

Quel avenir pour les médicaments de l'hémostase dans le traitement du sepsis sévère après le Xigris[®] ?

After Xigris[®], what is the future for drugs targeting haemostasis in sepsis treatment?

D. Borgel · N. Lerolle

Reçu le 30 octobre 2012 ; accepté le 16 janvier 2013
© SRLF et Springer-Verlag France 2013

Résumé Le traitement du sepsis sévère par la protéine C activée (Xigris[®]) a suscité beaucoup d'espoir mais aussi fait couler beaucoup d'encre. Le rationnel de son évaluation dans cette indication était basé sur une connaissance de plus en plus approfondie de la physiopathologie du sepsis sévère qui a clairement mis en exergue un emballement réciproque des processus d'inflammation et de coagulation chez ces patients. La protéine C activée, comme d'autres inhibiteurs de la coagulation, possède des propriétés anti-inflammatoires en plus de leur activité anticoagulante, faisant de ces protéines des candidats intéressants dans cette indication. Cependant, après le retrait du marché de la protéine C activée et les résultats négatifs des essais de phase III évaluant deux autres inhibiteurs, l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI) et l'antithrombine, reste-t-il une place pour ces médicaments ciblant l'hémostase ? D'autres pistes comme l'utilisation de thrombomoduline soluble, le développement de variants optimisés de la protéine C activée ou le développement d'inhibiteurs des axes facteur tissulaire-FVIIa ou FXIa-FXIIa restent des pistes intéressantes et sont, pour certaines d'entre elles, en cours d'évaluation.

Mots clés Sepsis · Hémostase · Inhibiteurs de la coagulation · Traitements

Abstract Treatment of severe sepsis with activated protein C (Xigris[®]) has generated great hopes but has also been a sub-

ject of controversy. The rationale for its evaluation in this indication was based on the increasing knowledge regarding severe sepsis pathophysiology, which has clearly highlighted a reciprocal runaway between inflammation and coagulation processes in these patients. Activated protein C, like other coagulation inhibitors, possesses anti-inflammatory properties in addition to their anticoagulant activity, making them attractive candidates in this indication. However, after Xigris[®] withdrawal and the negative results of phase III trials evaluating two other inhibitors, tissue factor pathway inhibitor (TFPI) and antithrombin, is there still a place for new drugs targeting haemostasis? The use of soluble thrombomodulin, development of optimized variants of activated protein C as well as inhibitors of both tissue factor-FVIIa and FXIIa-FXIa axes are currently under evaluation.

Keywords Sepsis · Haemostasis · Coagulation inhibitors · Treatments

Introduction

Le sepsis résulte d'une infection entraînant une réaction inflammatoire d'abord localisée qui va déborder les systèmes de défense de l'organisme et se généraliser pour aboutir à un ensemble de symptômes systémiques. Lorsqu'une défaillance d'organe est observée, on parle de sepsis sévère. Pendant longtemps, on a considéré que le sepsis était la conséquence d'une réponse inflammatoire incontrôlée de l'organisme à une infection, aboutissant à la mise en place de nombreux essais thérapeutiques à visée anti-inflammatoire dans cette pathologie. Cette approche s'est avérée inefficace, et aujourd'hui encore, plus de 750 000 sujets par an développent un sepsis aux États-Unis [1]. Parmi ceux-ci, 210 000 en meurent malgré la mise en œuvre des thérapeutiques conventionnelles. Il est aujourd'hui admis que le sepsis implique non seulement l'inflammation, mais aussi la coagulation qui tient une place

D. Borgel (✉)

Service d'hématologie et d'immunologie,
hôpital Ambroise-Paré, 9, avenue Charles-de-Gaulle,
F-92100 Boulogne-Billancourt, France
e-mail : delphine.borgel@apr.aphp.fr

EA4531, faculté de pharmacie, université Paris-Sud,
5, rue Jean-Baptiste-Clément, F-92296 Chatenay-Malabry, France

N. Lerolle

Département de réanimation médicale et médecine hyperbare,
CHU d'Angers, F-49933 Angers, France

essentielle dans la physiopathologie du sepsis sévère, ces deux composantes étant intimement liées [2].

La coagulation et sa régulation

Le déclenchement de la coagulation survient de manière physiologique lors de la mise en contact du sang avec les tissus vasculaires sous-endothéliaux riches en facteur tissulaire (FT) au niveau d'une brèche vasculaire. Le FT, qui est une glycoprotéine transmembranaire constitutivement exprimée dans le sous-endothélium, est le facteur initiateur principal de la cascade enzymatique de la coagulation. Les enzymes de cette cascade sont des sérines-protéases, ainsi nommées car elles possèdent une sérine dans leur site actif. Le FT fixe le FVII et la petite fraction de FVII qui circule naturellement sous forme activée (FVIIa) pour former un complexe capable d'activer efficacement le FX en FXa (Fig. 1). Le FXa formé en faible quantité va alors permettre la génération des premières traces de thrombine en activant la prothrombine. Cependant, les quantités de thrombine produites sont, à ce stade, trop faibles pour permettre le clivage du fibrinogène en fibrine. Une phase d'amplification est nécessaire pour atteindre le seuil critique de thrombine générée capable d'induire la formation d'un thrombus fibrino-plaquettaire, et c'est la thrombine elle-même qui est à l'origine de cette amplification, en activant le FXI, le FV et le FVIII.

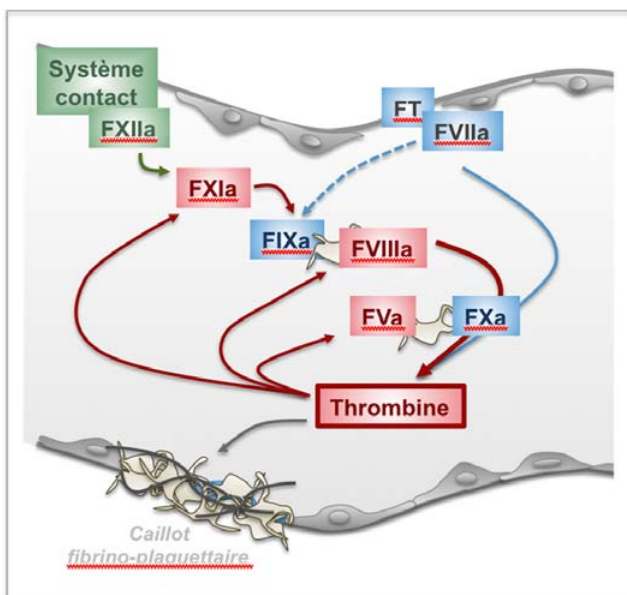


Fig. 1 Représentation simplifiée de l'activation de la coagulation. La phase d'initiation est représentée par les flèches bleues, les mécanismes d'amplification par les flèches rouges et l'implication du FXII et du système contact est représentée en vert. La flèche indique que le mécanisme d'activation du FIX par le complexe facteur tissulaire (FT)-FVIIa est minoritaire

La thrombine active aussi les plaquettes qui exposent alors des phospholipides anioniques indispensables à la formation des complexes tenase et prothrombinase à l'origine de la phase explosive de génération de thrombine [3].

Le potentiel d'amplification de ce système est tel qu'il faut impérativement des systèmes de régulation efficaces pour éviter un emballement du processus (Fig. 2). Outre le rôle du flux sanguin et de l'intégrité de l'endothélium, des inhibiteurs physiologiques de la coagulation participent au contrôle de la coagulation. Il s'agit du *tissue factor pathway inhibitor* (TFPI), de l'antithrombine (AT) et du système de la protéine C (PC), trois inhibiteurs très complémentaires puisqu'ils agissent à différents niveaux de la cascade de la coagulation. Ainsi, le TFPI bloque la phase d'initiation de la coagulation en formant un complexe quaternaire avec les FXa et FT-FVIIa. La PC activée (PCa) va, elle, inhiber la phase d'amplification en dégradant par protéolyse limitée les cofacteurs Va et VIIIa indispensables à la formation des complexes tenase et prothrombinase. Enfin, l'AT agit en inhibant de façon irréversible les sérines-protéases, principalement la thrombine et le FXa, produites au cours de la cascade de la coagulation.

Coagulation au cours du sepsis sévère

Au cours du sepsis sévère, on observe une activation de la coagulation via l'expression du FT inducible par différents types cellulaires en contact avec le sang [4]. Il s'agit en

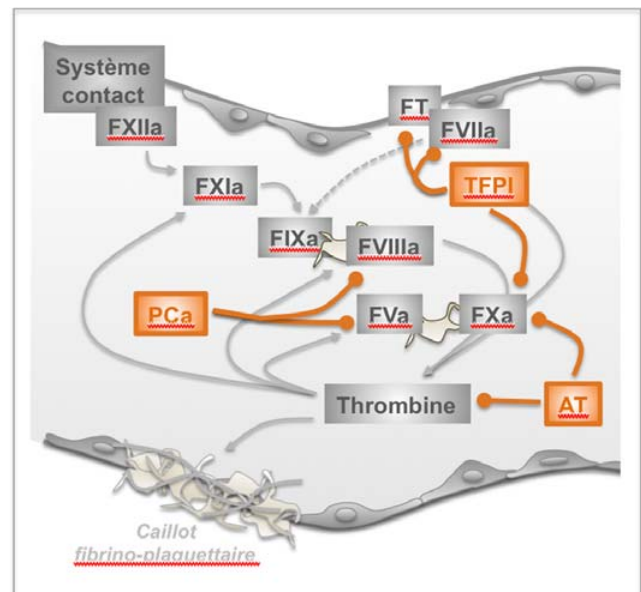


Fig. 2 Régulation de la coagulation par ses principaux inhibiteurs physiologiques. Les flèches terminées par une sphère symbolisent une inhibition. AT : antithrombine ; FT : facteur tissulaire ; PCa : protéine C activée ; TFPI : *tissue factor pathway inhibitor*

particulier des monocytes et cellules endothéliales, qui, sous l'effet de composants bactériens ou de cytokines pro-inflammatoires, vont exprimer du FT. Cette exposition va entraîner une activation intravasculaire de la coagulation, qui s'accompagne dans certains cas d'une véritable coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) avec consommation des facteurs de la coagulation, mais aussi des principaux inhibiteurs comme la PC et l'AT. L'activation de la coagulation est responsable de la formation de dépôts de fibrine endovasculaires diffus, et éventuellement de véritables thrombi. L'activation de la fibrinolyse, attestée par l'apparition de D-dimères circulants, est toutefois insuffisante pour éliminer ces dépôts. La fibrinolyse est effectivement inhibée dans le sepsis par l'augmentation de synthèse de l'un de ses inhibiteurs, l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène-1 (PAI-1).

Les cytokines pro-inflammatoires, capables d'induire l'expression de FT par les cellules endothéliales et les monocytes, participent donc largement à ce processus d'activation de la coagulation aboutissant à la CIVD observée chez certains patients. En retour, la coagulation est elle aussi capable d'amplifier la réaction inflammatoire. Ainsi, la thrombine générée à l'issue de l'activation de la coagulation va induire la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine (IL)-6 et le *tumor necrosis factor* (TNF)- α par les cellules endothéliales. Cette activité pro-inflammatoire passe par le clivage d'un récepteur endothélial, de type *protease activable receptor* (PAR), le PAR-1. De son côté, le FVIIa lié au FT et présent en grande quantité va activer un autre récepteur de la famille des PAR, le PAR-2, avec, comme pour la thrombine, des conséquences de type pro-inflammatoire. L'amplification mutuelle de la coagulation et de l'inflammation va alors entraîner un véritable emballement de ces processus et participer aux défaillances multiviscérales qui surviennent au cours du sepsis sévère.

La dysfonction endothéliale, en particulier au niveau de la microcirculation, est au centre de la physiopathologie du sepsis sévère. L'endothélium va répondre à l'agression par différentes manifestations allant de l'expression de cytokines pro-inflammatoires et de molécules d'adhésion, qui favorisent l'adhésion et l'extravasation des leucocytes, à l'augmentation de la perméabilité vasculaire, jusqu'à l'apoptose. Suite à leur activation, on observe à la surface des cellules endothéliales une diminution de l'expression de la thrombomoduline (TM) indispensable au fonctionnement du système de la PC, mais aussi des glycosaminoglycanes (GAG), en particulier des héparanes sulfates, qui potentialisent normalement l'activité de l'AT. Parallèlement, l'endothélium activé exprime du FT et devient alors prothrombotique.

Étant donné l'amplification mutuelle des processus de l'hémostase et de l'inflammation au cours du sepsis sévère, c'est tout naturellement que les deux processus ont été ciblés pour tenter de limiter cette réponse excessive de l'organisme

à l'infection. Dans ce contexte, les inhibiteurs de la coagulation, qui comme nous allons le voir sont aussi doués de propriétés anti-inflammatoires, représentaient des candidats prometteurs pour traiter ces patients.

Médicaments de l'hémostase et sepsis : analyse des échecs du passé

Étant donné la place de la coagulation dans la physiopathologie du sepsis sévère, plusieurs médicaments ciblant ce processus ont été évalués ces dernières années. Les essais ont porté sur des médicaments antithrombotiques comme l'héparine non fractionnée (HNF) pour leur capacité à inhiber la coagulation et en particulier la thrombine. Puis, avec la découverte du potentiel anti-inflammatoire des inhibiteurs naturels de la coagulation, les essais ont évalué ces protéines actives à la fois sur la coagulation et l'inflammation.

Inhibiteurs thérapeutiques de la coagulation

L'HNF a fait l'objet d'une évaluation poussée, allant jusqu'à la mise en place d'un essai de phase III [5] dans le traitement du sepsis sévère. Son activité anticoagulante, à la base de ses indications thérapeutiques, est due à sa capacité à potentialiser l'inhibition des sérines-protéases de la coagulation par l'AT. Les HNF sont en outre capables d'induire le relargage du TFPI des cellules endothéliales mais aussi de réduire l'expression de FT et du PAI-1, inhibiteur physiologique majeur de la fibrinolyse [6].

En plus de son activité anticoagulante, l'HNF possède des propriétés anti-inflammatoires qui en ont fait un candidat potentiellement intéressant dans le traitement du sepsis sévère. Ces effets anti-inflammatoires ne sont pas totalement expliqués par son activité inhibitrice de la thrombine, elle-même pro-inflammatoire. En effet, des chaînes hépariniques modifiées chimiquement pour ne plus avoir d'action anticoagulante conservent pourtant une activité cytoprotectrice qui passe par une inhibition de la voie du *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B), une potentialisation du C1-inhibiteur et une augmentation de la synthèse de monoxyde d'azote (NO) et de prostaglandine I₂ (PGI₂). Même si quelques études semblaient, à l'inverse, montrer des effets pro-inflammatoires de dérivés hépariniques tout en pointant l'influence de la nature et des doses d'héparine, mais aussi du type de modèle infectieux utilisé, de nombreuses études précliniques ont été réalisées chez l'animal. Les résultats montrent un effet bénéfique de l'administration d'HNF dans certains modèles, en particulier dans les modèles animaux de sepsis par *cecal ligation and puncture* (CLP), mais les résultats sont moins clairs dans des modèles induits par l'injection de lipopolysaccharides (LPS) [7]. Chez l'homme, l'intérêt de l'héparine dans cette indication a été infirmé dans un essai randomisé

de phase III, l'essai HETRASE. Dans cette étude, aucune différence de la mortalité à j28 n'a été observée entre les 160 patients recevant le placebo et ceux ($n = 160$) recevant de l'HNF en i.v. à 500 UI/h pendant sept jours [5].

Inhibiteurs physiologiques de la coagulation

Étant donné l'implication de la coagulation dans la physiopathologie du sepsis sévère, la défaillance des systèmes inhibiteurs consommés au cours de la maladie et les propriétés anti-inflammatoires maintenant bien établies de certaines de ces protéines, l'administration de ces inhibiteurs a été envisagée comme traitement spécifique du sepsis sévère. Ainsi, trois d'entre eux ont été évalués chez l'homme dans des essais de phase III, le TFPI, l'AT et la PCa.

Tissue factor pathway inhibitor

Le TFPI est l'inhibiteur privilégié des acteurs de la phase d'initiation de la coagulation. Ainsi, cette protéine peut former un complexe binaire avec le FXa qui va, dans un second temps, lier le complexe FT-FVIIa. Il se forme ainsi un complexe quaternaire FXa-TFPI-FVIIa-FT au sein duquel le FXa, le FVIIa et le FT n'ont plus d'activité [8]. De plus, le TFPI, du fait de sa capacité à se lier aux héparanes sulfates des cellules endothéliales, possède une action cytoprotectrice anti-inflammatoire qui passe par une inhibition de la voie NF- κ B, une potentialisation du C1-inhibiteur et une augmentation de la synthèse de NO et de PGI₂.

L'intérêt potentiel du TFPI dans le traitement du sepsis sévère a été envisagé essentiellement à partir des résultats très encourageants de plusieurs études réalisées chez l'animal [9]. Après plusieurs essais de phase I et de phase II chez l'homme [10], le TFPI recombinant a été testé dans un large essai de phase III, l'essai OPTIMIST, chez 1 955 patients présentant un sepsis sévère. Aucun bénéfice en termes de mortalité à j28 n'a été observé dans cette étude chez les patients recevant 0,025 mg/kg par heure de TFPI recombinant pendant 96 heures [11]. De plus, une augmentation du risque hémorragique a été rapportée chez les patients recevant le TFPI en comparaison à ceux du groupe placebo. Notons que dans cette étude une grande majorité des patients ont reçu de l'héparine dans le cadre de leur prise en charge. Or, l'héparine est connue pour déplacer le TFPI de sa liaison aux GAG endothéliaux, ce qui pourrait avoir détourné le TFPI de sa cible cellulaire.

Antithrombine

L'AT est l'un des principaux inhibiteurs physiologiques de la coagulation. Elle appartient à la famille des inhibiteurs de sérine-protéase, et va ainsi inhiber de nombreuses sérines-protéases de la coagulation comme le FIXa, le FXa ou la

thrombine. Son activité est potentialisée par les dérivés hépariniques, HNF, héparines de bas poids moléculaire (HBPM) et fondaparinux, qui vont considérablement accélérer la réaction d'inhibition de l'AT vis-à-vis de ses enzymes cibles. En plus de ses propriétés anticoagulantes, l'AT possède des propriétés cytoprotectrices bien décrites [12]. Comme pour le TFPI, ces effets dépendent de sa capacité à lier les héparanes sulfates à la surface des cellules. Ainsi, l'AT exerce une activité anti-inflammatoire en inhibant l'activation de la voie NF- κ B provoquée par l'exposition de cellules endothéliales et de monocytes à des endotoxines bactériennes. Par ailleurs, en interagissant avec les cellules endothéliales, l'AT pourrait moduler le tonus contractile vasculaire en induisant une augmentation de la synthèse de prostacycline par l'endothélium, lorsque celui-ci est soumis à des stimuli de type bactérien [13].

Là encore, l'AT a montré une efficacité dans certains modèles animaux de sepsis [14]. Plus de 20 essais de phase II ont aussi été réalisés [15] avant l'essai Kybersept [16], un large essai de phase III portant sur 2 314 patients, au cours duquel l'administration d'AT à la dose de 100 UI/kg par jour s'est avérée inefficace. Encore une fois, l'administration concomitante d'héparine qui pourrait avoir détourné l'AT de sa liaison cellulaire chez un grand nombre de patients a été incriminée dans l'absence d'efficacité de l'AT. Par ailleurs, les effets cellulaires de l'AT sont observés à des concentrations beaucoup plus importantes que celles utilisées dans l'essai Kybersept. L'utilisation des doses cytoprotectrices (250 UI/kg par jour) est cependant impossible, car, à ces doses, le risque hémorragique lié à l'administration de cette protéine anticoagulante pourrait augmenter de manière dramatique. Aux doses utilisées dans l'essai Kybersept, l'incidence des accidents hémorragiques était déjà accrue chez les patients recevant l'AT en particulier lors de l'association à l'héparine [16].

Protéine C activée

La PCa a suscité beaucoup d'espairs et fait l'objet d'études moléculaires approfondies, et c'est la seule protéine à avoir obtenu une autorisation de mise sur le marché comme traitement spécifique du sepsis sévère en Europe et aux États-Unis.

La PCa est générée physiologiquement par activation de sa forme zymogène inactive circulante, la PC, lors de l'activation de la coagulation. C'est en effet la thrombine elle-même qui, une fois fixée à la TM à la surface des cellules endothéliales, va activer la PC en PCa, cette réaction d'activation étant accélérée lorsque la PC est liée à son récepteur endothélial, l'*endothelial cell protein C receptor* (EPCR). La PCa produite va alors dégrader par protéolyse les deux cofacteurs de la coagulation, les FVa et FVIIIa, limitant le fonctionnement des complexes tenase et prothrombinase

responsables de la phase d'amplification de la coagulation. Dans ce système, la protéine S, une autre protéine plasmatique, joue le rôle de cofacteur de la PCa en accélérant la réaction de dégradation des FVa et FVIIIa.

Outre cet effet anticoagulant majeur, de nombreux effets cellulaires de la PCa ont été rapportés. La majorité des effets décrits nécessitent une liaison de la PCa à l'EPCR, la PCa pouvant alors activer le PAR-1 par clivage de son extrémité N-terminale. La signalisation induite a des conséquences multiples, anti-inflammatoires [17], antiapoptotiques [18], mais aussi de maintien de l'intégrité de la barrière endothéliale [19].

Les propriétés cytoprotectrices et anticoagulantes de la PCa en ont fait un candidat potentiel pour traiter le sepsis sévère. Après de nombreux essais chez l'animal et chez l'homme, la PCa recombinante humaine ou drotrecogin alfa (Xigris[®]) a été testée avec succès dans un essai de phase III, portant sur 1 690 patients, l'essai PROWESS, et a obtenu une autorisation de mise sur le marché restreinte aux patients les plus sévères (score APACHE > 24) dans cette indication en 2001. Depuis, plusieurs études ont été menées chez l'homme contestant parfois son efficacité, en particulier chez les patients les moins sévères [20] et relevant un risque hémorragique significatif chez les patients traités [21,22]. Ainsi, l'utilisation de la PCa a été au centre d'une controverse active jusqu'en 2011 où la publication des résultats négatifs de l'étude Prowess-Shock [23], étude de confirmation demandée par la FDA et portant sur des patients en choc septique, a entraîné la décision immédiate d'interruption de la commercialisation du Xigris[®] par la firme Ely-Lilly.

Médicaments de l'hémostase et sepsis : de nouvelles pistes

Un des problèmes rencontrés de façon récurrente lors de l'évaluation des médicaments ciblant l'hémostase est le risque hémorragique lié à l'utilisation de ces traitements anticoagulants. La majorité des nouvelles pistes de recherche ont pris en compte cette donnée et tentent d'y remédier de différentes façons soit en régulant la production de la protéine active aux besoins, soit en dissociant l'activité anticoagulante et les propriétés cytoprotectrices des molécules testées, soit enfin en ciblant d'autres axes de la coagulation dont l'inhibition pourrait être moins hémorragique.

Protéine C

Une des alternatives pour éviter les problèmes hémorragiques liés à l'utilisation de la PCa consiste à utiliser de la PC (Fig. 3). L'avantage de l'utilisation de PC est évident en termes de sécurité. En effet, l'activation de la PC serait directement proportionnelle aux besoins, car contrôlée par la

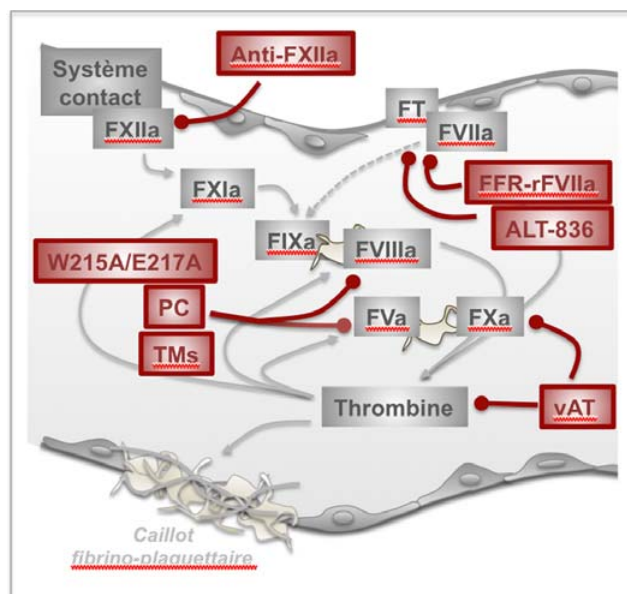


Fig. 3 Actions de molécules en développement sur la cascade de la coagulation. Les flèches terminées par une sphère symbolisent une inhibition. Les variants d'AT sont notés vAT. AT : anti-thrombine ; PC : protéine C ; TM : thrombomoduline

quantité de thrombine-TM disponible *in vivo*, évitant ainsi des concentrations trop élevées de PCa circulante et le risque hémorragique associé.

Ce sont les altérations de l'endothélium observées au cours du sepsis sévère [24] qui ont laissé penser que les capacités d'activation de la PC en PCa étaient insuffisantes chez ces patients, ce qui a conduit à une substitution progressive de la PC par la PCa dans les études précliniques. Cependant, ce défaut potentiel d'activation de la PC en PCa est controversé. Ainsi, l'administration de PC à des enfants présentant un sepsis à méningocoques avec purpura fulminans s'est accompagnée d'une activation dose-dépendante de la PC infusée [25]. À l'inverse, chez l'adulte [26], une telle augmentation des taux de PCa n'a pas été retrouvée, mais pour des doses de PC administrées très largement inférieures.

Quelques essais cliniques de phase II évaluant la PC dans le traitement du sepsis sévère ont été menés, montrant des résultats encourageants. Une normalisation des taux de PC a généralement été recherchée, sachant que des taux bas de PC sont un facteur pronostique de mortalité chez ces malades [27]. Ces études ouvertes ont principalement été menées chez les enfants chez lesquels l'administration de PCa entraîne une augmentation significative du risque hémorragique (étude RESOLVE [21]), ou plus rarement chez des adultes présentant une contre-indication à la PCa. Dans tous les cas, l'administration de PC zymogène est bien tolérée en particulier sur le plan hémorragique, même lorsque de l'héparine était administrée de façon concomitante [25,26,28-31]. Le design de ces études (études ouvertes,

de faible effectif, souvent sans groupe témoin) ne permet cependant pas de conclure sur l'efficacité de la PC en termes de mortalité, même si une amélioration biologique et clinique est rapportée dans la majorité de ces études. Une large étude multicentrique randomisée serait donc nécessaire pour répondre à la question de l'efficacité de la PC dans le traitement du sepsis sévère.

Thrombomoduline soluble

Une autre protéine du système de la PC fait l'objet d'une recherche active, il s'agit de la TM. La TM est un récepteur endothélial impliqué dans l'activation de la PC et composé de plusieurs domaines dont un segment extracellulaire qui comporte un domaine C-terminal de type *lectin-like* [32]. Cette TM va pouvoir lier la thrombine, cette liaison induisant un changement de la spécificité de l'enzyme qui devient alors anticoagulante de par sa capacité à cliver la PC en PCa. L'importance de l'activité anticoagulante de la TM est attestée par le phénotype prothrombotique de souris dont l'expression de la TM est spécifiquement invalidée sur l'endothélium [33]. De façon intéressante, même si sa répartition est très ubiquitaire, le rôle de la TM serait très différent entre micro- et macrovaisseaux. Ainsi, si l'on tient compte du ratio surface/volume, on peut estimer que la thrombine formée sera principalement libre et donc procoagulante dans les gros vaisseaux et essentiellement anticoagulante, car très majoritairement liée à la TM dans la microcirculation [34].

En plus de contribuer à la génération de PCa dont les propriétés cytoprotectrices sont bien décrites, la TM est douée de propriétés anti-inflammatoires indépendantes de la PCa. Ainsi, elle régule négativement l'activation de la voie du complément en favorisant l'inhibition de la fraction C3b par la voie du C1 [35]. Par ailleurs, la TM est capable de neutraliser le LPS bactérien [36] mais aussi la protéine *high-mobility group box 1* (HMGB1) impliquée dans l'amplification de la réponse pro-inflammatoire de l'organisme [37].

Ces effets sont en partie médiés par le domaine *lectin-like* de la TM. Ainsi, des souris exprimant une TM dépourvue de ce domaine *lectin-like* ont une susceptibilité accrue au sepsis sévère, avec une mortalité et une accumulation pulmonaire de polynucléaires neutrophiles significativement plus importantes que les souris sauvages [38]. De façon très intéressante, la TM soluble (TMs) qui correspond à la partie extracellulaire de la TM possède les mêmes propriétés que sa forme membranaire tant sur la coagulation (Fig. 3) que sur l'inflammation.

Cette forme soluble de la TM, produite à l'échelle industrielle dans un système des cellules d'ovaire de hamster chinois, suscite un grand intérêt sur le plan thérapeutique à deux titres :

- comme anticoagulant, et des études de phase I et de phase II ont été réalisées avec ce produit dans la prévention de la thrombose veineuse dans la chirurgie de la hanche [39,40] ;
- dans les coagulopathies associées au sepsis sévère.

Ainsi, après des études précliniques très encourageantes [41], la TMs a été évaluée en 2007 dans le traitement de la CIVD d'origine infectieuse ou associée à une hémopathie maligne [42].

Dans cette étude de phase III, randomisée, double insu, réalisée au Japon, 234 patients ont reçu pendant six jours soit de la TMs (0,06 mg/kg par jour), soit de l'HNF (8 UI/kg par heure). L'administration de TMs, comparativement à l'HNF, s'accompagne d'une régression significativement plus rapide de la CIVD et d'une réduction de la survenue de complications hémorragiques, même si aucun bénéfice en termes de mortalité à j28 n'a été rapporté dans cette étude. Sur la base de ces résultats, la TMs a été approuvée dans cette indication (CIVD d'origine infectieuse), exclusivement au Japon. Elle est commercialisée depuis 2008 dans ce pays, sous le nom de Reomodulin[®], et a fait depuis l'objet de plusieurs publications sur de très petites séries de patients traités au Japon [43–45]. Une étude de phase III internationale très attendue est envisagée pour conforter les résultats précédents et élargir le champ d'utilisation de ce produit.

Bio-ingénierie des inhibiteurs physiologiques de la coagulation

Une autre option envisagée pour contourner le problème du fort risque hémorragique lié à l'utilisation des inhibiteurs physiologiques de la coagulation consiste à développer des approches de dissociation des activités anticoagulantes et cytoprotectrices. C'est le cas en particulier pour la PCa et l'AT dont la connaissance des bases moléculaires permet d'envisager une telle approche.

Ainsi, en s'appuyant sur les nombreuses études de relation structure–fonction de la PCa, il a été possible de concevoir différents variants dont les activités cellulaires sont conservées, mais l'activité anticoagulante réduite [46]. Les mutations réalisées visent essentiellement à perdre l'interaction de la PCa avec son substrat, le FVa [47,48], ou avec son cofacteur, la protéine S [49], sans toucher à l'activité protéolytique de la PCa qui reste ainsi capable d'activer le PAR-1. Certains de ces variants ont été évalués *in vivo* chez la souris avec des résultats très intéressants, puisqu'une réduction de la mortalité suite à une endotoxémie est observée chez les souris traitées [50], sans effet majeur sur la coagulation.

Concernant l'AT, la même démarche peut être adoptée et semble d'autant plus pertinente que ses propriétés cytoprotectrices sont décrites à de très fortes doses *in vitro*, environ cinq fois (500 %) la concentration physiologique, doses qu'il

n'est pas envisageable d'atteindre in vivo. Ainsi, dans l'essai Kybersept, les concentrations d'AT circulantes obtenues chez les patients traités étaient en moyenne de 180 % seulement, soit largement en dessous des doses cytoprotectrices validées chez l'animal, et déjà le risque hémorragique était augmenté [16]. L'idée est donc de produire un variant d'AT toujours capable de lier les héparanes sulfates avec une forte affinité, mais d'activité anticoagulante réduite (Fig. 3). En effet, l'activité inhibitrice des sérines-protéases de l'AT n'est pas nécessaire pour exercer des effets anti-inflammatoires [13,51].

À côté de ces formes mutées des inhibiteurs physiologiques de la coagulation, certains ont imaginé de produire une thrombine mutée de telle sorte qu'elle soit dépourvue d'activité procoagulante, mais qu'elle conserve sa fonction anticoagulante dépendante de la TM [52]. Ainsi, l'introduction de deux mutations au niveau du site actif de la thrombine, W215A et E217A, réduit d'un facteur 20000 son activité vis-à-vis du fibrinogène (support de l'activité procoagulante de la thrombine), d'un facteur 1200 vis-à-vis du PAR-1 (support de son activité pro-inflammatoire) et seulement d'un facteur 7 vis-à-vis de la PC (support de son activité anticoagulante). La thrombine W215A/E217A présente donc une sélectivité relative vis-à-vis de la PC et, via la production de PCa à partir de la PC endogène [53] (Fig. 3), possède un potentiel anticoagulant déjà évalué chez l'animal [54]. En outre, des souris exprimant à l'état hétérozygote la thrombine W215A/E217A ont une réponse inflammatoire réduite dans un modèle d'arthrite articulaire [55]. Cependant, ces mêmes souris présentent aussi un allongement du temps de saignement témoignant du potentiel anticoagulant de cette thrombine modifiée. Des essais complémentaires permettront d'évaluer l'intérêt potentiel d'une telle protéine dans le traitement du sepsis sévère.

Inhibiteurs de l'axe FXII/FXI

Certains facteurs de la coagulation, non ciblés jusque-là par les traitements déjà évalués, pourraient être des cibles intéressantes. C'est le cas de l'axe FXII/FXI qui pourrait constituer une alternative séduisante pour cibler coagulation et inflammation sans augmentation majeure du risque hémorragique.

Le FXI intervient dans la cascade de la coagulation au cours de la phase d'amplification. En effet, en plus d'activer les deux cofacteurs de la coagulation, FV et FVIII, la thrombine active aussi le FXI en FXIa, ce dernier étant alors capable de transformer le FIX en FIXa (Fig. 1). Divers arguments laissent penser que le FXI jouerait un rôle principalement dans les situations de coagulation pathologique et interviendrait peu dans l'hémostase physiologique. Ainsi, les déficits congénitaux en FXI n'entraînent généralement pas de manifestations hémorragiques spontanées, mais ils

s'expriment le plus souvent en situations postopératoire ou post-traumatique [56]. Par ailleurs, l'inhibition du FXI dans différents modèles animaux, qu'elle soit pharmacologique [57], médiée par des anticorps [58] ou par des oligonucléotides antisens [59], s'accompagne d'un effet antithrombotique sans pour autant allonger significativement le temps de saignement chez les animaux traités.

Le FXI peut, en outre, être transformé en FXIa par le FXII, qui appartient au système contact (Fig. 1), après activation de ce dernier au contact de surfaces électronégatives comme les composants bactériens. Alors que le rôle de ce système contact semble mineur dans l'hémostase, il pourrait être impliqué dans les relations hôte-pathogène au cours des infections. Ainsi, une consommation des protéines du système contact, et en particulier des FXI et XII, est observée dans les infections sévères [60]. De plus, l'inhibition du FXII dans un modèle de bactériémie à *Escherichia coli* chez le babouin s'accompagne d'une durée de survie prolongée chez ces animaux avec un effet majeur sur l'hypotension induite par le choc septique [61]. De façon très intéressante, une étude publiée en 2008 a montré qu'un déficit en FXI constitutionnel total chez la souris confère un avantage en termes de survie et de coagulopathie au cours du sepsis sévère [62]. De même, l'administration d'un anticorps inhibant spécifiquement de l'activation du FXI par le FXIIa (Fig. 3) mais préservant l'activation du FXI par la thrombine s'accompagne d'une réduction significative des marqueurs d'activation de la coagulation et de l'inflammation chez les souris traitées [63]. Chez ces souris, en accord avec les observations rapportées sur le risque hémorragique lié au déficit en FXI, le temps de saignement n'était pas augmenté. Il est probable que l'effet anti-inflammatoire observé soit en partie lié à la diminution de l'activation de la coagulation et donc de la quantité de thrombine générée observée, mais l'effet inhibiteur du FXIa sur la migration des PNN [64] pourrait participer à l'effet observé.

Ces résultats suggèrent que l'axe FXI-FXII pourrait être une cible pertinente dans le traitement du sepsis sévère. Des études complémentaires doivent encore être réalisées pour confirmer ces résultats, mais aussi pour évaluer l'intérêt d'une inhibition du FXII.

Inhibiteurs de l'axe FT/FVIIa

L'axe FT/FVIIa est lui aussi une cible potentielle en cours d'évaluation, même si, comme nous allons le voir, l'inhibition de cette voie n'est pas dépourvue de risque hémorragique. Le FT est, comme la thrombine, doué d'une activité procoagulante puisque son exposition est responsable de l'activation de la coagulation et en même temps d'une activité pro-inflammatoire liée au clivage du PAR-2 par le FVIIa lorsque celui-ci est lié au FT [65].

Le FT est donc à la croisée de la coagulation et de l'inflammation et constitue une cible potentielle dans le cadre du traitement du sepsis sévère au cours duquel, en outre, son expression est fortement augmentée à la surface des monocytes et des cellules endothéliales. Cette hypothèse a été testée par l'équipe de Morris qui a évalué un anticorps chimérique recombinant dirigé contre le FT humain et capable de lier le FT isolé ou complexé avec le FVIIa. Cet anticorps, nommé ALT-836 (Fig. 3), a été testé avec succès dans un modèle de sepsis induit par injection d'*E. coli* chez le babouin, améliorant de façon significative de nombreux paramètres cliniques par rapport au placebo [66]. Le profil de tolérance de l'ALT-836, très récemment évalué dans une étude de phase I [67] incluant 18 patients en sepsis sévère, semble satisfaisant, avec en particulier absence de manifestations hémorragiques jusqu'à la dose de 0,08 mg/kg. Aux doses testées, aucune différence entre les patients traités et ceux recevant le placebo n'est cependant observée sur les principaux paramètres cliniques et biologiques, notamment en termes d'activation de la coagulation. Sur la base de l'ensemble de ces résultats, une étude de phase II double insu, randomisée qui prévoit l'inclusion de 150 patients, a été récemment initiée.

Une autre approche a consisté à développer un FVIIa recombinant rendu inactif par réaction irréversible avec un tripeptide Phe (F)-Phe (F)-Arg (R) lié à une chlorométhylkétone (CK) au niveau du site actif du FVII. Le FFR-rFVIIa obtenu reste capable de lier le FT mais est dépourvu d'activité protéolytique notamment sur le FX et sur le PAR-2. Le FFR-rFVIIa va alors se comporter comme un compétiteur du FVIIa endogène, et son administration va donc diminuer l'activation de la coagulation liée à l'exposition accrue de FT observée au cours du sepsis sévère mais aussi empêcher les effets délétères liés à l'activation du PAR-2 par le FVIIa complexé au FT (Fig. 3). Ce FFR-rFVIIa a déjà été évalué chez le primate dans un modèle de sepsis avec défaillance respiratoire aiguë d'origine infectieuse. Son administration réduit significativement les manifestations cliniques notamment sur la fonction respiratoire mais aussi sur la fonction rénale, tout en diminuant l'activation de la coagulation et la production de cytokines pro-inflammatoires [68]. Fort de ces résultats, une première étude de phase II a été mise en place chez l'homme, mais aux doses testées chez les 144 patients traités, aucune différence significative n'a été observée en termes de mortalité ni sur un marqueur classique d'inflammation ou d'activation de la coagulation. Cependant, un allongement du temps de Quick a été observé chez tous les patients traités comparativement aux placebo dans les jours suivant l'injection, et une tendance à l'augmentation des complications hémorragiques a même été observée avec l'augmentation des doses [69], entraînant une mortalité significativement accrue pour une des plus fortes doses testées et un arrêt prématuré de l'essai.

Conclusion

Il semble aujourd'hui assez clair que l'inhibition conjointe de la coagulation et de l'inflammation est une approche pertinente pour limiter l'emballement de ces deux processus qui s'amplifient mutuellement au cours du sepsis sévère. Malgré les résultats décevants des essais sur les inhibiteurs physiologiques de la coagulation, et en particulier après les espoirs déçus du Xigris[®], la coagulation reste donc une cible privilégiée pour le développement de traitements ciblés du sepsis sévère. Les essais du passé nous ont appris en particulier à prêter une attention particulière au risque hémorragique lié au fait de cibler la coagulation, et à imaginer des stratégies alternatives pour éviter cet écueil. Parmi les nombreuses pistes actuellement explorées, il faudra trouver l'approche permettant un juste équilibre entre inhibition de l'emballement de la coagulation tout en préservant une capacité hémostatique suffisante pour éviter les complications hémorragiques, particulièrement chez ces patients instables.

Conflit d'intérêt : les auteurs participent à un projet de recherche en collaboration avec le FLB.

Références

1. Linde-Zwirble W, Angus D, Carcillo J, et al (1999) Age-specific incidence and outcome of sepsis in the US. *Crit Care Med* 27:A33
2. Esmon CT (2003) Inflammation and thrombosis. *J Thromb Haemost* 1:1343-8
3. Dahlback B (2000) Blood coagulation. *Lancet* 355:1627-32
4. Schouten M, Wiersinga WJ, Levi M, Van der Poll T (2008) Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis. *J Leukoc Biol* 83:536-45
5. Jaimes F, De La Rosa G, Morales C, et al (2009) Unfractionated heparin for treatment of sepsis: a randomized clinical trial (The HETRASE Study). *Crit Care Med* 37:1185-96
6. Perez-Ruiz A, Montes R, Carrasco P, Rocha E (2002) Effects of a low molecular weight heparin, bemparin, and unfractionated heparin on hemostatic properties of endothelium. *Clin Appl Thromb Hemost* 8:65-71
7. Li Y, Sun JF, Cui X, et al (2011) The effect of heparin administration in animal models of sepsis: a prospective study in *Escherichia coli*-challenged mice and a systematic review and meta-regression analysis of published studies. *Crit Care Med* 39:1104-12
8. Lwaleed BA, Bass PS (2006) Tissue factor pathway inhibitor: structure, biology and involvement in disease. *J Pathol* 208:327-39
9. Carr E, Bild GS, Chang AC, et al (1994) Recombinant *E. coli*-derived tissue factor pathway inhibitor reduces coagulopathic and lethal effects in the baboon Gram-negative model of septic shock. *Circ Shock* 44:126-37
10. Abraham E (2000) Tissue factor inhibition and clinical trial results of tissue factor pathway inhibitor in sepsis. *Crit Care Med* 28:S31-S3
11. Abraham E, Reinhart K, Opal S, et al (2003) Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA* 290:238-47

12. Wiedermann CJ (2006) Clinical review: molecular mechanisms underlying the role of antithrombin in sepsis. *Crit Care* 10:209
13. Uchiba M, Okajima K (1997) Antithrombin III (AT III) prevents LPS-induced pulmonary vascular injury: novel biological activity of AT III. *Semin Thromb Hemost* 23:583–90
14. Taylor FB Jr, Emerson TE Jr, Jordan R, et al (1988) Antithrombin-III prevents the lethal effects of *Escherichia coli* infusion in baboons. *Circ Shock* 26:227–35
15. Afshari A, Wetterslev J, Brok J, Moller A (2007) Antithrombin III in critically ill patients: systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *BMJ* 335:1248–51
16. Warren BL, Eid A, Singer P, et al (2001) Caring for the critically ill patient. High-dose antithrombin III in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA* 286:1869–78
17. Joyce DE, Gelbert L, Ciaccia A, et al (2001) Gene expression profile of antithrombotic protein C defines new mechanisms modulating inflammation and apoptosis. *J Biol Chem* 276:11199–203
18. Cheng T, Liu D, Griffin JH, et al (2003) Activated protein C blocks p53-mediated apoptosis in ischemic human brain endothelium and is neuroprotective. *Nat Med* 9:338–42
19. Feistritz C, Riewald M (2005) Endothelial barrier protection by activated protein C through PAR1-dependent sphingosine 1-phosphate receptor-1 crossactivation. *Blood* 105:3178–84
20. Abraham E, Laterre PF, Garg R, et al (2005) Drotrecogin alfa (activated) for adults with severe sepsis and a low risk of death. *N Engl J Med* 353:1332–41
21. Nadel S, Goldstein B, Williams MD, et al (2007) Drotrecogin alfa (activated) in children with severe sepsis: a multicentre phase III randomized controlled trial. *Lancet* 369:836–43
22. Warren HS, Suffredini AF, Eichacker PQ, Munford RS (2002) Risks and benefits of activated protein C treatment for severe sepsis. *N Engl J Med* 347:1027–30
23. Ranieri VM, Thompson BT, Barie PS, et al (2012) Drotrecogin alfa (activated) in adults with septic shock. *N Engl J Med* 366:2055–64
24. Faust SN, Levin M, Harrison OB, et al (2001) Dysfunction of endothelial protein C activation in severe meningococcal sepsis. *N Engl J Med* 345:408–16
25. de Kleijn ED, de Groot R, Hack CE, et al (2003) 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* 31:1839–47
26. Crivellari M, Della Valle P, Landoni G, et al (2009) Human protein C zymogen concentrate in patients with severe sepsis and multiple organ failure after adult cardiac surgery. *Intensive Care Med* 35:1959–63
27. Kinasevitz GT, Yan SB, Basson B, et al (2004) Universal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative microorganism. *Crit Care* 8:R82–R90
28. White B, Livingstone W, Murphy C, et al (2000) An open-label study of the role of adjuvant hemostatic support with protein C replacement therapy in purpura fulminans-associated meningococemia. *Blood* 96:3719–24
29. Rintala E, Kauppila M, Seppala OP, et al (2000) Protein C substitution in sepsis-associated purpura fulminans. *Crit Care Med* 28:2373–8
30. Smith OP, White B, Vaughan D, et al (1997) Use of protein C concentrate, heparin, and haemodiafiltration in meningococcus-induced purpura fulminans. *Lancet* 350:1590–3
31. Decembrino L, D'Angelo A, Manzato F, et al (2010) Protein C concentrate as adjuvant treatment in neonates with sepsis-induced coagulopathy: a pilot study. *Shock* 34:341–5
32. Ito T, Maruyama I (2011) Thrombomodulin: protectorate God of the vasculature in thrombosis and inflammation. *J Thromb Haemost* 9:168–73
33. Isermann B, Hendrickson SB, Zogg M, et al (2001) Endothelium-specific loss of murine thrombomodulin disrupts the protein C anticoagulant pathway and causes juvenile-onset thrombosis. *J Clin Invest* 108:537–46
34. Esmon CT (2003) The protein C pathway. *Chest* 124:26S–32S
35. Campbell W, Okada N, Okada H (2001) Carboxypeptidase R is an inactivator of complement-derived inflammatory peptides and an inhibitor of fibrinolysis. *Immunol Rev* 180:162–7
36. Shi CS, Shi GY, Hsiao SM, et al (2008) Lectin-like domain of thrombomodulin binds to its specific ligand Lewis Y antigen and neutralizes lipopolysaccharide-induced inflammatory response. *Blood* 112:3661–70
37. Abeyama K, Stern DM, Ito Y, et al (2005) The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel antiinflammatory mechanism. *J Clin Invest* 115:1267–74
38. Conway EM, Van de Wouwer M, Pollefeyt S, et al (2002) The lectin-like domain of thrombomodulin confers protection from neutrophil-mediated tissue damage by suppressing adhesion molecule expression via nuclear factor kappaB and mitogen-activated protein kinase pathways. *J Exp Med* 196:565–77
39. Moll S, Lindley C, Pescatore S, et al (2004) Phase I study of a novel recombinant human soluble thrombomodulin, ART-123. *J Thromb Haemost* 2:1745–51
40. Kearon C, Comp P, Douketis J, et al (2005) Dose-response study of recombinant human soluble thrombomodulin (ART-123) in the prevention of venous thromboembolism after total hip replacement. *J Thromb Haemost* 3:962–8
41. Hagiwara S, Iwasaka H, Goto K, et al (2010) Recombinant thrombomodulin prevents heatstroke by inhibition of high-mobility group box 1 protein in sera of rats. *Shock* 34:402–6
42. Saito H, Maruyama I, Shimazaki S, et al (2007) Efficacy and safety of recombinant human soluble thrombomodulin (ART-123) in disseminated intravascular coagulation: results of a phase III, randomized, double-blind clinical trial. *J Thromb Haemost* 5:31–41
43. Kawano N, Yoshida S, Ono N, et al (2011) Clinical features and outcomes of 35 disseminated intravascular coagulation cases treated with recombinant human soluble thrombomodulin at a single institution. *J Clin Exp Hematop* 51:101–7
44. Ogawa Y, Yamakawa K, Ogura H, et al (2012) Recombinant human soluble thrombomodulin improves mortality and respiratory dysfunction in patients with severe sepsis. *J Trauma Acute Care Surg* 72:1150–7
45. Yamakawa K, Fujimi S, Mohri T, et al (2011) Treatment effects of recombinant human soluble thrombomodulin in patients with severe sepsis: a historical control study. *Crit Care* 15:R123
46. Gandrille S (2012) Protéine C activée : de la relation structure-activité à la conception de molécules à propriétés thérapeutiques ciblées. *Hématologie* 18:96–108
47. Mosnier LO, Yang XV, Griffin JH (2007) Activated protein C mutant with minimal anticoagulant activity, normal cytoprotective activity, and preservation of thrombin activable fibrinolysis inhibitor-dependent cytoprotective functions. *J Biol Chem* 282:33022–33
48. Bae JS, Yang L, Manithody C, Rezaie AR (2007) Engineering a disulfide bond to stabilize the calcium-binding loop of activated protein C eliminates its anticoagulant but not its protective signaling properties. *J Biol Chem* 282:9251–9
49. Harmon S, Preston RJ, Ni Ainle F, et al (2008) Dissociation of activated protein C functions by elimination of protein S cofactor enhancement. *J Biol Chem* 283:30531–9

50. Kerschen EJ, Fernandez JA, Cooley BC, et al (2007) Endotoxemia and sepsis mortality reduction by non-anticoagulant activated protein C. *J Exp Med* 204:2439–48
51. Isobe H, Okajima K, Uchiba M, et al (2002) Antithrombin prevents endotoxin-induced hypotension by inhibiting the induction of nitric oxide synthase in rats. *Blood* 99:1638–45
52. Cantwell AM, Di Cera E (2000) Rational design of a potent anticoagulant thrombin. *J Biol Chem* 275:39827–30
53. Gruber A, Fernandez JA, Bush L, et al (2006) Limited generation of activated protein C during infusion of the protein C activator thrombin analog W215A/E217A in primates. *J Thromb Haemost* 4:392–7
54. Gruber A, Cantwell AM, Di Cera E, Hanson SR (2002) The thrombin mutant W215A/E217A shows safe and potent anticoagulant and antithrombotic effects in vivo. *J Biol Chem* 277:27581–4
55. Flick MJ, Chauhan AK, Frederick M, et al (2011) The development of inflammatory joint disease is attenuated in mice expressing the anticoagulant prothrombin mutant W215A/E217A. *Blood* 117:6326–37
56. Gomez G, Bolton-Maggs P (2008) Factor XI deficiency. *Haemophilia* 14:1183–9
57. Schumacher WA, Seiler SE, Steinbacher TE, et al (2007) Antithrombotic and hemostatic effects of a small molecule factor XIa inhibitor in rats. *Eur J Pharmacol* 570:167–74
58. Gruber A, Hanson SR (2003) Factor XI-dependence of surface- and tissue factor-initiated thrombus propagation in primates. *Blood* 102:953–5
59. Zhang H, Lowenberg EC, Crosby JR, et al (2010) Inhibition of the intrinsic coagulation pathway factor XI by antisense oligonucleotides: a novel antithrombotic strategy with lowered bleeding risk. *Blood* 116:4684–92
60. Wuillemin WA, Fijnvandraat K, Derkx BH, et al (1995) Activation of the intrinsic pathway of coagulation in children with meningococcal septic shock. *Thromb Haemost* 74:1436–41
61. Pixley RA, De La Cadena R, Page JD, et al (1993) The contact system contributes to hypotension but not disseminated intravascular coagulation in lethal bacteremia. In vivo use of a monoclonal anti-factor XII antibody to block contact activation in baboons. *J Clin Invest* 91:61–8
62. Tucker EI, Gailani D, Hurst S, et al (2008) Survival advantage of coagulation factor XI-deficient mice during peritoneal sepsis. *J Infect Dis* 198:271–4
63. Tucker EI, Verbout NG, Leung PY, et al (2012) Inhibition of factor XI activation attenuates inflammation and coagulopathy while improving the survival of mouse polymicrobial sepsis. *Blood* 119:4762–8
64. Itakura A, Verbout NG, Phillips KG, et al (2011) Activated factor XI inhibits chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes. *J Leukoc Biol* 90:923–7
65. Cottrell GS, Amadesi S, Schmidlin F, Bunnett N (2003) Protease-activated receptor 2: activation, signalling and function. *Biochem Soc Trans* 31:1191–7
66. Welty-Wolf KE, Carraway MS, Ortel TL, et al (2006) Blockade of tissue factor-factor X binding attenuates sepsis-induced respiratory and renal failure. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 290:L21–L31
67. Morris PE, Steingrub JS, Huang BY, et al (2012) A phase I study evaluating the pharmacokinetics, safety and tolerability of an antibody-based tissue factor antagonist in subjects with acute lung injury or acute respiratory distress syndrome. *BMC Pulm Med* 12:5
68. Carraway MS, Welty-Wolf KE, Miller DL, et al (2003) Blockade of tissue factor: treatment for organ injury in established sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 167:1200–9
69. Vincent JL, Artigas A, Petersen LC, Meyer C (2009) A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial assessing safety and efficacy of active site inactivated recombinant factor VIIa in subjects with acute lung injury or acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 37:1874–80