

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année : 2017

N° 163

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

par

Nicolas ATHANASE

Né le 2 septembre 1986 à Tours

Présentée et soutenue publiquement le 11 octobre 2017

**ExtraCorporeal Membrane Oxygenation :
identification de marqueurs biologiques prédictifs de thrombose**

Président : Madame le Professeur Marie-Christine BENE
Directeur de thèse : Madame le Docteur Elodie BOISSIER
Assesseurs : Monsieur le Professeur Jean-Marie BARD
Monsieur le Professeur Jean-Christian ROUSSEL
Monsieur le Professeur Bertrand ROZEC
Monsieur le Docteur Marc FOUASSIER
Monsieur le Docteur Mickaël VOURC'H

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année : 2017

N°

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

par

Nicolas ATHANASE

Né le 2 septembre 1986 à Tours

Présentée et soutenue publiquement le 11 octobre 2017

**ExtraCorporeal Membrane Oxygenation :
identification de marqueurs biologiques prédictifs de thrombose**

Président : Madame le Professeur Marie-Christine BENE
Directeur de thèse : Madame le Docteur Elodie BOISSIER
Assesseurs : Monsieur le Professeur Jean-Marie BARD
Monsieur le Professeur Jean-Christian ROUSSEL
Monsieur le Professeur Bertrand ROZEC
Monsieur le Docteur Marc FOUASSIER
Monsieur le Docteur Mickaël VOURC'H

Remerciements

A Madame le Professeur Marie-Christine BENE,
Pour votre bienveillance et les connaissances transmises lors de mes passages dans votre service,
Je vous remercie d'avoir accepté la présidence de ce jury.

A Madame le Docteur Elodie BOISSIER,
Pour ta compétence, ta rigueur et tes encouragements,
Pour la confiance que tu as placée en moi pour mener ce travail,
Je te suis très reconnaissant d'avoir dirigé cette thèse.

A Monsieur le Professeur Jean-Marie BARD,
Pour l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail.

A Monsieur le Professeur Jean-Christian ROUSSEL,
Pour avoir pu vous libérer afin d'être présent lors de ma soutenance.

A Monsieur le Professeur Bertrand ROZEC,
Pour l'intérêt que vous portez à cette thèse.

A Monsieur le Docteur Marc FOUASSIER,
Pour ta bonne humeur et ton enseignement,
Pour tous les bons moments passés au laboratoire,
Je te remercie d'être présent pour clore ce chapitre des mes études.

A Monsieur le Docteur Mickaël VOUREC'H,
Pour nous avoir permis de mener à bien cette étude ancillaire au travail que tu as initié sur l'amélioration de la qualité des soins dans le contexte de l'ECMO,
Pour ta disponibilité et tes conseils.

A Louise, pour ton aide dans le recueil des données cliniques et biologiques malgré ta charge de travail. Je te souhaite bon courage pour la suite de tes études.

A l'équipe de réanimation de Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire, notamment au Docteur Thierry LEPOIVRE et au Docteur Johanna NICOLET, pour avoir permis les inclusions de cette étude.

A l'équipe de Chirurgie Cardiaque, pour votre compétence dans l'implantation de l'ECMO.

A Monsieur le Docteur Thomas SENAGE, pour votre aide précieuse à la réalisation de calculs statistiques dans les derniers instants de cette thèse.

A tous ceux qui m'ont aidé d'un point de vue technique à réaliser cette étude, qui n'aurait pas été possible sans votre participation, depuis le prélèvement jusqu'à l'analyse, et tout particulièrement à Fanny et Simone pour m'avoir aidé plus d'une fois lors des caprices de l'automate.

A Julien, pour ton aide précieuse à la construction de l'analyse statistique de cette thèse. Pour ton amitié tout au long de nos études médicales et ces moments passés au Rebuffy.

A Mélanie, pour tes réponses à mes appels de dernières minutes et ta compétence en statistique.

A Marie pour l'attention que tu as porté à la relecture de cette thèse.

Aux Marc's, Catherine, Camillou, Benjamin et François pour m'avoir donné goût à l'hématologie, pour l'accueil de vous m'avez toujours réservé au sein de votre équipe, ce fut un réel plaisir de me former parmi vous. Merci, Camillou, de toujours prendre le temps de répondre à mes problèmes existentiels de cytologie.

A Matt Greg, Olivier, Bobby, Guillaume, et Adrien pour ces parties de babyfoot. A mes co-internes, Cécile, Louise, Antoine, Maëva, La Goudale, Justin Bieber, FloFlo, Ronan, et tous ceux que j'oublie, pour les bons moments passés ensemble.

A Clément, Bernard, Guigui, Vanessa, Julien, Jadox, Marie-Laure, Géraldine et Antoino pour toutes ces années d'études. C'est toujours un immense plaisir de passer une heure, une soirée en votre compagnie.

A Benjamin, pour ton amitié, ta gentillesse, et ta bonne humeur. Je n'ai de toi que de bons souvenirs, la Thaïlande, le Rebuffy, le Burkina-Faso, notre duo de ronéo et tous les autres qu'il serait trop long de lister. Tu seras toujours dans nos pensées et dans notre cœur.

A Fabrice et Sylvette et toute votre famille pour votre accueil au sein de votre tribu.

A mes parents, pour votre soutien infaillible tout au long de ces années d'études, je ne vous remercierai jamais assez pour ce que vous m'avez apporté.

A mes grands-parents, pour tous ces souvenirs et ces moments passés à vos côtés.

A ma famille et notamment à mes frères, mes petites nièces et neveu, pour m'avoir toujours soutenu et encouragé.

A Aude, pour le chemin parcouru et la longue route qu'il nous reste à tracer ensemble, ta présence et tes encouragements auront été les clés de l'aboutissement de cette thèse.

Table des matières

Liste des abréviations	9
INTRODUCTION	11
1. Extra corporeal membrane oxygenation (ECMO)	12
A. Principe.....	12
B. Différents types d'ECMO	12
C. Indications	15
1) Défaillance cardiaque	15
2) Défaillance respiratoire	16
D. Evènements indésirables.....	17
1) Insuffisance rénale.....	17
2) Hémorragie.....	18
3) Infectieuses.....	19
4) Hémolyse.....	19
5) Thrombose.....	20
6) Dysfonctionnement du circuit ECMO	21
2. Hémostase et ECMO	22
A. Physiologie de l'hémostase	22
B. Perturbations de l'hémostase sous ECMO.....	26
1) Phase contact	26
2) Leucocytes.....	26
3) Plaquettes.....	27
4) Adsorption protéique	27
5) Facteur von Willebrand	28
C. Anticoagulation sous ECMO.....	29
3. Paramètres biologiques d'interet dans l'ECMO	32
A. D-dimères.....	32
B. Facteur VIII.....	35
C. Antithrombine.....	36
D. Facteur Von Willebrand	37
E. Activité anti-Xa.....	38

F. Fibrinogène	38
G. Plaquettes	39
H. Schizocytes	39
I. Hémoglobine libre	39
4. Rationnel de l'étude.....	41
MATERIEL ET METHODES	43
1. Population étudiée.....	44
A. Critères d'inclusion	44
B. Considérations éthiques.....	44
2. Analyses biologiques.....	44
A. Constitution de la plasmathèque	44
B. Réalisation des dosages biologiques	45
1) Hématologie cellulaire	45
2) Hémostase générale	46
3) Hémostase spécialisée.....	48
3. Evènement thrombotique	50
4. Statistiques.....	51
RESULTATS.....	52
1. Démographie.....	53
2. Caractéristiques cliniques.....	53
A. Indications d'implantation d'ECMO	53
B. Durée d'exposition.....	54
C. Type d'ECMO.....	55
3. Evènements indésirables	55
A. Thrombose « patient »	55
B. Thrombose « dispositif ECMO »	57
C. Thrombose globale.....	60
D. Décès	62
4. Paramètres biologiques	62
A. D-Dimères	62
B. FVIII.....	66
C. Anti-thrombine	68
D. vWF :RCO.....	70

E. Activité anti-Xa.....	72
F. Fibrinogène	73
G. Plaquettes	75
H. Schizocytes	77
DISCUSSION	78
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	87

Liste des abréviations

ACT : *Activated clotting time*
ADP : Adénosine diphosphate
Anti-Xa : Anti-Facteur X activé
Anti-IIa : Anti-Facteur II activé
AT : Antithrombine
AUC : Aire sous la courbe
CEC : Circulation ExtraCorporelle
CIVD : Coagulation intravasculaire disséminée
DO : Densité Optique
ECMO : *Extracorporeal Membrane Oxygenation*
ELSO : *Extracorporeal Life Support Organization*
FPA : Fibrinopeptide A
FPB : Fibrinopeptide B
FT : Facteur Tissulaire
GPIb : Glycoprotéine Ib plaquettaire
GPIIbIIIa : Glycoprotéine IIbIIIa plaquettaire
HBPM : Héparine de Bas Poids Moléculaire
HNF : Héparine non fractionnée
IC : Intervalle de confiance
IRA : Insuffisance Rénale Aigüe
NO : Oxyde nitrique
OR : Odd Ratio
PfHb : Hémoglobine libre plasmatique
PMP : Microparticule plaquettaire
ROC : *Receiver Operating Characteristic*
SDRA : Syndrome de détresse respiratoire aigüe
TCA : Temps de céphaline avec activateur
TFPI : *Tissue Factor Pathway Inhibitor*
t-PA : Activateur tissulaire du plasminogène
VA : Veino-artériel

VV : Veino-artériel

vWF : Facteur von Willebrand

vWF :RCO : Activité co-facteur de la ristocétine du facteur de von Willebrand

INTRODUCTION

1. EXTRA CORPOREAL MEMBRANE OXYGENATION (ECMO)

A. PRINCIPE

L'ECMO permet de suppléer temporairement une défaillance cardiaque et/ou pulmonaire réfractaire aux traitements médicaux par une circulation extracorporelle. Le système comporte une pompe, un oxygénateur, un système de tubes et de canules. Les circuits de dernière génération disposent d'oxygénateurs miniaturisés à basses résistances qui améliorent les échanges gazeux et nécessitent des volumes d'amorçage plus faibles. Ils sont également thrombo-résistants (permettant de diminuer les doses d'anticoagulants) et présentent une meilleure biocompatibilité en consommant moins les plaquettes et les protéines plasmatiques (1). L'utilisation de pompes centrifuges a également amélioré l'efficacité et la sécurité, générant moins de dysfonctionnements et moins de lésions des cellules sanguines.

B. DIFFERENTS TYPES D'ECMO

Chez l'adulte, deux types sont principalement utilisés : le système veino-artériel (VA) et le système veino-veineux (VV). Dans les 2 cas, l'implantation peut être centrale ou périphérique (2,3).

Le système veino-artériel est mis en place lors de défaillance cardiaque, avec ou sans défaillance pulmonaire. Le système est connecté en parallèle avec le cœur et les poumons (figures 1 et 2), permettant de passer outre le système cardiopulmonaire. Il permet le maintien d'une hémodynamique ainsi qu'une oxygénation sanguine en cas de défaillance cardiaque ou cardio-pulmonaire, restaurant l'oxygénation et la perfusion des organes périphériques. Le débit de l'ECMO ainsi que l'activité cardiaque résiduelle conditionne le débit de circulation pulmonaire afin d'assurer la perfusion des organes tout en évitant la stase sanguine et donc la formation de thrombi.

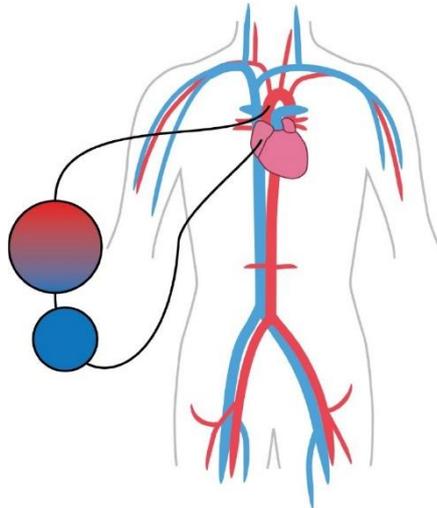


FIGURE 1. SCHEMA D'UNE ECMO VEINO-ARTERIELLE CENTRALE (MAKDISI *ET AL.* JOURNAL OF THORACIC DISEASE, 2015 (2))

Le système VA central (figure 1) comprend une canule qui draine l'atrium droit ou la veine cave, et une canule qui renvoie le sang à l'aorte ascendante.

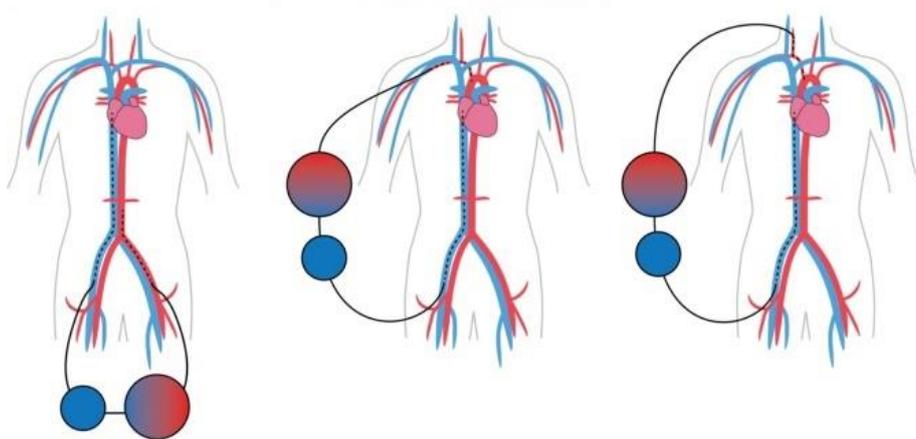


FIGURE 2. SCHEMA D'UNE ECMO VEINO-ARTERIELLE PERIPHERIQUE (MAKDISI *ET AL.* JOURNAL OF THORACIC DISEASE, 2015 (2))

Le système VA périphérique (figure 2) comprend une canule qui draine la veine fémorale et renvoie le sang soit dans l'artère fémorale controlatérale, soit dans l'aorte ascendante *via* l'artère axillaire ou *via* la carotide.

Le système veino-veineux, permettant de suppléer uniquement les échanges gazeux sans aide hémodynamique, est réservé aux défaillances pulmonaires hypoxiques avec activité cardiaque préservée et hémodynamique stable. Le système est connecté en

série sur le cœur et les poumons (figures 3 et 4). Le sang veineux désoxygéné est drainé jusqu'à un oxygénateur, et *a contrario* le sang oxygéné retourne à la circulation veineuse.

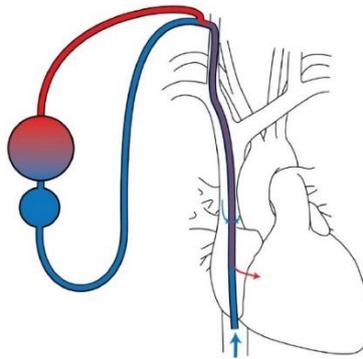


FIGURE 3. SCHEMA D'UNE ECMO VEINO-VEINEUSE CENTRALE (MAKDISI *ET AL.* JOURNAL OF THORACIC DISEASE, 2015 (2))

Le système VV central (figure 3) possède soit deux canules dans l'atrium droit, avec une séparation de plus de 2 cm entre les canules afin d'éviter une circulation shunt et donc une hypoxie, soit une seule canule qui draine la veine cave inférieure et renvoie le sang dans l'atrium droit.

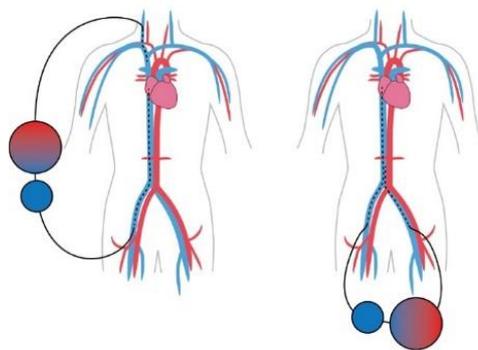


FIGURE 4. SCHEMA D'UNE ECMO VEINO-VEINEUSE PERIPHERIQUE (MAKDISI *ET AL.* JOURNAL OF THORACIC DISEASE, 2015 (2))

Le système VV périphérique (figure 4) comprend une canule drainant la veine fémorale et renvoie le sang dans la veine jugulaire interne ou dans la veine fémorale controlatérale.

C. INDICATIONS

Selon les données de juin 2017 de l'*Extracorporeal Life Support Organization* (ELSO), les taux de survie sous assistance pulmonaire et sous assistance cardiaque, par ECMO, étaient respectivement de 58 % et 41 % (4). La mortalité étant élevée, l'ECMO est envisageable pour les patients souffrant d'une pathologie dont le taux de mortalité est supérieur à 50 %, et recommandée pour les patients souffrant d'une pathologie dont le taux de mortalité est supérieur à 80 % (5).

1) Défaillance cardiaque

La décision d'implanter une ECMO repose sur un faisceau d'arguments cliniques, paracliniques, et souvent sur l'expérience personnelle et collective. Cette technique lourde, grevée de complications sévères, ne doit s'envisager que si les chances d'une récupération de la fonction ventriculaires sont raisonnables ou, dans le cas contraire, qu'il n'existe pas de contre-indication manifeste à une transplantation cardiaque ou plus rarement à l'implantation d'une assistance ventriculaire définitive (6). La situation idéale est représentée par les cardiopathies aiguës à fort potentiel de récupération comme les myocardites, les cardiopathies de stress ou les intoxications médicamenteuses.

Selon les recommandations de la Société de Réanimation de Langue Française (SRLF) de 2009 (6), l'ECMO VA est peut-être envisagée dans 2 types de situations :

- En post-opératoire immédiat d'une chirurgie cardiaque ou d'une transplantation cardiaque, lorsque le sevrage de la Circulation Extracorporelle (CEC) est impossible. Une étude rétrospective monocentrique de 517 ECMO VA post chirurgie cardiaque révèle un taux de survie intra-hospitalière de seulement 25 % (7). Dans la dysfonction primaire du greffon cardiaque, l'ECMO VA donne des résultats encourageants avec, chez les patients survivants (46 %), un taux de survie à 1 an identique aux patients sans dysfonction primaire du greffon (8).
- En cas de choc cardiogénique réfractaire : malgré l'absence de preuves scientifiques solides, l'ECMO VA est de plus en plus utilisée dans cette indication,

en « *bridge to decision* » (9). Chez les patients avec détérioration cardiaque rapide, l'ECMO VA stabilise l'hémodynamique afin de permettre une évaluation clinique « à froid » quant à la suite de la prise en charge (récupération de la fonction cardiaque, transplantation ou assistance mécanique au long court). Au cours de la dernière décennie, l'ECMO VA est devenue le traitement de première intention dans cette indication car supplée les fonctions respiratoires et cardiaques, et est rapide et facile à implanter (parfois même au lit du patient), par comparaison aux assistances bi-ventriculaires. Les principales indications médicales d'implantation d'une ECMO VA sont : infarctus du myocarde, insuffisance cardiaque terminale, myocardite fulminante, intoxications aiguës par cardiotoxiques, cardiomyopathie de stress, embolie pulmonaire massive ou arrêt cardiocirculatoire (2). Le *Survival After Venous-Arterial ECMO (SAVE) Score* prédit la survie des patients bénéficiant d'une ECMO VA pour choc cardiogénique réfractaire (10).

Dans l'arrêt cardiaque réfractaire, l'ECMO améliore le pronostic neurologique et contribue à rendre possible le don d'organes des patients qui vont décéder (11). Dans l'arrêt cardiaque intra-hospitalier, l'ECMO améliore significativement la survie à 1 an par rapport à une réanimation cardio-pulmonaire conventionnelle (12). Les résultats dans l'arrêt cardiaque extra-hospitalier sont plus contrastés, avec des taux de survie de 4 à 7 % (13,14). La période de « *Low Flow* » (délai avant implantation de l'ECMO) semble être le déterminant majeur du pronostic. Dans ce contexte, les résultats d'ACPAR2 (*A Comparative Study Between a Pre-hospital and an In-hospital Circulatory Support Strategy (ECMO) in Refractory Cardiac Arrest*) sont très attendus : cette étude française (en cours de recrutement) vise à comparer une stratégie d'implantation d'ECMO sur le lieu de l'arrêt cardiaque versus implantation intra-hospitalière après transfert du patient (15).

2) Défaillance respiratoire

Les résultats favorables de l'étude CESAR et dans les cas sévères de syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) lors de la pandémie H1N1 ont conduit à l'utilisation exponentielle de l'ECMO VV dans les défaillances respiratoires aiguës (16,17). La mise en place d'une ECMO VV (ou VA en cas de défaillance cardiaque associée) peut être proposée dans les SDRA avec hypoxémie profonde résistante aux traitements usuels, en cas

d'augmentation importante des pressions télé-inspiratoires dans les voies aériennes distales et / ou d'hypercapnie majeure résultant de la diminution du volume courant (6). Plusieurs autres indications ont été décrites, notamment dans le cadre de pneumopathie d'inhalation, d'obstruction des voies aériennes, en cas d'échec ou dans l'attente d'une greffe pulmonaire et en cas d'hémorragie pulmonaire importante (2).

D. EVENEMENTS INDESIRABLES

Les complications sont fréquentes. Selon 2 méta-analyses comptant chacune plus de 1700 patients porteurs d'une ECMO VA, la survie globale varie de 20 à 65 %. Les principales complications rapportées par ordre de fréquence sont : une insuffisance rénale aigue (IRA) nécessitant une hémodialyse (46 à 56 % des patients), une hémorragie (33 à 41 % des patients) et une infection notamment pulmonaire (30 à 33 % des patients) pouvant aller jusqu'au sepsis (26 % des cas), la nécessité d'un remplacement d'oxygénateur (29 %) et une hémolyse (18 %). Selon les études, une complication thrombotique est rapportée dans 10 à 20 % des cas (18,19).

1) Insuffisance rénale

C'est une complication majeure de l'ECMO qui touche plus de la moitié des patients est associée à un fort taux de mortalité (18,19). Le recours à l'hémodialyse est souvent nécessaire. Les indications de l'hémodialyse chez les patients sous ECMO sont : l'anurie ou oligurie supérieure à 12 heures sans réponse aux traitements médicaux, l'association d'une anurie ou oligurie avec une acidose métabolique, ou une hyperkaliémie, ou un œdème aigue du poumon (20).

La survenue d'une insuffisance rénale aigue, avant la mise sous ECMO, est due à plusieurs facteurs, comme le sepsis, l'insuffisance cardiaque et l'exposition à des agents néphrotoxiques. L'hypotension ainsi que le bas débit cardiaque peuvent aggraver l'IRA et provoquer des lésions rénales irréversibles (20).

Dans les 24 à 48 heures qui suivent la mise sous ECMO, l'oligurie ainsi que la nécrose tubulaire aigue sont fréquentes, en raison de la réaction inflammatoire. La baisse du débit de filtration urinaire est témoin de l'hypoperfusion rénale, due à la baisse du débit

cardiaque (liée à un choc cardiogénique par exemple) ou par la vasodilatation (dans un contexte de sepsis par exemple). Les variations de débit des systèmes VA ou VV peuvent aussi provoquer des fluctuations de la perfusion rénale et donc engendrer ou aggraver l'insuffisance rénale (20).

Selon une étude rétrospective, l'aggravation des critères RIFLE (*Renal Failure, Injury to the kidney, Failure of kidney function, Loss of kidney function, End-stage renal failure*) est associée à une augmentation significative de la mortalité ($p < 0.001$), la mortalité globale étant de 65 %. A 6 mois de suivi, le taux de survie des patients était statistiquement différent ($p < 0.05$) selon leur groupe définis par les critères RIFLE. Il est à noter que 35 % des patients étaient sous hémodialyse en plus du circuit d'ECMO (21).

2) Hémorragie

Les complications hémorragiques sont des plus fréquentes. Les saignements surviennent dans la grande majorité des cas au niveau des canules (37 % des cas), sous la forme d'hémothorax dans 17 % des cas et au niveau de la sphère oto-rhino-laryngologique dans 16 % des cas. L'hémorragie cérébrale est bien moins fréquente, (2,2 % des patients) mais est toujours fatale (22). Les mécanismes impliqués dans la survenue d'hémorragie sont multiples : coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), lésions tissulaires ou malpositions de canules, fibrinolyse accélérée, anticoagulation inadaptée, ou encore acquisition d'un syndrome de Willebrand (23). La démographie, le type d'ECMO ou les comorbidités des patients ne semblent pas impacter le risque de survenue de saignement. En revanche, les patients ayant bénéficié de chirurgie avant ECMO, hémodialysés ou avec un score SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*) élevé sont à risque hémorragique majoré (22). La prise en charge du saignement repose sur un ajustement de l'anticoagulation, l'introduction d'anti-fibrinolytique, et des mesures locales voire une reprise au bloc opératoire (jusqu'à 34 % des ECMO VA avec saignements et 17 % des ECMO VV) (22,23). L'administration de FVIIa (Facteur VII activé) recombinant reste très discuté du fait de l'augmentation du risque thrombotique (23). La survenue de complications hémorragiques augmente la mortalité, *Hazard Ratio* (HR) = 2.17 [95 % IC (1.07 - 4.41)], dans une étude sur 149 ECMO compliqués dans 60 % des cas de saignements (22). Une étude pédiatrique montre une diminution de la survie de 40 %,

chez les patients ayant présentés un saignement sous ECMO, Risque Relatif (RR) = 0.59 [95 % IC (0.53 - 0.66)] (24).

3) Infectieuses

Les complications infectieuses sont fréquentes (18,19). Les sepsis sont les complications infectieuses les plus fréquemment retrouvées, suivis des infections des sites chirurgicaux, du tractus respiratoire et des voies urinaires (25). Les complications infectieuses majorent le temps d'hospitalisation mais ne semblent pas associées à une surmortalité (26).

4) Hémolyse

L'hémolyse est une complication fréquemment rencontrée chez les patients sous ECMO, avec une incidence allant de 5 à 18 % (18,27). Plusieurs mécanismes sont impliqués : les forces de cisaillements élevées, le débit sanguin extracorporel élevé, l'effet de cavitation provoqué par la dépression due à la pompe, et les changements de pressions au sein de l'oxygénateur. Un faible débit, une malposition du patient ou d'une canule, la taille de la canule ou encore la présence de microthrombi au sein du circuit peut conduire le perfusionniste à augmenter le débit de la pompe. Ceci génère une augmentation des résistances et des pressions dans le circuit, provoquant la discontinuité du flux sanguin ainsi qu'une augmentation de l'effet de cavitation, aggravant l'hémolyse (28-30).

Lorsque l'hémolyse est importante, les capacités physiologiques de recapture de l'hémoglobine sont dépassées et une hémoglobinurie et hémoglobinémie libre plasmatiques apparaissent (PfHb : *Plasma Free Haemoglobin*). Chez le sujet sain, la PfHb est inférieure à 10 mg.dL⁻¹. Une partie de l'hémoglobine libre se fixe sur l'oxyde nitrique endothélial (NO) (potentiel vasodilatateur et inhibiteur de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaire), pouvant résulter en une augmentation des résistances vasculaires, une augmentation de la génération de thrombine, de l'activation plaquettaire et de l'hypoperfusion tissulaire. De plus, l'hémoglobine libre et l'hème possède des propriétés inflammatoires, induisant une activation cellulaire, notamment des polynucléaires neutrophiles, et une consommation de NO, favorisant ainsi l'apparition d'un état pro-

thrombogène. Les complications liées à la présence de PfHb sont principalement l'insuffisance rénale, mais également des douleurs gastriques et une hypertension artérielle pulmonaire (31). Au cours de l'ECMO, L'ELSO recommande le maintien de la PfHb inférieure à 10 mg.dL⁻¹, et que toute PfHb > 50 mg.dL⁻¹ fasse l'objet d'investigations (5).

5) Thrombose

La prévalence des complications thrombotiques chez les patients porteur d'ECMO varie selon les études : de 4.2 à 19 % pour la thrombose artérielle et de 1.1 à 17 % pour la thrombose veineuse. La survenue d'un thrombus intra-cardiaque affecte 0.8 à 6.3 % (19). L'incidence de la thrombose est sans doute sous-estimée car peu d'auteurs la recherche spécifiquement, notamment les formes infra-cliniques. En effet, l'autopsie systématique de 78 patients sous ECMO a révélé la présence chez 32 % d'entre eux de thrombose veineuse malgré l'absence de signe clinique évocateur (32). Les complications thrombotiques peuvent également affecter le dispositif : selon l'ELSO, les taux de thrombose d'oxygénateur chez les patients sous ECMO pour défaillance cardiaque (n=4405) ou pulmonaire (n=5278) sont respectivement de 10 et 13 % (23).

La formation d'un caillot au sein du circuit d'ECMO résulte de l'interaction du sang avec la surface artificielle du circuit, provoquant l'activation de la coagulation ainsi que la médiation d'une réponse inflammatoire par le complément. Ces mécanismes sont détaillés dans le paragraphe 2.B. « *Perturbations de l'hémostase sous ECMO* ». D'autres mécanismes sont impliqués comme les diminutions de débits, l'hémolyse et les turbulences. Les thrombi sont surtout localisés dans les zones de fortes turbulences, comme la membrane de l'oxygénateur ou les connections tubulaires. La présence d'un caillot au sein de l'oxygénateur peut endommager ce dernier, et générer des embolies relargués dans la circulation. En effet, les dépôts de fibrine et de cellules au niveau de l'oxygénateur vont augmenter les résistances et les pressions au sein de l'appareil, cela induit une hémolyse et réduire les échanges gazeux. La totalité des circuits étudiés (n=20) en tomodensitométrie présentaient des thrombi dans la partie veineuse du dispositif (33). Les systèmes d'ECMO VV semblent être plus à risque thrombotique, 18 % (10/56) pour le système VV et 1 % (1/128) pour le système VA (34). La détection d'un thrombus au

sein de la tête de pompe ou de l'oxygénateur est réalisée de manière indirecte, ces parties n'étant pas visibles à la différence des tubulures où des traces de fibrines peuvent être observées. Une franche augmentation de la PfHb, une pompe bruyante ainsi qu'une hémoglobinurie sont le reflet d'un thrombus de la tête de pompe (23,27,28,34). La visualisation du thrombus au niveau de l'oxygénateur par imagerie n'étant pas réalisable *in vivo* dans la pratique clinique (35), une baisse des pressions post-oxygénateur ainsi qu'une diminution des échanges gazeux peut également refléter la présence de thrombi au sein de l'oxygénateur (23,27,28,36). Enfin, une étude rapporte qu'une importante élévation du taux de D-Dimères pourrait indiquer la nécessité d'un changement d'oxygénateur dans les jours qui suivent, en raison de thrombi (37,38). La présence de thrombi au sein de l'appareil (tête de pompe, oxygénateur ou circuit) peut donc induire une dysfonction de pompe, d'oxygénateur, la libération d'embolies, l'aggravation de l'hémolyse et imposer le changement d'oxygénateur ou du circuit. Cette procédure est onéreuse, et risquée pour ces patients précaires dépendants de l'ECMO. Un changement de circuit en urgence peut engendrer un défaut d'oxygénation et une instabilité hémodynamique grave. Un changement de circuit ou d'oxygénateur est nécessaire dans 15 à 30 % (18) des cas, dont 45% en urgence (27). Dans une étude pédiatrique, la survenue de thrombose était associée à une diminution de la survie de 33 % (Odd Ratio (OR) = 0.67 [95 % IC (0.60 - 0.74)]) (24). La survenue de thrombose est une complication grave qui doit être anticipée.

6) Dysfonctionnement du circuit ECMO

En dehors de la présence de thrombi au sein de l'oxygénateur, d'autres dysfonctionnements du dispositif peuvent être mis en évidence : des problèmes de déplacement de canule, avec lésions vasculaires ou cardiaques, des embolies gazeuses (4 % des cas) principalement dus à l'effet de cavitation, et de façon plus rare, des complications mécaniques dues à la pompe (par dysfonction du moteur de pompe ou par retour veineux insuffisant) (39). Le rapport de l'ELSO de 2012 montre que la grande majorité des complications mécaniques se situent au niveau de l'oxygénateur, très probablement dues à la présence de thrombi (40). La formation d'un thrombus au sein de l'oxygénateur, ou au sein de la tête de pompe représentent jusqu'à 85 % des défaillances mécaniques dans certaines études (27).

2. HEMOSTASE ET ECMO

A. PHYSIOLOGIE DE L'HEMOSTASE

L'hémostase correspond à l'ensemble des mécanismes physiologiques intervenant dans la prévention et l'arrêt des saignements. Elle est schématiquement divisée en 3 temps (figure 5) :

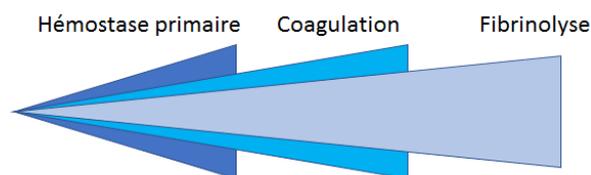


FIGURE 5. SCHEMA DES ETAPES DE L'HEMOSTASE.

- L'hémostase primaire fait intervenir l'endothélium vasculaire, les plaquettes, le facteur von Willebrand (vWF) et le fibrinogène. La finalité de cette étape est l'obturation d'une brèche vasculaire *via* la constitution d'un clou plaquettaire, ou thrombus blanc.
- La coagulation est le processus permettant de consolider le clou plaquettaire en formant un maillage de fibrine, aboutissant à la constitution du thrombus rouge.
- La fibrinolyse est l'étape qui consiste en la dissolution de ce caillot sous l'action de la plasmine, évitant ainsi un emballement de la coagulation.

L'hémostase primaire intervient dès la constitution d'une brèche ou d'une lésion vasculaire. Le premier mécanisme de défense est une vasoconstriction réflexe des cellules musculaires lisses de la paroi du vaisseau lésé. Cela permet un ralentissement des vitesses de flux circulatoire et favorise ainsi les interactions. Deux molécules sont principalement impliquées dans l'adhésion des plaquettes à l'endothélium lésé, le vWF et le complexe glycoprotéique Ib plaquettaire (GPIb). Le vWF se fixe au collagène sous endothélial et va, sous l'action des forces de cisaillements, s'étirer afin d'exposer son site de fixation à la GPIb qui provoquera le phénomène de « *rolling* » des plaquettes. Une cascade de réactions permet l'activation plaquettaire avec expulsion du contenu des granules intra-

plaquettaires, de particules procoagulantes (adénosine diphosphate (ADP), thromboxane A₂, sérotonine...), et changement conformationnel de la plaquette. Le complexe glycoprotéique IIb/IIIa (GpIIb/IIIa) s'active et des phospholipides chargés négativement (comme la phosphatidylsérine) sont exprimés à la surface de la membrane plaquettaire, essentiels à la conversion de la prothrombine en thrombine par fixation du complexe prothrombinase. L'agrégation plaquettaire se fait par le biais de la GPIIb/IIIa et du fibrinogène, mais aussi par le vWF en cas de forces de cisaillements élevées. Ceci aboutit à la formation du thrombus blanc (41) (figure 6).

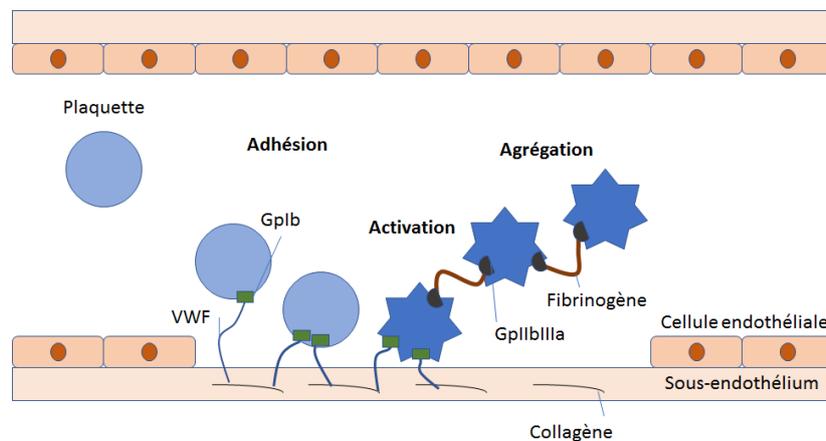


FIGURE 6. SCHEMA DE L'HEMOSTASE PRIMAIRE.

La coagulation permet de consolider le thrombus formé, mettant en jeu des sérines protéases (comme les facteurs VII, IX, X, XI...) et des co-facteurs potentialisant l'activité enzymatique de ces dernières (facteur VIII et facteur V). La coagulation est concomitante de l'hémostase primaire, les 3 étapes étant intriquées entre elles. La réponse initiale débute par le facteur tissulaire (FT), exprimé notamment par le sous-endothélium, les fibroblastes et les monocytes. L'exposition du FT au sang circulant va permettre la formation du complexe FT-Facteur VII activé (FT-FVIIa). Le complexe ainsi formé active le facteur X (FX) en facteur X activé (FXa) et le facteur IX (FIX) en facteur IX activé (FIXa). Le FXa active par la suite le facteur V (FV) en facteur V activé (FVa) pour former le complexe FXa-FVa, capable de convertir de petites quantités de prothrombine en thrombine au niveau de la cellule exprimant le FT. Cette faible quantité de thrombine est capable d'activer les plaquettes, le facteur VIII (FVIII) en facteur VIII activé (FVIIIa), et également les FV et FXI. Les plaquettes activées vont permettre la fixation des co-facteurs Va et VIIIa et par la suite de leurs enzymes respectives, le FXa et le FIXa. Le complexe FIXa-

FVIIIa active de plus en plus de FX. Le FXa quant à lui se lie au FVa, au niveau de la couche phospholipique plaquettaire, pour former le complexe prothrombinase (FXa-FVa) ayant la capacité de convertir une grande quantité de prothrombine en thrombine. Cette grande quantité de thrombine va transformer le fibrinogène en fibrine, créant un maillage de plaquettes et de globules rouges, constituant le caillot (42). Cette fibrine soluble deviendra insoluble par l'action du facteur XIII activé (FXIIIa), stabilisant ainsi le caillot. En présence d'un activateur de la phase contact, le facteur XII (FXII) est activé en facteur XIIa (FXIIa) par adsorption. Le FXIIa active ensuite la pré-kallicréine en kallicréine et avec son co-facteur, le kininogène de haut poids moléculaire, active le facteur XI en facteur XIa, qui activera ensuite le FIX en FIXa (43).

La coagulation est l'objet d'un équilibre fragile entre activateurs et inhibiteurs. A l'état physiologique, l'endothélium est thrombo-résistant et joue un rôle important dans le contrôle de la coagulation, notamment par production d'oxyde nitrique (vasodilatateur), et de prostaglandines inhibant l'agrégation plaquettaire. L'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI : *Tissue factor pathway inhibitor*) régule la coagulation en inhibant une majorité du complexe FT-FVIIa lié au FXa. Le TFPI joue donc un rôle inhibiteur très tôt dans l'activation de la coagulation. La thrombomoduline, protéine transmembranaire de la cellule endothéliale, va fixer la thrombine. Ce complexe va activer la protéine C. Cette dernière, couplée à son co-facteur la protéine S, inhibe les FVa et FVIIIa. Enfin, l'antithrombine (AT), glycoprotéine synthétisée par le foie, est l'inhibiteur de la thrombine, et à un moindre degré des facteurs Xa, IXa, XIa et XIIa. Son action est démultipliée par l'héparine (44) (figure 7).

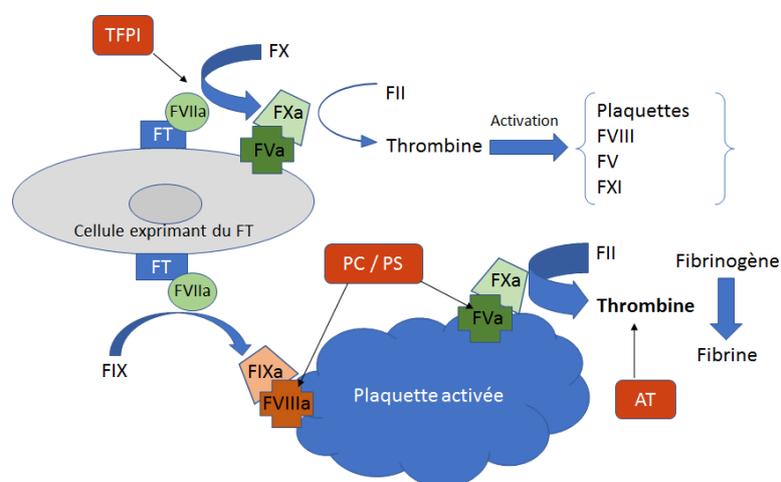


FIGURE 7. SCHEMA DES ACTEURS DE COAGULATION ET DE SES PRINCIPAUX INHIBITEURS. (D'APRES ROBERTS ET AL., ANESTHESIOLOGY, 2004 (42))

La fibrinolyse intervient dans le même temps que la formation du thrombus et évite un emballement de la génération de fibrine. Le système fibrinolytique possède de nombreux régulateurs, activateurs et inhibiteurs. Le principal acteur de la fibrinolyse est la plasmine. C'est une sérine protéase, ayant pour zymogène le plasminogène. La transformation du plasminogène en plasmine est effectuée sous l'action de l'urokinase (u-PA) et de l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA). La plasmine permet la digestion protéolytique de la fibrine conduisant à la production de produits de dégradation de fibrine. Les plus petits éléments pouvant être obtenus après protéolyse de la fibrine sont l'association de deux domaines D et d'un domaine E, liés par une liaison covalente sous l'action du FXIIIa, et formant les D-Dimères (45). La fibrinolyse est finement régulée par un système inhibiteur. L'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1) va inhiber le t-PA, empêchant ainsi la formation de plasmine. L' α 2-antiplasmine, protéine membre de la superfamille des serpinés (Serine Protease Inhibitor), inactive la plasmine en se liant de manière irréversible avec son site actif. En revanche, la plasmine liée au fibrinogène est protégée de cette dégradation. La thrombine peut aussi activer l'inhibiteur de la liaison plasminogène-fibrine (TAFI : *Thrombin-activable fibrinolysis inhibitor*) inhibant ainsi l'activation de la fibrinolyse (46).

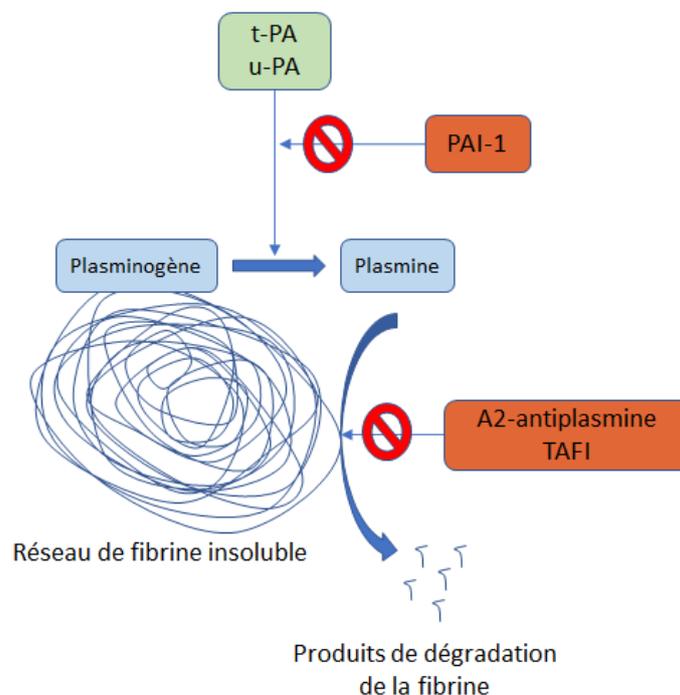


FIGURE 8. SCHEMA DE LA FIBRINOLYSE ET DE SES PRINCIPAUX INHIBITEURS.

t-PA : activateur tissulaire du plasminogène ; u-PA : urokinase ; TAFI : Thrombin-activable fibrinolysis inhibitor ; PAI-1 : inhibiteur de l'activateur du plasminogène.

B. PERTURBATIONS DE L'HEMOSTASE SOUS ECMO

1) Phase contact

L'adsorption du FXII sur une surface artificielle va provoquer sa modification conformationnelle, lui permettant d'acquérir une activité protéolytique, résultant en la génération de faibles quantités de FXIIa. Le FXIIa ainsi produit, active le FXI et la pré-kallicréine en FXIa et kallicréine. Cette dernière va permettre l'hydrolyse du FXII, amplifiant ainsi par phénomène de rétro-contrôle la génération de FXIIa. La kallicréine va également cliver le kininogène de haut poids moléculaire afin de libérer la bradykinine, enzyme pro-inflammatoire (47). Cependant l'activation de la phase contact semble jouer un rôle minoritaire dans l'activation de la coagulation chez les patients sous ECMO (48).

2) Leucocytes

Les polynucléaires neutrophiles sont les leucocytes les plus largement représentés dans le sang (40-60 %). La durée de vie normale d'un polynucléaire neutrophile est 8 à 20 heures, cependant, sous certains stimuli inflammatoires telles que des cytokines, sa durée de vie peut tripler. Les monocytes quant à eux ne représentent que 5 % à 10 % des éléments sanguins. Ils seront recrutés aux niveaux des tissus pour devenir macrophages. Lors de l'activation de ces leucocytes, en réponse à un stimulus inflammatoire, plusieurs modifications vont s'effectuer à leur surface cellulaire, notamment la synthèse et l'expression de FT et du CD11b (intégrine faisant partie du récepteur du complément). Cette même activation cellulaire est retrouvée lors du contact des leucocytes avec des surfaces artificielles, les mécanismes impliqués étant inconnus. Cette surexpression de FT à la surface de ces leucocytes activés à un rôle majeur dans l'activation de la coagulation. Mais l'activation de la coagulation peut être médiée par d'autres molécules, notamment le CD11b, possédant une affinité augmentée pour le FX et le fibrinogène, entraînant l'activation du FX. De par l'expression de certaines molécules d'adhésion lorsqu'ils sont activés, les polynucléaires et monocytes vont voir leurs capacités d'adsorption sur l'endothélium et les autres surfaces augmentées, favorisant l'activation locale de la

coagulation. Les polynucléaires et monocytes activés libèrent également des molécules procoagulantes (48).

3) Plaquettes

Au contact de surfaces prothrombotiques telles que les surfaces artificielles, les plaquettes s'activent provoquant la libération de multiples molécules prothrombotiques stockées dans les granules, tels que le facteur 4 plaquettaire, la thrombospondine, l'ADP et la sérotonine. D'autres substances sont excrétées, notamment les microparticules (PMPs), qui sont riches en FVa, en facteur 3 plaquettaire et en phosphatidylsérine. Ces PMPs sont formées à partir de la membrane plaquettaire par exocytose. Le fibrinogène et le vWF peuvent également s'adsorber sur les surfaces artificielles et favoriser l'adhésion plaquettaire. Le mécanisme d'activation plaquettaire *via* le contact avec une surface exogène est probablement dû à la génération de thrombine ou à la libération d'ADP par les globules rouges lysés. D'autres mécanismes semblent avoir un rôle, comme l'activation du complément (48). Les plaquettes peuvent aussi être activées sous l'effet de forces de cisaillements élevées, des turbulences, et de l'augmentation du débit sanguin *via* l'appareil d'ECMO (49).

4) Adsorption protéique

L'adsorption correspond à la fixation d'une molécule (absorbat) sur une surface solide (adsorbant). Ce processus peut faire intervenir divers mécanismes plus ou moins intenses comme les interactions dipolaires, les liaisons chimiques covalentes ou ioniques, ou encore les interactions de Van der Waals. L'adsorption protéique est immédiate lors du contact du sang avec la surface artificielle. Les 2 principales protéines concernées par ce phénomène sont l'albumine et le fibrinogène. D'autres molécules comme le vWF peuvent être adsorbées. Les plaquettes vont adhérer à ces protéines adsorbées et former un thrombus (50).

5) Facteur von Willebrand

Le vWF est une glycoprotéine multimérique synthétisée dans les cellules endothéliales et les mégacaryocytes. La structure multimérique du vWF fournit des sites de contact multiples avec différents ligands présents dans le sang circulant et dans la paroi vasculaire lésée. Ainsi le vWF a deux grandes fonctions :

1. Permettre l'adhésion des plaquettes à la paroi vasculaire lésée grâce à ses sites de liaison pour la GPIb plaquettaire et le collagène.
2. Faciliter l'agrégation des plaquettes entre elles grâce à son interaction avec la GPIIb/IIIa. Ce rôle du vWF est plus important dans des conditions hémorrhéologiques où les forces de cisaillement sont élevées comme dans la microcirculation.

Le vWF est dosé par 2 méthodes principales : la mesure de l'activité co-facteur de la ristocétine (vWF:RCO) (dont le principe analytique est détaillé dans le chapitre *Matériel et méthodes 2.B.3 Hémostase spécialisée*), qui permet d'évaluer la capacité de liaison du vWF à la GPIb plaquettaire, et le dosage quantitatif antigénique du vWF. Les valeurs normales sont comprises entre 50 et 150 % pour les 2 tests. Une discordance entre les 2 dosages oriente vers un déficit qualitatif. Le rapport entre activité et antigène permet ainsi de définir les types de maladie de willebrand : type 1 (déficit quantitatif partiel), type 2 (déficit qualitatif) et type 3 (déficit quantitatif total). Des tests spécialisés permettent également d'étudier la liaison du vWF au FVIII, la liaison vWF au collagène, ou encore les multimères de haut poids moléculaire (51). Les sujets de groupe O ont des taux plus faibles, mimant une maladie de Willebrand de type 1 d'un point de vue biologique (52). Le déficit en vWF, qualitatif ou quantitatif, peut être congénital ou acquis. La maladie de Willebrand est la plus fréquente des maladies hémorragiques constitutionnelles, avec une prévalence d'environ 1 % dans la population générale. En revanche, le syndrome de Willebrand acquis est beaucoup rare, avec une prévalence estimée à 0.04 % de la population générale (53). La taille des multimères joue un rôle majeur. Lorsque les multimères de haut poids moléculaire sont absents, la liaison du vWF à la GPIb est diminuée. Le vWF interagit aussi avec le FVIII et est essentiel à sa fonction et à sa durée de vie dans la circulation. La liaison du vWF au FVIII inhibe l'interaction entre le FVIII et différentes protéases, le protégeant ainsi de la protéolyse plasmatique (54). La régulation du vWF s'effectue par la métallo-protéase ADAMTS13 (*A Disintegrin And Metalloprotease*

with *Thrombospondin type 1 motif, member 13*), essentiellement synthétisée par le foie mais aussi par les cellules endothéliales, les mégacaryocytes et les plaquettes. Cette métallo-protéase clive le vWF au niveau de son domaine A2 entre la tyrosine 1605 et la méthionine 1606. Le clivage du vWF par cette enzyme ne s'effectue que si le site « Tyrosine-méthionine » est exposé, soit de façon moléculaire par la liaison du vWF à la GPIb plaquettaire, ou au collagène, soit de façon mécanique par de hautes forces de cisaillements (55). Chan *et al.* montre que plus l'exposition du vWF à de hautes forces de cisaillements est longue, plus la perte des multimères de haut poids moléculaire (et donc d'activité) est importante, mimant ainsi une maladie de Willebrand de type 2, c'est-à-dire un déficit qualitatif (56). L'impact clinique de cette altération du vWF liée aux forces de cisaillements élevées est mal évalué. Une étude menée sur 32 patients sous ECMO a permis d'observer l'acquisition d'une maladie de Willebrand biologique par perte des multimères de haut poids moléculaire chez 31 d'entre eux, soit 97 %. Cependant, chez les 22 patients ayant présenté une symptomatologie hémorragique, la gravité des saignements n'était pas corrélée à l'importance du déficit en vWF. L'acquisition d'un déficit qualitatif en vWF lors des ECMO n'explique pas à lui seul les complications hémorragiques observées mais peut contribuer à l'augmentation du risque hémorragique et son aggravation (57).

C. ANTICOAGULATION SOUS ECMO

Comme décrit précédemment, l'ECMO induit une hypercoagulabilité et une anticoagulation adaptée est nécessaire pour prévenir la survenue de thromboses. L'héparine non fractionnée (HNF) est l'anticoagulant de référence. Son délai d'action rapide, son coût, sa disponibilité, sa $\frac{1}{2}$ vie courte de 90 minutes et sa réversibilité par la protamine (par formation d'un complexe inactif) en font un traitement de choix. L'héparine est un mélange de chaînes glycosaminoglycanes possédant une forte affinité pour l'antithrombine, *via* sa séquence pentasaccharidique présent sur environ un tiers de la molécule, et potentialise son action d'un facteur 1000. L'action inhibitrice de l'héparine est donc fortement dépendante de la concentration d'antithrombine. Les principales cibles du complexe héparine-antithrombine sont le facteur Xa et la thrombine. Le mécanisme d'action anticoagulante des chaînes d'héparine dépend de leur masse moléculaire. Les chaînes de masse moléculaire inférieure à 5,4 kDa (16 à 18 unités

saccharidiques) ont une activité essentiellement anti-facteur X activé (anti-Xa), tandis que les chaînes de masse moléculaire supérieure ont également une activité anti-facteur II activé (antithrombine ou anti-IIa). L'HNF a donc un rapport anti-Xa / anti-IIa = 1 alors que les héparines de bas poids moléculaire (HBPM) ont un rapport anti-Xa / anti-IIa qui varie entre 2 et 4 selon les molécules. L'héparine inhibe également le facteur tissulaire par stimulation du TFPI (58).

Selon les recommandations 2014 de l'ELSO, un bolus d'HNF de 50 à 100 UI.kg⁻¹ est administré au moment de la cathétérisation. Le bolus peut être ajusté selon des facteurs cliniques propres au patient, comme un saignement préexistant ou une chirurgie récente. L'HNF est ensuite administrée en perfusion continue à la seringue électrique (59). L'efficacité de l'anticoagulation est évaluée par des tests biologiques.

Les circuits d'ECMO sont également recouverts avec de l'HNF par liaison covalente, polymérisation ou interaction ionique, permettant une diminution de la génération de thrombine et de l'adhésion plaquettaire. Une réduction de la réaction inflammatoire et de l'activation de la voie alterne du complément et des polynucléaires neutrophiles a également été observée (60).

Malgré les recommandations proposées par l'ELSO en 2014 (59), les tests biologiques utilisés pour le suivi des héparinothérapies des patients sous ECMO restent pays et centres dépendantes (61). Une enquête internationale récente, réalisée dans 47 centres chez des patients adultes, révèle que l'Activated Clotting Time (ACT) et le temps de céphaline avec activateur (TCA) sont les plus utilisés (41 % respectivement). L'utilisation de la viscoélastométrie (TEG® ou ROTEM®) était anecdotique (<5 %) (61).

- **Activated Clotting Time (ACT)**

L'ACT est un test réalisé sur sang total, permettant d'explorer globalement la coagulation. Un échantillon de sang total est placé en contact d'un activateur de la phase contact (célite ou kaolin), et le temps de coagulation est mesuré. Du fait de sa réalisation en sang total, ce test est sensible à de nombreux paramètres tels qu'une hémodilution, l'origine du sang (artériel ou veineux), une hypothermie, une thrombopénie ou thrombopathie, l'âge du patient, une coagulopathie ou un syndrome inflammatoire. Bien qu'il soit le test le plus

répandu, il n'est pas recommandé de l'utiliser seul dans la surveillance des patients sous ECMO (59,61).

- **Temps de céphaline avec activateur (TCA)**

Le TCA correspond au temps de coagulation d'un plasma déplaqueté citraté recalcifié en présence d'un activateur de la voie contact. La cible thérapeutique utilisée par la majorité des centres d'ECMO adulte est de 60 à 80 secondes (54 % des centres), ou 40 à 60 secondes (31 % des centres) (61). Les recommandations de l'ELSO 2014 ne donnent pas de cible thérapeutique. En revanche ils préconisent « l'établissement de cibles thérapeutiques, propres aux centres d'ECMO et à leur laboratoire, afin de compenser les variations dues aux réactifs utilisés pour le dosage du TCA » (59). Cependant, le TCA peut s'allonger indépendamment de la présence d'héparine : présence d'un anticoagulant circulant de type lupique, insuffisance hépato-cellulaire, déficit isolé en facteur (acquis ou constitutionnel), coagulation intravasculaire disséminé. De plus, un syndrome inflammatoire avec une élévation du FVIII et du fibrinogène va raccourcir le TCA. Ces possibles sources de variations ne doivent pas être méconnues lors de l'interprétation du TCA.

- **Activité anti-Facteur X activé (Activité anti-Xa)**

L'activité anti-Xa ne mesure pas la concentration en héparine, mais mesure la capacité de l'héparine à catalyser le FXa en présence d'AT. A l'inverse du TCA et de l'ACT, l'activité anti-Xa n'est pas influencée par une coagulopathie, une thrombopénie ou une hémodilution. L'activité anti-Xa de l'HNF étant AT dépendante, il est préférable d'utiliser un réactif sans ajout d'AT exogène, de façon à ne tenir compte que de l'AT du patient. La mesure de l'activité anti-Xa repose sur la colorimétrie : une hyperlipidémie, une hyperbilirubinémie ou un taux de Pfhb augmenté peuvent être source d'interférences (62). Sur des données uniquement pédiatriques, l'ELSO propose une cible thérapeutique de 0.3-0.7 UI.mL⁻¹ au cours des ECMOs (59,63). Chez l'enfant, comparé à l'ACT et au TCA, l'activité anti-Xa semble mieux corrélée à la dose d'HNF administrée (64). Chez l'adulte, il n'y a pas de données robustes sur l'impact de l'utilisation de l'anti-Xa pour la titration de l'HNF. Dans une étude menée chez 22 patients bénéficiant d'une ECMO (majoritairement

veino-veineuse), l'activité anti-Xa était faiblement corrélée à l'ACT et au TCA, mais pas à la survenue d'une complication hémorragique. En revanche, des taux faibles d'anti-Xa (0.33 UI.mL^{-1} [95% CI (0.27-0.39)], $p=0.0031$) étaient associés à la survenue de thromboses veineuses (65). L'adaptation des doses d'HNF per-ECMO selon la mesure de l'activité anti-Xa pourrait permettre de réduire la morbidité, cependant les valeurs cibles restent à définir. Chez l'adulte, des études prospectives sur de larges cohortes sont nécessaires pour évaluer précisément le rôle de l'activité anti-Xa dans la surveillance des patients sous ECMO.

3. PARAMETRES BIOLOGIQUES D'INTERET DANS L'ECMO

L'interaction entre le sang et la surface non biologique du circuit induit des changements majeurs dans la régulation de l'hémostase du patient. Ces modifications peuvent engendrer des complications notamment thrombotiques. Plusieurs marqueurs biologiques pourraient permettre d'identifier ces changements.

A. D-DIMERES

Les D-Dimères sont les produits de dégradation de la fibrine insoluble stabilisée par le FXIIIa lors de l'activation de la coagulation. La molécule de fibrinogène, synthétisée par le foie et les mégacaryocytes, est une structure allongée de 45 nm qui possède deux domaines D terminaux, chacun reliés à son domaine E central (figure 9). Cette molécule est constituée de 3 paires de chaînes peptidiques homologues (alpha, bêta et gamma) liées entre elles par des ponts disulfures. Le centre de la molécule contient 2 fibrinopeptides, A et B, (FPA et FPB), correspondant respectivement aux parties N-terminal des chaînes alpha et bêta, et est fortement chargé négativement. Cette région négative permet à la protéine d'être hydrosoluble et entraîne une répulsion des molécules de fibrinogène entre elles (figure 9).

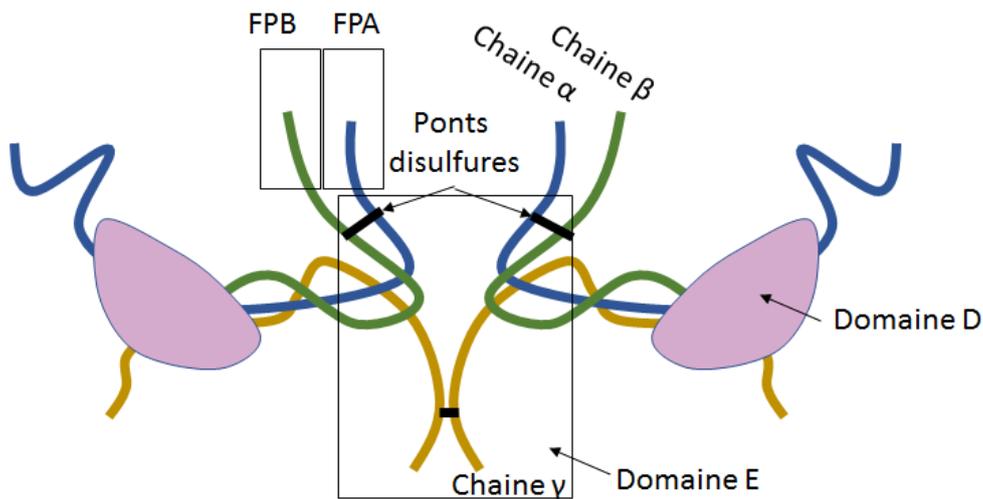


FIGURE 9. SCHEMA DE LA MOLECULE DE FIBRINOGENE.

FPA : Fibrinopeptide A ; FPB : Fibrinopeptide B

Lors de l'activation de la coagulation, la thrombine clive la partie N-terminale des chaînes alpha et bêta. Les fragments FPA et FPB sont éliminés, permettant l'exposition de sites de polymérisation E_A et E_B . Ces sites vont ensuite se lier aux domaines D complémentaires, à savoir D_A et D_B . Cette liaison permet le rapprochement des domaines D et de leurs chaînes gamma, le FXIIIa pouvant ainsi catalyser la formation de dimère de chaîne gamma, créant ainsi des liaisons de covalences entre les molécules (66). L'association de 2 domaines D liés de la sorte forme les D-Dimères. Cette structure correspond à la fibrine insoluble. Par la suite, la plasmine formée par l'activation du plasminogène à la surface du réseau de fibrine clive cette dernière à différents endroits. Les produits de dégradation obtenus sont variables, l'exposition de l'épitope de l'antigène de D-Dimères est le résultat final de cette dégradation, la plasmine ne pouvant refaire les liaisons de covalences établies. Les D-Dimères sont indétectables avant l'action de la plasmine (67) (figure 10). La méthode de dosage est détaillée dans le chapitre « *Matériel et méthodes 2.B.3 Hémostase spécialisée* ».

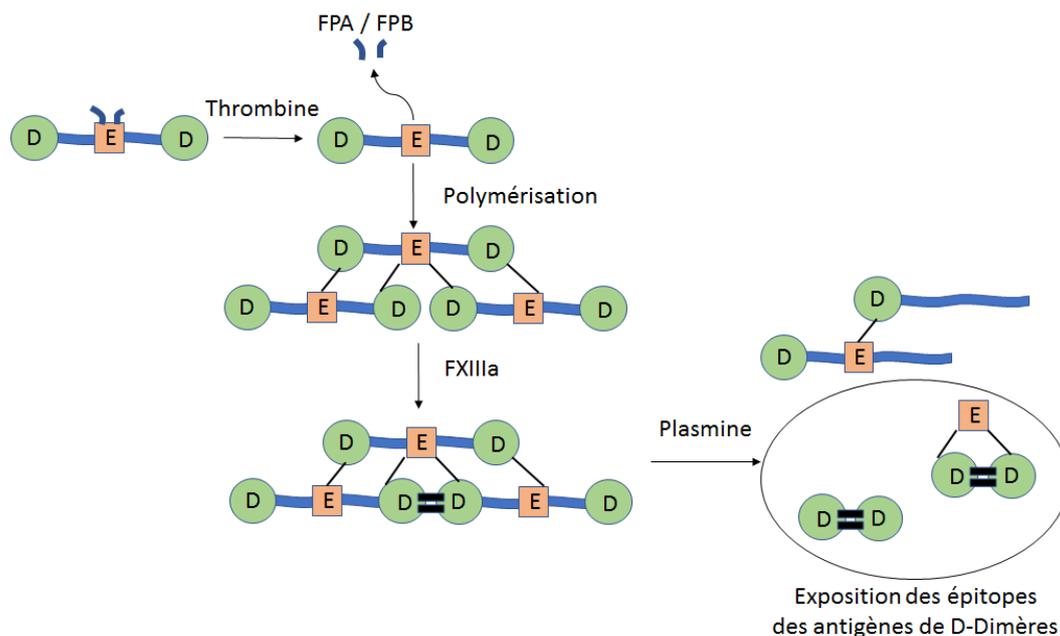


FIGURE 10. SCHEMA DU PROCESSUS DE POLYMERISATION DE LA FIBRINE ET DE SA DEGRADATION.
(ADAM ET AL., BLOOD, 2009 (67))

Les D-Dimères sont donc le reflet d'une activation de la coagulation et donc de la présence potentielle d'un thrombus.

L'intérêt du dosage des D-Dimères, avec sa haute valeur prédictive négative au seuil à $500 \mu\text{g.L}^{-1}$, est désormais clairement démontré dans l'exclusion des thromboses veineuses profondes (68). Cependant plusieurs situations physiopathologiques sont sources d'augmentation des D-Dimères : une chirurgie, un cancer actif, une grossesse, un état inflammatoire, une drépanocytose ou encore une immobilisation prolongée. On note aussi une élévation des D-Dimères concomitante à l'âge du patient et un taux basal de D-Dimères élevés dans certaines ethnies (69).

Dans le contexte très particulier de l'ECMO, la cinétique des D-Dimères pourrait permettre de détecter précocement un phénomène thrombotique. Une augmentation des D-Dimères est le témoin de la formation d'un thrombus, et pourrait donc permettre de prédire la survenue d'un évènement thrombotique nécessitant le remplacement en urgence du circuit. Dans une étude rétrospective, les D-Dimères ont été étudiés chez 24 patients adultes bénéficiant d'une ECMO VV et ayant nécessité au moins un changement d'oxygénateurs (37). Treize patients avaient des D-Dimères élevés persistants (moyenne : $340\,000 \mu\text{g.L}^{-1}$ [248 000- 350 000]), non modifiés par le changement d'oxygénateur. Les

auteurs rapportaient ces taux élevés au contexte sous-jacent (sepsis, chirurgie majeure récente, polytraumatisme ou encore embolie pulmonaire). Onze patients avaient un taux basal de D-Dimères plus faible (moyenne : 150 000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [90 000 – 200 000]), qui augmentait significativement (moyenne : 300 000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [210 000 – 350 000] ($p < 0.002$)) dans les 3 jours précédents un changement d'oxygénateur. Après procédure, une franche diminution des D-Dimères était observée (moyenne : 130 000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [70 000 – 170 000] ($p = 0.003$)), dans les 24 heures. Cette fluctuation des D-Dimères s'accompagnait d'une diminution des plaquettes avant le changement d'oxygénateur et d'une augmentation après (37).

Ainsi, dans l'étude de Dornia *et al.* (38) portant sur 13 patients, une augmentation significative des D-Dimères en l'absence d'étiologie évidente conduisait à un changement d'oxygénateur (38). Le seuil n'est pas précisé, mais les auteurs rapportent un taux moyen basal de 11 500 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [6 500 – 15 500], augmentant significativement jusqu'à une moyenne de 35 000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [34 000 – 35 000] ($p < 0.001$) juste avant changement d'oxygénateur. Après procédure, les D-Dimères diminuaient significativement dans les 2 jours (moyenne : 12 000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [8 000 – 16 000] ($p = 0.004$)). L'analyse par tomodensitométrie des oxygénateurs a systématiquement retrouvé un thrombus, d'un volume de 16 à 106 cm^3 . Le volume du caillot était significativement plus important chez les patients ayant bénéficié d'un changement d'oxygénateur tardif (D-Dimères augmentés depuis plus de 2 jours).

B. FACTEUR VIII

Le FVIII est une glycoprotéine, synthétisée sous forme d'un précurseur de 330 kDa rapidement clivé pour donner une molécule bicaténaire formée par une chaîne lourde et une chaîne légère liant le vWF. Le FVIII est essentiellement synthétisé dans les cellules hépatiques et au sein des cellules endothéliales. Cette molécule est transportée dans le plasma sous forme de complexe non covalent avec le vWF, qui le protège de la protéolyse. La demi vie du FVIII est de 12 heures et son inactivation est due à la protéolyse par le FXa en FVIIIa ou par la protéine C activée après dissociation du complexe vWF/FVIII par la thrombine (70). Un déficit en FVIII peut être observé dans l'hémophilie A acquise ou

congénitale, chez les patients atteints de maladie de Willebrand, et dans l'insuffisance hépatique.

La méthode de dosage du FVIII est détaillée dans le chapitre « *Matériel et méthodes 2.B.3 Hémostase spécialisée* ». Les valeurs normales du facteur VIII sont comprises entre 50 et 150 %. La régulation du FVIII circulant est complexe, et va aussi dépendre du taux de vWF (71) et du groupe sanguin (52). Le taux de FVIII augmente dans de nombreuses situations physiopathologiques telles que l'âge, la grossesse, les états inflammatoires ou lors lésions endothéliales (72).

Plusieurs études ont fait le lien entre un taux élevé de FVIII et la survenue d'évènements thrombotiques : selon Koster *et al.* , une élévation constante et persistante du FVIII au-delà de 150 UI.dL⁻¹ augmente le risque de thrombose veineuse et artérielle, avec un OR = 4.8 [95 % IC (2.3 - 10.0)] (73). L'implication du taux élevé de FVIII dans la thrombogénèse reste inexpliquée. Dans le contexte très particulier de l'ECMO, l'éventuel impact d'un FVIII élevé dans la survenue d'un évènement thrombotique n'a, à notre connaissance, jamais été étudié.

C. ANTITHROMBINE

L'AT est une glycoprotéine plasmatique monocaténaire de 58 kDa appartenant à la famille des inhibiteurs des sérine-protéases (ou serpinés). Les inhibiteurs de cette famille se distinguent par leur mécanisme d'action. En effet, ils présentent, sur une boucle réactive très exposée, une séquence pseudo-substrat qui interagit avec la protéase cible. Cette interaction déclenche un changement de conformation irréversible de la serpine qui permet de piéger l'enzyme au sein d'un complexe inactif. L'inhibiteur perd donc son activité. Dans le cas de l'AT, la fixation de l'héparine ou de ses dérivés permet une exposition optimale de la boucle réactive, tandis que la formation du complexe avec la thrombine ou le FXa inactive irréversiblement l'inhibiteur. Les changements de conformation de l'AT permettent de réguler son activité inhibitrice (74).

L'AT est synthétisée dans les hépatocytes, sa concentration plasmatique est de 120 à 150 mg.L⁻¹. En conditions normales, sa demi-vie est de 2 à 3 jours, mais est réduite en quelques heures en cas de CIVD. Outre la thrombine, cet inhibiteur « à large spectre » inactive le FXa et à un degré moindre, plusieurs autres protéases de la coagulation comme le facteur IXa, VIIa, XIa et XIIa en formant un complexe équimoléculaire irréversible qui

se fixe sur des récepteurs hépatocytaires et est ainsi éliminé. L'héparine amplifie considérablement la vitesse d'interaction de l'AT avec les protéases activées de la coagulation d'un facteur 1000 (74). Son dosage porte le plus souvent sur son activité biologique et les résultats sont exprimés en pourcentage d'activité par rapport à un plasma témoin. Les valeurs normales sont comprises entre 80 à 120 %.

La prévalence des déficits constitutionnels en AT dans la population générale est estimée entre 1/5 000 à 1/10 000. On distingue deux types, l'un par défaut qualitatif, l'autre par défaut quantitatif, pouvant être responsables de complications thromboemboliques et faisant partie du bilan de dépistage de thrombophilie (75). Les déficits acquis sont plus fréquents et peuvent être dus à une insuffisance hépatique ou une consommation par CIVD ou par une héparinothérapie prolongée (76).

Dans le contexte de l'ECMO, un déficit acquis multifactoriel en AT est observé : hémodilution, activation de la coagulation par contact du sang avec les surfaces artificielles, héparinothérapie prolongée (qui « consomme » l'AT et peut induire une héparino-résistance). Dans le contexte de la CEC, l'administration d'AT recombinante est suggéré pour pallier ce déficit acquis, ce qui diminuerait la consommation de facteurs, de plaquettes, et potentiellement la réponse inflammatoire et éviterait une anticoagulation inadaptée (77). Deux études pédiatriques montrent qu'une supplémentation en AT (lors de déficit acquis < 70%) ne semble pas prévenir des défaillances de circuits ECMO (78,79). Chez l'adulte, à notre connaissance, le lien entre taux d'AT et survenue d'un évènement thrombotique n'a jamais été évalué.

D.FACTEUR VON WILLEBRAND

Un taux élevé persistant de vWF (supérieur à 126 UI.L⁻¹) semble associé à un sur-risque modéré de thrombose artérielle ou d'accident vasculaire cérébral ischémique (selon les études, OR 1.16 [1.10 – 1.22] à 1.5 [1.1 – 2.0] (80). Les mécanismes impliqués restent inconnus. Par ailleurs, une augmentation de vWF peut être observée lors de lésions endothéliales ou d'un état inflammatoire, par libération de vWF par les corps de Weibel-Palade. De fait, une augmentation du vWF est attendue chez les patients sous ECMO. A notre connaissance, aucune étude n'a évalué l'impact d'un taux élevé de vWF sur l'apparition de complications thrombotiques chez les patients sous ECMO.

E. ACTIVITE ANTI-XA

Comme décrit dans le chapitre « 2.C. Anticoagulation sous ECMO », les modalités de surveillance de l'anticoagulation per-ECMO ne sont pas standardisées du fait de l'absence de données robustes. L'effet anticoagulant optimal requis pour assurer une anticoagulation adéquate sous HNF, chez les patients sous ECMO, n'est pas clairement établi.

Dans une étude pédiatrique (n=62), les 17 enfants ayant eu un remplacement de circuit lié à un évènement thrombotique avaient une activité anti-Xa significativement plus faible que les enfants sans évènement (respectivement 0.13 UI.mL^{-1} [95 % IC (0.12 - 0.14)]) et 0.20 UI.mL^{-1} [95 % IC (0.16 - 0.24)]) (81). De même, chez l'adulte, des taux faibles d'anti-Xa (0.33 UI.mL^{-1} , 95 % IC (0.27-0.39), $p=0.0031$) étaient associés à la survenue de thromboses veineuses (65).

F. FIBRINOGENE

Le fibrinogène plasmatique est synthétisé et sécrété par les cellules du parenchyme hépatique. Les concentrations normales de fibrinogène sont comprises entre 2 et 4 g.L^{-1} et sa demi-vie est de 3 à 5 jours. La synthèse du fibrinogène augmente à la suite d'un stress, au cours de la grossesse, ou lors d'états inflammatoires ou infectieux.

Des taux élevés de fibrinogène peuvent générer un état d'hypercoagulabilité par augmentation de la réactivité et de la vitesse d'agrégation plaquettaire. Un ajout de fibrinogène à du sang total augmente les capacités de dégranulation des plaquettes *in vitro* (82). *In vitro*, un taux élevé de fibrinogène renforce la structure du caillot, par augmentation de sa densité, et sa résistance à la fibrinolyse (83). La *Leiden Thrombophilia Study* (LETS) révèle que les patients ayant un taux de fibrinogène supérieur à 5 g.L^{-1} ont 4 fois plus de risque de thrombose veineuse que la population générale. Le fibrinogène était cependant dosé après la survenue de l'évènement thrombotique, donc probablement influencé par la réponse inflammatoire concomitante au processus thrombotique (84).

Dans le contexte de l'ECMO, une augmentation du fibrinogène est attendue, liée au contexte sous-jacent (stress et inflammation). A notre connaissance, le lien entre taux de

fibrinogène plasmatique et survenue d'un évènement thrombotique sous ECMO n'a pas été étudié.

G. PLAQUETTES

Les plaquettes sont de petits éléments cellulaires, discoïdes, anucléés, d'environ 2-3 µm de diamètre. Les valeurs normales sont comprises entre 150 et 400 G.L⁻¹. L'ECMO, *via* les multiples surfaces artificielles, active les plaquettes qui sont éliminées précocement (thrombopénie par consommation) (49). Les plaquettes activées forment également des micro-agrégats plaquettaires et libèrent des facteurs pro-coagulants, générant un état prothrombotique (48,49).

L'étude de Lubnow *et al.* met en évidence une chute des plaquettes concomitante à l'augmentation des D-Dimères dans les 3 jours qui précède un changement d'oxygénateur, et note une augmentation des plaquettes (avec diminution des D-Dimères) après procédure (37). Cette diminution des plaquettes peut être le témoin d'une consommation par la formation d'un thrombus.

H. SCHIZOCYTES

Les schizocytes sont des fragments circulants d'hématies. Chez l'individu sain, ils sont absents. Le seuil de positivité est de 1 schizocyte pour 1000 hématies. Témoin incontournable des micro-angiopathies thrombotiques, ils sont la conséquence de la fragmentation mécanique des hématies sur des filaments de fibrine, des agrégats plaquettaires, ou des fuites valvulaires mécaniques (85).

Dans l'ECMO, étant donné les perturbations de flux sanguins, l'importance des surfaces artificielles, les micro caillots formés par les plaquettes activées, un taux significatif de schizocytes est attendu, majoré par la présence d'un thrombus dans le circuit.

I. HEMOGLOBINE LIBRE

Quand les hématies sont détruites dans le compartiment vasculaire (hémolyse intravasculaire), l'hémoglobine est libérée dans le plasma et est rapidement liée à

l'haptoglobine. Le complexe haptoglobine-hémoglobine est reconnu par un récepteur de surface des macrophages, ce qui provoque son endocytose et sa dégradation. La formation de grande quantité de complexe haptoglobine-hémoglobine va rapidement épuiser les réserves d'haptoglobine, et de l'hémoglobine libre (non complexée à l'haptoglobine) est retrouvée au niveau plasmatique. L'hème à fer ferreux Fe^{2+} , élément essentiel à la fixation de l'oxygène de l'hémoglobine, peut être oxydé en hème à fer ferrique Fe^{3+} , produisant de la méthémoglobine, et est alors libérée de l'hémoglobine pour se lier avec l'hémopexine circulante formant un complexe hème-hémopexine de haute affinité. L'hémopexine transporte l'hème vers les hépatocytes et macrophages, où le complexe hème-hémopexine est internalisé puis dégradé. L'hémoglobine libre et l'hème augmentent considérablement dans le plasma lorsque l'haptoglobine et l'hémopexine sont saturées (86).

La PfHb semble être prothrombotique, par des mécanismes multiples. Une concentration de PfHb $> 50 \text{ mg.dL}^{-1}$ favorise l'adhésion plaquettaire par interaction avec le domaine A1 du vWF soumis à de hautes forces de cisaillements (présentes dans l'ECMO), permettant à ce dernier de se fixer à la GPIb plaquettaire (87). Le vWF adsorbé à la surface artificielle interagit également avec la PfHb, adhérant ainsi les plaquettes et formant de large thrombus (87). Enfin, l'hémoglobine libre réagit également avec le NO : le NO est produit par l'endothélium et permet d'inhiber la vasoconstriction, l'activation et l'agrégation plaquettaire, et la libération de protéines pro-coagulantes ou inflammatoires. Lors d'une hémolyse intra vasculaire, il est oxydé en nitrate par son interaction avec la PfHb, diminuant ainsi ses capacités « anti-coagulantes » du NO (88).

La présence d'un taux significatif de PfHb est un phénomène fréquent dans l'ECMO (cf. chapitre « 1.D, Evènements indésirables, Hémolyse»). Chez les patients porteurs d'une ECMO, l'apparition d'un thrombus au sein de la tête de pompe est étroitement lié avec le taux d'hémoglobine libre (27). L'hémolyse mécanique est en effet exacerbée par la rotation du thrombus, l'augmentation des résistances et les modifications hémodynamiques engendrées. Les taux de PfHb retrouvés chez les patients sous ECMO sont, dans la grande majorité, inférieurs à 50 mg.dL^{-1} , entre 94 à 98 % des patients selon les études (28,34). Même si un taux de PfHb élevé de façon constante peut être observé chez certains patients, d'origine multifactorielle et pré implantatoire de l'ECMO, comme l'hémodialyse ou une malposition de canule (27), plusieurs études montrent une augmentation significative du taux de PfHb le jour avant l'apparition d'un thrombus au

niveau de la tête de pompe (27,28). Un pic de PfHb allant jusqu'à 10 fois le taux basal, peut être alors observé. En revanche, il est à noter une baisse significative, jusqu'à 6 fois, de ce pic, après changement du circuit (27). Selon Neal *et al.* une absence de diminution de ce pic de moitié ou du tiers à 12 heures, du changement de circuit, doit faire évoquer une autre cause à l'hémolyse et pousser les investigations (89). De plus, l'élévation de la PfHb semble être étroitement liée au taux de mortalité des patients. En effet, Lehle *et al.* montre une augmentation de l'OR de 1.054 [95 % IC (1.028 - 1.080)] par augmentation de 0.10 mg.dL⁻¹ de PfHb dans une cohorte de 318 patients (28). Dans une étude observationnelle portant sur 154 patients, un taux de PfHb > 50 mg.dL⁻¹ à 24h de la pose d'une ECMO est associé à une surmortalité avec un OR de 3.4 [95 % CI (1.3 - 8.8)], p=0.011) (90). Cependant, les conditions pré-analytiques doivent être respectées, notamment au moment du prélèvement, car une pression négative trop forte peut créer une hémolyse *in vitro*, et augmenter ainsi le taux de PfHb, à l'origine de faux positifs (89).

4. RATIONNEL DE L'ETUDE

Selon le rapport de juin 2017 de l'ELSO, 30 273 adultes ont bénéficié d'une assistance par ECMO, dont 13 712 pour défaillance pulmonaire, 12 566 pour défaillance cardiaque et 3 995 pour réanimation cardiopulmonaire externe, la majorité des ECMO étant implantées aux Etats-Unis (4). Ces chiffres sont en constante augmentation au fil des années.

La formation d'un thrombus au sein de l'oxygénateur ou du circuit est une complication grave de l'assistance par ECMO (39). L'apparition de thrombus dans l'appareil peut induire l'augmentation des résistances de flux et donc des pressions, réduire les échanges gazeux et donc causer une défaillance de l'oxygénateur, induire une activation de la coagulation ainsi que des complications thromboemboliques chez le patient (36). Un remplacement en urgence de l'oxygénateur ou de l'ensemble du circuit est alors indispensable, mais c'est une procédure risquée (instabilité hémodynamique, infection, hypoxie) et onéreuse. Actuellement, aucun marqueur biologique ne permet de prédire la survenue d'un thrombus au sein du circuit, ni d'en faire le diagnostic (établi souvent a posteriori ou de façon indirecte, sur un faisceau d'arguments tels que l'augmentation des

pressions, la vibration du circuit, une tête de pompe bruyante, ou la diminution des échanges gazeux post-oxygénéateur.

D'après les données de la littérature, l'ECMO induit les modifications biologiques importantes (notamment des acteurs de l'hémostase) potentiellement fortement prothrombotiques. Les surfaces artificielles activent la coagulation (augmentation des D-Dimères) et les plaquettes (consommées dans des micro-thrombi). L'hémorrhéologie particulière induite par le circuit, les lésions endothéliales qui en découlent, et le syndrome inflammatoire global peuvent induire une augmentation significative (potentiellement prothrombotique) du FVIII, du vWF et du fibrinogène, ainsi que l'apparition de schizocytes et de PfHb, dont les effets procoagulants sont bien décrits. Enfin l'héparinothérapie, dont l'intensité d'anticoagulation souhaitable reste à définir, induit une consommation de l'antithrombine. L'objectif de notre travail est d'étudier prospectivement ces paramètres biologiques (D-Dimères, FVIII, vWF, activité anti-Xa, AT, fibrinogène, plaquettes et schizocytes) chez des patients assistés par ECMO afin d'identifier des marqueurs biologiques prédictifs de thromboses.

MATERIEL ET METHODES

1. POPULATION ETUDIEE

A. CRITERES D'INCLUSION

D'avril 2015 à juillet 2016, tous les patients adultes ayant reçu une assistance par ECMO pendant au moins 24 h à l'hôpital Laënnec du CHU de Nantes ont été inclus de manière consécutive et prospective. Les paramètres cliniques et biologiques d'intérêt ont été relevés quotidiennement.

B. CONSIDERATIONS ETHIQUES

Il s'agit d'une étude non interventionnelle : aucun prélèvement supplémentaire n'a été effectué pour cette étude et les résultats des dosages réalisés dans le cadre de la recherche n'ont pas été communiqués au médecin prenant en charge le patient. La prise en charge habituelle des patients n'était pas modifiée.

Cette étude a reçu un avis favorable du Comité d'éthique de la Société Française d'Anesthésie Réanimation (SFAR) et fait l'objet d'une déclaration auprès de la Commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL). Les données recueillies au cours de l'étude seront conservées dans un fichier informatique respectant la loi « informatique et libertés » du 6 janvier 1978 modifiée en 2004.

2. ANALYSES BIOLOGIQUES

A. CONSTITUTION DE LA PLASMATHEQUE

Dans le cadre des soins nécessaires à la prise en charge de leur pathologie, les patients porteurs d'une ECMO bénéficiaient de multiples prélèvements sanguins. Une fois par jour

(prélèvement de mi-journée), le plasma restant (après réalisation des analyses nécessaires à la prise en charge du patient) était conservé :

- Echantillons d'hémostase : plasma CTAD (Citrates de sodium, Théophylline, Adénosine, Dipyridamole - Greiner Bio-One Vacuette®). Après double centrifugation (conforme aux recommandations du Groupe Français d'Etudes sur l'Hémostase et la Thrombose (GFHT), soit 2 500 g pendant 15 minutes à 20 °C), le plasma était congelé à -80 °C jusqu'à réalisation des analyses.
- Echantillons de biochimie : plasma hépariné (lithium d'héparine avec gel séparateur - Greiner Bio-One Vacuette®). Après double centrifugation à 2 200 g pendant 10 minutes selon les recommandations du Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) et du fournisseur, le plasma était congelé à -80 °C jusqu'à réalisation des analyses.

B. REALISATION DES DOSAGES BIOLOGIQUES

1) Hématologie cellulaire

• Plaquettes

La quantification des plaquettes a été réalisée sur un échantillon de sang total anticoagulé par EDTA (acide éthylène-diamine-tétra-acétique - Greiner Bio-One Vacuette®) par impédancemétrie sur un automate XE-2100 Sysmex®. Les cellules passent dans un flux de gainage à travers un orifice de comptage qui comprend deux électrodes. Lors du passage d'une cellule entre ces deux électrodes, il y a modification de l'impédance (résistivité) et donc du courant électrique. Une impulsion électrique est alors générée, dont l'importance est proportionnelle à la taille de la cellule. La discrimination des globules rouges et des plaquettes repose leur volume respectif. Les résultats sont exprimés en $G.L^{-1}$.

• Schizocytes

La détermination quantitative des schizocytes a été effectuée par comptage manuel en microscopie optique d'un frottis de sang total coloré par May-Grünwald-Giemsa (M.G.G) selon les recommandations de l'International Council for Standardization in Haematology (ICSH) (91) (figure 11). Les résultats sont exprimés en nombre de schizocytes pour 1000 hématies.

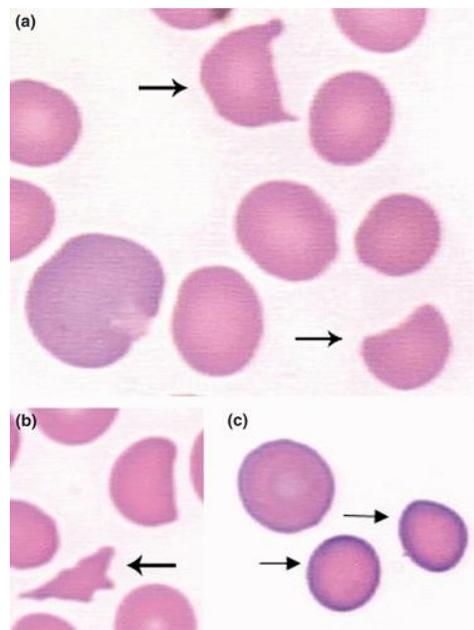


FIGURE 11. FORMES TYPIQUES POUR L'IDENTIFICATION DES SCHIZOCYTES.

(a) Haut : Hématie en casque, Bas : Hématie fragmentée ; (b) Hématie en triangle ; (c) Deux microsphérocytes formés par re-sphérisation d'une hématie fragmentée. (Zini *et al.*, International Journal of Laboratory Hematology, 2012 (91))

2) Hémostase générale

Les tests d'hémostase générale et spécialisée ont été réalisés sur un automate ACL TOP 500 CTS IL Werfen®.

• Fibrinogène

La détermination quantitative du fibrinogène a été effectuée par méthode chromométrique automatisée. Le kit de Fibrinogène-C HemosIL Werfen®, utilise un excès de thrombine pour convertir le fibrinogène en fibrine. A de fortes concentrations en thrombine et de faibles concentrations en fibrinogène, la vitesse de réaction est fonction de la concentration en fibrinogène (92). Le résultat est exprimé en $g.L^{-1}$.

• Activité anti-Xa

La détermination quantitative d'héparine a été effectuée par mesure de l'activité anti-Xa par méthode chromogénique automatisée (réactif BIOPHEN® Heparin LRT) (figure 12).

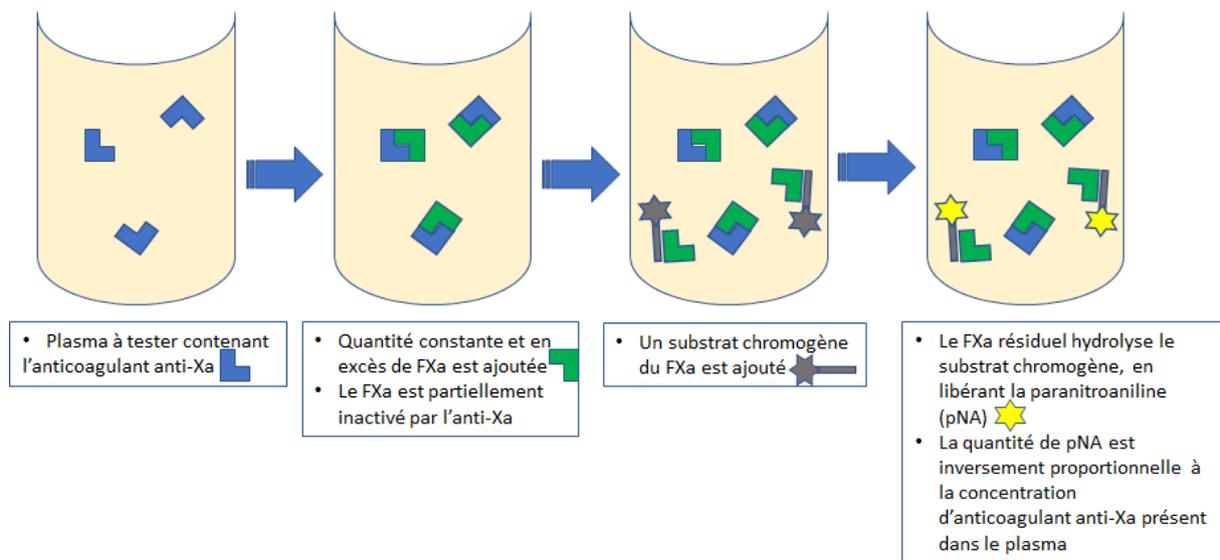


FIGURE 12. PRINCIPE DU DOSAGE DE L'ACTIVITE ANTI-XA DE L'HEPARINE.

L'absorbance mesurée est ensuite reportée sur une courbe de calibration, réalisée avec un plasma calibrant commercial contenant une concentration connue de l'anticoagulant à tester. Les résultats sont exprimés en Unités Internationales d'activité anti-Xa par mL ($UI.mL^{-1}$).

3) Hémostase spécialisée

Les tests d'hémostase spécialisée ont été réalisés en série, après décongélation des plasmas à 37 °C au bain-marie pendant 4 minutes.

Des contrôles de qualité interne conformes en début et en fin de chaque série permettaient de valider les résultats. Compte tenu des coûts élevés des techniques spécialisées, seuls les échantillons J+1, J+5 et J+10 de la pose d'ECMO ont été analysés. Chez les patients ayant présenté un évènement thrombotique, les échantillons des 2 jours précédant et succédant l'épisode ont également été analysés.

• D-dimères

La détermination quantitative des D-Dimères a été effectuée par méthode immunoturbidimétrique automatisée avec le réactif latex HemosIL D-dimer HS 500®. Le fragment F(ab')₂ d'un anticorps monoclonal (MA-8D3) hautement spécifique du domaine D-dimère est adsorbé sur des particules de latex de taille uniforme. L'utilisation du fragment F(ab')₂ permet une détection plus spécifique des D-dimères en éliminant les interférences liées à des facteurs endogènes tels que les facteurs rhumatoïdes. Il a été observé une très faible réactivité croisée de l'anticorps monoclonal MA-8D3 avec les produits de dégradation du fibrinogène dans des plasmas surchargés avec des concentrations supérieures à 10 µg.mL⁻¹ de fragments D et E purifiés.

Lorsqu'un plasma contenant des D-dimères est mélangé avec le réactif, les particules de latex agglutinent. L'importance de l'agglutination est directement proportionnelle à la concentration en D-dimères de l'échantillon et est déterminée en mesurant la diminution de la lumière transmise due à la formation d'agrégats. Les résultats sont exprimés en µg.L⁻¹.

• Facteur VIII

Le dosage de l'activité du FVIII a été effectué par méthode chromométrique automatisée. Le plasma du patient est mélangé à un plasma déficient en FVIII (Factor VIII deficient plasma IL Werfen®), contenant moins de 1 % de FVIII et un taux normal des autres facteurs de coagulation, et un TCA (SynthasIL® Werfen) est effectué sur le mélange. Le temps de coagulation du mélange est donc directement proportionnel à la concentration de FVIII apporté par le plasma patient. Ce temps de coagulation en seconde est reporté sur une droite de calibration, établie au préalable par des mesures de TCA sur des plasmas calibrants contenant des concentrations connues de Facteur VIII. Le taux de FVIII activité est exprimé en pourcentage de la normale.

La présence d'un anticoagulant circulant de type lupique peut interférer sur le dosage du FVIII, en allongeant artificiellement le TCA. Les dosages ont donc été réalisés en duplicate sur 2 dilutions différentes, afin de détecter cette éventuelle interférence.

• Antithrombine

Le dosage de l'AT activité a été effectué par méthode chromogénique automatisée (hemosIL Liquid Antithrombin Werfen®). Le plasma du patient est incubé avec du Facteur Xa exogène, en présence d'un excès d'héparine. Le complexe antithrombine-héparine, ainsi formé, inhibe le FXa. Le FXa résiduel réagit avec un substrat chromogénique Sxa-11, libérant de la paranitroaniline (pNA) qui est mesurée à 405 nm par un photomultiplicateur. L'activité FXa résiduelle, et donc la libération de pNA, est donc inversement proportionnelle à l'activité antithrombine de l'échantillon à tester. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la normale.

• VWF :RCO

La détermination quantitative de l'activité cofacteur de la ristocétine du Facteur von Willebrand a été effectuée par méthode immunoturbidimétrique automatisée (HemosIL von Willebrand Factor Ristocetin Cofactor Werfen®). Ce test repose sur la propriété de la

ristocétine d'entraîner un changement de conformation du vWF afin qu'il puisse interagir avec le complexe glycoprotéique GPIb-IX-V plaquettaire. Des particules de latex sont adsorbées avec un fragment recombinant de la glycoprotéine du récepteur plaquettaire du vWF (GPIb) par l'intermédiaire d'un anticorps monoclonal spécifique qui permet d'orienter le fragment GPIb afin qu'il puisse interagir avec le vWF de l'échantillon patient en présence de ristocétine. L'importance de l'agglutination est directement proportionnelle à l'activité en vWF de l'échantillon et est déterminée en mesurant la diminution de lumière transmise due à la formation d'agrégats.

4) Biochimie

• Hémoglobine libre

La détermination quantitative de la PfHb a été effectuée par méthode spectrophotométrique. La PfHb dans le plasma est à l'état oxydée, et présente des pics d'absorption minimum et maximum à respectivement 432 et 408 nm. Après décongélation, les échantillons ont été vortexés puis centrifugés à 2 200 g pendant 10 minutes. Après dilution du plasma au 1/11^{ème} (100 µL de plasma patient mélangé à 1000 µL de tampon phosphate), l'absorbance a été mesurée à 408 et 432 nm pour obtenir la densité optique (DO) de la forme oxydée. Deux milligrammes d'hydrosulfite de sodium ont ensuite été ajoutés directement dans la cuve, et l'absorbance à nouveau mesurée aux mêmes longueurs d'ondes, permettant d'obtenir la DO des formes réduites. La différence de DO des deux formes à ces deux longueurs d'onde permet le calcul de la concentration.

3. EVENEMENT THROMBOTIQUE

Un évènement thrombotique était défini comme :

- Un **évènement thrombotique « patient »** : accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique, embolie pulmonaire, ischémie de membre, ou un thrombus intracardiaque.

- Un évènement thrombotique « dispositif d'ECMO » : thrombose de circuit, thrombose de l'oxygénateur, ou encore un changement de circuit pour suspicion de thrombose (c'est-à-dire un changement de circuit suite à une anomalie observée par le perfusionniste telle qu'une vibration des lignes, la présence de fibrine sur oxygénateur ou une coagulation des circuits de pression, et/ou associé à une PfHb supérieure à 50 mg.dL⁻¹).

4. STATISTIQUES

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel GraphPad Prism 7.03®. Les valeurs sont présentées sous la forme moyenne [minimum – maximum]. Un test exact de Fisher a été utilisé pour définir la relation entre la survenue d'un évènement thrombotique et la mortalité. L'analyse statistique des paramètres a été effectuée en utilisant un test comparatif de Mann-Whitney sur données non appariées. L'analyse statistique de la cinétique des D-Dimères à J-2, J-1 et J+1, J+2 d'un changement d'oxygénateur (J0) a été réalisé par le test non paramétrique de données appariées de Friedman. La recherche d'un seuil pour chaque paramètre, permettant de prédire la survenue d'un évènement thrombotique par l'analyse à J1 des mesures, a été réalisé par courbes ROC (receiver operating characteristic), intervalle de confiance à 95 % autour de l'aire sous la courbe (AUC). Une aire sous la courbe se rapprochant de 1 correspond donc à un paramètre idéal, selon l'indice de Youden, (bonne sensibilité et bonne spécificité), en revanche si l'AUC comprend 0.5 alors le paramètre ne fait pas mieux que le hasard.

RESULTATS

1. DEMOGRAPHIE

D'avril 2015 à juillet 2016, tous les patients ayant bénéficié d'une ECMO pendant au moins 24h à l'hôpital Laënnec du CHU de Nantes ont été inclus de manière consécutive et exhaustive, soit 50 patients. L'âge moyen était de 50 ans (19 – 76 ans). Il s'agissait majoritairement d'hommes (70 %, n=35) (figure 13).

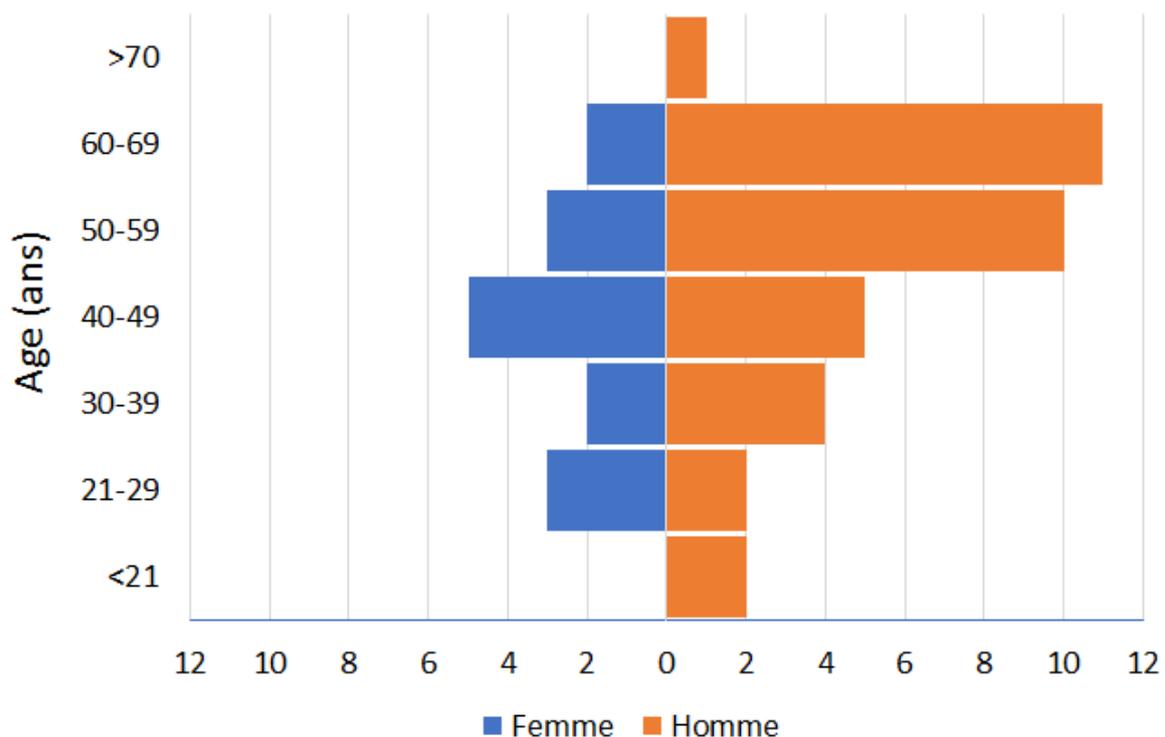


FIGURE 13. PYRAMIDE DES AGES DES PATIENTS INCLUS.

2. CARACTERISTIQUES CLINIQUES

A. INDICATIONS D'IMPLANTATION D'ECMO

Les pathologies ayant motivées la pose d'ECMO ont été classées en 4 catégories principales (figure 14) :

- **Après une chirurgie cardiaque (à l'exclusion des greffes)**, programmée (n=6) ou urgente (n=3) (valvuloplastie, fermeture de communication intra auriculaire, rupture de cordage, post opératoire d'une assistance ventriculaire gauche).
- **Après une greffe cardiaque ou pulmonaire**
- **Syndrome de détresse respiratoire aigüe (SDRA)** (sur abcès pulmonaire, hypertension artériopulmonaire, mucoviscidose, post lobectomie).
- **Choc cardiogénique** (myocardite, infarctus du myocarde, défaillance multiviscérale ou cardiomyopathie dilatée, prise de toxique, rétrécissement aortique (RA) serré).

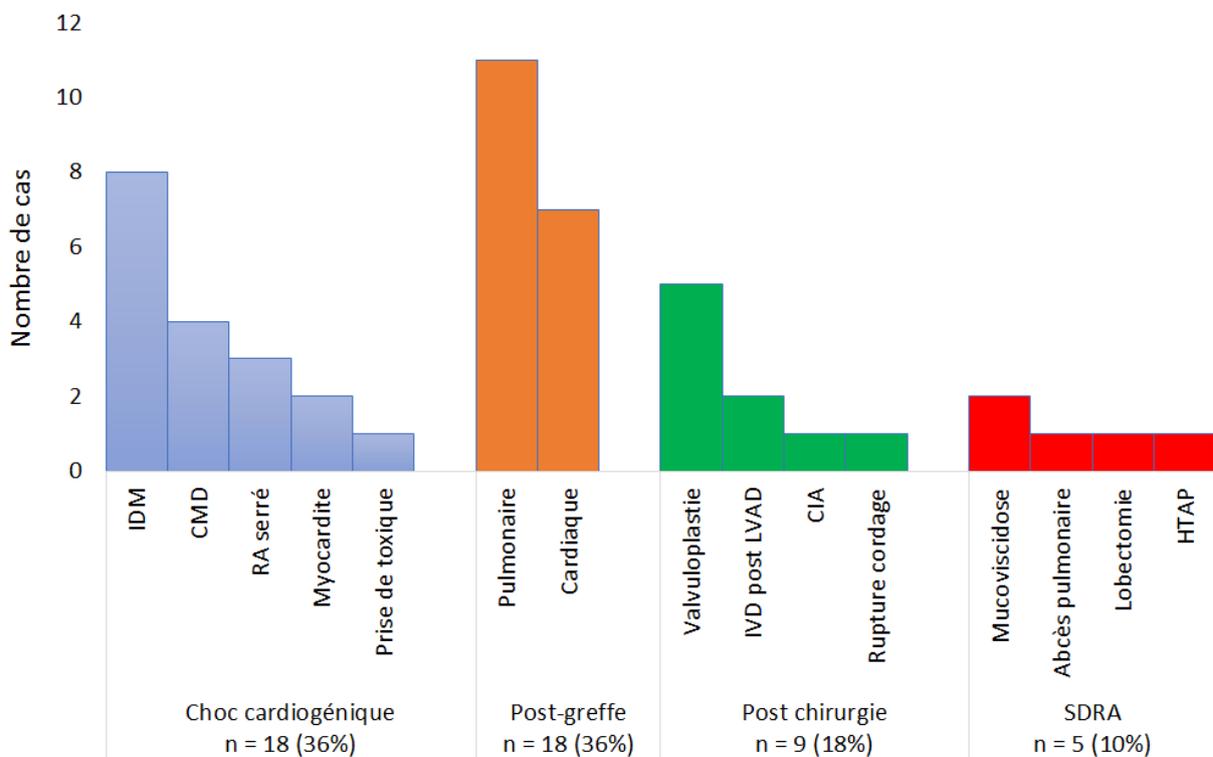


FIGURE 14. INDICATIONS DES ASSISTANCES PAR ECMO.

IDM : Infarctus du myocarde ; CMD : Cardiomyopathie dilatée ; DMV : Défaillance multiviscérale ; RA : Rétrécissement Aortique ; IVD post LVAD : Insuffisance ventriculaire droite post assistance ventriculaire gauche ; CIA : Communication intra auriculaire, SDRA : Syndrome de détresse respiratoire aigüe ; HTAP : Hypertension artérielle pulmonaire.

B. DUREE D'EXPOSITION

La durée moyenne de l'exposition à l'ECMO était de 10 jours (1 – 26), pour un total cumulé de 489 jours (figure 15).

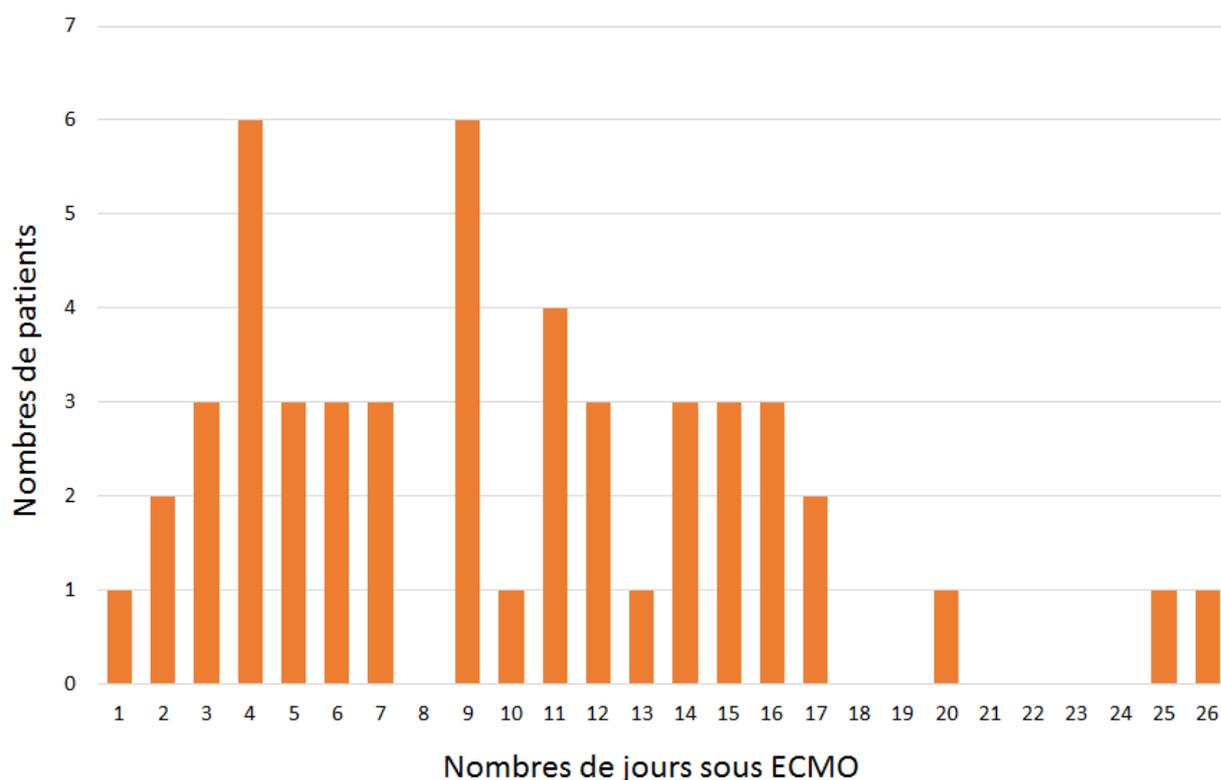


FIGURE 15. DUREE D'ASSISTANCE PAR ECMO.

C. TYPE D'ECMO

La grande majorité était de type VA (n=47, soit 84 %), dont 22 centrales (47 %), 25 périphériques (53 %). Seulement 9 ECMO étaient de type VV (16 %), dont 6 centrales (66 %) et 3 périphériques (44 %) (tableau 1).

3. EVENEMENTS INDESIRABLES

A. THROMBOSE « PATIENT »

Treize patients (26 %) ont présenté un évènement thrombotique « patient », détaillé dans la figure 16. Parmi ces 13 patients, 2 patients ont présenté 2 évènements et 1 patient 3 évènements, pour un total de 17 évènements. L'âge moyen de ces patients était de 52 ans

[37 – 68], 7 étaient des femmes et 6 des hommes, la majorité était sous ECMO pour choc cardiogénique (n = 7), puis en post greffe (n = 3), en post chirurgie (n = 2) et seulement 1 pour SDRA (tableau 1).

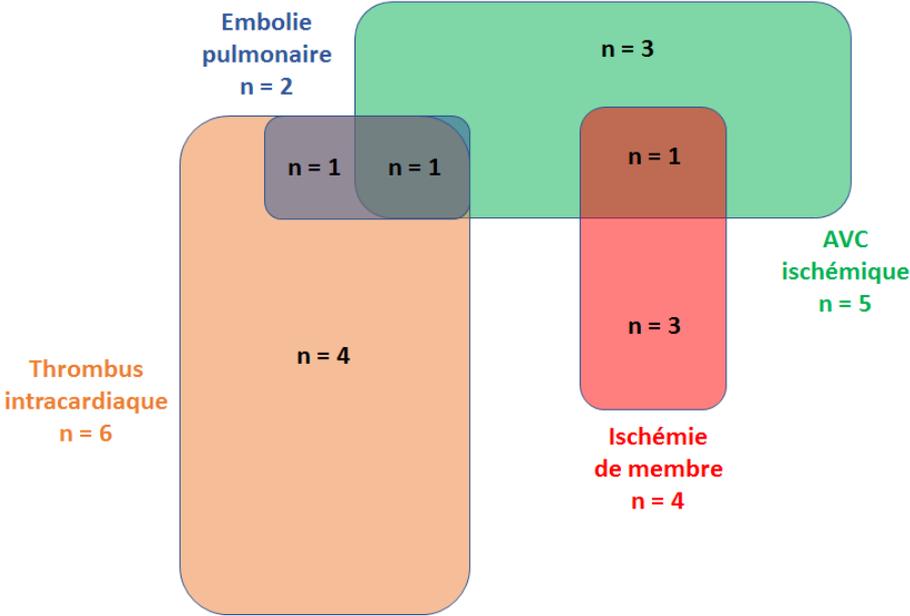


FIGURE 16. DETAIL DES 17 THROMBOSES "PATIENTS" SURVENUES CHEZ 13 PATIENTS.

AVC : Accident vasculaire cérébral.

L'évènement thrombotique survenait en moyenne 3 jours [1 – 7 jours] après l'implantation (figure 17).

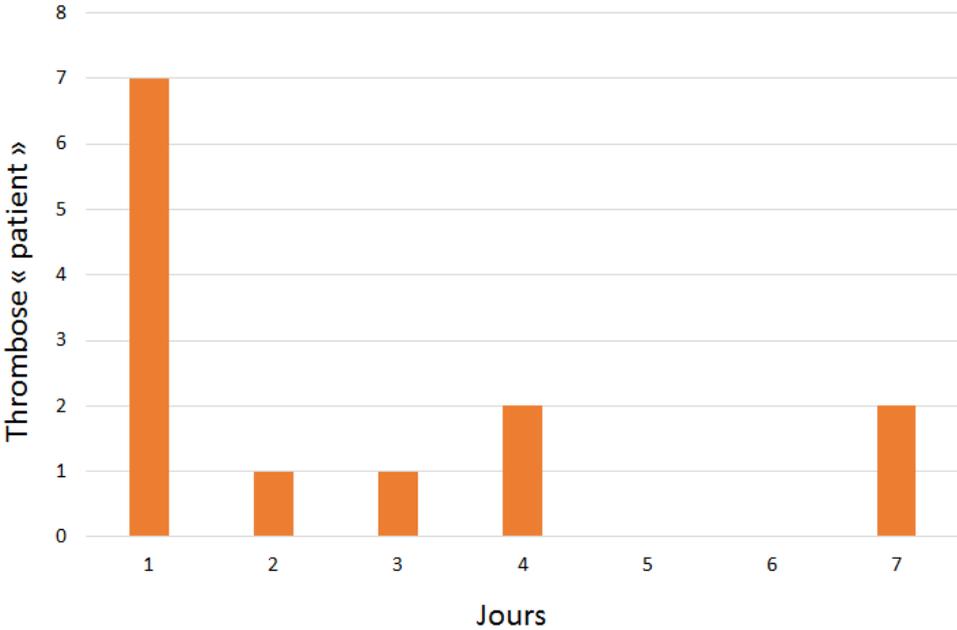


FIGURE 17. DELAI DE SURVENU DU 1ER EVENEMENT THROMBOTIQUE "PATIENT".

B. THROMBOSE « DISPOSITIF ECMO »

○ Thrombose de circuit

Une thrombose du circuit a été retrouvée chez 5 patients (10 %) :

- Dans 3 cas, un changement de circuit a été réalisé le jour même.
- Dans 2 cas, une thrombose « patient » était associée.

○ Thrombose d'oxygénateur

Un seul patient (2 %) a présenté une thrombose de l'oxygénateur, survenue 3 jours après implantation, associée à un changement de circuit et à une PfHb supérieur à 50 mg.dL⁻¹.

○ Changement de circuit pour suspicion de thrombose

Un changement de circuit a été nécessaire chez 31 patients (62 %), dont à 2 reprises chez 8 patients (16 %), à 3 reprises chez 3 patients (6 %) et à 4 reprises chez 1 patient (2 %), pour un total de 48 changements de circuit (dont 38 changements d'oxygénateurs) :

- Dans 8 cas (17 %) une anomalie simultanée était observée par le perfusionniste :
 - 3 cas (10 %) de coagulation des circuits de pression
 - 3 cas (6 %) de coagulation des circuits de pression et de présence fibrine sur oxygénateur
 - 2 cas (4 %) de présence de fibrine sur oxygénateur
 - Aucun cas de vibration des lignes
- Dans 11 cas (23 %), aucune anomalie n'était relevée par le perfusionniste
- Dans 29 cas (60 %), les données du perfusionniste, lors du changement de circuit ou d'oxygénateur, étaient manquantes.

Quinze (31 %) changements de circuit étaient associés à une mesure de PfHb supérieure à 50 mg.dL⁻¹.

Au total, 21 changements de circuit pour suspicion de thrombose (c'est à dire associés à une anomalie observée par le perfusionniste et/ou une PfHb élevée) ont été relevés chez

14 patients et identifiés comme évènements thrombotiques « dispositif ECMO » (figure 18).

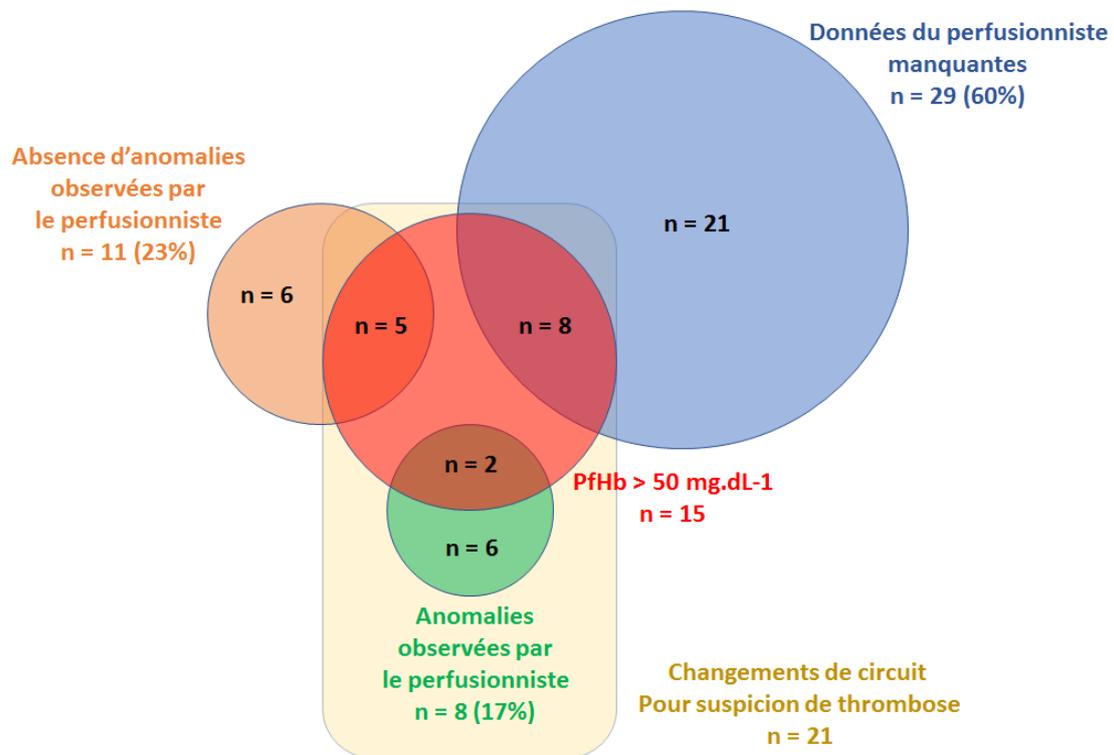


FIGURE 18. CARACTERISTIQUES DES 48 CHANGEMENTS DE CIRCUIT.

PfHb = hémoglobine libre plasmatique

Au total, une thrombose « dispositif ECMO » (thrombose de circuit et/ou de l'oxygénateur et/ou changements de circuit pour suspicion de thrombose) a été retrouvée chez 16 patients (32 %) (figure 19). L'âge moyen de ces patients était de 50 ans [25 – 69], 9 étaient des hommes et 7 des femmes. L'indication principale d'ECMO était la post-greffe (n = 6), puis un choc cardiogénique (n = 5), en post chirurgie (n = 4) et seulement 1 pour SDRA (tableau 1).

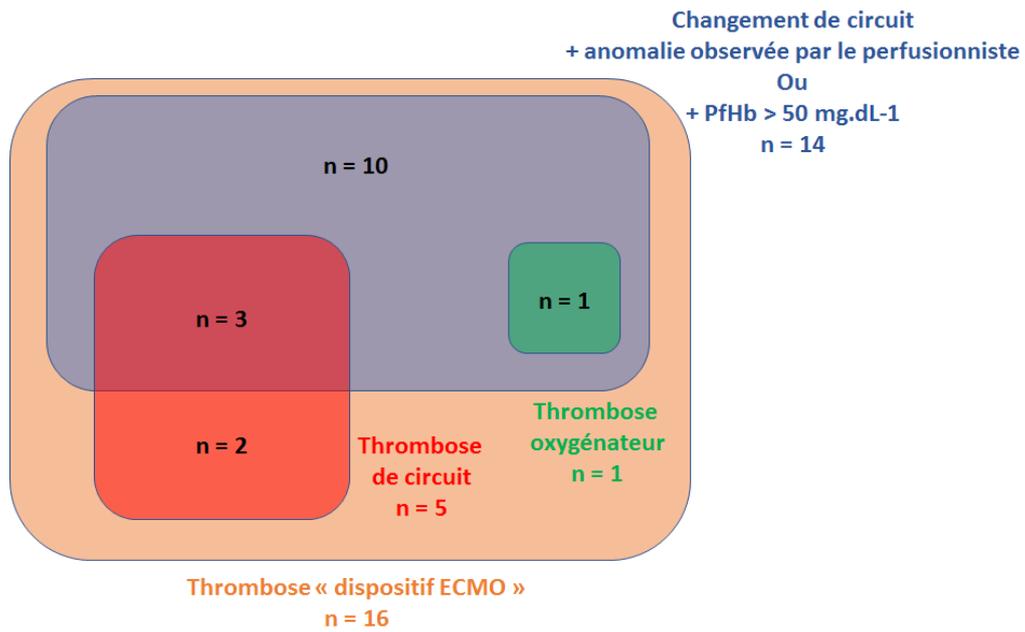


FIGURE 19. DETAILS DES 16 THROMBOSES "DISPOSITIF ECMO".

L'évènement thrombotique « dispositif ECMO » survenait en moyenne 5 jours [2 - 13] après l'implantation de l'ECMO (figure 20).

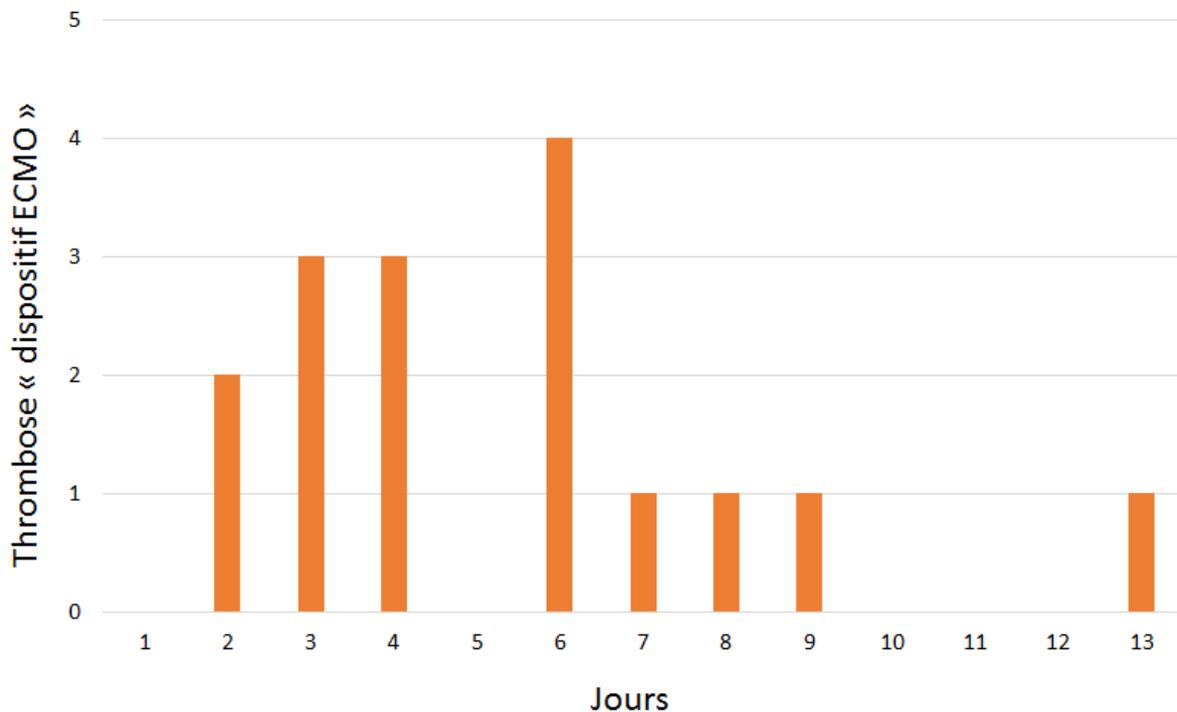


FIGURE 20. DELAI DE SURVENU DU 1ER EVENEMENT THROMBOTIQUE "DISPOSITIF ECMO".

C. THROMBOSE GLOBALE

Au total, 38 évènements thrombotiques (17 thromboses « patient » + 21 thromboses « dispositif ECMO ») ont été identifiés, chez 23 patients (48 %). Six patients ont présenté au moins 1 évènement thrombotique « patient » et 1 évènement thrombotique « dispositif ECMO » (figure 21). La moyenne d'âge était de 51 ans [25 – 69], 14 étaient des hommes et 9 des femmes. L'indication principale de l'ECMO était le choc cardiogénique (n = 10), puis la post greffe (n = 8), la post chirurgie (n = 4) et seulement 1 pour SDRA. Il n'a pas été observé de différences significatives entre les patients du groupe « thrombose » et ceux du groupe « sans thrombose » selon le sexe (p = 0.238), l'âge (p = 0.8), l'indication (p = 0.698) ou le type d'ECMO utilisé (VA ou VV) (p = 1) (tableau 1).

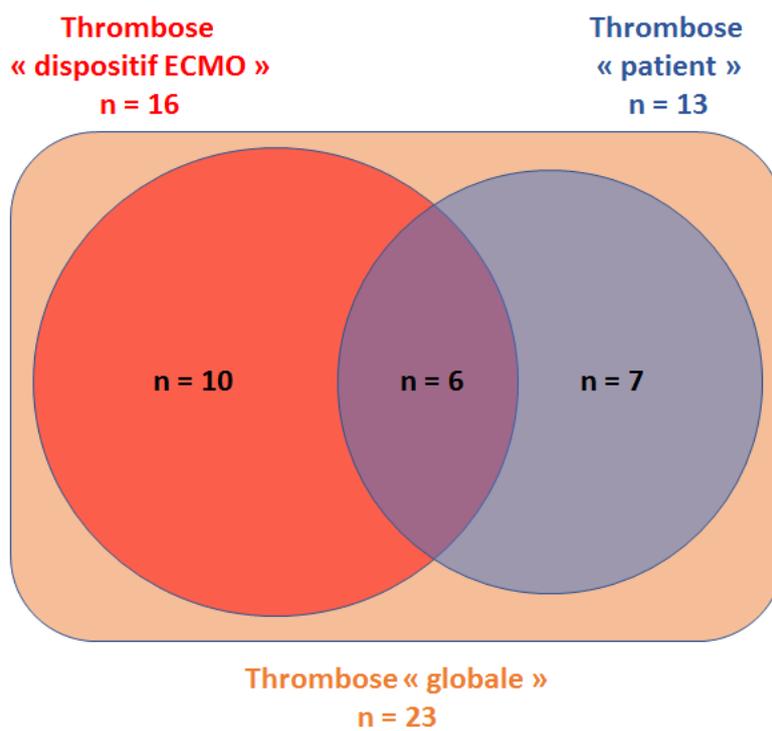


FIGURE 21. ENSEMBLES DES THROMBOSES "GLOBALES".

Le délai moyen de survenue était de 3.4 jours [1 – 9] (figure 22).

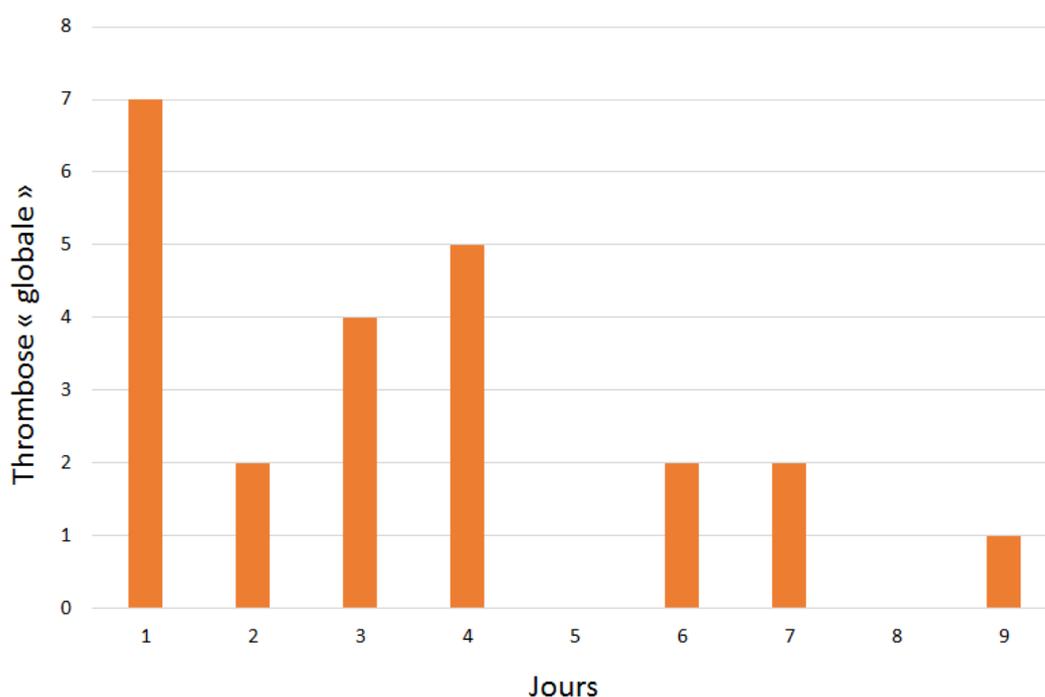


FIGURE 22. DELAI DE SURVENU DU 1ER EVENEMENT THROMBOTIQUE (PATIENT + DISPOSITIF ECMO) EN JOURS.

TABLEAU 1. EVENEMENTS THROMBOTIQUES SELON L'AGE, LE SEXE, L'INDICATION ET LE TYPE D'ECMO. SDRA : syndrome de détresse respiratoire aigüe ; VA : veino-artériel ; VV : Veino-veineux.

	Tous patients	Patients sans évènement thrombotique	Patients avec thrombose "patient"	Patients avec thrombose "dispositif ECMO"	Patient avec une thrombose "globale"
Nombre (pourcentage)	50 (100%)	27 (52%)	13 (26%)	16 (32%)	23 (48%)
Age moyen [minimum et maximum]	50 ans [19 - 76]	50 ans [19 - 76]	52 ans [37 - 68]	50 ans [25 - 69]	51 ans [25 - 69]
Homme	35 (70%)	21 (78%)	7 (54%)	9 (56%)	14 (61%)
Femme	15 (30%)	6 (22%)	6 (46%)	7 (44%)	9 (39%)
Choc cardiogénique	18 (36%)	8 (30%)	7 (54%)	5 (31%)	10 (44%)
Post greffe	18 (36%)	10 (37%)	3 (23%)	6 (38%)	8 (35%)
Post chirurgie	9 (18%)	5 (18%)	2 (15%)	4 (25%)	4 (17%)
SDRA	5 (10%)	4 (15%)	1 (8%)	1 (6%)	1 (4%)
Type d'ECMO	VA 48 (84%) VV 9 (16%)	VA 27 (84%) VV 5 (16%)	VA 13 (100%) VV 0 (0%)	VA 13 (76%) VV 4 (24%)	VA 20 (83%) VV 4 (17%)

D.DECES

Vingt et un patients (42 %) sont décédés lors du séjour en réanimation. La moyenne d'âge de ces patients était de 49 ans [23 – 69], 13 étaient des hommes et 8 des femmes. L'indication principale était le choc cardiogénique (n = 9), la post greffe (n = 5), le SDRA (n = 4) et la post chirurgie (n = 3). La survenue d'un évènement thrombotique était associée à une surmortalité significative, OR 6.56 (95 % IC [1.83 – 19.79]), p = 0,0037 (figure 23).

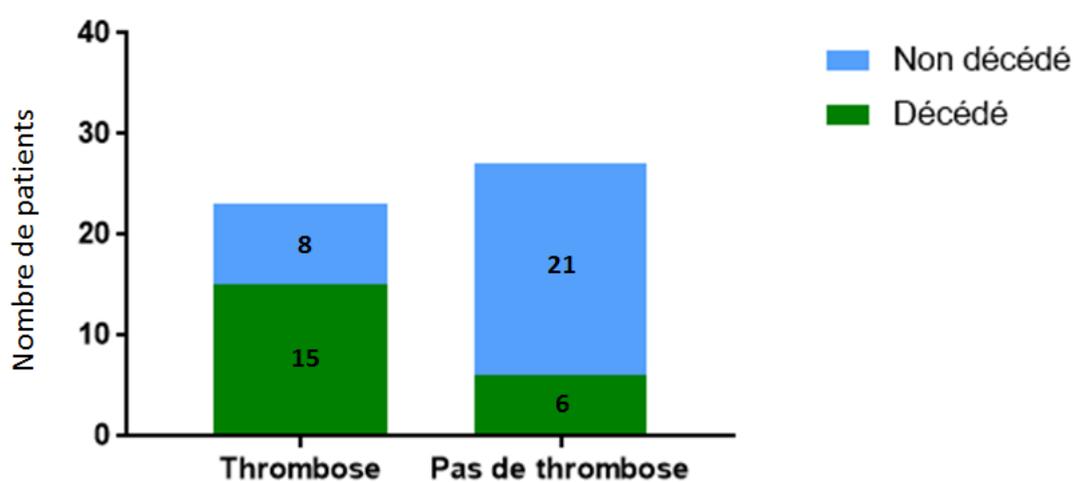


FIGURE 23. THROMBOSE ET MORTALITE

4. PARAMETRES BIOLOGIQUES

A. D-DIMERES

- **Tous patients**

Les concentrations moyennes des D-Dimères à J1, J5 et J10 de l'implantation de l'ECMO étaient respectivement de 14 637 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [390 – 128 000], 20 767 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [741 -114 552] et 15 262 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [4 787 – 37 989] (figure 24).

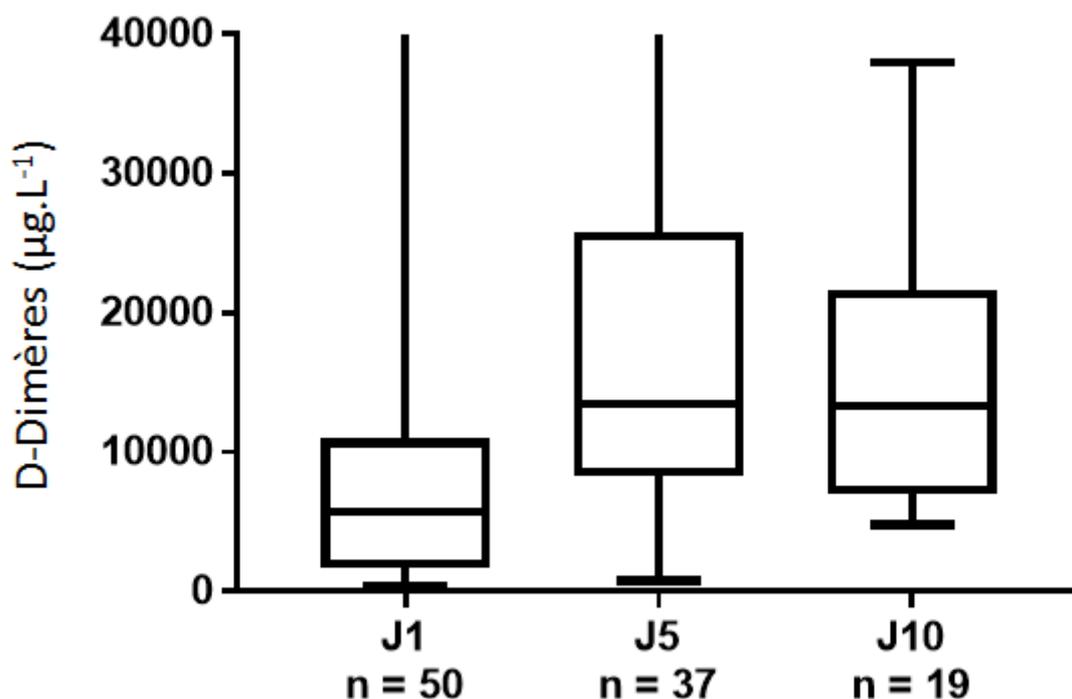


FIGURE 24. D-DIMÈRES A J1, J5 ET J10 DE L'IMPLANTATION DE L'ECMO.

50 plasmas J1 ont été analysés, 37 plasmas J5 (1 donnée manquante et 12 patients ayant une durée d'ECMO < 5j) et 19 plasmas J10 (4 données manquantes et 27 patients ayant une durée d'ECMO < 10j).

- **Patients avec « changement d'oxygénateurs »**

Chez ces patients, les D-Dimères ont été mesurés quotidiennement en pré-, per, et port procédure. Sur les 38 changements d'oxygénateur, 17 ont pu être étudiés l'avant-veille (J-2) et la veille (J-1) du changement d'oxygénateur (J0) (21 données manquantes). Une augmentation significative des D-Dimères entre J-2 et J0 a été observée (respectivement 10 484 µg.L⁻¹ [570 – 54 876] et 17 166 µg.L⁻¹ [3 627 – 48 006] ; p = 0.009), et à la limite de la significativité entre J-1 et J0 (14 676 µg.L⁻¹ [1 293 – 47 227] et 17 166 µg.L⁻¹ [3 627 – 48 006] ; p = 0.066) (figure 25).

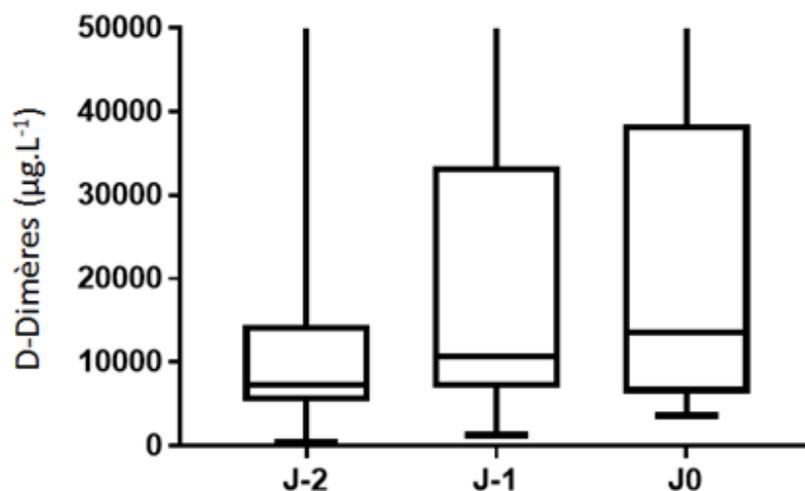


FIGURE 25. D-DIMÈRES A J-2, J-1, J0 DES 17 CHANGEMENTS D'OXYGÉNATEUR.

J0 : jour du changement d'oxygénéateur.

Sur les 38 changements d'oxygénéateur, seulement 9 ont pu être étudiés le lendemain (J1) et le surlendemain (J2) du changement d'oxygénéateur (J0) (29 données manquantes). Une décroissance globale, à la limite de la significativité, a été observée entre J0 et J+1 et J+2, (31 116 [3 492 – 76 079], 17 746 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [1 348 – 31 707] et 16 835 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [3 478 – 29 131] ; $p = 0.08$) (figure 26). Seuls 8 changements d'oxygénateurs ont bénéficié d'une cinétique complète (de J-2 à J+2), ne permettant pas une analyse statistique globale.

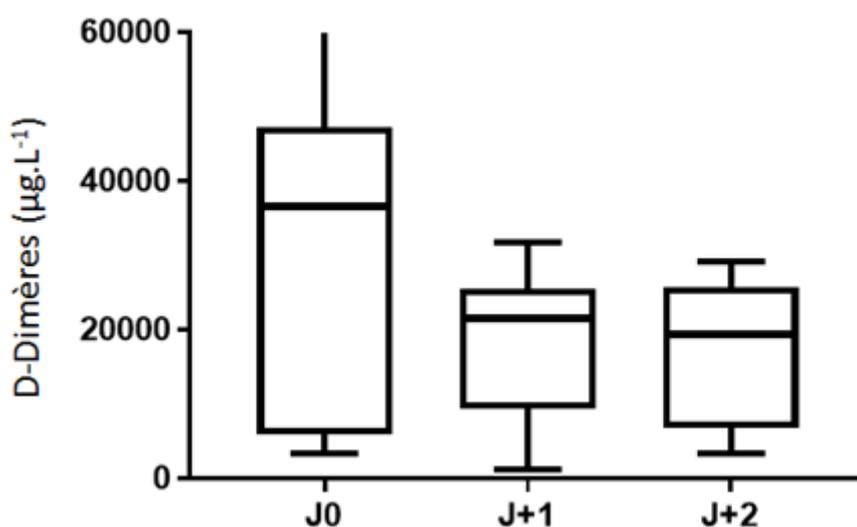


FIGURE 26. D-DIMÈRES A J0, J+1 ET J+2 DES 9 CHANGEMENTS D'OXYGÉNATEUR.

J0 : jour du changement d'oxygénéateur.

- **Patients avec « évènement thrombotique global »**

A J1 post implantation de l'ECMO, les D-Dimères des patients avec thrombose « globale » (évènement thrombotique « patient » + « dispositif ECMO ») n'étaient pas significativement différents des D-dimères des patients sans thrombose (respectivement 16 464 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [390 – 128 000] et 13 082 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [481 – 128 000], $p = 0.26$) (figure 27).

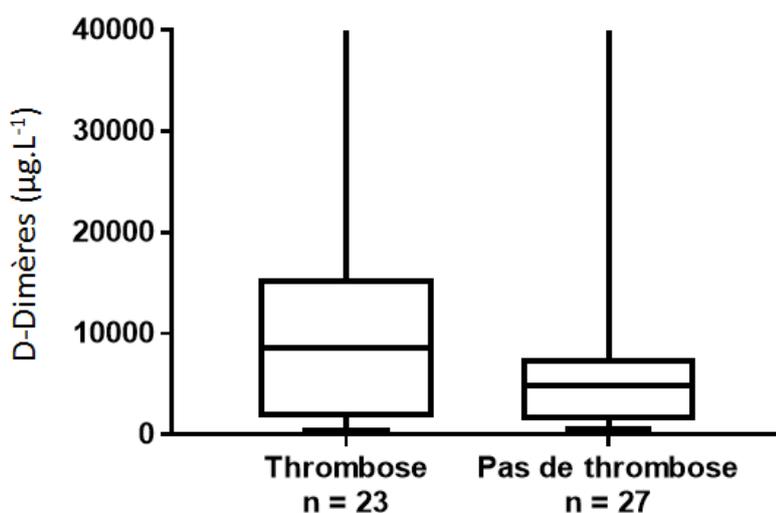


FIGURE 27. D-DIMERES A J1, CHEZ LES PATIENTS AVEC ET SANS THROMBOSE.

L'AUC de la courbe ROC « D-Dimères à J1 et la survenue d'un évènement thrombotique » est de 0.59 (0.43 ; 0.75) (figure 28).

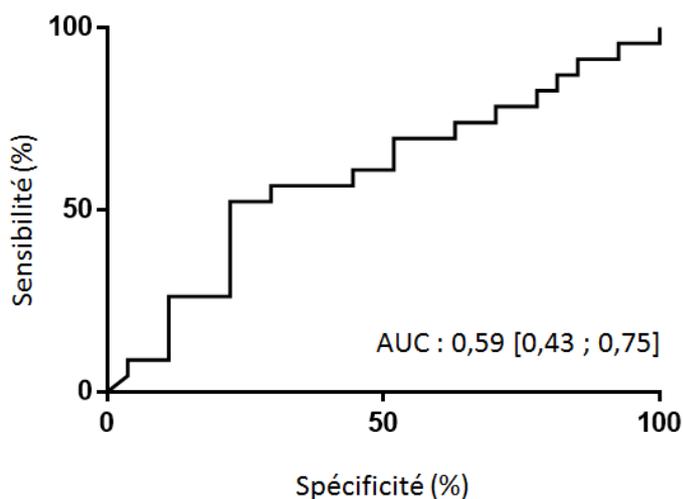


FIGURE 28. COURBE ROC « D-DIMERES J1 ET SURVENUE D'UN EVENEMENT THROMBOTIQUE ».

AUC : Area under curve.

B. FVIII

- **Tous patients**

Les taux moyens du FVIII à J1, J5 et J10 de l'implantation de l'ECMO étaient respectivement de 235 % [80 – 620], 269 % [62 – 485] et 320 % [188 – 471] (figure 29).

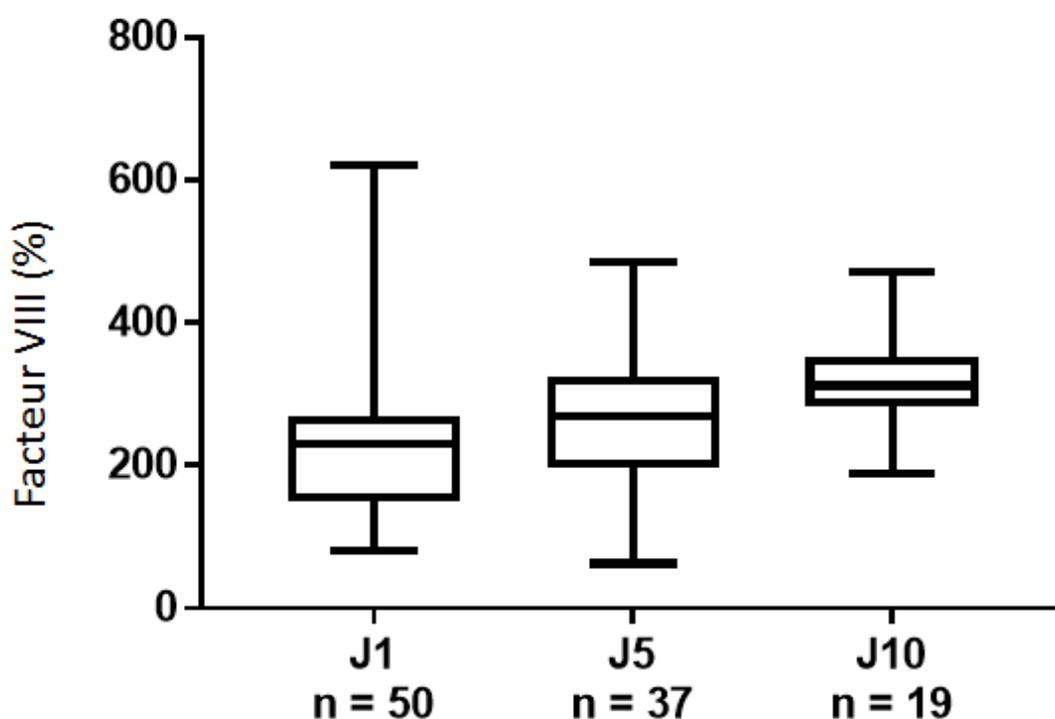


FIGURE 29. TAUX DE FVIII A J1, J5 ET J10 DE L'IMPLANTATION DE L'ECMO

50 plasmas J1 ont été analysés, 37 plasmas J5 (1 donnée manquante et 12 patients ayant une durée d'ECMO < 5j) et 19 plasmas J10 (4 données manquantes et 27 patients ayant une durée d'ECMO < 10j).

- **Patients avec « évènement thrombotique global »**

A J1 post implantation de l'ECMO, les taux de FVIII des patients avec thrombose « globale » (évènement thrombotique « patient » + « dispositif ECMO ») n'étaient pas significativement différents des taux de FVIII des patients n'ayant pas thrombosé (respectivement 242 % [80 – 425] et 229 % [107 – 620], $p = 0.3$) (figure 30).

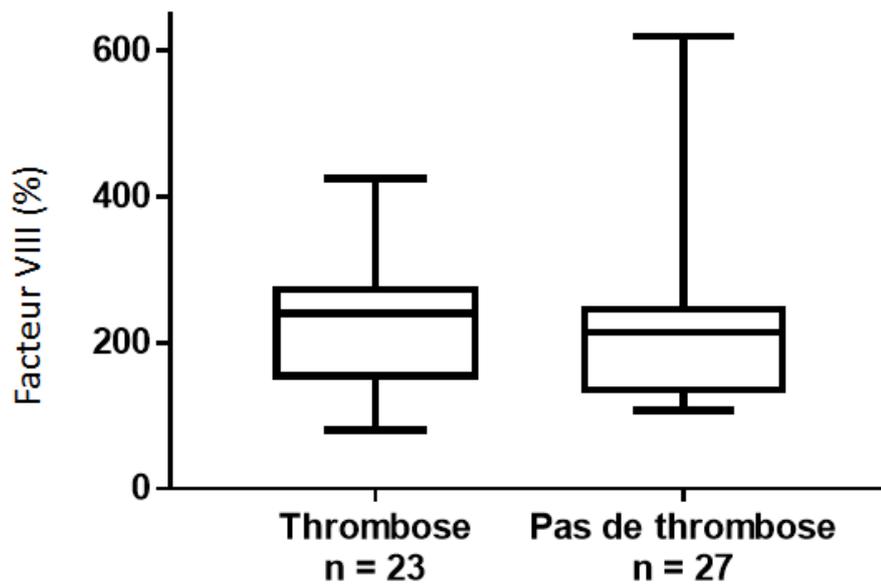


FIGURE 30. FVIII A J1, CHEZ LES PATIENTS AVEC ET SANS THROMBOSE.

L'AUC de la courbe ROC « FVIII à J1 et survenue d'un évènement thrombotique » est de 0.58 (0.42 ; 0.75) (figure 31).

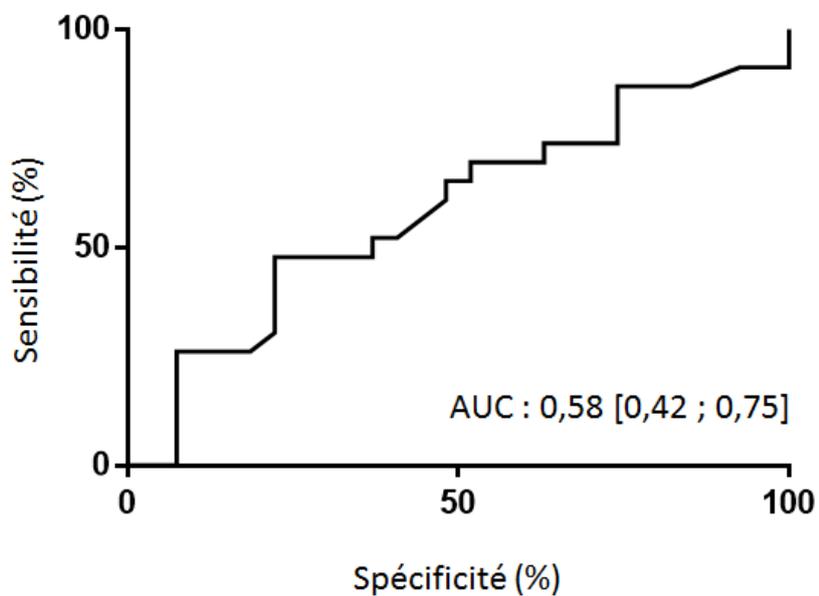


FIGURE 31. COURBE ROC « FVIII J1 ET SURVENUE D'UN EVENEMENT THROMBOTIQUE ».

AUC : area under curve.

C. ANTI-THROMBINE

- **Tous patients**

Les taux moyens d'AT à J1, J5 et J10 de l'implantation de l'ECMO étaient respectivement de 56 % [19 - 138], 60 % [17 - 102] et 85 % [23 - 144] (figure 32).

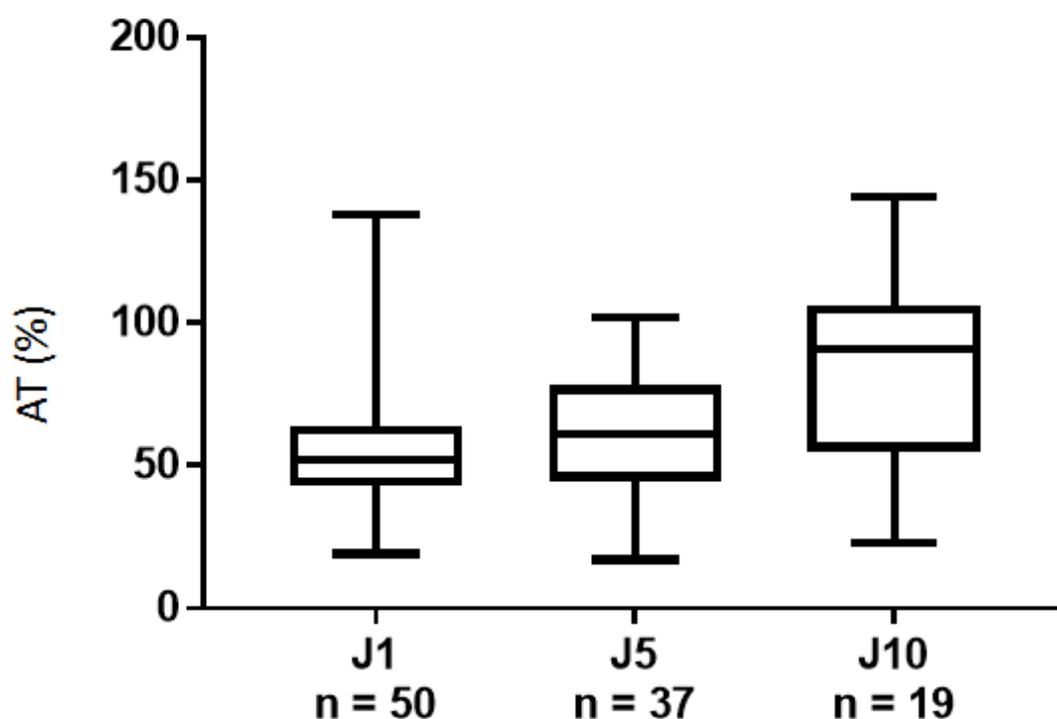


FIGURE 32. ANTITHROMBINE (AT) A J1, J5 ET J10 DE L'IMPLANTATION DE L'ECMO.

50 plasmas J1 ont été analysés, 37 plasmas J5 (1 donnée manquante et 12 patients ayant une durée d'ECMO < 5j) et 19 plasmas J10 (4 données manquantes et 27 patients ayant une durée d'ECMO < 10j).

- **Patients avec « évènement thrombotique global »**

A J1 post implantation de l'ECMO, les taux d'AT des patients avec thrombose « globale » (évènement thrombotique « patient » + « dispositif ECMO ») n'étaient pas significativement différents des taux d'AT des patients n'ayant pas thrombosé (respectivement 55 % [36 - 110] et 57 % [19 - 138], $p = 0.62$) (figure 33).

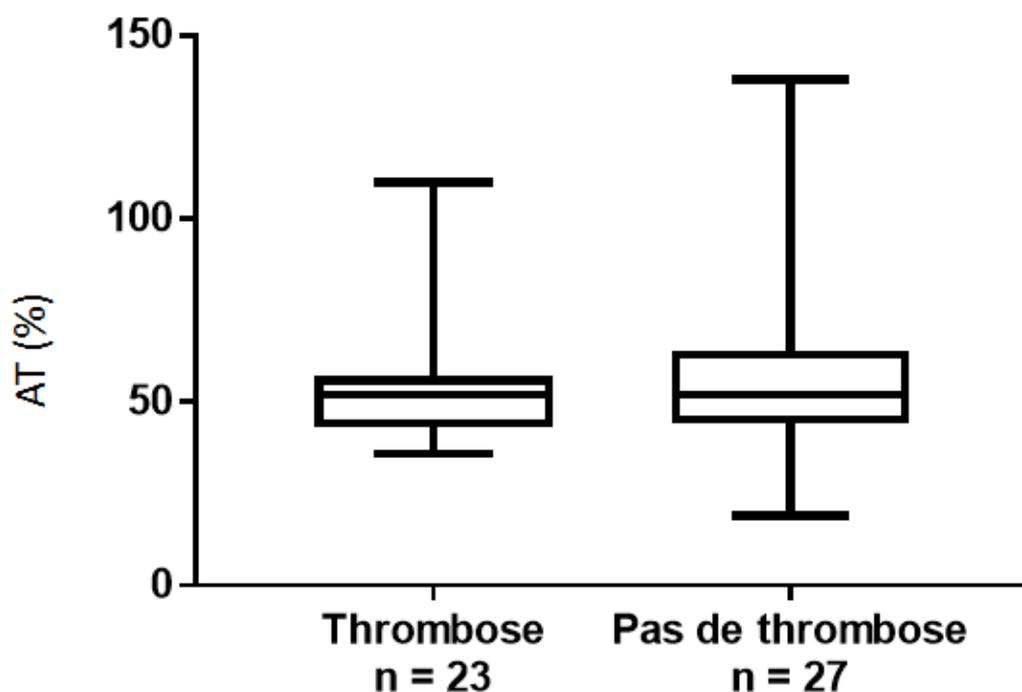


FIGURE 33. ANTITHROMBINE (AT) A J1 CHEZ LES PATIENTS AVEC ET SANS THROMBOSE.

L'AUC de la courbe ROC « AT à J1 et survenue d'un évènement thrombotique » est de 0.54 (0.38 ; 0.70) (figure 34).

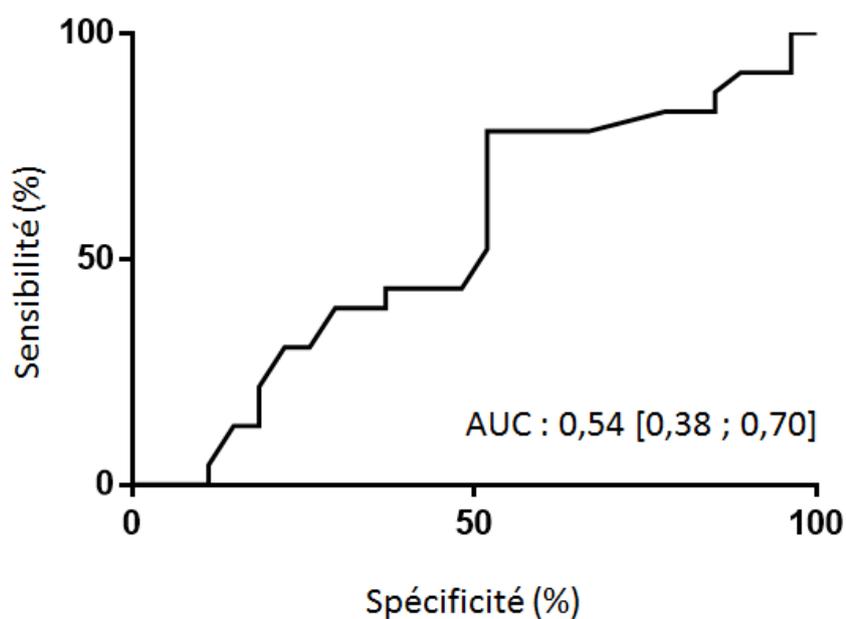


FIGURE 34. COURBE ROC « AT J1 ET SURVENUE D'UN EVENEMENT THROMBOTIQUE ».

AUC : area under curve ; AT : Anti-thrombine.

D.VWF :RCO

- **Tous patients**

Les taux moyens du vWF:RCO à J1, J5 et J10 de l'implantation de l'ECMO étaient respectivement de 128 % [35 – 393], 165 % [38 – 368] et 185 % [63 – 345] (figure 35).

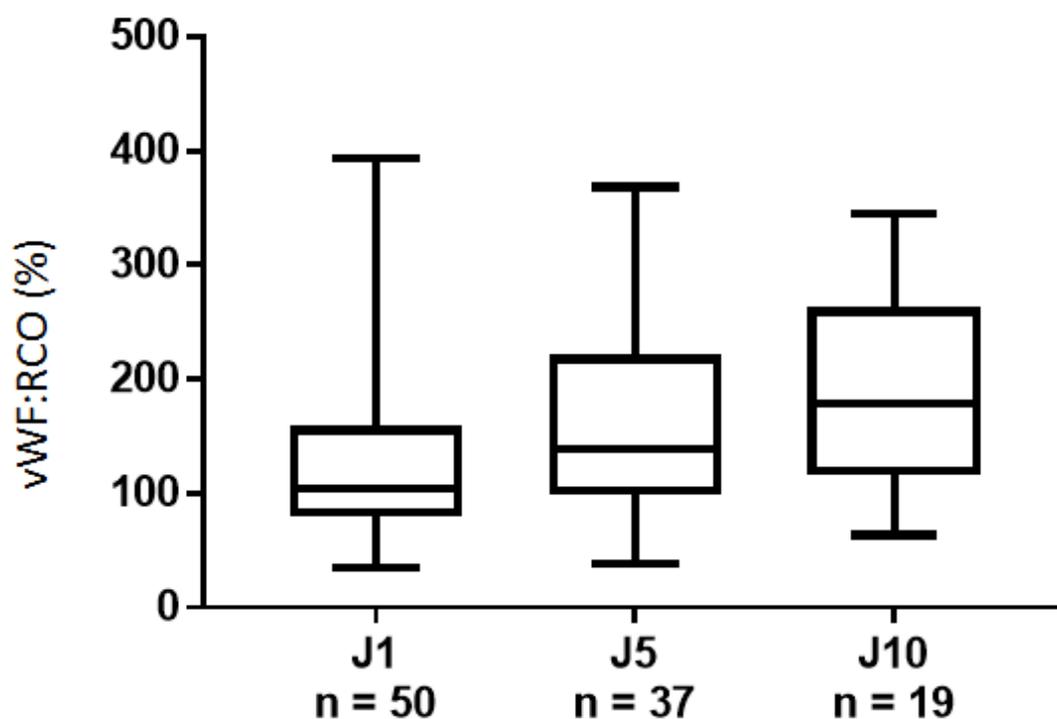


FIGURE 35. TAUX DE VWF:RCO A J1, J5 ET J10 DE L'IMPLANTATION DE L'ECMO.

vWF:RCO : activité co-facteur de la ristocétine du facteur de willebrand.

50 plasmas J1 ont été analysés, 37 plasmas J5 (1 donnée manquante et 12 patients ayant une durée d'ECMO < 5j) et 19 plasmas J10 (4 données manquantes et 27 patients ayant une durée d'ECMO < 10j).

- **Patients avec « évènement thrombotique global »**

A J1 post implantation de l'ECMO, les taux de vWF:RCO des patients avec thrombose « globale » (évènement thrombotique « patient » + « dispositif ECMO ») n'étaient pas significativement différents des taux de vWF :RCO des patients n'ayant pas thrombosé (respectivement 138 % [35 – 393] et 120 % [38 – 245], $p = 0.48$) (figure 36).

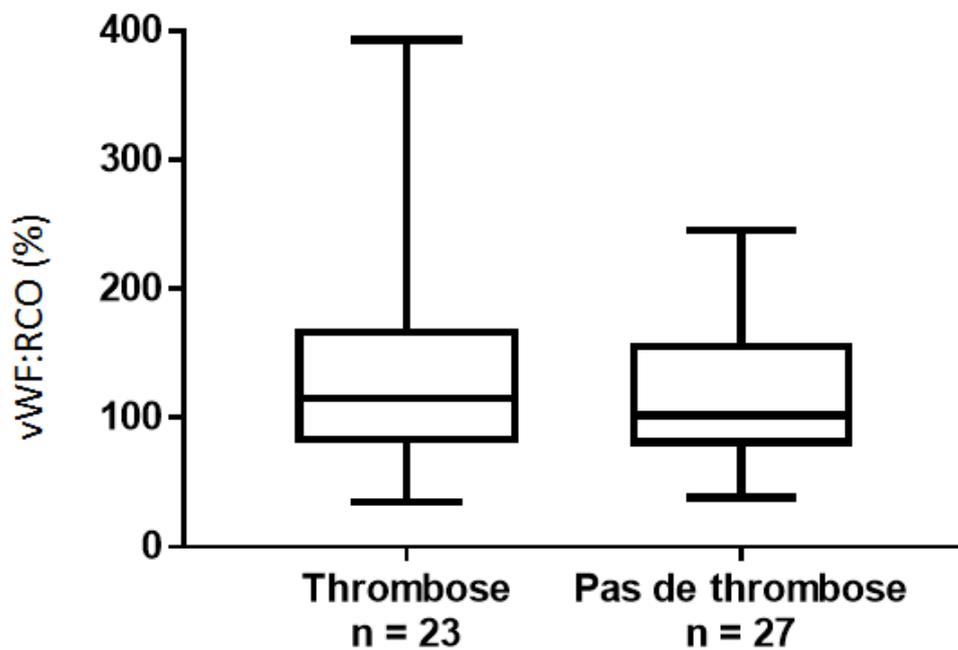


FIGURE 36. VWF :RCO A J1 CHEZ LES PATIENTS AVEC ET SANS THROMBOSE.
vWF:RCO : Activité co-facteur de la ristocétine du facteur de willebrand

L'AUC de la courbe ROC « vWF :RCO à J1 et survenue d'un évènement thrombotique » est de 0.55 (0.39 ; 0.72) (figure 37).

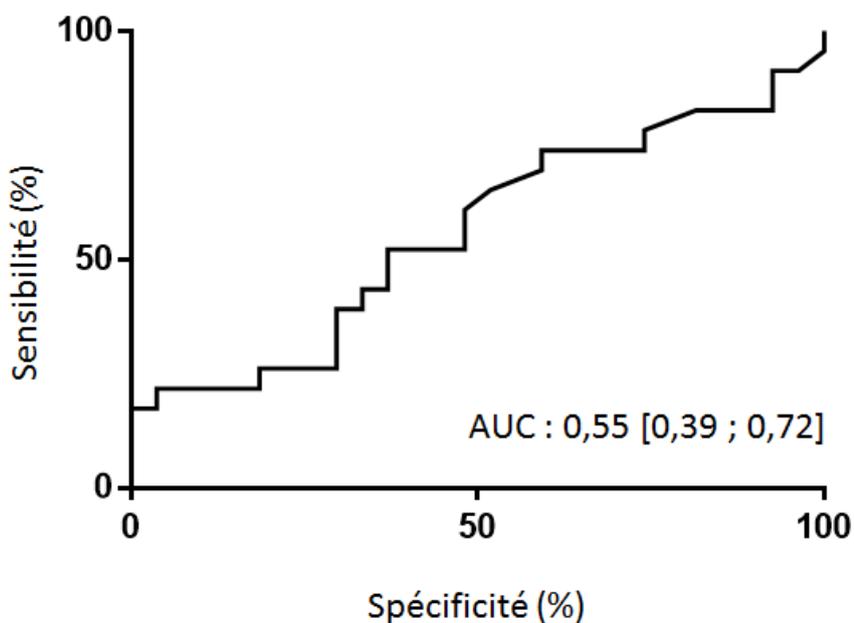


FIGURE 37. COURBE ROC « VWF:RCO J1 ET SURVENUE D'UN EVENEMENT THROMBOTIQUE ».
AUC : area under curve ; vWF:RCO : activité co-facteur de la ristocétine du facteur de willebrand.

E. ACTIVITE ANTI-XA

- **Tous patients**

Les concentrations moyennes d'activité anti-Xa à J1, J5 et J10 de l'implantation de l'ECMO étaient respectivement de 0.17 UI.mL⁻¹ [0.10 - 0.60], 0.24 UI.mL⁻¹ [0.10 - 0.68] et 0.27 UI.mL⁻¹ [0.10 - 0.69] (figure 38).

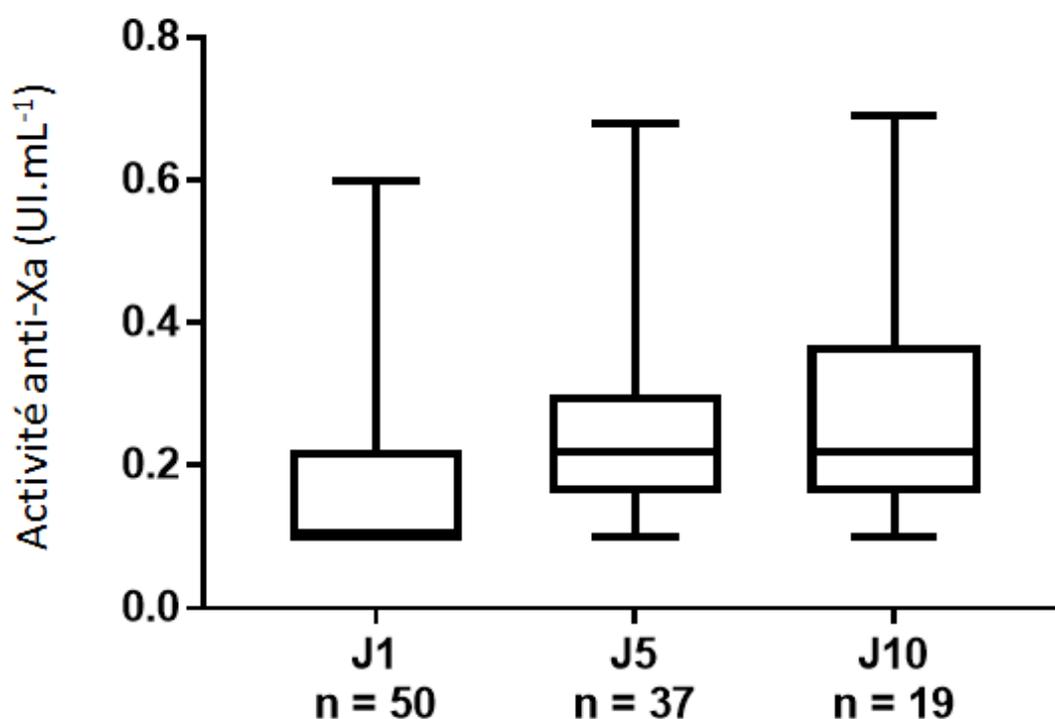


FIGURE 38. ACTIVITE ANTI-XA A J1, J5 ET J10 DE L'IMPLANTATION DE L'ECMO.

50 plasmas J1 ont été analysés, 37 plasmas J5 (1 donnée manquante et 12 patients ayant une durée d'ECMO < 5j) et 19 plasmas J10 (4 données manquantes et 27 patients ayant une durée d'ECMO < 10j).

- **Patients avec « évènement thrombotique global »**

Le taux de jours avec sous-dosage en héparine (c'est-à-dire activité anti-Xa < 0.2 UI.mL⁻¹) n'était pas significativement différent entre les patients avec thrombose « globale » (évènement thrombotique « patient » + « dispositif ECMO ») et les patients n'ayant pas thrombosé (respectivement 42 % [0 - 100] et 54 % [0 - 100], p = 0.15) (figure 39).

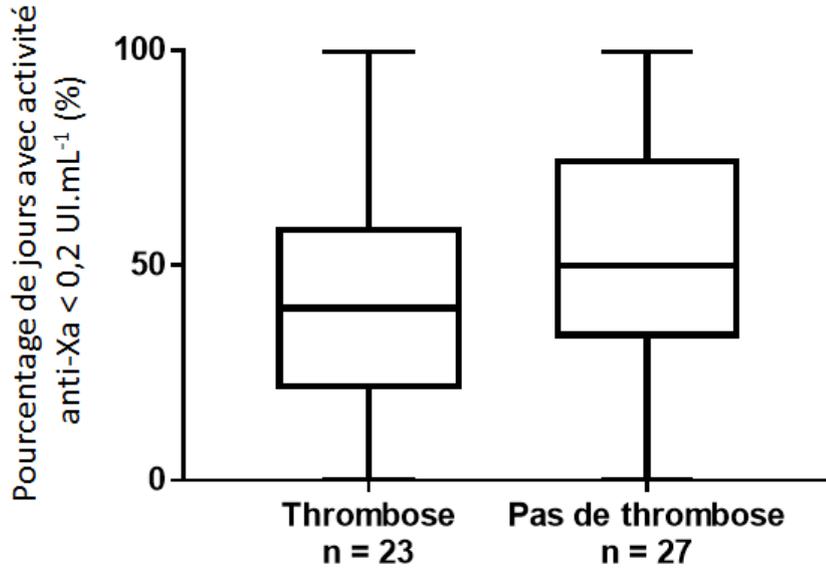


FIGURE 39. POURCENTAGE DE JOURS AVEC ACTIVITE ANTI-XA < 0.2 UI.ML⁻¹ CHEZ LES PATIENTS AVEC ET SANS THROMBOSE.

F. FIBRINOGENE

- Tous patients

Les concentrations moyennes de fibrinogène à J1, J5 et J10 de l'implantation de l'ECMO étaient respectivement de 3.4 g.L⁻¹ [1.1 – 9.3], 4.3 g.L⁻¹ [1.7 – 9.5] et 3.7 g.L⁻¹ [1.9 – 6.7] (figure 40).

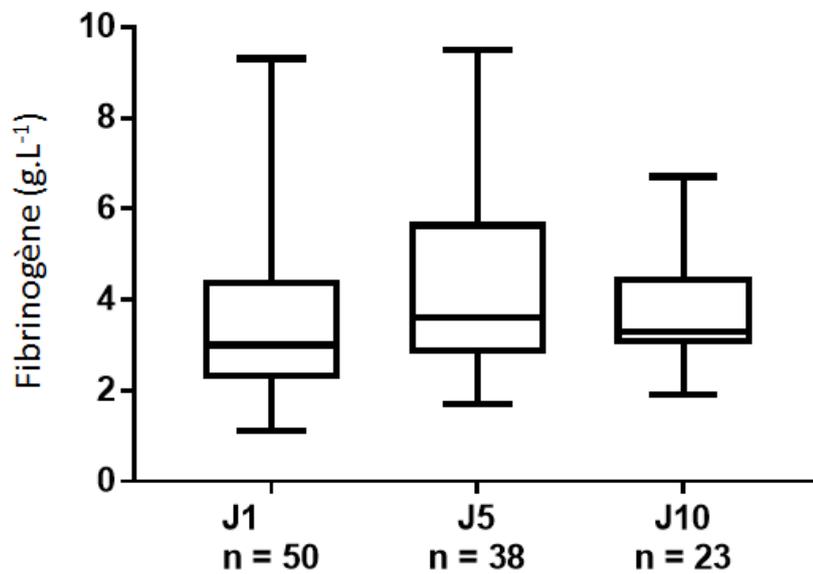


FIGURE 40. FIBRINOGENE A J1, J5 ET J10 DE L'IMPLANTATION DE L'ECMO.

50 plasmas J1 ont été analysés, 38 plasmas J5 (12 patients ayant une durée d'ECMO < 5j) et 23 plasmas J10 (27 patients ayant une durée d'ECMO < 10j).

- **Patients avec « évènement thrombotique global »**

A J1 post implantation de l'ECMO, le fibrinogène des patients avec thrombose « globale » (évènement thrombotique « patient » + « dispositif ECMO ») n'était pas significativement différent du fibrinogène des patients n'ayant pas thrombosé (respectivement 3.6 g.L^{-1} [1.1 – 9.3] et 3.2 g.L^{-1} [1.2 – 8.9], $p = 0.39$) (figure 41).

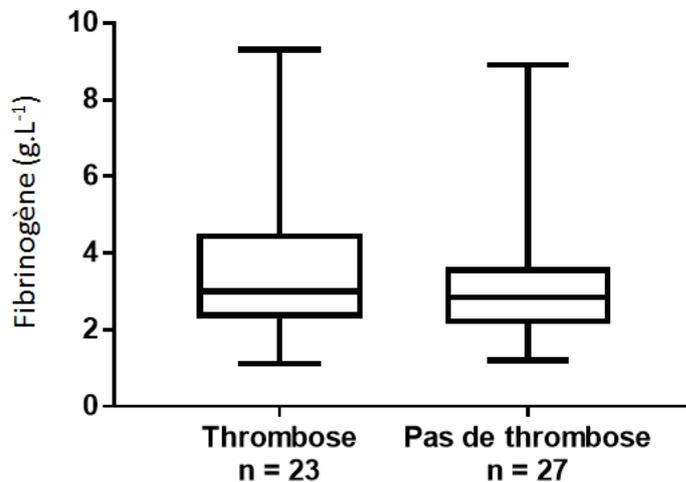


FIGURE 41. FIBRINOGENE A J1, CHEZ LES PATIENTS AVEC ET SANS THROMBOSE.

L'AUC de la courbe ROC « Fibrinogène à J1 et survenue d'un évènement thrombotique » est de 0.57 (0.40 ; 0.73) (figure 42).

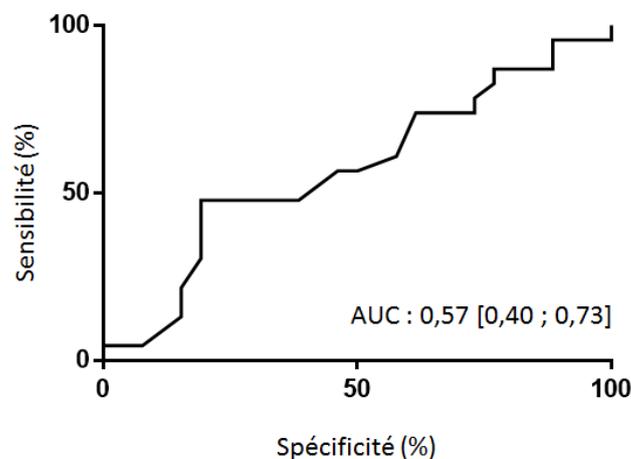


FIGURE 42. COURBE ROC « FIBRINOGENE J1 ET SURVENUE D'UN EVENEMENT THROMBOTIQUE ».

AUC : area under curve.

G. PLAQUETTES

- **Tous patients**

Les concentrations moyennes des plaquettes à J1, J5 et J10 de l'implantation de l'ECMO étaient respectivement de 84 G.L⁻¹ [31 – 185], 63 G.L⁻¹ [18 – 125] et 84 G.L⁻¹ [30 – 293] (figure 43).

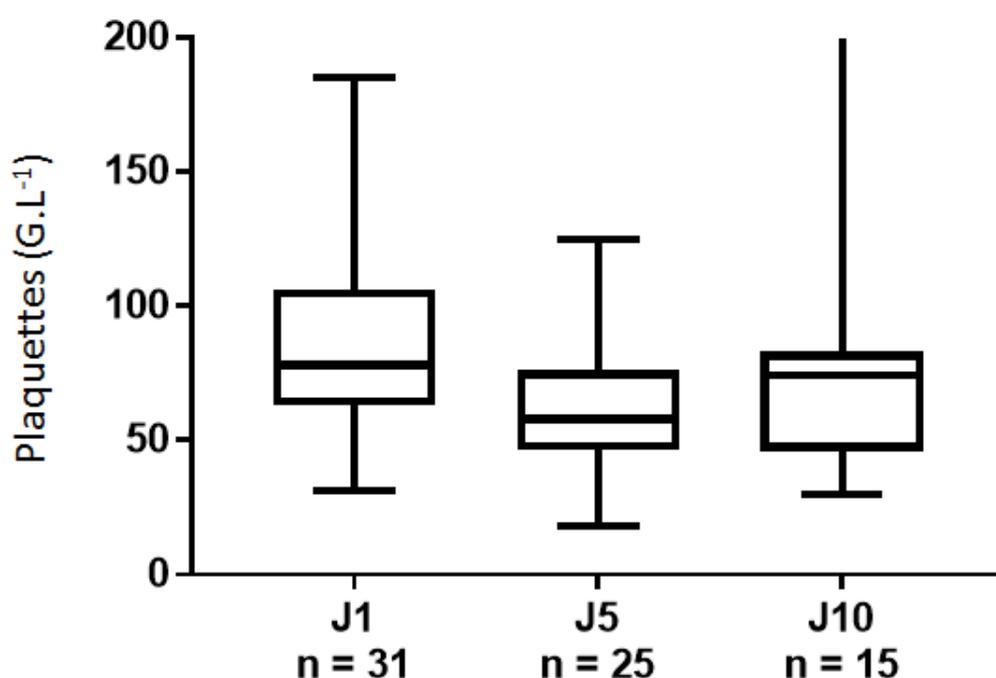


FIGURE 43. CONCENTRATION DE PLAQUETTES A J1, J5 ET J10 DE L'IMPLANTATION DE L'ECMO.

31 plasmas J1 ont été analysés (19 données manquantes), 25 plasmas J5 (13 données manquantes et 12 patients ayant une durée d'ECMO < 5j) et 15 plasmas J10 (8 données manquantes et 27 patients ayant une durée d'ECMO < 10j).

- **Patients avec « évènement thrombotique global »**

A J1 post implantation de l'ECMO, les plaquettes des patients avec thrombose « globale » (évènement thrombotique « patient » + « dispositif ECMO ») n'étaient pas significativement différentes des plaquettes des patients n'ayant pas thrombosé (respectivement 93 G.L⁻¹ [35 – 185] et 72 G.L⁻¹ [31 – 106], p = 0.25) (figure 41).

Seulement 31 patients (18 ayant thrombosé et 13 n'ayant pas thrombosé) ont pu être analysés du fait des données biologiques manquantes (figure 44).

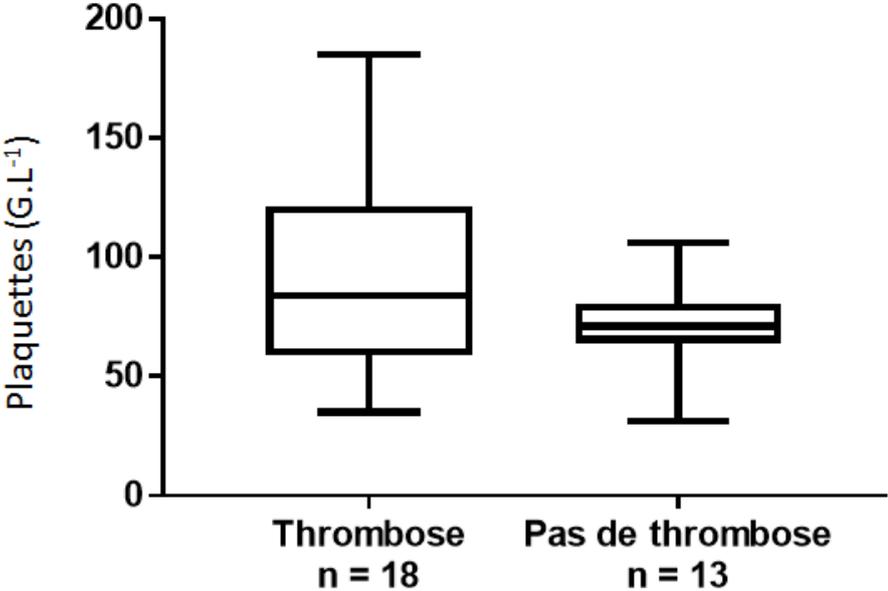


FIGURE 44. CONCENTRATIONS PLAQUETTAIRES A J1 CHEZ LES PATIENTS AVEC ET SANS THROMBOSE.

L'AUC de la courbe ROC « Plaquettes à J1 et survenue d'un évènement thrombotique » est de 0.62 (0.42 ; 0.82) (figure 45).

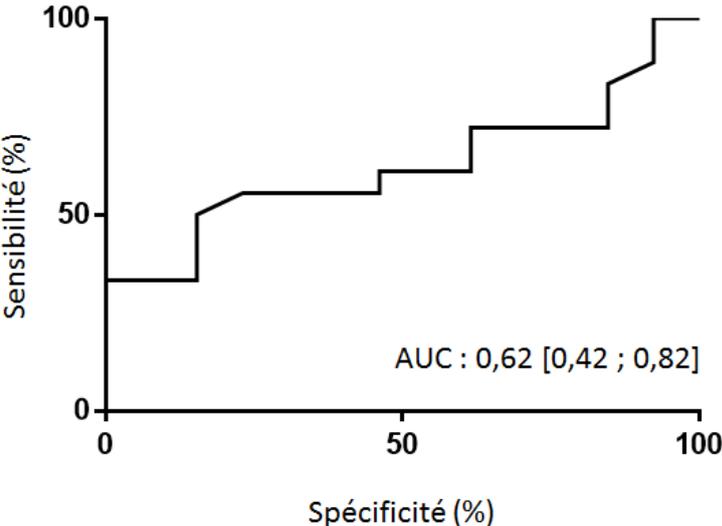


FIGURE 45. COURBE ROC « PLAQUETTES J1 ET SURVENUE D'UN EVENEMENT THROMBOTIQUE ». AUC : area under curve

H.SCHIZOCYTES

Seuls, 28 patients (16 ayant thrombosé et 12 n'ayant pas thrombosé) ont pu être étudiés (22 données manquantes). Le taux moyen de schizocytes « tous patients » était de 4.7 ‰ [0 – 65]. Les patients avec thrombose « globale » (évènement thrombotique « patient » + « dispositif ECMO ») n'avaient pas un taux moyen de schizocytes significativement différent des patients n'ayant pas thrombosé (respectivement 5.8 ‰ [0 – 65] et 2.9 ‰ [0 – 45], $p = 0.25$) (figure 46).

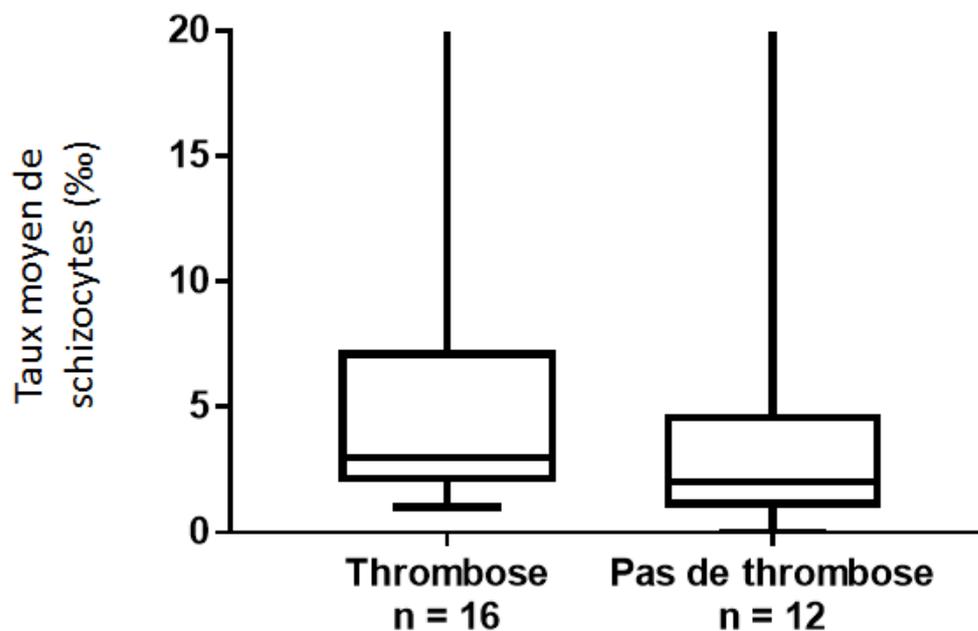


FIGURE 46. TAUX MOYEN DE SCHIZOCYTES CHES LES PATIENTS AVEC ET SANS THROMBOSE.

DISCUSSION

Notre étude prospective, incluant 50 patients consécutifs ayant bénéficié d'une ECMO, retrouve une augmentation significative du risque de décès lorsqu'un évènement thrombotique complique l'assistance (OR 6.56 [1.83 - 19.79] $p=0.0037$). Ces résultats confirment l'intérêt d'identifier un marqueur fiable, permettant la prédiction ou le diagnostic précoce d'une thrombose per-ECMO, afin d'instaurer rapidement un traitement adapté. En effet, l'exposition du sang et de ses composants cellulaires aux surfaces non biologiques des circuits extracorporels conduit à un déséquilibre du système hémostatique, résultant en une activation systémique de la coagulation et de la fibrinolyse (48-50). La formation d'un caillot au sein même du dispositif d'ECMO est une complication grave, impliquant le changement d'une partie ou de l'ensemble du dispositif d'assistance. Réalisée dans l'urgence, cette procédure onéreuse est risquée.

L'objectif de notre étude était d'évaluer la valeur pronostique de plusieurs paramètres biologiques (la plupart n'ayant jamais été étudiés dans cette indication) pour détecter précocement un évènement thrombotique lors d'une assistance par ECMO. Une augmentation significative des D-Dimères dans les 2 jours précédant un changement d'oxygénéateur a été retrouvée ($n=17$; D-Dimères J-2 : 10 484 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [570 - 54 876]; D-Dimères J0 (jour du changement d'oxygénéateur) : 17 166 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [3 627 - 48 006]; $p=0.009$). Après procédure, on observe une décroissance des D-Dimères, sans atteindre toutefois la significativité ($n=9$; D-Dimères J+2 : 16 835 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [3 478 - 29 131]; D-Dimères J0 (jour du changement d'oxygénéateur) : 31 116 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [3 492 - 76 079]; $p=0.08$). Du fait de données manquantes, l'analyse n'a pu être réalisée que sur un nombre restreint de patients. La seule étude réalisée sur le sujet rapportait que la concentration de D-Dimères plasmatiques, reflet de la formation d'un thrombus, permettait de prédire un changement d'oxygénéateur imminent. Cette hypothèse avait été renforcée par la détection par imagerie de thrombi au sein de tous les oxygénateurs changés après élévation des D-Dimères (38). Notre étude prospective, incluant 50 patients consécutifs avec des types et des indications hétérogènes d'ECMO confirme ces résultats préliminaires qui avaient été obtenus sur une petite cohorte rétrospective de 24 patients atteints de SDRA assistés par une ECMO VV (37).

En revanche, les concentrations de D-Dimères à J1 post implantation de l'ECMO n'étaient pas prédictives de la survenue d'un évènement thrombotique (AUC ROC = 0.59 [0.43 - 0.75]). Les D-Dimères J1 semblaient plus élevés dans le groupe thrombose *versus* sans

thrombose (respectivement 16 464 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [390 – 128 000] et 13 082 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [481 – 128 000]) mais la différence n'était pas significative ($p = 0.26$).

Cependant, les concentrations observées sont élevées (moyenne des D-Dimères J1 : 14 637 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [390 – 128 000]) et augmentent au cours de la période d'assistance (moyenne des D-Dimères J5 : 20 767 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [741 -114 552]), témoignant de l'activation de la coagulation. Cette concentration significative de D-Dimères peut être liée à la pathologie sous-jacente (chirurgie récente, embolie pulmonaire, CIVD...) ou générée par les surfaces artificielles des dispositifs de suppléance d'organe. Les concentrations observées sont très hétérogènes (de 390 à 128 000 $\mu\text{g.L}^{-1}$), sans qu'un lien puisse être établi entre les valeurs les plus élevées et une chirurgie récente.

Les taux de FVIII et de vWF à J1 de l'implantation de l'ECMO n'étaient pas significativement plus élevés chez les patients qui allaient développer un évènement thrombotique (FVIII $p=0.3$; vWF $p=0.48$) et n'étaient pas prédictifs de la survenue d'un évènement thrombotique (AUC ROC FVIII = 0.58 [0.42 – 0.75] et AUC ROC vWF = 0.55 [0.39 – 0.72]). Si un taux élevé de FVIII et/ou de vWF ont été rapportés dans la littérature comme facteurs de risque de thrombose, notamment artérielle (73,80) à notre connaissance aucune étude n'en avait étudié l'impact sur le risque thrombotique chez les patients sous ECMO. Dans notre étude, les taux mesurés étaient élevés, supérieurs aux valeurs normales, et augmentaient au cours de la période d'assistance : les FVIII et vWF :RCO étaient respectivement à 235 % [80 – 620] et 128 % [35 – 393] à J1, 269 % [62 – 485] et 165 % [38 – 368] à J5 et 320 % [188 – 471] et 185 % [63 – 345] à J10. L'activation de la coagulation, la réponse inflammatoire et les lésions endothéliales (libération du vWF par les corps de Weibel-Palade) induites par les surfaces artificielles sont probablement à l'origine de ces taux élevés.

L'augmentation du vWF dans notre étude contraste avec les données de la littérature, qui rapporte l'apparition d'un déficit qualitatif en vWF sous ECMO, lié à la perte des multimères de haut poids moléculaire, et mis en évidence *via* l'étude de la liaison du vWF au collagène (*collagen binding assay*) (57,93). Les conséquences cliniques de ce déficit acquis restent mal caractérisées (57). Ce déficit qualitatif n'est pas ou peu mis en évidence par le dosage de l'activité cofacteur de la ristocétine du facteur de Willebrand, test biologique utilisé dans cette étude. Notre étude étant focalisée sur le risque thrombotique, le *collagen binding assay* n'a pas été réalisé.

La concentration de fibrinogène à J1 post implantation de l'ECMO n'était pas prédictive de la survenue d'un évènement thrombotique (AUC ROC : 0.57 [0.40 - 0.73]). La concentration de fibrinogène à J1 post implantation de l'ECMO n'était pas significativement plus élevée chez les patients qui allaient développer un évènement thrombotique (p=0.39). Même s'il a un rôle fondamental dans la formation du caillot (41), et qu'*in vitro* une concentration élevée semble renforcer le caillot et augmenter la résistance à la fibrinolyse (82,83), la thrombogénicité d'une concentration élevée de fibrinogène reste très discutée. A notre connaissance, aucune étude ne rapporte l'impact de la concentration de fibrinogène sur le risque thrombotique chez les patients sous ECMO. De façon surprenante, les concentrations moyennes observées sont à la limite supérieure de la normale, et varient peu au cours de la période d'assistance (3.4 g.L⁻¹ [1.1 - 9.3] à J1, 4.3 g.L⁻¹ [1.7 - 9.5] à J5 et 3.7 g.L⁻¹ [1.9 - 6.7] à J10). Un mécanisme mixte associant réaction inflammatoire et consommation liée à l'activation de la coagulation peut expliquer les concentrations observées. L'étude d'autres marqueurs de l'inflammation comme la protéine C réactive ou la procalcitonine permettrait de confirmer cette hypothèse.

Dans notre étude, le taux d'antithrombine initial, à J1 post implantation de l'ECMO, ne permettait pas de prédire la survenue d'une thrombose (AUC ROC : 0.54 [0.38 - 0.70]). Le taux d'AT à J1 post implantation n'était pas significativement plus bas chez les patients qui allaient développer un évènement thrombotique (p=0.62). Les taux initiaux observés (à J1 post implantation) étaient franchement diminués (56% [19 - 138]) et plus de la moitié des patients avaient un taux d'AT inférieur à 50 %. Le mécanisme à l'origine de ce déficit est probablement une consommation d'origine mixte (activation de la coagulation et héparinothérapie) (76). A notre connaissance, aucune étude ne montre à ce jour l'impact délétère d'un déficit acquis en AT sur la survenue de thrombose chez les patients sous ECMO. Les recommandations de l'ELSO préconisant de supplémenter les patients pour maintenir une AT supérieure à 80% reposent sur des « *case report* » ou des petites séries de patients (5). Nos résultats sont en accord avec les rares études pédiatriques sur le sujet qui ne montrent pas d'avantage significatif à une supplémentation chez les patients sous ECMO présentant une AT inférieure à 70% (78,79).

L'activité anti-Xa, reflet de l'intensité de l'anticoagulation, est un paramètre critique dans le suivi des patients assistés par ECMO. L'activité anti-Xa moyenne semble plus faible à J1 post-implantation (0.17 UI.mL⁻¹ [0.10-0.60]), comparée aux valeurs retrouvées à J5 et J10 (respectivement 0.24 UI.mL⁻¹ [0.10 - 0.68] et 0.27 UI.mL⁻¹ [0.10 - 0.69]). Ceci est probablement en lien avec le risque hémorragique majoré en période post-opératoire immédiate, notamment après sternotomie.

Les cibles d'activité anti-Xa recommandées par l'ELSO (établies majoritairement à partir de données pédiatriques) sont entre 0.3 et 0.7 UI.mL⁻¹. Les valeurs cibles adoptées localement sont comprises entre 0.2 à 0.4 UI.mL⁻¹. De manière surprenante, le pourcentage de jours avec sous-dosage (c'est-à-dire avec au moins une « activité anti-Xa » < 0.2 UI.mL⁻¹) n'était pas significativement plus élevé chez les patients ayant développé un épisode thrombotique par rapport aux patients sans thrombose (respectivement 42 % [0 - 100] et 54 % [0 - 100], p = 0.15). Nos résultats discordent avec la seule étude réalisée sur le sujet (22 adultes avec ECMO VV), qui rapportait qu'une activité anti-Xa < 0.3 UI.mL⁻¹ était associée à un risque de thrombose veineuse (65). Cependant, les résultats sont difficilement comparables car notre étude répertoriait les événements thrombotiques de tous types (veineux, artériel, et du dispositif ECMO). Ces résultats encourageants, qui révèle que le « sous-dosage en héparine » (au regard des recommandations actuelles) n'exposerait pas à un risque majoré de thrombose, doivent être confirmés. Ces données sont compatibles avec la tendance actuelle qui vise à envisager une diminution de l'intensité de l'anticoagulation per-ECMO, un bénéfice sur les complications hémorragiques étant attendues (11).

Les concentrations moyennes de plaquettes étaient inférieures aux valeurs normales (J1 = 84 G.L⁻¹ [31 - 185], J5= 63 G.L⁻¹ [18 - 125] et J10 = 84 G.L⁻¹ [30 - 293]), reflet d'une probable consommation plaquettaire liée aux surfaces artificielles. La concentration de plaquettes à J1 n'était pas différente entre les deux groupes de patients (avec et sans thrombose), p = 0.25. Il sera nécessaire d'analyser ces données à l'aune des facteurs confondants tels que la transfusion de concentrés plaquettaires et l'administration de romiplostim.

Les taux moyens de schizocytes semblent plus faibles chez les patients n'ayant pas thrombosé (2.9‰ [0 - 45] *versus* 5.8‰ [0 - 65]), mais la différence n'est pas significative

($p = 0.25$). Les taux observés sont faibles, en dessous du seuil de significativité de $10^0/00$. L'étude d'un plus grand nombre de données, et l'étude ciblée de la cinétique des schizocytes per-événement thrombotique devra être réalisée. A notre connaissance, il n'existe pas de données sur la variation du taux de schizocytes au cours d'une assistance par ECMO. Or, ce paramètre semble intéressant car la recherche de schizocytes est un examen simple et accessible, disponible dans tous les laboratoires. Il s'effectue manuellement, en microscopie optique, et est donc cependant opérateur dépendant. De plus, en présence d'une forte poïkilocytose (fréquente au décours des assistances par ECMO du fait des pertes sanguines, des transfusions fréquentes, des carences et d'une possible insuffisance hépato-cellulaire), la quantification des schizocytes est délicate (85).

Comparaison aux données de la littérature :

D'une façon générale, les comparaisons des études réalisées chez les patients assistés par ECMO sont délicates car les populations étudiées sont très hétérogènes. Dans notre étude, les patients étaient majoritairement des hommes (70 %), ce qui concorde avec les données de la littérature (moyenne 74 % [52-83 %]) (19). L'indication ayant motivé l'implantation d'ECMO était majoritairement cardiaque (post chirurgie cardiaque, choc cardiogénique, post-greffe cardiaque), lié à la spécificité de notre centre. De ce fait, 84 % des dispositifs étaient de type VA afin de suppléer aux fonctions cardiaques défaillantes. Il faut souligner que les pathologies sous-jacentes ayant motivé l'implantation d'une ECMO sont très hétérogènes (myocardite, valvuloplastie, post LVAD, post greffe, IDM...), à la différence de la majorité des études publiées sur le sujet, majoritairement rétrospectives issues de registres permettant la sélection de patients homogènes.

Notre étude révèle un taux de changement de circuit et/ou d'oxygénateur élevé (62 % des patients), alors que la prévalence rapportée dans la littérature est de 15 à 30% (18,34). Une thrombose « patient » affectait 26 % des patients, ce qui est légèrement supérieur au taux (17-19 %) rapporté dans une méta-analyse portant sur plus de 1 800 cas (19). Il faut noter que, selon les études, l'évènement « ischémie de membre » n'est pas systématiquement considéré comme un évènement thrombotique (peut être lié à une malposition de canule), ce qui a pu majorer le taux de thrombose dans notre étude. Seize thromboses « dispositif ECMO », affectant 32 % des patients, ont été retrouvées, ce qui est proche des données de la littérature (26 % sur 265 cas) (27). Il faut souligner la difficulté

de caractériser un évènement thrombotique affectant le dispositif, le diagnostic étant établi le plus souvent sur un faisceau d'arguments (coagulation des circuits de pression, présence de fibrine sur l'oxygénateur, Pfhb > 50 mg.dL⁻¹) conduisant à changer le circuit et/ou l'oxygénateur. Une thrombose de circuit ou d'oxygénateur n'a été objectivée que chez 6 patients. Au total, près de la moitié des 50 patients inclus ont présenté un évènement thrombotique (thrombose « patient et/ou thrombose « dispositif ECMO ». Cette incidence élevée de changement de circuit et d'évènement thrombotique peut être liée à la longue durée d'assistance observée dans notre cohorte (10 jours en moyenne, et jusqu'à 26 jours), alors que la durée moyenne rapportée dans la littérature est de 5 jours (19). Cependant, il faut noter que le 1^{er} évènement thrombotique survenait très tôt, majoritairement dans les 4 premiers jours d'assistance.

Les femmes semblent majoritairement affectées (39 % des patients ayant thrombosé, alors qu'elles ne représentent que 30 % de l'effectif total), de même que les patients souffrant d'un choc cardiogénique (44 % des patients ayant thrombosé, alors qu'ils ne représentent que 36 % de l'effectif total). Il faut souligner que les thromboses « patient » sont survenues uniquement chez des patients porteurs d'une ECMO VA.

Le taux de survie en réanimation était de 58 %, donc dans les valeurs hautes des données rapportées dans la littérature (20 à 65 %) (18,19). Le sexe, l'âge et l'indication ne semblaient pas conditionner la survie. En accord avec l'étude pédiatrique de Dalton *et al.*, la survenue d'un évènement thrombotique était associée à une surmortalité significative (OR 6.56 (95 % IC [1.83 – 19.79] ; p=0.0037). Une étude multivariée tenant compte des facteurs confondants (score SOFA, durée d'assistance) devra être réalisée afin d'établir un potentiel lien de causalité (24).

Points forts :

Les points forts de notre étude sont son caractère prospectif et l'inclusion exhaustive et consécutive de tous les patients répondant aux critères d'inclusion : en effet, la majorité des études portant sur la suppléance d'organe par ECMO sont rétrospectives, avec des données issues de registres (27,28,34,37,90). A notre connaissance, aucune cohorte prospective de plus de 50 patients assistés par ECMO n'a été publiée. Hormis l'étude rétrospective de Lubnow *et al.* (n = 24 adultes, avec ECMO VV pour SRDA), aucune étude ne s'est attachée à identifier un biomarqueur pour le diagnostic précoce des évènements

thrombotiques per-assistance. En particulier, l'impact des FVIII, vWF et schizocytes élevés n'a jamais été étudié dans ce contexte.

Limites :

L'inclusion exhaustive et consécutive de tous les patients réunissant les critères d'inclusions génère une grande hétérogénéité des caractéristiques patients (type d'ECMO, indication, âge, durée d'assistance, chirurgie récente ou non).

Une autre limite majeure de notre étude est l'absence d'exhaustivité des paramètres biologiques recueillis : l'implantation d'ECMO est souvent réalisée en urgence, et donc certains échantillons n'ont pu être conservés. Du fait du coût élevé des réactifs, le dosage de tous les paramètres a été réalisé uniquement à J1, J5 et J10 après implantation, et per-événement (changement d'oxygénateur). Les événements thrombotiques survenant très précocement (majoritairement avant J5), l'analyse statistique des cinétiques de biomarqueurs n'a pu être réalisée du fait du faible effectif. Des analyses complémentaires devront être réalisées sur les échantillons conservés, dans l'objectif d'obtenir des cinétiques précises per-événement des biomarqueurs étudiés, notamment les D-Dimères, les plaquettes et les schizocytes.

Enfin, l'analyse statistique a été menée en considérant l'évènement thrombotique dans sa globalité, comprenant le patient et le dispositif ECMO, la thrombose artérielle et veineuse. Il faut également souligner que les thromboses « dispositif » étaient le plus souvent établies sur un faisceau d'argument, sans élément de certitude.

Conclusion :

La survenue d'une thrombose per-ECMO était associée à une surmortalité significative (OR 6.56 (95 % IC [1.83 – 19.79] ; p=0.0037) (sans que le lien de causalité ne soit établi), confirmant l'intérêt d'identifier un marqueur fiable permettant la prédiction ou le diagnostic précoce de cet évènement. Les D-Dimères augmentaient significativement dans les 2 jours précédant un changement d'oxygénateur, et diminuaient après la procédure. Ce biomarqueur pourrait donc prédire la nécessité d'un changement d'oxygénateur imminent. L'absence de diminution après la procédure pourrait permettre d'alerter le clinicien sur la persistance d'un dysfonctionnement du circuit.

Malgré les valeurs élevées pathologiques retrouvées, les taux initiaux de FVIII et vWF à J1 post implantation n'étaient pas prédictifs de la survenue d'un évènement thrombotique. L'impact de ces biomarqueurs sur la survenue d'une thrombose sous ECMO n'avait jamais été étudié.

Les taux initiaux d'antithrombine, à J1 post implantation, étaient franchement diminués mais aucune association avec la thrombose n'a été relevée. De façon surprenante, les patients ayant développé une thrombose n'étaient pas plus souvent « sous-dosés » en héparine (au regard des recommandations actuelles), ouvrant des perspectives concernant l'intensité de l'anticoagulation nécessaire. Ces données encourageantes doivent être confirmées par une étude prospective multicentrique permettant l'inclusion d'un grand nombre de patients.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Blum JM, Woodcock BJ, Dubovoy AV, Dubovoy T, Masood M, Chang AC, et al. Perioperative management of bridge-to-lung transplant using ECMO. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. 2013 Jun;59(3):331–5.
2. Makdisi G, Wang I-W. Extra Corporeal Membrane Oxygenation (ECMO) review of a lifesaving technology. *J Thorac Dis*. 2015 Jul;7(7):E166-176.
3. Gaffney AM, Wildhirt SM, Griffin MJ, Annich GM, Radomski MW. Extracorporeal life support. *BMJ*. 2010 Nov 2;341:c5317.
4. ELSO. Extracorporeal Life Support Organization - ECLS Registry Report, International Summary - July, 2017 [Internet]. Available from: <https://www.else.org/Registry/Statistics.aspx>
5. ELSO. Extracorporeal Life Support Organization - General Guidelines for all ECLS Cases [Internet]. Available from: <https://www.else.org/Portals/0/IGD/Archive/FileManager/929122ae88cusersshydocumentselsoguidelinesgeneralalleclsversio n1.3.pdf>
6. Combes A, Leprince P, Luyt C-E, Trouillet J-L, Chastre J. Assistance cardiorespiratoire par extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). *Réanimation*. 2009;(18):420–7.
7. Rastan AJ, Dege A, Mohr M, Doll N, Falk V, Walther T, et al. Early and late outcomes of 517 consecutive adult patients treated with extracorporeal membrane oxygenation for refractory postcardiotomy cardiogenic shock. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010 Feb;139(2):302–311, 311.e1.
8. D'Alessandro C, Golmard J-L, Barreda E, Laali M, Makris R, Luyt C-E, et al. Predictive risk factors for primary graft failure requiring temporary extra-corporeal membrane oxygenation support after cardiac transplantation in adults. *Eur J Cardio-Thorac Surg Off J Eur Assoc Cardio-Thorac Surg*. 2011 Oct;40(4):962–9.
9. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2016 Jul 14;37(27):2129–200.
10. Schmidt M, Burrell A, Roberts L, Bailey M, Sheldrake J, Rycus PT, et al. Predicting survival after ECMO for refractory cardiogenic shock: the survival after veno-arterial-ECMO (SAVE)-score. *Eur Heart J*. 2015 Sep 1;36(33):2246–56.
11. Combes A, Brodie D, Chen Y-S, Fan E, Henriques JPS, Hodgson C, et al. The ICM research agenda on extracorporeal life support. *Intensive Care Med*. 2017 May 3;
12. Chen Y-S, Lin J-W, Yu H-Y, Ko W-J, Jerng J-S, Chang W-T, et al. Cardiopulmonary resuscitation with assisted extracorporeal life-support versus conventional cardiopulmonary resuscitation in adults with in-hospital cardiac arrest: an observational study and propensity analysis. *Lancet Lond Engl*. 2008 Aug 16;372(9638):554–61.

13. Choi DS, Kim T, Ro YS, Ahn KO, Lee EJ, Hwang SS, et al. Extracorporeal life support and survival after out-of-hospital cardiac arrest in a nationwide registry: A propensity score-matched analysis. *Resuscitation*. 2016 Feb;99:26–32.
14. Le Guen M, Nicolas-Robin A, Carreira S, Raux M, Leprince P, Riou B, et al. Extracorporeal life support following out-of-hospital refractory cardiac arrest. *Crit Care Lond Engl*. 2011;15(1):R29.
15. Lamhaut L, Lecomte L. A Comparative Study Between a Pre-hospital and an In-hospital Circulatory Support Strategy (ECMO) in Refractory Cardiac Arrest (ACPAR2) [Internet]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02527031?cond=ecmo&cntry1=EU%3AFR&rank=1>
16. Peek GJ, Mugford M, Tiruvoipati R, Wilson A, Allen E, Thalanany MM, et al. Efficacy and economic assessment of conventional ventilatory support versus extracorporeal membrane oxygenation for severe adult respiratory failure (CESAR): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2009 Oct 17;374(9698):1351–63.
17. Fan E, Gattinoni L, Combes A, Schmidt M, Peek G, Brodie D, et al. Venovenous extracorporeal membrane oxygenation for acute respiratory failure : A clinical review from an international group of experts. *Intensive Care Med*. 2016 May;42(5):712–24.
18. Zangrillo A, Landoni G, Biondi-Zoccai G, Greco M, Greco T, Frati G, et al. A meta-analysis of complications and mortality of extracorporeal membrane oxygenation. *Crit Care Resusc J Australas Acad Crit Care Med*. 2013 Sep;15(3):172–8.
19. Cheng R, Hachamovitch R, Kittleson M, Patel J, Arabia F, Moriguchi J, et al. Complications of extracorporeal membrane oxygenation for treatment of cardiogenic shock and cardiac arrest: a meta-analysis of 1,866 adult patients. *Ann Thorac Surg*. 2014 Feb;97(2):610–6.
20. Chen Y-C, Tsai F-C, Fang J-T, Yang C-W. Acute kidney injury in adults receiving extracorporeal membrane oxygenation. *J Formos Med Assoc Taiwan Yi Zhi*. 2014 Nov;113(11):778–85.
21. Lin C-Y, Chen Y-C, Tsai F-C, Tian Y-C, Jenq C-C, Fang J-T, et al. RIFLE classification is predictive of short-term prognosis in critically ill patients with acute renal failure supported by extracorporeal membrane oxygenation. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2006 Oct;21(10):2867–73.
22. Aubron C, DePuydt J, Belon F, Bailey M, Schmidt M, Sheldrake J, et al. Predictive factors of bleeding events in adults undergoing extracorporeal membrane oxygenation. *Ann Intensive Care* [Internet]. 2016 Oct 6 [cited 2017 Aug 17];6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5053950/>
23. Murphy DA, Hockings LE, Andrews RK, Aubron C, Gardiner EE, Pellegrino VA, et al. Extracorporeal membrane oxygenation-hemostatic complications. *Transfus Med Rev*. 2015 Apr;29(2):90–101.
24. Dalton HJ, Garcia-Filion P, Holubkov R, Moler FW, Shanley T, Heidemann S, et al. Association of bleeding and thrombosis with outcome in extracorporeal life support. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2015 Feb;16(2):167–74.

25. Schmidt M, Bréchet N, Hariri S, Guiguet M, Luyt CE, Makri R, et al. Nosocomial infections in adult cardiogenic shock patients supported by venoarterial extracorporeal membrane oxygenation. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2012 Dec;55(12):1633–41.
26. Aubron C, Cheng AC, Pilcher D, Leong T, Magrin G, Cooper DJ, et al. Infections acquired by adults who receive extracorporeal membrane oxygenation: risk factors and outcome. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013 Jan;34(1):24–30.
27. Lubnow M, Philipp A, Foltan M, Bull Enger T, Lunz D, Bein T, et al. Technical complications during veno-venous extracorporeal membrane oxygenation and their relevance predicting a system-exchange--retrospective analysis of 265 cases. *PLoS One*. 2014;9(12):e112316.
28. Lehle K, Philipp A, Florian Zeman, Dirk Lunz, Matthias Lubnow, Hans-Peter Wendel, Laszlo Göbölös, Christof Schmid, and Thomas Müller. "Technical-Induced Hemolysis in Patients with Respiratory Failure Supported with Veno-Venous ECMO – Prevalence and Risk Factors." *PLoS One*. 2015 Nov.
29. Lehle K, Philipp A, Müller T, Schettler F, Bein T, Schmid C, et al. Flow dynamics of different adult ECMO systems: a clinical evaluation. *Artif Organs*. 2014 May;38(5):391–8.
30. Toomasian JM, Bartlett RH. Hemolysis and ECMO pumps in the 21st Century. *Perfusion*. 2011 Jan;26(1):5–6.
31. Rother RP, Bell L, Hillmen P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin: a novel mechanism of human disease. *JAMA*. 2005 Apr 6;293(13):1653–62.
32. Rastan AJ, Lachmann N, Walther T, Doll N, Gradistanac T, Gommert JF, et al. Autopsy findings in patients on postcardiotomy extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). *Int J Artif Organs*. 2006 Dec;29(12):1121–31.
33. Dornia C, Philipp A, Bauer S, Lubnow M, Müller T, Lehle K, et al. Analysis of thrombotic deposits in extracorporeal membrane oxygenators by multidetector computed tomography. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. 2014 Dec;60(6):652–6.
34. Pan KC, McKenzie DP, Pellegrino V, Murphy D, Butt W. The meaning of a high plasma free haemoglobin: retrospective review of the prevalence of haemolysis and circuit thrombosis in an adult ECMO centre over 5 years. *Perfusion*. 2016 Apr;31(3):223–31.
35. Dornia C, Philipp A, Bauer S, Hoffstetter P, Lehle K, Schmid C, et al. Visualization of thrombotic deposits in extracorporeal membrane oxygenation devices using multidetector computed tomography: a feasibility study. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. 2013 Aug;59(4):439–41.
36. Lehle K, Philipp A, Gleich O, Holzamer A, Müller T, Bein T, et al. Efficiency in extracorporeal membrane oxygenation-cellular deposits on polymethylpentene membranes increase resistance to blood flow and reduce gas exchange capacity. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. 2008 Dec;54(6):612–7.

37. Lubnow M, Philipp A, Dornia C, Schroll S, Bein T, Creutzenberg M, et al. D-dimers as an early marker for oxygenator exchange in extracorporeal membrane oxygenation. *J Crit Care*. 2014 Jun;29(3):473.e1-5.
38. Dornia C, Philipp A, Bauer S, Stroszczyński C, Schreyer AG, Müller T, et al. D-dimers Are a Predictor of Clot Volume Inside Membrane Oxygenators During Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Artif Organs*. 2015 Sep;39(9):782–7.
39. Allen S, Holena D, McCunn M, Kohl B, Sarani B. A review of the fundamental principles and evidence base in the use of extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) in critically ill adult patients. *J Intensive Care Med*. 2011 Feb;26(1):13–26.
40. Paden ML, Conrad SA, Rycus PT, Thiagarajan RR, ELSO Registry. Extracorporeal Life Support Organization Registry Report 2012. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. 2013 Jun;59(3):202–10.
41. Clemetson KJ. Platelets and primary haemostasis. *Thromb Res*. 2012 Mar;129(3):220–4.
42. Roberts HR, Monroe DM, Escobar MA. Current concepts of hemostasis: implications for therapy. *Anesthesiology*. 2004 Mar;100(3):722–30.
43. Tanaka KA, Key NS, Levy JH. Blood coagulation: hemostasis and thrombin regulation. *Anesth Analg*. 2009 May;108(5):1433–46.
44. Ott I. Inhibitors of the initiation of coagulation. *Br J Clin Pharmacol*. 2011 Oct;72(4):547–52.
45. Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *J Thromb Haemost JTH*. 2015 Jun;13 Suppl 1:S98-105.
46. Flemmig M, Melzig MF. Serine-proteases as plasminogen activators in terms of fibrinolysis. *J Pharm Pharmacol*. 2012 Aug;64(8):1025–39.
47. Naudin C, Burillo E, Blankenberg S, Butler L, Renné T. Factor XII Contact Activation. *Semin Thromb Hemost*. 2017 Mar 27;
48. Gorbet MB, Sefton MV. Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. *Biomaterials*. 2004 Nov;25(26):5681–703.
49. Annich GM. Extracorporeal life support: the precarious balance of hemostasis. *J Thromb Haemost JTH*. 2015 Jun;13 Suppl 1:S336-342.
50. Reynolds MM, Annich GM. The artificial endothelium. *Organogenesis*. 2011;7(1):42–9.
51. Gadisseur A, Hermans C, Berneman Z, Schroyens W, Deckmyn H, Michiels JJ. Laboratory diagnosis and molecular classification of von Willebrand disease. *Acta Haematol*. 2009;121(2–3):71–84.
52. Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, Marks WJ, Montgomery RR. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood*. 1987 Jun;69(6):1691–5.

53. Briat A, Tapon-Bretonnière J. Le syndrome de Willebrand acquis. *Hématologie*. 2005 Mar 1;11(2):111-6.
54. Peyvandi F, Garagiola I, Baronciani L. Role of von Willebrand factor in the haemostasis. *Blood Transfus*. 2011 May;9(Suppl 2):s3-8.
55. Gogia S, Neelamegham S. Role of fluid shear stress in regulating VWF structure, function and related blood disorders. *Biorheology*. 52(5-6):319-35.
56. Chan CHH, Pieper IL, Fleming S, Friedmann Y, Foster G, Hawkins K, et al. The effect of shear stress on the size, structure, and function of human von Willebrand factor. *Artif Organs*. 2014 Sep;38(9):741-50.
57. Heilmann C, Geisen U, Beyersdorf F, Nakamura L, Benk C, Trummer G, et al. Acquired von Willebrand syndrome in patients with extracorporeal life support (ECLS). *Intensive Care Med*. 2012 Jan;38(1):62-8.
58. Elalamy, Ismaïl, Grigoris Gerotziakas, Vassiliki Galea, and Mohamed Hatmi. "Les Héparines de Bas Poids Moléculaire: Des Antithrombotiques à Potentiel Antinéoplasique," [Internet] Available from : http://www.jle.com/download/stv-281098-les_heparines_de_bas_poids_moleculaire_des_antithrombotiques_a_potentiel_antineoplasique--Wb6BAH8AAQEAGEeOlcAAAAB-a.pdf.
59. Anticoagulation Task force - also anticoagulation guideline 8-2014 [Internet]. Available from: <https://www.else.org/Portals/0/Files/alsoanticoagulationguideline-8-2014-table-contents.pdf>
60. Maul TM, Massicotte MP, Wearden PD. ECMO Biocompatibility: Surface Coatings, Anticoagulation, and Coagulation Monitoring. 2016 ; Available from: <http://www.intechopen.com/books/extracorporeal-membrane-oxygenation-advances-in-therapy/ecmo-biocompatibility-surface-coatings-anticoagulation-and-coagulation-monitoring>
61. Esper SA, Welsby IJ, Subramaniam K, John Wallisch W, Levy JH, Waters JH, et al. Adult extracorporeal membrane oxygenation: an international survey of transfusion and anticoagulation techniques. *Vox Sang*. 2017 Jul;112(5):443-52.
62. Kostousov V, Nguyen K, Hundalani SG, Teruya J. The influence of free hemoglobin and bilirubin on heparin monitoring by activated partial thromboplastin time and anti-Xa assay. *Arch Pathol Lab Med*. 2014 Nov;138(11):1503-6.
63. Bembea MM, Annich G, Rycus P, Oldenburg G, Berkowitz I, Pronovost P. Variability in anticoagulation management of patients on extracorporeal membrane oxygenation: an international survey. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2013 Feb;14(2):e77-84.
64. Liveris A, Bello RA, Friedmann P, Duffy MA, Manwani D, Killinger JS, et al. Anti-factor Xa assay is a superior correlate of heparin dose than activated partial thromboplastin time or activated clotting time in pediatric extracorporeal membrane oxygenation*. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc*. 2014 Feb;15(2):e72-79.
65. Chu DC, Abu-Samra AG, Baird GL, Devers C, Sweeney J, Levy MM, et al. Quantitative measurement of heparin in comparison with conventional anticoagulation

- monitoring and the risk of thrombotic events in adults on extracorporeal membrane oxygenation. *Intensive Care Med.* 2015 Feb;41(2):369–70.
66. Mosesson MW. Fibrinogen and fibrin structure and functions. *J Thromb Haemost JTH.* 2005 Aug;3(8):1894–904.
 67. Adam SS, Key NS, Greenberg CS. D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood.* 2009 Mar 26;113(13):2878–87.
 68. Sidelmann JJ, Gram J, Larsen A, Overgaard K, Jespersen J. Analytical and clinical validation of a new point-of-care testing system for determination of D-Dimer in human blood. *Thromb Res.* 2010 Dec;126(6):524–30.
 69. Kabrhel C, Mark Courtney D, Camargo CA, Plewa MC, Nordenholz KE, Moore CL, et al. Factors associated with positive D-dimer results in patients evaluated for pulmonary embolism. *Acad Emerg Med Off J Soc Acad Emerg Med.* 2010 Jun;17(6):589–97.
 70. Mazurkiewicz-Pisarek A, Płucienniczak G, Ciach T, Płucienniczak A. The factor VIII protein and its function. *Acta Biochim Pol.* 2016;63(1):11–6.
 71. Wise RJ, Dorner AJ, Krane M, Pittman DD, Kaufman RJ. The role of von Willebrand factor multimers and propeptide cleavage in binding and stabilization of factor VIII. *J Biol Chem.* 1991 Nov 15;266(32):21948–55.
 72. Jeremic M, Weisert O, Gedde-Dahl TW. Factor VIII (AHG) levels in 1016 regular blood donors. The effects of age, sex, and ABO blood groups. *Scand J Clin Lab Invest.* 1976 Sep;36(5):461–6.
 73. Koster T, Blann AD, Briët E, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. *Lancet Lond Engl.* 1995 Jan 21;345(8943):152–5.
 74. Picard V, Marque PE, Paolucci F, Aiach M, Le Bonniec BF. Topology of the stable serpin-protease complexes revealed by an autoantibody that fails to react with the monomeric conformers of antithrombin. *J Biol Chem.* 1999 Feb 19;274(8):4586–93.
 75. Orlando C, Heylen O, Lissens W, Jochmans K. Antithrombin heparin binding site deficiency: A challenging diagnosis of a not so benign thrombophilia. *Thromb Res.* 2015 Jun;135(6):1179–85.
 76. Găman AM, Găman GD. Deficiency Of Antithrombin III (AT III) - Case Report and Review of the Literature. *Curr Health Sci J.* 2014 Jun;40(2):141–3.
 77. Koster A, Chew D, Kuebler W, Habazettl H, Hetzer R, Kuppe H. High antithrombin III levels attenuate hemostatic activation and leukocyte activation during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003 Sep;126(3):906–7.
 78. Byrnes JW, Swearingen CJ, Prodhan P, Fiser R, Dyamenahalli U. Antithrombin III supplementation on extracorporeal membrane oxygenation: impact on heparin dose and circuit life. *ASAIO J Am Soc Artif Intern Organs* 1992. 2014 Feb;60(1):57–62.
 79. Niebler RA, Christensen M, Berens R, Wellner H, Mikhailov T, Tweddell JS. Antithrombin replacement during extracorporeal membrane oxygenation. *Artif Organs.* 2011 Nov;35(11):1024–8.

80. Sonneveld MAH, de Maat MPM, Leebeek FWG. Von Willebrand factor and ADAMTS13 in arterial thrombosis: a systematic review and meta-analysis. *Blood Rev.* 2014 Jul;28(4):167–78.
81. Irby K, Swearingen C, Byrnes J, Bryant J, Prodhan P, Fiser R. Unfractionated heparin activity measured by anti-factor Xa levels is associated with the need for extracorporeal membrane oxygenation circuit/membrane oxygenator change: a retrospective pediatric study. *Pediatr Crit Care Med J Soc Crit Care Med World Fed Pediatr Intensive Crit Care Soc.* 2014 May;15(4):e175-182.
82. Schneider DJ, Taatjes DJ, Howard DB, Sobel BE. Increased reactivity of platelets induced by fibrinogen independent of its binding to the IIb-IIIa surface glycoprotein: a potential contributor to cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol.* 1999 Jan;33(1):261–6.
83. Falls LA, Farrell DH. Resistance of gammaA/gamma' fibrin clots to fibrinolysis. *J Biol Chem.* 1997 May 30;272(22):14251–6.
84. Koster T, Rosendaal FR, Reitsma PH, van der Velden PA, Briët E, Vandenbroucke JP. Factor VII and fibrinogen levels as risk factors for venous thrombosis. A case-control study of plasma levels and DNA polymorphisms--the Leiden Thrombophilia Study (LETS). *Thromb Haemost.* 1994 Jun;71(6):719–22.
85. Lesesve J-F, Salignac S, Lecompte T. Diagnostic des anémies hémolytiques mécaniques: contribution de l'hémogramme. *Ann Biol Clin (Paris).* 2001 Oct 16;59(5):551–8.
86. Nielsen MJ, Møller HJ, Moestrup SK. Hemoglobin and heme scavenger receptors. *Antioxid Redox Signal.* 2010 Feb;12(2):261–73.
87. Da Q, Teruya M, Guchhait P, Teruya J, Olson JS, Cruz MA. Free hemoglobin increases von Willebrand factor-mediated platelet adhesion in vitro: implications for circulatory devices. *Blood.* 2015 Nov 12;126(20):2338–41.
88. Kato GJ, Taylor JG. Pleiotropic effects of intravascular haemolysis on vascular homeostasis. *Br J Haematol.* 2010 Mar;148(5):690–701.
89. Neal JR, Quintana E, Pike RB, Hoyer JD, Joyce LD, Schears G. Using Daily Plasma-Free Hemoglobin Levels for Diagnosis of Critical Pump Thrombus in Patients Undergoing ECMO or VAD Support. *J Extra Corpor Technol.* 2015 Jun;47(2):103–8.
90. Omar HR, Mirsaeidi M, Socias S, Sprenger C, Caldeira C, Camporesi EM, et al. Plasma Free Hemoglobin Is an Independent Predictor of Mortality among Patients on Extracorporeal Membrane Oxygenation Support. *PloS One.* 2015;10(4):e0124034.
91. Zini G, d'Onofrio G, Briggs C, Erber W, Jou JM, Lee SH, et al. ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. *Int J Lab Hematol.* 2012 Apr;34(2):107–16.
92. Clauss A. [Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen]. *Acta Haematol.* 1957 Apr;17(4):237–46.
93. Kalbhenn J, Schmidt R, Nakamura L, Schelling J, Rosenfelder S, Zieger B. Early diagnosis of acquired von Willebrand Syndrome (AVWS) is elementary for clinical

practice in patients treated with ECMO therapy. *J Atheroscler Thromb.* 2015;22(3):265-71.

Vu, le Président du Jury,

Professeur Marie-Christine
BENE

Vu, le Directeur de Thèse,

Docteur Elodie BOISSIER

Vu, le Doyen de la Faculté,

Professeur Pascale JOLLIET

NOM : ATHANASE

PRENOM : Nicolas

Titre de Thèse : ExtraCorporeal Membrane Oxygenation : identification de marqueurs biologiques prédictifs de thrombose

RESUME

Objectif : La thrombose est une complication grave de l'assistance par ExtraCorporeal Membrane Oxygenation. Notre objectif était d'étudier des paramètres biologiques d'intérêt (D-Dimères, facteur VIII, facteur de Willebrand, activité anti-Xa, antithrombine, fibrinogène, plaquettes et schizocytes) afin d'identifier des marqueurs biologiques prédictifs de thromboses per-ECMO. **Méthode :** 50 patients consécutifs assistés par ECMO ont été inclus de manière prospective. Les biomarqueurs d'intérêt ont été dosés à J1, J5 et J10 post implantation, et per-événement thrombotique. **Résultats :** La survenue d'une thrombose per-ECMO était associée à une surmortalité significative (OR 6.56 (95 % IC [1.83 – 19.79] ; p=0.0037). Les D-Dimères augmentaient significativement dans les 2 jours précédant un changement d'oxygénéateur (p=0.009), et diminuaient après la procédure. **Conclusion :** L'augmentation des D-Dimères au cours d'une assistance par ECMO pourrait donc prédire la nécessité d'un changement d'oxygénéateur imminent.

MOTS-CLES

EXTRACORPOREAL MEMBRANE OXYGENATION, THROMBOSE, BIOMARQUEURS, DOSAGES BIOLOGIQUES, HEMOSTASE, COAGULATION.