



**HAL**  
open science

# Étude des facteurs de l'hémostase après thrombolyse par le rT-PA dans l'infarctus cérébral aigu : corrélations cliniques et étiologiques

Xuhong Sun

► **To cite this version:**

Xuhong Sun. Étude des facteurs de l'hémostase après thrombolyse par le rT-PA dans l'infarctus cérébral aigu : corrélations cliniques et étiologiques. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2015. Français. NNT : 2015LYO10110 . tel-01207019

**HAL Id: tel-01207019**

**<https://theses.hal.science/tel-01207019v1>**

Submitted on 30 Sep 2015

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre :

Année 2015

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON  
Délivrée par  
L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE  
**EDISS**

DIPLOME DE DOCTORAT  
(arrêté du 7 août 2006)  
BIOMOLECULES ET NEUROSCIENCE

soutenue publiquement le 15 Septembre 2015 par

SUN Xuhong 孙旭红

**ETUDE DES FACTEURS DE L'HEMOSTASE APRES  
THROMBOLYSE PAR LE rT-PA DANS L'INFARCTUS  
CEREBRAL AIGU**

Corrélations cliniques et étiologiques

Directeur de recherche: Mr TROUILLAS Paul  
图雅思保罗教授

JURY : Mr NEGRIER Claude, Président  
Mr TROUILLAS Paul  
Mme ALESSI Marie-Christine  
Mr. LAURENT Bernard  
Mr HANSS Michel  
Mr PERNOD Gilles

---

**RESUME en français**

L'étude systématique de l'hémostase post-thrombolytique a été peu étudiée. Chez 80 malades thrombolysés consécutifs, une étude prospective a comporté l'étude – aux heures 0, 2 et 24 – des facteurs de l'hémostase suivants: fibrinogène, plasminogène, PDF (produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène), D-dimères, alpha2-antiplasmine et facteur XIII, ainsi que l'hématocrite et la numération plaquettaire. Des calculs statistiques approfondis ont exploré les corrélations des variations des facteurs hémostatiques entre eux et avec 37 paramètres cliniques et étiologiques.

*Processus moléculaires post-thrombolytiques.* Le rt-PA induit deux processus, indépendants statistiquement à la 2<sup>ème</sup> heure: d'une part une élévation des PDF et des D-dimères; d'autre part, une baisse du fibrinogène, corrélée à une baisse du plasminogène ( $r=0,48$ ,  $p=0.01$ ), de l'alpha2-antiplasmine ( $r=0.48$ ,  $p=0.004$ ) et du facteur XIII ( $r=0.44$ ,  $p=0.01$ ). La baisse du plasminogène est corrélée significativement avec celle de l'alpha2-antiplasmine ( $r=0.77$ ,  $p<0.001$ ), et du facteur XIII ( $r=0.47$ ,  $p=0.02$ ). La mise en jeu de facteurs anti-fibrinolytiques, qui n'avait jamais été décrite précédemment, peut jouer un rôle dans une limitation de la fibrinolyse et dans la rethrombose. Des corrélations sont notées entre la baisse précoce du plasminogène et l'étiologie cardioembolique ( $p=0.04$ ), et un mauvais pronostic final ( $p=0.03$ ), possiblement en rapport la thrombolyse intense de gros caillots.

*Les hématomes intra-cérébraux parenchymateux (HP)* sont liés significativement à la baisse du fibrinogène ( $p=0.01$ ) et à l'augmentation des PDF ( $p=0.01$ ). Une baisse du fibrinogène au dessous de 2g/L multiplie la probabilité de HP précoce par un facteur 12,82. Ainsi est confirmé le modèle d'une "coagulopathie précoce avec dégradation du fibrinogène"», prédictive de l'hématome, proposé par l'équipe lyonnaise de thrombolyse en 2004.

## **TITRE en anglais**

Haemostasis factors after rt-PA thrombolysis in acute cerebral infarct.

---

## **RESUME en anglais**

A systematic study of post-thrombolytic haemostasis has rarely been performed. In 80 consecutive patients, we have prospectively studied at hours 0, 2 and 24 the following parameters: fibrinogen, plasminogen, alpha2-antiplasmin, factor XIII, fibrin(ogen) Degradation Products (FDP), D-dimers, haematocrit and platelet count. Comprehensive statistical studies calculated correlations of the haemostatic values between themselves and with 38 etiological and clinical parameters.

*Molecular dynamics.* Two changes between h0 and h2 were statistically independent: an increase in FDP and D-Dimers; a decrease in fibrinogen, plasminogen, alpha2-antiplasmin and factor XIII. At h2, the decrease in fibrinogen was significantly correlated with that of plasminogen (0.48,  $p = 0.01$ ), alpha2-antiplasmin (0.48,  $p = 0.004$ ), and factor XIII (0.44,  $p = 0.01$ ). The decrease in plasminogen was significantly correlated with those of antifibrinolytic components, alpha2-antiplasmin ( $r=0.77$ ,  $p<0.001$ ) and factor XIII (0.47,  $p=0.02$ ). To our knowledge, such an activation of antifibrinolytic components had not hitherto been mentioned. The h2 decrease of plasminogen was correlated with cardioembolic etiology ( $p=0.04$ ) and final poor outcome ( $p=0.03$ ), a fact possibly due to intense thrombolysis of large clots.

*Patients having early parenchymal hematomas (PH)* showed h2 haemostasis disturbances: high FDP ( $p=0.01$ ), and low fibrinogen ( $p=0.01$ ). The decrease in fibrinogen less than 2g/L multiplies the odds of early PH by a factor 12.82. Thus, we confirm the model of an “early fibrinogen degradation coagulopathy” predictive of hematomas, which had been coined by the Lyon thrombolysis team in 2004.

---

## **MOTS-CLES**

Thrombolyse, rt-PA, fibrinogène, plasminogène, alpha2-antiplasmine, facteur XIII, PDF (produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène), D-dimères, hémorragie post-thrombolytique, infarctus hémorragique, hématome parenchymateux.

---

## **Key words :**

Thrombolysis, rt-PA, fibrinogen, plasminogen,  $\alpha$ 2-antiplasmin, factor XIII, Fibrin(ogen) Degradation Products (FDP), D-dimers, post-thrombolysis hemorrhage, hemorrhagic infarcts (HI), parenchymal hematoma (PH).

---

## **LABORATOIRE OU LA THESE A ETE PREPAREE**

**Laboratoire d'Hémostase du groupe hospitalier Est et Unité d'Hémostase clinique  
Hopital Cardiologique, 28 Avenue Doyen Jean Lépine 69500 BRON, France.  
Unité cérébrovasculaire de Lyon, Hôpital neurologique, 59 Boulevard Pinel, Lyon,  
France.**

# **TABLE DES MATIERES**

## **INTRODUCTION**

## **I. DEFINITIONS**

## **II. THROMBOLYSE ET FIBRINOLYSE NATURELLES**

## **III. COAGULATION ET FIBRINOLYSE DANS LES INFARCTUS CEREBRAUX NON THROMBOLYSES**

## **IV. THROMBOLYSE PHARMACOLOGIQUE DANS L'INFARCTUS CEREBRAL : DONNEES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES.**

## **V. PRESENTE RECHERCHE: MATERIEL ET METHODES**

### **V.1. Critères d'inclusion et d'exclusion**

### **V.2. Evolution clinique**

### **V.3. Bilan étiologique**

### **V.4. Traitement**

### **V.5. Scanner cérébral**

### **V.6. Bilan étiologique**

### **V. 7. Analyse statistique**

## **VI. PRESENTE RECHERCHE: RESULTATS**

### **VI.1. Paramètres hémostatiques après la thrombolyse : corrélations moléculaires**

### **VI.2. Paramètres hémostatiques après la thrombolyse : correlations avec les facteurs étiologiques et le pronostic global**

### **VI.3. Paramètres hémostatiques après la thrombolyse: corrélations avec les hématomes intracérébraux**

## **VII. PRESENTE RECHERCHE: DISCUSSION**

### **VII.1. Paramètres hémostatiques après la thrombolyse : corrélations moléculaires**

### **VII.2. Paramètres hémostatiques après la thrombolyse : corrélations avec les facteurs étiologiques et le pronostic global**

### **VII.3. Paramètres hémostatiques après la thrombolyse: corrélations avec les hématomes intracérébraux**

## **VIII. LIMITATIONS DE L'ETUDE**

## **IX. CONCLUSION**

## **X. REFERENCES**

## INTRODUCTION

Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) constituent la 2<sup>ème</sup> cause de mortalité et la première cause de handicap dans le monde (Organisation Mondiale de la Santé, 2005 et 2009; Strong K et al., 2007; Lozano R et al., 2012). Le nombre absolu de personnes affecté par les AVC va en croissant depuis 1990, de même que le nombre de survivants handicapés et morts par AVC (Pandian JD et al., 2007, Krishnamurthi RV et al., 2013). Il est estimé que, si les tendances actuelles se poursuivent, il y aura en 2030 20 millions de morts annuelles par AVC dans le monde. L'incidence et la prévalence des AVC sont croissantes dans les pays en voie de développement, si bien qu'en 2050, 80% des AVC surviendraient dans ces pays (Pandian JD et al., 2007, Murray CJ et al., 1997, Feigin VL et al., 2007, Feigin VL et al., 2009). En Chine, l'incidence est variable selon les régions, 486/100000 dans le Nord-Est et 136/100000 dans le sud; la mortalité annuelle globale par AVC est approximativement de 157/100000 (Liu L et al., 2011).

Les infarctus cérébraux représentent environ 80% des AVC, cette proportion étant connue pour être moindre – par rapport aux hématomes intracérébraux – en Afrique subsaharienne (Balogou AA, 2014) et en Chine en général, et plus particulièrement dans certaines régions (Liu L et al., 2011).

L'origine des infarctus cérébraux est l'occlusion d'une artère cérébrale par un thrombus (Fieschi C et al., 1989; del Zoppo GJ et al., 1992). Les deux grandes étiologies de ces occlusions sont les causes cardio-emboliques et les causes athéro-thrombotiques touchant les gros vaisseaux (aortiques, carotidiens, vertébrobasilaires extracrâniens, artériels intracrâniens dans les systèmes carotidien et vertébrobasilaire).

Au cours des vingt dernières années, la prise en charge des infarctus cérébraux s'est radicalement modifiée avec l'avènement de la thérapeutique thrombolytique, à la suite de la grande étude contrôlée originelle du NINDS (The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group, 1995), réalisée dans les 3 heures après le début de l'accident. D'autres études contrôlées ont montré que la "fenêtre" du temps d'administration pouvait être élargie, d'abord à 4,5 heures (ECASS III, Hacke et al., 2008), puis à 6 heures (IST3, Sandercock et al., 2012). Des études ouvertes anciennes (Trouillas et al., 1996, 1998) et plus récentes (Wahlgren N et al., 2007 ; Shobha N et al., 2011 ; Albers GW et al., 2006) ont confirmé les résultats de la thrombolyse, mais aussi ses complications graves, en particulier les hématomes intracérébraux.

De façon surprenante, la dynamique moléculaire de l'hémostase après thrombolyse des infarctus cérébraux a rarement été étudiée de façon longitudinale (Fassbender K et al., 1999; Trouillas P et al., 2004; Tanne D et al., 2006 ; Matosevic et al., 2013).

La présente recherche, publiée dans 2 articles (Sun et al., 2014; Sun et al., 2015), constitue la cinquième tentative pour connaître les phénomènes moléculaires qui se produisent chez les patients après la thrombolyse par le rt-PA.

Les objectifs de cette thèse s'inscrivent dans la perspective d'une étude systématique et longitudinale des facteurs de l'hémostase avant et après thrombolyse et sont les suivants:

- 1- Observer le bilan d'hémostase avant et après la réalisation de la thrombolyse cérébrale intraveineuse par l'activateur tissulaire du plasminogène (rt-PA); observer les corrélations entre les taux des différents paramètres de l'hémostase, et entre leurs variations, aux temps 0, 2 heures et 24 heures

- 2- Etudier les relations dynamiques des facteurs hémostatiques entre eux, de façon à éclairer les mécanismes moléculaires après thrombolyse pharmacologique
- 3- Etudier les relations dynamiques entre les facteurs hémostatiques et les facteurs étiologiques d'une part, pronostiques de l'autre.
- 4- Rechercher les facteurs hémostatiques prédictifs de la survenue de lésions hémorragiques intracérébrales

Avant d'aborder nos travaux, nous procéderons à un rappel synthétique de la thrombolyse et de la fibrinolyse naturelles. Nous évoquerons les anomalies hémostatiques constatées dans les infarctus cérébraux non thrombolysés. Enfin nous ferons une revue concernant la thrombolyse pharmacologique des infarctus cérébraux et les données connues avant ce travail sur l'hémostase post-thrombolytique observée chez les patients thrombolysés.

## I. DEFINITIONS

Littéralement, la *thrombolyse* définit la dissolution du caillot. On distingue la *thrombolyse naturelle*, physiologique et spontanée, et la *thrombolyse pharmacologique*, induite par des produits thrombolytiques administrés médicalement, par voie veineuse ou intra-artérielle.

La *fibrinolyse* définit le processus moléculaire essentiel de la dissolution du caillot, l'attaque de la fibrine. Cette fibrinolyse existe à l'état naturel, et l'on parle parfois de fibrinolyse spontanée et même de fibrinolyse primaire (Dugdale D, 2011); la fibrinolyse pharmacologique est provoquée par l'administration de produits fibrinolytiques, intraveineuse ou intra-artérielle.

La *fibrinogénolyse* définit une attaque du fibrinogène circulant. Un thrombolytique est dit *fibrino-spécifique* s'il réalise spécifiquement une attaque de la fibrine, c'est à dire une fibrinolyse, sans attaque du fibrinogène circulant, c'est à dire sans fibrinogénolyse. La propriété de fibrino-spécificité, parmi les agents fibrinolytiques connus, est rarement intégrale.

## II. THROMBOLYSE ET FIBRINOLYSE NATURELLES

L'ischémie cérébrale focale est provoquée par l'occlusion aiguë d'une artère intracérébrale par un thrombus d'origine cardiaque ou artérielle dans 76% des cas: ceci est démontré par des artériographies précoces (Fieschi et al, 1989). La thrombolyse naturelle des thrombus cérébraux est démontrée dans la même étude par des artériographies retardées: 70% des thrombus observés ont disparu après une semaine. Une autre étude a montré que 17% des occlusions artérielles cérébrales laissaient place à une ouverture artérielle à 7-8 heures, tandis que le taux de non-occlusion montait à 50% à 3-4 jours (Kassem-Moussa H et al., 2002). D'autres travaux ont exploré le même phénomène (Marchal G et al., 1993 ; Baron JC et al., 1995 ; Toni D et al., 1998).

Une *thrombolyse naturelle a donc eu lieu*, provoquant la destruction de la fibrine du caillot à l'intérieur du vaisseau et contribuant ainsi à la restitution de la continuité vasculaire dite "*recanalisation*". Ce phénomène anatomique débute de façon concomitante avec l'activation plaquettaire et l'activation de la coagulation, mais se prolonge dans les heures et les jours qui suivent, in vivo.



Cependant, cette thrombolyse naturelle est trop tardive pour être bénéfique cliniquement dans le domaine cérébral. L'étude de Fieschi et al. (1989) montre que ces recanalisations coexistent avec des ischémies cérébrales anatomiques et des déficits cliniques massifs.

Le mécanisme moléculaire essentiel de cette thrombolyse naturelle est la *fibrinolyse naturelle* ou spontanée. Celle-ci comporte une voie plasminogène dépendante et une voie non plasminogène dépendante.

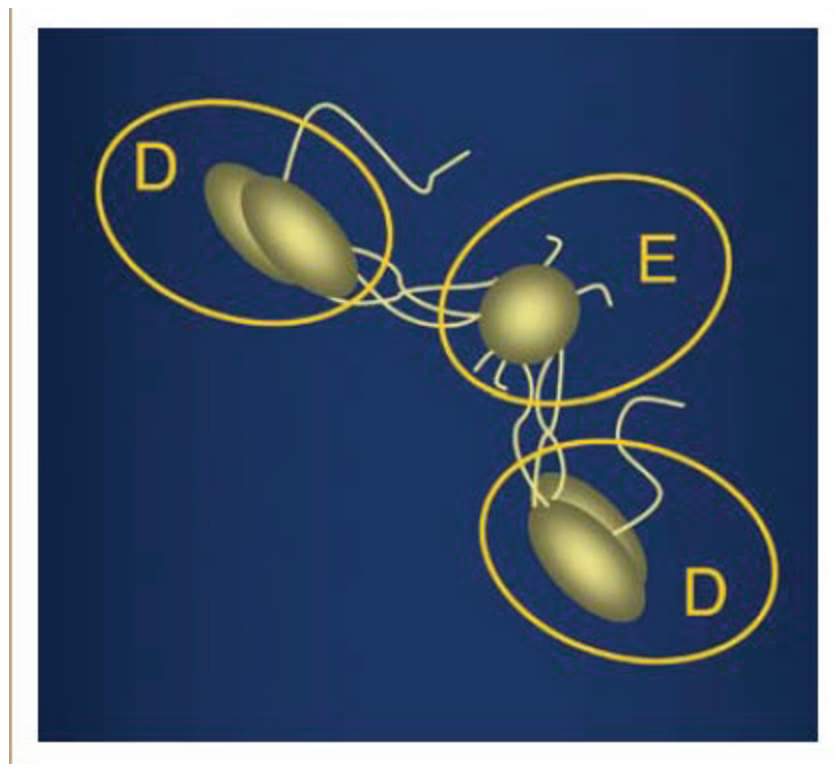
**II.1. La fibrinolyse plasminogène dépendante** (les figures ont été créées et publiées par M. Michel Hanss (2005) ; elles sont présentées ici avec l'autorisation de l'éditeur, Elsevier)

### **II.1.1. Le caillot de fibrine, le fibrinogène, la fibrine, le facteur XIIIa**

La survenue d'une lésion vasculaire s'accompagne d'une activation plaquettaire et d'une génération de thrombine. Il s'ensuit une adhésion des plaquettes sur la paroi lésée, avec agrégation, activation et libération de leur contenu permettant un recrutement local.

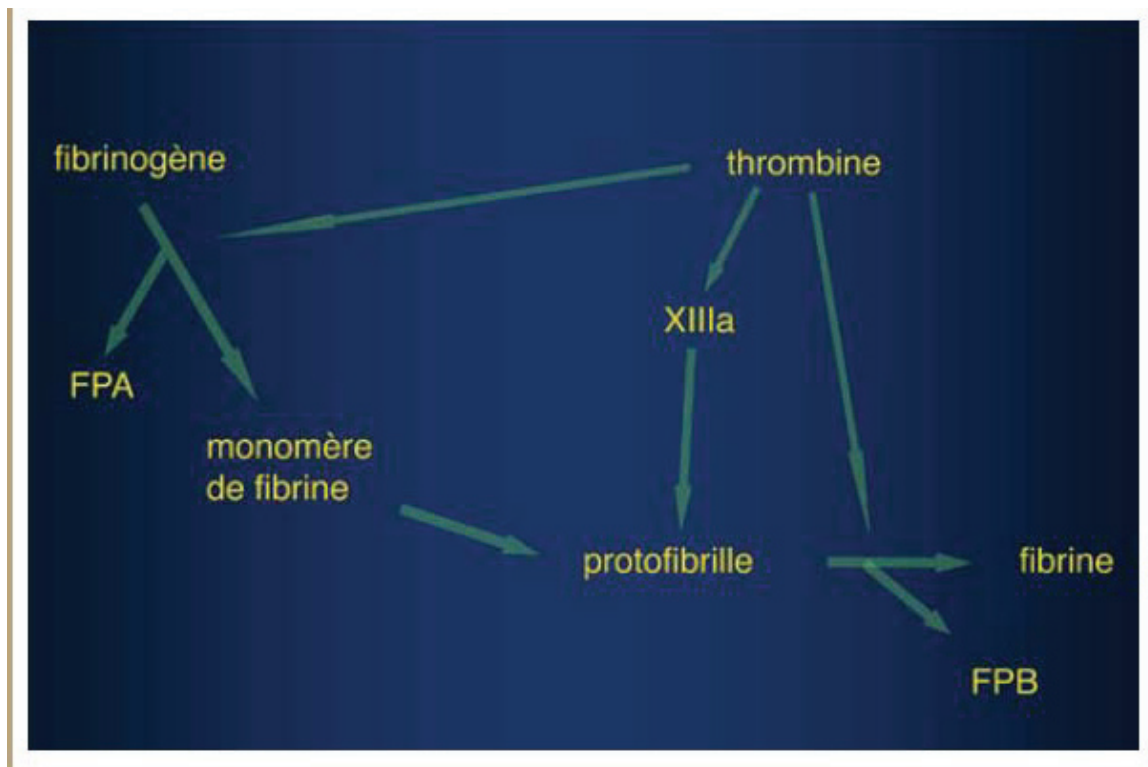
L'élément final de la cascade de la coagulation est la molécule de fibrinogène (figure 1). Sa demi-vie plasmatique est de 3-4 jours. La concentration, comprise entre 1,8 et 4,1 g/L (6-12  $\mu$ M), dépend d'un déterminisme constitutionnel et de variations environnementales.

**Figure 1 : La molécule de fibrinogène et ses 3 domaines D, D et E.** Elle est constituée de l'assemblage de 6 chaînes 2 à 2 identiques : A $\alpha$ 2, B $\beta$ 2 et gamma2. Planche originale de Michel Hanss, reproduite avec la permission spéciale de la *Revue francophone des laboratoires*, comme les 7 planches suivantes.



Au niveau plasmatique, l'apparition de thrombine (à partir de la prothrombine) et du facteur XIIIa conduit à la transformation du fibrinogène soluble en monomères de fibrine (Fibrin monomer, FM), lesquels proviennent du clivage des fibrinopeptides A du fibrinogène par la thrombine (Blombäck B, 1996; Hanss M, 2005). Ces monomères précipitent les uns avec les autres, avec apparition de liaisons covalentes induites par le

**Figure 2. La fibrinogenèse : transformation du fibrinogène en fibrine sous les actions conjuguées de la thrombine et du facteur XIIIa.**



facteur XIIIa et s'organisent en un réseau tridimensionnel englobant les éléments figurés (figure 2). Cet édifice moléculaire constitue le « squelette » du caillot.

Par ailleurs, la thrombine active et l'antithrombine III se lient et forment des complexes Thrombine-antithrombine (TAT). Enfin, le fragment 1.2 de la prothrombine (F1.2) apparaît lors de l'activation de la prothrombine par le facteur Xa. La thrombomoduline est un récepteur pour la thrombine à la surface des cellules endothéliales, qui intervient dans la régulation de la coagulation intravasculaire (Esmon NL et al, 1983). Elle peut être relarguée dans le plasma à l'état soluble et circulant (sTM) (Takano S et al., 1990). Elle exercerait une fonction anti-thrombotique et anti-inflammatoire.

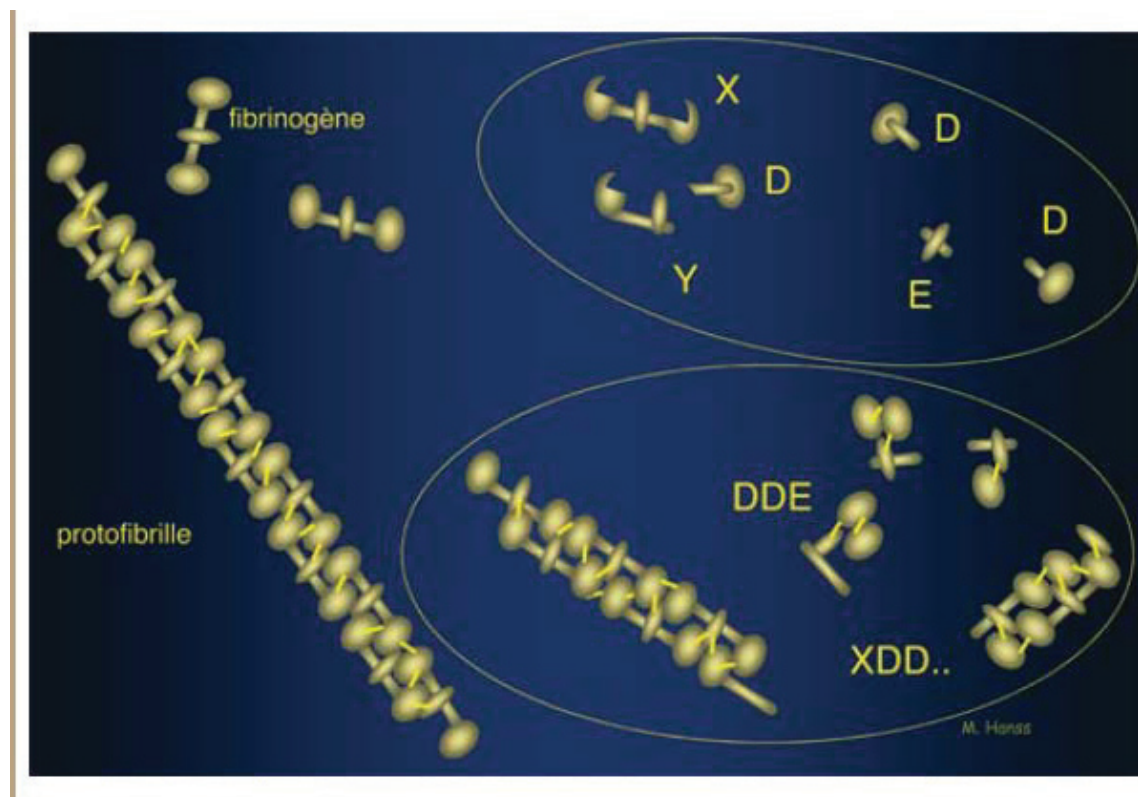
Plusieurs tests permettent d'évaluer l'existence d'une activité thrombine circulante :

- Le dosage des monomères de fibrine
- Le dosage des D-dimères circulants : il reflète la présence de fragments circulants de fibrine liée de façon covalente par le facteur XIIIa, et partant, de l'activité de la fibrinogenèse, mais aussi de la fibrinolyse (voir plus loin)
- le dosage du fibrinopeptide A (Fischer M et Francis R, 1990)
- le dosage des complexes thrombine-antithrombine
- le dosage du fragment 1.2 de la prothrombine
- le dosage de la thrombomoduline circulante, censé refléter le degré d'agression endothéliale lors d'évènements thrombotiques (Blann et al, 1997).

**II.1.2. La plasmine et la fibrinolyse naturelle.** La fibrinolyse naturelle consiste dans la dégradation de la fibrine par la plasmine, une sérine protéase générée après activation du plasminogène circulant. Celle-ci sectionne les liaisons C-ter Arg-X et C-ter Lys-X présentes sur la fibrine, mais aussi sur de nombreuses autres molécules, y compris le fibrinogène circulant (Collen D, 1999).

\* *L'action de la plasmine sur la fibrine* opère des coupures de celle-ci en de nombreux sites, ce qui aboutit à l'apparition de fragments très variés, multiples et de taille différente. Les différents fragments coupés par la plasmine restent liés entre eux par les liaisons

**Figure 3. Les produits issus de la dégradation du fibrinogène et de la fibrine par la plasmine.** Sont représentés ici les molécules de fibrinogène, une protofibrille de fibrine, des fragments de fibrinogène X, Y, D, E (en haut à droite) et des fragments de fibrine, en bas à gauche. *Les D-dimères ne comprennent que des fragments de fibrine, tandis que les PDF comprennent à la fois des fragments de fibrinogène et des fragments de fibrine.*



covalentes générées par le facteur XIII. Ainsi vont apparaître des édifices moléculaires très variables. Le fragment le mieux connu actuellement et caractéristique de la destruction de la fibrine est le complexe D-D, ou D-dimère, correspondant à l'assemblage de deux fragments D provenant de deux monomères de fibrine voisins (figure 3).

\* *L'action de la plasmine sur le fibrinogène* provoque l'apparition de fragments variés uniques, non liés entre eux. Sont successivement formés ainsi le fragment X, puis des fragments Y et D, puis deux produits D et un produit E (figure 3). Les fragments X et Y ont une action anti-thrombine (Collen D et al., 1999 ; Wintrobe MM et al., 1981), un caractère inhibiteur de la polymérisation de la fibrine (Wintrobe MM et al., 1981) et une action anti-plaquettaire. Le modèle de cette dernière action pourrait être la saturation des sites

plaquettaires de fixation du fibrinogène par ces fragments-leurres, empêchant l'agrégation des thrombocytes et la formation du thrombus (Kloczewiak M et al., 1983).

Le fibrinopeptide B-bêta 1-42 est un autre fragment de fibrinogène clivé par la plasmine en début d'une chaîne B-bêta, beaucoup plus petit que les précédents.

Ces éléments sont importants pour comprendre la différence entre le dosage des D-Dimères et des PDF ou Produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène:

- les D-dimères ne contiennent que des fragments de fibrine et constituent un bon reflet de la *fibrinolyse* elle-même. L'épitope caractéristique de la fibrine étant présent aussi bien sur des complexes de haut poids moléculaires que sur des petits fragments de fibrine (Pfitzner SA et al., 1997), le dosage n'indique pas la taille des fragments de fibrine circulants. Cependant, on l'a vu au paragraphe précédent, le processus de coagulation lui-même doit avoir lieu pour que des D-dimères puissent être générés. *Les D-dimères sont donc des témoins de la fibrinolyse, mais aussi de la coagulation préexistante.*

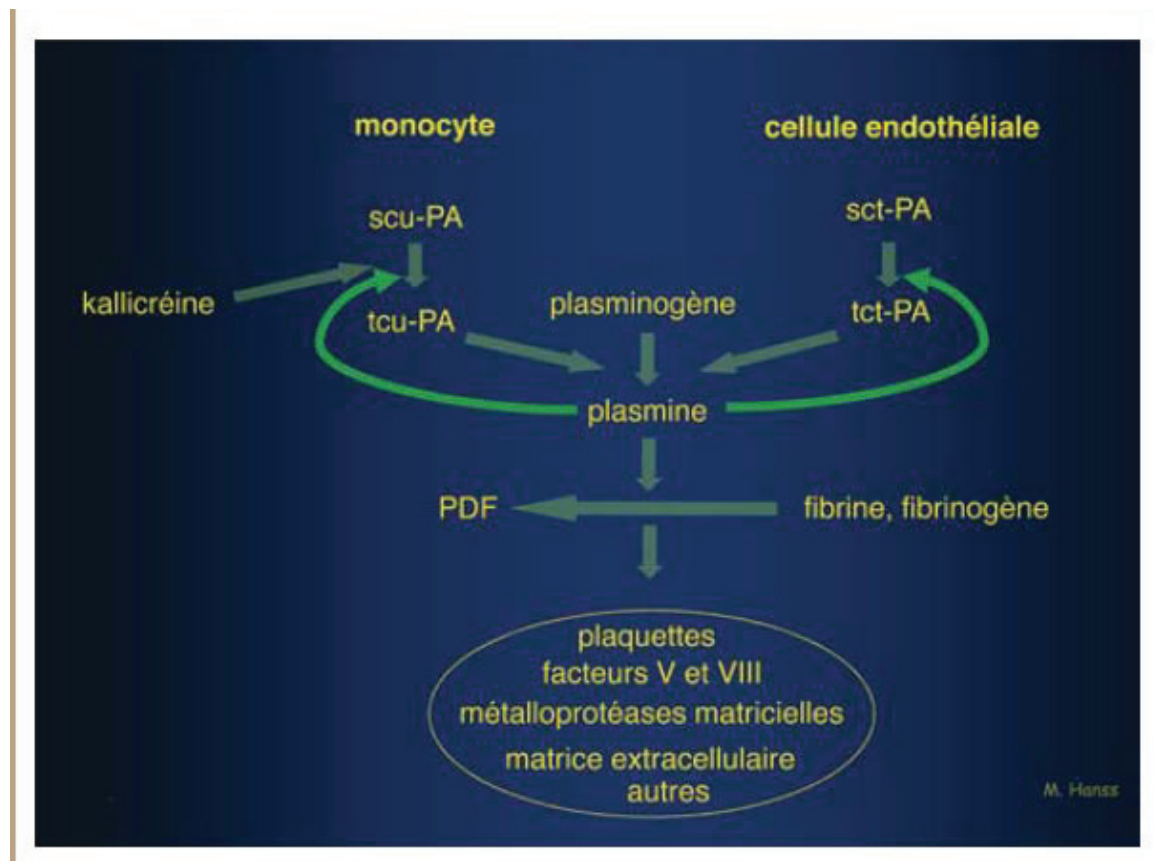
- la mesure des Produits de dégradation des PDF est sensible aussi bien aux fragments de fibrine qu'aux fragments de fibrinogène. *Les PDF peuvent donc être des témoins mixtes, de la fibrinolyse, mais aussi de la fibrinogénolyse* (Mirshahi M et al., 1986).

- le dosage du fibrinopeptide B-bêta 1-42 est un témoin d'activité fibrinogénolytique exclusive.

### ***II. 1.3. Le plasminogène et son activation (figure 4)***

La molécule précurseur de la plasmine est le plasminogène (Plg), molécule monocaténaire de synthèse hépatique, présente dans le plasma à une concentration de 1,7  $\mu\text{M/L}$  (Ponting CP et al., 1992). Ses propriétés sont mieux connues depuis les travaux princeps de Collen sur le t-PA recombinant obtenu par génie génétique (Collen D, 1984).

**Figure 4. Schéma général de la fibrinolyse plasminogène dépendante et de ses voies d'activation**



La génération de plasmine se produit à partir du plasminogène par l'intervention de l'activateur du plasminogène de type tissulaire (t-PA), l'activateur du plasminogène de type urokinase (u-PA) et la plasmine elle-même, transformant ce précurseur monocaténaire en une molécule bicaténaire. L'interaction du plasminogène avec le t-PA est majorée par la formation du complexe t-PA-Plg-fibrine (on parle de triade), la surface de fibrine permettant une concentration topographique du précurseur de la plasmine et de son activateur, potentialisant l'apparition de plasmine (figure 5).



FJ, et al., 2002). La demi-vie plasmatique de 6 minutes est liée à une élimination par les hépatocytes, et la concentration plasmatique est située autour de 5 µg/L.

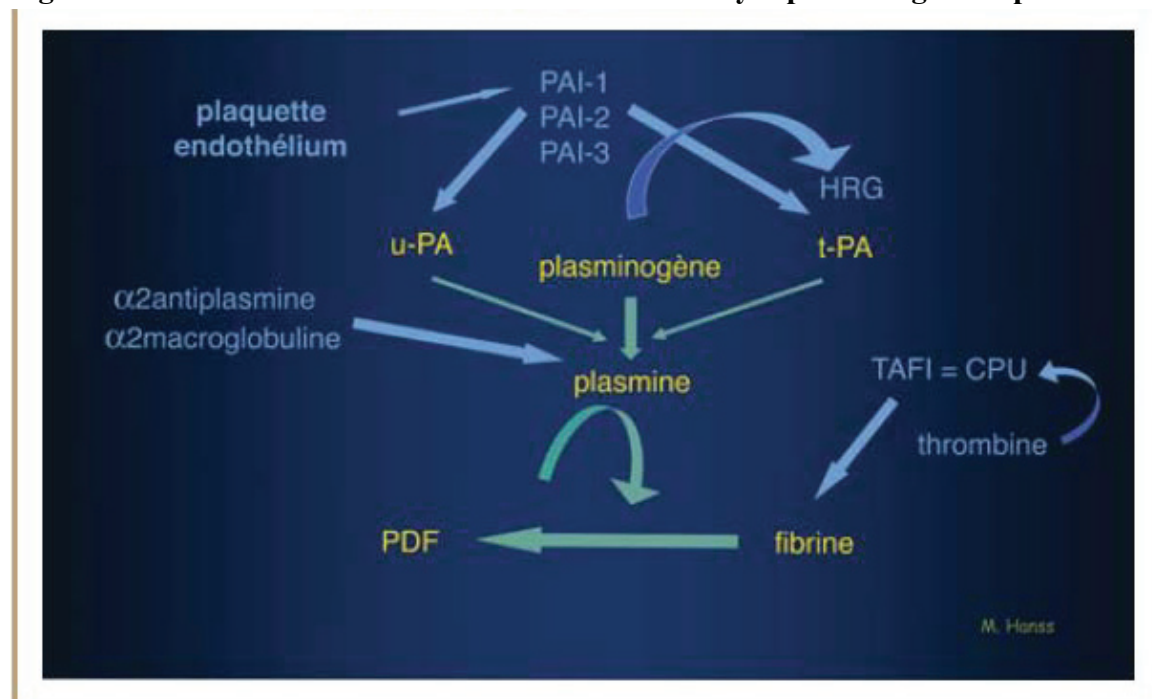
### II. 1.5. Les inhibiteurs de la fibrinolyse ou antifibrinolytiques (figure 6)

Le système de dégradation de la fibrine est régulé par plusieurs inhibiteurs qui interviennent à différents niveaux (figure 6) et selon différents modes d'action schématisés sur la figure 7. Les cinq éléments détaillés ci-après sont plus spécifiques ou présentent des caractéristiques assez typiques.

#### \* L'alpha2-antiplasmine ( $\alpha$ 2-AP) ou « plasmin inhibitor » ou PI

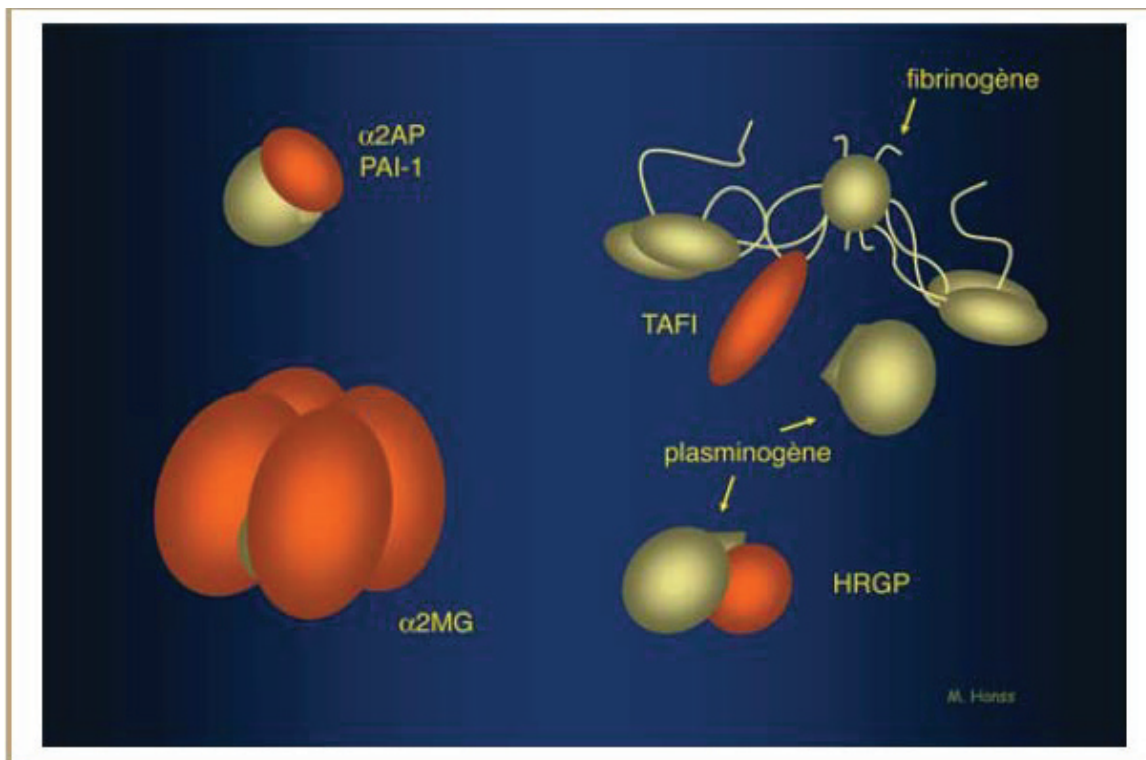
Ce composant est l'inhibiteur physiologique majeur de la plasmine dans le plasma (Mutch et al., 2007 ; Schaller J et Gerver SS, 2011) (figures 6 et 7). Elle se lie de façon covalente au fibrinogène (Mosesson MW et al., 2008).

**Figure 6. Les inhibiteurs de la fibrine dans la fibrinolyse plasminogène dépendante**



L'alpha2-antiplasmine agit par blocage rapide irréversible du site actif de la plasmine avec création d'un complexe stoechiométrique (Wiman B, et al., 1978; Holmes WE, et al. 1987). Synthétisée par l'hépatocyte, elle circule au niveau plasmatique avec une demi-vie de 60 heures et une concentration de 60-80 mg/L, soit 1 µM environ. Il s'agit d'une «serpine», acronyme consacré des inhibiteurs des sérine protéases, dont la première décrite est l'antithrombine (Huntington JA, 2011). Des liaisons covalentes entre l'alpha2-antiplasmine active et la fibrine sont générées par le facteur XIII, participant à la stabilité du thrombus.

**Figure 7. Les principaux inhibiteurs de la fibrinolyse dans la fibrinolyse plasminogène dépendante. Sont représentés l'alpha2-antiplasmine et le PAI-1 (en haut à gauche), le TAFI (en haut à droite), la glycoprotéine riche en histidine (HRGP) (en bas à droite) et l'alpha2-macroglobuline (en bas à gauche).**



\**L'inhibiteur de la fibrinolyse activable par la thrombine (TAFI)* (ou carboxypeptidase instable, CPU ou procarboxypeptidase B). Il s'agit d'un inhibiteur qui a été décrit par deux équipes de façon indépendante, expliquant les deux dénominations coexistantes de «thrombin activable fibrinolysis inhibitor» et de procarboxypeptidase B ou carboxypeptidase U (pour « unstable ») (Bouma BN, 2001).

\* *La glycoprotéine riche en histidine (HRG)* est une protéine non enzymatique présente dans le plasma et dans les granules  $\alpha$  plaquettaires. Parmi les fonctions biologiques possibles, elle possède une capacité de fixation au plasminogène, réduisant ainsi la quantité disponible pour une activation en plasmine. Cette fixation est réversible et l'HRG agit donc comme un réservoir (Leung L, 1993).

\**L'alpha2-macroglobuline* inhibe de nombreuses protéases, comme la trypsine, la thrombine, la collagénase, mais aussi la plasmine (Poller W, 1992).

\* *L'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (PAI-1)* est une glycoprotéine monocaténaire de la famille des serpinines, glycosylée pour 13 %, sans pont disulfure (Loskutoff DJ, 1991). Le site suicide (centre actif ou « bait region ») permet l'inhibition du t-PA comme de l'u-PA (figure 6). La synthèse est effectuée par les cellules endothéliales, mais aussi par les cellules musculaires lisses, et les plaquettes, dont le contenu représente 90 % des capacités inhibitrices sanguines (Booth NA, et al., 1988). Le PAI-1 circule à une concentration plasmatique de 50  $\mu\text{g/L}$  avec une demi-vie inférieure à 10 minutes. Il est stabilisé par la formation d'un complexe avec la vitronectine.



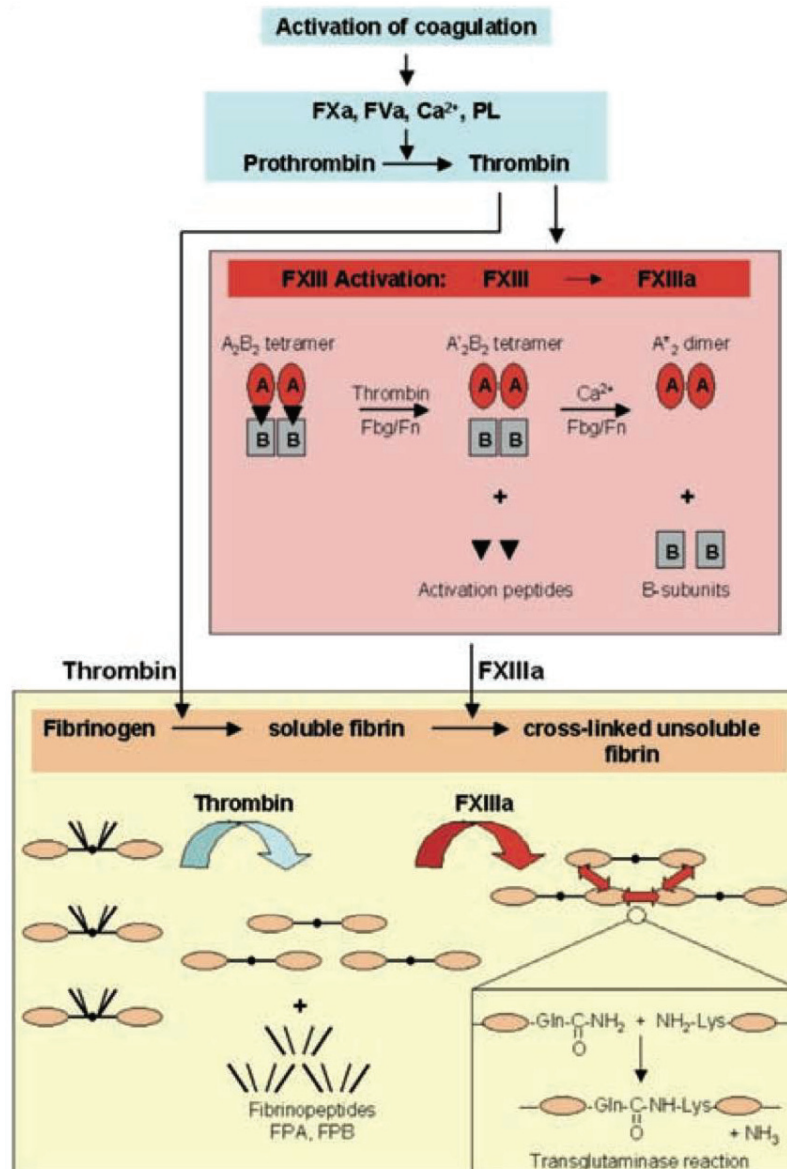
Le PAI-1 est considéré comme un important facteur de la fibrinolyse naturelle et de son blocage. Des taux élevés de PAI-1 ont été mis en rapport avec la déstabilisation thrombotique de l'athérome (Vaughan DE, 2005).

*D'autres inhibiteurs existent encore* comme le PAI-2 (qui apparaît au cours de la grossesse), le PAI-3 ou inhibiteur de la protéine C, l'inhibiteur de la C1 estérase, l'inhibiteur du complément, l'antitrypsine, les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéases. Cependant leur description dans la régulation d'autres systèmes enzymatiques, leur production dans certaines situations seulement, et leur localisation dans le système extravasculaire en font des éléments moins déterminants pour la régulation de la fibrinolyse intravasculaire dépendante du plasminogène.

### ***II. 1.6. Le facteur XIII (figure 8)***

Le facteur XIII (FXIII) est une transglutaminase plasmatique. Après son activation en facteur FXIIIa par la thrombine, il lie de façon covalente les chaînes de fibrine, ce qui aboutit à un caillot stable (Muszbek L, et al., 1999).

**Figure 8. Activation et action du facteur FXIII dans le plasma.** La thrombine initie l'activation de FXIII par le clivage des 2 peptides d'activation AP-FXIII (FXIII Activation peptide) (petits triangles noirs dans le schéma). Puis les sous-unités A et B se dissocient en présence de  $Ca^{++}$ . Ces deux niveaux d'activation de FXIII sont renforcés par l'ensemble fibrinogène/fibrine. Le FXIII activé (FXIIIa) se lie de façon covalente avec la fibrine dans une réaction de transglutamination produisant un réseau moléculaire tridimensionnel insoluble de fibrine (schéma de Schroeder V et al., 2007, avec autorisation).



Un déficit sévère en facteur XIII provoque des hémorragies, des pertes fœtales précoces et un retard de cicatrisation (Anwar R et Miloszewski KJ, 1999).

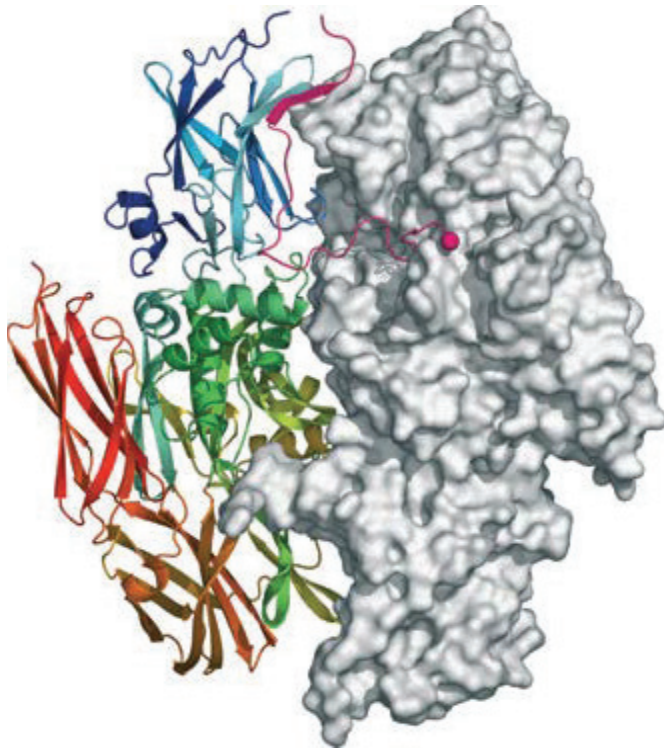
Le facteur XIII plasmatique circule à la concentration moyenne de 21.6  $\mu\text{g/mL}$  (Yorifuji H, et al., 1988), sous forme d'un hétérotétramère de deux sous-unités A (FXIIIa<sub>2</sub>, la transglutaminase active) et de deux sous-unités B (FXIIIb<sub>2</sub>, la protéine porteuse) (Muszbek L, et al., 1999), qui est liée pour partie de façon non-covalente au fibrinogène. Tout le FXIII-A circule dans le plasma sous forme liée, tandis que des homodimères FXIII-B<sub>2</sub> circulent librement. Dans les thrombocytes et monocytes/macrophages, un facteur XIII cellulaire

(cFXIII) est présent en tant que FXIII-A<sub>2</sub>.

La thrombine initie la conversion physiologique du zymogène en enzyme active par le clivage du peptide d'activation (AP-FXIII) (Schroeder et al., 2007) (figure 8). Cette réaction est grandement renforcée par la présence de fibrine polymérisée. La dissociation des sous-unités A et B est induite par des changements conformationnels en rapport avec la fixation de calcium et est à nouveau renforcée par la fibrine. Le facteur FXIIIa (Dimère actif A<sub>2</sub>) est alors formé. Au terme du processus, apparaît le facteur XIIIa (dimère A<sub>2</sub> actif). La figure 8 schématise la genèse et l'action du FXIIIa (Schroeder V et al., 2007).

La figure 9 montre la structure tri-dimensionnelle du facteur XIIIa.

**Figure 9. Structure tri-dimensionnelle du dimère du facteur XIIIa.** L'un des monomères est représenté à droite en volume plein et l'autre, à gauche, en structure rubannée, avec le peptide d'activation coloré en rose, et le domaine du noyau catalytique coloré en vert (planche inspirée de Yee VC, et al., 1995).



La fonction la plus connue du FXIIIa est la stabilisation du caillot pendant la procédure hémostatique par deux processus : d'une part (figure 8), la génération de liaisons covalentes entre les chaînes alpha et bêta de la fibrine par une réaction transglutaminasique, via leurs résidus lysine (Lys) et glutamine (Gln) (Lord ST, 2011) ; d'autre part l'incorporation de protéines antifibrinolytiques ( $\alpha$ 2-antiplasmine active) dans la fibrine, par des liaisons covalentes, fait déjà mentionné précédemment. Ainsi, le facteur XIII empêche-t-il la dégradation prématurée du caillot par le système fibrinolytique (Rider DM et Mc Donagh, 1981 ; Fraser SR et al., 2011).

Par ailleurs, l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène n°2 (PAI-2) (Ritchie H et al., 1999) et l'inhibiteur de la fibrinolyse activable par la thrombine (thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, TAFI) (Valnickova Z et al., 1998) sont également des substrats pour le FXIIIa.

Au total, le facteur XIII joue un rôle double pendant la formation du caillot (Rider DM et Mc Donagh, 1981 ; Siebenlist KR et al., 1996; Muszbek L et al., 2011) : (1) le renforcement des fibres vis à vis du stress mécanique et (2) l'incorporation des inhibiteurs de la fibrinolyse dans le caillot pour le protéger contre la dégradation prématurée par les protéases fibrinolytiques. A ce titre, il est parfois présenté comme un facteur anti-fibrinolytique.

## **II.2. La fibrinolyse non plasminogène dépendante**

Il s'agit essentiellement d'une fibrinolyse cellulaire. Les polynucléaires neutrophiles ont une activité fibrinolytique, via leurs enzymes, la cathepsine D et l'élastase. La cathepsine D lysosomiale attaque les fragments de fibrine et de fibrinogène internalisés dans les polynucléaires. L'élastase des neutrophiles dégrade la fibrine et les D-dimères (Bach-Gansmo ET et al., 1999). Les fragments de fibrinogène générés par l'élastase (Fibrinogen elastase degradation products, FgEDP) peuvent être dosés dans le plasma (de Lau LM et al, 2008). L'élastase est également capable de cliver et d'inactiver le PAI-1, ce qui augmente la fibrinolyse (Wu K et al., 1995).

## **III. COAGULATION ET FIBRINOLYSE DANS LES INFARCTUS CEREBRAUX NON THROMBOLYSES**

### **III. 1. Les niveaux de base des agents de l'hémostase *avant* l'infarctus cérébral**

Tanne et al. ont montré qu'un taux élevé de fibrinogène est un facteur prédictif d'infarctus cérébral chez des patients athéromateux connus (Tanne et al., 2001).

### **III. 2. Les niveaux de base des agents de l'hémostase *dans* l'infarctus cérébral non thrombolysé**

Les facteurs de l'hémostase dans l'infarctus aigu, à l'entrée et avant tout traitement (taux de base), ont été étudiés dans plusieurs études. L'infarctus cérébral s'accompagne à la fois d'une activité thrombine marquée, avec augmentation des D-dimères et du fibrinopeptide A, et d'une activité fibrinolytique concomitante, révélée par une augmentation du fibrinopeptide B-bêta 1-42 (Fisher et Francis, 1990). Des tentatives de corrélations avec des éléments étiologiques ont été faites. Ainsi, les taux de D-dimères sont significativement augmentés dans le cas d'une étiologie cardio-embolique (Takano K et al, 1992, Ageno W et al., 2002, Dahl T, et al., Koch HJ, et al., 2005; Tombul T, et al., 2005; Montaner J, et al., 2008; Isenegger J, et al., 2010; Alvarez-Perez FJ, et al., 2011). L'augmentation des complexes TAT dans les infarctus cardio-emboliques a également été trouvée par Takano et al. La sous-unité A de l'expression génique du facteur XIII au sein du RNA plaquettaire a été trouvée abaissée dans les infarctus cardio-emboliques (Gosk-Bierska I et al, 2011). L'élévation de la thrombomoduline soluble à l'entrée est associée à la mortalité dans l'infarctus cérébral aigu (Olivot et al., 2004).

La fibrinolyse non plasminogène dépendante a été explorée dans l'infarctus cérébral par de Lau et al. (de Lau et al., 2008) : un taux élevé de fragments de fibrinogène générés par l'élastase (Fibrinogen elastase degradation products, FgEDP) a été mis en évidence. Les auteurs incriminent la responsabilité de ces fragments dans la pathogénie de l'infarctus cérébral.

## IV. THROMBOLYSE PHARMACOLOGIQUE DANS L'INFARCTUS CEREBRAL

### IV. 1. Données cliniques

Thromboliser les infarctus cérébraux est justifié: la très grande majorité des accidents ischémiques cérébraux (AIC) résulte d'une occlusion d'une artère par un mécanisme thrombo-embolique ou thrombotique (Fieschi C et al., 1989), avec une recanalisation spontanée trop tardive dans l'immense majorité des cas. Le sauvetage du tissu cérébral dépendant de la levée rapide de l'ischémie, la thrombolyse d'urgence est la méthode de choix pour espérer une récupération neurologique.

Essayée pour la première fois en 1958 dans un accident vasculaire cérébral par Clifton avec de la plasmine (Clifton, 1958), la thrombolyse intraveineuse s'est avérée dangereuse *avant l'apparition du scanner*, voire catastrophique, en raison de l'impossibilité de déterminer avec certitude la nature ischémique de l'accident vasculaire cérébral et de la possibilité de son administration à des hémorragies cérébrales. De ce fait, la thrombolyse intraveineuse était abandonnée à la fin des années 1970.

C'est la thrombolyse intra-artérielle, *après l'apparition du scanner* permettant d'écartier les hémorragies intracérébrales, qui va relancer la thrombolyse des infarctus cérébraux aigus. Réalisée pour la première fois par Zeumer en 1983 avec la streptokinase chez 5 malades porteurs de thrombose du tronc basilaire (Zeumer H et al., 1983), la thrombolyse intra-artérielle apparaît comme une véritable révolution thérapeutique. Chez de tels patients promis à un décès quasi systématique (95%), l'apparition concomitante chez 3 malades sur 5 du phénomène de survie, d'une récupération neurologique et d'une *recanalisation* du tronc basilaire s'avère remarquable. La révolution thérapeutique est confirmée en 1988, dans la même indication de thrombose du tronc basilaire, par Hacke (Hacke et al., 1988), dans une série de 43 patients thrombolysés avec l'urokinase ou la streptokinase comparée à une série de 19 patients traités conventionnellement (anti-coagulants ou anti-agrégants plaquettaires): 19 patients sur les 43 thrombolysés présentent une recanalisation, 14 d'entre eux survivent et 10 de ceux-ci présentent une récupération. La première thrombolyse intra-artérielle française réussie d'une thrombose complète du tronc basilaire gravissime, avec recanalisation totale et guérison complète de la patiente, sera réalisée à Lyon en 1990 avec 40 mg d'activateur du plasminogène intra-artériel.

Au début des années 1990, la thrombolyse *intraveineuse* est reproposée des 2 côtés de l'Atlantique, précisément avec l'activateur du plasminogène. Cet agent fabriqué par génie génétique, dit recombinant (rt-PA), apparaît alors comme une drogue de choix, car considérée comme fibrino-spécifique (Collen, 1984), alors que la streptokinase est connue pour ne pas être fibrino-spécifique. En Allemagne, Hacke se tourne vers ce produit, avec une dose – proposée a priori – de 1,1 mg/kg, dans les 6 heures après le début de l'infarctus. Aux Etats-Unis, de minutieuses études préliminaires de doses aboutissent à une dose expérimentalement déterminée de rt-PA – 0,9 mg/kg – tandis que la fenêtre choisie pour l'étude contrôlée est de 3 heures après le début de l'infarctus (Brott et al., 1992). L'équipe de Lyon, sur la base des résultats favorables obtenus par voie intra-artérielle chez la patiente princeps (50 kg), adopte une dose de 0,8 mg/kg de rt-PA pour la voie intraveineuse et choisit une fenêtre de 7 heures, pour une étude pilote ouverte. L'équipe de Grenoble, pour l'étude randomisée MAST, choisit la streptokinase à la dose de 1,5 million d'unités, dans une fenêtre de 6 heures.

Les résultats arrivent groupés en 1995 et 1996. L'étude européenne randomisée dirigée par Hacke (1,1mg/kg, 6 heures), dite ECASS I (Hacke et al, 1995), s'avère non significative en intention de traiter pour le pronostic à 3 mois (avec néanmoins des tendances favorables) et est grevée d'un taux important d'hématomes symptomatiques (24%). Le dosage de 1,1 mg/kg ne se trouve pas validé. Par contre, l'étude américaine du NINDS parue peu après (NINDS, 1995) – utilisant 0,9 mg/kg dans les 3 heures – est nettement significative pour le pronostic à 3 mois (39% de malades “guéris” au 3<sup>ème</sup> mois contre 23% chez les témoins) et montre un taux beaucoup plus faible d'hématomes symptomatiques (7%). L'étude ouverte de Lyon (Trouillas et al., 1996) – considérée par certains comme la première confirmation de l'étude NINDS – montre un taux élevé de récupérations neurologiques à 3 mois (>50%), une mortalité faible à 3 mois (4,6%) et un taux bas d'hémorragies symptomatiques, convergeant avec celui de l'étude NINDS (6,9%). Cette étude verra ses chiffres globalement confirmés par une série de 100 cas (Trouillas et al, 1998). L'étude MAST utilisant la streptokinase (MAST, 1996) n'est pas positive, montre un taux de mortalité augmenté dans le groupe traité (44,9%) et un fort taux d'hématomes symptomatiques (21,2%).

De ce fait, l'utilisation de rt-PA à la dose de 0,9 mg/kg dans un intervalle de 3 heures est alors considérée comme la méthode de référence, tandis que la streptokinase n'est pas retenue dans la thrombolyse des infarctus cérébraux. L'autorisation officielle de l'utilisation du rt-PA est accordée dès 1996 par la FDA aux Etats-Unis, et en 2002 en Europe, à une double condition: la réalisation d'un registre européen afin d'évaluer l'efficacité et la sécurité du traitement en phase III, lequel aboutira à l'étude SITS-MOST ; la réalisation d'études randomisées avec 0,9 mg/kg entre 0 et 3 heures, et entre 3 heures et 4, 5 heures, qui seront entreprises par Hacke.

L'étude ECASS III, dans la fenêtre 3-4,5 heures (Hacke et al., 2008) est positive, et marque le signal de l'élargissement généralisé de la fenêtre à 4,5 heures. Une ouverture de la fenêtre à 6 heures est même défendue sur la base de l'étude IST 3 (IST 3, 2012).

Sur de très grands nombres en phase III (6483 patients), l'étude SITS-MOST avec 0,9 mg/kg dans les 3 heures (Wahlgren N et al., 2007) confirme les principaux résultats des études randomisées avec le rt-PA 0,9 mg/kg dans les 3 heures : guérison complète (score de Rankin 1) à 3 mois: 39%, mortalité à 3 mois 11,3%, taux d'hématomes symptomatiques à 7 jours 7,3%. L'étude des grands nombres en phase III confirme aussi l'extension de la fenêtre de 3h à 4,5h (Wahlgren N et al., 2008; Shobha N et al., 2011).

La thrombolyse a pris une extension mondiale et le taux de thrombolyse dans l'accueil des infarctus cérébraux est devenu un critère du niveau de développement sanitaire d'un système de santé. Les pays en voie de développement, au moment où nous écrivons, sont largement privés de thrombolyse. L'environnement biologique des services – et particulièrement l'exploration de l'hémostase – caractérise les pays hautement développés.

#### **IV.2. Données concernant l'hémostase post-thrombolytique dans l'infarctus cérébral thrombolysé**

Il a été démontré que l'échec clinique de la thrombolyse est lié à une non-recanalisation, à une recanalisation partielle ou à une réocclusion des artères cérébrales (Rubiera M, et al., 2005; Alexandrov AV, et al., 2002 ; Ribo M, et al. 2006). La survenue d'une recanalisation a été mise en rapport avec un taux bas de l' $\alpha$ 2-antiplasmine avant thrombolyse (Martí-Fàbregas J, et al., 2005).

D'autre part, la principale complication de la thrombolyse – intraveineuse ou intra-artérielle – est l'hématome intracérébral, c'est à dire un trouble majeur de la coagulation. *Le pronostic de l'infarctus thrombolysé est donc – via la fibrinolyse insuffisante, la rethrombose ou l'hémorragie – massivement lié à l'hémostase post-thrombolytique.*

*Pourtant les études post-thrombolytiques de l'hémostase ne sont qu'au nombre de quatre avant la présente étude.*

*L'étude de Fassbender et al.* (Fassbender K, et al., 1999) a étudié les monomères de la fibrine (FM), les D-dimères, le fragment F1.2 de la prothrombine et les complexes thrombine-antithrombine (TAT) aux heures 0, 1, 3, 5, 24, 72 et 120, chez des patients traités par le rt-PA, avec des doses faibles et fortes d'héparine associées. Cette étude montre une élévation importante de tous ces composés entre l'heure 1 et l'heure 3. Celle-ci est interprétée comme une activation précoce de la coagulation et avec une activité thrombine. Les auteurs suggèrent une relation de ces phénomènes avec les évènements d'incomplète thrombolyse et de rethrombose. L'étude, bien qu'elle ne montre pas de différence nette entre les malades traités avec de fortes et de faibles doses d'héparine, plaide pour l'utilisation concomitante d'un complément héparinique de la thrombolyse, en raison de l'activité thrombine observée.

*L'étude de Trouillas et al.* (Trouillas et al., 2004) a étudié les produits de dégradation du fibrinogène et de la fibrine (PDF) aux heures 0, 2 et 24 chez 157 malades consécutifs thrombolysés par le rt-PA, selon le protocole de l'équipe de thrombolyse de Lyon (Trouillas et al, 1996). Une augmentation des PDF à la 2<sup>ème</sup> heure a été notée dans l'ensemble de la cohorte, témoignant de l'activité fibrinolytique, mais aussi fibrinogénolytique. Les auteurs parviennent à une distinction fondamentale entre l'infarctus hémorragique (IH), comportant des suffusions hémorragiques sans effet de masse, et l'hématome parenchymateux (PH), comportant un épanchement sanguin confluent et un effet de masse (Hacke W et al., 1998). Les IH ne sont liés à aucune anomalie des PDF. Par contre, les hématomes parenchymateux sont significativement associés à une augmentation des PDF. Fait important, en étude multivariée, l'augmentation des PDF se révèle être un facteur prédictif indépendant de la survenue des hématomes parenchymateux (OR: 2,5; IC 95% [1,09-22,4], p= 0,03). *L'augmentation des PDF au dessus de 200 mg/L multiplie la probabilité d'un hématome parenchymateux par un facteur 4,95.* Les auteurs ont proposé le modèle d'une "coagulopathie précoce avec dégradation du fibrinogène" prédictive de l'hématome. Dans le déclenchement de l'hémorragie, ils ont incriminé les fragments de fibrinogène X et Y eux-mêmes, en tant qu'agents anti-thrombine et anti-plaquettaires. Ils ont insisté sur la surveillance spécifique des malades porteurs de cette coagulopathie précoce, en particulier les précautions concernant les anti-thrombotiques.

*L'étude de Tanne et al.* a repris les données biologiques de l'étude de princeps du NINDS (Tanne et al., 2006). Aux heures 0, 2 et 24 avaient été dosés le fibrinogène, les PDF, l'activateur tissulaire du plasminogène (antigène), les complexes TAT et la thrombomoduline. L'étude montre des variations significatives à la 2<sup>ème</sup> heure chez les malades traités comparés aux témoins: baisse du fibrinogène, augmentation des PDF, des TAT et du tPA antigène. Les corrélations cliniques étiologiques sont pauvres dans cette étude. Le taux de thrombomoduline à la 24<sup>ème</sup> heure apparaît lié à un mauvais pronostic final dans le groupe t-PA. *Aucun facteur prédictif moléculaire des hématomes n'est détecté.* Une explication possible est que les hématomes pris en compte ne sont pas les hématomes précoces ( $\leq 24$  heures), comme dans l'étude de Trouillas et al (2004), de sorte que les hématomes tardifs – dont le mécanisme est potentiellement différent de celui des hématomes précoces – peuvent masquer le lien

statistique des hématomes précoces avec les PDF précoces.

*L'étude de Matosevic et al* (Matosevic et al., 2013) a dosé le fibrinogène aux heures 0 et 6 chez 547 patients, mais sans étudier les PDF. Une baisse du fibrinogène de plus de 2 g/L à la 6<sup>ème</sup> heure se révèle être un facteur prédictif significatif indépendant du risque d'hématome parenchymateux (OR 4.53 [IC 95% 2.39-8.60],  $p < 0.001$ ). Les auteurs reprennent le terme de « coagulopathie avec dégradation du fibrinogène » prédictive du risque d'hématome, proposé par l'équipe de Lyon. Cependant, la prédiction à la 6<sup>ème</sup> heure qu'ils suggèrent paraît tardive, des hématomes pouvant fort bien se produire avant cet horaire.

Il est important de signaler que, si les facteurs hémostatiques sont importants dans l'hématome parenchymateux post-thrombolytique, d'autres facteurs indépendants non hémostatiques ont été déterminés : le statut hémodynamique de l'infarctus et la rapidité de la recanalisation (Alsop DC, et al., 2005 OK ; Derex L, et al., 2005; Lansberg MG, et al., 2007; Cho AH, et al., 2008; Olivot JM, et al., 2009; Dorado L, et al., 2012); des facteurs étiologiques cliniques et biologiques, dont le diabète (Demchuk AM, et al., 1999); l'âge, la sévérité neurologique à l'entrée, la pression artérielle systolique et l'hyperglycémie (Cronin CA, et al., 2012; Strbian D, et al., 2012; Mazya M, et al., 2012). Parmi ces facteurs, l'âge et le diabète seront pris en compte dans la présente recherche lors des calculs statistiques multivariés.

Au total, l'étude pré et post-thrombolytique de l'hémostase apparaît d'un grand intérêt, non seulement d'un point de vue moléculaire, mais aussi d'un point de vue clinique. D'où la présente recherche.

## **V. PRESENTE ETUDE : MATERIEL ET METHODES**

### **V.1. Critères d'inclusion et d'exclusion**

Cette étude prospective a inclus des patients consécutifs admis dans l'unité neurovasculaire de l'Hôpital Neurologique de Lyon (Service du Professeur Paul Trouillas), en raison de l'installation de symptômes d'accident vasculaire cérébral.

*Les critères d'inclusion* ont été les suivants: 1) Accident ischémique cérébral du territoire carotidien ou vertébrobasilaire; 2) Age: de 18 à 81 ans ; 3) Temps d'installation des symptômes déterminé par l'interrogatoire du patient et/ou de la famille ou des témoins. Si l'horaire de début ne pouvait être précisé formellement, il était alors calculé à partir du dernier moment auquel le patient avait été vu indemne de tout déficit neurologique ; 4) Délai : moins de 7 heures ; 5) Durée des symptômes : plus de 30 minutes ; 6) Absence d'hémorragie cérébrale visible sur le scanner réalisé à l'admission ; 7) Inclusion possible de patients présentant des signes radiologiques discrets d'ischémie précoce occupant plus d'1/3 du territoire sylvien (mais non de patients présentant une hypodensité constituée); 8) déficit neurologique significatif (score NIHSS $\geq$ 4) à l'admission; 9) consentement éclairé du patient ou de sa famille.

Les critères d'exclusion ont été les suivants: 1) hémorragie intracérébrale; 2) hypertension systolique  $> 250$  mm Hg; 3) choc; 4) possible gestation; 5) atteinte cardiaque, rénale, pulmonaire hépatique sévère; 6) contre-indication classique à la thrombolyse: opération chirurgicale, hémorragie gastro-intestinale récente, coagulopathie connue; 7) antécédent de prise d'anti-vitamine K.

Aucune exclusion ne concernait la gravité de la présentation neurologique d'entrée.



## V. 2. Evaluation clinique

### V. 2.1. Données cliniques fondamentales

Le déficit neurologique a été évalué par un neurologue certifié dans l'utilisation de l'échelle de cotation neurologique NIHSS (Brott et al., 1989). Le score NIHSS a été mesuré avant l'initiation de la thrombolyse, à 24 heures après et au septième jour.

L'état fonctionnel à 3 mois a été déterminé par l'échelle de Rankin modifiée (mRS) (Van Swieten et al., 1988).

Bien que de nombreuses IRM multimodales pré et post-thrombolytiques aient été pratiquées, visant à préciser le statut hémodynamique de l'infarctus et la présence d'occlusions artérielles, aucun critère de ce type n'a été pris en compte pour l'inclusion ou l'exclusion.

### VI.2.2. Evènements hémorragiques.

Une définition *anatomique* de lésion hémorragique a été utilisée, indépendamment de la détérioration. Un scanner a été systématiquement réalisé à l'entrée, à J1 (24h  $\pm$  6h) et lorsque les signes cliniques évoquaient l'hémorragie. Les hématomes parenchymateux (HP) et les infarctus hémorragiques (IH) ont été définis selon la définition anatomique de ECASS II (Larrue et al, 1997; Hacke W et al., 1998; Fiorelli et al., 1999; Larrue et al, 2001). L'infarctus hémorragique 1 (IH1) a été défini comme une petite pétéchie non confluyente au sein de l'infarctus, l'infarctus hémorragique 2 (IH2) comme une pétéchie convergente au sein de l'infarctus, *mais sans effet de masse*. L'hématome parenchymateux 1 (PH1) a été défini comme un coagulum sanguin de moins de 30% de la taille de l'infarctus avec léger effet de masse, et l'hématome parenchymateux 2 (PH2) comme un caillot sanguin de plus de 30% de la taille d'infarctus, avec effet de masse substantiel. A cause du petit nombre de cas, les hématomes parenchymateux de type HP1 et HP 2 ont été rassemblés dans un sous-groupe HP, les infarctus hémorragiques IH1 et IH2 dans un sous-groupe IH. *Seules les lésions hémorragiques précoces, qui apparaissent moins de 24 heures après la thrombolyse ont été étudiées, afin de mieux explorer la corrélation entre les lésions de thrombolyse et les évènements précoces biologique induits par la thrombolyse.*

**Tableau 1: Liste des 45 variables prises en compte dans l'étude : 8 variables de l'hémostase, 37 variables cliniques et étiologiques.**

Age, années	Infarctus des petites artères
Sexe	Origine indéterminée
Poids, Kg	Fibrinogène g/L
Antécédent d'hypertension artérielle	PDF mg/L
Hyperlipidémie	D-dimères, mg/L
Diabète	Plasminogène, %
Obésité	$\alpha$ 2-antiplasmine, %
Alcoolisme	Facteur XIII, %
Tabagisme	Hématocrite, L/L
Antécédent d'infarctus myocardique	NumérationThrombocytes, giga/L
Antécédent d'angor pectoris	Pression artérielle moyenne à l'admission
Antécédent d'artériopathie de membres inférieurs	Pression artérielle systolique à l'admission
Antécédent d'infarctus cérébral	Pression artérielle diastolique à l'admission
Antécédent d'infarctus myocardique	Score NIHSS
Antécédent d'accident ischémique transitoire	Score SSS
Antécédent d'arythmie par fibrillation auriculaire	Délai depuis le début, min
Antécédent de valvulopathie	Score mRS à 3 mois
Antécédent de défaillance cardiaque	Mortalité, %
Prise d'antiagrégants plaquettaires	Hématome parenchymateux à J 1, %
Origine athéro-thombotique	Hématome parenchymateux à J7, %
Origine cardioembolique isolée	Infarctus hémorragique à J 1, %
Origine mixte	Infarctus hémorragique à J 7, %
Dissection	

### V.3. Bilan étiologique

Les facteurs de risque d'infarctus cérébral ont été recherchés dans tous les cas par l'interrogatoire du patient et/ou de ses proches. Simultanément, 37 paramètres cliniques et étiologiques ont été étudiés (Tableau 1). Un bilan étiologique systématique a comporté: électrocardiogramme, bilan biologique standard, échocardiographie par voie transthoracique et transoesophagienne et un échodoppler des artères à destinée encéphalique. En matière d'étiologie, les patients ont été classés en six catégories: cause cardio-embolique isolée, athéro-thrombose des gros vaisseaux, cause mixte (cardio-embolique et athéro-thrombose des gros vaisseaux), thrombose d'une petite artère (lacune), dissection, et cause indéterminée. Les causes cardio-emboliques ont compris toutes les catégories classiques. Parmi elles, les passages en AC/FA notés au cours de l'hospitalisation ont été pris en compte. Les prises d'agents anti-plaquettaires avant la thrombolyse ont également été enregistrées.

#### **V.4. Traitement**

La thrombolyse a été réalisée par administration intraveineuse d'activateur tissulaire recombinant du plasminogène (Actilyse<sup>®</sup>, Boehringer Ingelheim, Allemagne) à la dose de 0,8mg/kg, infusé pendant 90 minutes (Trouillas et al., 1994, 1998) avec un bolus initial de 10% de la dose. Les élévations tensionnelles supérieures à 185 mm Hg pour la tension artérielle systolique et supérieures à 110 mm Hg pour la tension artérielle diastolique ont été traitées par l'administration de traitement hypotenseur intraveineux, le plus souvent la nicardipine injectable (Loxen<sup>®</sup>) ou le labétalol (Trandate<sup>®</sup>).

#### **V.5. Scanner cérébral**

Un scanner cérébral sans injection a été obtenu chez tous les patients avant thrombolyse, avec un appareil de 4<sup>e</sup> génération. Un contrôle a été systématiquement réalisé à J1 (24± 6 heures) et à J 7, et dans l'intervalle en cas de détérioration de l'état neurologique.

#### **V.6. Bilan d'hémostase**

Tous les patients ont eu des prélèvements sanguins à l'arrivée, à la 2<sup>ème</sup> heure et à la 24<sup>ème</sup> heures après le début de la thrombolyse.

La numération formule sanguine a été effectuée à partir d'échantillons prélevés sur EDTA à l'aide d'un compteur ADVIA 120 (Siemens Healthcare Diagnostics, Saint Denis, France). Pour l'évaluation de la coagulation, le sang a été collecté dans des tubes sous vide de 5 ml contenant 0,5 ml de citrate de sodium 0.109 M (Vacutainer<sup>®</sup>, Becton Dickinson, Meylan, France) et ensuite centrifugé. Le temps de céphaline activé (TCA), l'INR, les D-dimères, le fibrinogène, et les produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène (PDF) ont été déterminés sur plasma frais. Le plasma a été conservé par ailleurs dans des aliquotes à -80°C. Le TCA, l'INR et le fibrinogène ont été mesurés photo-optiquement par un coagulomètre ACL-Top<sup>®</sup> (IL, France). Les PDF ont été dosés semi-quantitativement par un test d'agglutination de particules de latex recouvertes d'anticorps (FDP PLASMA<sup>®</sup>, Diagnostica Stago). Les D-dimères ont été mesurés par dosage enzymatique utilisant la fluorescence (VIDAS D-Dimer Exclusion<sup>®</sup>, Biomérieux, Marcy-l'Etoile, France). Des mesures chromogéniques ont été utilisées pour l'alpha2-antiplasmin et le facteur XIII (Berichrom  $\alpha$ 2-Antiplasmin<sup>®</sup> and Berichrom FXIII<sup>®</sup>, Siemens Healthcare Diagnostics), ainsi que pour le plasminogène (Coamatic<sup>®</sup> plasminogen, Chromogenix, Milan, Italie).

#### **V.7. Analyse statistique**

L'analyse statistique a été réalisée dans le laboratoire du Professeur Anne-Marie Schott avec Mr Julien Berthiller (Pôle Information Médicale Evaluation Recherche Hospices Civils de Lyon).

Les valeurs descriptives des composants de l'hémostase et les paramètres post-thrombolytiques ont été données sous la forme de la médiane, de la moyenne, de la déviation standard (DS), et des valeurs minimales et maximales, sauf exception explicite. Une transformation logarithmique a été utilisée pour les valeurs des PDF, des D-dimères et du fibrinogène. Les variations des paramètres entre les dosages à 2 heures (h2) et les dosages d'entrée (h0), mentionnées dans les tableaux par l'indication "variation h0-h2", ont été calculées par le rapport (h2 - h0):h2. Les variations entre h2 et h24 mentionnées dans les tableaux par l'indication "variation h2-h24", ont été calculées par le rapport h24 - h2 :h24. L'hypothèse d'une distribution normale pour chaque variable a été effectuée par le test de Kolomogorov-Smirnov.

Les comparaisons des paramètres entre h0 et h2 (p1); h2 et h24 (p2); h0 et h24 (p3) ont été effectuées par un test de Student sur séries appariées, tandis que la comparaison entre les 3 périodes (p4) a été effectuée par le modèle mixte pour mesures répétées. S'agissant des études de corrélation entre les valeurs des paramètres hémostatiques et leurs changements, le test paramétrique de Pearson a été utilisé quand l'hypothèse d'une distribution normale était vérifiée, et le test non paramétrique de Spearman quand elle ne l'était pas.

Dans les études de comparaison, les patients avec des données hémostatiques incomplètes ou des données cliniques imprécises ont été exclus.

Pour la comparaison univariée entre les sous-types d'infarctus, le test paramétrique de Student a été utilisé quand l'hypothèse d'une distribution normale était vérifiée et le test non-paramétrique de Wilcoxon quand elle ne l'était pas. Les patients avec une cause cardio-embolique isolée ont été comparés avec les patients sans cause non cardio-embolique isolée. Les variables montrant une différence significative entre les 2 groupes pour une valeur de p inférieure à 0,05 ont été incluses dans une régression logistique. Les Odds Ratios (OR) ont été ajustés sur l'âge et le sexe, et présentés avec leurs intervalles de confiance à 95%. Un ajustement supplémentaire sur la sévérité de départ (NIHSS) a été effectué. Le sous-groupe spécifique de patients ayant une étiologie mixte – athéro-thrombose des gros vaisseaux et source cardio-embolique – a été comparé avec les patients sans origine mixte. Les patients ayant eu de l'aspirine avant la thrombolyse ont été comparés avec les patients n'ayant pas pris d'aspirine.

*S'agissant des saignements*, trois sous-groupes ont été étudiés: (1) les hématomes parenchymateux (HP) précoces ( $\leq 24$  heures); (2) les infarctus hémorragiques (IH) précoces ( $\leq 24$  heures); et (3) les patients sans saignement. Chaque sous-groupe hémorragique a été comparé avec le sous-groupe sans saignement, pour les variables hémostatiques et cliniques. Une régression logistique a été effectuée dans le but de quantifier l'association entre les paramètres hémostatiques et les types de saignement, d'abord en analyse univariée et ensuite en analyse multivariée ajustée sur l'âge, la sévérité neurologique d'arrivée (NIHSS) et le diabète, comme facteurs confondants potentiels. Basées sur ce modèle de régression, les variables ont été sélectionnées, puis utilisées pour analyser et décrire les facteurs de risque associés au saignement précoce. Le test a été considéré comme statistiquement significatif à 5% ( $p < 0.05$ ). Plusieurs modèles concernant des seuils d'augmentation des PDF et de diminution du fibrinogène ont été testés.

Tous les calculs statistiques ont été effectués avec le logiciel SAS® version 9.1.3 (SAS Institute Inc, Cary, NC).

## **VI. PRESENTE ETUDE : RESULTATS**

Nous envisagerons les corrélations entre les agents de l'hémostase et de la fibrinolyse, les corrélations avec l'étiologie et le pronostic, enfin les corrélations entre la dynamique de l'hémostase et les hématomes intracérébraux.

### **VI.1. Paramètres hémostatiques après la thrombolyse : corrélations moléculaires**

#### ***VI.1.1. Données post-thrombolytiques concernant la cohorte de patients***

De janvier 2006 à avril 2008, les prélèvements sanguins ont été réalisés chez 80 patients consécutifs (43 hommes ; 37 femmes), hospitalisés pour infarctus cérébral aigu. L'âge moyen est de 63 ans. Le poids moyen est de 71,6 kg. Le score NIHSS médian à l'admission est de 13,1. Le délai médian entre l'installation des symptômes neurologiques et l'initiation du traitement thrombolytique (temps au traitement, en anglais "onset to treatment", OTT) est de 230 minutes. La pression artérielle systolique moyenne à l'admission est de 143,3 mmHg et la pression diastolique moyenne est de 76,7 mmHg. Un exposé des principales données cliniques et étiologiques d'une partie de cette cohorte est donné dans le tableau annexe a situé en dernière page.

Un Echo-Doppler des carotides a été réalisé dans 94,8% des cas, une échocardiographie par voie transthoracique dans 84,2% et par voie transoesophagienne dans 82,3%. La cause principale d'infarctus s'est révélée être cardio-embolique (n=36; 45%). Les autres causes ont été: athéro-thrombose des gros vaisseaux (n=18; 22,5%), origine mixte (athéro-thrombose des gros vaisseaux et cardio-embolique) (n=4; 5%), dissection (n= 1; 1,25%); origine indéterminée (n=21; 26,25%). Aucun cas de thrombose d'une petite artère n'a été détecté.

#### ***VI.1.2. Données de l'hémostase à l'entrée (h0) (préthérapeutiques) (Tableau 2)***

Les valeurs médianes et moyennes ( $\pm$  DS) du fibrinogène de base sont respectivement de 3,4 g/L et  $3,4 \pm 1,1$  g/L, celles des PDF de 5 mg/L et de  $7,6 \pm 7,9$  mg/L, des D-dimères de 0,8 mg/L et de  $1,2 \pm 1,5$  mg/L, de l' $\alpha_2$ -antiplasmine de 108,5 % et de  $107,6 \pm 14$  %, du plasminogène de 102 % et de  $103,6 \pm 16,7$  %, du facteur XIII de 103,5 % et de  $106,5 \pm 21,9$  %, des plaquettes de  $264,5 \times 10^9/L$  et de  $271,4 \pm 70,5 \times 10^9/L$ , et de l'hématocrite de 0,41 et de  $0,4 \pm 0,05$ .

#### ***VI.1.3. Evolution des paramètres de l'hémostase à h2 et h24 (tableau 2, figures 10 et 11)***

Les dosages de h2 et h24 montrent une modification importante des facteurs de l'hémostase chez ces patients. L'évolution des paramètres biologiques entre h0, h2 et h24 est représentée dans le tableau 2, et les figures 10 et 11.

Entre h0 et h2, le plasminogène, l' $\alpha_2$ -antiplasmine et le facteur XIII s'abaissent, tandis que les PDF et les D-dimères augmentent. Les valeurs remontent quasiment à la normale à la 24<sup>ème</sup> heure. Tous ces changements sont hautement significatifs entre h0 et h2, h2 et h24, h0 et h24, et entre les 3 périodes.

S'agissant du fibrinogène, son taux médian passe de 3,4 g/L (h0), à 2,7 g/L à h2, et remonte à 3,1 g/L à h24.

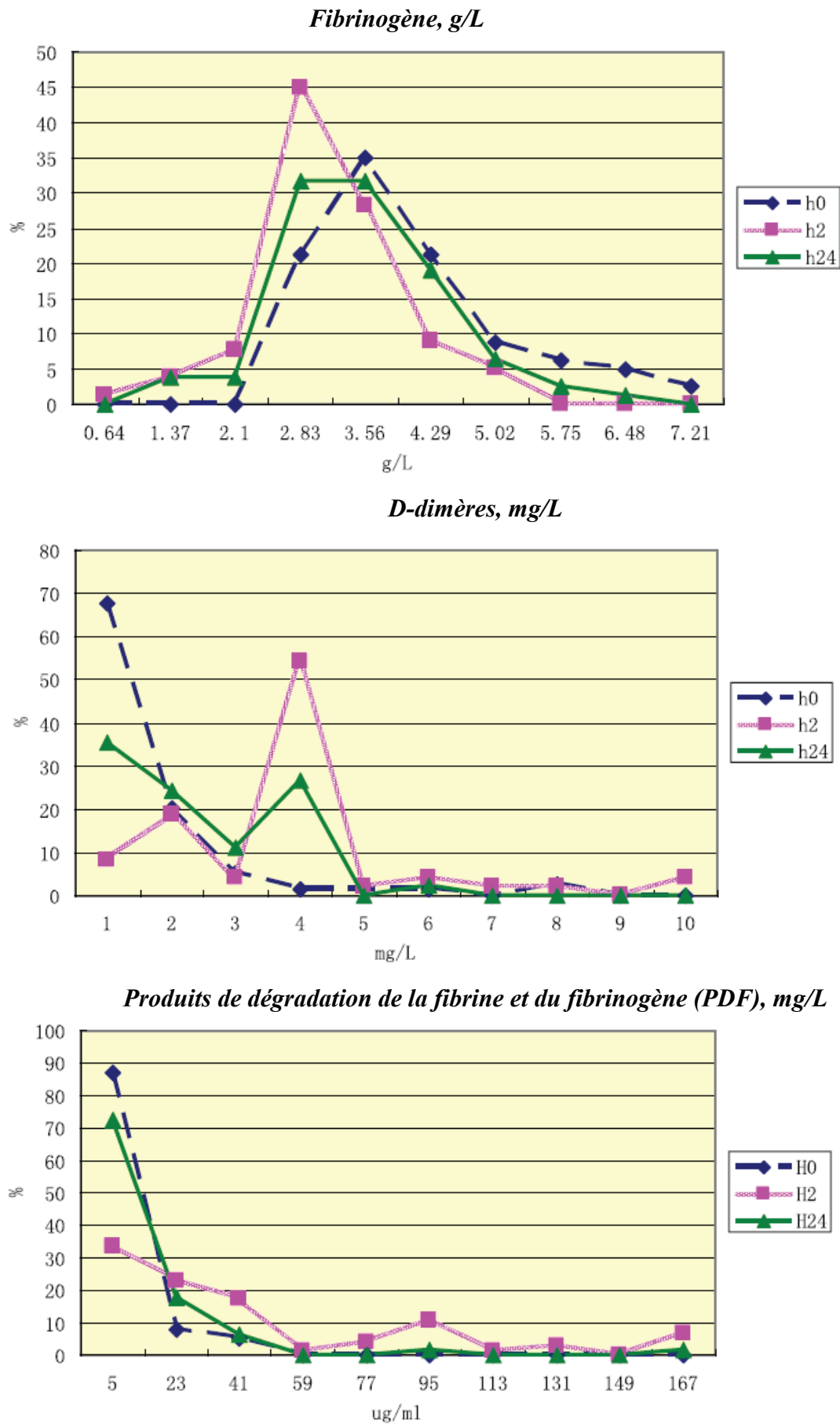
La répartition des valeurs des paramètres de l'hémostase en 10 classes montre une déviation groupée et homogène des valeurs des différents paramètres, comportant un seul pic (Figure 10). Par contre, après thrombolyse, l'augmentation des D-dimères apparaît biphasique, avec 2 pics séparés (figure 10, courbe D-dimères).

**Tableau 2. Valeurs médianes (Q1-Q3) des paramètres de l'hémostase mesurés avant thrombolyse (h0), à 2 heures (h2) et à 24 heures (h24) après thrombolyse.** Le test de Student sur séries appariées a été utilisé pour les comparaisons suivantes: p 1 entre h0 and h2; p 2 entre h2 et h24; and p3 entre h0 and h24. La comparaison entre les 3 périodes (p 4) a été effectuée par le modèle mixte pour mesures répétées.

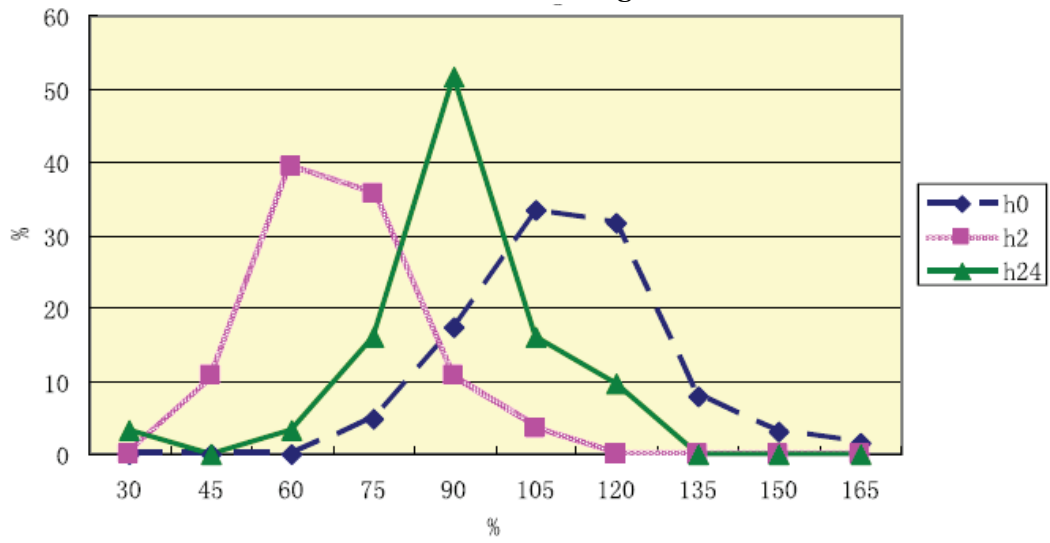
<b>paramètre d'hémostase</b>	<b>h0</b>	<b>h2</b>	<b>h24</b>	<b>p 1</b> h0 – h2	<b>p 2</b> h2 - h24	<b>p 3</b> h0 –h24	<b>p 4</b>
Fibrinogène (g/L)	3.4 (2.9-4.1)	2.7 (2.4-3.2)	3.1 (2.6-3.6)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Plasminogène (%)	102 (113.0-93)	60.5 (56-68.5)	84 (76-91)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
$\alpha$ 2-antiplasmine (%)	108.5 (101-116)	31 (21-46)	81 (69-88)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Facteur XIII (%)	103.5 (96-117.5)	100.5 (87-121)	100 (82-117)	0.05	0.007	0.0001	0.0004
PDF (mg/L)	5 (5-5)	20 (5-20)	5 (5-10)	<0.0001	<0.0001	0.06	<0.0001
D-dimères (mg/L)	0.8 (0.4-1.2)	4 (2.3-4)	1.3 (0.9-3.3)	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

**Figure 10 : Evolution des composants de l'hémostase à h0, h2 et h24**

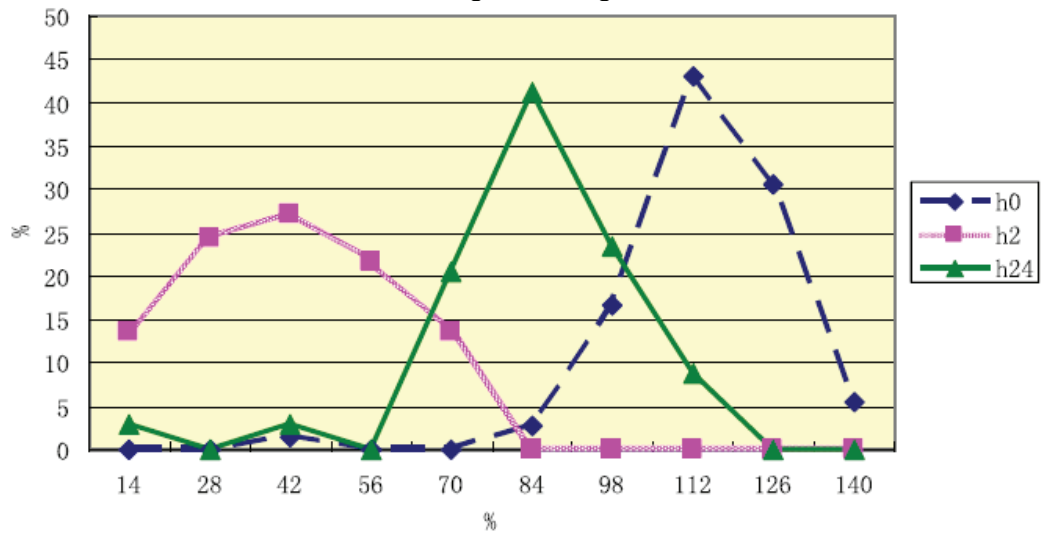
Les valeurs sont distribuées en 10 classes



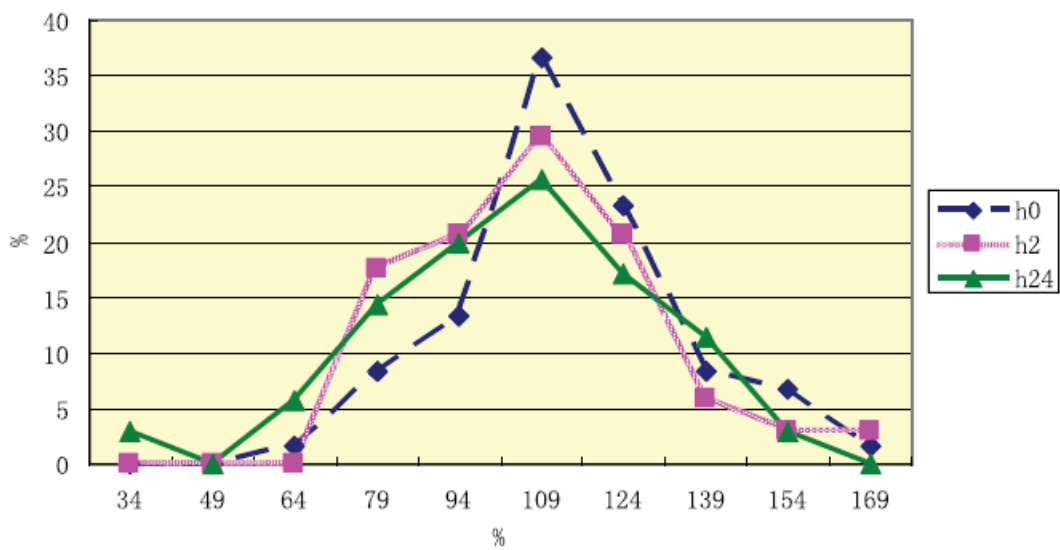
*Plasminogène, %*



*Alpha2-antiplasmine, %*

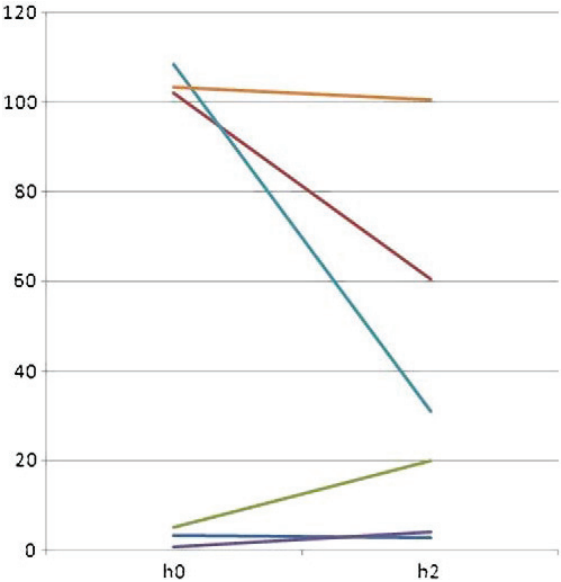


*Facteur XIII, %*





**Figure 11. Evolution des composants de l'hémostase entre h0 et h2 (avant et 2 heures après thrombolyse)**



- *Fibrinogène, g/L*
- *Plasminogène, %*
- *Produits de dégradation du fibrinogène/fibrine (PDF), mg/L*
- *D-dimères, mg/L*
- *Alpha2-antiplasmine, %*
- *Facteur XIII, %*

**VI.I.4. Analyse des corrélations entre les paramètres biologiques eux-mêmes, à h0 et à h2 (Tableau 3)**

Des corrélations positives apparaissent pour les variations précoces h0-h2 entre la baisse du fibrinogène et, respectivement celle du plasminogène ( $r=0.48$ ,  $p=0.01$ ), celle de l' $\alpha 2$ -antiplasmine ( $r=0.48$ ,  $p=0.004$ ), et celle du facteur XIII ( $r=0.44$ ,  $p=0.01$ ). La baisse du plasminogène est corrélée de façon très positive avec celle l' $\alpha 2$ -antiplasmine ( $r=0.77$ ,  $p<0.001$ ) et de façon moins intense avec celle du facteur XIII ( $r=0.47$ ,  $p=0.02$ ). Toutes ces variations sont statistiquement indépendantes du score NIHSS de départ.

Aucune corrélation significative n'a pu être mise en évidence entre la baisse du fibrinogène d'une part et les augmentations des PDF et des D-dimères de l'autre, un fait révélant l'indépendance de ces deux dynamiques moléculaires.

**Tableau 3. Corrélations entre les variations de valeur entre l'heure 0 et l'heure 2 des paramètres de l'hémostase, calculées selon le coefficient de corrélation r de Spearman (entre parenthèses, valeur de p)**

	PDF	Fibrinogène	D-dimères	Alpha2- antiplasmine	Facteur XIII	Plasminogène	Hématocrite	Plaquettes	NIHSS
PDF		0.15 (0.22)	0.01 (0.96)	0.11 (0.52)	-0.16 (0.39)	-0.01 (0.97)	0.05 (0.71)	-0.05 (0.71)	0.33 (0.007)
Fibrinogène			-0.11 (0.45)	0.48 (0.004)*	0.44 (0.01)*	0.48 (0.01)*	-0.001 (0.99)	-0.14 (0.23)	-0.06 (0.59)
D-dimères				0.02 (0.91)	-0.06 (0.75)	-0.05 (0.81)	0.01 (0.95)	-0.05 (0.78)	-0.01 (0.96)
Antiplasmine					0.42 (0.02)*	0.77 ( $<0.001$ )*	-0.20 (0.26)	0.13 (0.47)	0.16 (0.37)
Facteur XIII						0.47 (0.02)*	0.02 (0.93)	0.24 (0.18)	-0.02 (0.91)
Plasminogène							-0.20 (0.33)	0.08 (0.72)	0.33 (0.1)
Hématocrite								0.20 (0.11)	-0.09 (0.48)
Plaquettes									0.08 (0.52)
NIHSS									

**Tableau 4. Analyse univariée : comparaison des paramètres de l'hémostase à 2 heures (h2) et des variations h0-h2 entre les malades avec une origine cardio-embolique isolée et tous les autres malades.**

Paramètres de l'hémostase valeur à l'entrée (h0) et variation h2-h0	origine cardioembolique isolée (n=34) moyenne (DS)	autres malades (n=42)  moyenne (DS)	p#
PDF h0, mg/L	6.88 (5.6)	8.21 (9.)	0.97
PDF h2-h0, mg/L	0.62 (0.4)	0.39 (0.4)	0.02*
Fibrinogène h0, g/L	3.743 (1.3)	3.63 (0.9)	0.98
Fibrinogène h2-h0, g/L	0.87 (1.7)	0.33 (0.6)	0.28
Thrombocytes h0, 10 <sup>9</sup> /L	262.88 (71.6)	283.40 (68.9)	0.21
Thrombocytes h2-h0, 10 <sup>9</sup> /L	0.13 (0.2)	0.07 (0.1)	0.14
D-dimères h0, mg/L	1.38 (1.8)	0.99 (1.2)	0.10
D-dimères h2-h0, mg/L	0.74 (0.2)	1.08 (1.3)	0.30
α2-antiplasmine h0, %	105.1 (17.4)	109.34 (11.1)	0.25
α2-antiplasmine h2-h0, %	5.15 (5.6)	3.23 (5.4)	0.06
Facteur XIII h0, %	103.59 (21.3)	106.85 (21.8)	0.58
Facteur XIII h2-h0, %	0.09 (0.08)	0.08 (0.07)	0.51
Plasminogène h0, %	99.59 (15.7)	106.68 (16.9)	0.10
Plasminogène h2-h0, %	0.86 (0.5)	0.55 (0.2)	0.04*
Plasminogène h2, %	53,7 (12,5)	67,2 (12)	0,009*
Hématocrite h0, L/L	0.40 (0.05)	0.41 (0.06)	0.09
Hématocrite h2-h0, L/L	0.05 (0.06)	0.04 (0.03)	0.68
NIHSS de base	15,5 (6,01)	11,4 (5,7)	0,006*

# Selon les répartitions paramétriques ou non paramétriques des concentrations, les valeurs de p sont calculées par le test de Student ou le test du Mann-Withney-Wilcoxon.

\* statistiquement significatif

Par contre, il existe une corrélation positive entre l'augmentation des D-dimères avec le

NIHSS d'entrée, c'est à dire avec la sévérité clinique de départ ( $r = 0.33$ ,  $p = 0.007$ ).

## VI.2. Paramètres de l'hémostase après la thrombolyse : corrélations avec les facteurs étiologiques et le pronostic fonctionnel final

Les données concernant les étiologies et le pronostic fonctionnel à 3 mois ont pu être calculées dans cette série de 80 malades.

### VI.2.1. Relations des données de l'hémostase avec l'étiologie des infarctus cérébraux (tableaux 4 et 5)

La comparaison univariée des patients ayant un infarctus d'origine cardio-embolique avec tous les autres patients montre qu'ils présentent une élévation h0-h2 moyenne significativement plus importante des PDF ( $p=0.02$ ), une baisse h0-h2 significativement plus importante du plasminogène ( $p=0.04$ ), ainsi qu'un plasminogène plus bas à h2 ( $p=0.009$ ). La baisse marquée du plasminogène persiste encore à h 24 et reste significative (74,3 % versus 89,2%;  $p=0,008$ , non indiquée sur le tableau 4).

Une régression logistique ajustée sur le sexe et l'âge (tableau 5), indique que l'augmentation de PDF à h2 et la diminution de plasminogène à h2 sont des facteurs prédictifs significatifs de l'étiologie cardio-embolique (PDF : OR 3,88 IC 95%: [1,12-13,48],  $p=0,03$ ) ; plasminogène: OR [1,03 IC 95%: [0,99-1,08],  $p = 0,02$ ) (Tableau 5).

**Table 5. Régression multivariée logistique comparant les patients avec une cause cardio-embolique isolée de l'infarctus et les patients n'ayant pas une telle cause cardio-embolique isolée (ajusté sur l'âge et le sexe) (n=76)**

paramètre d'hémostase et variation h2 – h0 NIHSS (sévérité de base)	OR	IC	P
FDP h2-h0:h2	3.88	(1.12; 13.48)	0.03*
Plasminogène h2-h0:h2	14.16	(0.65; 310.10)	0.09
#Plasminogène h2	1.03	(0.99; 1.08)	0.02*
#Plasminogène h24	1.18	(0.03; 1.34)	0.04*
NIHSS	1.14	(1.04-1.24)	0.005*

# Valeur descendante du plasminogène

L'ajustement sur l'âge, le sexe et le score NIHSS montre que le plasminogène bas à h2 tend à être un facteur d'étiologie cardio-embolique indépendant de la sévérité de base (OR 1.18 IC 95% [0.99-1.40],  $p = 0.06$ ), tandis que l'augmentation des PDF à h2 montre encore un Odds Ratio élevé de 3.00 (IC 95% [0.99-12.28]), mais n'arrivant pas à la significativité. L'ajustement sur le pronostic fonctionnel final (mRS) montre que le plasminogène bas à h2 est un facteur prédictif d'étiologie cardio-embolique indépendant de ce paramètre (OR 1.17 95% CI [1.02 to 1.33],  $p=0.02$ ).

Les autres données étiologiques étudiées, la fibrillation auriculaire et l'antécédent d'utilisation de l'aspirine, ne sont pas liés significativement aux paramètres de l'hémostase.

Par ailleurs, la comparaison du groupe très restreint de patients ayant une origine mixte de

leur infarctus, à la fois cardio-embolique et athérotrombotique (4 cas) (tableau 6) révèle qu'il se caractérise à l'entrée par un taux de fibrinogène moyen (g/L) significativement plus élevé ( $5.33 \pm 1.44$  versus  $3.6 \pm 1.0$ ,  $p=0,02$ ), confirmé par une régression logistique ajustée sur l'âge et le sexe (OR 2.75 IC 95%(1.18; 1.34),  $p=0.02$ ). La baisse de l' $\alpha 2$ -antiplasmine (%) à 2 heures est plus marquée dans ce groupe :  $11.15 \pm 6.9$  versus  $3.48 \pm 5.1$ ,  $p=0,05$ .

**Tableau 6. Analyse univariée comparant les paramètres de l'hémostase (valeurs à l'entrée, variation h2-h0) des patients avec une cause mixte (cardioembolique et athérotrombotique) avec les autres patients**

Paramètres	Origine mixte (n=4)	Autres patients (n=73)	p#
PDF h0, mg/L	5 (/)	7.71 (8.1)	0.52
PDF h2-h0, mg/L	0.61 (0.5)	0.48 (0.4)	0.99
Fibrinogène h0, g/L	5.33 (1.44)	3.6 (1.0)	0.02*
Fibrinogène h2-h0, g/L	0.57 (0.5)	0.57 (1.3)	0.27
Thrombocytes h0, $10^9/L$	301.25 (108.6)	271.14 (69.4)	0.41
Thrombocyte h2-h0, $10^9/L$	0.08 (0.07)	0.10 (0.2)	0.85
D-dimères h0, mg/L	1.34 (1.4)	1.15 (1.5)	0.73
D-dimères h2-h0, mg/L	0.83 (/)	0.93 (0.9)	0.88
$\alpha 2$ -antiplasmine h0, %	112.5 (12.2)	107.19 (14.2)	0.47
$\alpha 2$ -anti-plasmine h2-h0, %	11.15 (6.9)	3.48 (5.1)	0.05*
Facteur XIII h0, %	91 (4.2)	106.26 (21.5)	0.32
Facteur XIII h2-h0, %	0.21 (/)	0.08 (0.07)	0.17
Plasminogène h0, %	110.33 (8.1)	108.90 (16.9)	0.46
Plasminogène h2-h0, %	2 (/)	0.63 (0.3)	0.1
Hématocrite h0, L/L	0.42 (0.04)	0.40 (0.05)	0.68
Hématocrite h2-h0, L/L	0.07 (0.03)	0.05 (0.06)	0.08

# Selon les distributions des valeurs (paramétriques ou non paramétriques), les valeurs de p ont été calculées par le test de Student ou le test de Wilcoxon.

### ***VI.2.2. Analyse des relations des données post-thrombolytiques de l'hémostase avec le pronostic fonctionnel final (tableau 7)***

La comparaison univariée des patients comportant un mauvais pronostic (mRS=2-6) avec les patients ayant un pronostic favorable (mRS=0,1) (tableau 7) montre qu'ils se caractérisent par une baisse précoce du plasminogène à h2 ( $57.6 \% \pm 11.8$  vs  $71.3 \pm 16.8$ ;  $p=0.03$ ). La différence existe encore à h24 ( $78.8 \% \pm 15.4$  vs  $97.2 \pm 12.1$ ;  $p=0.02$ ). Une régression logistique non ajustée sur l'âge et le sexe confirme la valeur prédictive significative d'une valeur basse de plasminogène à h2 pour un mauvais pronostic à J90 (OR 71,3,  $p=0,02$ ). L'ajustement sur l'âge et le sexe ne maintient pas la significativité, possiblement en raison du faible effectif de la cohorte.

**Tableau 7: Comparaison univariée des valeurs du plasminogène (heures 0, 2 et 24) et des variations de l'heure 0 à l'heure 2 entre les patients avec pronostic final favorable (mRS 0,1) et les patients avec pronostic final défavorable (mRS 2-6).** Les données correspondent aux valeurs moyennes (DS). Les variations entre l'heure 0 et l'heure 2 ont été calculées par le rapport h2-h0:h2. Les autres composants hémostatiques n'ont pas montré de changement significatif.

<b>Valeurs du plasminogène et variations h2 - h0</b>	<b>mRS (0-1) n=23 moyenne (DS)</b>	<b>mRS (2-6) n=49 moyenne (DS)</b>	<b>p</b>
<b>NIHSS à l'entrée, sévérité de base</b>			
Plasminogène h0 (%)	104.5 (20.6)	101.8 (15.0)	0.58
Plasminogène h2 (%)	71.3 (16.8)	57.6 (11.8)	0.03*
Plasminogène h24 (%)	97.2 (12.1)	78.8 (15.4)	0.02*
Plasminogène h2- h0:h2 (%)	0.5 (0.3)	0.8 (0.4)	0.30
NIHSS	9.4 (5.7)	15.4 (5.5)	0.0004*

### **VI.3. Paramètres de l'hémostase après la thrombolyse : corrélations avec les hématomes intracérébraux**

#### ***VI.3.1 Fréquence des événements hémorragiques***

Du 1 Janvier 2006 et 18 Avril 2008, 72 patients sur les 80 étudiés dans cette thèse (36 hommes et 36 femmes), ont eu des données exploitables concernant les hémorragies intracérébrales post-thrombolytiques. Dans cette série, l'âge moyen est de 63 ans et le poids moyen de 71,1kg. Le score médian du NIHSS à l'admission est de 13 et la fenêtre thérapeutique moyenne est de 242 minutes (i. e. 4 heures 2 minutes). La pression artérielle systolique à l'admission est de 143,3 mmHg et la pression artérielle diastolique de 76,7 mmHg. Dans la période  $\leq 24$  heures, 6 patients ont présenté des hématomes parenchymateux (HP) (8,3%), 11 des infarctus hémorragiques (15.3%), et 55 n'ont pas eu de saignement (76,4%) (tableau 8).

**Tableau 8. Résultats cliniques et types de lésions hémorragiques observées**

		%
mRS 0,1 à 3 mois (guérison)		28.13
Mortalité à 3 mois		6.9
Hématomes parenchymateux	Précocité ( $\leq 24h$ )	8.3
	Total ( $< 7$ jours)	10
Infarctus hémorragique	Ptécocité ( $\leq 24h$ )	15.3
	Total ( $< 7$ jours)	24

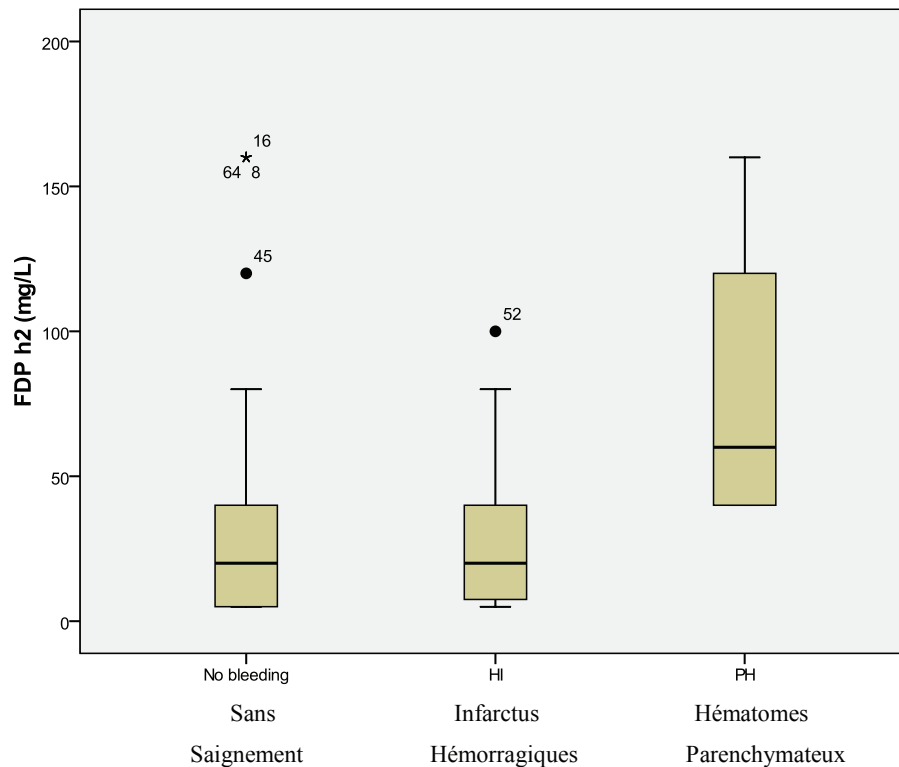
L'évolution des valeurs des facteurs de l'hémostase à l'entrée (h0), 2 heures (h2) et 24 heures (h24) après la thrombolyse est montrée dans le tableau 9. Ces données dans la cohorte spécifiquement étudiée pour les hémorragies sont comparables à celles présentées pour la cohorte générale.

**Tableau 9. Effet du rt-PA sur le fibrinogène, les PDF et les D-Dimères dans l'ensemble de la cohorte étudiée pour les hématomes.**

Ces données sont convergentes avec celles du tableau 2.

	Entrée	2 heures	24 heures
Fibrinogène (g/L)	3,32 (2,17 - 6,39)	2,60 (0,77 - 4,11)	2,96 (1,20 - 4,54)
PDF (mg/L)	5,00 (5 - 20)	20,00 (5 - 160)	5,00 (5 - 40)
D-dimères (mg/L)	0,50 (0,2 - 3,4)	4,00 (0 - 10)	1,30 (0,43 - 4,00)

**Figure 12. Distribution des PDF (mg/L) dans les trois groupes à 2 heures après la thrombolyse.** Notez que les patients avec infarctus hémorragique ne diffèrent pas des patients sans saignement, tandis que les patients avec hématomes parenchymateux montrent une augmentation substantielle des PDF.



### ***VI.3.2. Analyse descriptive de l'évolution des PDF***

La figure 12 montre la répartition des valeurs de PDF (mg/L) dans les trois groupes, à la 2<sup>ème</sup> heure (h2), indiquant que les valeurs des PDF sont beaucoup plus hautes dans le groupe des hématomes parenchymateux que dans les autres groupes après thrombolyse. L'INR, la numération des plaquettes et le TCA sont normaux à h0 et ne montrent pas de variation significative à 2 et 24 heures, dans les 3 groupes.

### ***VI.3.3. Comparaison des patients ayant un infarctus hémorragique (IH) avec les patients sans saignement (tableau 10)***

En analyse univariée, la comparaison des patients IH avec les patients sans saignement ne montre aucune différence significative pour les composants de l'hémostase, tant à l'entrée qu'à 2 ou 24 heures (Tableau 10).



**Tableau 10: Comparaison univariée des patients avec infarctus hémorragique (IH), avec hématome parenchymateux (HP) et sans saignements: fibrinogène, PDF, D-dimères, fibrinogène, and 5 paramètres cliniques (\* statistiquement significatif)**

Variable de l'hémostase	HP n=6	IH n=11	Pas de saignement N=55	p	
	Moyenne (DS)	Moyenne (DS)	Moyenne (DS)	HP	IH
PDF h0, mg/L	7.5 (6.1)	5 (0)	8.3 (9.2)	0.90	0.24
Log PDFh0, mg/L	1.8 (0.6)	1.6 (0)	1.8 (0.6)	0.90	0.24
PDF h2, mg/L	80 (50.6)	30.9 (32.1)	35.2 (45.2)	0.01*	0.78
Log PDF h2, mg/L	4.2 (0.6)	2.9 (1.1)	2.8 (1.2)	0.01*	0.78
PDF h24, mg/L	10 (7.8)	32.8 (53.6)	8.4 (8.1)	0.56	0.13
Log PDFh24, mg/L)	2.1 (0.7)	2.5 (1.3)	1.9 (0.6)	0.56	0.13
PDF variation h2-h0/h2, mg/L	0.9 (0.2)	0.5 (0.4)	0.4 (0.4)	0.009*	0.57
D-dimères h0, mg/L	1.3 (1.0)	1.0 (0.7)	1.2 (1.7)	0.25	0.37
Log D-dimères h0, mg/L	0.01 (0.8)	-0.3 (0.7)	-0.3 (0.9)	0.39	0.76
D-dimères h2, mg/L	4.7 (2.7)	3.7 (0.8)	3.7 (2.2)	0.31	0.50
Log D-dimères h2, mg/L	1.4 (0.5)	1.3 (0.3)	1.1 (0.7)	0.31	0.50
D-dimères h24 (mg/L)	3.1 (1.3)	2.5 (1.2)	1.6 (1.4)	0.03*	0.08
Log D-dimères h24 (mg/L)	1.0 (0.6)	0.8 (0.5)	0.2 (0.8)	0.03*	0.07
D-dimères: variation h2-h0/h2 (mg/L)	0.6 (0.3)	0.8 (0.1)	1.1 (1.2)	0.28	0.27
Fibrinogène h0 (g/L)	3.8 (1.6)	3.5 (0.6)	3.7 (1.1)	1.00	0.96
Log Fibrinogène h0 (g/L)	1.3 (0.4)	1.2 (0.2)	1.3 (0.3)	0.96	0.71
Fibrinogène h2 (g/L)	1.8 (0.9)	2.8 (0.8)	2.8 (0.8)	0.01*	0.96
Log Fibrinogène h2 (g/L)	0.5 (0.6)	1.0 (0.3)	1.0 (0.3)	0.01*	0.96
Fibrinogène h24 (g/L)	1.9 (0.7)	3.2 (0.9)	3.2 (0.8)	0.0001*	0.84
Log Fibrinogène h24 (g/L)	0.6 (0.4)	1.1 (0.3)	1.1 (0.3)	0.001*	0.51
Fibrinogène variation h2-h0/h2 (g/L)	2.1 (2.6)	0.3 (0.5)	0.5 (1.1)	0.12	0.92
Antiagrégant, n et %	1 (16.7)	1 (18.2)	14 (25.9)	0.99	0.72
NIHSS entrée, médiane	16.2	15.8	11.0	0.08	0.05*

<b>Temps au traitement (ds), min.</b>	255 (54.1)	228.1 (75.5)	244 (56.2)	0.68	0.109
<b>Sexe, masculin %</b>	33.3	36.4	40	0.41	0.33
<b>Age, années</b>	59.7 (11.9)	64.7 (9.2)	62.6 (11.9)	0.44	0.77
<b>Poids, Kg</b>	66.5 (17.8)	73.8 (10.3)	70.9 (13.4)	0.53	0.50

#### ***VI.3.4. Comparaison univariée des patients ayant un hématome parenchymateux avec les patients sans saignement (tableau 10)***

A l'entrée, les patients qui présenteront un HP ne montrent aucune différence avec les patients sans saignement, en analyse univariée, pour aucun paramètre de l'hémostase, ainsi que pour la prise antécédente d'anti-agrégants.

Par contre, l'exploration précoce, 2 heures après le début de la thrombolyse, est d'un grand intérêt car elle survient *avant l'hématome et montre des différences significatives*. La comparaison des patients PH avec les patients sans saignement montre que les premiers se caractérisent à h2 par un taux significativement élevé des PDF ( $p=0,01$ ), du Log PDF à h2 ( $p=0,01$ ); par une augmentation h0-h2 des PDF ( $p=0,009$ ); enfin par une valeur basse du fibrinogène ( $p=0,01$ ) et du Log fibrinogène à h2 ( $p=0,01$ ) (Tableau 10). Des événements tardifs, à la 24<sup>ème</sup> heure, touchant l'hémostase sont également observés: la valeur basse du fibrinogène à h24 ( $p=0,0001$ ); la valeur haute des D-dimères ( $p=0,03$ ) et du Log D-dimères ( $p=0,03$ ) (Tableau 10).

#### ***VI.3.5. Comparaison multivariée des patients avec hématome parenchymateux et des patients sans saignement (tableau 11)***

Une régression logistique confirme l'importance de prédicteurs précoces à 2 heures, *après ajustement sur l'âge, le score NIHSS et le diabète* (Tableau 11) : Log PDF (dans le sens d'une hausse) OR: 7,50; IC 95%: [1,26-44,61],  $p=0,03$  ; Log fibrinogène (dans le sens d'une baisse) OR: 19,32; IC 95%: [1.81-205,98],  $p=0,01$  ; et fibrinogène (dans le sens d'une baisse) OR: 6.20; IC 95% [1.38-27.84] ;  $p=0,02$ .

**Tableau 11. Odds Ratios ajustés pour l'âge, le NIHSS d'entrée et le diabète. Régression logistique comparant les patients avec un hématome parenchymateux précoce ( $\leq 24$  heures) avec les patients sans hémorragie (§ valeur en augmentation, # valeur en baisse, \* statistiquement significatif)**

variable	OR**	Intervalle de confiance 95%	p
Log PDF h2§	7.50	(1.26; 44.61)	0.03*
Log fibrinogène h2#	19.32	(1.81; 205.98)	0.01*
Fibrinogène h2#	6.20	(1.38; 27.84)	0.02*
Log fibrinogène h2 < 2.5 g/L	10.98	(0.98; 122.8)	0.05*
Log fibrinogène h2 < 2.0 g/L	12.82	(1.13-145.8)	0.04*

# valeur descendante

§ valeur ascendante

\*\*OR calculé pour une variation de 1 unité-ds

Parmi les modèles comportant un seuil ("cut off") pour la diminution du fibrinogène (< 2 g/L, < 2.5 g/L et < 3 g/L), le modèle avec un fibrinogène inférieur à 2.5 g/L apparaît significatif: OR: 10.98 (IC 95%: [0.98-122.8], p=0.05). Le modèle avec un fibrinogène inférieur à 2 g/L révèle un Odds Ratio élevé: OR 12.82 (IC 95% [1.13-145.8], p=0.04). Les modèles avec des seuils d'augmentation des PDF (>100mg/L; >200 mg/L) ne donnent pas de résultat, probablement en raison du faible effectif de la cohorte.

Ces résultats indiquent que l'augmentation des PDF et la diminution du fibrinogène à 2 heures sont des facteurs prédictifs puissants des hématomes parenchymateux, *indépendants de l'âge, de la sévérité neurologique d'entrée (NIHSS) et du diabète.*

Au sein de la cohorte des patients avec hématome parenchymateux, une corrélation statistiquement significative a pu être établie entre la diminution à h2 du fibrinogène et l'augmentation à h2 des PDF, (r= - 0.30, p=0.01).

*Les variations des D-dimères, par contre, ne montrent pas de corrélation avec les hématomes parenchymateux.*

## VII. DISCUSSION

### VII. 1. Paramètres hémostatiques après la thrombolyse : corrélations moléculaires

#### VII.1.1. Dégradation du fibrinogène et baisse du plasminogène.

Dans la population étudiée, une diminution de 20% de la valeur moyenne du fibrinogène circulant a lieu après l'injection de rt-PA, dans la "vie réelle" de la thrombolyse. De plus, cette baisse du fibrinogène est accompagnée d'une baisse sévère du plasminogène (41%), qui lui est liée statistiquement.

D'une part, ces données montrent que *le rt-PA n'est pas fibrino-spécifique*, et qu'il induit une fibrinogénolyse importante, une donnée déjà notée par Tanne et al. (Tanne D et al., 2006). D'autre part, la corrélation entre la baisse du fibrinogène et la baisse du plasminogène montre que cette fibrinogénolyse se fait par la voie plasminogène-dépendante et de façon systémique, à l'extérieur du thrombus.

Une telle fibrinogénolyse a été notée dans la thrombolyse expérimentale chez le rt-PA, chez le rat (Stehling F, 2008).

#### VII.1.2. Diminution et consommation des facteurs anti-fibrinolytiques: alpha2 antiplasmine et facteur XIII.

Nous avons montré qu'il existait une baisse de l'alpha2-antiplasmine et du facteur XIII après thrombolyse par le rt-PA, *une donnée non décrite jusqu'ici à notre connaissance*. La baisse de l'alpha2-antiplasmine est la plus importante (71%). Cette molécule est l'inhibiteur physiologique majeur de la plasmine dans le plasma (Mutch NJ et al., 2007 ; Schaller J et Gerver SS, 2011), et se lie de façon covalente au fibrinogène (Mosesson MW et al., 2008). Nous montrons que cette baisse est également très significativement corrélée à la baisse du plasminogène ( $p < 0,001$ ), indiquant sa consommation au sein de l'activation de la voie plasminogène dépendante, déclenchée par le rt-PA.

La baisse du facteur XIII est plus limitée (3%), mais est néanmoins significative. Le facteur XIII est une molécule circulant dans le plasma partiellement liée au fibrinogène. Le fait que sa baisse à h2 soit corrélée à la baisse de l'alpha2-antiplasmine est possiblement expliqué par la propriété du facteur XIII de potentialiser la liaison covalente de l'alpha2-antiplasmine au fibrinogène circulant (Mosesson MW et al., 2008).

De façon synthétique, ces données indiquent l'importance et l'intensité d'un "*processus collatéral systémique*", parallèle à la fibrinolyse, comprenant d'une part une fibrinogénolyse, d'autre part une activation et une consommation d'inhibiteurs de la fibrinolyse, l'alpha2-antiplasmine et le facteur XIII. Un tel processus complexe, avec l'activation-consommation de facteurs anti-fibrinolytiques, a déjà été observé dans la thrombolyse expérimentale par le rt-PA chez le rat (Stehling F, 2008).

*Tous ces variations sont indépendantes de la sévérité neurologique de départ (NIHSS), et donc de l'importance des dégâts cérébraux: il s'agit d'interactions moléculaires spécifiques de l'hémostase.*

L'activation des composants antifibrinolytiques par le rt-PA doit logiquement être rapprochée des phénomènes de recanalisation incomplète ou de rethrombose. De nouvelles études de l'hémostase post-thrombolyse avec des données radiologiques ou vélocimétriques (Doppler), avec un grand nombre de cas, seraient importantes à réaliser pour vérifier cette hypothèse.

### ***VII.1.3. Dégradation de la fibrine et fibrino-formation post-thrombolytiques***

Dans la présente étude, il n'a été trouvé aucun lien statistique entre la baisse du plasminogène et l'augmentation h0-h2 des D-dimères (et des PDF). D-dimères et PDF constituent certes des marqueurs de la lyse de la fibrine, mais ils sont également générés par un processus de coagulation qui préexiste à la fibrinolyse ou peut se prolonger pendant la fibrinolyse. Le fait que les D-dimères et les PDF possèdent une dynamique distincte des phénomènes plasminogène dépendants, dans la cohorte générale, plaide en faveur de leur signification "coagulation" plutôt que de leur signification "fibrinolyse". Fassbender et al. (Fassbender K et al., 1999) – nous l'avons mentionné dans l'exposé de leur article – avaient déjà montré que la thrombolyse par le rt-PA induisait une augmentation massive des monomères de fibrine (FM), des D-dimères, et des complexes Thrombine-antithrombine (TAT), marqueurs de l'activité thrombine et de la formation de fibrine, avec un pic commençant entre la 1<sup>ère</sup> et la 3<sup>ème</sup> heure.

Dans notre étude, le fait que les D-dimères et les PDF soient corrélés à la sévérité neurologique de base peut conduire à l'hypothèse qu'ils sont liés à la présence de gros caillots, libérant en masse ces fragments de dégradation de la fibrine. Cette donnée est en faveur de la poursuite, même après la thrombolyse, d'une activité de coagulation au sein du caillot révélée par l'augmentation des D-dimères et des PDF.

L'activation décrite des composants anti-fibrinolytiques viendrait encore renforcer cette tendance à la fibrino-formation, y compris après la thrombolyse.

## **VII.2. Paramètres hémostatiques après la thrombolyse : corrélations avec les facteurs étiologiques**

Un autre objet de cette étude a été de corréliser les changements moléculaires post-thrombolytique avec des sous-types d'infarctus ischémique aigu.

### ***VII.2.1. Baisse du plasminogène et augmentation des PDF dans les infarctus cardio-emboliques***

La comparaison des patients ayant une origine cardio-embolique isolée avec tous les autres malades montre qu'ils s'en distinguent significativement à h2 par une baisse plus marquée du plasminogène ( $p = 0.04$ ) et par une élévation plus forte des PDF ( $p = 0.02$ ), le fibrinogène et l'alpha2-antiplasmine ne montrant pas de différence. Un plasminogène bas à h2 apparaît donc comme un facteur prédictif précoce potentiel de cette étiologie. On peut poser l'hypothèse d'une activation particulièrement intense de la fibrinolyse, en rapport avec des thrombus d'origine cardiaque de grande taille et/ou en rapport avec une activation préexistante de la fibrinolyse due à la fibrillation auriculaire ou à des thrombus intracardiaques (Mondillo S et al., 2000; Nakagawa K, 2007).

S'agissant des D-dimères de base, notons qu'ils ne sont pas apparus dans notre étude comme des marqueurs discriminants de l'étiologie cardio-embolique, au contraire des études précédentes (Koch HJ et al., 2005 ; Tombul T et al., 2005 ; Montaner J et al., 2008 ; Isenegger J et al., 2010). Il est vrai que nous avons utilisé la méthodologie Vidas D-Dimer Exclusion®, qui n'était pas utilisée dans les autres études. Notre réactif a pu détecter un épitope différent de celui ou de ceux révélés par des réactifs utilisés dans les autres publications, tant il est vrai que les réactifs contre les épitopes des D-dimères ne sont pas standardisés et varient d'un fabricant à l'autre.

### ***VII.2.2. Augmentation du fibrinogène de base et du facteur XIII dans les infarctus d'origine mixte (cardio-embolique et athéro-thrombotique)***

Dans le très petit sous-groupe de patients présentant une étiologie mixte (4 cas), nous avons mis en évidence à l'entrée une augmentation du fibrinogène de base et une baisse particulièrement importante de l'alpha2-antiplasmine à h2.

L'augmentation du fibrinogène à l'entrée peut être mise en rapport avec l'aspect athéro-thrombotique de ces patients. L'augmentation du fibrinogène circulant est en effet un marqueur classique d'athérome (Paramo JA et al., 2004). La diminution plus forte de l'alpha2-antiplasmine à h2 indique la sollicitation particulière de cet inhibiteur de la fibrinolyse dans ce groupe. Elle peut être rapprochée de la découverte par Gosk-Bierska I et al (2011) – testant l'expression de l'ARN plaquettaire de la sous-unité A1 du facteur XIII chez des patients en fibrillation auriculaire – d'une diminution de cette expression chez des patients ayant subi un infarctus cardio-embolique, comparés à des patients cardiaques porteurs de thrombus intracardiaques sans embolie.

### **VII.3. Corrélations des facteurs d'hémostase avec le pronostic fonctionnel à 3 mois**

Nous avons mis en évidence une corrélation significative entre la baisse du plasminogène à 2 heures et un mauvais pronostic à 3 mois. Une telle corrélation, à notre connaissance, n'a jamais été publiée.

Sur le plan clinique, ce fait biologique est d'une grande importance, car le dosage précoce du plasminogène à la 2<sup>ème</sup> heure pourrait apparaître comme un élément *prédictif* d'un évènement tardif à 3 mois, une lourde invalidité ou le décès. Il convient d'abord de confirmer le phénomène avec des séries suffisamment nombreuses pour permettre une étude multivariée.

L'interprétation biologique de ce phénomène pourrait être l'existence d'une thrombolyse particulièrement intense, due à la grande taille du caillot, à son caractère enclavé possible, et à la poursuite du processus thrombolytique du fait que le thrombus est persistant. Ainsi, le phénomène pourrait être en rapport avec une recanalisation incomplète ou une rethrombose, responsables du mauvais pronostic. Plus particulièrement, sur le plan de l'hémostase, il pourrait se produire dans ce cas un épuisement du plasminogène, une indisponibilité de la plasmine dans le caillot ou dans son voisinage, et une faillite de la thrombolyse in situ.

*En pratique*, ces données conduisent à recommander systématiquement le dosage de plasminogène à 2 heures après thrombolyse, le dosage chromogénique pouvant être fait rapidement, avec une réponse en temps réel. Dans la mesure où la baisse du plasminogène à 2 heures peut être la marque d'une non-recanalisation, elle pourrait conduire les intervenants à réexaminer radiologiquement le patient, pour savoir si la thrombose persiste. Il pourrait alors être décidé une autre intervention, soit thrombolyse intra-artérielle, soit une thrombectomie.

Sur le plan de la manipulation clinique de l'hémostase, on pourrait imaginer la supplémentation en plasminogène pour pallier son épuisement dans ces cas spécifiques.

Cette corrélation possible entre la baisse précoce du plasminogène et l'absence de recanalisation ou la rethrombose précoce devrait être étudiée dans des études prospectives avec un grand nombre de cas, prenant en compte à la fois l'analyse radiologique longitudinale de la lésion et les données de l'hémostase.

## **VII.4. Paramètres hémostatiques après la thrombolyse : corrélations avec les hématomes intracérébraux**

### ***V.4.1. Infarctus hémorragiques***

Dans cette étude de l'hémostase, l'infarctus hémorragique n'apparaît pas corrélé avec les variations des facteurs de l'hémostase mesurés, avant ou après la thrombolyse. Le fait avait déjà été noté par notre équipe (Trouillas P et al., 2004).

Cet élément distingue radicalement les IH des hématomes parenchymateux, dans lesquels l'hémostase, comme nous le démontrons dans cette étude, intervient massivement.

Bien que les infarctus hémorragiques partagent avec les hématomes parenchymateux la présence de sang au sein de l'infarctus, leur pathogénie apparaît totalement différente et en rapport avec les modalités de l'ischémie (Trouillas P et Von Kummer R, 2006).

Les études en IRM dite multimodale, permettant de définir le statut hémodynamique des infarctus avec saignement, ont confirmé les caractéristiques particulières des IH par rapport aux hématomes parenchymateux (Thomalla G et al, 2007). Le pronostic des IH se distingue radicalement de celui des HP par sa bénignité (The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group, 1995 ; Hacke W et al., 2008 ; IST-3 collaborative group et al., 2012 ; Wahlgren N et al., 2007).

La distinction pathogénique entre IH et PH, y compris au niveau de l'hémostase, valide *à posteriori* la classification des hémorragies post-thrombolytiques de ECASS II, qui sépare les IH des HP sur la base de l'effet de masse (Hacke W et al., 1998 ; Larrue V, et al., 1997 ; Fiorelli M et al., 1999 ; Larrue V, et al., 2001 ).

L'absence d'effet de masse, dans les infarctus hémorragiques, pourrait être mise en rapport avec l'absence de baisse précoce du fibrinogène et l'absence d'élévation précoce des PDF.

### ***VII.4.2. Hématomes parenchymateux***

#### ***\*Coagulopathie précoce avec dégradation du fibrinogène***

Les PDF comprennent des fragments du fibrinogène et des fragments de fibrine, tandis que les D-dimères comprennent exclusivement des fragments de fibrine (Nieuwenhuizen W, 1988a,b). De ce fait, les PDF constituent – aussi – un reflet de la dégradation du fibrinogène.

Dans la présente étude, la survenue des HP est liée clairement liée à l'augmentation de PDF à h2, indépendamment de l'âge, de la sévérité de base (NIHSS) et du diabète, indiquant une lyse massive du fibrinogène, c'est à dire une coagulopathie précoce affectant le fibrinogène. Cette donnée confirme le résultat mis en évidence dans une étude comparable, qui utilisa le même protocole et montra la même corrélation (Trouillas P, et al., 2004). Néanmoins, l'étude présente fournit plus d'information que l'étude précédente, parce que les D-dimères ont été étudiés parallèlement.

*Le fait que, dans la présente étude, les D-dimères ne soient pas corrélés à la survenue des hématomes indique que le facteur décisif dans la formation de l'hématome, au sein des PDF, est la présence de fragments de fibrinogène.*

*Le fait que, par ailleurs, l'élévation des PDF et la baisse du fibrinogène sont liées statistiquement – au sein de la cohorte des hématomes – montre que c'est bien l'élévation spécifique des fragments de fibrinogène, au sein des PDF, qui est en rapport avec la genèse des hématomes.*

Une interprétation de la responsabilité directe des PDF dans la création des hématomes devient alors plausible. *Parmi les nombreux fragments du fibrinogène, les fragments X et Y sont considérés comme anticoagulants, par leur action anti-thrombine* (Collen D et al., 1999 ; Wintrobe MM et al., 1981), *mais aussi par leur caractère inhibiteur de la polymérisation de la fibrine, aboutissant à un thrombus fibrineux mal formé, et à leur action anti-plaquettaire* (Wintrobe MM et al., 1981). De plus, ils peuvent constituer des leurres capables de saturer les récepteurs du fibrinogène sur les plaquettes, selon un modèle démontré pour un fragment de fibrinogène obtenu in vitro (Kloczewiak M et al., 1983), et avoir ainsi un effet anti-agrégant plaquettaire aigu. Tous ces mécanismes cumulés peuvent se combiner pour provoquer la genèse des hématomes parenchymateux.

#### **\* Lyse du fibrinogène et hématomes parenchymateux**

La présente étude démontre que la diminution de fibrinogène à h2 est un facteur prédictif significatif de la survenue des HP, indépendamment de l'âge, de la sévérité de départ (NIHSS) et du diabète, alors que l'étude précédente n'avait pas pu la mettre en évidence (Trouillas et al., 2004). Il montre aussi que la diminution de fibrinogène est liée à l'augmentation de PDF, indiquant que ces 2 anomalies sont part de la même phénomène biologique, *au sein de la seule cohorte des hématomes parenchymateux.*

La diminution du fibrinogène avait été observée dans les études longitudinales de l'hémostase post-thrombolytique (Fassbender K, et al. 1999 ; Tanne D, et al., 2006), mais n'avait pas été corrélée avec les hématomes parenchymateux. Par contre, Matosevic et al (Matosevic B et al., 2013) ont pu démontrer, dans une série de 547 patients, que la diminution de fibrinogène à 6 heures après thrombolyse est statistiquement corrélée à la survenue des hématomes parenchymateux. Une diminution de fibrinogène de plus de 2 g/L est un prédicteur indépendant de saignement cérébral (OR: 4.53, [2.39- 4.01]; p<0.001) (Matosevic B et al., 2013).

La diminution de fibrinogène a aussi été observée après thrombolyse dans l'infarctus myocardique (Stangl K et al., 1998). Cette baisse du fibrinogène indique que le rt-PA n'est pas vraiment fibrino-spécifique, aux doses pharmacologiques, et que le fibrinogène circulant est attaqué chez ces patients. La raison pour laquelle certains patients présentent une diminution explosive du fibrinogène (et une telle augmentation explosive des PDF) sera à expliquer. Une susceptibilité génétique, un environnement spécifique ou des facteurs biologiques peuvent être impliqués.

#### **\* Coagulopathie tardive avec dégradation du fibrinogène.**

Une coagulopathie tardive avec dégradation du fibrinogène est aussi observée dans cette étude, impliquant l'augmentation significative à h24 des D-dimères et une diminution significative persistante du fibrinogène. Parce que l'hématome parenchymateux a déjà eu lieu au moment où ces dosages sont effectués, ces résultats pourraient paraître de moindre intérêt dans la mesure où ils ne sont plus prédictifs. Cependant, la baisse du fibrinogène apparaît comme la conséquence ou la poursuite de l'attaque du fibrinogène circulant, dont nous avons démontré le caractère favorisant vis à vis de l'hématome. Elle est donc de nature à constituer un facteur de risque *tardif* pour l'expansion de l'hématome déjà présent ou pour la genèse d'autres hématomes. Les circonstances ont fait que notre série a été trop courte pour permettre des corrélations avec les hématomes tardifs.



### ***\* Importance clinique de la coagulopathie précoce avec dégradation du fibrinogène***

A 2 heures, la constatation d'une augmentation des PDF et d'une baisse du fibrinogène représente un outil direct pour détermiener les patients à risque d'hématome parenchymateux. La présente étude montre qu'un fibrinogène au dessous de 2 g/L multiplie le risque d'hématome par un facteur 12,82. Ces résultats sont en accord complet avec ceux de Matosevic et al. (Matosevic B et al., 2013), montrant un risque de saignement multiplié avec un facteur 4,53 pour une diminution du fibrinogène supérieure à 2 g/L à 6 heures. Dans l'étude précédente de notre équipe (Trouillas P et al., 2004), il avait été montré qu'une valeur des PDF au dessus de 200 mg/L multipliait le risque d'hématome parenchymateux par un facteur 4,95. Toutes ces perturbations graves sont liées à l'attaque de fibrinogène circulant par le rt-PA.

La principale conséquence des données ici présentées est que des thrombolytiques ayant une meilleure fibrino-spécificité, tel que la Tecneteplase, pourraient être utilisés plus largement dans le traitement de l'infarctus cérébral à la place du rt-PA. Le moindre impact de la Tecneteplase sur le fibrinogène a été documenté (Szabo S et al., 2002), tandis que son utilisation a entraîné une moindre fréquence des hémorragies, non seulement dans l'infarctus myocardique (Van De Werf F et al., 1999), mais aussi dans l'infarctus cérébral (Parsons M et al., 2012).

Une autre conséquence concerne la pratique clinique dans les centres utilisant le rt-PA en routine: la connaissance à 2 heures d'un fibrinogène abaissé à moins de 2,5 g/L, et a fortiori à moins de 2 g/L, avec ou sans PDF augmentés, indique que le patient est à haut risque hémorragique.

Même si notre étude ne comporte pas d'indications scientifiques concernant le risque post-thrombolytique de médicaments anti-thrombotiques chez les patients présentant une coagulopathie, il apparaît évident que ces produits sont dangereux dès la 2<sup>ème</sup> heure et qu'ils peuvent encore l'être après 24 heures, dans la mesure où l'hypofibrinogénémie et l'augmentation de PDF sont encore présents à 24 heures.

Dans l'étude présente, les médicaments anti-thrombotiques avaient été interdits après la thrombolyse. Mais on imagine facilement quels événements hémorragiques désastreux auraient pu être provoqués par un agent anti-thrombotique chez les patients porteurs de la coagulopathie précoce avec dégradation du fibrinogène pendant les premières 24 heures. L'étude ECASS I (Hacke W et al., 1995), qui avait autorisé l'utilisation post-thrombolytique d'héparine, illustre ce risque, avec la constatation d'hématomes post-thrombolytiques dans 24 % des cas.

En conséquence, une recommandation logique pourrait être d'exclure les traitements anti-thrombotiques chez les patients avec fibrinogène bas et PDF élevés, non seulement pendant les 24 premières heures, mais éventuellement jusqu'à 72 heures, dans la mesure où l'hypofibrinogénémie est encore présente à 24 heures. Par ailleurs, la constatation précoce de PDF élevés et d'un fibrinogène bas, c'est à dire d'un risque d'hématome, pourrait conduire à une stratégie logique, pour ces patients, comportant un monitoring spécifique, surtout s'ils sont âgés, avec une attention spéciale pour les autres facteurs de saignement, hyperglycémie, diabète et hypertension.

### ***\*Absence d'influence des autres facteurs de l'hémostase sur la survenue des hématomes parenchymateux***

Un mécanisme des hématomes parenchymateux pourrait avoir impliqué une limitation de l'inhibition de la fibrinolyse, du fait de la baisse de l'alpha2-antiplasmine et de la baisse du facteur XIII. Clairement, cette hypothèse n'est pas confirmée par notre étude, puisque ces composants ne sont pas impliqués dans la genèse de l'hématome. Un composant clé comme le plasminogène n'est pas non plus concerné dans cette genèse. Nous n'avons pas retrouvé la diminution des thrombocytes, présentée comme prédictive des hématomes par Tanne et al (Tanne D, et al., 2006).

## **VIII. LIMITATIONS DE L'ETUDE**

Nous avons étudié 8 éléments informatifs de l'hémostase, mais d'autres dosages importants n'ont pas pu être réalisés, par exemple ceux du t-PA antigène, de l'activité t-PA, du TAFI, et du PAI-1. De ce fait, nous avons décrit des phénomènes affectant le fibrinogène, le plasminogène, les PDF, les D-dimères, l'alpha2-antiplasmine et le facteur XIII, mais d'autres événements moléculaires peuvent avoir eu lieu. Ainsi, n'ayant pas dosé le PAI-1 et le TAFI, nous n'avons pas pu vérifier les allégations de Ribo et al. (Ribo M et al., 2004) concernant le rôle prédictif pour les hématomes d'une baisse préthérapeutique de PAI-1 et d'une augmentation du TAFI.

L'étude n'a pu inclure que 80 patients, ce qui a limité la puissance dans certains tests statistiques multivariés. Le faible nombre d'hématomes n'a permis que la détection des corrélations les plus puissantes.

Seuls les temps 0, 2h, 24 h ont été explorés. Les dynamiques moléculaires intermédiaires (12h) et tardives (48, 72h) n'ont pas pu être prises en compte.

Les hématomes tardifs n'ont pas pu être pris en compte du fait de leur faible nombre et de l'absence d'explorations tardives de l'hémostase.

Pour toutes ces raisons, l'étude apparaît comme une étude pilote dont les résultats doivent être confirmés par des études de plus grande dimension et comportant l'exploration d'un plus grand nombre de composés de l'hémostase. Des études avec des corrélations radiologiques et vélocimétriques permettant de détecter la trombolyse incomplète et la rethrombose seront également utiles.

## **IX. CONCLUSION**

Bien que connu comme un agent thrombolytique "fibrino-spécifique" au niveau physiologique, le rt-PA induit à des concentrations pharmacologiques une diminution significative du fibrinogène circulant, qui est liée statistiquement à une diminution de plasminogène, indiquant une activation de la voie plasminogène dépendante.

Cette étude montre que la diminution du fibrinogène est également liée à la baisse de facteurs inhibant la fibrinolyse, l'alpha2-antiplasmine et le facteur XIII. Nous qualifions de "processus collatéral systémique" le phénomène mis en évidence après thrombolyse par le t-PA, comprenant à la fois une fibrinogénolyse et une activation antifibrinolytique.

Les infarctus cardio-emboliques sont caractérisés par une augmentation significative précoce (2<sup>ème</sup> heure) des PDF post-thrombolytiques et une baisse concomitante significative

de plasminogène. Une valeur basse du plasminogène à 2h est potentiellement prédictive d'un mauvais pronostic à 3 mois.

Cette étude apporte aussi la confirmation d'une "coagulopathie précoce avec dégradation de fibrinogène", prédictive à la 2<sup>ème</sup> heure d'hématomes parenchymateux de la thrombolyse qui vont survenir avant la 24<sup>ème</sup> heure. Décrite en 2004 sur la base d'une augmentation des PDF, cette coagulopathie s'enrichit dans la présente étude d'une baisse significative du fibrinogène, prédictive elle aussi des hématomes parenchymateux. La responsabilité directe de fragments du fibrinogène, ayant un potentiel anticoagulant et antiplaquettaire, dans la genèse des hématomes, est rappelée. Le fait que l'élévation des PDF est liée statistiquement à la baisse du fibrinogène – au sein de la cohorte des hématomes – est en faveur de cette responsabilité hémorragique spécifique des fragments du fibrinogène présents dans les PDF.

La survenue précoce de cette coagulopathie prédictive donne l'occasion d'un monitoring spécifique de ces patients à risque sévère de saignement, incluant une attention particulière pour les médicaments anti-thrombotiques.

La persistance de la coagulopathie à 24 heures, bien qu'elle n'ait pas pu faire l'objet de corrélations statistiques dans cette étude, montre que le danger hémorragique induit par les anomalies de l'hémostase reste présent à 24 heures.

Pour toutes ces raisons, l'analyse systématique de l'hémostase aux heures 0, 2 et 24 après la thrombolyse d'un patient victime d'AVC – telle qu'elle a été pratiquée dans cette étude – apparaît d'un intérêt non négligeable pour le spécialiste de l'hémostase et pour le clinicien.

## X. REFERENCES

- ALBERS GW, THIJIS VN, WECHSLER L, et al. DEFUSE Investigators. Magnetic resonance imaging profiles predict clinical response to early reperfusion: the diffusion and perfusion imaging evaluation for understanding stroke evolution (DEFUSE) study. *Ann Neurol* 2006;60:508-517.
- ALEXANDROV AV, GROTTA JC. Arterial reocclusion in stroke patients treated with intravenous tissue plasminogen activator. *Neurology* 2002;59:862-867.
- ALSOP DC, MAKOVETSKAYA E, KUMAR S, et al. Markedly reduced apparent blood volume on bolus contrast magnetic resonance imaging as a predictor of hemorrhage after thrombolytic therapy for acute ischemic stroke. *Stroke* 2005;36:746-750.
- ALVAREZ-PEREZ FJ, CASTELO-BRANCO M, ALVAREZ-SABIN J. Usefulness of measurement of fibrinogen, D-dimer, D-dimer/fibrinogen ratio, C reactive protein and erythrocyte sedimentation rate to assess the pathophysiology and mechanism of ischaemic stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011;82:986-992.
- ANWAR R, MILOSZEWSKI KJ. Factor XIII deficiency. *Br J Haematol* 1999;107:468-484.
- BACH-GANSMO ET, HALVORSEN S, GODAL HC, et al. D-dimers are degraded by human neutrophil elastase. *Thromb Res* 1996;82:177-186.
- BALOGOU AA, GUINHOUYA KM, BELO M. Epidémiologie des accidents vasculaires en Afrique subsaharienne. *Revue Neurologique* 2013 ; résumé de communication aux JNLF 2013.
- BARON JC, VON KUMMER R, DEL ZOPPO GJ. Treatment of acute ischemic stroke: challenging the concept of a rigid and universal time window. *Stroke* 1995;26:2219–2221.
- BASTELICA D, MAVRI A, VERDIER M, et al. Relationships between fibrinolytic and inflammatory parameters in human adipose tissue: strong contribution of TNFalpha receptors to PAI-1 levels. *Thromb Haemost* 2002;88:481-487.
- BLANN AD, AMIRAL J, MCCOLLUM CN. Prognostic value of increased soluble thrombomodulin and increased soluble E-selectin in ischaemic heart disease. *Eur J Haematol* 1997; 59: 115
- BLOMBÄCK B. Fibrinogen and fibrin - Proteins with complex roles in hemostasis and thrombosis. *Thromb Res* 1996;83:1-75.
- BLOMBÄCK M, ABILDGAARD U, van den BESSELAAR AM, et al. Nomenclature of quantities and units in thrombosis and haemostasis (recommendation 1993). A Collaborative project of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH/SSC) and the Commission/Committee on Quantities and Units (in Clinical Chemistry) of the International Union of Pure and Applied Chemistry-International Federation of Clinical Chemistry (IUPAC-IFCC/CQU(CC)). *Thromb Haemost* 1994;71:375-94.
- BOOTH NA, SIMPSON AJ, CROLL A, et al. Plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in plasma and platelets. *Br J Haematol* 1988;70:327-333.

BOUMA BN, MARX PF, MOSNIER LO, et al. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI, plasma procarboxypeptidase B, procarboxypeptidase R, procarboxypeptidase U). *Thromb Res* 2001;101:329-354.

BROTT TG, HALEY EC, LEVY DE, et al. Urgent therapy for stroke. Part I. Pilot study of tissue plasminogen activator administered within 90 minutes. *Stroke* 1992; 23:632-640.

BROTT TG, ADAMS HP JR, OLINGER CP, et al. Measurements of acute cerebral infarction. A clinical examination scale. *Stroke* 1989;20:864-870.

CHO AH, KIM JS, KIM SJ, et al. Focal fluid-attenuated inversion recovery hyperintensity within acute diffusion-weighted imaging lesions is associated with symptomatic intracerebral hemorrhage after thrombolysis. *Stroke* 2008;39:3424-3426.

CLIFTON EE. The use of plasmin in the treatment of intravascular thrombosis. *J Am Geriatr Soc* 1958;6:118-127.

COLLEN D. Biological properties of human tissue-type plasminogen activator obtained by expression of recombinant DNA in mammalian cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1984 ;231:146-152.

COLLEN D. The plasminogen (fibrinolytic) system. *Thromb Haemost* 1999;82:259-270.

CRONIN CA, SHAH N, MOROVATI T, et al. No Increased Risk of Symptomatic Intracerebral Hemorrhage After Thrombolysis in Patients With European Cooperative Acute Stroke Study (ECASS) Exclusion Criteria. *Stroke* 2012;43:1684-1686.

DAHL T, KONTNY F, SLAGSVOLD CE, et al. Lipoprotein(a), other lipoproteins and hemostatic profiles in patients with ischemic stroke: the relation to cardiogenic embolism. *Cerebrovasc Dis* 2000;10:110-117.

de LAU LM, CHEUNG EY, KLUFT C, et al. Strongly increased levels of fibrinogen elastase degradation products in patients with ischemic stroke. *Br J Haematol* 2008;143:734-737.

DEL ZOPPO GJ, POECK K, PESSIN MS, et al. Recombinant tissue plasminogen activator in acute thrombotic and embolic stroke. *Ann Neurol* 1992;32:78-86.

DEMCHUK AM, MORGENSTERN LB, KRIEGER DW, et al. Serum glucose level and diabetes predict tissue plasminogen activator-related intracerebral hemorrhage in acute ischemic stroke. *Stroke* 1999;30:34-39.

DEREX L, HERMIER M, ADELEINE P, et al. Clinical and imaging predictors of intracerebral haemorrhage in stroke patients treated with intravenous tissue plasminogen activator. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:70-75.

DORADO L, MILLAN M, PEREZ DE LA OSSA N, et al. Time to recanalization and risk of symptomatic intracerebral haemorrhage in patients treated with intravenous thrombolysis. *Eur J Neurol* 2012;19:1251-1255.

DUGDALE D. Primary or secondary fibrinolysis. *Medline Plus* 2011.

ESMON NL, CARROLL RC, ESMON CT. Thrombomodulin blocks the ability of thrombin to activate platelets. *J Biol Chem* 1983; 258: 12238.

FASSBENDER K, DEMPFLER CE, MIELKE O, et al. Changes in coagulation and fibrinolysis markers in acute ischemic stroke treated with recombinant tissue plasminogen activator. *Stroke* 1999;30:2101-2104.

FEIGIN VL. Stroke in developing countries: can the epidemic be stopped and outcomes improved? *Lancet Neurol*. 2007; 6: 94–97.

FEIGIN VL, LAWES CMM, DERRICK A BENNETT DA et al. Worldwide stroke incidence and early case fatality reported in 56 population-based studies: a systematic review. *Lancet Neurol* 2009;8:355–369.

FIESCHI C, ARGENTINO C, LENZI GL, et al. Clinical and instrumental evaluation of patients with ischemic stroke within the first six hours. *J Neurol Sci* 1989;91:311-322

FIORELLI M, BASTANIELLO S, VON KUMMER R, et al.; for the ECASS I Study Group. Hemorrhagic transformation within 36 hours of a cerebral infarct. Relationship with early clinical deterioration and 3-month outcome in the European Cooperative Stroke Study I (ECASS I) cohort. *Stroke* 1999;30:2280-2284.

FISHER M, FRANCIS R. Altered Coagulation in Cerebral Ischemia. Platelet, Thrombin, and Plasmin Activity. *Arch Neurol* 1990;47:1075-1079.

FRASER SR, BOOTH NA, MUTCH NJ. The antifibrinolytic function of factor XIII is exclusively expressed through  $\alpha$ -antiplasmin cross-linking. *Blood* 2011;117:6371-6374.

HACKE W, ZEUMER H, FERBERT A, et al. Intra-arterial thrombolytic therapy improves outcome in patients with acute vertebrobasilar occlusion. *Stroke* 1988;19: 1216–1222.

HACKE W, KASTE M, FIESCHI C, et al.; for the ECASS Study Group. Intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator for acute hemispheric stroke. The european cooperative acute stroke study (ECASS). *JAMA* 1995;274: 1017–1025.

HACKE W, KASTE M, FIESCHI C, et al. Randomised double-blind placebo-controlled trial of thrombolytic therapy with intravenous alteplase in acute ischaemic stroke (ECASS II). Second European-Australasian Acute Stroke Study Investigators. *Lancet* 1998;352:1245-1251.

HACKE W, KASTE M, BLUHMKI E, et al.; ECASS Investigators. Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 2008;359:1317-1329.

HANSS M. Les dysfibrinogènes. *Rev Fr Lab* 2005;378:43-48.

HANSS M. Anomalies constitutionnelles de la fibrinolyse et syndromes hémorragiques. *Rev Fr Lab* 2012; 433: 39-45

HOLMES WE, NELLES L, LIJNEN HR, et al. Primary structure of human alpha-2-antiplasmin, a serine protease inhibitor (Serpine). *J Biol Chem*. 1987;262:1659-1664.

HOMMEL M, BOISSEL JP, CORNU C, et al. Termination of trial of streptokinase in severe acute ischaemic stroke. MAST Study Group. *Lancet* 1995;345:57.

HUBER D, CRAMER EM, KAUFMANN JE, et al. Tissue-type plasminogen activator (t-PA) is stored in Weibel-Palade bodies in human endothelial cells both in vitro and in vivo. *Blood* 2002;99:3637-3645.

HUNTINGTON JA. Serpin structure, function and dysfunction. *J Thromb Haemost* 2011;9:26-34.

ISENEGGER J, MEIER N, LÄMMLE B, et al. D-dimers predict stroke subtype when assessed early. *Cerebrovasc Dis* 2010;29:82-86.

IST-3 collaborative group, SANDERCOCK P, WARDLAW JM, et al. The benefits and harms of intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator within 6 h of acute ischaemic stroke (the third international stroke trial [IST-3]): a randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 379:2352-63.

KASSEM-MOUSSA H, GRAFFAGNINO C. Nonocclusion and spontaneous recanalization rates in acute ischemic stroke: a review of cerebral angiography studies. *Arch Neurol* 2002; 59: 1870–1873.

KLOCZEWIAK M, TIMMONS S, HAWIGER J. Recognition site for the platelet receptor is present on the 15-residue carboxy-terminal fragment of the  $\gamma$  chain of human fibrinogen and is not involved in the fibrin polymerization reaction. *Thrombosis Res* 1983 ;29 : 249–254

KOCH HJ, HORN M, BOGDAHN U, et al. The relationship between plasma D-dimer concentrations and acute ischemic stroke subtypes. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2005;14:75-79.

KRISHNAMURTHI RV, FEIGIN VL, FOROUZANFAR MH, et al. Global and regional burden of first-ever ischaemic and haemorrhagic stroke during 1990–2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet Glob Health* 2013;1:e259–281.

LANSBERG MG, THUIS VN, BAMMER R, et al.; DEFUSE Investigators: Risk factors of symptomatic intracerebral hemorrhage after tPA therapy for acute stroke. *Stroke* 2007;38:2275-2278.

LARRUE V, VON KUMMER R, DEL ZOPPO G, et al. Hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke. Potential contributing factors in the European Cooperative Acute Stroke Study. *Stroke* 1997;28:957-960.

LARRUE V, VON KUMMER R, MÜLLER A, et al. Risk factors for severe hemorrhagic transformation in ischemic stroke patients treated with recombinant tissue plasminogen activator. A secondary analysis of the European-Australasian Acute Stroke Study (ECASS II). *Stroke* 2001;32:438-441.

LEUNG L. Histidine-rich glycoprotein: an abundant plasma protein in search of a function. *J Lab Clin Med* 1993;121:630-631.

LIJNEN HR. Elements of the fibrinolytic system. *Ann NY Acad Sci* 2001;936:226-236.

LIU L, WANG D, WONG KS, et al. Stroke and stroke care in China: huge burden, significant workload, and a national priority. *Stroke* 2011;42:3651-3654.

LORD ST. Molecular mechanisms affecting fibrin structure and stability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:494-499.

LOSKUTOFF DJ. Regulation of PAI-1 gene expression. *Fibrinolysis* 1991;5:197-206.

LOZANO R, NAGHAVI M, FOREMAN K et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; 380:2095-2128.

MARCHAL G, SERRATI C, RIOUX P, et al. PET imaging of cerebral perfusion and oxygen consumption in acute ischaemic stroke: relation to outcome. *Lancet* 1993;341:925-927.

MARTI-FABREGAS J, BORRELL M, COCHO D, et al. Hemostatic markers of recanalization in patients with ischemic stroke treated with rt-PA. *Neurology* 2005;65:366-370.

MATOSEVIC B, KNOFLACH M, WERNER PH, et al. Fibrinogen degradation coagulopathy and bleeding complications after stroke thrombolysis. *Neurology* 2013;80:1216-1224.

MAZYA M, EGIDO JA, FORD GA, et al.; SITS Investigators. Predicting the risk of symptomatic intracerebral hemorrhage in ischemic stroke treated with intravenous alteplase: safe Implementation of Treatments in Stroke (SITS) symptomatic intracerebral hemorrhage risk score. *Stroke* 2012;43:1524-1531.

MIRSHAHI M, SORIA J, SORIA C, et al. A latex immunoassay of fibrin/fibrinogen degradation products in plasma using a monoclonal antibody. *Thromb Res* 1986;44:715-28.

MONDILLO S, SABATINI L, AGRICOLA E, et al. Correlation between left atrial size, prothrombotic state and markers of endothelial dysfunction in patients with lone chronic nonrheumatic atrial fibrillation. *Int J Cardiol* 2000;75:227-232.

MONTANER J, PEREA-GAINZA M, DELGADO P, et al. Etiologic diagnosis of ischemic stroke subtypes with plasma biomarkers. *Stroke* 2008;39:2280-2287.

MOSESSON MW, SIEBENLIST KR, HERNANDEZ I, et al. Evidence that  $\alpha$ 2-antiplasmin becomes covalently ligated to plasma fibrinogen in the circulation: a new role for plasma factor XIII in fibrinolysis regulation. *J Thromb Haemost* 2008;6:1565-1570.

MURRAY CJ, LOPEZ AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: global burden of disease study. *Lancet* 1997; 349: 1498-1504.

MUSZBEK L, YEE VC, HEVESSY Z. Blood coagulation factor XIII: structure and function. *Thromb Res* 1999;94:271-305.

MUSZBEK L, BERECZKY Z, BAGOLY Z, et al. Factor XIII: a coagulation factor with multiple plasmatic and cellular functions. *Physiol Rev* 2011;91:931-972.

MUTCH NJ, THOMAS L, MOORE NR, et al. TAFIa, PAI-1 and  $\alpha$ 2-antiplasmin: complementary roles in regulating lysis of thrombi and plasma clots. *J Thromb Haemost* 2007;5:812-817.

NAKAGAWA K, HIRAI T, SAKURAI K, et al. Thoracic aortic plaque enhances hypercoagulability in patients with nonrheumatic atrial fibrillation. *Circ J* 2007;71:52-56.

NIEUWENHUIZEN W. Plasma assays for derivatives of fibrin and fibrinogen, based on monoclonal antibodies. *Fibrinolysis* 1988a;2:1-5.

NIEUWENHUIZEN W. New strategies in the determination of fibrin and fibrin(ogen) derivatives by monoclonal antibodies. *Blut*. 1988b;57:285-291.

OLIVOT JM, LABREUCHE J, AIACH M, et al. Soluble thrombomodulin and brain infarction: case-control and prospective study. *Stroke* 2004;35:1946-1951.

OLIVOT JM, MLYNASH M, THIJS VN, et al. Geography, structure, and evolution of diffusion and perfusion lesions in Diffusion and perfusion imaging Evaluation For Understanding Stroke Evolution (DEFUSE). *Stroke* 2009;40:3245-3251.

PANDIAN JD, SRIKANTH V, READ SJ, et al. Poverty and stroke in India: a time to act. *Stroke* 2007;38:3063-3069.



PÁRAMO JA, BELOQUI O, RONCAL C et al. Validation of plasma fibrinogen as a marker of carotid atherosclerosis in subjects free of clinical cardiovascular disease *Haematologica* 2004;89:1226-1231.

PARSONS M, SPRATT N, BIVARD A, et al. A randomized trial of tecteplase versus alteplase for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 2012;366:1099-1107.

PFITZNER SA, DEMPFLER CE, MATSUDA M et al. Fibrin detected in plasma of patients with disseminated intravascular coagulation by fibrin-specific antibodies consists primarily of high molecular weight factor XIIIa-crosslinked and plasmin-modified complexes partially containing fibrinopeptide A. *Thromb Haemost* 1997;78:1069-1078.

POLLER W, FABER J-P, KLOBECK G, et al. Cloning of the human alpha-2-macroglobulin gene and detection of mutations in two functional domains: the bait region and the thiolester site. *Hum Genet* 1992;88:313-319.

PONTING CP, MARSHALL JM, CEDERHOLM-WILLIAMS SA. Plasminogen: a structural review. *Blood Coag Fibrinol* 1992;3:605-614.

RIBO M, MOLINA CA. Monitoring clot dissolution during intravenous thrombolysis. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2006;35:63-66.

RIBO M, MONTANER J, MOLINA CA, et al. Admission fibrinolytic profile is associated with symptomatic hemorrhagic transformation in stroke patients treated with tissue plasminogen activator. *Stroke* 2004;35:2123-2127.

RIDER DM, MCDONAGH J. Resistance of factor XIII to degradation or activation by plasmin. *Bioch Biophys Acta* 1981;675:171-177.

RITCHIE H, ROBBIE LA, KINGHORN S, et al. Monocyte plasminogen activator inhibitor 2 (PAI-2) inhibits u-PA-mediated fibrin clot lysis and is cross-linked to fibrin. *Thromb Haemost* 1999;81:96-103.

RUBIERA M, ALVAREZ-SABÍN J, RIBO M, et al. Predictors of early arterial reocclusion after tissue plasminogen activator-induced recanalization in acute ischemic stroke. *Stroke* 2005;36:1452-1456.

SALLES FJ, STRICKLAND S. Localization and regulation of the tissue plasminogen activator-plasmin system in the hippocampus. *J Neurosci* 2002;22:2125-2134.

SCHALLER J, GERBER SS. The plasmin-antiplasmin system: structural and functional aspects. *Cell Mol Life Sci*, 2011;68:785-801.

SCHROEDER V, VUISSOZ JM, CAFLISCH A, et al. Factor XIII activation peptide is released into plasma upon cleavage by thrombin and shows a different structure compared to its bound form. *Thromb Haemost* 2007;97:890-898.

SHOBHA N, BUCHAN AM, HILL MD. Canadian Alteplase for Stroke Effectiveness Study (CASES). Thrombolysis at 3-4.5 hours after acute ischemic stroke onset: evidence from the Canadian Alteplase for Stroke Effectiveness Study (CASES) registry. *Cerebrovasc Dis* 2011;31:223-228.

SIEBENLIST KR, MEH DA, MOSESSON MW. Plasma factor XIII binds specifically to fibrinogen molecules containing  $\gamma$  chains. *Biochemistry* 1996;35:10448-10453.

STANGL K, LAULE M, TENCKHOFF B, et al. Fibrinogen breakdown, long-lasting systemic fibrinolysis, and procoagulant activation during alteplase double-bolus regimen in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1998;81:841-847.

STEHLING F, WEBER R, OZCELIK A, et al. Acute changes of coagulation and fibrinolysis parameters after experimental thromboembolic stroke and thrombolytic therapy. *Neurosci Lett* 2008;441:39-43.

STRBIAN D, ENGELTER S, MICHEL P, et al. Symptomatic intracranial hemorrhage after stroke thrombolysis: the SEDAN score. *Ann Neurol* 2012;71:634-641

STRONG K, MATHERS C, BONITA R. Preventing stroke: saving lives around the world. *Lancet Neurol* 2007;6:182-187.

SUN X, BERTHILLER J, DEREK L, et al. Post-thrombolysis haemostasis changes after rt-PA treatment in acute cerebral infarct. Correlations with cardioembolic aetiology and outcome. *J Neurol Sci* 2015;349:77-83.

SUN X, BERTHILLER J, TROUILLAS P, et al. Early fibrinogen degradation coagulopathy: A predictive factor of parenchymal hematomas in cerebral rt-PA thrombolysis. *J Neurol Sci* 2015;351:109-114.

SZABO S, LETSCH R, EHLERS R, et al. Absence of paradoxical thrombin activation by fibrin-specific thrombolytics in acute myocardial infarction: comparison of single-bolus tenecteplase and front-loaded alteplase. *Thromb Res* 2002;106:113-119.

TAKANO S, KIMURA S, OHDAMA S, et al. Plasma thrombomodulin in health and diseases. *Blood* 1990;76:2024–2029.

TANNE D, BENDERLY M, GOLDBOURT U, et al. A prospective study of plasma fibrinogen levels and the risk of stroke among participants in the Bezafibrate Infarction Prevention Study. *Am J Med* 2001; 111:457-463.

TANNE D, KASNER SE, DEMCHUK AM, et al. Markers of increased risk of intracerebral hemorrhage after intravenous recombinant tissue plasminogen activator therapy for acute ischemic stroke in clinical practice: the Multicenter rt-PA Stroke Survey. *Circulation* 2002;105:1679-1685.

TANNE D, MACKO RF, LIN Y, et al.; NINDS rtPA Stroke Study Group. Hemostatic activation and outcome after recombinant tissue plasminogen activator therapy for acute ischemic stroke. *Stroke* 2006;37:1798-1804.

THE NATIONAL INSTITUTE OF NEUROLOGICAL DISORDERS AND STROKE RT-PA STROKE STUDY GROUP. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med* 1995;333:1581-1588.

THOMALLA G, SOBESKY J, KÖHRMANN M, et al. Two tales: hemorrhagic transformation but not parenchymal hemorrhage after thrombolysis is related to severity and duration of ischemia: MRI study of acute stroke patients treated with intravenous tissue plasminogen activator within 6 hours. *Stroke* 2007;38:313-318.

TOMBUL T, ATBAS C, ANLAR O. Hemostatic markers and platelet aggregation factors as predictive markers for type of stroke and neurological disability following cerebral infarction. *J Clin Neurosci* 2005;12:429-434.

TONI D, FIORELLI M, ZANETTE EM, et al. Early spontaneous improvement and deterioration of ischemic stroke patients. A serial study with transcranial Doppler ultrasonography. *Stroke*. 1998;29:1144-1148.

TROUILLAS P, NIGHOGHOSSIAN N, GETENET JC, et al. Open trial of intravenous tissue plasminogen activator in acute carotid territory stroke. Correlations of outcome with clinical and radiological data. *Stroke* 1996;27:882-890.

TROUILLAS P, NIGHOGHOSSIAN N, DEREK L, et al. Thrombolysis with intravenous rtPA in a series of 100 cases of acute carotid territory stroke: determination of etiological, topographic, and radiological outcome factors. *Stroke* 1998;29:2529-2540.

TROUILLAS P, DEREK L, PHILIPPEAU F, et al. Early fibrinogen degradation coagulopathy is predictive of parenchymal hematomas in cerebral rt-PA thrombolysis: a study of 157 cases. *Stroke* 2004;35:1323-1328.

TROUILLAS P, VON KUMMER. Classification and pathogenesis of cerebral hemorrhages after thrombolysis in ischemic stroke. *Stroke* 2006;37:556-561.

VALNICKOVA Z, ENGHILD JJ. Human procarboxypeptidase U, or thrombin-activable fibrinolysis inhibitor, is a substrate for transglutaminases. Evidence for transglutaminase-catalyzed cross-linking to fibrin. *J Biol Chem* 1998; 273: 27220-27224.

VAUGHAN DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb Haemost*. 2005;3:1879-1883.

VAN DE WERF F, ADGEY J, ARDISSINO D, et al. Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. *Lancet* 1999;354:716-722.

VAN SWIETEN JC, KOUDSTAAL PJ, VISSER MC, et al. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke* 1988;19:604-607.

WAHLGREN N, AHMED N, DÁVALOS A, et al.; SITS-MOST investigators. Thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke in the Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke-Monitoring Study (SITS-MOST): an observational study. *Lancet* 2007;369:275-282.

WAHLGREN N, AHMED N, DÁVALOS A, et al.; SITS investigators. Thrombolysis with alteplase 3-4.5 h after acute ischaemic stroke (SITS-ISTR): an observational study. *Lancet* 2008;372:1303-1309.

WIMAN B, COLLEN D. Molecular mechanism of physiological fibrinolysis. *Nature* 1978;272:549-550.

WINTROBE MM, LEE GR, BOGS DR, et al. Clinical hematology. 8th ed. Philadelphia, Pa: Lea and Febiger, 1981: 434.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Preventing chronic diseases: A vital investment. Geneva. *World Health Organization* 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva, Switzerland. *World Health Organization* 2009.

WU K, URANO T, IHARA H, et al. The cleavage and inactivation of plasminogen activator inhibitor type 1 by neutrophil elastase: the evaluation of its physiologic relevance in fibrinolysis. *Blood* 1995;86:1056-1061.

YEE VC, PEDERSEN LC, LE TRONG I et al. Three-dimensional structure of a transglutaminase: human blood coagulation factor XIII. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:7296-7300

YORIFUJI H, ANDERSON K, LYNCH GW, et al. B protein of factor XIII: differentiation between free B and complexed B. *Blood* 1988 Nov;72:1645-1650.

ZEUMER H, HACKE W, RINGELSTEIN EB. Local intraarterial thrombolysis in vertebrobasilar thromboembolic disease. *AJNR* 1983; 4:401-404.

## Tableau annexe

Tableau annexe a : principaux paramètres de la cohorte (dans la sous-cohorte étudiée spécifiquement pour les hémorragies intracérébrales), n=72.

Variable	n / moyenne	% / DS	min / médiane / max
<b>Age, années</b>	63	11.4	27 / 66 / 71.5
<b>Sexe, féminin</b>	36	50	
<b>Poids, Kg</b>	71.1	13.2	44 / 70 / 80
<b>Hématomes parenchymateux au jour 1</b>	6	8.3	
<b>Infarctus hémorragique au jour 1</b>	11	15.3	
<b>Antécédents</b>			
Infarctus cérébral >3 mois	4	5.5	
Accident ischémique transitoire	4	5.5	
Fibrillation atriale	8	11.1	
Artériopathie des membres inf.	3	4.1	
Angina pectoris	4	5.5	
Infarctus myocardique	9	12.5	
Valvulopathie	0	-	
<b>Facteurs de risque vasculaire</b>			
Hypertension	35	48.6	
Hyperlipidémie	21	29.2	
Alcool	4	5.5	
Insuffisance cardiaque	2	2.8	
Diabète	16	22.2	
Tabagisme	17	23.6	
Obésité	10	13.9	
<b>Origine cardioembolique</b>	33	45.8	
<b>Fibrillation atriale</b>	17	23.6	
<b>E. cardio-embolique “mineure”</b>	10	13.9	
<b>E. athéro-thrombotique</b>	19	26.3	
<b>Dissection</b>	1	1.4	
<b>Prise d’anti-agrégants plaq.</b>	16	22.2	
<b>NIHSS à l’entrée, score</b>			13
<b>Temps au traitement (minutes)</b>	242	58.9	100 / 230 / 420
<b>pression artérielle systolique, mmHg</b>	143.3	25.8	94 / 140 / 220
<b>pression artérielle diastolique, mmHg</b>	76.7	16.7	40 / 77 / 126
<b>m Rankin test 0,1 à 3 mois, n</b>	20	28	
<b>Mort à 90 jours, %</b>	5	6,9	