



Disponible en ligne sur  
 ScienceDirect  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
 EM|consulte  
www.em-consulte.com



## MISE AU POINT

# Effets hémodynamiques de la protéine C activée dans le choc septique

## *Haemodynamic effects of activated protein C in septic shock*

N. Sennoun<sup>a,b</sup>, B. Levy<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Service de réanimation médicale, CHU Nancy-Brabois, rue du Morvan, 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

<sup>b</sup> Groupe Choc, contrat avenir Inserm, faculté de médecine, 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Reçu le 23 novembre 2009 ; accepté le 10 janvier 2010

Disponible sur Internet le 25 janvier 2010

### MOTS CLÉS

Choc septique ;  
Catécholamines ;  
Coagulation ;  
Inflammation ;  
Protéine C activée

### KEYWORDS

Septic shock;  
Catecholamine;  
Coagulation;  
Inflammation;  
Activated protein C

**Résumé** La protéine C activée (PCA) humaine recombinante a démontré son efficacité pour améliorer le pronostic du choc septique. Lors de la publication des résultats de l'essai princeps, les modes d'action supposées étaient essentiellement l'effet anticoagulant et dans une moindre mesure l'effet anti-inflammatoire. Plusieurs publications cliniques non randomisées rapportent des effets hémodynamiques favorables se traduisant par une posologie moindre de vasopresseurs. Ces effets favorables sont confirmés par les modèles animaux de sepsis qui rapportent des effets bénéfiques sur la pression artérielle, la sensibilité in vivo et ex vivo aux vasopresseurs et enfin une amélioration de la dysfonction myocardique septique. Ces effets semblent liés aux propriétés cytoprotectrices de la PCA et en particulier à une baisse de l'expression de la nitric oxyde synthase inducible et de la translocation du facteur de transcription nucléaire NF- $\kappa$ B. La preuve définitive de cet effet cardiovasculaire sera apportée lors de la parution des résultats de l'étude *Prowess-Shock* actuellement en cours de réalisation.

© 2010 Publié par Elsevier Masson SAS pour la Société de réanimation de langue française.

**Summary** Recombinant human activated protein C (APC) has been demonstrated to reduce the mortality rate of adult patients with severe sepsis. This effect was thought to be related to its anticoagulant and anti-inflammatory processes in severe sepsis. Indeed, data from the Prowess study demonstrated that the use of APC was associated with a quicker reduction in cardiovascular failure. Recent animal data have suggested that APC may improve both vascular and myocardial dysfunction and vascular reactivity to catecholamines during endotoxin and/or septic challenges. These effects appear to be related to an attenuation of endothelial cell-leukocyte activation and to a marked reduction in inflammation and oxidative stress at both the vascular and cardiac level.

© 2010 Published by Elsevier Masson SAS on behalf of Société de réanimation de langue française.

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [b.levy@chu-nancy.fr](mailto:b.levy@chu-nancy.fr) (B. Levy).

La protéine C activée (PCA) humaine recombinante a démontré son efficacité pour améliorer le pronostic du choc séptique. Lors de la publication des résultats de l'essai princeps, les modes d'action supposées étaient essentiellement l'effet anticoagulant et dans une moindre mesure l'effet anti-inflammatoire de la PCA. Néanmoins, l'analyse des données de *Prowess* montrait déjà une réduction plus rapide des défaillances cardiovasculaires ouvrant ainsi la voie à d'autres hypothèses [1].

Le but de cet article est de faire le point sur les données cliniques et expérimentales concernant l'effet vasculaire et cardiaque de la PCA.

## Dysfonction vasculaire

Le tonus vasculaire artériolaire dépend d'un équilibre délicat entre vasoconstricteurs (catécholamines, angiotensine, thromboxane, etc.) et vasodilatateurs (prostacycline, peptides atriaux natriurétiques, adénosine, monoxyde d'azote [NO], etc.). La modification du tonus vasculaire au cours d'une dysfonction vasculaire résulte donc d'un déséquilibre entre ces deux forces [2].

La défaillance vasculaire est caractérisée par une diminution du tonus vasoconstricteur et une hyporéactivité vasculaire avec une moindre sensibilité aux agents vasopresseurs. Il en résulte une vasodilatation et une hypotension artérielle. Différents facteurs circulants ont été proposés comme générateurs de la dysfonction vasculaire et des anomalies fonctionnelles qui en découlent. La dysfonction endothéliale serait le point de départ, son activation pouvant être due à des molécules pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8...) et du stress oxydant, qui génèrent, comme les leucocytes, des produits qui lésent l'endothélium [3]. Sur le plan fonctionnel, la dysfonction endothéliale se traduit par une altération de la relaxation des vaisseaux par diminution de la sensibilité des récepteurs endothéliaux à l'acétylcholine et une baisse de la réponse vasodilatatrice aux forces de cisaillements. À l'échelle moléculaire, cette atteinte fonctionnelle peut être exprimée par une baisse de l'activité de la NO synthase (NOS) endothéliale (eNOS) en relation avec la faible expression d'AKT [4]. L'augmentation de l'expression génique de molécules pro-inflammatoires à l'origine de l'activation du facteur de transcription nucléaire NF- $\kappa$ B aggrave l'état pathologique en altérant la paroi vasculaire et provoque une atteinte fonctionnelle. À l'inverse, une inhibition de l'activité NF- $\kappa$ B prévient la dysfonction vasculaire.

## Voie de la protéine C activée

Physiologiquement, la protéine C (PC) est activée au niveau de la surface endothéliale par sa liaison à la thrombine. La thrombine formée lors de l'activation de la coagulation peut limiter sa propre génération en activant un des systèmes anticoagulants naturels « le système de la PC ». La thrombine acquiert ses propriétés anticoagulantes après fixation à un récepteur présent à la surface des cellules endothéliales, la thrombomoduline (TM), le complexe thrombine/TM active la forme zymogène de la PC en PCA. La PCA forme avec la protéine S un complexe anticoagulant, ce complexe inactif par protéolyse les facteurs Va (proaccéléline) et

VIIIa (antihémophilique A) qui sont indispensables au bon fonctionnement et à l'amplification de la cascade de coagulation et limite ainsi la génération de thrombine [5]. In vivo, la liaison de la PC à son récepteur, *endothelial protein C receptor* (EPCR), facilite son activation par le complexe thrombine (TM) [6]. La PCA inhibe la génération de thrombine et agit comme un agoniste de *protease activated receptor-1* (PAR-1). La liaison et l'activation de PAR-1 sont responsables de l'activation de la voie, dite cytoprotectrice de la PCA. Les effets induits par cette voie sont de type anti-inflammatoire, anti-apoptotique, et modification de l'expression génique favorisant ainsi une expression de type anti-inflammatoire, et protectrice de la barrière endothéliale [7].

La PCA peut aussi augmenter l'activité fibrinolytique par neutralisation du *plasminogen activator inhibitor* (PAI-1) [8]. PAI-1 inhibe l'activation du *plasminogen activator* et la formation de la plasmine résultant de l'inhibition de la fibrinolyse. Par son action sur PAI-1, la PCA favorise indirectement la fibrinolyse et ainsi l'action anticoagulante [9,10].

Au total, la PCA est un anticoagulant possédant des effets cytoprotecteurs dépendant de PAR-1 et interagissant fortement avec les voies inflammatoires. Toutes ces propriétés rendent plausible l'hypothèse d'une interaction PCA avec les voies de signalisation conduisant à la dysfonction vasculaire et la dysfonction cardiaque secondaire à un choc séptique.

## Études cliniques

Dans une étude rétrospective chez des patients en choc séptique, Monnet et al. ont comparé 22 patients traités par PCA versus 22 patients non traités et appariés pour l'âge, l'indice de gravité simplifié (IGS 2), la pression artérielle moyenne (PAM) et les doses de noradrénaline à H0 [11]. Le lactate plasmatique, le nombre de défaillances viscérales et le nombre de patients traités par EER n'étaient pas différents. La stratégie thérapeutique consistait à maintenir la PAM à 75 mmHg et de baisser les catécholamines dès que possible. Le principal résultat était que dans le groupe traité par PCA la posologie de noradrénaline nécessaire pour maintenir la PAM diminuait à H24 (-33%, de -74 à +11%;  $p < 0,05$ ) et augmentait dans le groupe non traité par PCA (+38%, de -41 à +38%). Bien que limitée par son caractère rétrospectif, cette étude permettait de mettre en avant les propriétés méconnues de la PCA sur la fonction cardiovasculaire.

Depuis cet article a été indirectement confirmé par Vieillard-Baron et al. qui ont utilisé chez des patients dits en choc séptique réfractaire une stratégie d'optimisation thérapeutique comprenant d'abord l'hémofiltration puis la PCA [12]. Le principal résultat était que chez les survivants, la perfusion de PCA était associée à une baisse significative des doses de noradrénaline et de la lactatémie. Enfin, Sanchez et al., dans une autre étude rétrospective, retrouvaient le même type de résultats avec de plus une amélioration du volume d'éjection systolique dans le groupe traité par PCA [13].

L'ensemble de ces études suggèrent un effet cardiovasculaire de la PCA mais cela devra être confirmé par l'étude *Prowess-Shock* actuellement en cours et qui s'intéresse aux effets de la PCA chez des patients en choc séptique avec deux défaillances viscérales et traités par vasopresseurs.

## LPS chez le sujet sain et protéine C activée

L'utilisation du lipopolysaccharide (LPS) chez le sujet sain n'a pas permis d'argumenter en faveur d'un effet hémodynamique de la PCA. En effet, dans un premier papier, Kalil et al. ont montré un effet transitoire mais modeste de la PCA sur la PAM et ce sans effet sur les paramètres de coagulation et les dosages de cytokines pro-inflammatoires [14].

De même, dans un modèle identique, Derhaschnig et al. n'ont retrouvé aucun effet particulier sur la fonction cardiovasculaire [15].

## Données animales

### Les propriétés vasculaires de la protéine C activée sont liées à la monoxyde d'azote synthase et au TNF-alpha

Chez des rats, l'hypotension induite par l'endotoxine et l'augmentation subséquente des niveaux plasmatiques de  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ , témoins de la production de NO, étaient prévenus par l'administration intraveineuse de PCA (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , IV) [16]. Cette hypotension était aussi inhibée lorsque la PCA était injecté 30 minutes après l'endotoxine. La PCA inhibait l'augmentation de l'activité de la NOS inducible (iNOS) en inhibant l'expression des ARNm chez les animaux endotoxiniques. Pour distinguer les effets liés à l'activité antithrombine des effets anti-inflammatoires, les auteurs ont aussi étudié les effets d'un agent inhibant la génération de thrombine et ont démontré que cet inhibiteur n'avait pas d'effet sur la pression artérielle. Dans une autre série d'expérimentations, destinées à démontrer le lien entre les effets de la PCA et la production de TNF, les auteurs ont comparé les effets d'un anti-TNF et de l'inhibition sélective de NOS par de l'aminoguanidine. Dans toutes ces circonstances, la PAM était restaurée de façon identique à l'effet produit par la PCA. De plus, la PCA diminuait l'expression pulmonaire d'iNOS et l'activité de TNF-alpha en inhibant l'expression des ARNm d'iNOS. Donc, la PCA diminuait l'hypotension induite par l'endotoxine en inhibant la production de TNF-alpha.

### Des doses importantes de protéine C activée murine améliorent à la fois la fonction vasculaire et myocardique

Favory et al. ont utilisé des doses importantes de PCA murine (240  $\mu\text{g}/\text{kg}$  par heure) chez des rats recevant de l'endotoxine [17]. Plus spécifiquement, les auteurs ont testé l'hypothèse que la PCA :

- prévenait l'hypotension artérielle et améliorait les troubles microcirculatoires et la dysfonction cardiaque induite par l'endotoxine ;
- atténuait la réponse inflammatoire en termes d'activation leucocytaire, de production de TNF-alpha, du *macrophage migration inhibitory factor* (MIF) et de nitrites/nitrates.

Ils ont utilisé un modèle non sédaté et perfusé en continu par de l'endotoxine. L'endotoxine induisait une

chute de la pression artérielle qui était atténuée par la PCA. De plus, les auteurs ont étudié l'impact de la PCA sur la dysfonction ventriculaire induite par l'endotoxine par l'intermédiaire d'un cœur isolé ex vivo. La baisse de la performance systolique induite par l'endotoxine était prévenue par la PCA. Sur un plan mécanistique, l'amélioration de la performance cardiovasculaire était associée à une baisse des nitrates/nitrites, du TNF-alpha et du MIF. De plus, l'augmentation de l'activité myeloperoxydasique cardiaque qui est un index d'infiltration leucocytaire était aussi prévenue par la PCA [18]. Enfin en utilisant la microscopie intravitale, la PCA améliorait aussi la perfusion microvasculaire et diminuait le *rolling* et l'adhésion leucocytaire.

### Des doses thérapeutiques de protéine C activée améliorent aussi la fonction cardiovasculaire dans le choc endotoxinique

Basé sur les études précédentes, nous avons étudié l'effet de faibles doses de PCA équivalentes chez le rat aux posologies utilisées dans l'étude *Prowess* [1] dans un modèle de choc endotoxinique hypokinétique. Comme précédemment, la PCA par rapport au groupe endotoxine seule améliorait la pression artérielle, le débit cardiaque, la réponse vasculaire in vivo aux catécholamines, la lactatémie artérielle et la perfusion tissulaire estimée par laser et  $\text{PO}_2$  tissulaire. Nous avons aussi mis en évidence une amélioration des paramètres de fonction systolique en échocardiographie et une meilleure réponse cardiaque à la stimulation catécholaminergique [18]. Enfin, dans une dernière étude nous avons montré que les vaisseaux conductifs et résistifs prélevés chez des souris endotoxiniques et exposés ex vivo à la PCA voyaient leur contractilité et leur fonction endothéliale s'améliorer. Cet effet de la PCA qui est forcément indépendant des cellules circulantes (incubation ex vivo) était induit par l'activation de la voie de la NOS endothéliale via une *up-regulation* d'AKt ainsi que par une diminution de l'activation du facteur de transcription nucléaire NF- $\kappa$ B [19].

### Les effets hémodynamiques de la protéine C activée sont indépendants de l'effet anticoagulant

L'ingénierie et la connaissance cristallographique de la structure de la PCA ont permis de construire des variants de PCA où les propriétés anticoagulantes et cytoprotectrices sont dissociées. Dans un article récent, Kershen et al. ont démontré que les effets de la PCA sur la survie étaient dus à la voie cytoprotectrice et non à la voie anticoagulante et que ces effets nécessitaient la présence de PAR-1 [20].

## Conclusion

Les études animales montrent toutes que le traitement par PCA améliore la fonction cardiovasculaire et que cette amélioration est dépendante de la voie cytoprotectrice de la PCA. Les études humaines suggèrent le même effet mais sont limitées par le caractère rétrospectif ou non contrôlé des essais en question. La réponse nous sera apportée dans les trois ans lors de la parution des résultats de l'essai *Prowess-Shock* qui investigate les effets de la PCA chez des patients en

choc septique traité par catécholamines. En attendant ces résultats, nous préconisons l'utilisation de la PCA lorsque l'optimisation hémodynamique précoce se trouve en échec entre six et 12 heures après le début du choc septique et ce en même temps que les glucocorticoïdes.

### Conflit d'intérêt

Aucun.

### Références

- [1] Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, et al. Recombinant human protein C worldwide evaluation in severe sepsis (PROWESS) study group. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 2001;344:699–709.
- [2] MacMicking JD, Nathan C, Hom G, Chartrain N, Fletcher DS, Trumbauer M, et al. Altered responses to bacterial infection and endotoxic shock in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Cell* 1995;81:641–50.
- [3] Peters K, Unger RE, Brunner J, Kirkpatrick CJ. Molecular basis of endothelial dysfunction in sepsis. *Cardiovasc Res* 2003;60:49–57.
- [4] Matsuda N, Hayashi Y, Takahashi Y, Hattori Y. Phosphorylation of endothelial nitric-oxide synthase is diminished in mesenteric arteries from septic rabbits depending on the altered phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway: Reversal effect of fluvastatin therapy. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;319:1348–54.
- [5] Borgel D, Diehl JL. Mécanismes de l'activation de la coagulation dans le sepsis: rôle du système de la protéine C. *Hématologie* 2005;11:139–47.
- [6] Gandrille S, Saposnik B, Aiach M. Le récepteur endothelial à la protéine C (EPCR): un récepteur à l'interface entre coagulation et système inflammatoire. *Hématologie* 2001;7:418–28.
- [7] Mosnier LO, Zlokovic BV, Griffin JH. The cytoprotective protein C pathway. *Blood* 2007;109:3161–72.
- [8] Abi-Gerges N, Tavernier B, Mebazaa A, Faivre V, Paqueron X, Payen D, et al. Sequential changes in autonomic regulation of cardiac myocytes after in vivo endotoxin injection in rat. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1196–204.
- [9] Okajima K. Regulation of inflammatory responses by activated protein C: The molecular mechanism(s) and therapeutic implications. *Clin Chem Lab Med* 2004;42(2):132–41.
- [10] Aoki Y, Ota M, Katsuura Y, Komoriya K, Nakagaki T. Effect of activated human protein C on disseminated intravascular coagulation induced by lipopolysaccharide in rats. *Arzneimittelforschung* 2000;50:809–15.
- [11] Monnet X, Lamia B, Anguel N, Richard C, Bonmarchand G, Teboul JL. Rapid and beneficial hemodynamic effects of activated protein C in septic shock patients. *Intensive Care Med* 2005;31:1573–6.
- [12] Vieillard-Baron A, Caille V, Charron C, Belliard G, Aegerter P, Page B, et al. Reversal of refractory septic shock with drotrecogin alpha (activated). *Intensive Care Med* 2009;35:1204–9.
- [13] Sanchez B, Piacentini E, Pradella V, Mignini M, Nava J. Hemodynamic effects of recombinant human activated protein C in patients with septic shock. *J Crit Care* 2009.
- [14] Kalil AC, Coyle SM, Um JY, LaRosa SP, Turlo MA, Calvano SE, et al. Effects of drotrecogin alfa (activated) in human endotoxemia. *Shock* 2004;21:222–9.
- [15] Derhaschnig U, Reiter R, Knöbl P, Baumgartner M, Keen P, Jilma B. Recombinant human activated protein C (rhAPC; drotrecogin alfa [activated]) has minimal effect on markers of coagulation, fibrinolysis, and inflammation in acute human endotoxemia. *Blood* 2003;102:2093–8.
- [16] Isobe H, Okajima K, Uchiba M, Mizutani A, Harada N, Nagasaki A, et al. Activated protein C prevents endotoxin-induced hypotension in rats by inhibiting excessive production of nitric oxide. *Circulation* 2001;104:1171–5.
- [17] Favory R, Lancel S, Maréchal X, Tissier S, Neviere R. Cardiovascular protective role for activated protein C during endotoxemia in rats. *Intensive Care Med* 2006;32:899–905.
- [18] Sennoun N, Meziani F, Dessebe O, Cattan V, Collin S, Montemont C, et al. Activated protein C improves lipopolysaccharide-induced cardiovascular dysfunction by decreasing tissular inflammation and oxidative stress. *Crit Care Med* 2009;37:246–55.
- [19] Sennoun N, Baron-Menguy C, Burban M, Lecompte T, Andriantsohaina R, Henrion D, et al. Recombinant human activated protein C improves endotoxemia-induced endothelial dysfunction: A blood-free model in isolated mouse arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;297:H277–82.
- [20] Kerschen EJ, Fernandez JA, Cooley BC, Yang XV, Sood R, Mosnier LO, et al. Endotoxemia and sepsis mortality reduction by non-anticoagulant activated protein C. *J Exp Med* 2007;204:2439–48.