



Référence document : Phy3

Rédigé par : Professeur Jean-François
ABGRALL

Indice
0

Page 1 de 1

Titre du document : **Physiologie de la fibrinolyse**

Physiologie de la fibrinolyse

Professeur Jean-François ABGRALL



Référence document : Phy3

Rédigé par : Professeur Jean-François
ABGRALL

Indice
0

Page 2 de 2

Titre du document : **Physiologie de la fibrinolyse**

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION

3

1. Introduction

La fibrinolyse est la dégradation de la fibrine

Deux sites de fibrinolyse

* Fibrinolyse sanguine :

- 1 cellulaire : 80-90% de l'activité
- 2 plasmatique : 20-30% de l'activité

* Fibrinolyse tissulaire :

- réparation tissulaire, lactation
- spermatogénèse
- implantation trophoblaste

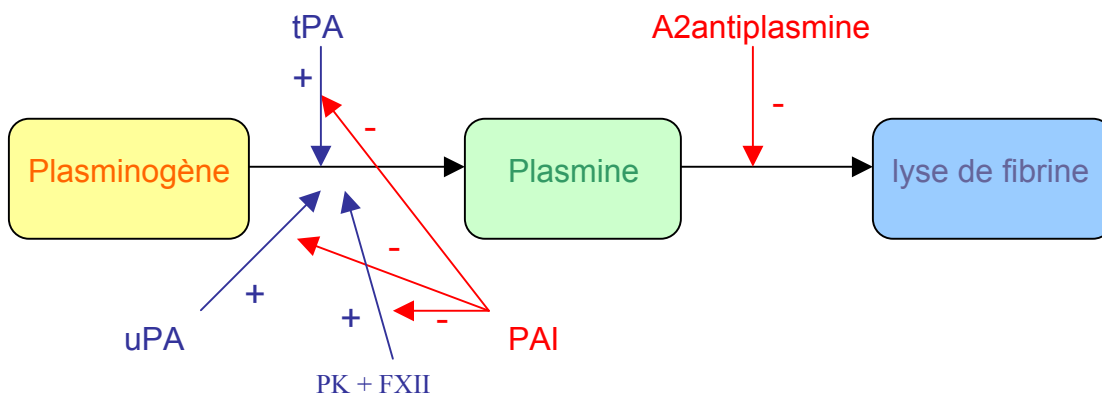
Deux sortes de fibrinolyse


- * dépendante de la plasmine
- * indépendante de la plasmine

Deux étapes :

- * transformation du plasminogène en plasmine
- * dégradation des substrats par la plasmine

2. Schéma de la Fibrinolyse



	Référence document : Phy3	Rédigé par : Professeur Jean-François ABGRALL	Indice 0	Page 4 de 4
Titre du document : Physiologie de la fibrinolyse				

3. La fibrinolyse plasmatique

a lieu à la surface de la fibrine

3.1. Plasminogène et plasmine

3.1.1. Plasminogène

précurseur inactif de la plasmine

GP simple chaîne, PM 92 000, 791 AA, 24 ponts S-S, en N terminal : 5 boucles de 80 AA, les kringles, forte affinité pour la lysine (LBS) = fixation à fibrine, a2-AP, à HRGP, à thrombospondine, à acide e-aminocaproïque.

plasma : 1,5-2 mM/l, augmente lors de infection, inflammation, grossesse.

Plg natif : acide glutamique en NH2 terminal ="Glu-Plg" converti en "Lys-plg" par protéolyse limitée, Lys, val, ou Méth en NH2 terminal puis Lys-Plg , et libération de peptides de 8 kDa. Lys-Plg a une affinité plus grande pour la fibrine que Glu-Plg, et une demi-vie plus courte (0,8 vs 2,5 j).

dans le plasma: hydrolyse directe de Glu-plg en plasmine

sur kringles 1,2 et 5 : LBS se lie à fibrine ou à cellule, l'affinité augmente quand la fibrine est dégradée.

3.1.2. Plasmine

sérine-protéase

Glu-Plg est hydrolysé en plasmine (Glu-plasmine) par clivage Arg561-Val562

2 chaînes réunies par ponts S-S, PM : 85 kDa,

- chaîne lourde A (60 kDa) porte les LBS
- chaîne légère B (26 kDa) porte le site actif His603,Asp646,Ser741

La Lys-plasmine ne semble pas exister in vivo.

La plasmine est liée à la fibrine, ce qui augmente son activité


La plasmine dégrade la fibrine, le fg, les facteurs V, VIII, vWF, XIIIa, éléments du complément, la matrice extracellulaire.

3.1.3. Récepteurs du Plasminogène

existent sur cellule endothéliale, globules blancs, plaquettes, hépatocytes

deux types de récepteurs :

- a-énolase
- gangliosides

	Référence document : Phy3	Rédigé par : Professeur Jean-François ABGRALL	Indice 0	Page 5 de 5
Titre du document : Physiologie de la fibrinolyse				

très forte densité > 107 sites par cellule

liaison inhibée par lysine et analogues de lysine (acide tranéxamique)

- gangliosides : lient directement Plg par LBS
- protéines avec lysine en C-terminale et une lysine en N-terminale (17 protéines humaines répondent à ces 2 conditions, dont l' a-énolase, protéine intracellulaire de la glycolyse exprimée à la surface.

3.2. Activateurs du plasminogène

3.2.1. t-PA

principalement synthétisé par la cellule endothéliale, produit aussi par cellule mésothéliale, MK, monocyte

gène : chromosome 8

70 pM/ml, demi-vie = 3-6 secondes, à 80 % lié à PAI-1

sérine-protéase, une chaîne, 527 AA, PM 70 kDa

deux formes également actives : sct-PA et tct-PA (protéolyse en Arg275-Ile276 par la plasmine, le Xa, ou la kallikréine)/p

4 domaines :

- domaine F : résidus 4 à 50 en NH₂-terminal, homologue du finger : domaine de fibronectine--> affinité pour fibrine et pour cellules
- domaine E : 50 à 87 , homologue EGF --> liaison sur cellules
- domaine K1: 87 à 176 ; K2 : 176 à 262 --> liaison à la fibrine
- domaine sérine-protéase : 276 à 527 , site actif His322,Asp371, Ser478

liaison à PAI-1 : finger, K2, et portion terminale

enzyme peu active en l'absence de fibrine, la liaison à la fibrine augmente l'activation du Plg (2 degrés de magnitude = 100 fois)

Le tPA est éliminé par le foie en quelques minutes (tPA/PAI-1 se lie au récepteur LRP/a₂-MR de l'hépatocyte).

La plasmine formée à la surface de la fibrine a ses LBS et son site actif occupés, donc est lentement inactivée par a₂-AP (demi-vie 10 à 100 sec).

La plasmine libre est inactivée en 0,1 sec par a₂-AP.


La plasmine digère la fibrine, ce qui augmente le nombre de sites lysine, donc augmente la fixation de Plg et l'action de la plasmine.

3.2.2. u-PA ou Urokinase

rôle secondaire dans la circulation, mais rôle important dans la matrice extracellulaire.

Scu-PA : PM 54 000, 411 AA, chromosome 10

hydrolyse limitée par plasmine ou kallikréine Lys158-Ile159 = tcu-PA ou urokinase

	Référence document : Phy3	Rédigé par : Professeur Jean-François ABGRALL	Indice 0	Page 6 de 6
Titre du document : Physiologie de la fibrinolyse				

- résidus 9 à 45 : région E, homologue de EGF --> récepteur cellulaire
- résidus 45 à 134 : kringle --> pas d'affinité pour la fibrine
- site catalytique : 159 à 411 , His204, Asp255, Ser356

scu-PA ne se lie pas à la fibrine

scu-PA a peu d'activité sur le plasminogène : rôle physiologique secondaire

L'urokinase (tcu-PA) : 40 pM dans le plasma, active Plg circulant et lié à la fibrine, elle lyse le fibrinogène et la fibrine. Le récepteur u-PAR est présent sur plusieurs cellules : endothéliale, monocytes, fibroblastes.

3.3. Inhibiteur de la plasmine

3.3.1. α 2-antiplasmine

simple chaîne, PM 70 000, 452 AA, 2 ponts S-S (serpine)

1 mMol/l, synthèse hépatique, action rapide sur la plasmine : se lie sur LBS1 et inhibe son site actif
Le résidu sérine de la plasmine clive l' α 2-AP en Arg 354- Met 355

Le peptide de 11 000 daltons reste accroché au LBS de la plasmine

forme un complexe 1:1 avec plasmine

3.3.2. α 2-macroglobuline

glycoprotéine, PM 750 000, 4 chaînes identiques de 160 000

3.3.3. C1-inhibiteur

serpine, PM 105 000, 478 aa

inhibe fibrinolyse dépendant du système contact.

3.3.4. glycoprotéine riche en histidine (HRG)

glycoprotéine, 75 000 daltons, 507 aa

forme un complexe réversible avec 50 % du Plg (LBS1)


3.4. Inhibiteur des activateurs du plasminogène

3.4.1. PAI-1

serpine, simple chaîne, PM 52 000, 379 aa

inhibe t-PA (1 et 2 chaînes), affinité égale pour t-PA mono ou bicaténaire et pour urokinase

inhibe tcu-PA, mais pas Scu-PA

	Référence document : Phy3	Rédigé par : Professeur Jean-François ABGRALL	Indice 0	Page 7 de 7
Titre du document : Physiologie de la fibrinolyse				

forme un complexe inactif réversible, puis irréversible
taux plasmatique variable 1-100 ng/ml (200 pM), plus élevés le matin
stabilisé dans le plasma par liaison à protéine S ou vitronectine
taux augmente pendant la grossesse et lors de insulinorésistance

3.4.2. PAI-2

serpine, PM 47-60 kD, 415 AA
inhibe u-PA et t-PA double chaîne, 10 et 50 fois plus lent que PAI-1 respectivement
pauvre inhibiteur de t-PA simple chaîne
n'inhibe sans doute pas t-PA in vivo
présent dans monocytes, macrophages, plasma de femme enceinte, salive, fibroblastes, et cellule endothéliale stimulée
u-PA liée à son récepteur cellulaire est inhibée par PAI-1 et PAI-2

gène : 18q21.3 , à 600 kbp du gène de bcl-2 (rôle dans apoptose ?)

existe à taux faible dans plasma, augmente pendant la grossesse (< 5 ng/ml jusqu'à 250 ng/ml en fin de grossesse)
rôle physiologique ?

thrombine augmente synthèse de PAI-2 et PAI-1 par les monocytes
Protéines du système fibrinolytique dans les thrombi

(LA Robbie Thromb.Haemost. 1996)

- 30 fois plus de PAI-1 que dans plasma
- beaucoup d' a2-AP (même concentration que dans plasma)
- peu de t-PA

les taux de PAI-1 sont dus aux plaquettes

4. Fibrinolyse cellulaire dépendante de la plasmine


La plupart des cellules lient le plasminogène avec une haute capacité et une faible affinité ($K_d = 1 \text{ mM}$), et reconnaissent les LBS du plasminogène.

Les gangliosides sont aussi des sites de liaison du Plg à la membrane cellulaire.

Les résidus lysine membranaires sont des sites de liaison aux LBS du Plg.

4.1. Analogie entre cellules et fibrine

- 1 sites de liaison du Plg
- 2 augmentation de l'efficacité d'action du Plg
- 3 rôle des lysines
- 4 protection de plasmine fixée de la dégradation par a2-AP

	Référence document : Phy3	Rédigé par : Professeur Jean-François ABGRALL	Indice 0	Page 8 de 8
Titre du document : Physiologie de la fibrinolyse				

Les cellules impliquées : plaquettes, monocytes, PN, lymphocytes B et T, cellules endothéliales, hépatocytes.

4.2. Récepteurs du Plg

existent sur cellule endothéliale, globules blancs, plaquettes, hépatocytes

deux types de récepteurs :

- a-énolase
- gangliosides

très forte densité > 10^7 sites par cellule

liaison inhibée par lysine et analogues de lysine (acide tranéxamique)

* gangliosides : lient directement Plg par LBS

* protéines avec lysine en C-terminale et une lysine en N-terminale (17 protéines humaines répondent à ces 2 conditions, dont l' a-énolase, protéine intracellulaire de la glycolyse exprimée à la surface.

4.3. Récepteurs du t-PA

t-PA est localisée dans les vaisseaux

mécanisme de régulation : clearance des PA de la circulation par endocytose

t-PA : rôle confiné à la fibrinolyse

4.3.1. récepteurs PAI-1 dépendants

50% du t-PA est sous forme de complexe avec PAI-1 chez l'homme

clearance hépatique du t-PA : 5 mn

rôle du finger domaine de t-PA, et des domaines EGF

LRP (LDL Related protéine) est un récepteur hépatique pour les complexes t-PA-PAI-1 --> endocytose et dégradation du t-PA

4.3.2. récepteurs PAI-1 indépendants sur les hépatocytes

liaison de t-PA libre --> endocytose et dégradation de t-PA


ce récepteur : LRP

4.3.3. Monocytes

ont des récepteurs pour Plg et u-PA

et pour t-PA : $0,17 \times 10^6$ R par cellule, non dépendant de PAI-1

sécrètent t-PA : saturation autocrine des récepteurs

	Référence document : Phy3	Rédigé par : Professeur Jean-François ABGRALL	Indice 0	Page 9 de 9
Titre du document : Physiologie de la fibrinolyse				

4.3.4. cellule endothéliale

ont des R pour t-PA : 10^6 / cellule

2 classes de R :

- faible affinité et haute capacité 8×10^5 à 5×10^7 par cellule

- haute affinité et capacité variable

ces R dépendent de l'interaction de t-PA avec PAI-1

lie le mannose de t-PA

40 kD

4.4. Récepteurs de u-PA

rôle principal de u-PA : dégradation des protéines associées aux mouvements cellulaires (migration cellulaire, remodelage tissulaire, invasion cellulaire)

clearance principale de u-PA : foie

R de haute affinité sur monocytes, PN, fibroblastes

u-PA se lie par résidus 1 à 135

Récepteur : (CD 87) 40-60 kD, 313 AA

lié à cellule par ancrage GPI (GlycosylPhosphatidyInositol)

le domaine de u-PAR qui lie u-PA peut être clivé par u-PA +++

endocytose de u-PA dépendante de PAI-1 et PAI-2 : u-PA-PAI-1 complexe se lie à u-PAR, est internalisé et dégradé, coopération avec LRP.

Ce R existe sur monocytes : u-PA se lie à u-PAR, puis complexe avec PAI-1 et inactivation de u-PA ; puis le complexe u-PA-u-PAR-PAI-1 se lie avec LRP, et est internalisé dans un endosome où u-PA-PAI est dissocié de LRP-u-PAR et dégradé ; tandis que LRP et u-PAR sont recyclés à la surface du monocyte.

u-PAR du monocyte forme une unité fonctionnelle avec Mac-1 (CD 11b/CD 18) qui est une intégrine capable de lier C3bi, ICAM-1, facteur X, fibrine et fibrinogène, après activation du monocyte par différents agents (ADP, C5a, LTB4, phorbol-esters). Après liaison du facteur X, Mac-1 coordonne l'activation directe du X, indépendamment du facteur tissulaire.

Mac-1 réalise une **voie de fibrinolyse indépendante de la plasmine** dans laquelle la fibrine ou le Fg est internalisée et dégradée via la cathépsine D lysosomiale (**20% de la fibrinolyse totale**).

Il existe une liaison entre Mac-1 et u-PAR à la surface de PN et de monocyte.

u-PAR est un régulateur de la fonction de l'intégrine Mac-1: quand u-PAR est occupée par u-PA, la fonction de Mac-1 est inhibée, notamment la liaison de X sur Mac-1.

L'activation de Mac-1 par les ligands solubles entraîne l'adhésion de la vitronectine médiée par u-PAR. La liaison de Vn dépendante de u-PAR promeut la fonction de Mac-1 qui est de lier et dégrader la fibrine.

Il y a une coopération entre Mac-1 et u-PAR qui régule les interactions entre monocyte et les protéines de la coagulation et de la fibrinolyse.


Si u-PAR est occupée par Vn --> stimulation de Mac-1.

Si u-PAR est occupée par u-PA --> inhibition de Mac-1.

Mac-1 est capable de lier directement le Fg et de la dégrader.

Dans hépatocytes,

il y a une endocytose de u-PA indépendante de PAI-1 ou PAI-2.

	Référence document : Phy3	Rédigé par : Professeur Jean-François ABGRALL	Indice 0	Page 10 de 10
Titre du document : Physiologie de la fibrinolyse				

Une forme soluble de u-PAR existe dans le plasma normal (3 +/- 3 ng/ml), qui est augmentée en cas de septicémie (30 +/- 11 ng/ml).

5. Rôle des plaquettes dans la fibrinolyse

Le caillot riche en plaquettes est résistant à la fibrinolyse.

La membrane plaquettaire contient un récepteur pour u-PA qui est différent de u-PAR monocytaire : PM 70 kDa (2263 +/- 809 sites).

Les plaquettes inhibent la fibrinolyse par des mécanismes PAI-1 dépendants et PAI-1 indépendants.

Les granules a contiennent du PAI-1 qui est largué et inhibe la fibrinolyse.

6. Fibrinolyse cellulaire indépendante de la plasmine

Activité fibrinolytique sanguine :

30% pour le sang ; 80-90% pour les cellules

Polynucléaires

Les PN ont une activité fibrinolytique (élastase, cathépsine D).

Elastase : digère fibrine, mais à taux élevé.

Est-ce physiologique ?

NE clive et inactive PAI-1 en Val 355-Ser 356, ce qui augmente la fibrinolyse.

Temps de lyse des euglobulines est raccourci après traitement par NE.

La liaison de fibrine sur PN ou monocytes entraîne le release de NE qui dégrade la fibrine.

7. Inhibition de la fibrinolyse

7.1. inhibiteurs du plasminogène

7.1.1. TAFI (thrombin activatable fibrinolysis inhibitor)

TAFI : 50 kD, une seule chaîne, 50 nM dans le plasma

précurseur de carboxypeptidase B (CBP)

activée en présence de taux élevé de thrombine


activation augmentée par la thrombomoduline

TAFIa inhibe la fibrinolyse en clivant Lys et Arg en C-terminal

PCa est profibrinolytique en atténuant l'activation de TAFI

Le plasma contient au moins 2 CBP N et B qui enlèvent en permanence les lysines en C-terminal sur les surfaces (de fibrine ou des cellules).

Le plasminogène ne peut donc plus se fixer sur ces lysines.

	Référence document : Phy3	Rédigé par : Professeur Jean-François ABGRALL	Indice 0	Page 11 de 11
Titre du document : Physiologie de la fibrinolyse				

7.1.2. Lipoprotéine (a)

compétition avec le plasminogène pour la fixation sur la fibrine

7.1.3. HGRP

PM 60 000, se lie à LBS --> diminution de fixation du Plg à fibrine

7.1.4. Thrombospondine

PM 450 000, forme un complexe avec LBS du Plg

7.2. inhibiteurs de la plasmine

7.2.1. 2 antiplasmine

8. La plasmine et la formation des PDF

Le plasminogène se fixe sur la fibrine par les LBS, il est activé en plasmine.

La dégradation de la fibrine par la plasmine produit des PDF :

* la plasmine détache d'abord un peptide à l'extrémité N terminal de la chaîne b, puis un peptide aux extrémités C terminal d'abord de la chaîne a, puis b, puis g, ce qui conduit à la formation du fragment X de PM 240 000.

Puis il y a une protéolyse asymétrique du PDF X avec production des PDF Y et D

Y : PM 155 000 ; D : PM 85 000

Puis le fragment Y est clivé en deux fragments D et E : E : PM 50 000, correspond au nœud disulfure.

X et Y : PDF précoces ; D et E : tardifs

Les fragments X, Y, D, peuvent se complexer avec les monomères de fibrine et empêcher leur polymérisation. Ils forment les **complexes solubles**.