

Fibrinogène, Fibrine, Fibrinolyse, PDF et D-dimères

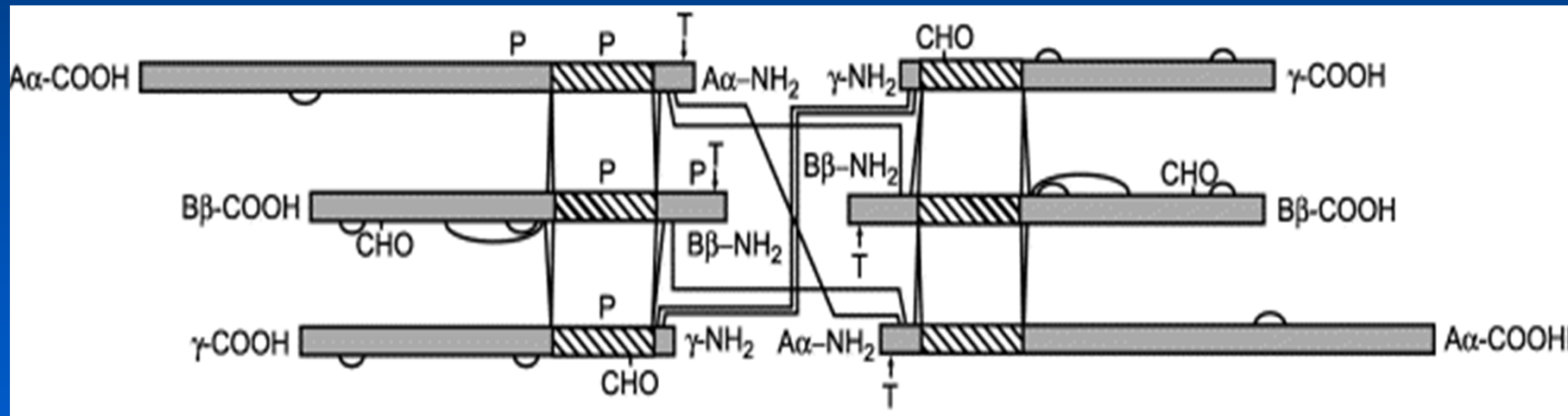
Pierre Toulon

Université Nice-Sophia Antipolis,
Service d'Hématologie Biologique, CHU St Roch, Nice

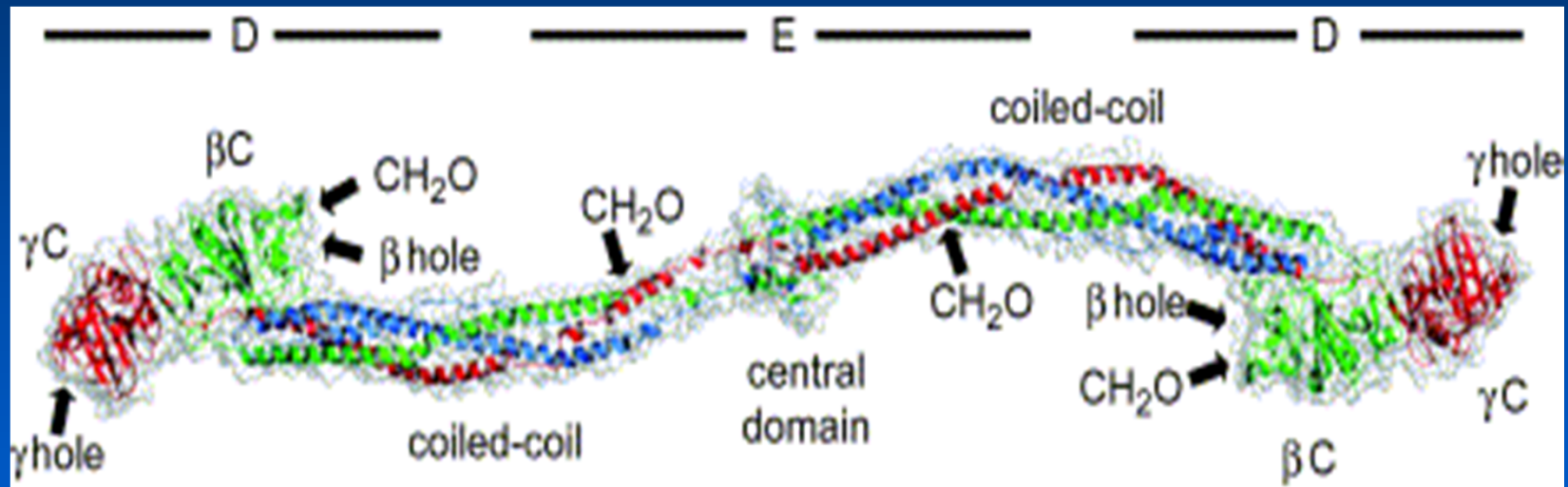
Fibrinogène

- . Protéine (MM=340 kDa) synthétisée par le foie (et les mégacaryocytes?).
- . Structure : dimère de 3 chaînes polypeptidiques (A α , B β , et γ) liées par 29 ponts disulfures (A α ₂B β ₂ γ ₂).
- . 3 Gènes porté par le chromosome 4 (4q23-q32)
 - A α : 5.4 kB (5 exons)
 - B β : 8.2 kB (8 exons)
 - γ : 8.4 kB (10 exons)

Fibrinogène – Structure ($A\alpha_2B\beta_2\gamma_2$)



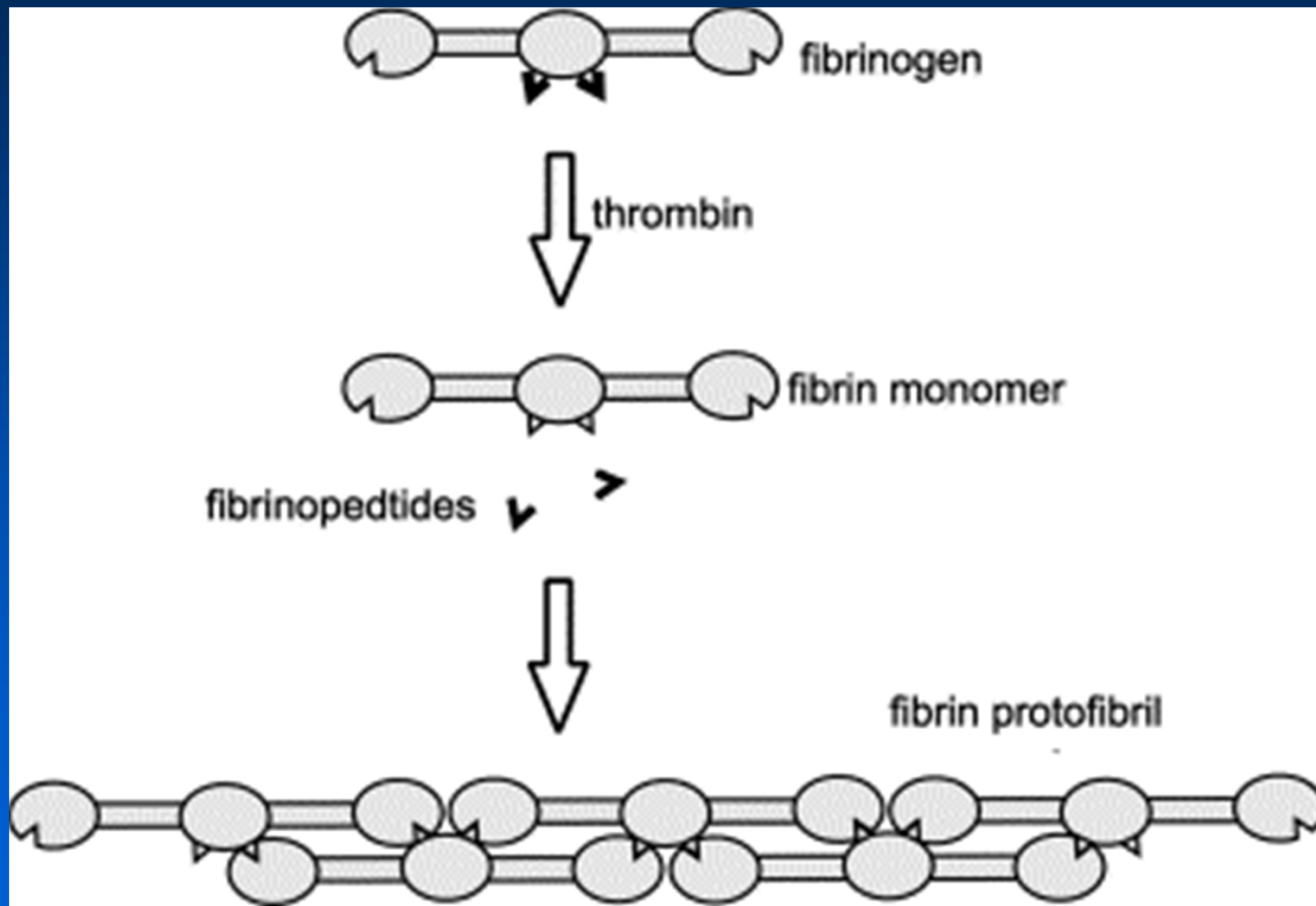
Fibrinogène – Structure (3D)



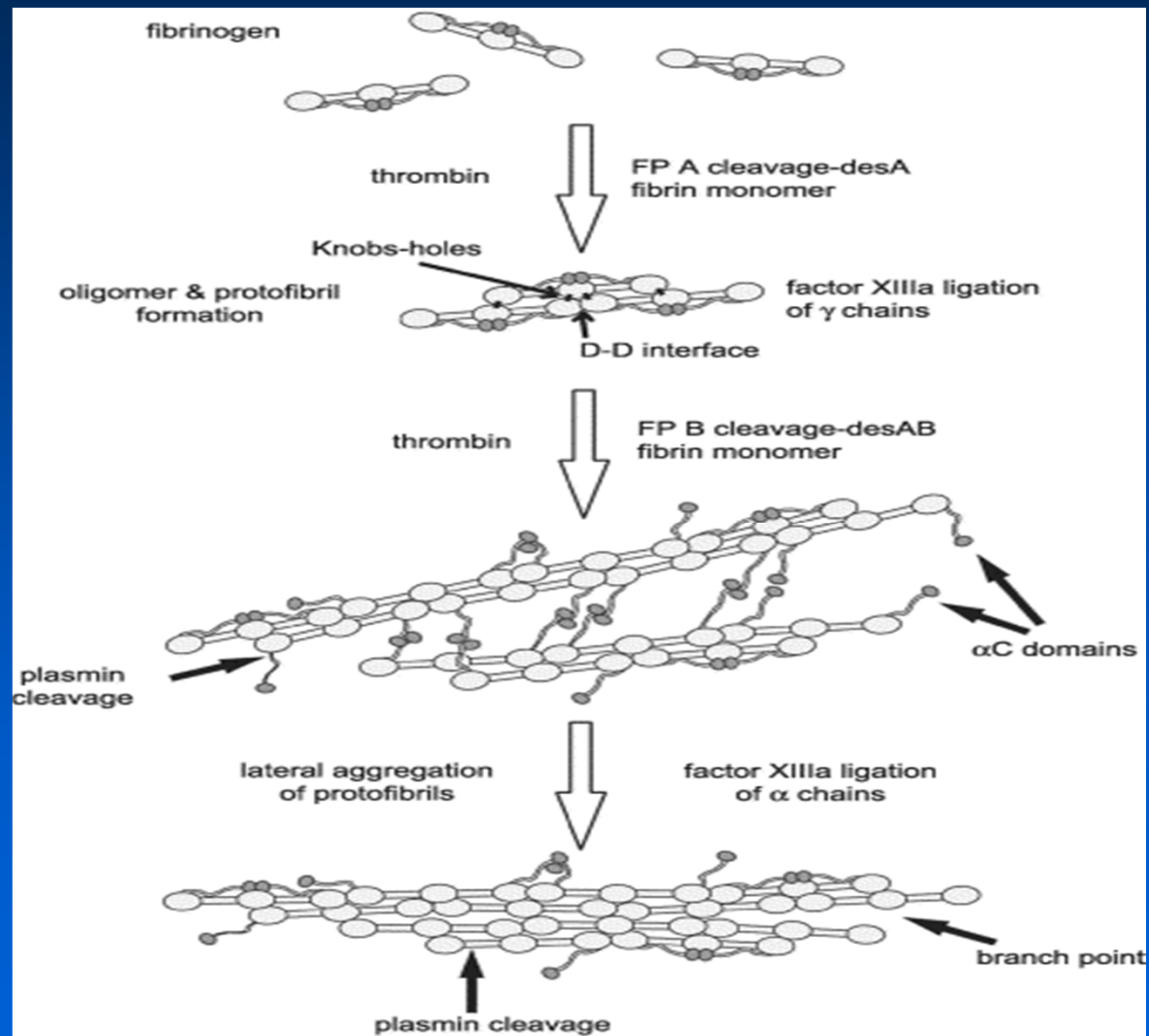
Fibrinogène - Rôles Physiologiques

- . Rôle dans l'hémostase primaire : agrégation des plaquettes entre elles pour former le « clou plaquettaire ». Le fibrinogène se lie à un récepteur présent sur la membrane plaquettaire (GPIIb/IIIa).
- . Rôle dans la coagulation : substrat de la thrombine (FIIa) qui clive la molécule de fibrinogène (4 sites), le transformant en fibrine avec libération de 4 peptides : 2 fibrinopeptides A (FpA et A α 1-16) et 2 fibrinopeptides B (FpB et B β 1-14).
- . Rôle dans la fibrinolyse : clivé par la plasmine en produits de dégradation de la fibrine (PDF).

Fibrinoformation



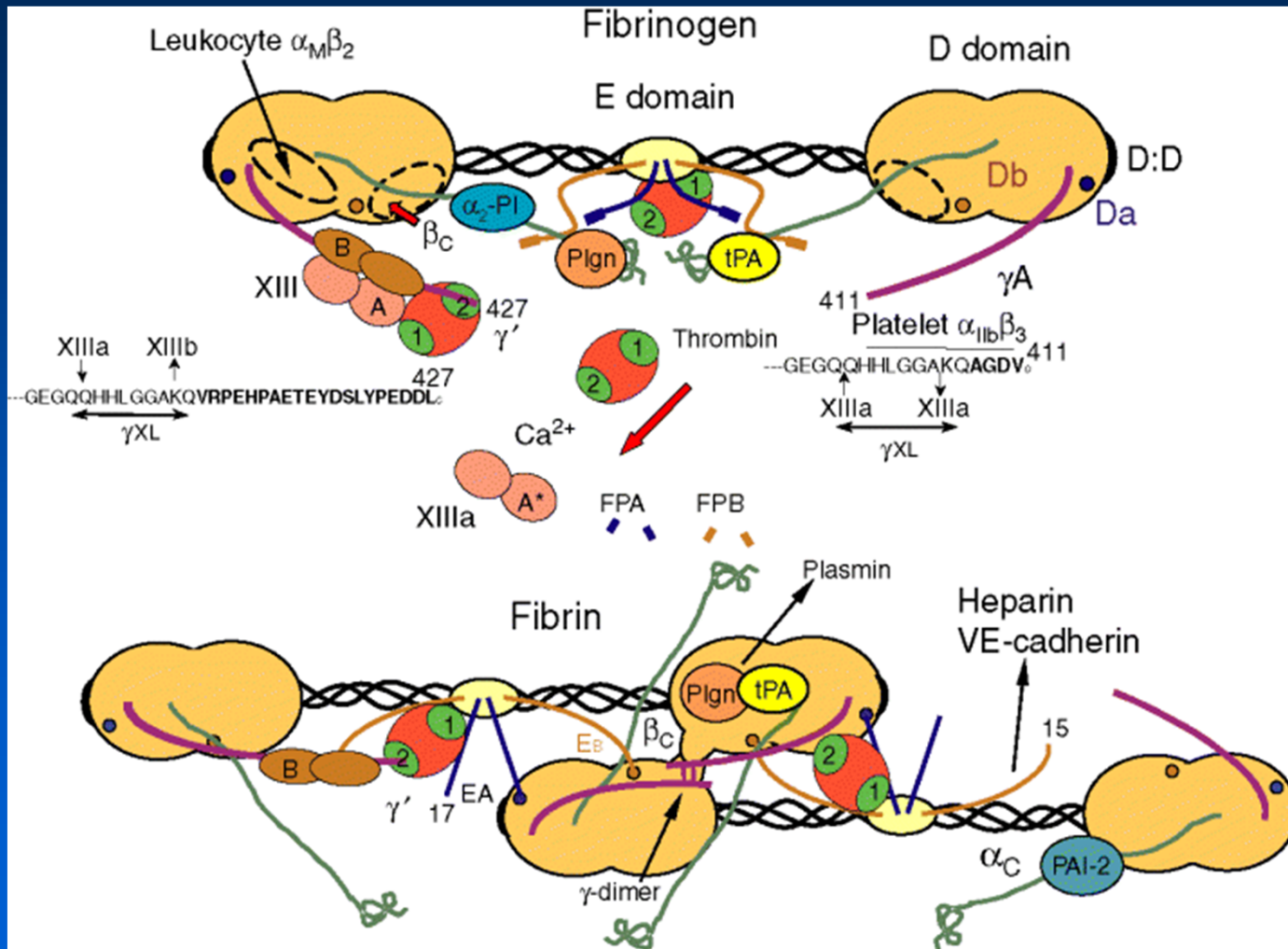
Fibrinoformation



Fibrinogène, Fibrinoformation et Fibrinolyse

- . Polymérisation des monomères de fibrine : formation de fibrilles longitudinales (élongation).
- . Formation d'un caillot stable par action du FXIII (transglutaminase) : structure tri-dimensionnelle du caillot.
- . Sites de clivage par la plasmine (fibrinolyse) avec libération de produits de dégradation de la fibrine (PDF) dont les D-dimères.

Polymérisation de la Fibrine



L'hémostase : un équilibre physiologique

- Plaquettes
- Facteurs de coagulation
XII - XI - IX - VIIIc - VII - X -
II - I - V - PK - KHPM

- Plasminogène
- tPA
- Urokinase
- XII

CONSTRUCTION DU CAILLOT

- Hémostase primaire
- Coagulation

DISSOLUTION DU CAILLOT

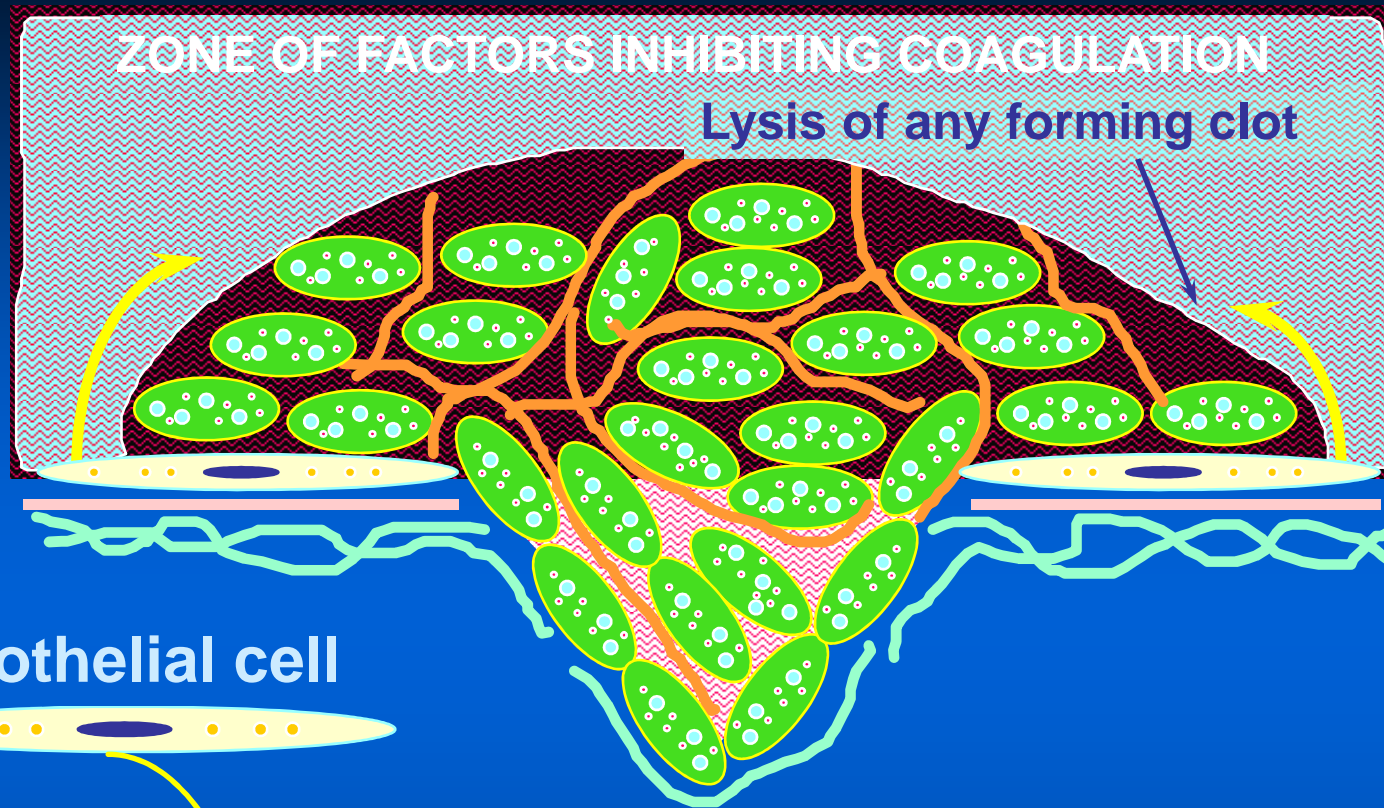
- Fibrinolyse

Principaux
inhibiteurs
physiologiques

- ATIII
- PC - « V »
- PS

- PAI
- α_2 antiplasmine
- TAFI

RESTRAINING CLOTTING/COAGULATION: Fibrinolysis

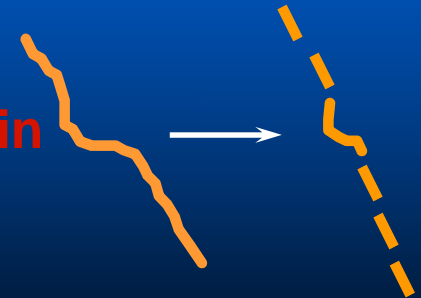


Endothelial cell

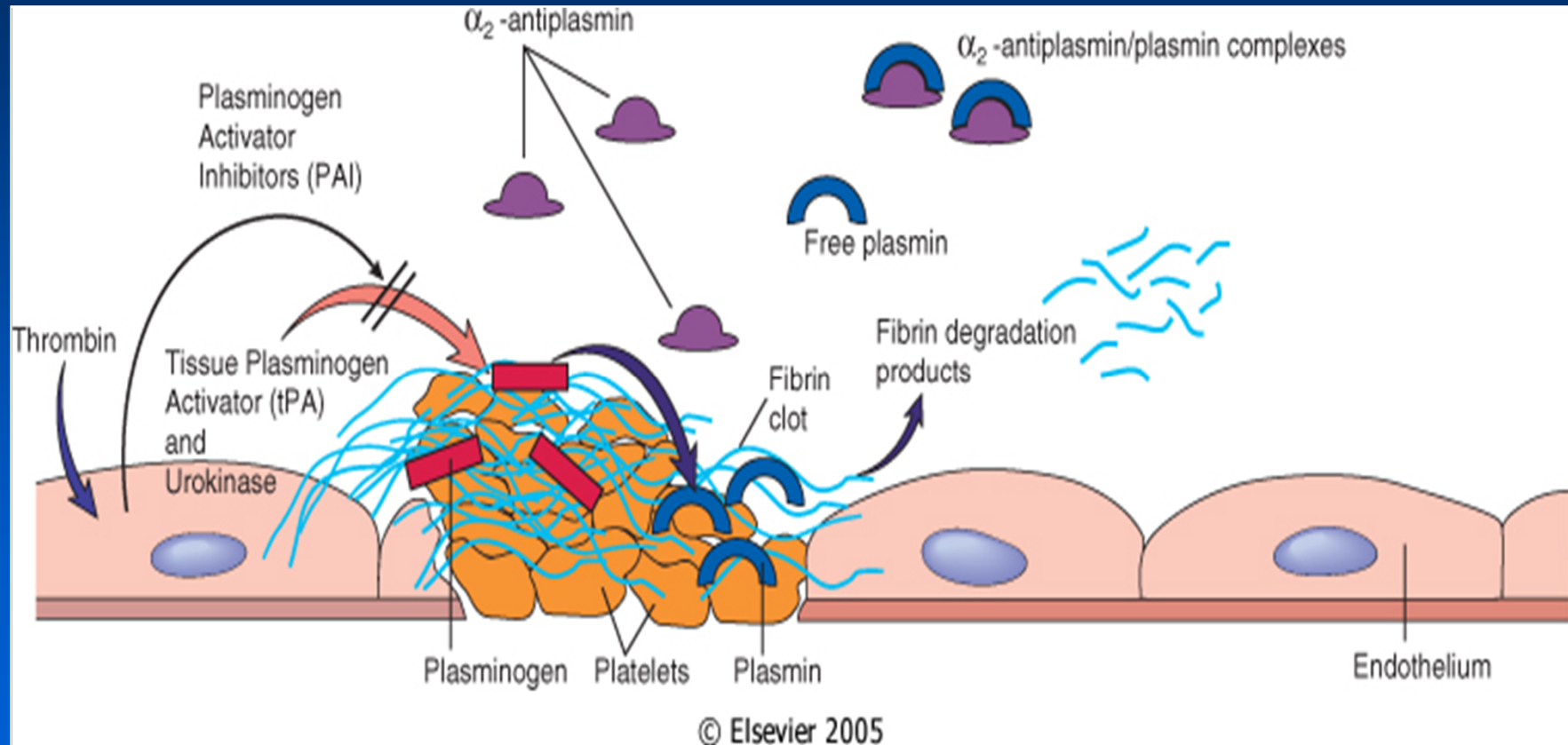
tissue Plasminogen Activator t-PA

Plasminogen

Plasmin digests fibrin



Fibrinolysis (2)



Fibrinolysis (2)

Fibrin binds

Plasminogen

and

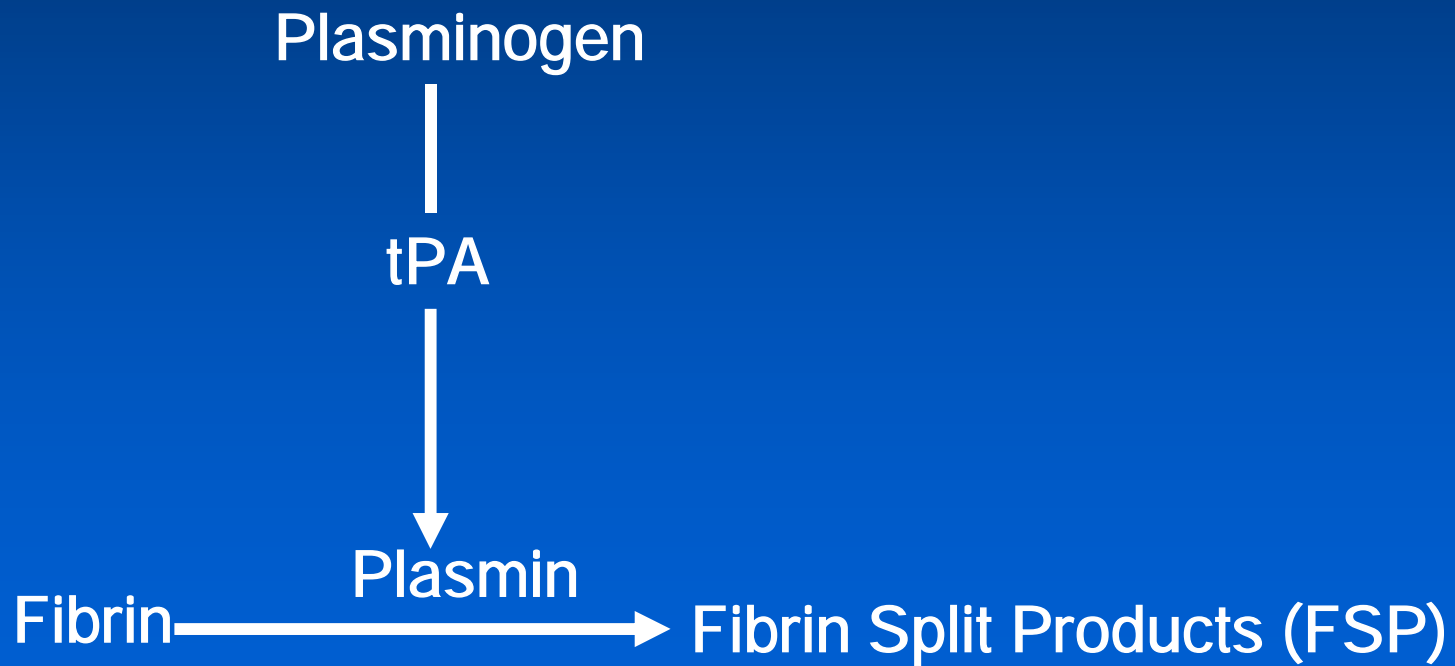
t-PA

Plasmin

so that the **lysis** is concentrated at the target



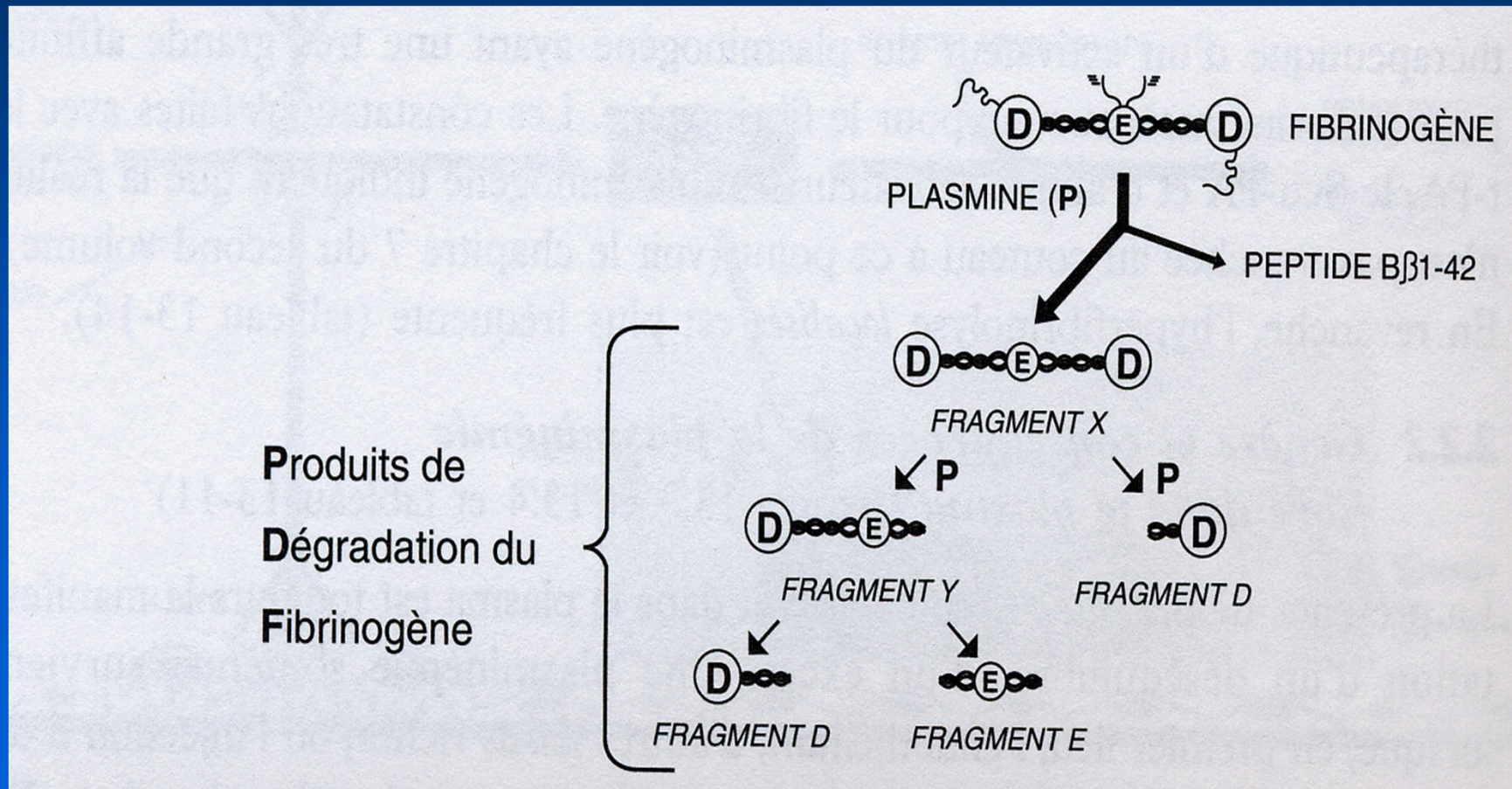
Fibrinolysis



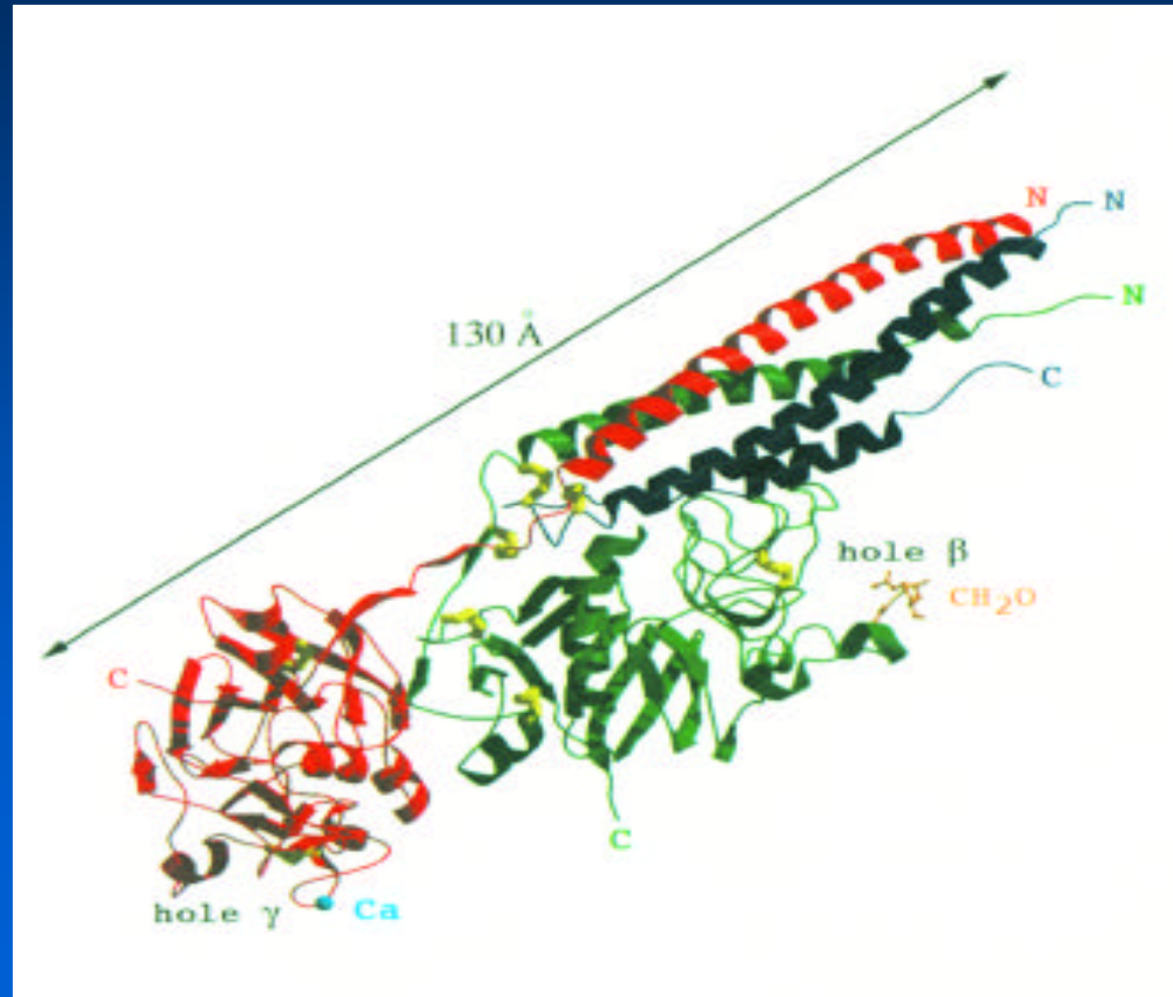
Inhibiteurs de la Fibrinolyse

- . Plasminogen activator inhibitors (PAIs)
- . alpha2-antiplasmine (serpin)

Action de la Plasmine sur le Fibrinogène: apparition des Produits de Dégradation du Fibrinogène



Fragment D



D-Dimères

Ce sont des produits de dégradation spécifiques de la fibrine. Leur mesure occupe une place importante dans l'approche diagnostique de la maladie thrombo-embolique veineuse.

En cas de suspicion d'une thrombose veineuse profonde (TVP), un taux normal de D-Dimères (inférieur au seuil de positivité déterminé par le laboratoire) permet d'exclure le diagnostic de maladie thrombo-embolique dans 95 à 98 % des cas (Dosage ELISA).

- En cas de doute diagnostique, doppler et parfois même phlébographie seront pratiqués.
- Le diagnostic de phlébite doit être confirmé par une iconographie++ doppler ou phlébographie de toutes les façons.

Le dosage des D-Dimères s'avère aussi intéressant dans le diagnostic d'embolie pulmonaire (EP).

Pathologies associées à une élévation du taux des D-dimères

- Activation systémique de la coagulation (CIVD)
- Activation localisée de la coagulation :
 - Hémorragies
 - MTEV (TVP et EP)

Conditions Characterized by Increased Plasma D-dimer levels

- Old age
- Neonatal period
- Pregnancy
- Hospitalization
- Disability
- Infections
- Tumors/Malignancy
- Recent surgery
- Trauma, burns...
- DIC
- **VTE**
- Stroke
- Peripheral arteriopathy
- Aneurisms
- Ischemic cardiopathy
- Congestive cardiac failure
- Hemolysis
- Haemorrhage
- ARDS
- Liver and renal diseases
- Thrombolytic therapy
- Aortic dissection...

CIVD (1)

- Il ne s'agit pas d'une pathologie individualisée, mais d'une complication observée au cours de très nombreuses pathologies chirurgicales, obstétricales ou médicales.
- Le traitement de la CIVD... sera celui de la pathologie causale (avec éventuellement substitution si déficit trop marqué en facteurs ou plaquettes).

CIVD (2)

- Sur le plan physiopathologique, les CIVD sont dues à une activation systémique de la coagulation avec génération accrue (et non régulée) de thrombine aux niveaux vasculaire et tissulaire entraînant la formation de microthrombi dans microcirculation et des manifestations hémorragiques (reflétant la déplétion en facteurs/plaquettes) dans les formes aiguës.

CIVD (3)

- On distingue classiquement deux formes de CIVD:
 - les CIVD aiguës (cliniques ou décompensées: « *overt DIC* ») rencontrées dans les sepsis et infections aiguës, grossesses pathologiques, chirurgies, certains cancers stades avancés ou LAM (3 ou hyperleucocytaires) et envenimations.
 - les CIVD chroniques (biologiques ou compensées: « *non-overt DIC* ») rencontrées notamment dans les tumeurs solides.

CIVD (4)

- La biologie sera évidemment très différentes dans ces deux formes:
 - CIVD aigue: syndrome de défibrination avec consommation importante des facteurs de la coagulation (surtout le FV puis le FII), du fibrinogène, et des plaquettes, et apparition de taux élevés de marqueurs d'activation de la coagulation/fibrinolyse (PDF, D-dimères...).
 - CIVD chroniques: taux supranormaux de facteurs de la coagulation, du fibrinogène, des plaquettes et élévation modérée des marqueurs d'activation.

CIVD - Fibrinolyse primitive

	CIVD	Fibrinolyse
TP	↓	↓ ↓
Fibrinogène	↓	↓ ↓ ↓
Plaquettes	↓	N
PDF	↑ ↑	↑ ↑
D-dimères	↑ ↑	↑
Complexes Solubles	Présents (ev.)	Absents
Temps Lyse Euglobulines	↓	↓ ↓ ↓
Facteur V	↓	↓
Antithrombine	↓	N

Overt-DIC (ISTH Scoring System)

1. Risk assessment: does the patient have an underlying disorder known to be associated with overt DIC?

If yes: Proceed.

If no: Do not use this algorithm.

2. Order global coagulation tests (platelet count, prothrombin time, fibrinogen, fibrin-related marker).

3. Score global coagulation test results.

- Platelet count
($>100 = 0$; $<100 = 1$; $<50 = 2$)
- Elevated fibrin related marker (e.g. D-dimers; fibrin degradation products)
(no increase = 0; moderate increase = 2; strong increase = 3)
- Prolonged prothrombin time
($<3\text{ s} = 0$; $>3\text{ but }<6\text{ s} = 1$; $>6\text{ s} = 2$)
- Fibrinogen level
($>1.0\text{gL}^{-1} = 0$; $<1.0\text{gL}^{-1} = 1$)

5. Calculate score

If ≥ 5 : compatible with overt DIC: repeat score daily

If < 5 : suggestive (not affirmative) for non-overt DIC: repeat next 1–2 days.



DIC (ISTH Scoring System)

Clinical conditions that may be associated with overt DIC:

- . Sepsis/severe infection (any microorganism)
- . Trauma e.g. polytrauma, neurotrauma, fat embolism
- . Organ destruction e.g. acute pancreatitis
- . Malignancy incl. Solid tumors and myelo/lymphoproliferative malignancies
- . Obstetric calamities e.g. amniotic embolism, abruption placenta...
- . Vascular abnormalities e.g. Kasabach-Meritt syndrome, large vascular aneurysm
- . Severe hepatic failure
- . Severe toxic or immunologic reaction e.g. snake bites, recreational drugs, transfusion reactions, transplant rejection

Non Overt-DIC (ISTH Scoring System)

1. Risk assessment: does the patient have an underlying disorder known to be associated with DIC?
yes = 2, no = 0

2. Major criteria

Platelet Count	$>100 \times 10^9 \text{ l}^{-1} = 0$	$<100 \times 10^9 \text{ l}^{-1} = 1$
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
PT Prolongation	$<3 \text{ s} = 0$	$>3 \text{ s} = 1$
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fibrin related-markers	Normal = 0	Raised = 1
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Rising = -1	Stable = 0	Falling = 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Falling = -1	Stable = 0	Rising = 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Falling = -1	Stable = 0	Rising = 1
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3. Specific criteria

Antithrombin	Normal = -1	Low = 1
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Protein C	Normal = -1	Low = 1
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
-----	Normal = -1	Abnormal = 1
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

4. Calculate score:

DIC (ISTH Scoring System)

- A score ≥ 5 can identify overt DIC (overt DIC score)
- Using a different template whereby abnormal trends are scored alongside abnormal results, non-overt DIC can be diagnosed from a score ≥ 5
- No added value for AT or PC measurement

Toh CH, et al. J Thromb Haemost 2006; 5: 604-6

Marqueurs biologiques de la formation de la fibrine

- TAT et F1+2 : non utilisables en routine car dosage ELISA et demi-vie plasmatique courte (F1+2).
- « Complexes solubles » ou monomères de fibrine...
- Produits de dégradation de la fibrine (PDF)
- D-dimères

D-dimères (1)

- Produits de dégradation spécifique de la fibrine, car la liaison entre deux domaines D n'est obtenue qu'après cross-linking des monomères de fibrine.
- Il s'agit d'une famille très hétérogènes de PDF qui possèdent tous le motif D-D.

D-dimères (2)

- Il s'agit donc d'un marqueur de l'activation de la fibrinolyse secondaire à une activation de la coagulation (localisée ou systémique).
- Taux élevés dans les CIVD, mais aussi lors de syndromes hémorragiques et d'épisodes thromboemboliques.
- Indications: diagnostic positif de CIVD (élément du score ISTH) ou diagnostic d'exclusion de la MTEV.

D-dimères - Dosage

- Dosage qualitatif ou quantitatif (préférable) par technique ELISA ou agglutination de particules de latex recouvertes par un anticorps monoclonal reconnaissant certains épitopes du domaine D-D... variable selon les trousse réactifs (hétérogénéité)
- Résultats rendus (ng/mL ou µg/mL) en quantité de D-dimères ou en quantité de fibrinogène (FEU) préférable.

D-dimères - Dosages

- Résultats obtenus avec différents réactifs pas identiques... et pas comparables!
- Si cela ne pose pas (trop) de problèmes dans le diagnostic de CIVD (car taux élevés), il n'en est pas de même dans le diagnostic d'exclusion de la MTEV où les performances et le cut-off de chaque réactif doivent être définis et validés par des essais prospectifs multicentriques bien conduits.

D-dimères

(Diagnostic d'exclusion de la MTEV)

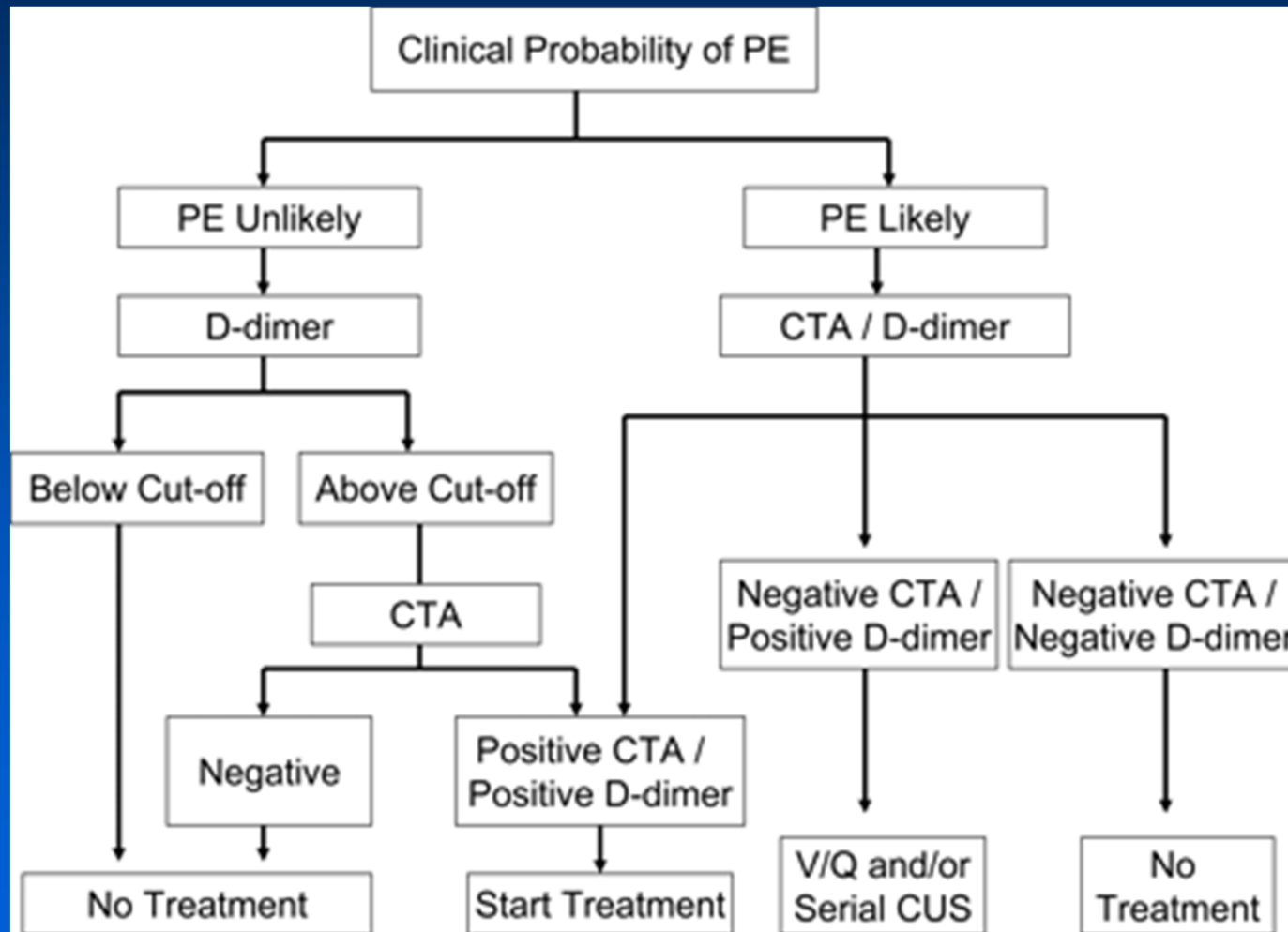
- Un taux de D-dimères inférieur à une valeur seuil définie (et validée par des essais cliniques multicentriques) permet d'exclure le diagnostic de maladie thromboembolique veineuse (VPN>99%) chez les patients avec une probabilité clinique faible ou modérée.
- Oui, mais surtout vrai pour EP et TVP proximale (moins performant en cas de phlébites distales).

D-dimères

(Diagnostic d'exclusion de la MTEV)

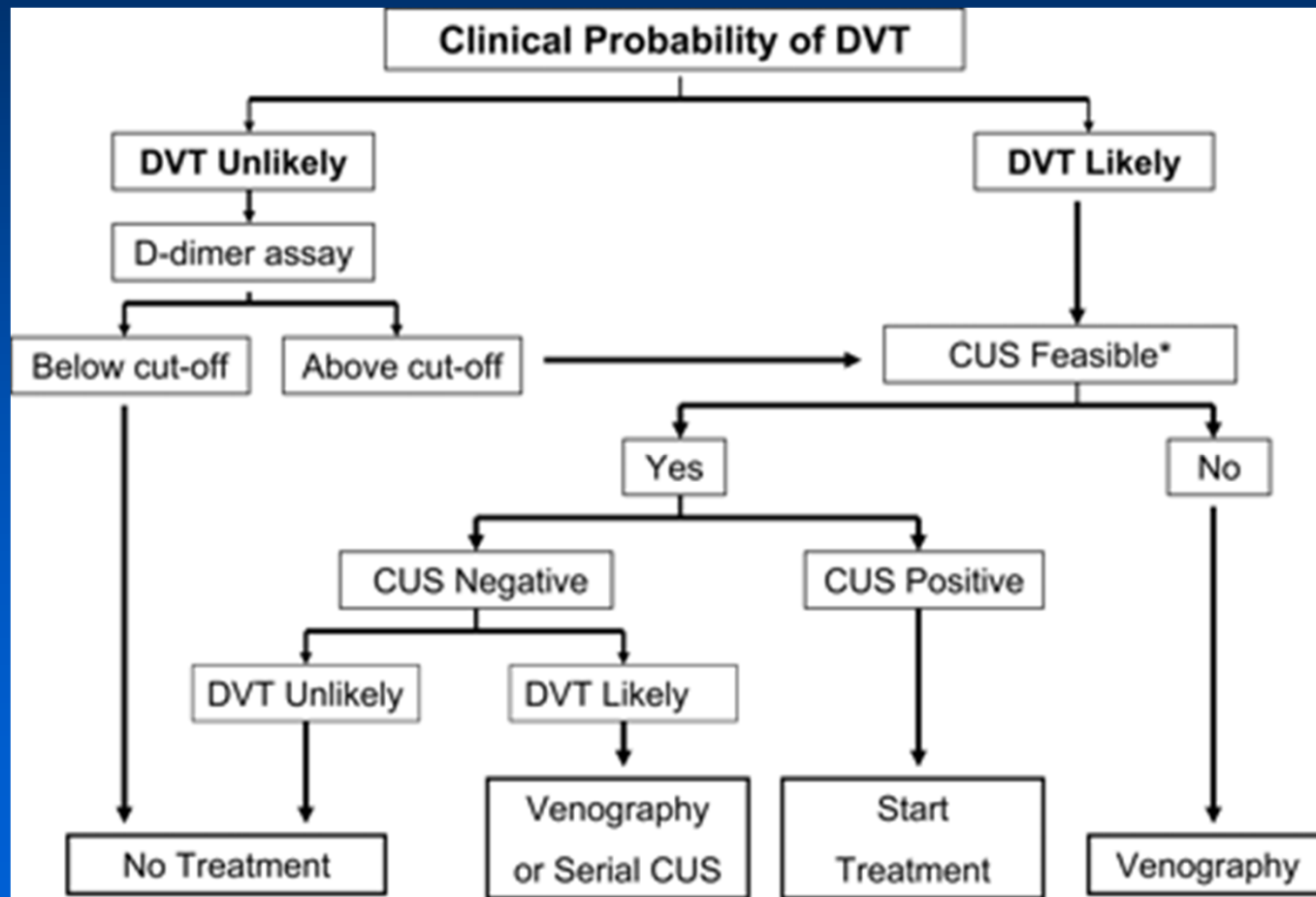
- Le dosage des D-dimères ne peut donc que s'intégrer dans une stratégie diagnostique incluant une évaluation de la probabilité clinique faible, modérée ou forte que le patient ait fait une thrombose (scores de Wells, de Genève...).
- Les taux élevés de D-dimères ne sont en aucun cas synonymes de thrombose. Le diagnostic de certitude sera porté par le Doppler des MI ou l'angioscan pulmonaire.

D-dimères et stratégie diagnostique de l'embolie pulmonaire



Adams SS, et al. Blood 2009

D-dimères et stratégie diagnostique de la thrombose veineuse profonde



Adams SS, et al. Blood 2009

D-dimères

(Diagnostic d'exclusion de la MTEV)

- Attention aux femmes enceintes, car le taux plasmatique des D-dimères augmente avec le terme et est fréquemment supérieur au cut-off dès la fin du 1er trimestre de la grossesse.
- Par ailleurs, cette stratégie diagnostique n'est valable que pour les patients âgés de moins de 70 ans car le taux plasmatique des D-dimères augmente avec l'âge.

D-dimères et MTEV – effet de l'âge

Age (y)	Patients (n)	VTE (n)	Sensitivity (95%CI)	Specificity (95%CI)	NPV (95%CI)
<30	91	5	80% (28.4-99.5)	83.5% (74.3-90.5)	98.7% (93.0-100)
30-39	121	5	80% (28.4-99.5)	75.6% (67.0-83.0)	98.9% (94.0-100)
40-49	151	7	100% (59.0-100)	78.7% (71.3-84.9)	100% (96.9-100)
50-59	155	6	83.3% (35.9-99.6)	69.2% (61.4-76.4)	99.1% (95.0-100)
60-69	142	11	100% (71.5-100)	56.0% (47.1-64.5)	100% (95.2-100)
70-79	165	14	100% (76.8-100)	33.3% (26.1-41.1)	100% (93.4-100)
80-89	134	18	100% (81.5-100)	10.1% (5.3-17.0)	100% (73.5-100)
>90	45	4	100% (39.8-100)	7.3% (4.0-20.0)	100% (29.2-100)
Total	1,004	70	95.8% (88.0-99.0)	57.4% (54.2-60.5)	99.4% (98.4-99.9)

D-dimer and VTE Diagnosis

False-negative

- Poor test sensitivity
- Inaccurate cut-off value
- Hypofibrinolysis
- Symptoms older than 7-10 days
- Antithrombotic therapy (warfarin, heparin...)

Conclusions

- Fibrinogène : marqueur de risque cardiovasculaire.
- D-dimères : utiles dans le diagnostic positif de CIVD et dans le diagnostic d'exclusion de la MTEV (importance de la probabilité clinique).
- Complexes solubles et PDF...