joue également un rôle de régulation des réactions inflammatoires et de la vasomotricité. De très nombreuses études expérimentales ont documenté des effets anti-inflammatoires et microcirculatoires [27–30]. Ainsi, la molécule inhibe la synthèse de l'IL-6, elle augmente le relargage de la prostacycline endothéliale, inhibe le rolling et l'adhésion des leucocytes en modulant les protéines d'adhésion. Elle inhibe également l'activation du facteur nucléaire NF- κ B, diminue l'expression du TNF et module enfin les processus d'apoptose lymphocytaire dépendant des granzymes. Ces effets anti-inflammatoires sont observés à doses supraphysiologiques et nécessitent la liaison de l'AT aux GAGs de l'endothélium et à un récepteur spécifique, le Syndecan 4. Ils sont inhibés par l'héparine qui modifie l'affinité de l'AT pour son récepteur [27–30].

Au cours des états septiques, qu'il s'agisse de l'injection d'endotoxine, de bactéries vivantes ou des états septiques humains, la concentration d'AT diminue très rapidement jusqu'à constituer un déficit acquis sévère, atteignant en quelques heures 30 à 40% des valeurs normales. La normalisation des taux plasmatiques n'est observée qu'avec six à dix jours de retard, même lorsque l'affection initiale évolue favorablement. Les mécanismes du déficit sont multifactoriels : consommation secondaire à la complexation de l'AT avec la thrombine, dénaturation de la molécule par l'élastase leucocytaire, passage extravasculaire, diminution de synthèse sous l'influence des cytokines, la molécule se comportant comme une protéine négative de la phase aiguë. La précocité et la valeur pronostique de la chute du taux plasmatique d'AT sont documentées par de nombreux études cliniques qui montrent que la variation précoce des taux

Tableau 1 Le niveau initial et l'évolution des inhibiteurs de la coagulation sont de bons marqueurs de gravité et de dysfonctions d'organe au cours du sepsis (voir références [31,33,45]).

Score CIVD (ISTH) > 4 points = mortalité multipliée par 2
 Score CIVD (ISTH) > 6 points = mortalité > 70 %
 AT initiale < 40 % = mortalité > 40 %
 Protéine C < 40 % = SOFA > 10
 Diminution du taux d'AT à 24 H = mortalité > 50 %
 Chute du taux de PC à 24 H > 10 % = mortalité multipliée par 2

plasmatiques possède une grande valeur prédictive de la mortalité et des dysfonctions d'organe [31–33]. (Tableau 1).

Contrairement au succès de l'étude Prowess, l'échec de l'étude Kybersept a été peu analysé sauf pour souligner les biais méthodologiques de l'étude et la responsabilité possible de l'association avec l'héparine. Dans le groupe traité par AT, la mortalité à 28 jours était réduite chez les patients ne recevant pas d'héparine (37,8% versus 43,4%), et la mortalité à 90 jours était significativement plus basse. Inversement la mortalité du groupe placebo était moindre chez les patients héparinés (36,5% versus 43,4%). Ces différences ont été considérées comme le reflet de l'interaction endothéliale entre AT et héparine, cette dernière pouvant augmenter la destruction protéasique de l'AT par l'élastase leucocytaire, diminuer son affinité pour les GAGs de l'endothélium et ainsi inhiber ses effets. Quant aux effets anti-inflammatoires du traitement, aucun dosage des médiateurs de l'inflammation n'ayant été réalisé dans l'étude *Kybersept*, il est impossible de savoir si le traitement s'est accompagné ou non d'une amélioration de ces marqueurs. Des rapports complémentaires à partir de l'analyse du sous-groupe des patients non héparinés sont en faveur d'un effet sur la mortalité, mais il s'agit d'analyse post-hoc. Enfin une méta-analyse récente a réuni les études thérapeutiques réalisées avec les concentrés d'AT [34]. Elle est entachée d'un biais considérable lié à l'inclusion d'études disparates menées chez des patients très différents dont beaucoup ne présentaient pas d'infection (prééclampsie, greffes). Elle a conclu à l'absence d'efficacité sur la mortalité et comme c'était attendu, à la possibilité d'une action favorable chez les patients présentant une CIVD et ne recevant pas d'héparine.

Au total, l'application clinique aujourd'hui possible est la suivante :

- le dosage plasmatique de l'AT possède une grande valeur prédictive, à condition de mesurer son taux initial et sa variation dans les 24 heures qui suivent. Un déficit initial inférieur à 40 % ou une chute secondaire du taux sont très significativement associés à une mortalité élevée et à la survenue de défaillances d'organe ;
- l'utilisation des concentrés d'AT n'est pas recommandée dans les états septiques sévères « tout venant » ;
- le traitement d'une CIVD septique peut utiliser les concentrés d'AT, en utilisant des doses suffisantes pour corriger le déficit mesuré et en évitant toute association à l'héparine. Il n'existe pas de preuves que ce traitement, au demeurant très onéreux, réduise la mortalité. Il

existe des preuves cliniques assez robustes pour un effet favorable sur les paramètres de la coagulation.

La PC

Le système de la protéine C activée limite la génération de thrombine et exerce une activité pro-fibrinolytique et anti-inflammatoire. La PC est synthétisée par le foie sous la dépendance de la Vitamine K à l'état de zymogène inactif (PC native). Elle est activée par la thrombine au niveau d'un récepteur spécifique (*Endothelial Protein C receptor*: EPCR) en présence d'une protéine endothéliale, la thrombomoduline (TM). L'activation par la thrombine répond à une protéolyse limitée, considérablement accélérée par la liaison thrombine-TM. La PC une fois activée (PCa) circule dans le plasma à une concentration très faible avec une demi-vie très brève (15–30 minutes) [35].

La PCa limite la génération de thrombine en exerçant une activité rapide de dégradation irréversible des facteurs Va et VIIIa, ce qui induit un allongement du temps de Céphaline activé (TCA). L'activité anticoagulante dépend d'un cofacteur, la protéine S (PS), synthétisée sous forme active par le foie, sous dépendance de la vitamine K. La PS circule dans le plasma sous une forme libre et sous forme liée à une protéine transporteuse du complément, la C4b binding protein (C4bBP). Le taux de PS libre active dépend ainsi de cette liaison. La PC exerce donc une rétroaction négative sur la production de thrombine, selon une cascade d'activation faisant intervenir le complexe thrombine–thrombomoduline comme mécanisme activateur du zymogène synthétisé par le foie, le récepteur cellulaire endothélial spécifique (EPCR) comme modulateur de l'activation et la PS libre comme cofacteur de l'activité anticoagulante [36,37]. La PCa possède également une activité profibrinolytique lente. Elle exerce des effets anti-inflammatoires en diminuant la sécrétion de TNF α et d'IL-6, en modulant l'expression des molécules d'adhésion et l'activation leucocytaire, en diminuant l'activation du NF- κ B et les voies de l'apoptose cellulaire [38–41]. La PCa est inhibée physiologiquement par l' α -1 protéinase inhibiteur, l' α -2 macroglobuline et par un inhibiteur plasmatique (PC inhibiteur) dont l'activité est augmentée par l'héparine [37] (voir la Fig. 1).

L'activité de la PC décroît au cours des CIVD et des états de sepsis sévère [31]. Les mécanismes sont multiples : consommation dans le processus de CIVD, diminution de synthèse hépatique, inhibition par les systèmes protéasiques, diminution de la concentration de la PS libre en rapport avec une augmentation d'affinité pour la C4bBP. Il en résulte une diminution importante de la demi-vie de la molécule. Enfin au cours des états infectieux les plus sévères, l'augmentation des cytokines pro-inflammatoires réduit l'expression de la TM, avec pour conséquence une diminution de l'activation de la PC native. Ainsi, l'intérêt thérapeutique des concentrés de PC obtenus par séparation plasmatique a été remis en question au cours des états infectieux sur la foi d'une étude montrant une diminution des capacités endothéliales d'activation de la PC native par la TM au cours des infections à méningocoques [42]. Cette notion a été récemment révisée à partir d'études cliniques montrant qu'en réalité les capacités d'activation de la PC native étaient le plus souvent maintenues et suffisantes ou à

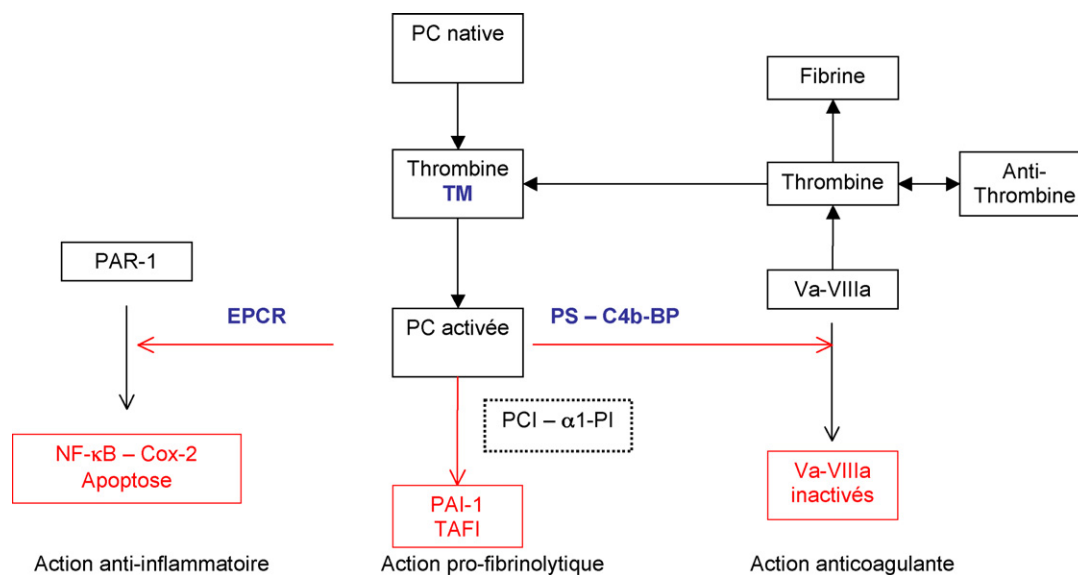


Figure 1 Système protéine C–protéine C active (adapté de Rezaie AR. [40]).

α -1-PI : alpha 1 protéinase inhibiteur ; C4bBP : protéine de liaison du C4b ; EPCR : récepteur endothélial de la protéine C ; NF- κ B : facteur de transcription nucléaire ; PAI-1 : inhibiteur de l'activateur du plasminogène ; PAR-1 : protease activated receptor ; PC : protéine C ; PCa : protéine C active ; PCI : PC inhibiteur ; PS : protéine S ; TAFI : inhibiteur de la fibrinolyse activé par la thrombine ; TM : thrombomoduline.

Sont figurés en bleu les cofacteurs régulateurs des effets physiologiques de la PC, en rouge les effets majeurs de la protéine.

tout le moins variables selon les patients [43,44]. Dans cette situation, certains auteurs considèrent que n'étant activés qu'au site de la thrombose et faisant courir moins de risque hémorragique, les concentrés de PC seraient aussi efficaces et moins dangereux que la PC recombinante. L'étude contrôlée réalisée chez les enfants atteints de *purpura fulminans* recevant des doses croissantes de PC native est cohérente avec cette hypothèse ; elle a montré une augmentation de l'activation endothéliale de la PC native, proportionnelle aux doses de concentrés de PC injectés et l'absence d'effets hémorragiques majeurs [16].

Les mesures séquentielles des paramètres de la coagulation réalisées au cours des essais thérapeutiques et d'autres études prospectives ont montré que le taux d'activité PC possédait une bonne valeur prédictive de la mortalité au cours des sepsis sévères, mais avec une valeur opérationnelle inférieure à celle du taux d'AT [45]. Une étude récente a montré que les variations de l'activité PC étaient particulièrement bien corrélées avec la survenue des dysfonctions viscérales, mesurées par le score SOFA et ses sous classes [46].

Dans l'étude Prowess, l'analyse par sous-groupe a montré que les patients ayant développé une CIVD ou un état de choc septique, semblaient tirer le meilleur bénéfice du traitement [18]. Cependant l'effet sur les troubles d'hémostase n'était pas un objectif primaire de l'étude et malheureusement les critères utilisés pour apprécier l'effet sur la CIVD étaient différents des critères internationaux actuellement adoptés (critères de l'International Society of Thrombosis and Haemostasis). Un point particulier concernant ces troubles d'hémostase était représenté par un rebond des marqueurs de coagulation à l'arrêt du traitement (d-dimères) témoignant probablement d'une insuffisante durée du traitement. Cette constatation était parfaitement

cohérente avec la demi-vie très brève de la PC recombinante activée et avec les mesures séquentielles des marqueurs d'hémostase réalisées dans plusieurs études qui démontrent une activation prolongée de la coagulation, dont la durée habituelle dans les états septiques atteint cinq à six jours [31]. L'efficacité d'un traitement plus prolongé est en cours d'évaluation dans une étude clinique qui compare quatre et sept jours de traitement au cours du sepsis sévère.

L'absence de confirmation de l'efficacité de la PC activée dans les études complémentaires Address et Resolve a été et reste amplement discutée. L'une des hypothèses explicatives est la possibilité que l'effet du traitement dépende finalement soit de l'intensité du déficit en protéine C active – et donc de la capacité individuelle du patient à réaliser la transformation endothéliale de la molécule au niveau endothélial – soit de la variabilité des actions anti-inflammatoires au niveau de leur transcription cellulaire. Comme pour le TFPI, des modifications structurelles de la molécule recombinante ont été réalisées pour mettre au point un composé dénué d'effet anticoagulant mais gardant ses propriétés modulatrices de l'inflammation [40]. L'avenir dira si cette approche est intéressante.

Interprétation globale de ces résultats

Il n'est pas facile de tenter d'expliquer pourquoi des résultats discordants ont pu être observés lors des essais cliniques de trois molécules qui exercent des effets finalement si proches, à la fois sur les processus coagulants et sur l'inflammation. Les biais de recrutement, l'interaction avec l'héparine, l'absence de prise en compte des troubles d'hémostase ont certainement joué un rôle pour le TFPI et l'AT. La logique voudrait aussi qu'un traitement réa-

lisé plus précocement chez un patient moins grave possède la plus grande efficacité. C'est pourtant l'inverse qui a été observé avec la PC recombinante activée et l'absence d'effet thérapeutique chez les patients peu sévères n'y était pas simplement liée à la fréquence des accidents hémorragiques.

Quelques pistes et hypothèses peuvent être proposées : (1) il est bien possible que l'effet des inhibiteurs naturels de la coagulation soit conditionné par le niveau même d'activation du processus coagulant, si bien que dans une situation peu sévère, les effets favorables ne puissent être observés. On peut concevoir en effet que lorsque la génération des médiateurs coagulants est faible, une supplémentation à très haute dose par un anticoagulant naturel puisse exercer des effets délétères sans avoir d'action sur l'inflammation ou la microcirculation. Un travail récent va dans ce sens qui montre que l'efficacité de la PC activée est plus grande chez les patients septiques présentant une élévation importante des marqueurs d'ischémie [47]; (2) l'action de ces inhibiteurs est modulée par des mécanismes physiopathologiques particuliers et des modulations individuelles. Des mutations ou des polymorphismes génétiques expliquent probablement pourquoi certains patients sont plus ou moins capables de préserver leurs capacités de synthèse hépatique ou de transformation endothéliale active [44]. De plus, la distribution et l'expression des cofacteurs endothéliaux de ces inhibiteurs ne sont pas uniformes et il existe de grandes différences dans l'expression des GAGs, de la TM ou de l'EPCR en fonction des lits vasculaires et des organes. Ce serait l'explication des différences d'effet préventif antithrombotique au niveau des lits artériels et veineux et entre la macro-et la microcirculation [48]. Dans cette hypothèse, les microparticules endothéliales et monocytaires générées par l'activation de la coagulation pourraient jouer un rôle considérable dans la dissémination du processus thrombotique, mais aussi dans la modulation des effets thérapeutiques des inhibiteurs. Ces microparticules détachées de l'endothélium peuvent en effet emporter avec elles à la fois le message procoagulant (facteur tissulaire) et inflammatoire mais aussi les cofacteurs (TM, EPCR, GAGs) indispensables à l'action des inhibiteurs. L'équilibre entre activateurs et inhibiteurs pourrait ainsi déterminer l'effet global résultant des traitements. (3) Enfin, il est extrêmement probable que l'effet des inhibiteurs de la coagulation diffère en fonction du stade et du site de l'infection. D'une part, les médiateurs de la coagulation (et de la fibrinolyse) exercent des effets opposés sur les processus d'activation leucocytaire ou de cicatrisation selon qu'ils agissent au niveau systémique ou au niveau local. Par exemple, le PAI-1 (inhibiteur de l'activateur du plasminogène), inhibiteur principal de la fibrinolyse, dont l'augmentation au cours du choc septique est considérée comme très délétère au niveau systémique, exerce au contraire un effet protecteur dans les processus de cicatrisation pulmonaire des agressions pulmonaires aiguës. D'autre part, dans les infections focalisées, l'activation de la coagulation joue certainement un rôle protecteur en limitant la dissémination du processus infectieux. L'inhibition des réactions coagulantes pourrait ainsi avoir un effet délétère en supprimant la « compartimentalisation » de l'infection. Cette hypothèse est particulièrement étudiée au cours des pneumonies. Chez l'animal et chez l'homme, de nombreuses études ont montré

en effet qu'il existait une activation intra-alvéolaire de la coagulation, associée comme au niveau systémique, à une inhibition de la fibrinolyse. Ces processus ont été accusés de favoriser les lésions alvéolaires et la fibrose secondaire. Il était tentant d'utiliser les inhibiteurs de la coagulation pour les inhiber. Les résultats des études expérimentales sont extrêmement discordants dans ce domaine. Donnés précocement aux doses utilisées en clinique, TFPI, AT ou protéine C activée semblent s'accompagner d'effets délétères et provoquer une décompartmentalisation systémique des phénomènes inflammatoires, et une augmentation des lésions hémorragiques et de l'œdème, avec même dans certains modèles une aggravation significative de l'effet *shunt* [49–51]. Les études réalisées dans le syndrome de détresse respiratoire des grands prématurés vont dans ce sens qui ont même montré une augmentation de la mortalité chez les enfants traités par concentrés d'AT. À l'inverse, et au moins pour l'AT, des effets favorables sont observés dans les pneumonies à streptocoque ou dans les lésions pulmonaires induites par la fumée [52]. Il est trop tôt pour conclure et l'avenir dira si ces résultats expérimentaux seront ou non confirmés par les études cliniques en cours dans les pneumonies communautaires ou le SDRA. Dans tous les cas, toutes ces considérations pour le moment assez théoriques sont en faveur d'une réévaluation des critères d'inclusion des patients dans les études thérapeutiques. Ceux-ci devraient être plus spécifiquement fondés sur l'existence de troubles d'hémostase patents et/ou sur le site de l'infection et son évolution.

En conclusion, les troubles de l'hémostase sont constants au cours des infections graves. Leur rôle dans la mortalité et la survenue de dysfonctions viscérales a justifié qu'ils soient évalués et traités spécifiquement. En raison des interrelations très étroites entre ces molécules et la réponse inflammatoire à l'infection, il est encore aujourd'hui impossible de savoir si les effets cliniques sont liés à leur action sur l'inflammation, à leur efficacité spécifique sur la coagulation ou dépendent de l'ensemble de leurs actions physiologiques. Il est plus que probable que leurs effets sont modulés par des susceptibilités individuelles et surtout des mécanismes de régulation hémostatique systémiques et locaux. Les inhibiteurs de la coagulation ont ouvert une nouvelle voie thérapeutique. La page est loin d'être refermée. . .

Conflits d'intérêts

Conflit d'intérêt financier : aucun.

Références

- [1] Otten HM, Kramer J, Levi M, ten Cate H. The association of disseminated intravascular coagulation with specific diseases. *Réanimation* 2002;11:575–83.
- [2] Dhainaut JF, Charpentier J. CIVD et défaillance d'organes : arguments expérimentaux et cliniques. *Réanimation* 2002;11:599–611.
- [3] Doshi SN, Marmur JD. Evolving role of tissue factor and its pathway inhibitor. *Crit Care Med* 2002;30:S241–50 (Suppl.).
- [4] Osterud B, Bjorklid E. The tissue factor pathway in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost* 2001;27:605–17.

- [5] Monroe DM, Key NS. The tissue factor-factor VIIa complex: procoagulant activity, regulation and multiskating. *J Thromb Haemost* 2007;5:1097–105.
- [6] Creasey AA, Chang AC, Feigen L, Wun TC, Taylor Jr FB, Hinshaw LB. Tissue factor pathway inhibitor reduces mortality from *Escherichia coli* septic shock. *J Clin Invest* 1993;91:2850–6.
- [7] Abraham E, Reinhart K, Svoboda P, Seibert A, Olthoff D, Dal Nogare A, et al. Assessment of the safety of recombinant tissue factor pathway inhibitor in patients with severe sepsis: a multicenter, randomized, placebo-controlled, single-blind, dose escalation study. *Crit Care Med* 2001;29:2081–9.
- [8] Abraham E, Reinhardt K, Opal S, Demeyer I, Doig C, Rodriguez AL, et al. Efficacy and safety of tifacogin (recombinant TFPI) in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;290:238–47.
- [9] Emerson TE. Antithrombin III replacement in animal models of acquired antithrombin III deficiency. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1994;5(suppl 1):S37–45.
- [10] Fourrier F, Jourdain M, Tournays A, Gosset P, Mangalaboyi J, Chopin C. Effect of a combined antithrombin III and PC substitution in experimental porcine acute endotoxin shock. *Shock* 1998;10:364–70.
- [11] Fourrier F, Chopin C, Huart JJ, Runge I, Caron C, Goudemand J. Double blind placebo-controlled study of antithrombin III concentrates in septic shock with disseminated intravascular coagulation. *Chest* 1993;104:882–8.
- [12] Eisele B, Lamy M, Thijs L, Keinecke H, Schuster H, Matthias F, et al. Antithrombin III in patients with severe sepsis: a randomized placebo-controlled double blind multicenter trial plus a meta-analysis on all randomized placebo-controlled multicenter trials with antithrombin III in severe sepsis. *Intensive Care Med* 1998;24:663–72.
- [13] Fourrier F, Jourdain M, Tournays A. Clinical trial results with antithrombin III in sepsis. *Crit Care Med* 2000;28:S38–44 (Suppl).
- [14] Warren BL, Eid A, Singer P, Pillay SS, Carl P, Novak I, et al. High-dose antithrombin III in severe sepsis. A randomized controlled trial. *JAMA* 2001;286:1869–78.
- [15] Taylor FB, Chang A, Esmon CT, D'Angelo A, Vignale-d'Angelo S, Blick KE. Protein C prevents the coagulopathic effects of *E. coli* infusion in the baboon. *J Clin Invest* 1987;79:918–25.
- [16] de Kleijn E, de Groot R, Hack CE, Mulder, Engl W, Moritz B, Joosten KFM, Hazelzet JA. Activation of Protein C following infusion of protein C concentrate in children with severe meningococcal sepsis and purpura fulminans A randomized double-blinded placebo controlled dose finding study. *Crit Care Med* 2003;31:1839–47.
- [17] Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez AS, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001;344:699–709.
- [18] Fourrier F. Recombinant human activated protein C in the treatment of severe sepsis: an evidence based review. *Crit Care Med* 2004;32:S534–41.
- [19] Abraham E, Laterre PF, Garg R, Levy H, Talwar D, Trzaskoma BL, et al. Drotrecogin alpha (activated) for adults with severe sepsis and a low risk of death. *N Engl J Med* 2005;353:1332–41.
- [20] Levi M, Levy M, Williams MD, Douglas I, Artigas A, Antonelli M, et al. Prophylactic heparin in patients with severe sepsis treated with drotrecogin alpha (activated). *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:483–90.
- [21] Nadel S, Goldstein B, Williams MD, Dalton H, Peters M, Macias WL, et al. Drotrecogin alpha (activated) in children with severe sepsis. A multicentre phase III randomized controlled trial. *Lancet* 2007;369:836–43.
- [22] Eichacker PQ, Natanson C, Danner RL. Surviving sepsis-practice guidelines, marketing campaigns, and Eli Lilly. *N Engl J Med* 2006;355:1640–2.
- [23] Taylor Jr FB, Chang A, Ruf W, Morrissey JH, Hinshaw L, Catlett R, et al. Lethal *E. coli* septic shock is prevented by blocking tissue factor with monoclonal antibody. *Circ Shock* 1991;33:127–34.
- [24] Gando S, Kameue T, Matsuda N, Morimoto Y, Hayakawa M, Kemmotsu O. Tissue factor production not balanced by TFPI in sepsis promotes poor prognosis. *Crit Care Med* 202; 30: 1729–1734.
- [25] Ahamed J, Belting M, Ruf W. Regulation of tissue factor induced signaling by endogenous and recombinant TFPI. *Blood* 2005;105:2384–91.
- [26] Rao LV, Nordfang O, Hoang AD, Pendurthi UR. Mechanism of antithrombin III inhibition of factor VIIa/tissue factor activity on cell surfaces. Comparison with tissue factor pathway inhibitor/factor Xa-induced inhibition of factor VIIa/tissue factor activity. *Blood* 1995;85:121–9.
- [27] Roemisch J, Gray E, Hoffmann JN, Wiedermann CJ. Antithrombin: a new look at the actions of a serine protease inhibitor. *Blood Coagul Fibrin* 2002;13:657–70.
- [28] Ostrovsky L, Woodman RC, Payne D, Teoh D, Kubes P. Antithrombin III prevents and rapidly reverses leukocyte recruitment in ischemia/reperfusion. *Circulation* 1997;96:2302–10.
- [29] Nevière R, Tournays A, Mordon S, Maréchal X, Song FL, Jourdain M, Fourrier F. Antithrombin reduces mesenteric venular leukocytes interactions and small intestine injury in endotoxemic rats. *Shock* 2001;15:220–5.
- [30] Oelschläger C, Romisch J, Staubit A, Stauss H, Leithauser B, Tillmanns H, et al. Antithrombin III inhibits nuclear factor kappaB activation in human monocytes and vascular endothelial cells. *Blood* 2002;99:4015–20.
- [31] Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, et al. Septic shock, multiple organ failure and disseminated intravascular coagulation: compared patterns of antithrombin III, protein C and protein S deficiencies. *Chest* 1992;101:816–23.
- [32] Kinasevitz GT, Yan SB, Basson B, Russell Jan, Cariou A, Um SL, et al. Universal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis regardless of causative organism. *Crit Care* 2004;8:R82–90.
- [33] Dhainaut JF, Shorr AF, Macias WL, Kollef MJ, Levi M, Reinhart K, Nelson DR. Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: relationship with mortality and organ failure. *Crit Care Med* 2005;33:341–5.
- [34] Afshari A, Wetterslev J, Brok J, Møller A. Antithrombin III in critically ill patient: systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *BMJ* 2007;335:1248–51.
- [35] Esmon CT. The protein C Pathway. *Crit Care Med* 2000;28:S44–8 (Suppl).
- [36] Taylor Jr FB, Peer GT, Lockhart MS, Ferrell G, Esmon CT. Endothelial cell protein C receptor plays an important role in protein C activation in vivo. *Blood* 2001;97:1685–8.
- [37] Faust SN, Heyderman RS, Levin M. Coagulation in severe sepsis: a central role for thrombomodulin and activated protein C. *Crit Care Med* 2001;29:S62–8 (Suppl).
- [38] Joyce DE, Grinnell BW. Recombinant activated protein C attenuates the inflammatory response in endothelium and monocytes by modulating nuclear factor- κ B. *Crit Care Med* 2002;30:S288–93.
- [39] Bruckmann M, Horn S, Lang S, Fukudome K, Schulze Nahrup A, et al. Recombinant human activated protein C upregulates cyclooxygenase-2 expression in endothelial cells via binding to endothelial protein C receptor and activation of protease activated receptor. *Thromb Haemost* 2005;93:743–50.

- [40] Rezaie AR. Exosite-dependent regulation of the protein C anticoagulant pathway. *Trends Cardiovasc Med* 2003;13:8–15.
- [41] Stearns-Kurosawa DJ, Swindle K, D'Angelo A, Della-Valle P, Fattorini A, Caron N, et al. Plasma levels of endothelial protein C receptor respond to anticoagulant treatment. *Blood* 2002;99:526–30.
- [42] Faust SN, Levin M, Harrison OB, Goldin RD, Lockhart MS, Kondaveeti S, et al. Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. *N Engl J Med* 2001;345:408–16.
- [43] Liaw PC, Esmon CT, Kashnamopui K, Schmidt S, Kashnamoui S, Ferell G, et al. Patients with severe sepsis vary markedly in their ability to generate activated protein C. *Blood* 2004;104:3958–64.
- [44] Borgel D, Bornstain C, Reitsma PH, Lerolle N, Gandrille S, et al. A comparative study of the protein C pathway in septic and non septic patients with organ failure. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:878–85.
- [45] Shorr AF, Bernard GR, Dhainaut JF, Russell JR, Macias WL, Nelson DR, Sundin DP. Protein C concentrations in severe sepsis: an early directional change in plasma levels predicts outcome. *Crit Care* 2006;10(3):R92.
- [46] Brunkhorst F, Sakr Y, Hagel S, Konrad, Reinhart K M.D Protein C concentrations correlate with organ dysfunction and predict outcome independent of the presence of Sepsis. *Anesthesiology* 2007; 107:15–23.
- [47] John J, Awab A, Norman D, Dernalka T, Kinasewitz G. Activated protein C improves survival in severe sepsis patients with elevated troponin. *Intensive Care Med* 2007;33: 2122–8.
- [48] Schouten M, Wiersinga WJ, Levi M, van der Poll T. Inflammation, endothelium and coagulation in sepsis. *J Leukocyte Biol* 2008;83 DOI 10.111189/jlb06077373.
- [49] Kipnis E, Guery B, Tournoy A, Leroy X, Robriquet L, Nevriere R, Fourrier F. Massive alveolar thrombin activation in pseudomonas aeruginosa induced acute lung injury. *Shock* 2004;21:444–51.
- [50] Robriquet L, Collet F, Tournoy A, Nevriere R, Fourrier F, Guery B. Intravenous administration of activated protein C in Pseudomonas-induced lung injury: impact on lung fluid balance and the inflammatory response. *Respir Res* 2006; 22(7):41.
- [51] Richard JC, Bregeon F, Leray V, Le Bars D, Costes N, Tourvieille C, et al. Effect of activated protein C on pulmonary blood flow and cytokine production in experimental acute lung injury. *Intensive Care Med* 2007;33:2199–206.
- [52] Choi G, Hofstra JJH, Roelots JJT, Rijnveld AW, Bresser P, vander Zee JS, et al. Antithrombin inhibits bronchoalveolar activation of coagulation and limits lung injury during *Streptococcus pneumoniae* pneumonia in rats. *Crit Care Med* 2008;36:204–10.