



**labmed**  
schweiz suisse svizzera



**Ecole  
Supérieure  
du canton  
de Neuchâtel**

Filière d'analyses biomédicales

# Anciens et nouveaux anticoagulants

présenté par

**Guido Reber**

Biochimiste, Dr ès sciences,  
Ancien responsable du laboratoire d'hémostase des HUG

# LES PRINCIPAUX AGENTS THERAPEUTIQUES UTILISES EN HEMOSTASE (sauf antiplaquettaires, antifibrinolytiques et thrombolytiques)

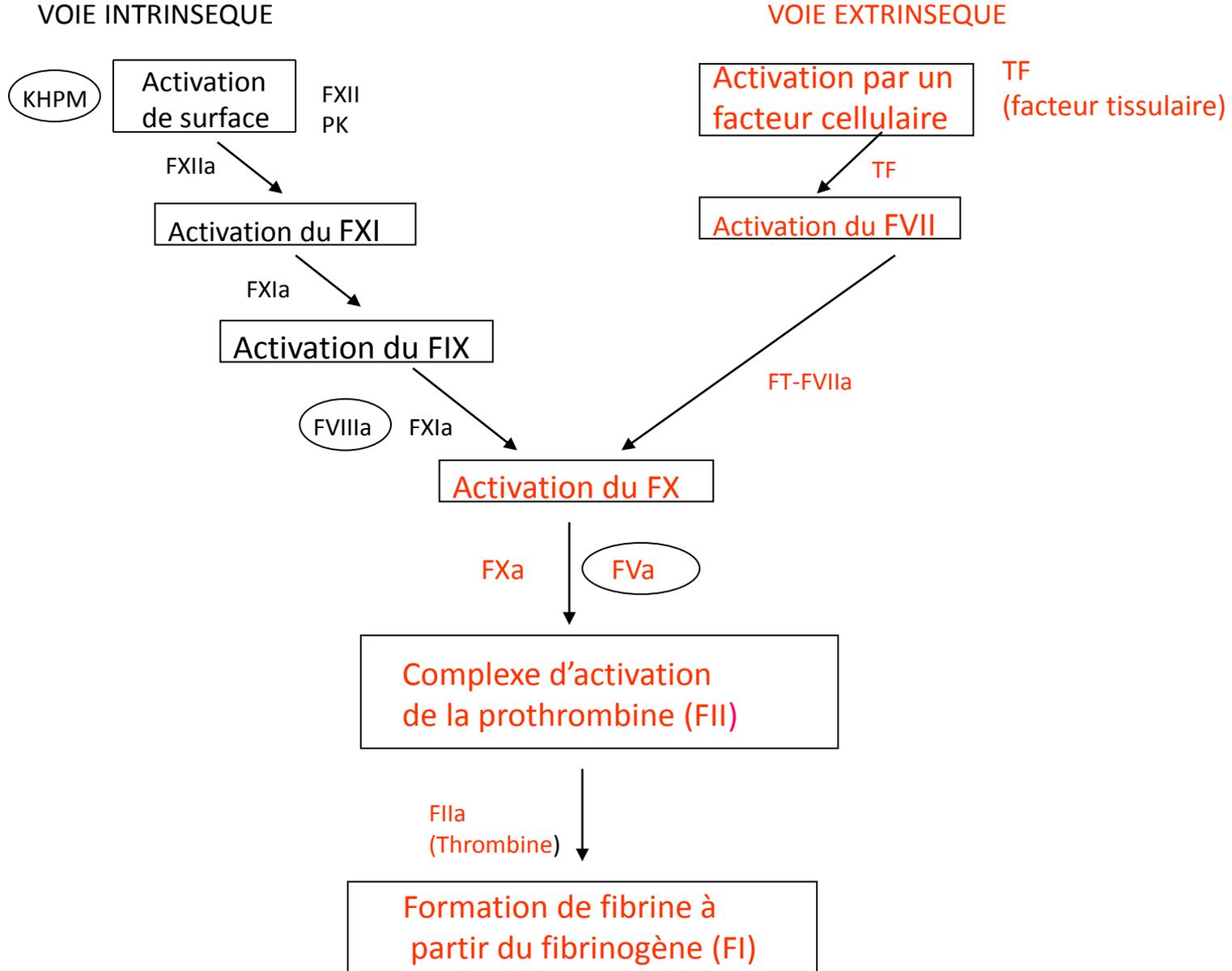
## Antithrombotiques

- *coumarines*
- *héparines***s**
- fondaparinux
- danaparoïde (heparan sulfate + dermatan sulfate )
- hirudines
- **inhibiteurs synthétiques de la thrombine**
- **inhibiteurs synthétiques du facteur Xa**

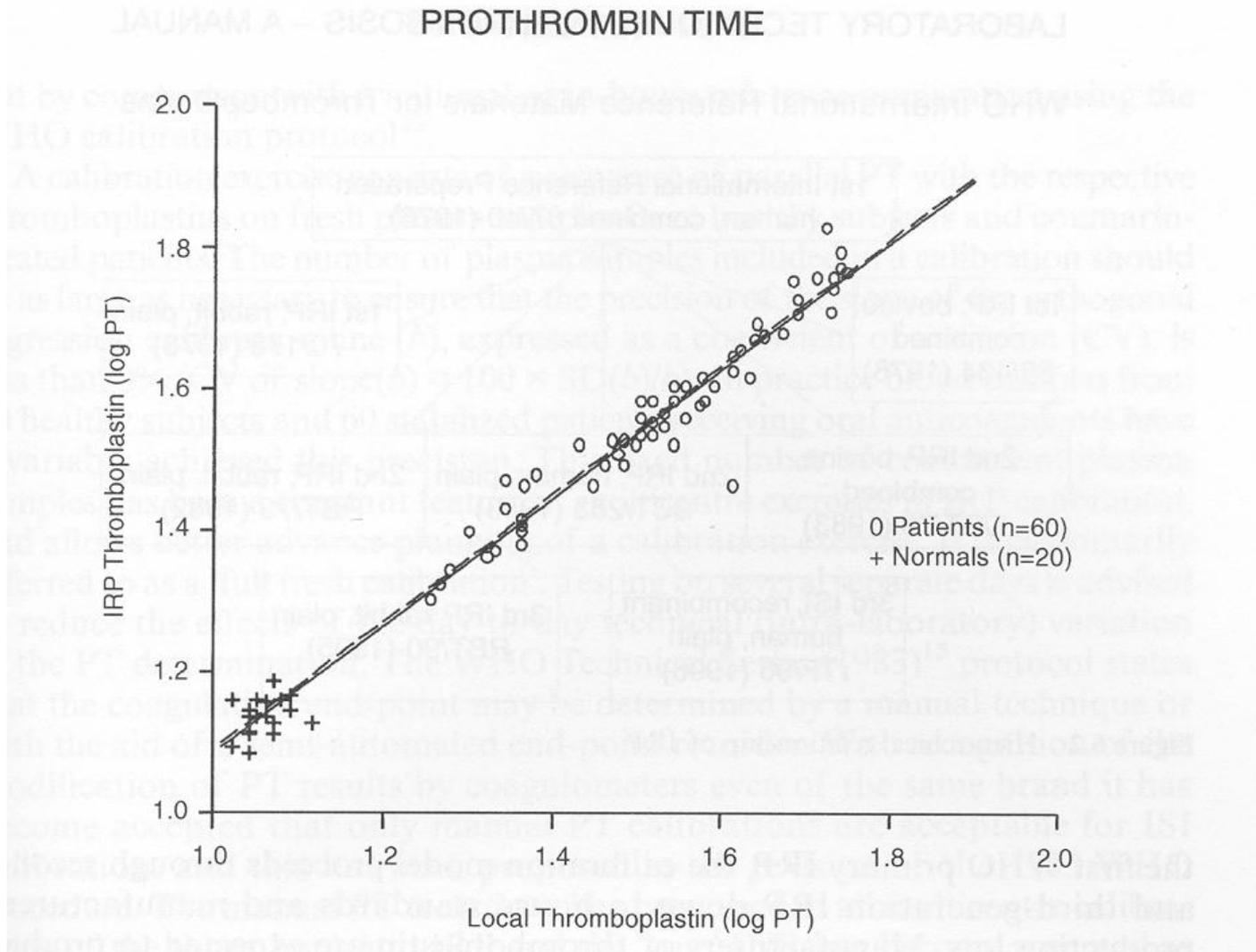
# Coumarines

- plusieurs composés, à  $t_{1/2}$  plus ou moins longue
- administrés par voie orale
- interfèrent dans le métabolisme de la vitamine K (AVK)
- abaissent l'activité des facteurs vitamino K dépendants (FII, FVII, FIX, FX, protéine C et protéine S)
- génération de facteurs inactifs (PIVKA)
- l'ajustement des doses se fait au moyen du TP
- les résultats du TP sont rendus en **INR exclusivement**
- l'INR cible et la fourchette dépendent de l'indication
- **antidote: administration de vitamine K**

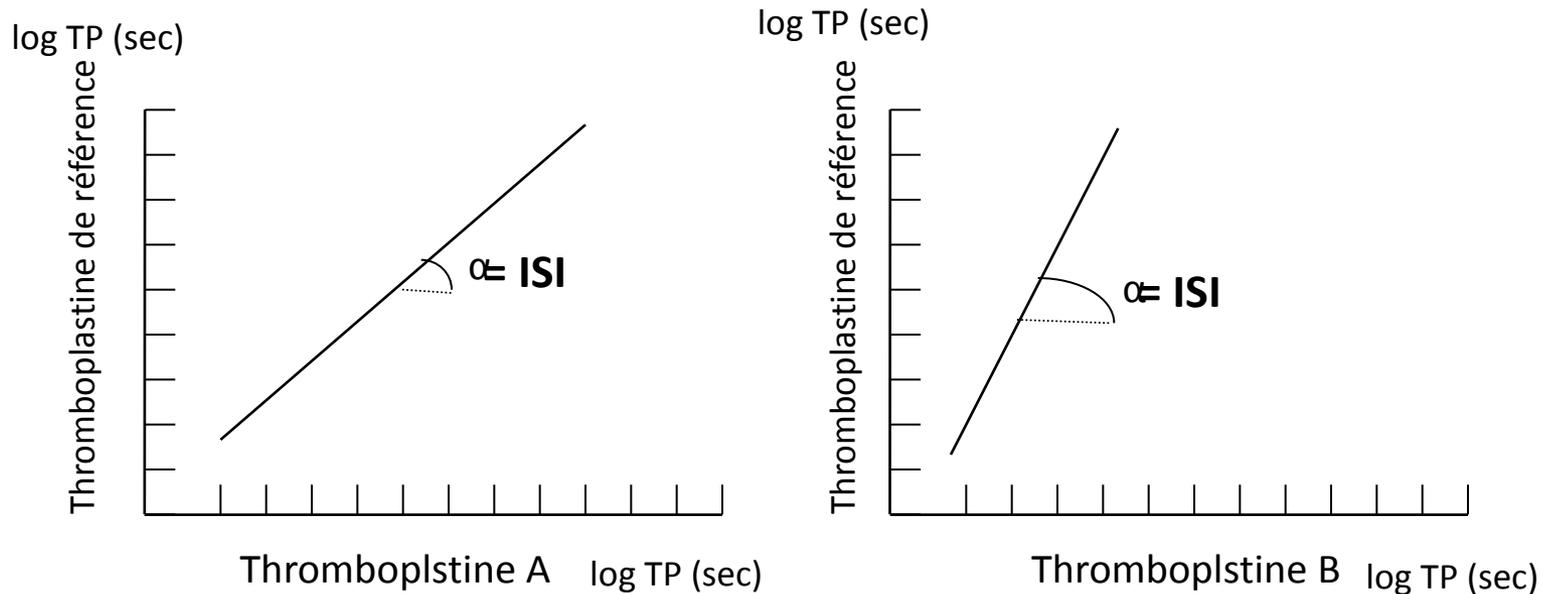
# VOIES DE LA COAGULATION



# Calibration d'une thromboplastine contre la référence OMS



# Détermination de l'Index de Sensibilité International (ISI)

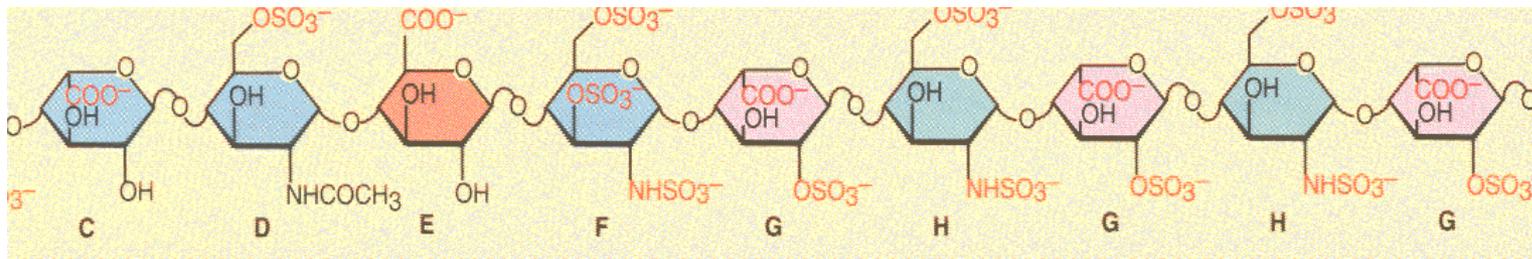


La pente de la droite obtenue contre la thromboplastine de référence internationale est l'index de sensibilité du réactif (ISI)

Le rapport 
$$\left( \frac{\text{temps du patient}}{\text{temps du témoin}} \right)^{ISI} = INR$$

ou International Normalized Ratio, indépendant du réactif

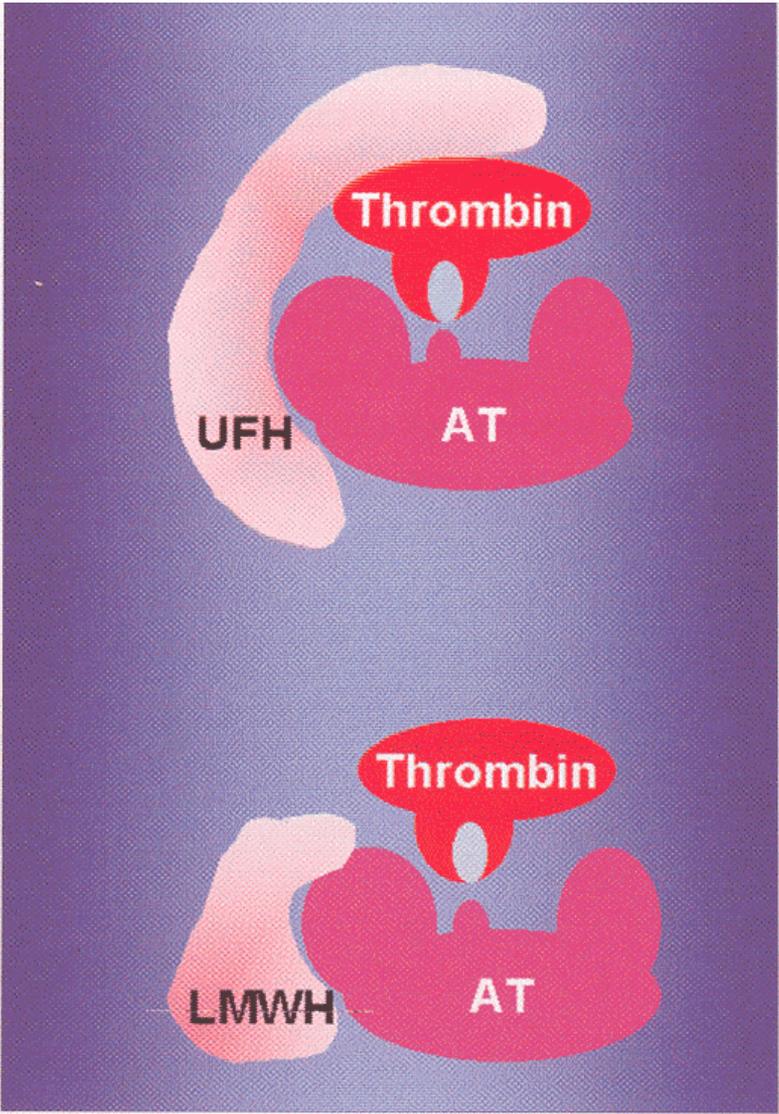
## Héparines standard (non-fractionnées)



- mélange de masses moléculaires de 4 à 30 kd
- extraites de poumon de bœuf ou d'intestin de porc
- accélèrent la réaction d'inhibition de la thrombine, du FIXa et du FXa par l'antithrombine
- utilisées par voie intraveineuse ou sous-cutanée
- biodisponibilité moins bonne que les HBPM
- **antidote: protamine**

## **Héparines de faible masse moléculaire (HBPM)**

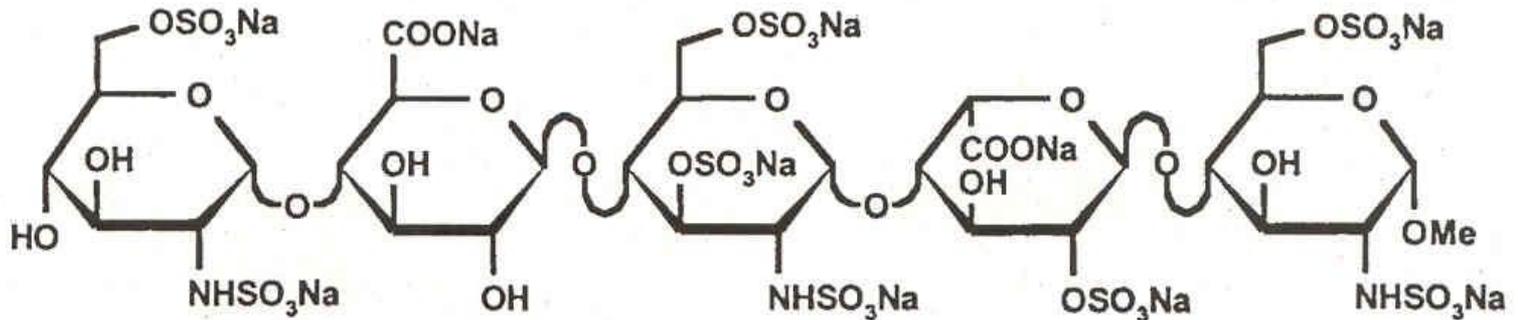
- obtenues par dépolymérisation de l'héparine
- mélange de masses moléculaires entre 1 et 5 kd
- accélèrent la réaction d'inhibition du FXa (mais 2 à 4 fois moins celle de la thrombine) par l'antithrombine
- excellente biodisponibilité par voie sous-cutanée (posologie en fonction du poids et de l'indication)
- conséquence: pas besoin de monitoring (sauf insuffisants rénaux, bébés et obèses)
- **pas d'antidote disponible**



# Diversité des LMWH

	Héparine Ratio anti-Xa/anti-IIa	Allongement aPTT	Dose U/kg/24 h	Héparinémie U anti-Xa/ml
HNF <sup>®</sup>	1	++++	250 x 2	0,40-0,60
Innohep <sup>®</sup>	1,8	+++	175 x 1	0,87 ± 0,15
Fragmine <sup>®</sup>	2,5	++	100 x 2	0.59 ± 0,25
Fraxiparine <sup>®</sup>	2,5-4	+(+)	85 x 2	1,01 ± 0,18
Fraxodi <sup>®</sup>	2,5-4	+(+)	170 x 1	1,34 ± 0,15
Lovenox <sup>®</sup>	3,6	+	100 x 2	1,20 ± 0,17
Arixtra <sup>®</sup>	infini	0	-	-

# Pentasaccharide synthétique: le Fondaparinux



Accélère la réaction d'inhibition du facteur Xa par l'antithrombine

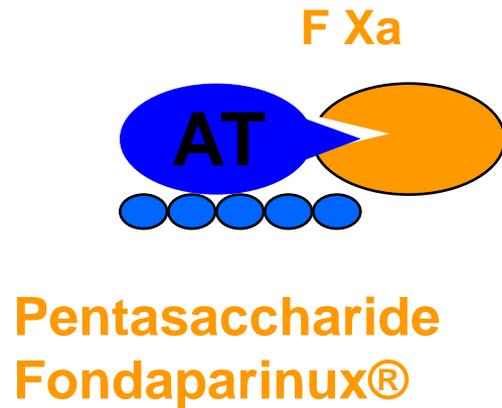
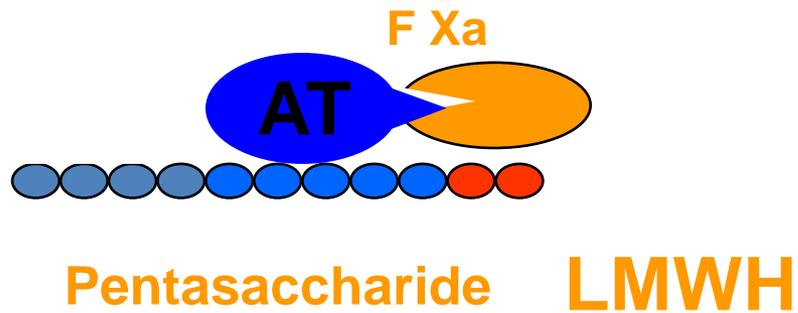
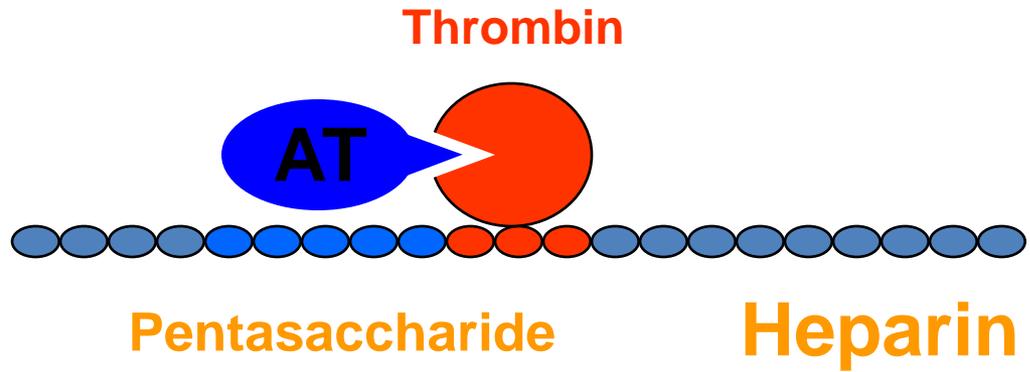
$t_{1/2}$  : 17 -21 heures

Administration s.-c.

Excrétion rénale

Liaison aux protéines : 94%

Ne se lie pas au PF4 plaquettaire



# Danaparoïde sodique (Orgaran®)

Familles des glycosaminoglycuronnanes sulfatés **non hépariniques**

Muqueuse intestinale du porc

PM allant de 2000 à >10'000 daltons

Composé de  $\approx$  84% heparan sulfate, 8 -16% dermatan sulfate

Le rapport activité anti-Fxa/activité anti-thrombine = 20

L'activité anticoagulante dépend de l'antithrombine

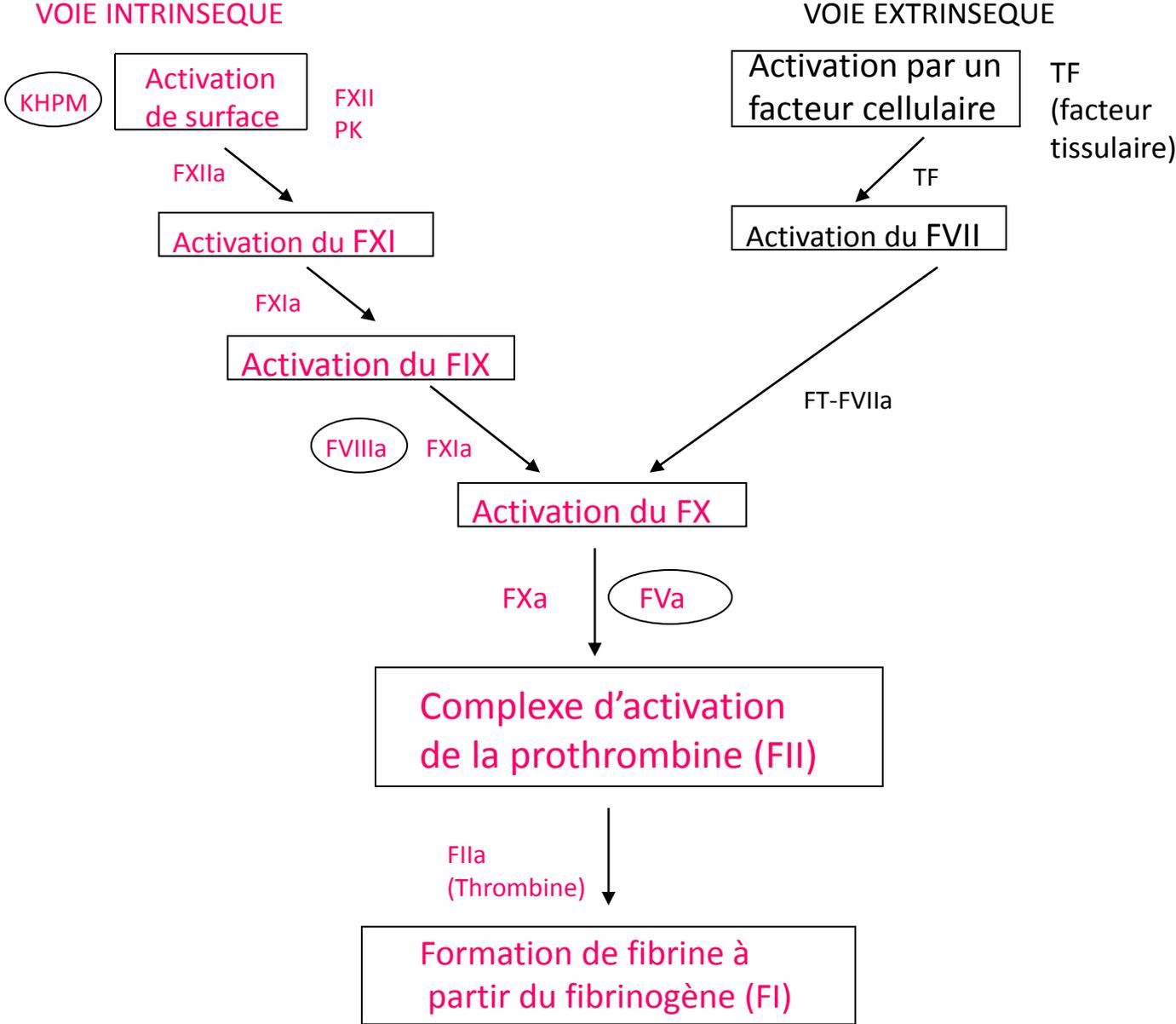
Biodisponibilité (voie s.-c.) est de 100%

Pic après injection s.-c. : entre 4 et 5 heures

$t_{1/2}$  de l'activité anti-FXa : 25 heures

Élimination rénale

# VOIES DE LA COAGULATION



# Contrôle des traitements à l'héparine non-fractionnée

## aPTT

- utilisable uniquement pour les héparines non fractionnées
- réponse très variable en fonction du réactif
- réponse inter-individuelle très variable
- interférence: déficiences en facteurs XII, XI, IX, VIII, X, V, (II)
- interférence: présence d'un lupus anticoagulant
- détermination de la fourchette thérapeutique: l'héparine ajoutée *in vitro* ne correspond pas à la réponse *in vivo*
- si injection sous-cutanée: faire le prélèvement 4-6h après l'injection

# Céphaloplastines commerciales: la grande diversité

## Différents activateurs de surface

- solubles : acide ellagique, sulfatides
- particulaires: kaolin, microsilice

## Origine des phospholipides

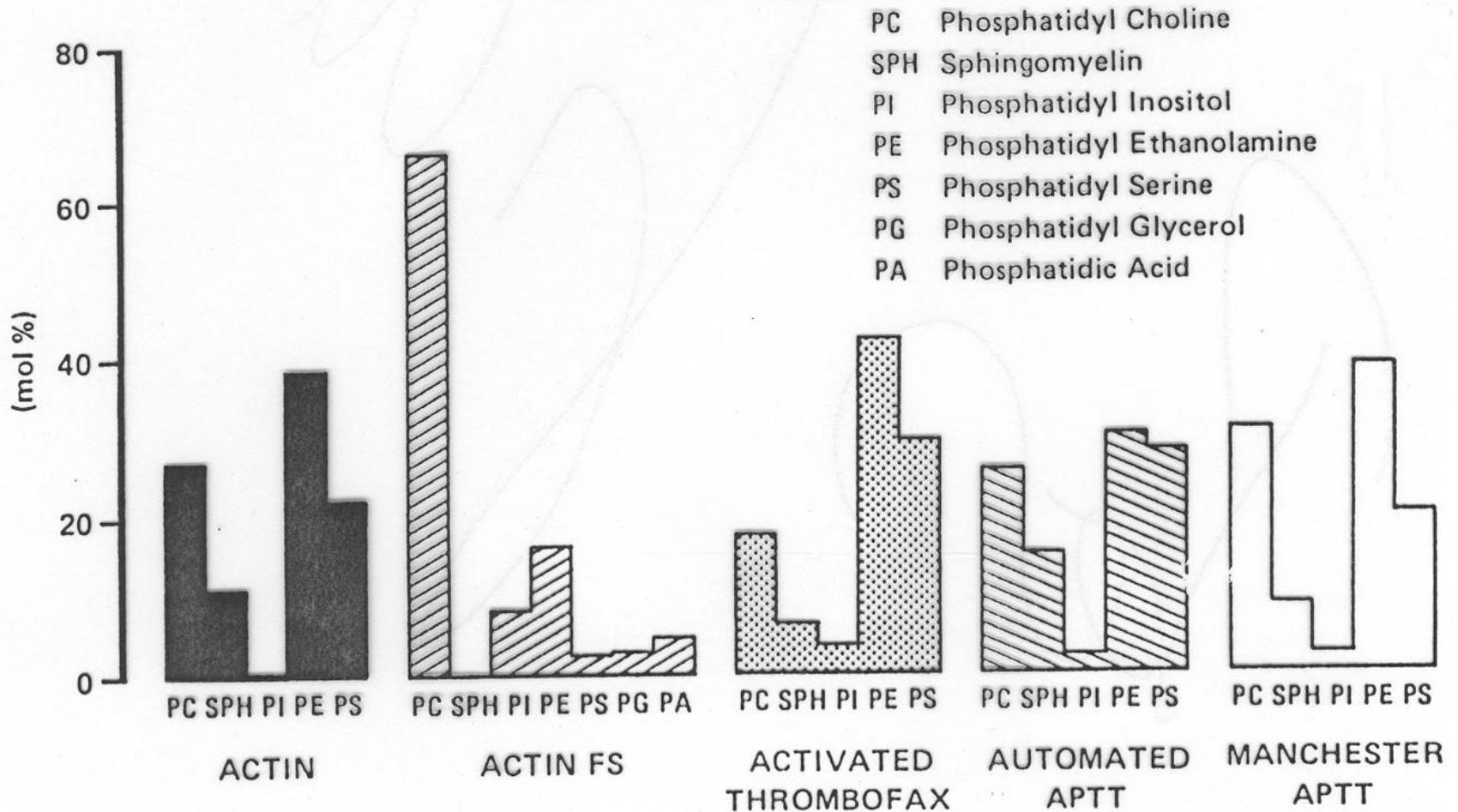
- cerveau animal (lapin)
- plantes (soja)
- synthétiques

Composition relative en PL et concentration finale en PL dans le réactif très variable!

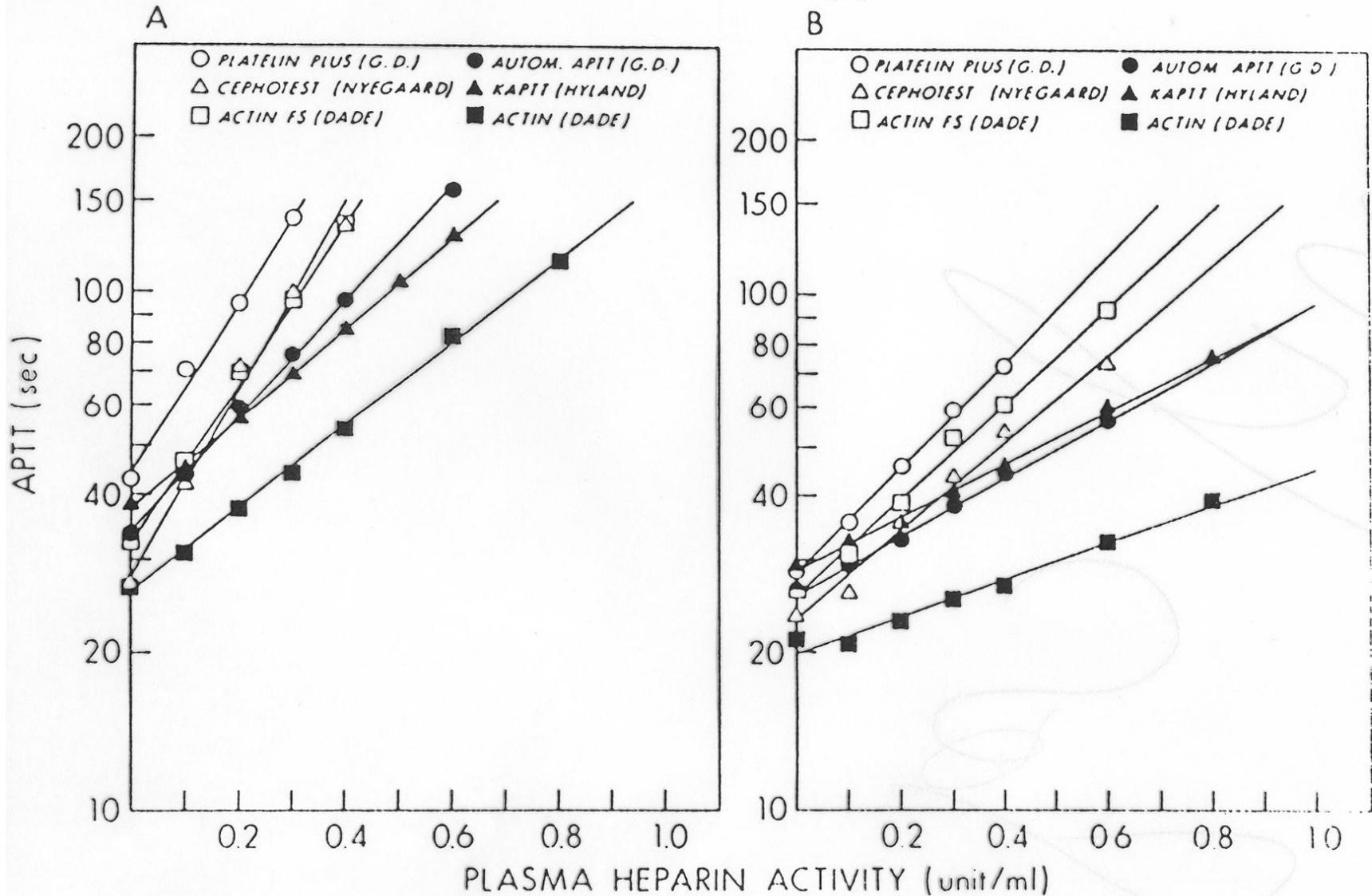


Intervalle de référence, sensibilité aux déficiences en facteurs et à la présence d'héparine et de LA très différents

# Composition en PL de quelques céphaloplastines commerciales



# Sensibilité de différentes céphaloplastines commerciales à l'héparine



# Intervalle thérapeutique : à propos de dogmes...

Basu D, Gallus A, Hirsh J, Cade J. A prospective study of the value of monitoring heparin treatment with the activated partial thromboplastin time. N Engl J Med. 1972 ;287(7):324-7.

534

BRANDT AND TRIPLET

Table 5. Calculated Heparin Concentration for a Therapeutic APTT Range of 1.5–2.5 Times Upper Limit of Normal

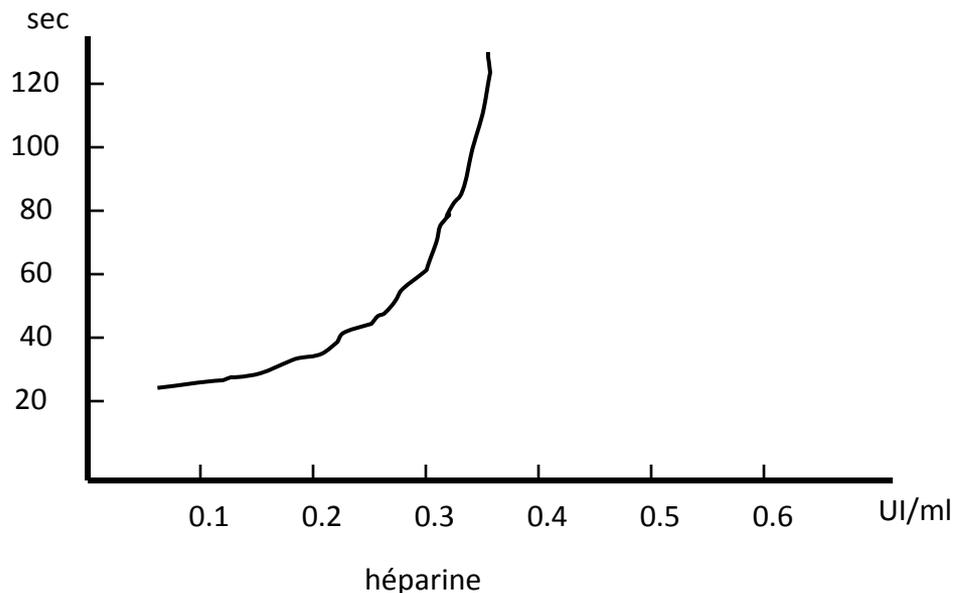
Reagent	Calculated Heparin Concentration
A	0.33–0.57 U/ml
B	0.49–0.82 U/ml
C	0.70–1.26 U/ml

## aPTT

- si allongement trop important par rapport à la dose administrée: neutraliser l'héparine dans l'échantillon et refaire un aPTT (Hepzyme, Ecteola, polybrène)
- très peu sensible pour les doses à visée prophylactique

# Les temps de thrombine pour le monitoring des traitements à l'héparine non-fractionnée

- éminemment helvético-suisse !
- autant de combinaisons qu'il y a de labos.....
- la problématique: une seule concentration de thrombine ne suffit pas à couvrir la fourchette thérapeutique



## Temps de thrombine-héparine: technique locale (Genève)

- deux concentrations de thrombine:

- basse ( $\sim 3$  U/ml) pour obtenir un temps de coagulation entre 25-35 sec pour 0.2 U/ml d'héparine ajoutée *in vitro*

- haute ( $\sim 6$  U/ml) pour obtenir un temps de coagulation entre 25-35 sec pour 0.5 U/ml d'héparine ajoutée *in vitro*

- interprétation:

si basse < 25 sec: < 0.2 U/ml

si haute < 25 sec: < 0.5 U/ml

si basse 25-35 sec:  $\sim 0.2$  U/ml

si haute 25-35 sec:  $\sim 0.5$  U/ml

si basse > 35 sec: > 0.2 U/ml

si haute > 35 sec: > 0.5 U/ml

- pour les concentrations < 0.1 U/ml le temps de thrombine convient

# **Complication des traitements à l'héparine :**

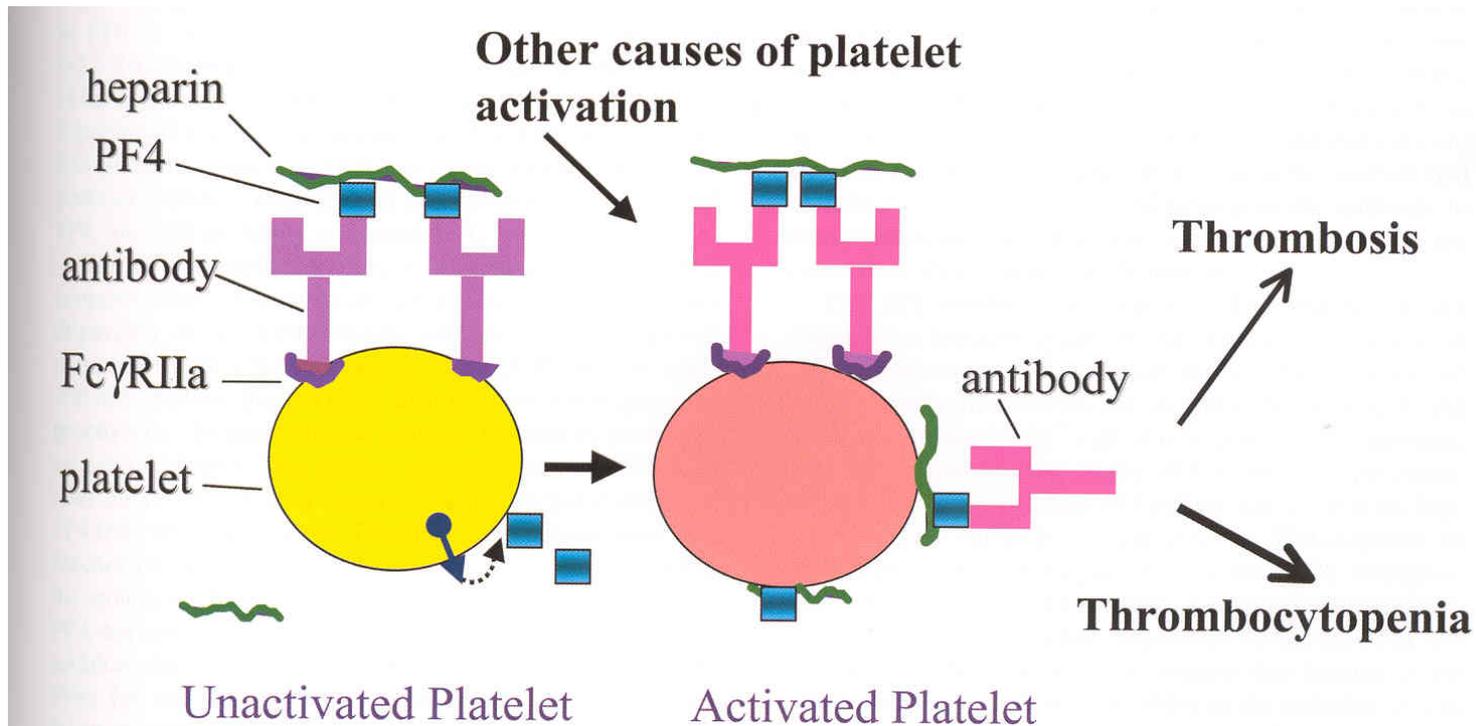
## **Thrombocytopénie induite par l'héparine (TIH)**

- chez ~ 1 à 3% des patients sous HNF
- chez 0.1 à 0.5% des patients sous HBPM
- quelle que soit la posologie
- chute du compte plaquettaire (<100 G/L) 5-15 jours après début du traitement
- thromboses veineuses ou artérielles

**ARRET IMMEDIAT DE L'HEPARINE**

**Orgaran<sup>®</sup> , hirudine(s), argatroban ou fondaparinux**

# Mécanisme d'action des anticorps



**Figure 39-2.** Antibody-PF4-heparin-platelet interaction. Binding of heparin-IgG-PF4 complex to platelet FcγRIIIa receptors leads to platelet activation and an increase in PF4-heparin complexes on the activated platelet surface. HIT antibodies then bind to PF4-heparin complexes on the platelet surface via their F<sub>ab</sub> domain. This process ultimately results in thrombocytopenia and thrombosis.

## TIH : tests de dépistage

Destinés à confirmer le diagnostic

- ELISA ou agglutination: complexes héparine – PF4
- aggrégation plaquettaire
- relargage de  $^{14}\text{C}$ -sérotonine
- mesure de l'ATP relargué

**Quel(s) type(s) de test choisir pour  
suivre les traitements anticoagulants?**

**A chacun sa philosophie ... !!!!**

# Types de tests

## 1. Tests « globaux » : explorent les cascades ou ses composants

- TP, aPTT, KCT, TGT, TEG, facteurs

## 2. Tests limités à un niveau limité de cascades

- TT, reptilase, ECT, PiCT, DRVVT

## 3. Tests indépendants des composants des cascades

- chromogènes : anti-FXa, anti-FIIa, AT, AP
- immunologiques : facteurs, inhibiteurs, produits d'activation ou de dégradation

# Avantages et désavantages des tests pour la surveillance des traitements

## 1. Tests « globaux », ex : aPTT

- vision plus étendue sur l'effet
- ↗ si déficience(s) (FXII vs FVIII), si LA
- ↘ grossesse, activation de la coagulation, etc.
- pas de standardisation : différences entre réactifs

## 2. Tests limités à un niveau limité de cascades (p. ex. ECT)

- insensible aux déficiences amont
- ↗ si FII < 25%, si PIVKA

## **Avantages et désavantages des tests pour la surveillance des traitements (II)**

### **3. Tests indépendants des composants des cascades**

- mesurent une « concentration » du médicament à travers son activité
- pas d'interférence des autres composants présents dans l'échantillon
- anticoagulants : ne donnent aucune indication sur son effet

**1. Tests « globaux »**

**2. Tests limités à un niveau des cascades**

**3. Tests indépendants des composants des cascades**

## TP, INR et melagatran

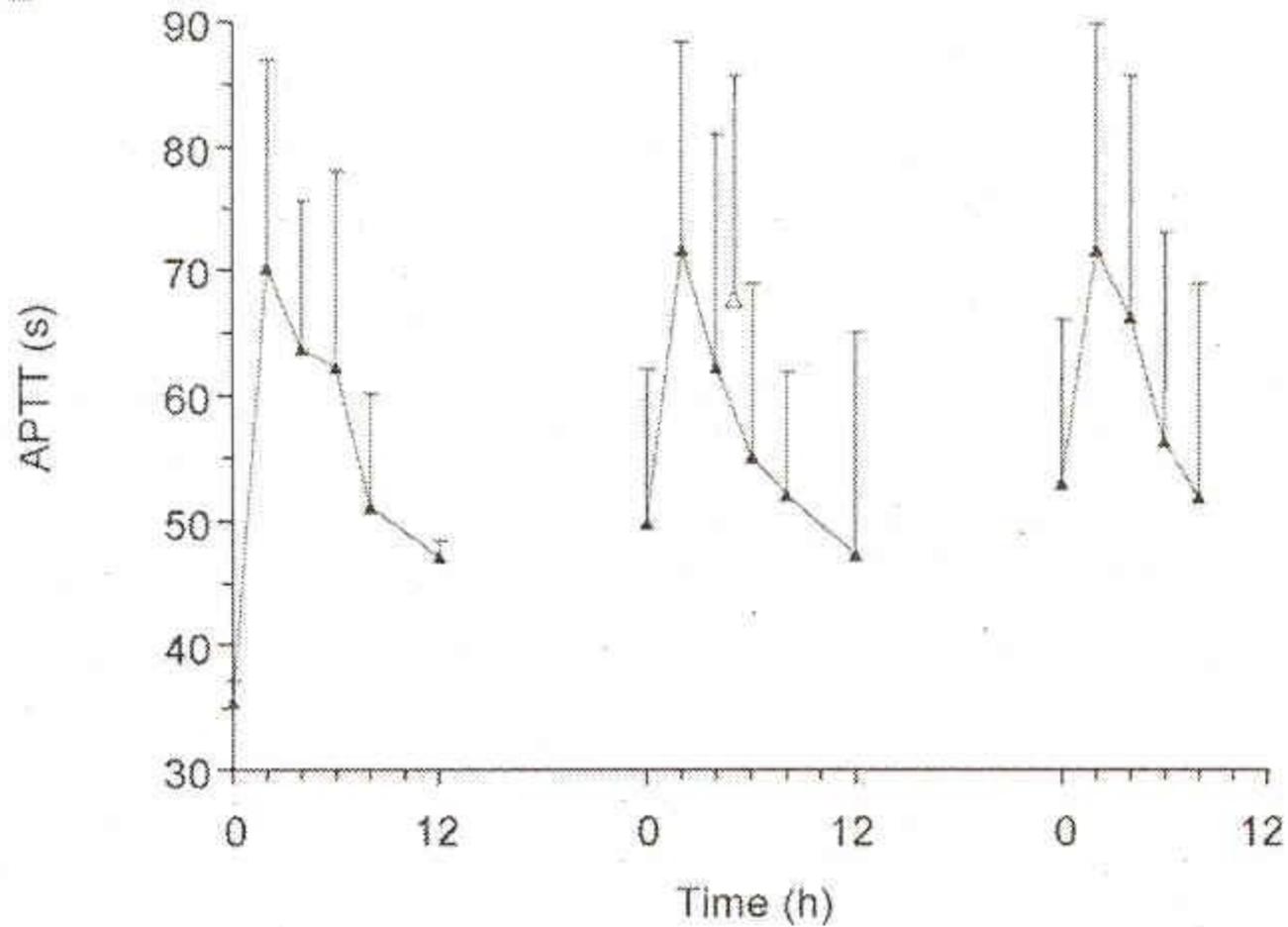
Trade name	ISI	Type/source	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{mol/L}$ )	INR at IC <sub>50</sub>	Cp mela at INR 2
------------	-----	-------------	---	----------------------------	---------------------

### Quick reagents (plain thromboplastins)

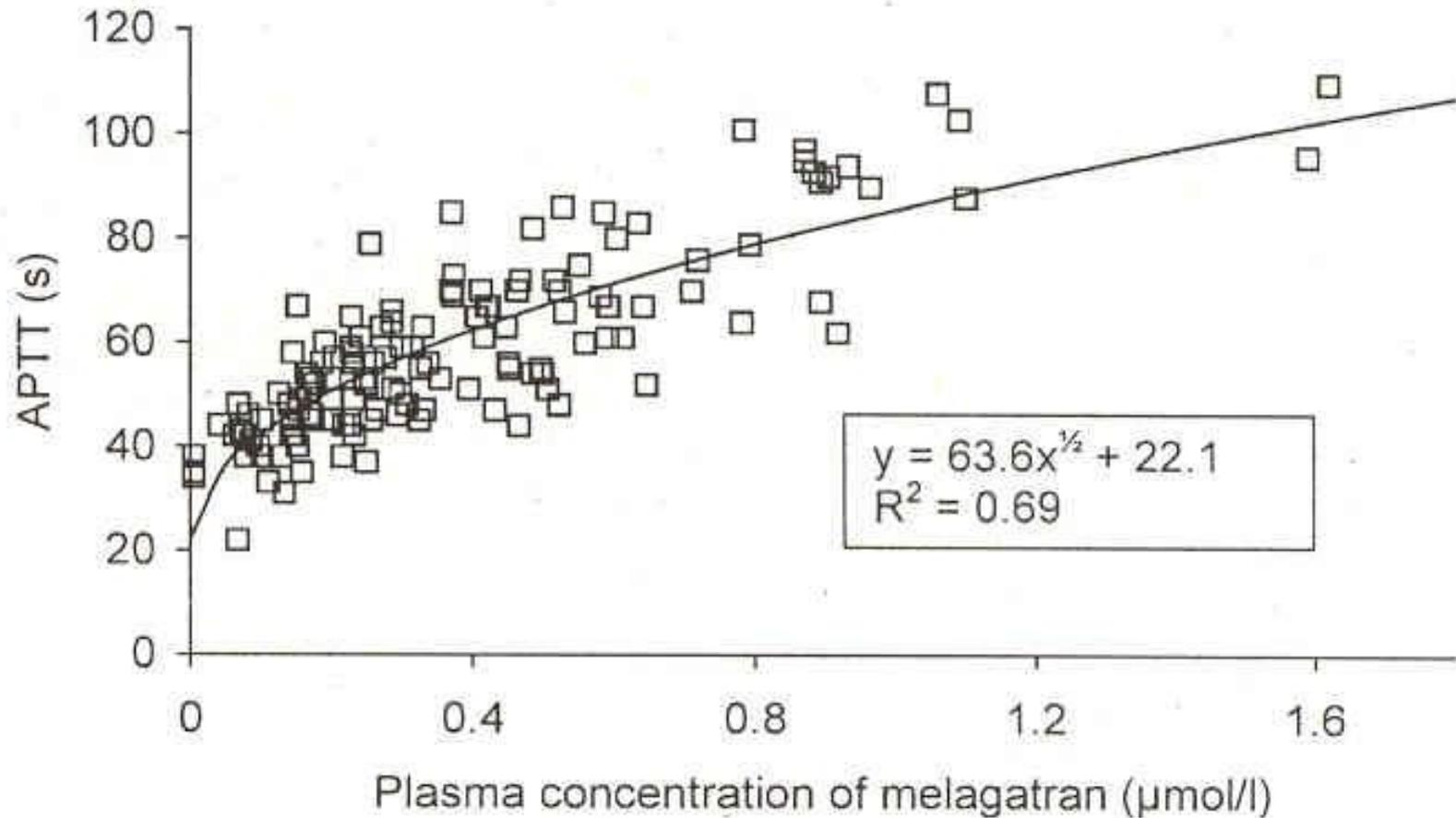
Innovin (Dade Behring)	0.93	r-human TF ##	1.07±0.06	1.9	1.14±0.06
Isimat (Bio Merieux)	1.0	Human placenta	1.32±0.11	2.1	1.16±0.10
Thromborel R (Dade Behring)	1.05	r-human TF #	1.10±0.11	2.1	1.03±0.10
Thromborel S (Dade Behring)	1.08	Human placenta	1.38±0.21	2.1	1.19±0.20
Thromboplastin-S (Biopool)	1.1	Rabbit brain	0.87±0.01	2.1	0.78±0.01
Thromboplastin-HS (Sigma)	1.22	Rabbit brain	0.89±0.10	2.3	0.75±0.10
Neoplastine C1 Plus (Stago)	1.29	Rabbit brain	1.14±0.04	2.4	0.89±0.13
Simplastin Excel S (Organon Teknika)	1.31	Rabbit brain	1.08±0.08	2.5	0.84±0.08
Neoplastine C1 5 (Stago)	1.73	Rabbit brain	1.27±0.07	3.3	0.68±0.12
Thromboplastin (Biopool)	1.8	Rabbit brain	1.18±0.06	3.8	0.55±0.04
Thrombomat (BioMerieux)	1.9	Rabbit brain	1.37±0.02	3.7	0.59±0.02
ThromboMAX (Sigma)	1.91	Rabbit brain	1.12±0.02	3.8	0.55±0.03
Simplastin Excel (Organon Teknika)	2.15	Rabbit brain	1.69±0.12	4.4	0.58±0.13

# aPTT après 48 mg de ximelagatran pour ttt TVP (n=12)

B



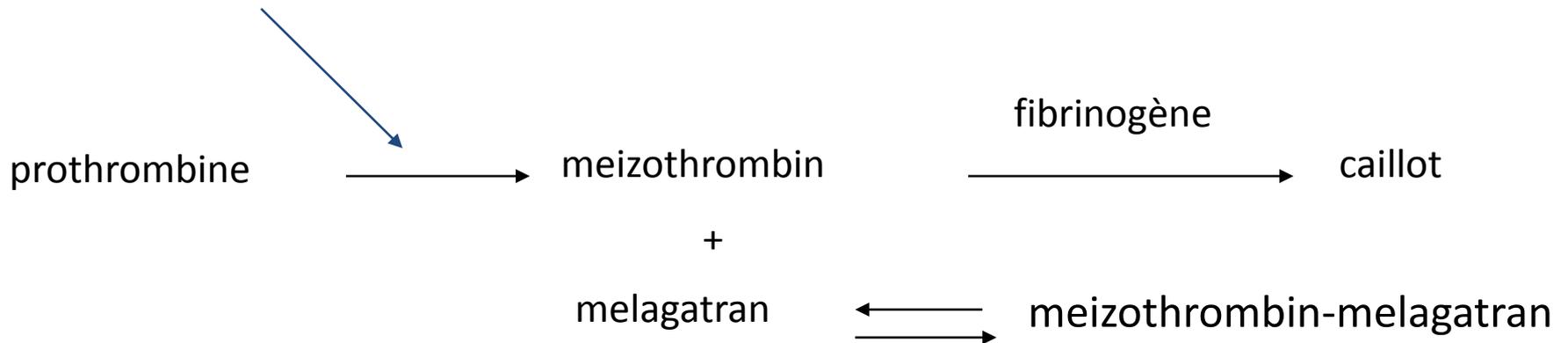
## aPTT versus la concentration de melagatran plasmatique



1. Tests « globaux »
2. Tests limités à un niveau des cascades
3. Tests indépendants des composants des cascades

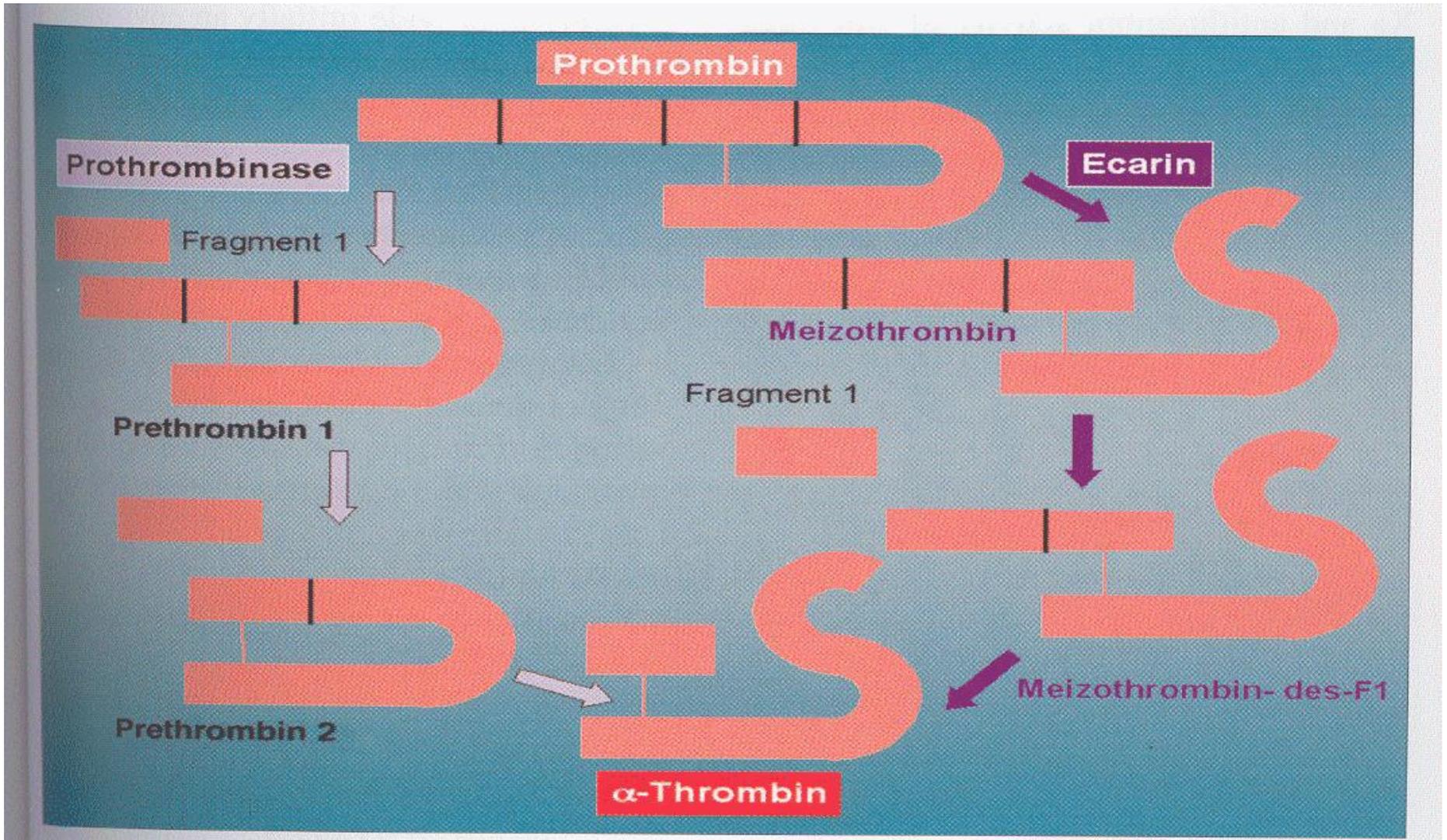
## ECARIN CLOTTING TIME (ECT)

- protéase extraîte du venin de l'Echis carinatus

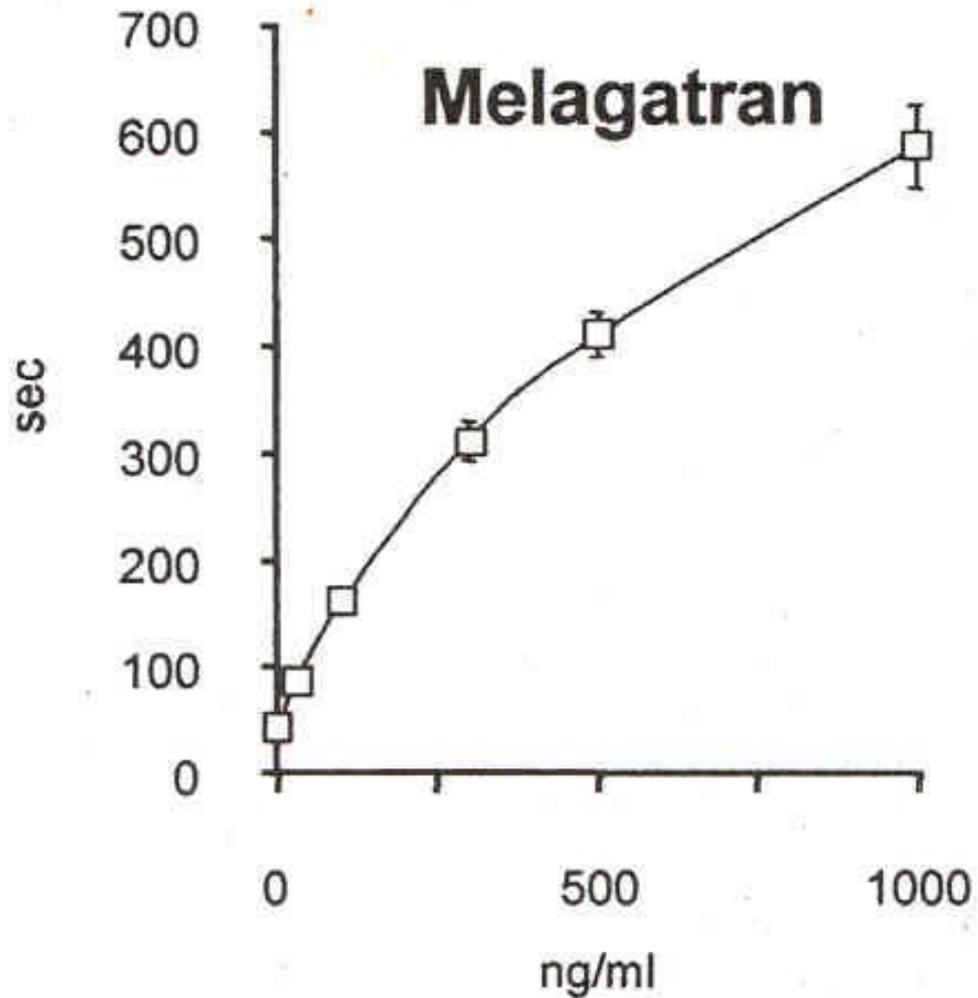


- ne nécessite pas de FVa, de PL, de Ca<sup>++</sup>
- insensible aux héparines et aux LA
- insensible à: FII > 25%, fib > 0.8 g/L, AVK (si pas d'autres anticoagulants)

# Formation d' $\alpha$ -thrombine par la prothrombinase et l'écarine

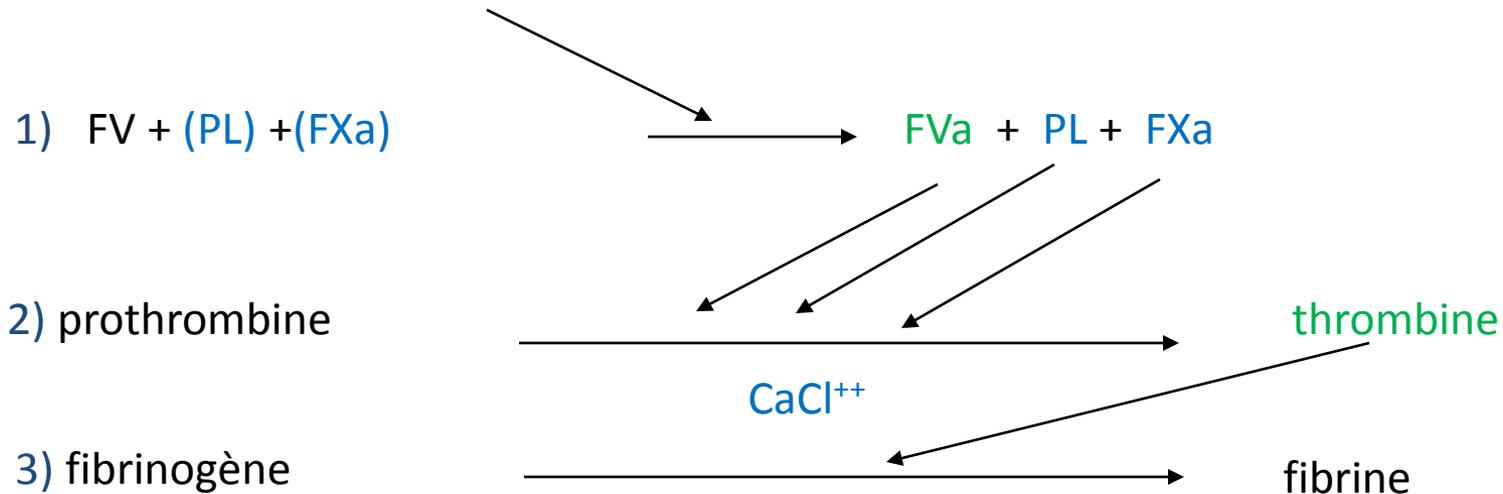


## Prolongation de l'ECT par le mélagatran



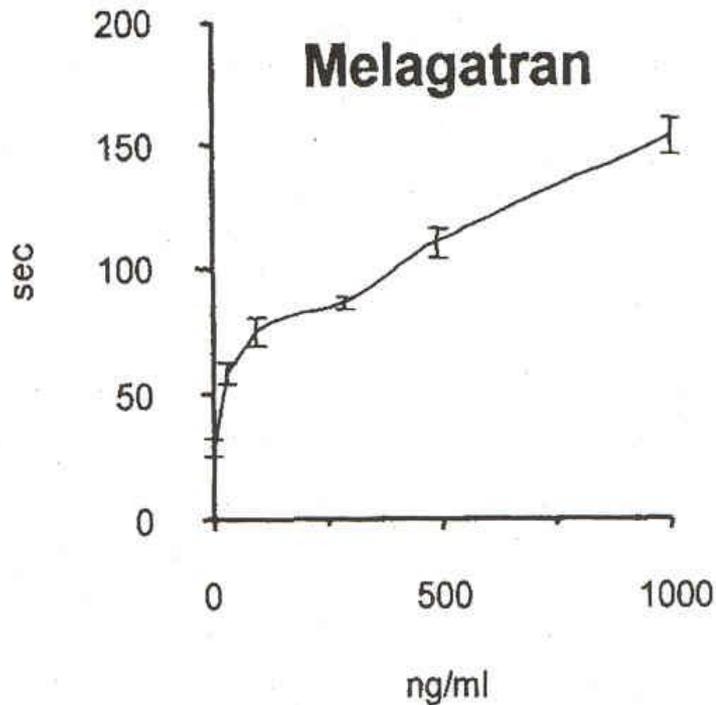
# Prothrombinase Based Clotting Time (PiCT)

protéase extraite du venin de la vipère de Russel

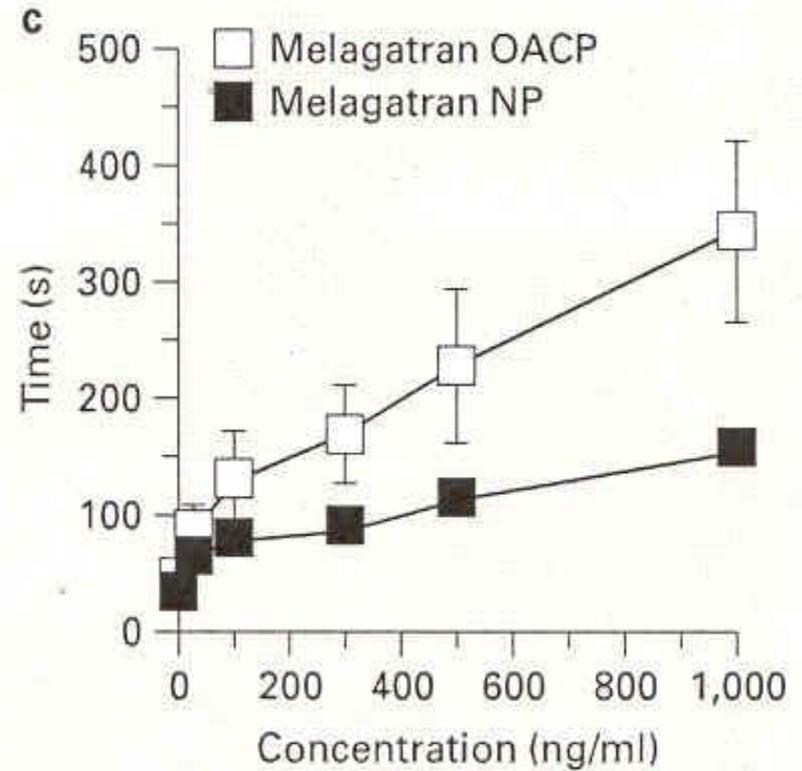


- surveillance des héparines (UFH, LMWH), fondaparinux
- surveillance des DTI (melagatran, hirudines, dabigatran, argatroban)
- surveillance des inhibiteurs directs du facteur Xa
- sensible aux AVK
- concentrations limites de FV et de prothrombine ?

# Prolongation du PiCT par le mélagatran



n

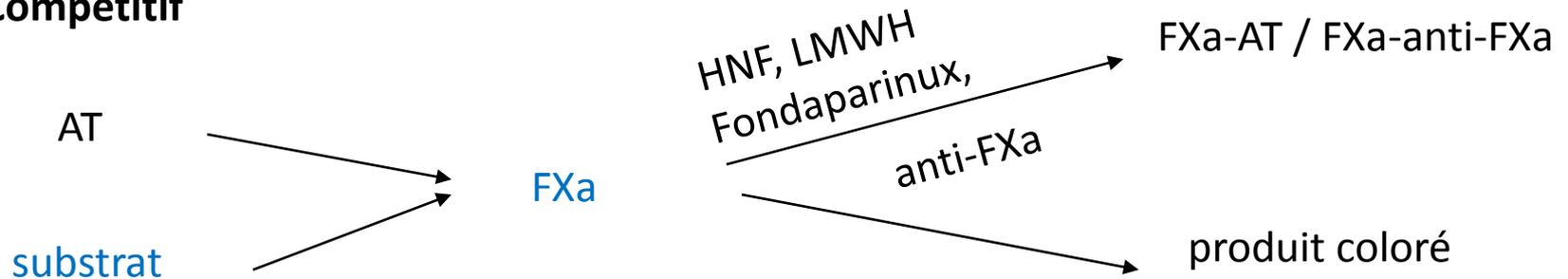


1. Tests « globaux »
2. Tests limités à un niveau des cascades
3. Tests indépendants des composants des cascades

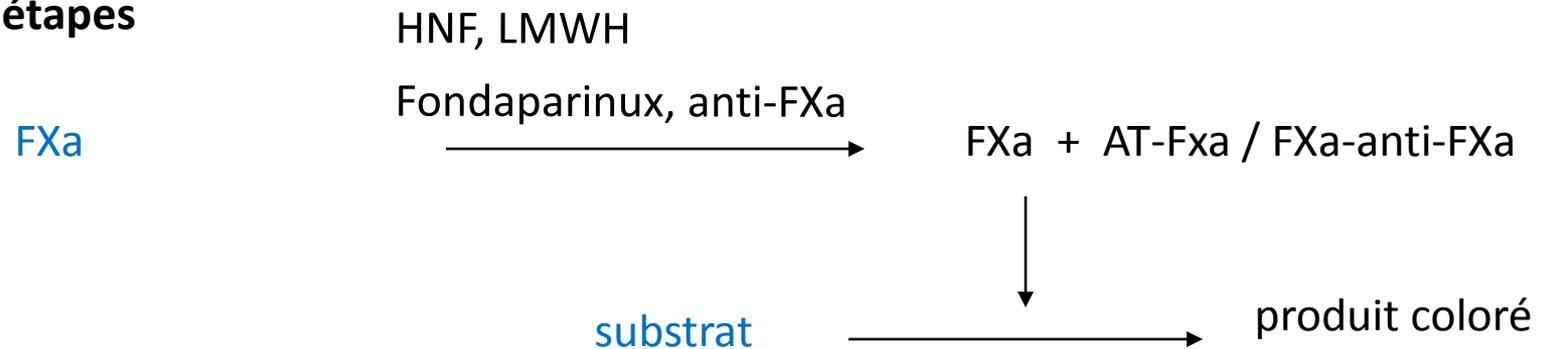
# Les tests utilisant des substrats chromogènes

FXa ou thrombine + substrat chromogène correspondant + (AT)

## Compétitif



## 2 étapes

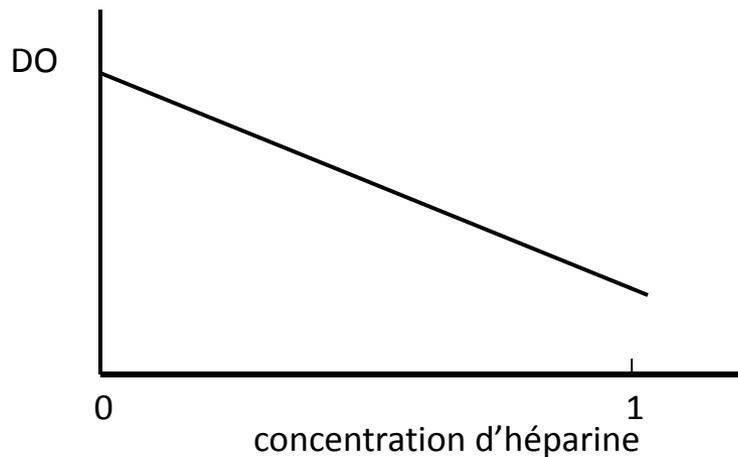
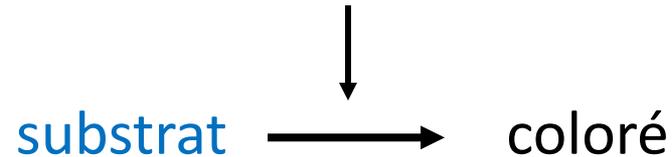


## RESUME

1. Les tests globaux (PT et aPTT) ne conviennent pas pour la surveillance des tttts par les LMWH, le fondaparinux , les anticoagulants directs de la thrombine ou du facteur Xa
2. Les tests basés sur une étape (ECT, PiCT, TT) sont utilisables mais comportent des limitations.
3. Les tests chromogènes sont bien adaptés au dosage des HNF, des LMWH, du fondaparinux ainsi que des inhibiteurs directs de la thrombine (hirudines, argatroban, dabigatran) et du facteur Xa (rivaroxaban, epixaban)

# Activité anti-Facteur Xa

- permet de mesurer l'activité des héparines non-fractionnées, des héparines de faible masse moléculaire (HBPM), le fondaparinux et le danaparoiide (Orgaran®)
- des calibrations différentes pour chaque type de composé



## DOSAGE DES HIRUDINES ET DE L'ARGATROBAN

Les hirudines (bivalhirudine et lepirudine) ainsi que l'argatroban inhibent **exclusivement** et **directement** (pas d'AT) la thrombine

Les deux inhibiteurs sont administrés par **voie parentérale**

- aPTT : à éviter
- temps de thrombine modifié
- temps d'écarine
- **anti-thrombine chromogène**

# **NOUVEAUX ANTICOAGULANTS ORAUX**

# Les « anciens » anticoagulants

---

## ▪ Héparine non-fractionnée UFH : non-spécifique

Index thérapeutique étroit et variabilité +++ → monitoring +++

Risque de thrombopénie induite → compte plaquettaire

IV ou 2-3 sc/jour

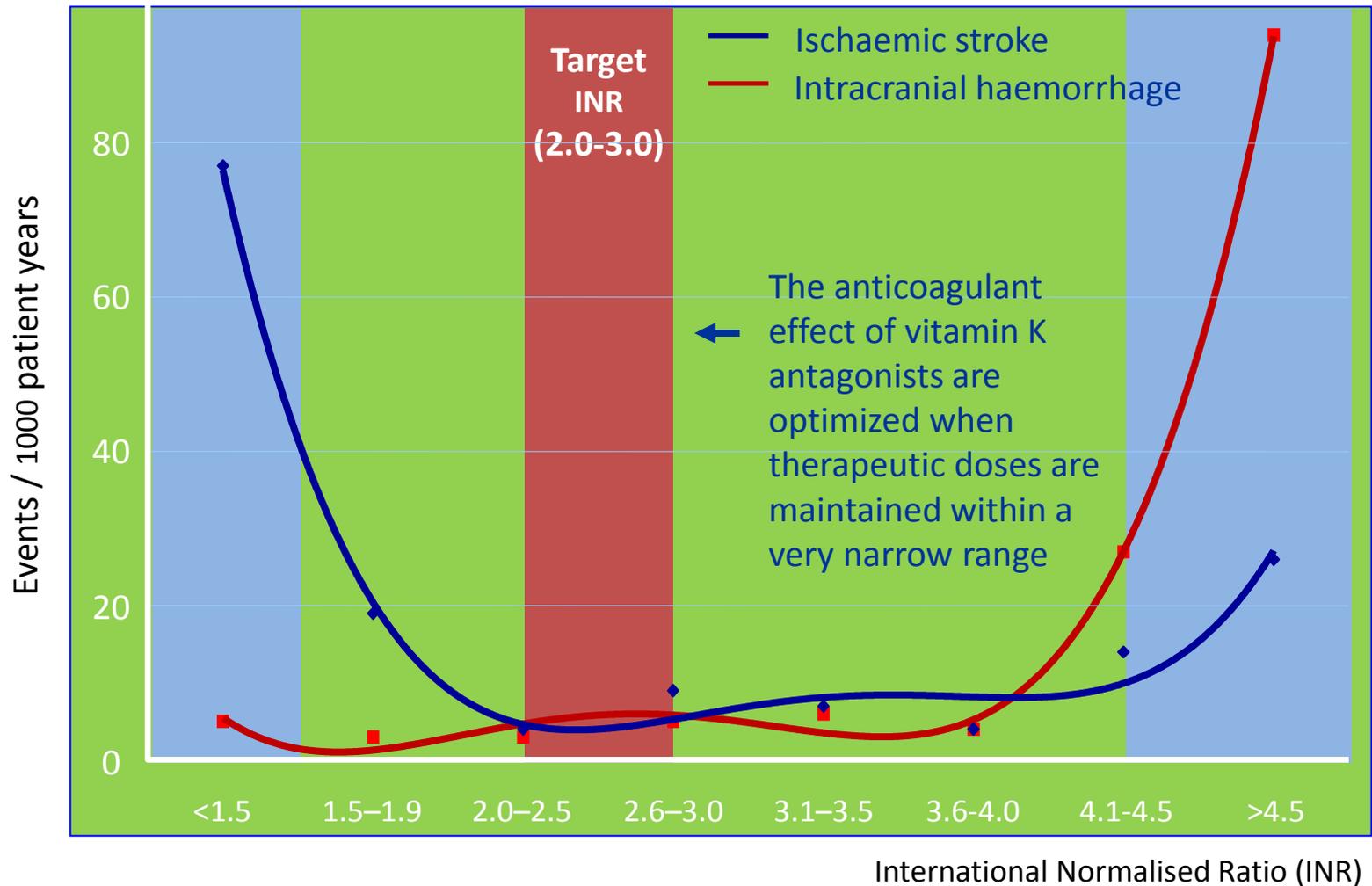
## ▪ Antagonistes de la vitamine K : non-spécifiques

Index thérapeutique étroit et variabilité +++ → monitoring +++

po mais métabolisme hépatique + liaison aux prot. → interactions +++

→ Nécessité pour une meilleure efficacité/sécurité/  
commodité d'emploi

# VKA – Narrow therapeutic window



# Le « pipeline » des nouveaux antithrombotiques

## Anticoagulants

- 1 Idraparinux (S-A)
- 2 Dabigatran etexilate (BI)
- 3 ART-123
- 4 Tifacogin
- 6 SR-123781
- 7 AZD-0837
- 8 MCC-977
- 9 SSR-182289
- 10 TGN-255
- 11 Odiparcil
- 12 TTP-889
- 13 rNAPc2
- 14 YM-150
- 15 DX-9065a
- 16 Rivaroxaban (Bayer-JJ)
- 17 XRP-0673 (otamixaban)
- 18 Apixaban (BMS-Pfizer)
- 19 LY-517717
- 20 DU-176b
- 21 TGN-167
- 22 AVE-5026
- 23 SCH-530348
- 24 KFA-1982
- 25 EMD-503962
- 26 SSR-126517
- 27 Oral heparins
- 28 ARC-183

## Anticoagulants

## Thrombolytiques

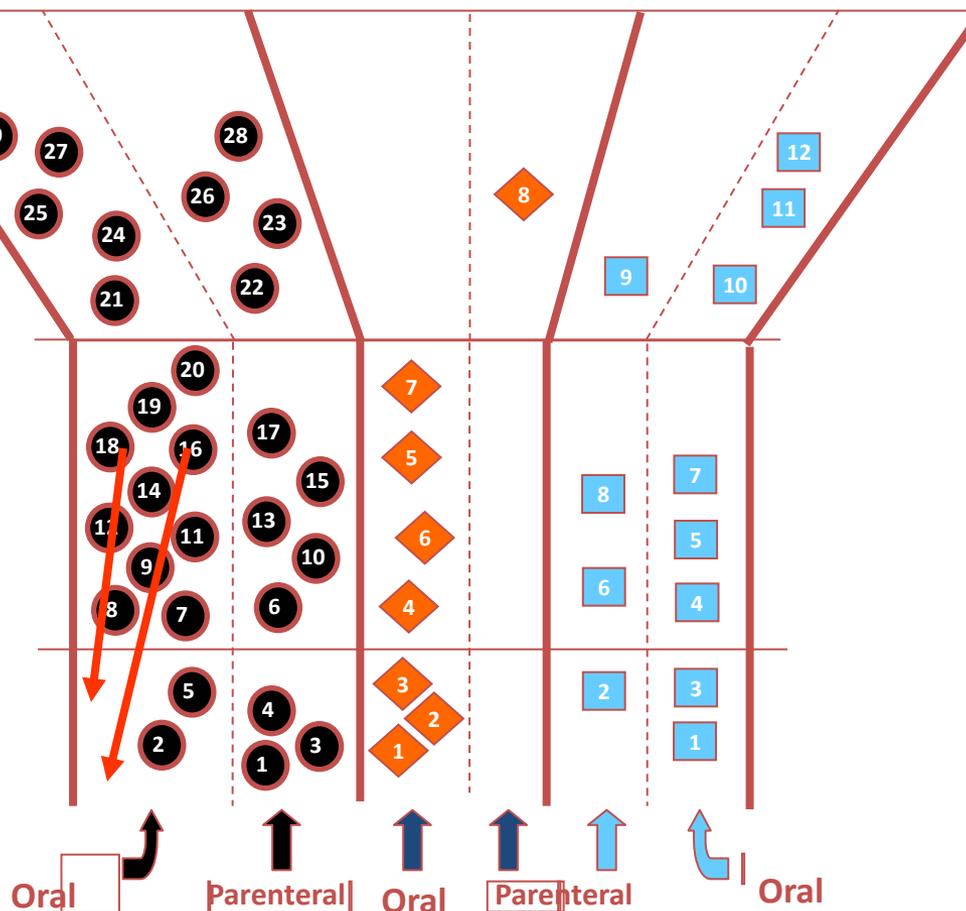
## Antiplaquettaires

## Antiplatelets

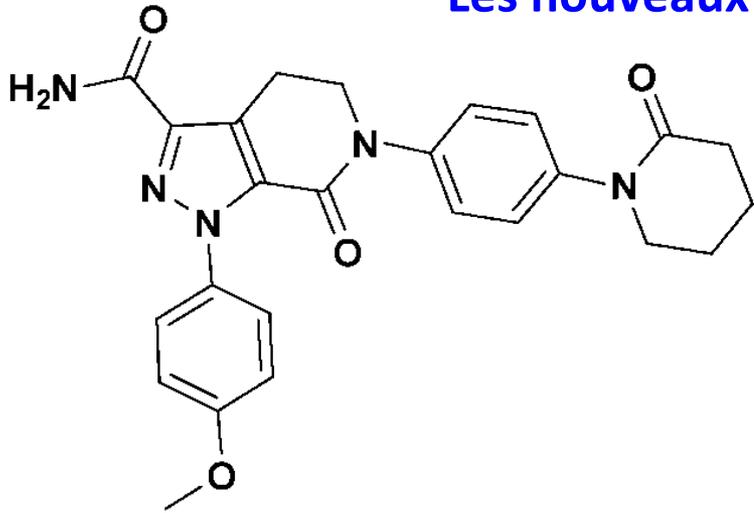
- 1 Prasugrel (CS-747)
- 2 Ecraprost
- 3 S-18886
- 4 NCX-4016
- 5 AZD-6140
- 6 Cangrelor
- 7 NM-702
- 8 Liprostin
- 9 INS-50589
- 10 CLB-1309
- 11 Xemilofiban
- 12 SL-650472

## Thrombolytics

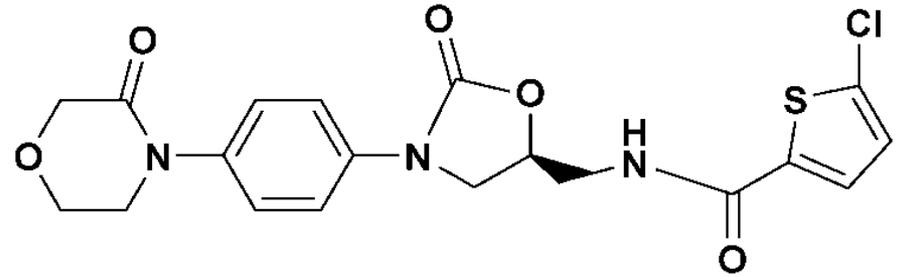
- 1 Amediplase
- 2 Alfimeprase
- 3 Desmoteplase
- 4 AZD-9684
- 5 V-10153
- 6 Microplasmin
- 7 HTU-PA (Hybrid-B PA)
- 8 PAI-749



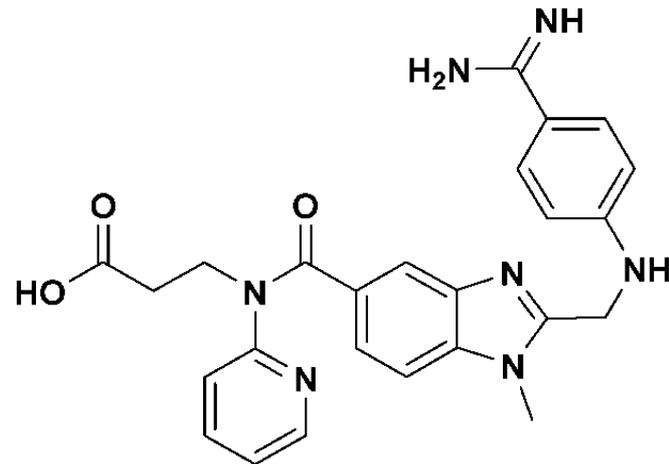
## Les nouveaux anticoagulants **oraux**



**Apixaban**



**Rivaroxaban**

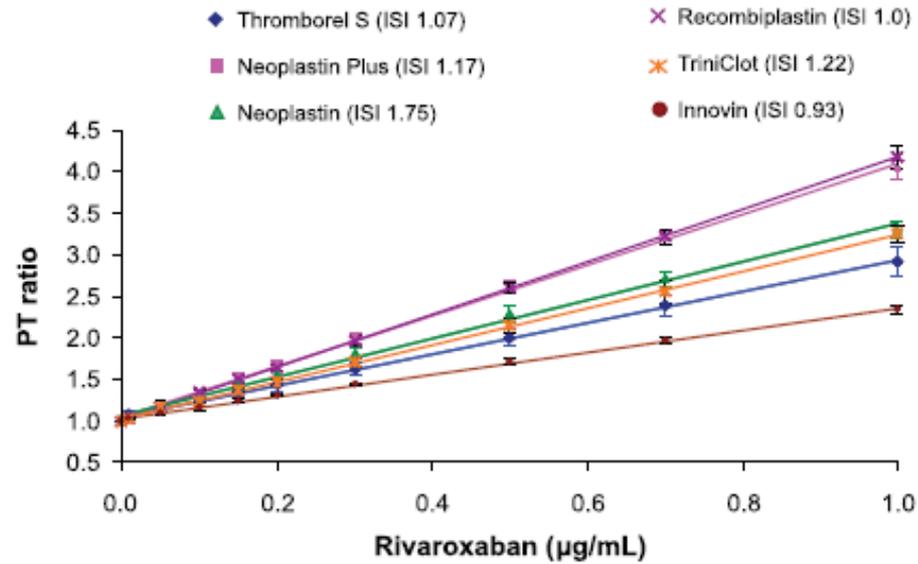


**Dabigatran**

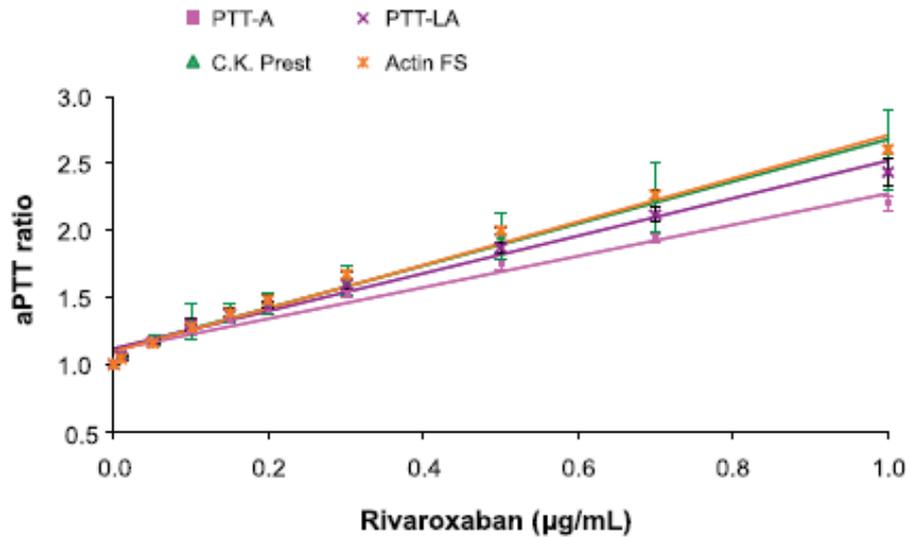
## Caractéristiques des nouveaux anticoagulants oraux

	<b>Rivaroxaban</b>	<b>Apixaban</b>	<b>Dabigatran</b>
Type	anti-FXa	anti-FXa	anti-IIa
Pro-comp.	non	non	oui
Adminstr.	orale	orale	orale
Biodisponibilité	80%	50 – 80%	60.5%
Mét. hépatique	CYP3A4	CYP3A4	3.5 – 5%
Excrétion rein	2/3 foie 1/3	rein ¼ foie ¾	rein 80%
Interactions méd. et nourriture	faible	faible	amiodarone chinidine
$t_{1/2}$	9h jeune 12 – 16h vieillard	12h	1 dose 7 – 9h doses multiples 15h
<b>Monitoring lab.</b>	<b>non</b>	<b>non</b>	<b>non</b>
<b>Antidote</b>	<b>non</b>	<b>non</b>	<b>non</b>

# Effet du rivaroxaban sur les tests « globaux »



A



A



# Dosage de ces nouveaux anticoagulants

Le monitoring du traitement n'est pas nécessaire

En cas de surdosage ou d'accumulation (insuffisance rénale ou hépatique) il faut pouvoir doser la concentration sanguine

Avant un geste invasif chez un patient qui a reçu un traitement

Test globaux : grande variation entre réactifs (INR rivaroxaban, INR dabigatran?)

Pour les anti-FXa directs: l'adaptation de l'activité anti-FXa chromogène est possible

Pour les anti-FIIa: temps de thrombine modifié, temps d'écarine, activité anti-thrombine chromogène (comme pour les hirudines)