

# Protéine Z et polymorphismes du gène de la protéine Z : rôles dans la survenue d'un infarctus cérébral chez le sujet jeune

Cécile Laubier-Terriel

▶ **To cite this version:**

Cécile Laubier-Terriel. Protéine Z et polymorphismes du gène de la protéine Z : rôles dans la survenue d'un infarctus cérébral chez le sujet jeune. Médecine humaine et pathologie. 2014. dumas-00987391

**HAL Id: dumas-00987391**

**https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00987391**

Submitted on 6 May 2014

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

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

**FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN**

**ANNEE 2014** **THESE N°**

# THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

**LAUBIER - TERRIEL Cécile**
NEE LE 14 AOUT 1986 A PONTOISE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 14 AVRIL 2014

## PROTEINE Z ET POLYMORPHISMES DU GENE DE LA PROTEINE Z : RÔLES DANS LA SURVENUE D'UN INFARCTUS CEREBRAL CHEZ LE SUJET JEUNE

PRESIDENT DU JURY : PR DIDIER HANNEQUIN
DIRECTRICE DE THESE : DR OZLEM OZKUL-WERMESTER

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2013 – 2014**

**U.F.R. DE MEDECINE-PHARMACIE DE ROUEN**

**----------**

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**

ASSESSEURS : **Professeur Michel GUERBET**
**Professeur Benoit VEBER**
**Professeur Pascal JOLY**

DOYENS HONORAIRES : **Professeurs J. BORDE - Ph. LAURET - H. PIGUET – C. THUILLEZ**

PROFESSEURS HONORAIRES : **MM. M-P AUGUSTIN - J.ANDRIEU-GUITRANCOURT - M.BENOZIO-J.BORDE - Ph. BRASSEUR - R. COLIN - E. COMOY - J. DALION -. DESHAYES - C. FESSARD – J.P FILLASTRE - P.FRIGOT -J. GARNIER - J. HEMET - B. HILLEMAND - G. HUMBERT - J.M. JOUANY - R. LAUMONIER – Ph. LAURET - M. LE FUR – J.P. LEMERCIER - J.P LEMOINE - Mle MAGARD - MM. B. MAITROT - M. MAISONNET - F. MATRAY - P.MITROFANOFF - Mme A. M. ORECCHIONI - P. PASQUIS - H.PIGUET - M.SAMSON – Mme SAMSON-DOLLFUS – J.C. SCHRUB - R.SOYER - B.TARDIF -.TESTART - J.M. THOMINE – C. THUILLEZ - P.TRON - C.WINCKLER - L.M.WOLF**

## I - **MEDECINE**

**PROFESSEURS**

| | | |
|---|---|---|
| M. Frédéric **ANSELME** | HCN | Cardiologie |
| Mme Isabelle **AUQUIT AUCKBUR** | HCN | Chirurgie Plastique |
| M. Bruno **BACHY (*Surnombre*)** | HCN | Chirurgie pédiatrique |
| M. Fabrice **BAUER** | HCN | Cardiologie |
| Mme Soumeya **BEKRI** | HCN | Biochimie et Biologie Moléculaire |
| M. Jacques **BENICHOU** | HCN | Biostatistiques et informatique médicale |
| M. Jean-Paul **BESSOU** | HCN | Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire |
| Mme Françoise **BEURET-BLANQUART *(Surnombre)*** | CRMPR | Médecine physique et de réadaptation |
| M. Guy **BONMARCHAND** | HCN | Réanimation médicale |
| M. Olivier **BOYER** | UFR | Immunologie |
| M. Jean-François **CAILLARD *(Surnombre)*** | HCN | Médecine et santé au Travail |
| M. François **CARON** | HCN | Maladies infectieuses et tropicales |
| M. Philippe **CHASSAGNE** | HB | Médecine interne (Gériatrie) |
| M. Vincent **COMPERE** | HCN | Anesthésiologie et réanimation chirurgicale |
| M. Antoine **CUVELIER** | HB | Pneumologie |
| M. Pierre **CZERNICHOW** | HCH | Epidémiologie, économie de la santé |
| M. Jean - Nicolas **DACHER** | HCN | Radiologie et Imagerie Médicale |
| M. Stéfan **DARMONI** | HCN | Informatique Médicale/Techniques de communication |
| M. Pierre **DECHELOTTE** | HCN | Nutrition |
| Mme Danièle **DEHESDIN (*Surnombre)*** | HCN | Oto-Rhino-Laryngologie |

| | | |
|---|---|---|
| Mme Danièle **DEHESDIN (*Surnombre)*** | HCN | Oto-Rhino-Laryngologie |
| M. Jean **DOUCET** | HB | Thérapeutique/Médecine – Interne - Gériatrie. |
| M. Bernard **DUBRAY** | CB | Radiothérapie |
| M. Philippe **DUCROTTE** | HCN | Hépato – Gastro - Entérologie |
| M. Frank **DUJARDIN** | HCN | Chirurgie Orthopédique - Traumatologique |
| M. Fabrice **DUPARC** | HCN | Anatomie - Chirurgie Orthopédique et Traumatologique |
| M. Bertrand **DUREUIL** | HCN | Anesthésiologie et réanimation chirurgicale |
| Mme Hélène **ELTCHANINOFF** | HCN | Cardiologie |
| M. Thierry **FREBOURG** | UFR | Génétique |
| M. Pierre **FREGER** | HCN | Anatomie/Neurochirurgie |
| M. Jean François **GEHANNO** | HCN | Médecine et Santé au Travail |
| M. Emmanuel **GERARDIN** | HCN | Imagerie Médicale |
| Mme Priscille **GERARDIN** | HCN | Pédopsychiatrie |
| M. Michel **GODIN** | HB | Néphrologie |
| M. Guillaume **GOURCEROL** | HCN | Physiologie |
| M. Philippe **GRISE** | HCN | Urologie |
| M. Didier **HANNEQUIN** | HCN | Neurologie |
| M. Fabrice **JARDIN** | CB | Hématologie |
| M. Luc-Marie **JOLY** | HCN | Médecine d'urgence |
| M. Pascal **JOLY** | HCN | Dermato - vénéréologie |
| M. Jean-Marc **KUHN** | HB | Endocrinologie et maladies métaboliques |
| Mme Annie **LAQUERRIERE** | HCN | Anatomie cytologie pathologiques |
| M. Vincent **LAUDENBACH** | HCN | Anesthésie et réanimation chirurgicale |
| M. Joël **LECHEVALLIER** | HCN | Chirurgie infantile |
| M. Hervé **LEFEBVRE** | HB | Endocrinologie et maladies métaboliques |
| M. Thierry **LEQUERRE** | HB | Rhumatologie |
| M. Eric **LEREBOURS** | HCN | Nutrition |
| Mme Anne-Marie **LEROI** | HCN | Physiologie |
| M. Hervé **LEVESQUE** | HB | Médecine interne |
| Mme Agnès **LIARD-ZMUDA** | HCN | Chirurgie Infantile |
| M. Pierre Yves **LITZLER** | HCN | Chirurgie Cardiaque |
| M. Bertrand **MACE** | HCN | Histologie, embryologie, cytogénétique |
| M. David **MALTETE** | HCN | Neurologie |
| M. Christophe **MARGUET** | HCN | Pédiatrie |
| Mme Isabelle **MARIE** | HB | Médecine Interne |
| M. Jean-Paul **MARIE** | HCN | ORL |
| M. Loïc **MARPEAU** | HCN | Gynécologie - obstétrique |
| M. Stéphane **MARRET** | HCN | Pédiatrie |
| Mme Véronique **MERLE** | HCN | Epidémiologie |
| M. Pierre **MICHEL** | HCN | Hépato - Gastro - Entérologie |
| M. Francis **MICHOT** | HCN | Chirurgie digestive |
| M. Bruno **MIHOUT *(Surnombre)*** | HCN | Neurologie |

| | | |
|---|---|---|
| M. Jean-François **MUIR** | HB | Pneumologie |
| M. Marc **MURAINE** | HCN | Ophtalmologie |
| M. Philippe **MUSETTE** | HCN | Dermatologie - Vénéréologie |
| M. Christophe **PEILLON** | HCN | Chirurgie générale |
| M. Jean-Marc **PERON** | HCN | Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale |
| M. Christian **PFISTER** | HCN | Urologie |
| M. Jean-Christophe **PLANTIER** | HCN | Bactériologie - Virologie |
| M. Didier **PLISSONNIER** | HCN | Chirurgie vasculaire |
| M. Bernard **PROUST** | HCN | Médecine légale |
| M. François **PROUST** | HCN | Neurochirurgie |
| Mme Nathalie **RIVES** | HCN | Biologie et méd. du dévelop. et de la reprod. |
| M. Jean-Christophe **RICHARD** *(Mise en dispo)* | HCN | Réanimation Médicale, Médecine d'urgence |
| M. Horace **ROMAN** | HCN | Gynécologie Obstétrique |
| M. Jean-Christophe **SABOURIN** | HCN | Anatomie – Pathologie |
| M. Guillaume **SAVOYE** | HCN | Hépato – Gastro |
| Mme Céline **SAVOYE – COLLET** | HCN | Imagerie Médicale |
| Mme Pascale **SCHNEIDER** | HCN | Pédiatrie |
| M. Michel **SCOTTE** | HCN | Chirurgie digestive |
| Mme Fabienne **TAMION** | HCN | Thérapeutique |
| Mme Florence **THIBAUT** | HCN | Psychiatrie d'adultes |
| M. Luc **THIBERVILLE** | HCN | Pneumologie |
| M. Christian **THUILLEZ** | HB | Pharmacologie |
| M. Hervé **TILLY** | CB | Hématologie et transfusion |
| M. François **TRON** *(Surnombre)* | UFR | Immunologie |
| M. Jean-Jacques **TUECH** | HCN | Chirurgie digestive |
| M. Jean-Pierre **VANNIER** | HCN | Pédiatrie génétique |
| M. Benoît **VEBER** | HCN | Anesthésiologie Réanimation chirurgicale |
| M. Pierre **VERA** | C.B | Biophysique et traitement de l'image |
| M. Eric **VERIN** | CRMPR | Médecine physique et de réadaptation |
| M. Eric **VERSPYCK** | HCN | Gynécologie obstétrique |
| M. Olivier **VITTECOQ** | HB | Rhumatologie |
| M. Jacques **WEBER** | HCN | Physiologie |

**MAITRES DE CONFERENCES**

| | | |
|---|---|---|
| Mme Noëlle **BARBIER-FREBOURG** | HCN | Bactériologie – Virologie |
| M. Jeremy **BELLIEN** | HCN | Pharmacologie |
| Mme Carole **BRASSE LAGNEL** | HCN | Biochimie |
| M. Gérard **BUCHONNET** | HCN | Hématologie |
| Mme Mireille **CASTANET** | HCN | Pédiatrie |
| Mme Nathalie **CHASTAN** | HCN | Physiologie |
| Mme Sophie **CLAEYSSENS** | HCN | Biochimie et biologie moléculaire |
| M. Moïse **COEFFIER** | HCN | Nutrition |
| M. Stéphane **DERREY** | HCN | Neurochirurgie |
| M. Eric **DURAND** | HCN | Cardiologie |
| M. Manuel **ETIENNE** | HCN | Maladies infectieuses et tropicales |
| M. Serge **JACQUOT** | UFR | Immunologie |

| | | |
|---|---|---|
| M. Moïse **COEFFIER** | HCN | Nutrition |
| M. Stéphane **DERREY** | HCN | Neurochirurgie |
| M. Eric **DURAND** | HCN | Cardiologie |
| M. Manuel **ETIENNE** | HCN | Maladies infectieuses et tropicales |
| M. Serge **JACQUOT** | UFR | Immunologie |
| M. Joël **LADNER** | HCN | Epidémiologie, économie de la santé |
| M. Jean-Baptiste **LATOUCHE** | UFR | Biologie Cellulaire |
| M. Thomas **MOUREZ** | HCN | Bactériologie |
| M. Jean-François **MENARD** | HCN | Biophysique |
| Mme Muriel **QUILLARD** | HCN | Biochimie et Biologie moléculaire |
| M. Vincent **RICHARD** | UFR | Pharmacologie |
| M. Francis **ROUSSEL** | HCN | Histologie, embryologie, cytogénétique |
| Mme Pascale **SAUGIER-VEBER** | HCN | Génétique |
| Mme Anne-Claire **TOBENAS-DUJARDIN** | HCN | Anatomie |
| M. Pierre Hugues **VIVIER** | HCN | Imagerie Médicale |

**PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE**

| | | |
|---|---|---|
| Mme Dominique **LANIEZ** | UFR | Anglais |
| Mme Cristina **BADULESCU** | UFR | Communication |

## II - PHARMACIE

**PROFESSEURS**

| | |
|---|---|
| M. Thierry **BESSON** | Chimie Thérapeutique |
| M. Jean-Jacques **BONNET** | Pharmacologie |
| M. Roland **CAPRON** (PU-PH) | Biophysique |
| M. Jean **COSTENTIN** (Professeur émérite) | Pharmacologie |
| Mme Isabelle **DUBUS** | Biochimie |
| M. Loïc **FAVENNEC** (PU-PH) | Parasitologie |
| M. Jean Pierre **GOULLE** | Toxicologie |
| M. Michel **GUERBET** | Toxicologie |
| M. Olivier **LAFONT** | Chimie organique |
| Mme Isabelle **LEROUX** | Physiologie |
| M. Paul **MULDER** | Sciences du médicament |
| Mme Martine **PESTEL-CARON** (PU-PH) | Microbiologie |
| Mme Elisabeth **SEGUIN** | Pharmacognosie |
| M. Rémi **VARIN** (PU-PH) | Pharmacie Hospitalière |
| M Jean-Marie **VAUGEOIS** | Pharmacologie |
| M. Philippe **VERITE** | Chimie analytique |

**MAITRES DE CONFERENCES**

| | |
|---|---|
| Mme Cécile **BARBOT** | Chimie Générale et Minérale |
| Mme Dominique **BOUCHER** | Pharmacologie |
| M. Frédéric **BOUNOURE** | Pharmacie Galénique |
| M. Abdeslam **CHAGRAOUI** | Physiologie |
| M. Jean **CHASTANG** | Biomathématiques |
| Mme Marie Catherine **CONCE-CHEMTOB** | Législation pharmaceutique et économie de la santé |
| Mme Elizabeth **CHOSSON** | Botanique |
| Mme Cécile **CORBIERE** | Biochimie |
| M. Eric **DITTMAR** | Biophysique |
| Mme Nathalie **DOURMAP** | Pharmacologie |
| Mme Isabelle **DUBUC** | Pharmacologie |
| M. Abdelhakim **ELOMRI** | Pharmacognosie |
| M. François **ESTOUR** | Chimie Organique |
| M. Gilles **GARGALA** (MCU-PH) | Parasitologie |
| Mme Najla **GHARBI** | Chimie analytique |
| Mme Marie-Laure **GROULT** | Botanique |
| M. Hervé **HUE** | Biophysique et Mathématiques |
| Mme Laetitia **LE GOFF** | Parasitologie Immunologie |
| Mme Hong **LU** | Biologie |

| | |
|---|---|
| Mme Sabine **MENAGER** | Chimie organique |
| Mme Christelle **MONTEIL** | Toxicologie |
| M. Mohamed **SKIBA** | Pharmacie Galénique |
| Mme Malika **SKIBA** | Pharmacie Galénique |
| Mme Christine **THARASSE** | Chimie thérapeutique |
| M. Frédéric **ZIEGLER** | Biochimie |

**PROFESSEUR CONTRACTUEL**

| | |
|---|---|
| Mme Elizabeth **DE PAOLIS** | Anglais |

**ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE**

| | |
|---|---|
| M. Imane **EL MEOUCHE** | Bactériologie |
| Mme Juliette **GAUTIER** | Galénique |
| M. Romy **RAZAKANDRAINIBE** | Parasitologie |

## III – MEDECINE GENERALE

**PROFESSEURS**

| | | |
|---|---|---|
| M. Jean-Loup **HERMIL** | UFR | Médecine générale |

**PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS** :

| | | |
|---|---|---|
| M. Pierre **FAINSILBER** | UFR | Médecine générale |
| M. Alain **MERCIER** | UFR | Médecine générale |
| M. Philippe **NGUYEN THANH** | UFR | Médecine générale |

**MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS** :

| | | |
|---|---|---|
| M Emmanuel **LEFEBVRE** | UFR | Médecine générale |
| Mme Elisabeth **MAUVIARD** | UFR | Médecine générale |
| Mme Marie Thérèse **THUEUX** | UFR | Médecine générale |
| Mme Yveline **SERVIN** | UFR | Médecine Générale |

**CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS** : Mme Véronique DELAFONTAINE

**HCN - Hôpital Charles Nicolle**
**HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME**
**CB - Centre HENRI BECQUEREL**
**CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray**
**CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation**

**LISTE DES RESPONSABLES DE DISCIPLINE**

| | |
|---|---|
| Mme Cécile **BARBOT** | Chimie Générale et Minérale |
| M. Thierry **BESSON** | Chimie thérapeutique |
| M. Roland **CAPRON** | Biophysique |
| M Jean **CHASTANG** | Mathématiques |
| Mme Marie-Catherine **CONCE-CHEMTOB** | Législation, Economie de la Santé |
| Mme Elisabeth **CHOSSON** | Botanique |
| M. Jean-Jacques **BONNET** | Pharmacodynamie |
| Mme Isabelle **DUBUS** | Biochimie |
| M. Loïc **FAVENNEC** | Parasitologie |
| M. Michel **GUERBET** | Toxicologie |
| M. Olivier **LAFONT** | Chimie organique |
| Mme Isabelle **LEROUX-NICOLLET** | Physiologie |
| Mme Martine **PESTEL-CARON** | Microbiologie |
| Mme Elisabeth **SEGUIN** | Pharmacognosie |
| M. Mohamed **SKIBA** | Pharmacie Galénique |
| M. Philippe **VERITE** | Chimie analytique |

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A **Guillaume**, mon mari,
Je n'y serai jamais arrivée sans ton soutien sans faille et ta patience tout au long de ces années.
Merci du fond du cœur.
Pour tous nos projets réalisés et à venir…

A **Léa**, notre petite princesse

A mes parents, mon frère et ma sœur, Lucas et Laura,
Pour avoir cru en moi
Votre soutien m'est tellement précieux, je ne vous remercierai jamais assez.

A ma grand-mère,

A mes beaux-parents pour leur disponibilité et leur gentillesse, merci.

A mon Maître et Président de thèse

Monsieur le Professeur Didier Hannequin
Chef du service de Neurologie du CHU de Rouen

Pour votre disponibilité, votre soutien et vos enseignements tout au long de ces années. Je vous en remercie.
Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance.

A ma Directrice de thèse,

Madame le Docteur Ozlem Ozkul-Wermester

Merci pour tes conseils, ton soutien et ta bonne humeur en toutes circonstances en tant qu'interne puis chef..
Pour tes encouragements et ton encadrement dans ce travail (le premier !), je te remercie infiniment.

A Monsieur le Professeur Jacques Weber

Membre du Jury
Chef du service de Neurophysiologie du CHU de Rouen

Je vous remercie infiniment d'avoir accepté de participer au jury de ma thèse.
Sachez l'immense fierté qui est la mienne de rejoindre votre équipe prochainement.
Je vous prie de trouver ici l'expression de ma respectueuse gratitude

A Monsieur le Professeur David Maltête

Membre du Jury
Neurologue au CHU de Rouen

Pour avoir accepté de juger ce travail
Pour m'avoir enseigné avec enthousiasme et rigueur les mouvements anormaux.
Je vous en remercie.

A Madame le Docteur Véronique Le Cam- Duchez

Membre du Jury
Hématologue à l'Institut de Biologie Clinique du CHU de Rouen
.

Pour avoir accepté de participer au jury de ma thèse.
J'en suis très honorée.
Merci pour votre disponibilité et votre aide dans la réalisation de ce travail.
Je vous prie de trouver ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Je tiens également à remercier :

Evelyne Guegan- Massardier et Aude Triquenot- Bagan, pour m'avoir accueillie pendant 2 semestres riches en bonne humeur et anecdotes ! Pour votre soutien et votre optimisme face à mes doutes. Merci.

Mary Jan pour ta patience et ta disponibilité face à mes éternelles interrogations dans ce monde si obscur pour moi : les statistiques !

Mes chefs en neurologie : Patrick Ahtoy, Romain Lefaucheur, Olivier Martinaud, Thierry Delangre, Yannick Onnient, Lucie Guyant-Maréchal, Laurent Bouchaud, Fabien Louillet, Pierre Verdure, Bertrand, David, Damien, Gael : pour ces années riches en enseignements et bonne ambiance.

A toute l'équipe du service de neurologie.

L'équipe du service de neurophysiologie : Corinne Blondeau, Anne-Laure Bedat-Millet, Nathalie Chastan, Axel Lebas, Patrick Magnier pour m'avoir accueilli chaleureusement pendant un semestre et m'accueillir de nouveau pour 2 ans..

Mes co-internes et amis : Lucile, Jean-Paul, Anne, Alaina, Aline, Audrey, Floriane, Bruno, Grégory, Alexis, Omar, Lou, Laura, Gulden, Adèle, Kevin, Jasmine, une pensée aux plus jeunes.

Mes amis : Aurélie, Aude, Caroline, Sylvain. Pour leur soutien, les mémorables soirées parisiennes, vous me manquez !

A tous ceux que j'ai oubliés …

# RESUME

INTRODUCTION - Quinze pourcent des infarctus cérébraux (IC) surviennent chez le sujet jeune de moins de 60 ans et ont un impact socio-économique important. La réalisation d'une enquête étiologique complète comprend des explorations de la coagulation. Les troubles de coagulation représentent 0.5 à 15% des causes d'IC chez le sujet jeune. La protéine Z (PZ) est une protéine vitamine K dépendante qui semble jouer un rôle important dans la régulation de la coagulation. Plusieurs auteurs se sont intéressés au rôle de du taux de PZ et des polymorphismes de son gène dans la survenue des thromboses artérielles et veineuses, mais les résultats sont conflictuels et ce lien reste discuté.

OBJECTIFS DE L'ETUDE - Evaluer le rôle du taux plasmatique de PZ et des polymorphismes du gène de la PZ dans la survenue d'un IC chez le sujet jeune sans étiologie retrouvée.

MATERIEL ET METHODES - Il s'agit d'une étude cas témoins effectuée au CHU de Rouen de mai 2008 à mai 2009. Les patients âgés de plus de 18 ans et moins de 60 ans ayant un premier IC étaient inclus. Une population de 101 témoins indemnes d'évènement thrombotique artériel ou veineux était à notre disposition. Les caractéristiques cliniques suivantes étaient recueillies : sexe, âge, traitement en cours, score NIHSS, facteurs de risque vasculaires. Une enquête étiologique comprenant le bilan de thrombophilie complet selon les recommandations de la SFNV a été effectuée pour les patients. La mesure du taux plasmatique de protéine Z et l'analyse des 4 principaux polymorphismes de PZ, PZA-13G, PZG-79A, PZG-103A et PZG-42A ont été effectués pour les patients et les témoins. Les patients étaient répartis en 2 groupes selon le bilan étiologique. Les patients ayant un IC sans cause (IC0) ont été comparés aux patients ayant un IC avec cause retrouvée (IC+) puis ont été comparés aux témoins. Une régression logistique a été effectuée afin de déterminer les facteurs de risque de survenue d'un IC chez le sujet jeune sans étiologie retrouvée.

RESULTATS - Parmi les 105 patients inclus ayant un IC, 36 (34.3%) n'avaient pas d'étiologie retrouvée à l'IC. Nous n'avons pas retrouvé de lien entre protéine Z et IC sans cause retrouvée. En revanche le taux plasmatique de PZ était significativement plus bas dans le groupe IC tous confondus comparativement aux témoins (1,78 ± 0,72 vs. 2,11 ± 0,59 µg/ml, $p<0,001$) et le polymorphisme G-79A était significativement plus fréquent chez les patients (OR 1,92 IC95% [1,20 ; 3,06] p=0,046). Les témoins était significativement moins âgés ($p<0,001$) et plus souvent des femmes (p=0,04).

DISCUSSION - Le déficit en PZ et le polymorphisme G-79A du gène de la protéine Z sont des facteurs de risque de survenue d'un infarctus cérébral chez le sujet jeune. Il existe probablement une régulation génétique du taux plasmatique de PZ. L'abaissement du taux de PZ et son déficit semblent être des facteurs prothrombogènes mais ne semblent pas être une cause suffisante pour expliquer un infarctus cérébral. C'est probablement l'association à d'autres facteurs prothrombogènes qui jouerait un rôle important. Le dosage de PZ et la recherche des polymorphismes ne sont pas indiqués à l'heure actuelle dans l'enquête étiologique d'un IC même lorsqu'aucune cause classique n'est retrouvée. Leurs rôles restent à l'avenir à élucider.



MOTS CLES - Infarctus cérébral, Protéine Z, Polymorphismes du gène de la protéine Z

# SOMMAIRE

**I) INTRODUCTION ..... 21**

**II) DEFINITION ET PARTICULARITES ETIOLOGIQUES DES INFARCTUS CEREBRAUX DU SUJET JEUNE ..... 23**

1) DEFINITION DU SUJET JEUNE ..... 23
2) ETIOLOGIES D'UN INFARCTUS CEREBRAL CHEZ LE SUJET JEUNE ..... 23
3) TROUBLES DE COAGULATION ..... 24
   a. *Déficit en protéine C(PC), protéine S (PS) et antithrombine (AT),* ..... *25*
   b. *Résistance fonctionnelle à la PC activée (RPCa) et mutation Leiden du facteur V* ..... *26*
   c. *Mutation G20210A du gène de la Prothrombine* ..... *27*
   d. *Homocystéine et polymorphisme de la MTHFR* ..... *28*
   e. *Facteur VIII* ..... *29*
   f. *Anticorps Anti Phospholipides* ..... *30*

**III) PROTEINE Z ..... 31**

1) GENE DE LA PROTEINE Z ..... 32
2) FONCTIONS DE LA PROTEINE Z ..... 33
3) PROTEINE Z ET PATHOLOGIE VASCULAIRE ..... 35
   a. *L'infarctus cérébral* ..... *35*
   b. *Thrombose veineuse* ..... *35*
   c. *La maladie coronarienne* ..... *36*
   d. *Artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI)* ..... *37*
   e. *Pathologies gravidiques* ..... *37*

**IV) OBJECTIFS DE L'ETUDE ..... 39**

**V) MATERIEL ET METHODES ..... 40**

1) SELECTION DES CAS ..... 40
2) TEMOINS ..... 41
3) MESURE DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE LA PROTEINE Z ..... 42
4) ETUDE DES POLYMORPHISMES GENETIQUES DE LA PROTEINE Z ..... 42
   a. *Extraction et amplification par Polymerase Chain Reaction (PCR)* ..... *42*
   b. *Digestion enzymatique* ..... *44*
   c. *Migration* ..... *45*
   d. *Coloration et photo* ..... *45*
5) BILAN DE THROMBOPHILIE ..... 47
   a. *Recherche du déficit en protéine C et en antithrombine* ..... *47*
   b. *Recherche du déficit en protéine S et dosage du facteur VIII* ..... *47*
   c. *Recherche de la mutation Leiden du facteur V, mutation G20210A du gène de la prothrombine, étude des polymorphismes de la MTHFR* ..... *48*
6) RECUEIL DE DONNEES ..... 48
7) STATISTIQUES ..... 50

**VI) RESULTATS ..... 52**

1) DONNEES DEMOGRAPHIQUES ET ANTECEDENTS DES PATIENTS AVEC IC ..... 54
2) DONNEES CLINIQUES A L'ENTREE ..... 55
3) DESCRIPTION DE LA POPULATION TEMOIN ..... 56
4) ANALYSE UNIVARIEE ..... 57
*a. Comparaison des groupes IC0 versus IC+ ..... 57*
*b. Comparaison des groupes IC tous confondus (IC0 et IC+) versus témoins ..... 59*
*c. Comparaison des groupes IC0 versus témoins ..... 61*
*d. Comparaison des groupes IC+ versus témoins ..... 62*
5) ANALYSE MULTIVARIEE ..... 62
6) CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION AYANT UN DEFICIT EN PZ ..... 64

**IV) DISCUSSION ..... 66**

1) OBJECTIF PRINCIPAL ..... 66
*a. Taux plasmatique de PZ ..... 66*
*b. Rôle des polymorphismes ..... 72*
2) DESCRIPTION DE NOTRE POPULATION ..... 75
3) FORCES ET LIMITES DE L'ETUDE ..... 77

**V) CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES ..... 79**

**VI) ANNEXES ..... 80**

**VII) REFERENCES ..... 85**

## ABREVIATIONS

**ADN :** Acide Désoxy Ribonucléique

**AIT :** Accident Ischémique Transitoire

**AT :** Anti Thrombine

**AVC :** Accident Vasculaire Cérébral

**ARM :** Angiographie par Résonance Magnétique

**AVK :** Anti Vitamine K

**CHU :** Centre Hospitalo Universitaire

**CIVD :** Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée

**ELISA :** Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

**HAS :** Haute Autorité de Santé

**HCT :** Hypercholestérolémie

**HTA :** Hypertension Artérielle

**IC :** Infarctus Cérébral

**IRM :** Imagerie par Résonance Magnétique

**MTHFR :** 5,10 Méthylènetétrahydrofolate Réductase

**NIHSS :** *National Institute of Health Stroke Scale*

**OMS :** Organisation Mondiale de la Santé

**OR :** Odds Ratio

**PC :** Protéine C

**PCR :** Polymerase Chain Reaction

**PS :** Protéine S

**PZ :** Protéine Z

**RPCa :** Résistance à la Protéine C activée

**SAPL :** Syndrome des Anticorps anti-Phospholipides

**SFNV :** Société Française Neuro-Vasculaire

**TCA :** Temps Céphaline Activée

**TDM :** Tomodensitométrie

**TOAST :** *Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment*

**TP :** Taux de Prothrombine

**TVC :** Thrombose Veineuse Cérébrale

**ZPI :** Inhibiteur dépendant de la protéine Z

# I) Introduction

Cent cinquante mille personnes sont atteintes d'Accident Vasculaire Cérébral (AVC) chaque année en France. Il s'agit de la 1ère cause de handicap acquis non traumatique de l'adulte, de la 2ème cause de démence et de la 3ème cause de mortalité (1). Un quart des patients victimes d'un AVC ont moins de 65 ans, et selon le registre de Dijon, il y aurait eu en France en 2005 près de 3500 nouveaux cas d'AVC de moins de 45 ans (2). Les AVC peuvent être de type ischémique dans 80% des cas ou hémorragique dans 20% des cas.

Environ 15% des AVC ischémiques, ou infarctus cérébraux (IC) surviennent chez le sujet jeune (entre 15 et 60 ans) (3 , 4) et l'impact économique est très important (5). Les IC sont sources d'altération de la qualité de vie par les séquelles physiques et cognitives qu'ils peuvent entraîner et le retentissement social, professionnel et familial qu'ils induisent même en l'absence de séquelles physiques graves (6).

Les étiologies des IC du sujet jeune diffèrent de celles de la population âgée. Chez le sujet de plus de 65 ans, les étiologies de l'IC sont dominées par l'athérosclérose (30%), les cardiopathies emboligènes (20%) et les maladies des petites artères (20%). Les affections hématologiques à l'origine de l'IC dans cette population sont rares (environ 1%)(7).

Chez les sujets jeunes, les étiologies rencontrées sont : les dissections artérielles (13%), les cardiopathies embolique (20 à 47%), la maladie des petites artères (7 à 14%), l'athérosclérose (2 à 11%), les causes hématologique dont les troubles de coagulation (0,5 à 15%), et les causes multiples (2 à 3%) (5). Les recommandations de la Société Française Neurovasculaire (SFNV) publiées en 2008 suggèrent de mener une enquête étiologique exhaustive chez les patients jeunes (8). Malgré la réalisation de cette enquête, la cause de l'IC n'est pas retrouvée dans 20 à 40% des cas (9).

La recherche d'un trouble de coagulation ou bilan de thrombophilie constitutionnelle ou acquise fait partie du bilan étiologique chez le sujet jeune. La recherche des Anticorps anti-phospholipides est indiquée en première intention. Le bilan de thrombophilie complet (dosage des protéines S, C et de l'antithrombine, recherche d'une résistance à la Protéine C Activée et mutation Leiden du facteur V, recherche de la mutation G20210A du gène de la prothrombine) est proposé en quatrième intention selon les recommandations de la SFNV de 2008 en tenant compte des antécédents personnels ou familiaux de thrombose artérielle ou veineuse, ou lorsqu'un mécanisme d'embolie paradoxale est évoqué (8).

La protéine Z (PZ) a été plus récemment étudiée. Il s'agit d'une protéine se liant à une autre protéine ZPI (inhibiteur dépendant de la protéine Z). Le complexe PZ-ZPI ainsi formé inhibe le facteur X activé à la surface des phospholipides et inhibe la coagulation (10). La diminution du taux plasmatique de PZ pourrait avoir des conséquences procoagulantes et jouerait un rôle dans la survenue de pathologies thrombotiques artérielles ou veineuses et notamment, dans la survenue d'un infarctus cérébral. A l'heure actuelle, les différentes études mettent en évidence des résultats contradictoires concernant le rôle de la PZ et la survenue d'un IC (11, 12). Plusieurs équipes se sont intéressées aux polymorphismes du gène codant pour la PZ. Il a été montré que ces polymorphismes avaient un impact sur la concentration plasmatique de PZ (13). Quatre polymorphismes (G-79A, G-42A, G-103A, A-13G) ont été plus particulièrement étudiés dans la pathologie artérielle (14). Là encore, les résultats sont divergents et la littérature est pauvre à ce sujet. Le dosage de la protéine Z (PZ) et la recherche des polymorphismes du gène de la PZ ne sont donc pas recommandés à l'heure actuelle dans le bilan étiologique d'un IC (15).

Notre étude a pour but d'évaluer le rôle des polymorphismes du gène de la PZ et du taux plasmatique de la PZ dans la survenue d'un IC chez le sujet jeune et plus particulièrement lorsqu'aucune cause n'est retrouvée à cet IC.

## II) Définition et particularités étiologiques des infarctus cérébraux du sujet jeune

### 1) Définition du sujet jeune

Le sujet jeune est défini selon les différentes études publiées par un âge inférieur à 55 ans ou 60 ans et parfois 65 ans (5, 9, 16, 17).

### 2) Etiologies d'un infarctus cérébral chez le sujet jeune

Selon la classification TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment), les étiologies d'infarctus cérébral chez le sujet jeune sont (18):

- ***la maladie des gros vaisseaux*** ou athérosclérose (2-11%),
- ***les cardiopathies emboligènes*** (20-47%),
- ***les maladies des petites artères intracrâniennes*** de causes diverses (7à 14%) dont la lipohyalinose des artères perforantes liée à l'hypertension artérielle et la maladie de CADASIL (Cerebral Autosomic Dominant Arteriopathy with Subcortical Ischaemic Stroke)
- ***les autres causes déterminées*** (20-34%) dont :
    - Les *dissections artérielles extra ou intracrâniennes* (13%)
    - Les *atteintes artérielles inflammatoires:* vascularites cérébrales primitives ou secondaires survenant au cours d'une maladie systémique, d'une infection, suite à une radiothérapie.
    - Les *atteintes artérielles constitutionnelles* : maladie de Fabry, dysplasie fibromusculaire, syndrome de Susac, encéphalopathie mitochondriale.

- Les *causes hématologiques* (0.5 à 15%) dont la thrombopénie à l'héparine, les troubles de coagulation constitutionnels ou acquis détaillés ci-dessous, ou certaines affections hématologiques (polyglobulie, drépanocytose, thalassémie, coagulation intravasculaire disséminée, thrombocytémie essentielle, leucémie)
- Le *syndrome de vasoconstriction cérébrale réversible.*

- ***les infarctus de cause indéterminée*** (20 à 40%) si :
  - 2 ou plusieurs causes potentielles ont été identifiées ou
  - Aucune cause retrouvée malgré une enquête étiologique exhaustive ou
  - Les investigations sont incomplètes.

## 3) Troubles de coagulation

Le bilan étiologique d'un IC chez le sujet jeune identifie dans 0.5 à 15% des cas un trouble de coagulation (5, 19). Les troubles de coagulation sont dépistés en routine par les tests d'hémostase (TP, TCA, numération plaquettaire, dosage du fibrinogène). Une anomalie d'un de ces examens et/ou un élément évocateur de pathologie thrombophiliante à l'interrogatoire (thromboses veineuses et/ou artérielles à répétition, fausses couches spontanées répétées, antécédents familiaux de pathologie thrombophiliante) sont des arguments pour réaliser un bilan de thrombophilie spécifique, génétique ou recherche d'anticoagulant circulant ou anticorps anti phospholipides.

Les troubles de coagulation peuvent être constitutionnels, acquis, ou mixtes. Les troubles de coagulation constitutionnels résultent de la mutation de gène codant pour des protéines anticoagulantes et les facteurs de coagulation. Le rôle de certains de ces facteurs dans les événements thromboemboliques veineux a clairement été démontré (20).

Concernant les thromboses artérielles, leur rôle est controversé (21). Les troubles de coagulation potentiellement impliqués dans la survenue d'un IC sont rapportés dans une revue de 2010 (22). Actuellement, seul le lien entre le syndrome des anticorps antiphospholipides (SAPL) et la survenue d'un IC est bien établi (23 , 24).

Les autres troubles de coagulation potentiellement impliqués dans l'IC sont :

- le déficit en protéine C, protéine S et antithrombine,
- la mutation Leiden du facteur V et la résistance à la protéine C activée,
- la mutation G20210A du gène de la prothrombine,
- l'hyperhomocystéinémie et les polymorphismes de la MTHFR (méthylènetétrahydrofolate réductase),
- l'élévation du facteur VIII,
- la protéine Z et les polymorphismes du gène de la protéine Z.

Les résultats des études s'intéressant à l'association entre ces facteurs et la survenue d'un IC sont contradictoires, notamment pour la protéine Z et les polymorphismes de son gène, objets de notre travail. Nous allons d'abord détailler les troubles de coagulation dits "classiques" avant de s'intéresser à la protéine Z dans le chapitre suivant.

### a. *Déficit en protéine C(PC), protéine S (PS) et antithrombine (AT),*

Ces déficits sont peu fréquents dans la population générale (0.2-0.5%) (22). Les résultats des études prospectives sont donc contradictoires en terme d'implication de ces anomalies dans la survenu d'un IC, principalement en raison du faible nombre de patients inclus (25). Concernant les études rétrospectives, une étude japonaise concernant 26 800 patients présentant une pathologie cardiovasculaire met en évidence la survenue plus précoce d'IC chez les patients présentant un déficit en PC (26). Au

contraire, *Martinelli et collaborateurs* ne mettent en évidence aucun lien entre un déficit en PS, PC ou AT et la survenue d'un IC (27).

Une méta-analyse publiée en 2005, concernant 18 études cas/contrôles, met en évidence une corrélation possible entre la survenue d'un IC et la présence d'un déficit en PC. La prévalence du déficit en PC chez des enfants ayant présenté un IC exprimée en odds ratio est de 6.49 [2.96-14.24] pour un intervalle de confiance de 95% (28). Les résultats ne sont pas significatifs concernant la PS et l'AT. Ces résultats significatifs pour la PC sont obtenus chez des enfants et ne sont pas reproduits dans une population adulte.

### *b. Résistance fonctionnelle à la PC activée (RPCa) et mutation Leiden du facteur V*

La RPCa constitutionnelle a été décrite en 1993, et un an plus tard son "substratum" génétique était mis en évidence : la mutation Leiden du facteur V (29 , 30). Cette mutation explique 90 à 95 % des RPCa, pour les autres cas, une RPCa peut être expliquée par un déficit en PS, un anticoagulant lupique, ou un traitement anticoagulant. La mutation Leiden du facteur V est à transmission dominante.

Elles ont été avant tout décrites comme des facteurs de risque de thrombose veineuse : c'est à l'heure actuelle le facteur de prédisposition le plus fréquent de maladie thromboembolique veineuse. La RPCa a aussi été beaucoup étudiée dans la pathologie artérielle et notamment dans l'IC. La majorité des études démontre que ni la RPCa, ni la mutation Leiden du facteur V ne sont un facteur de risque d'infarctus cérébral (31). Deux méta analyses sur des grands effectifs (18000 cas et 58000 contrôles pour la première, 56 études analysées incluant 54 547 patients et contrôles au total pour la deuxième) ont montré, concernant la présence d'une mutation Leiden du facteur V, une

augmentation non significative du risque d'IC (OR 1,27 IC95%, [0.86-1.87]) pour l'une, et pour la deuxième une augmentation très modérée de ce risque (OR 1,33 IC95% [1.12-1.56] p=0,03) (32 , 33). Une augmentation significative du risque d'IC en cas de mutation Leiden du facteur V est mise en évidence dans certains sous-groupes de patients :

- Les sujets jeunes (moins de 45 ou moins de 55 ans) (respectivement OR 1,33 IC 95% [1,12 ; 1, 58] et OR 3,1 IC95% [ 2,3 ; 4,1]) (32 , 34)
- Les femmes jeunes de moins de 60 ans (OR 8,8 IC95% [2 ; 38]) (35)
- L'association d'une contraception oestro-progestative et d'une mutation Leiden du facteur V (OR 12,9 IC95% [1,3 ; 133,7]) (36)
- Patients ayant un IC cryptogénique ou avec un foramen ovale perméable (OR 4.7 (IC95% [1.4 ; 16.1]) (31).

### *c. Mutation G20210A du gène de la Prothrombine*

La mutation G20210A du gène de la prothrombine est responsable d'une élévation du taux plasmatique de la prothrombine, précurseur de la thrombine.

Concernant le risque thrombotique artériel cérébral, *Hankey et collaborateurs* n'ont pas mis en évidence de différence significative entre 219 patients (sans limite d'âge) ayant eu un premier événement ischémique cérébral et 205 témoins appariés en âge et sexe. (3.7% vs. 2% p=0.3) (25). A l'inverse, une équipe espagnole a montré une association significative entre la présence de cette mutation et la survenue d'un infarctus cérébral de cause indéterminée chez un sujet jeune (< 50 ans), sans facteur de risque vasculaire (OR 3.75 IC95% [1.05 ; 13.34]) (35). Ce risque concernerait davantage les hommes que les femmes jeunes (<60 ans) (35).

Une méta analyse de 10 études (cohortes et cas/contrôles) et 1625 patients comparés à 5050 contrôles, évalue le risque thrombotique artériel chez les patients porteurs de la mutation et met en évidence une augmentation non significative du risque d'IC tous âges confondus (OR 1.30 ;IC 95% [0.91 ; 1.87]), et un risque significatif un peu plus élevé avant 55 ans (OR 1.66 ; IC 95% [1.13 ; 2.46]) (33). Une autre méta analyse concernant 19 études cas/contrôles retrouve cette association significative (OR 1.44 ; IC 95% [1.11 ; 1.86]) (32).

### *d. Homocystéine et polymorphisme de la MTHFR*

L'homocystéine est un acide aminé soufré dérivée de la méthionine. Elle est transformée en cystéine par la cystathionine ß-synthase (CBS) qui nécessite la vitamine B6 (pyridoxine) comme co-facteur. Elle peut également être reméthylée pour reformer la méthionine sous l'action de la méthionine synthase ou de la bétaïne-homocystéine méthyl transférase. La méthylcobolamine provenant de la vitamine B12 est co-facteur de la méthionine synthase. Le métabolisme des folates intervient comme source de groupes méthyl par l'action de la 5,10 méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR). Ainsi, le taux plasmatique d'homocystéine est dépendant à la fois de facteurs nutritionnels (vitamines B6, B12 et acide folique) et de facteurs génétiques (déficits enzymatiques). L'analyse génétique précise le statut hétérozygote ou homozygote du variant C677T du gène de la MTHFR (37).

L'hyperhomocystéinémie est un facteur de risque d'occlusion artérielle par un mécanisme d'athérogénèse ou thrombotique (38). Dans une étude cas témoins d'IC chez des patients de moins de 50 ans : l'hyperhomocystéinémie était un facteur indépendant de risque de récidive d'IC (p=0.004) (37).

Dans une méta analyse de 16 études (1487 IC et 2554 contrôles), le taux plasmatique moyen d'homocystéine était significativement plus élevé chez les IC que chez les témoins sans IC (OR 1,79 IC95% [1.6 ; 2,0] p < 0.001) (39) .

Concernant la mutation de la MTHFR, certaines séries n'ont pas mis en évidence de modification du risque d'IC mais elle s'accompagne d'un taux d'homocystéine significativement plus élevé (37). D'autres séries retrouvent cette corrélation entre la mutation et une hyperhomocystéinémie à la fois chez les patients et les contrôles, mais aussi un risque accru d'IC (33).

### *e. Facteur VIII*

Le facteur VIII ou facteur anti-hémophilique A est le co-facteur du facteur IX. L'élévation du facteur VIII est un facteur de risque de maladie thromboembolique veineuse en dehors de tout syndrome inflammatoire (40). Quelques études ont été effectuées en pathologie artérielle avec des résultats contradictoires. Une étude sur les apparentés de premier degré de sujets présentant une élévation du facteur VIII montrait que les membres de la famille qui avaient un facteur VIII augmenté avaient plus de risque de faire un accident artériel tout confondu (IC, accident ischémique transitoire, infarctus du myocarde, artériopathie oblitérante des membres inférieurs) (40). Une étude prospective sur près de 15 000 sujets de 45 à 64 ans montrait que l'augmentation du facteur VIII entraînait une augmentation du risque d'IC (41). De plus, chez les sujets jeunes de moins de 45 ans, l'augmentation du facteur VIII est associée à l'augmentation de la pathologie artérielle quelle qu'elle soit (42). L'étude YAMIS confirme ceci chez les sujets de moins de 40 ans ayant présenté un IC (43).

### *f. Anticorps Anti Phospholipides*

Les anticorps (Ac) anti phospholipides (APL) sont des auto-anticorps dirigés contre différentes protéines associées aux phospholipides (PL) en particulier au niveau des cellules endothéliales et des plaquettes. Il s'agit d'un trouble de coagulation acquis d'origine autoimmune. Le mécanisme pathogène de ces Ac est complexe, ils sont prothrombogènes et proinflammatoires (44). Le terme d'Ac APL regroupe les anti-cardiolipines, l'anticoagulant circulant lupique et les anticorps anti ß2-GP1. Il existe une relation entre le taux d'Ac APL, et le risque de thrombose en particulier avec l'anticoagulant circulant lupique. La survenue d'un IC dans un syndrome des anticorps anti-phospholipides (SAPL) est due soit à une thrombose in situ soit à une vasculopathie cérébrale dans le cadre d'un Lupus érythémateux disséminé. Il existe aussi d'autres mécanismes associés comme une embolie à point de départ valvulaire cardiaque (endocardite de Libman Sacks, thrombus intra cardiaque, valvulopathie du cœur gauche, dégénérescence myxomateuse de la valve mitrale) (45). Les critères internationaux du SAPL, cliniques et biologiques, ont été définis pour la première fois en 1999 (46) et révisés en 2006 (47). Le diagnostic de SAPL est retenu si au moins un critère clinique et un critère biologique définis dans l'annexe 1 sont réunis.

Le lien entre IC et APL a été montré en particulier chez les patients jeunes (24).

## III) Protéine Z

La protéine Z (PZ) est une glycoprotéine de 62kDa comprenant 360 acides aminés. Sa moitié N-terminale présente une grande homologie de structure avec les facteurs VII, IX, X et la protéine C : 1 domaine Gla et 2 domaines EGF-like (Figure 1).

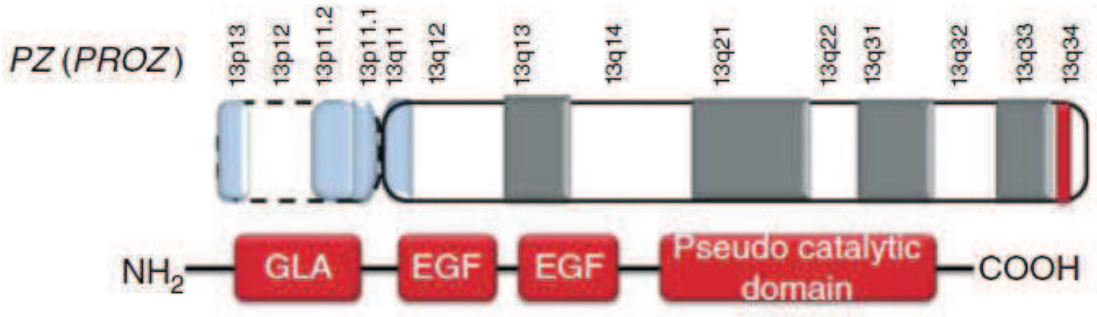



Figure 1 : Structure de la protéine Z et de son gène (48)

Elle a été identifiée dans le plasma bovin en 1977 puis isolée et caractérisée dans le plasma humain en 1984 par Broze et Miletich (49). C'est une protéine vitamine K dépendante synthétisée par le foie. La concentration plasmatique de cette protéine est variable d'un individu à l'autre et la grande majorité des études trouvent une concentration moyenne de PZ située entre 2,2 et 3µg/ml. Les techniques de dosage, l'influence géographique, le sexe, l'âge ne semblent pas être mis en cause dans la variation de ces normes d'une étude à l'autre (11, 50, 51). D'après *Broze et collaborateurs*, le taux de PZ diminue s'il existe une insuffisance hépatocellulaire, une CIVD, une amylose, ou en cas de traitement par antivitamine K (10, 52). En revanche, le taux plasmatique de PZ semblerait plus élevé chez les femmes sous contraception orale. *Al Shanqueeti et collaborateurs* à montré une différence moyenne de PZ de 38% (IC95% [26.1% ; 50,2%] p<0.001) entre un groupe de femmes âgés de 18 à 70 ans incluses ayant un premier événement thromboembolique veineux suivant un traitement œstro-progestatif comparativement aux femmes témoins (53). L'hypothèse

pouvant expliquer les variations interindividuelles est celle d'un contrôle génétique de la concentration de la PZ (13).

La norme retenue pour le taux plasmatique de PZ est comprise entre 0,9 et 2,7µg/ml. On parle de déficit en PZ lorsque le taux plasmatique est inférieur à 0,9 µg/ml.

## 1) Gène de la protéine Z

Le gène de la PZ est situé sur le chromosome 13 en région 13q34 (54). C'est un gène de 14 kilobases composés de 8 exons avec épissage alternatif possible de l'exon 1 (Figure 2).

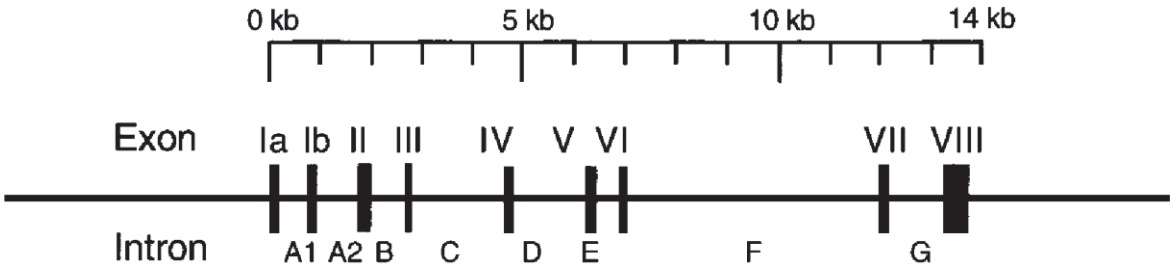



Figure 2 : Structure du gène de la protéine Z (54)

Quatorze polymorphismes dans le gène de la PZ ont été identifiés en 2001(14). En 2004, trois polymorphismes supplémentaires sont identifiés et certains des polymorphismes seraient directement liés au taux plasmatique de PZ (50). Quatre polymorphismes ont été particulièrement étudiés en pathologie vasculaire :

- Le polymorphisme A-13G, situé dans le promoteur du gène de la PZ
- Le polymorphisme G-42A, situé dans l'intron C du gène de la PZ
- Le polymorphisme G-103A, situé dans l'intron A du gène de la PZ
- Le polymorphisme G-79A, situé dans l'intron F du gène de la PZ.

La fréquence allélique de ces polymorphismes semble variable d'une étude à l'autre dans les populations contrôles (Tableau 1).

| Séries<br>N individus | Fréquence allélique A-13G | Fréquence allélique G-103A | Fréquence allélique G-42A | Fréquence allélique G79A |
|---|---|---|---|---|
| Rice. 2001 (14)<br>150 donneurs | A : 93.7%<br>G : 6.3% | | | G : 79.9%<br>A : 20.1% |
| Santacroce.<br>2004 (50)<br>100 témoins | | G : 86%<br>A : 14% | G : 97.5%<br>A : 2.5% | G : 77%<br>A : 23% |
| Lichy. 2004(55)<br>199 contrôles | A : 93.3%<br>G : 6.7% | | | G : 75.6%<br>A : 24.3% |
| Lichy. 2005 (56)<br>203 contrôles | | | | G : 75.4%<br>A : 24.6% |
| Santacroce.<br>2006 (57)<br>197 contrôles | | G : 87.8%<br>A : 12.2% | G : 87.6%<br>A : 12.4% | G : 81.5%<br>A : 18.5% |

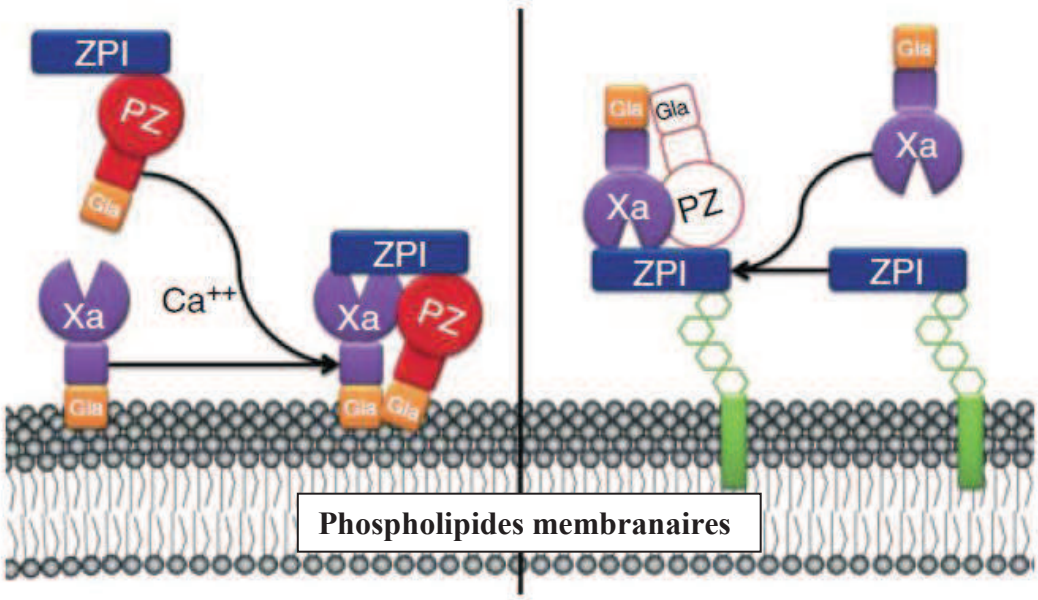
Tableau 1 : Fréquence allélique de 4 polymorphismes du gène de la protéine Z dans 5 grandes séries

Plusieurs études ont montré que ces polymorphismes influençaient la concentration plasmatique de PZ (57). Une étude récente a montré l'influence séparée des polymorphismes G-79A, G-103A et A-13G mais également un effet additif : plus il existe de polymorphismes, plus le taux plasmatique de PZ diminue (13).

## 2) Fonctions de la protéine Z

La PZ sert de cofacteur au ZPI (inhibiteur dépendant de la PZ). Le ZPI est une protéine plasmatique faite d'une seule chaine d'un poids moléculaire de 72kDa isolée pour la première fois en 1998 dans le plasma humain. Sa synthèse est majoritairement hépatique. Cette protéine appartient à la famille des serpines (inhibiteurs de protéases, comme l' α1antitrypsine ou l'antithrombine). La concentration de ZPI semble être régulée par la

concentration de PZ et il a été également établi que le ZPI est en excès par rapport à la PZ dans le plasma humain, la protéine Z circule donc de façon totalement complexée. Le ZPI inhibe le facteur X activé à la surface des phospholipides en présence de calcium et de PZ comme le montre la figure 3.




2 mécanismes d'action du couple PZ-ZPI. A gauche : le complexe préformé PZ-ZPI va se lier au facteur X activé en présence de phospholipides et calcium par l'intermédiaire du domaine Gla de PZ (en orange). A droite : ZPI est activé par les glycoaminoglycanes présents à la surface des cellules endothéliales et se lient au facteur X activé et PZ.

Figure 3 : mécanismes d'action du couple PZ-ZPI (48)

La présence de PZ multiplie par 1000 la vitesse d'inhibition du facteur X activé par le ZPI. La physiologie de la coagulation est rappelée dans l'annexe 2.

L'activité inhibitrice du ZPI est « consommée » lors de la coagulation. Le complexe PZ-ZPI pourrait être donc un inhibiteur important de la coagulation du fait de sa capacité à inhiber le facteur Xa fixé sur les phospholipides.

## 3) Protéine Z et pathologie vasculaire

### *a. L'infarctus cérébral*

Le rôle de la PZ dans l'infarctus cérébral est à l'heure actuelle très discuté. Le déficit en PZ serait associé à une augmentation du risque de survenue d'un infarctus cérébral chez les sujets jeunes (âge moyen 33 ans) (58) mais aussi chez des sujets plus âgés (âge moyen 57 ans) (59). D'autres auteurs n'ont pas mis en évidence cette tendance (60, 61). Au contraire, c'est l'élévation de la concentration de PZ qui serait un facteur de risque de survenue d'IC pour une autre équipe (62). Enfin, l'élévation de la concentration de PZ serait retrouvée uniquement à la phase aigüe de l'IC suivie d'une baisse des taux proches de ceux des témoins à 3 et à 6 mois (60, 61).

Le rôle des polymorphismes du gène de PZ a également été étudié au cours de l'IC. La première étude chez 151 patients et 164 contrôles montrait l'absence de lien entre la présence des polymorphismes A-13G et G-79A et la survenue d'un IC (63). Une autre étude a mis en évidence un possible rôle protecteur du polymorphisme G-79A chez 200 patients âgés de moins de 50 ans persistant après ajustement des risques relatifs sur les facteurs de risque habituels d'IC (55). Ce rôle protecteur n'a pas été confirmé a posteriori en 2006 (64).

### *b. Thrombose veineuse*

Le rôle du taux plasmatique de la PZ dans la survenue de la thrombose veineuse profonde reste discuté. Le déficit en PZ ne semble pas être un facteur de risque de thrombose veineuse. Les 2 premières études montraient soit l'absence de différence du taux plasmatique de PZ entre 56 patients ayant une maladie thromboembolique

veineuse sans facteur de risque identifié et 88 contrôles de même âge (65), soit un taux plasmatique de PZ plus bas chez 46 patients porteurs d'une mutation Leiden du facteur V isolée ayant eu un événement thrombotique veineux par rapport à 46 sujets témoins sans aucun antécédents (66). Dans 2 autres études avec de plus grands effectifs (426 patients vs 471 témoins appariés pour la première étude et 443 patients vs 394 contrôles pour la deuxième), il a été montré que le déficit en PZ n'était pas un facteur de risque indépendant de thrombose veineuse (27, 53). Cependant, il pourrait majorer l'impact des thrombophilies constitutionnelles classiques telles que la mutation G20210A du facteur II, l'hyperhomocystéinémie et la mutation Leiden du facteur V (67).

Concernant la thrombose veineuse cérébrale (TVC), l'influence des polymorphismes n'a pas été prouvée (56, 68). Aucune étude concernant l'influence de la concentration en PZ sur la TVC n'a à notre connaissance été réalisée.

### *c. La maladie coronarienne*

Les études sont conflictuelles en ce qui concerne le taux plasmatique de PZ et identifient tantôt une association entre taux bas de PZ et syndrome coronarien aigu (SCA) tantôt l'absence de relation. Deux études ont montré des taux plasmatiques de PZ significativement moindres chez des patients ayant eu un syndrome coronarien aigu par rapport aux témoins (69). De même, le fait d'avoir un syndrome coronarien aigu et un déficit en PZ inférieur au 5ème percentile serait un facteur de risque de récidive d'événement cardiaque majeur à 1 an persistant après ajustement sur les facteurs de risques habituels. Ces résultats sont contradictoires avec une autre étude prospective sur le rôle de la PZ au cours de la maladie coronaire : il n'y avait pas de différence significative entre les taux plasmatiques de PZ de 297 patients ayant eu une

maladie coronaire vs 539 sujets asymptomatiques au cours de 5 années de suivi. L'étude plus récente de *Le cam et collaborateurs* montrait l'absence de lien significatif (70).

Concernant les polymorphismes, il n'a pas été montré de différence significative entre 176 patients de moins de 46 ans ayant un SCA comparés aux contrôles appariés en âge et en sexe pour chaque polymorphisme. Par contre la combinaison de 3 génotypes rares (concernant les polymorphismes A-13G, G-103A, et G-79A) était associé de façon significative à la survenue d'un SCA (OR 3.31 IC95% [1.06 ; 12.15] p=0.0099) (70).

### *d. Artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI)*

Une seule étude a été publiée au sujet du rôle de la PZ dans la survenue de pathologies artérielles périphériques (71). L'étude comparait 120 patients à 306 témoins appariés en âge et en sexe. L'âge médian était de 75 ans. La médiane du taux plasmatique de PZ était significativement plus basse chez les patients (1,59µg/ml) que chez les témoins (1,73µg/ml) ($p<0.05$). Un nombre significativement plus important de patients (24.2%) que de contrôles (5.3%) ($p<0.0001$) avait un dosage plasmatique de PZ inférieur au cinquième percentile de la population contrôle (OR 5.83 IC95% [2.83 ; 12.01]) après ajustement sur les facteurs de risques vasculaires classiques (HTA, diabète, dyslipidémie, tabagisme actif, antécédents familiaux). Enfin, le taux plasmatique de PZ était d'autant plus bas que le stade de l'AOMI était avancé.

### *e. Pathologies gravidiques*

Les résultats des différentes études sont également contradictoires à ce sujet. Le déficit en PZ serait plus fréquent chez les femmes ayant des pertes fœtales entre la dixième et

la 15e semaine (72). Quatre groupes étaient comparés au cours de cette étude : 200 femmes ayant eu au moins 3 fausses couches spontanées (FCS) inexpliquées avant 8 semaines, 200 femmes ayant une première FCS inexpliquée entre 10 et 19 semaines, 50 femmes ayant une première mort fœtale in utero inexpliquée au début de la 20$^{e}$ semaine et 200 témoins sains (grossesse non compliquée). Le dosage de PZ était réalisé 6 mois après l'accident obstétrical. Il y avait une différence significative entre le groupe ayant une FCS inexpliquée entre 10 et 19 semaines et les autres groupes ($p<0.0001$ OR=6.7 [IC95% 3.1-14.8]). L'analyse sur ce sous-groupe permettait de mettre en évidence un taux significativement plus bas de PZ entre 10 et 15 semaines ($p<0.0001$).

Deux autres équipes ont mis en évidence le rôle du déficit en PZ au cours de pertes fœtales plus tardives :

- L'équipe de *Bretelle et collaborateurs* en 2005 a mis en évidence une fréquence du déficit en PZ significativement plus élevée dans le groupe de 25 patientes ayant un retard de croissance intra-utérin (RR 1.96 IC95% [1.16 ; 3.32] p=0.041) et 7 patientes avec une mort fœtale in utero (RR 3,36 IC95% [1,65 ; 6,8] p=0.0031) (73).
- L'équipe de *Erez et collaborateurs* a mis en évidence une concentration plasmatique médiane significativement plus basse chez les 130 patientes ayant une pré éclampsie (1.6µg/ml) comparativement aux 71 patientes ayant une grossesse normale (2.4µg/ml) ($p<0.0001$) (74). Le déficit en PZ associé à la survenue d'une pré éclampsie n'était pas montré dans l'étude de *Bretelle et collaborateurs.* Enfin en 2008, un rôle protecteur du polymorphisme G-79A (OR=0.4 IC95% [0.2 ; 0.9] ) vis-à-vis des pertes fœtales entre la huitième et la 12$^{ème}$ semaine de gestation a été mis en évidence (75).

## IV) Objectifs de l'étude

L'objectif principal de cette étude était de déterminer si le taux plasmatique de la PZ et/ou les principaux polymorphismes du gène de la PZ étaient associés à la survenue chez le sujet jeune d'un infarctus cérébral sans cause retrouvée.

Les objectifs secondaires étaient de décrire l'ensemble des troubles de coagulation de la population des patients jeunes ayant eu un infarctus cérébral, et de décrire les patients ayant un déficit en protéine Z.

# V) Matériel et Méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective cas-témoins effectuée au CHU de Rouen du 1er mai 2008 au 31 mai 2009.

## 1) Sélection des cas

Les données ont été recueillies dans les dossiers des patients hospitalisés au sein de l'unité neurovasculaire du service de Neurologie du CHU de Rouen entre le 1er mai 2008 et au 31 mai 2009.

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- Age > 18 ans et <60 ans
- Hospitalisation pour un premier Infarctus cérébral (IC) confirmé par une Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) cérébrale ou une Tomodensitométrie (TDM) cérébrale.
- Bilan étiologique complet selon les recommandations de la Société Française Neuro-Vasculaire de 2008 (1) :
    - Bilan cardiologique : électrocardiogramme, monitoring cardiaque sur 24 heures, échographie cardiaque trans-œsophagienne ou à défaut une échographie trans-thoracique,
    - Bilan biologique : numération et formule sanguine, numération plaquettaire, CRP, bilan de coagulation (temps de Quick, temps de céphaline activée, fibrinogène), troponine, glycémie à jeun, bilan électrolytique, bilan lipidique à jeun (Triglycérides, Cholestérol total, HDL

et LDL), clairance de la créatinine et protéinurie recherchée à la bandelette urinaire (BU) ou protéinurie des 24 heures si BU positive, bilan hépatique (transaminases, gamma glutamyl transférase et phosphatase alcaline)

- Bilan radiologique : écho-doppler des troncs supra-aortiques et angioscanner des troncs supra aortiques et cérébral, et/ou IRM et ARM (Angiographie par résonance magnétique) cérébrales
- Bilan de thrombophilie après signature du consentement éclairé pour chaque patient : taux plasmatique de la protéine Z, étude des 4 principaux polymorphismes génétiques de la protéine Z (polymorphismes A-13G, G-79A, G-103A, et G-42A), dosage des protéines S, C et de l'antithrombine, recherche d'une résistance à la Protéine C Activée et mutation Leiden du facteur V, recherche de la mutation G20210A du gène de la prothrombine, étude des polymorphismes de MTHFR, dosage du facteur VIII.

Les critères d'exclusion étaient les suivants:

- Age <18 ans ou >60 ans
- Bilan étiologique incomplet
- Imagerie cérébrale normale ou diagnostic différentiel

## 2) Témoins

Nos résultats ont été comparés à une population témoin type constituée de 101 sujets dont dispose le laboratoire d'hémostase du CHU de Rouen.

Les données cliniques disponibles étaient les suivantes : l'âge au moment de l'inclusion dans la cohorte de témoins, l'absence d'antécédents personnels ou familiaux de

thrombose veineuse ou artérielle, la prise ou non chez les femmes d'une contraception orale œstro-progestative ou d'un traitement hormonal substitutif de la ménopause.

Les données biologiques disponibles pour les témoins étaient le taux plasmatique de PZ, la recherche des principaux polymorphismes du gène de PZ, la recherche de mutation Leiden du facteur V, mutation G20210A du gène de la prothrombine, l'étude génétique des polymorphismes MTHFR.

## 3) Mesure de la concentration plasmatique de la protéine Z

Il s'agit d'un prélèvement sanguin veineux réalisé sur tube citraté au cours de l'hospitalisation du patient à la phase aigüe de l'IC. Le dosage de la PZ a été réalisé grâce à un kit commercial (Diagnostica Stago, Asnières, France) utilisant une technique ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) par un automate ETI-MAX3000.

## 4) Etude des polymorphismes génétiques de la protéine Z

Pour l'analyse des polymorphismes A-13G, G-79A, G-103A, et G-42A, le prélèvement était réalisé sur tube EDTA.

### *a. Extraction et amplification par Polymerase Chain Reaction (PCR)*

L'ADN était extrait sur sang total à partir des leucocytes par méthode rapide (GFX genomic blood DNA purification kit ; Pharmacia Biotech, New Piscataway Jersey, USA). Les étapes étaient les suivantes: ajout d'une protéase lysant les leucocytes et un tampon de lyse pour les hématies puis ajout d'éthanol permettant de « peloter » l'ADN et d'éviter le passage dans le filtre. Après plusieurs étapes de centrifugation et de lavages, l'ADN était récupéré dans un microtube et un tampon d'élution ajouté afin de détendre l'ADN. On obtenait ainsi l'ADN génomique en suspension.

L'ADN était ensuite amplifié par PCR sur thermocycleur GeneAmp*PCR system 9700 (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France).

Chaque tube de réaction contenait :

- l'ADN extrait à amplifier (sous forme de double brin codant 5'→3' et non codant 3'→5'),
- un tampon de réaction contenant du magnésium Mg2+ (Tris-HCl pH9 à 100mM, MgCl2 à 15mM, KCl à 500mM) (ATGC Biotechnologie, Cambridge, UK)
- 0,1 mole (M) de MgCl2 (ATGC Biotechnologie, Cambridge, UK)
- une DNA polymerase : 1U de Taq (Thermus aquaticus) Polymerase,
- 0,4 µM d'amorces correspondant au fragment à amplifier (Sigma Proligo, France) (tableau 2)
- des acides nucléiques : 50 µM de chaque dNTP : dATP, dTTP, dGTP, et dCTP (dNTP Set, Amersham Biosciences, Buckinghamshire, UK).
- Eau : pour 50 µl de volume final

La quantité d'ADN extrait était fonction du type de polymorphisme recherché.

Une fois le mélange réalisé, la PCR se déroulait en plusieurs phases :

- une phase de dénaturation de l'ADN durant de 5 minutes à 94°C
- 40 cycles d'amplification :
    - 30 secondes de dénaturation à 94°C
    - 30 secondes d'hybridation des amorces à une température déterminée par la séquence nucléique des amorces (Tableau 2)
    - 1 minute d'élongation par la Taq polymérase à 72°C (30 secondes pour le polymorphisme G-42A)
- Un cycle d'élongation de 7 minutes à 72°C

| Polymorphisme | Amorces | Séquences des amorces | Concentration finale en MGCl2 | Température d'hybridation |
|---|---|---|---|---|
| A-13G | PZ13A | 5'-GGGTCCTCTGAGCCTTCACCGTTCATTT-3' | 2mM | 82°C |
| | PZ13B | 5'-CAGGCACAACAGACAGGTAGCCAGATG-3' | | |
| G-79A | PZ79A | 5'-TAACACCATAGACAGAGTCCGATATTCGC-3' | | 80°C |
| | PZ79B | 5'-ATGAACTCGGCATTAGAACATGGTTGGAA-3' | | |
| G-103A | PZ103A | 5'-ACCTTAGTGATCCGCACTG-3' | 1,25mM | 60°C |
| | PZ103B | 5'-CTTGCTTCTTCATAGACACAGA-3' | | |
| G-42A | PZ42A | 5'-GAGGCAGGGCTGGGAGAT-3' | | 56°C |
| | PZ42B | 5'-GCTCCACTCTGTCCTCCT-3' | | |

Tableau 2 : Amorces et conditions d'amplification

### *b. Digestion enzymatique*

Pour l'analyse des polymorphismes G-103A, G-79A, et A-13G, 15 µl d'ADN amplifié étaient mis en présence d'une enzyme de restriction. L'incubation durait une nuit à une température dépendant du polymorphisme recherché. L'enzyme de restriction reconnaissait une séquence particulière du gène appelée site de restriction et coupait ainsi l'ADN. Les particularités de cette étape pour chaque polymorphisme sont résumées dans le tableau 3.

| Polymorphisme | Enzyme de restriction (laboratoire)(quantité) | Température de digestion | Profil obtenu après digestion | |
|---|---|---|---|---|
| A-13G | Hha I (BioLabs) (10U) | 37°C | **allèle muté G** | **2 fragments 157 et 115 pb** |
| | | | allèle A | 1 fragment 272 pb |
| G-79A | Hpa I (BioLabs) (2,5U) | 37°C | **allèle muté A** | **2 fragments 221 et 99 pb** |
| | | | allèle G | 1 fragment 320 pb |
| G-103A | BsmB I (BioLabs) (2,5U) | 55°C | **allèle muté A** | **1 fragment 366 pb** |
| | | | allèle G | 2 fragments 122 et 244 pb |

Tableau 3 : enzymes de restriction et profil après digestion des différents polymorphismes. Pb = paire de bases

Seule la recherche du polymorphisme G-42A ne nécessitait pas d'étape de restriction puisqu'il s'agit d'une mutation par insertion ou délétion.

### *c. Migration*

Après avoir ajouté 5 µl de bleu de bromophénol à 2,5% par échantillon, on dépose 10 µl du mélange dans chaque puit d'un gel de polyacrylamide à 6%. Sur chaque gel, on dépose également un marqueur de taille (Φ X 174RF DNA HAE Digest, Biolabs, Beverly, USA), un témoin non digéré, un témoin homozygote et un témoin hétérozygote pour le polymorphisme considéré. Puis la migration s'effectuait pendant 20 minutes à 200V.

### *d. Coloration et photo*

Le gel était placé dans une cuve contenant du bromure d'éthydium pendant 7 à 10 minutes. Puis on le transfère sur plaque UV pour révélation (photo 1, 2 et 3).

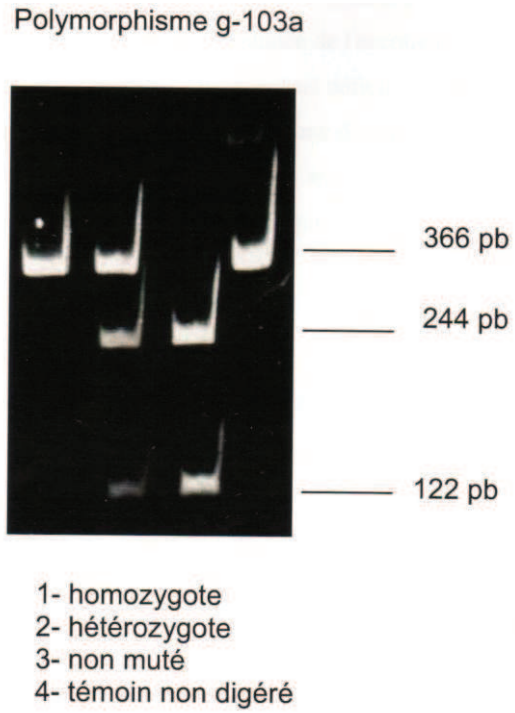



Photo 1 : mise en évidence du polymorphisme G-103A (76)

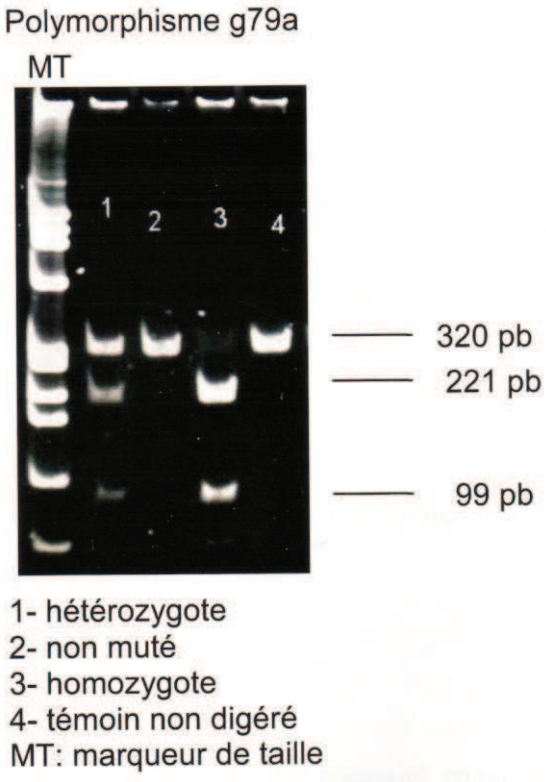



Photo 2 : mise en évidence du polymorphisme G-79A (76)

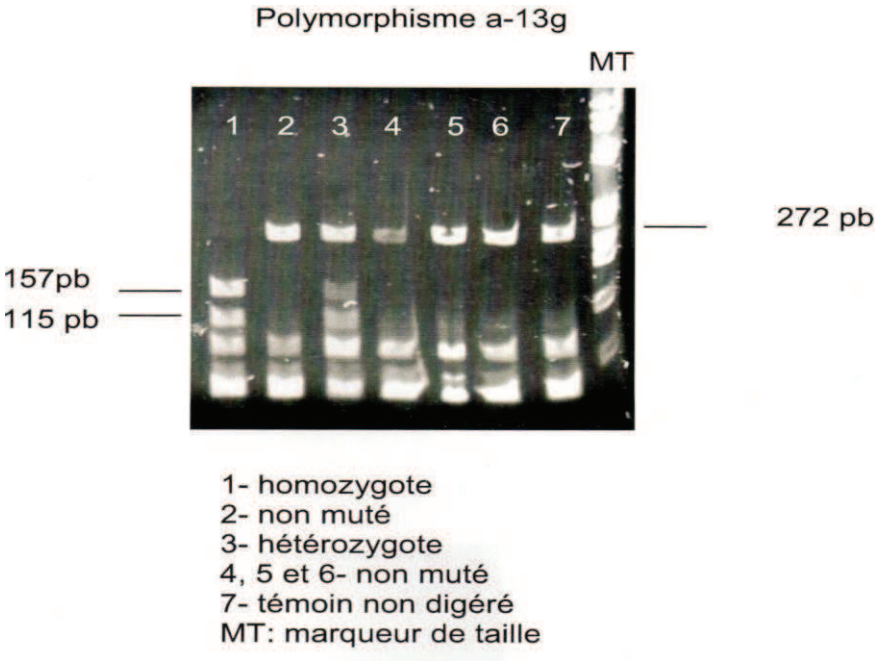



Photo 3 : mise en évidence du polymorphisme A-13G (76)

## 5) Bilan de thrombophilie

### *a. Recherche du déficit en protéine C et en antithrombine*

Le dosage de PC et AT était effectué par méthode chromogénique spécifique (Diagnostica Stago ; Behring). Le déficit en PC était défini par un taux inférieur à 75% et le déficit en AT par un taux inférieur à 85%.

### *b. Recherche du déficit en protéine S et dosage du facteur VIII*

Le dosage de la PS libre et totale et du facteur VIII étaient réalisés par méthode ELISA (Diagnostica Stago, Asnières, France). Le déficit en PS était défini par un taux inférieur à 65% de la normale. Le dosage du facteur VIII était anormal si son taux dépassait 150% de la normale.

*c. Recherche de la mutation Leiden du facteur V, mutation G20210A du gène de la prothrombine, étude des polymorphismes de la MTHFR*

L'ADN était extrait selon la méthode rapide d'extraction comme citée ci-dessus pour les polymorphismes du gène de la PZ.

La mutation Leiden du facteur V était détectée selon le protocole décrit par *Bertina et collaborateurs* (29).

La mutation G20210A du gène de la prothrombine était détectée selon le protocole décrit par *Poort et collaborateurs* (77).

L'étude des polymorphismes de la MTHFR était réalisée selon la méthode décrite par *Frosst et collaborateurs* (78).

## 6) Recueil de données

Pour chaque patient, étaient relevées les caractéristiques cliniques initiales suivantes:

- le sexe
- l'âge
- le score NIHSS initial (Annexe 2)
- les facteurs de risque vasculaires:
    - hypertension artérielle (HTA),
    - hypercholestérolémie (HCT) (LDL cholestérol >2.6mmol/l),
    - diabète,
    - tabagisme actif,
    - présence d'un surpoids défini par un indice de masse corporelle supérieur à 25 selon les critères OMS,
    - les antécédents familiaux de premier degré de pathologie artérielle (insuffisance coronarienne, IC, AOMI).

- le traitement par :
    - antiagrégants plaquettaires,
    - anticoagulants de type Anti vitamine K,
    - contraception œstro-progestative.
- l'étiologie de l'IC selon la classification TOAST
- le taux plasmatique de PZ exprimé en µg/ml. La norme étant définie entre 0.9 et 2.7 µg/ml. Un taux < à 0.9µg/ml déterminait le déficit en PZ, un taux > à 2.7µg/ml définissait l'augmentation de PZ.
- l'étude génétique des polymorphismes de PZ :
    - PZ G- 103A : présence d'au moins 1 allèle muté (génotype GA ou AA)
    - PZ G- 42A : présence d'une délétion ou insertion ou délétion/insertion (génotype AG ou AA)
    - PZ A- 13G : présence d'au moins 1 allèle muté (génotype AG ou GG)
    - PZ G- 79A : présence d'au moins 1 allèle muté (génotype GA ou AA)
- la présence d'une autre anomalie du bilan de coagulation :
    - déficit en PC défini par un taux inférieur à 75% de la normale
    - déficit en PS défini par un taux inférieur à 65%
    - déficit en AT défini par un taux inférieur à 85%
    - élévation du facteur VIII défini par un taux supérieur à 150%
    - mutation Leiden du facteur V
    - mutation G20210A du gène de la prothrombine : mutation définie par au moins 1 allèle muté (génotype GA ou AA)
    - étude du polymorphisme C677T du gène MTHFR : présence d'au moins 1 allèle muté (génotype CT ou TT).

Pour chaque témoin, les données suivantes étaient disponibles :

- l'âge au moment du prélèvement
- le sexe
- un traitement par
    - contraception œstro-progestative,
    - traitement hormonal substitutif
- le taux plasmatique de PZ en µg/ml
- l'étude génétique des polymorphismes du gène de la PZ
- la recherche de mutation Leiden du facteur V
- la recherche de mutation G20210A du gène de la prothrombine
- l'étude génétique des polymorphismes MTHFR

## 7) Statistiques

Pour les analyses statistiques, les logiciels NCSS 6.0 et StatXact 4.0 étaient utilisés.

Nous avons réparti la population en 4 groupes:

- Patients avec un IC sans cause (IC0) retrouvée malgré le bilan étiologique complet, correspondant à la classification E de TOAST en excluant les causes multiples.
- Patients avec un IC avec cause identifiée ou causes multiples (IC+), correspondant à la classification A, B, C , D et le sous-groupe des causes multiples de la classification E de TOAST.
- Patients ayant un IC, tous confondus (IC0 plus IC+)
- Témoins

Les comparaisons de groupes étaient réalisées à l'aide du test exact de Fisher pour les variables qualitatives : âge, HTA, diabète, hypercholestérolémie, surpoids, tabagisme actif, un traitement par antiagrégant plaquettaire ou anticoagulant en cours, la présence d'antécédents familiaux artériels, la présence d'Ac antiphospholipides, la présence d'un déficit en AT, PC, PS, d'une élévation du facteur VIII, la présence d'une mutation G20210A, d'une mutation Leiden du facteur V, les polymorphismes MTHFR et polymorphismes du gène de PZ.

Pour les variables quantitatives, soient le score NIHSS initial, l'âge, le taux plasmatique de PZ, le test de Student était utilisé après avoir vérifié la distribution normale de la population (test de Kolmogorov-Smirnov). Dans le cas contraire, le test non paramétrique de Mann et Whitney était utilisé.

Les groupes constitués étaient d'abord comparés en analyse univariée, puis en analyse multivariée à l'aide du modèle de régression logistique en intégrant les variables significatives ($p \leq 0.05$) en analyse univariée. Nous avons privilégié pour la régression logistique d'intégrer les variables pouvant, d'après la littérature, jouer un rôle sur la concentration de PZ, notamment l'âge, le sexe, et les principaux polymorphismes de PZ. Nous n'avons pas intégré les chiffres de concentration plasmatique de PZ dans la régression logistique car certaines données pour les témoins manquaient.

Dans un 1$^{er}$ temps, les groupes IC0 et IC+ étaient comparés séparément au groupe de témoins.

Dans un 2$^{e}$ temps, le groupe IC0 était comparé au groupe IC+.

Enfin, le groupe tous IC confondus était comparé aux témoins.

## VI) Résultats

Cent dix sept patients de moins de 60 ans suspects d'infarctus cérébral ont été hospitalisés consécutivement dans le service de neurologie du CHU de Rouen entre le 1er mai 2008 et le 31 mai 2009.

Sept patients ont été exclus en raison d'un diagnostic différentiel autre qu'un infarctus cérébral (2 pathologies inflammatoires, 1 compression médullaire, 1 ictus amnésique, 1 phlébite du membre inférieur, 1 atrophie multisystématisée, 1 malaise vagal).

Parmi les 110 patients avec diagnostic d'IC confirmé, 5 patients ont été exclus car l'ADN n'était pas disponible (schéma 1). Au total, 105 patients ayant un IC ont été ainsi inclus dans notre étude.

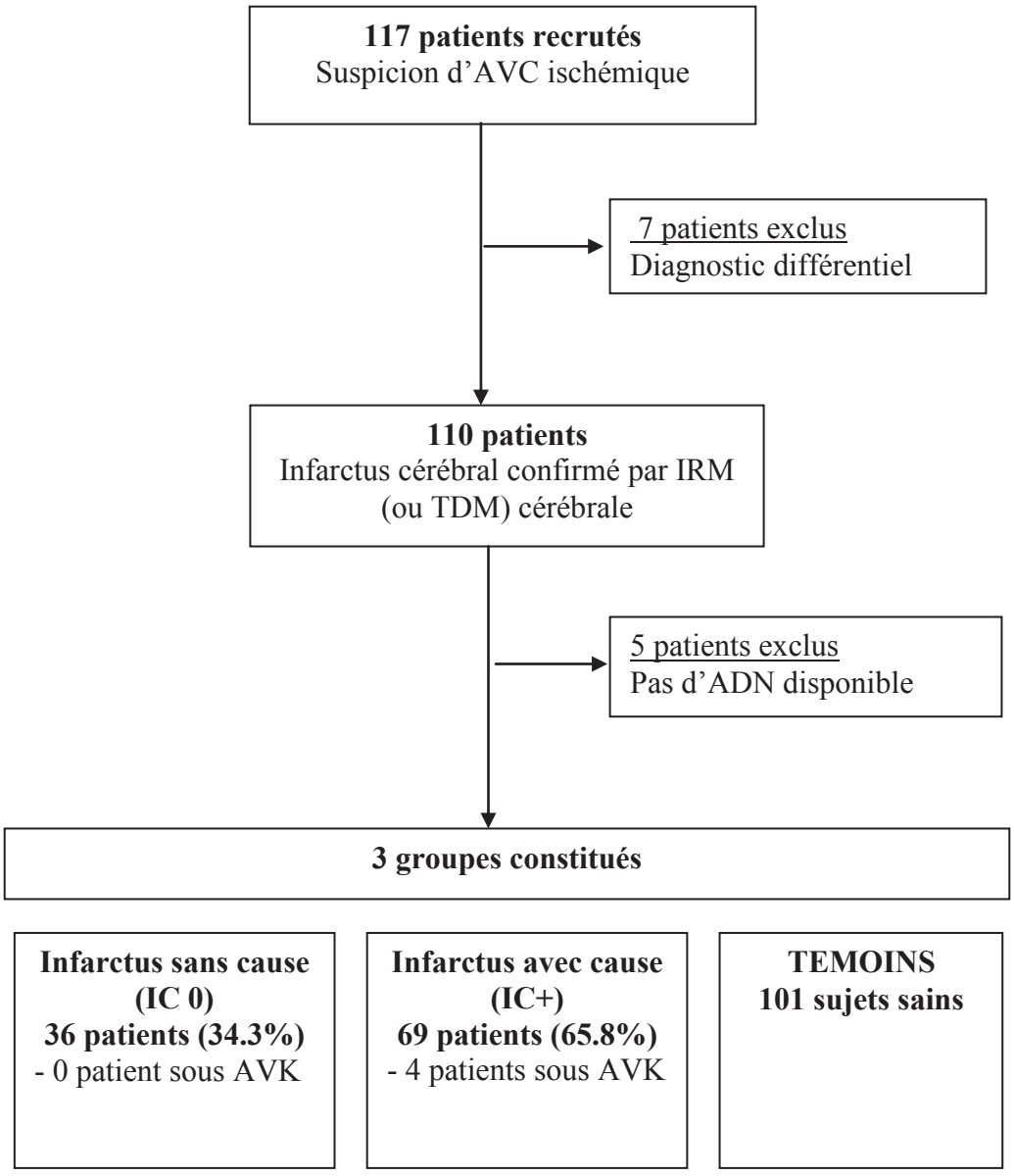
Deux groupes ont été par la suite constitués : un groupe de 69 patients ayant un infarctus cérébral de cause identifiée ou causes multiples (IC+) et un groupe de 36 patients ayant un infarctus cérébral de cause non retrouvée (IC0).

Quatre patients du groupe IC+ avaient un traitement préalable par antivitamine K (AVK) en raison de fibrillation auriculaire (2), lupus érythémateux disséminé (1), endocardite septique (1). Le dosage plasmatique de PZ n'était pas réalisable pour ces 4 patients.

Tous les patients ont signé un consentement libre et éclairé pour la réalisation du bilan de thrombophilie et des analyses génétiques.

Cent un sujets sains constituaient la population témoin et ont été analysés (schéma 1).

Schéma 1 : Inclusion des patients



## 1) Données démographiques et antécédents des patients avec IC

Cent cinq patients ayant un premier IC ont été inclus, dont 46 femmes et 59 hommes. Il y avait 16 femmes dans le groupe IC0 (44.4%) et 30 femmes dans le groupe IC+ (43.5%). L'âge moyen des patients était de 45,6 ans (44.39 ans pour le groupe IC 0 et 46.86 ans pour le groupe IC+).

Concernant les facteurs de risque vasculaires, parmi tous les patients ayant un IC, 35 avaient une HTA (33.3%), 24 une hypercholestérolémie (22.8%), 67 un tabagisme actif (63.8%), 10 un diabète (9.5%), 45 un surpoids (42.8%). Vingt et un patients (20%) avaient des antécédents familiaux artériels de premier degré (10 dans le groupe IC0 et 11 dans le groupe IC+).

Dix patientes suivaient un traitement œstro-progestatif au moment de l'IC (9.5%) (4 dans le groupe IC et 6 dans le groupe IC+), 4 patients étaient sous anticoagulants (3.8%) et 15 patients sous traitement antiagrégant plaquettaire (14.3%) (3 dans le groupe IC 0 et 12 dans le groupe IC+).

Les caractéristiques cliniques des patients sont résumées dans le tableau 4.

| | **IC** |
|---|---|
| **n patients** | 105 |
| **Age moyen** (médiane) | 46,01 (48) |
| **Femmes** | 46 (43,8%) |
| **Facteurs de risque vasculaires** | |
| Hypertension artérielle | 35 (33,3%) |
| Hypercholesterolémie | 24 (22,8%) |
| Tabagisme | 67 (63,8%) |
| Diabète | 10 (9,5%) |
| Surpoids (IMC > 25) | 45 (42,8%) |
| **Score NIHSS médian à l'entrée** | 2 |
| **Antécédents familiaux** | 21 (20%) |
| **Traitements** | |
| oestroprogestatif | 10 (9,5%) |
| anticoagulant | 4 (3,8%) |
| anti-agrégant plaquettaire | 15 (14,3%) |

Tableau 4 : Données cliniques et antécédents des patients ayant un infarctus cérébral

## 2) Données cliniques à l'entrée

Le score NIHSS médian était de 2 dans les 2 groupes IC0 et IC+.

Une ou plusieurs anomalies du bilan de thrombophilie était retrouvée chez 84 patients tout IC confondus (80%). Cinquante-neuf patients avaient le polymorphisme MTHFR (56.2%), une élévation du facteur VIII était retrouvée chez 56 patients (53,3%), la mutation Leiden du facteur V chez 7 patients (6.7%). Deux patients avaient un déficit en PC (1.9%), 3 patients un déficit en PS (2.8%), 3 patients un SAPL biologique (2.8%), 2 patients un déficit en AT (1.9%) et 2 patients la mutation G20210A du facteur II (1.9%). Ces anomalies n'étaient relevées que dans le groupe IC+.

La concentration plasmatique moyenne de PZ dans le groupe IC tous confondus était de 1,78±0,72µg/ml.

Les étiologies des IC étaient réparties ainsi :

- 15 maladies des gros vaisseaux (14.3%)
- 22 cardiopathies emboligènes (20.9%)
    - 14 FOP (Foramen Ovale Perméable) massif défini par passage de plus de 30 bulles au test des bulles dont 5 associés à un anévrysme du septum inter auriculaire (ASIA)
    - 6 Arythmies Complètes par Fibrillation Auriculaire (AC/FA)
    - 2 endocardites
- 10 maladies des petites artères (9.5%)
    - 1 CADASIL
    - 9 HTA
- 20 autres étiologies (19%)
    - 16 dissections artérielles carotidiennes ou vertébrales (15.2%)

    - 1 angéite cérébrale liée à une intoxication par cannabis
    - 1 lupus érythémateux disséminé avec syndrome des Ac antiphospholipides
    - 1 coagulation intravasculaire disséminée dans un contexte néoplasique
    - 1 syndrome de Moya Moya
- 2 étiologies multiples (1.9%) associant maladie des petites artères et athérosclérose des gros vaisseaux
- 36 patients n'avaient aucune cause retrouvée (34.3%)

## 3) Description de la population témoin

Parmi les 101 témoins, il y avait 62 femmes (61.3%) et 39 hommes (37.1%). L'âge moyen était de 41,43±10,68 ans. Vingt-trois sujets (22.8%) prenaient une contraception par œstro-progestatif.

Concernant le bilan de thrombophilie, 4 patients avaient une mutation G20210A (3.9%), 3 patients une mutation Leiden du facteur V (2.9%) et 62 patients un polymorphisme MTHFR (61.3%).

La concentration plasmatique moyenne de PZ dans ce groupe était de 2.11±0.59µg/ml.

## 4) Analyse univariée

### *a. Comparaison des groupes IC0 versus IC+*

Les groupes IC0 et IC+ étaient comparables en analyse univariée. L'âge moyen du groupe IC0 était de 44,39±8,74 ans, pour le groupe IC+ il était de 46.86±8,83 ans (p=0.09). Il n'y avait pas de différence significative en terme de facteurs de risque vasculaires, de score NIHSS, de traitements et de bilan de thrombophilie (Tableau 3). Concernant le taux plasmatique de PZ, la concentration moyenne dans le groupe IC0 était de 1.80±0,54 µg/ml versus 1.77±0,81 µg/ml dans le groupe IC+. La différence n'était pas significative.

Concernant l'analyse des polymorphismes du gène de la PZ, la répartition dans chaque groupe n'était pas significativement différente (Tableau 5).

| | IC 0 | IC + | *p* |
|---|---|---|---|
| **n patients** | 36 | 69 | |
| **Age moyen** (médiane) | 44,39 (47) | 46,86 (49) | *0,09* |
| **Femmes** | 16 (44,4%) | 30 (43,5%) | *0,54* |
| **Facteurs de risque vasculaires** | | | |
| Hypertension artérielle | 9 (25%) | 26 (37,7%) | *0,14* |
| Hypercholesterolémie | 8 (11,6%) | 16 (23,2%) | *0,56* |
| Tabagisme | 23 (63,9%) | 44 (63,8%) | *0,58* |
| Diabète | 4 (11,1%) | 6 (8,7%) | *0,47* |
| Surpoids (IMC > 25) | 15 (41,7%) | 30 (43,5%) | *0,51* |
| **Score NIHSS médian à l'entrée** | 2 | 2 | *0,65* |
| **Antécédents familiaux** | 10 (27,7%) | 11 (15,9%) | *0,12* |
| **Traitements** | | | |
| oestroprogestatif | 4 (11,1%) | 6 (8,7%) | *0,47* |
| anticoagulant | 0 | 4 (5,8%) | *0,12* |
| anti-agrégant plaquettaire | 3 (8,3%) | 12 (17,4%) | *0,17* |
| **Bilan thrombophilie** | | | |
| Déficit protéine C | 0 | 2 (2,9%) | *0,43* |
| Déficit protéine S | 0 | 3 (4,3%) | *0,28* |
| Déficit en antithrombine | 0 | 2 (2,9%) | *0,43* |
| Syndrome des Ac antiphospholipides | 0 | 3 (4,3%) | *0,28* |
| Augmentation FVIII | 22 (61,1%) | 34 (49,2%) | *0,17* |
| Mutation G20210A du FII | 1 (2,7%) | 1 (1,4%) | *0,57* |
| Mutation Leiden du FV | 2 (5,5%) | 5 (7,2%) | *0,55* |
| Polymorphisme MTHFR | 22 (61,1%) | 37 (53,6%) | *0,3* |
| **Concentration plasmatique moyenne de PZ** +- écart type (µg/ml) | 1,8 +-0,54 | 1,77 +-0,81 | *0,94* |
| **Polymorphismes du gène de la PZ** (au moins 1 allèle muté) | | | |
| PZ A-13G | 4 (11,1%) | 6 (8,7%) | *0,47* |
| PZ G-103A | 12 (33,3%) | 15 (21,7%) | *0,15* |
| PZ G-79A | 16 (44,4%) | 24 (34,8%) | *0,22* |
| PZ G-42A | 2 (5,5%) | 11 (15,9%) | *0,11* |

Test exact de Fisher pour les variables quantitatives et test de Mann et Whitney pour les variables qualitatives. Différence significative si p≤0,05

Tableau 5 : Comparaison en analyse univariée des groupes IC0 versus IC+

*b. Comparaison des groupes IC tous confondus (IC0 et IC+) versus témoins*

Il y avait significativement plus de femmes dans le groupe de témoins (61.3%) que dans le groupe de patients ayant un IC avec ou sans cause (43,8%) (p=0.04). Vingt-deux pour cent des témoins prenaient une contraception par œstro-progestatif au moment de l'analyse. Ils étaient significativement plus nombreux que dans le groupe IC (9.5%) (p=0.04).

La concentration moyenne plasmatique de PZ était significativement plus basse dans le groupe de patients ayant un IC que dans le groupe témoins (1,78±0,72 vs 2,11±0,59µg/ml) (p<0.001).

Concernant l'analyse des polymorphismes du gène de la PZ, quarante patients ayant un IC (38.1 %) présentaient un polymorphisme G-79A. Vingt-quatre témoins présentaient ce polymorphisme (23.7%). La différence était significative entre ces 2 groupes pour ce polymorphisme (p=0.02). Il n'y avait pas de différence significative entre les 2 groupes concernant la prévalence des 3 autres principaux polymorphismes du gène de la PZ (Tableau 6).

| | IC | Témoins | *p* |
|---|---|---|---|
| **n patients** | 105 | 101 | |
| **Age moyen** (médiane) | 46,01 (48) | 41,4 (40) | ***<0,001*** |
| **Femmes** | 46 (43,8%) | 62 (61,3%) | ***0,04*** |
| **Facteurs de risque vasculaires** | | | |
| Hypertension artérielle | 35 (33,3%) | | |
| Hypercholesterolémie | 24 (22,8%) | | |
| Tabagisme | 67 (63,8%) | | |
| Diabète | 10 (9,5%) | | |
| Surpoids (IMC > 25) | 45 (42,8%) | | |
| **Score NIHSS médian à l'entrée** | 2 | | |
| **Antécédents familiaux** | 21 (20%) | | |
| **Traitements** | | | |
| oestroprogestatif | 10 (9,5%) | 23 (22,8%) | ***0,04*** |
| anticoagulant | 4 (3,8%) | | |
| anti-agrégant plaquettaire | 15 (14,3%) | | |
| **Bilan thrombophilie** | | | |
| Déficit protéine C | 2 (1,9%) | | |
| Déficit protéine S | 3 (2,8%) | | |
| Déficit en antithrombine | 2 (1,9%) | | |
| Syndrome des Ac antiphospholipides | 3 (2,8%) | | |
| Augmentation FVIII | 56 (53,3%) | | |
| Mutation G20210A du FII | 2 (1,9%) | 4 (3,9%) | *0,67* |
| Mutation Leiden du FV | 7 (6,7%) | 3 (2,9%) | *0,18* |
| Polymorphisme MTHFR | 59 (56,2%) | 62 (61,3%) | *0,27* |
| **Concentration plasmatique moyenne de PZ** +- écart type (µg/ml) | 1,78+-0,72 | 2,11 +-0,59 | ***<0,001*** |
| **Polymorphismes du gène de la PZ** (au moins 1 allèle muté) | | | |
| PZ A-13G | 10 (9,5%) | 11 (10,9%) | *0,46* |
| PZ G-103A | 27 (25,7%) | 24 (23,7%) | *0,44* |
| PZ G-79A | 40 (38,1%) | 24 (23,7%) | ***0,02*** |
| PZ G-42A | 13 (12,4%) | 18 (17,8%) | *0,18* |

Test exact de Fisher pour les variables quantitatives et test de Mann et Whitney pour les variables qualitatives. Différence significative si p≤0,05

Tableau 6 : Analyse univariée comparant les IC tous confondus versus témoins

*c. Comparaison des groupes IC0 versus témoins*

Les groupes étaient différents de manière significative pour le sexe (16 femmes (44.4%) versus 62 (61.3%) (p =0.04), pour la prise de contraception œstro-progestative (4 patients (11.1%) versus 23 (22.8%) (p=0.04). Il n'y avait pas de différence concernant l'âge.

La concentration plasmatique moyenne en PZ était significativement plus basse dans le groupe IC0 (1,8±0,54 vs 2,11±0,59µg/ml) (p=0.003).

Il existait une association significative entre la présence d'un polymorphisme G-79A du gène de la PZ et la survenue d'un IC de cause non retrouvée (p=0.025) (Tableau 7).

| | IC 0 | Témoins | *p* |
|---|---|---|---|
| **n patients** | 36 | 101 | |
| **Age moyen** (médiane) | 44,39 (47) | 41,4 (40) | *0,11* |
| **Femmes** | 16 (44,4%) | 62 (61,3%) | ***0,04*** |
| **Traitement oestroprogestatif** | 4 (11,1%) | 23 (22,8%) | ***0,04*** |
| **Concentration plasmatique moyenne de PZ** +- écart type (µg/ml) | 1,8 +-0,54 | 2,11 +-0,59 | ***0,003*** |
| **Polymorphismes du gène de la PZ** (au moins 1 allèle muté) | | | |
| PZ A-13G | 4 (11,1%) | 11 (10,9%) | *ns* |
| PZ G-103A | 12 (33,3%) | 24 (23,7%) | *ns* |
| PZ G-79A | 16 (44,4%) | 24 (23,7%) | ***0,025*** |
| PZ G-42A | 2 (5,5%) | 18 (17,8%) | *ns* |
| **Bilan thrombophilie** | | | |
| mutation G20210A du FII | 1 (2,7%) | 4 (3,9%) | *ns* |
| Mutation Leiden du FV | 2 (5,5%) | 3 (2,9%) | *ns* |
| polymorphisme MTHFR | 22 (61,1%) | 62 (61,3%) | *ns* |

Test exact de Fisher pour les variables quantitatives et test de Mann et Whitney pour les variables qualitatives. Différence significative pour p<=0,05. ns=non significatif

Tableau 7 : Analyse univariée comparant les groupes IC0 versus témoins

*d. Comparaison des groupes IC+ versus témoins*

La différence était significative entre les 2 groupes pour l'âge (p<0.001), le sexe (p=0.04) et pour la prise d'œstro-progestatifs (p=0.04).

La concentration plasmatique de PZ était significativement plus basse dans le groupe IC+ que dans le groupe témoins (1,77±0,81 versus 2,11±0,59µg/ml) (p<0.001). Nous n'avons pas constaté de différence significative concernant la prévalence des polymorphismes du gène de la PZ entre les 2 groupes (Tableau 8).

| | IC + | Témoins | *p* |
|---|---|---|---|
| **n patients** | 69 | 101 | |
| **Age moyen** (médiane) | 46,86 (49) | 41,4 (40) | ***<0,001*** |
| **Femmes** | 30 (43,5%) | 62 (61,3%) | ***0,04*** |
| **Traitement oestroprogestatif** | 6 (8,7%) | 23 (22,8%) | ***0,04*** |
| **Concentration plasmatique moyenne de PZ** +- écart type (µg/ml) | 1,77 +-0,81 | 2,11 +-0,59 | ***<0,001*** |
| **Polymorphismes du gène de la PZ** (au moins 1 allèle muté) | | | |
| PZ A-13G | 6 (8,7%) | 11 (10,9%) | *ns* |
| PZ G-103A | 15 (21,7%) | 24 (23,7%) | *ns* |
| PZ G-79A | 24 (34,8%) | 24 (23,7%) | *ns* |
| PZ G-42A | 11 (15,9%) | 18 (17,8%) | *ns* |
| **Bilan thrombophilie** | | | |
| mutation G20210A du FII | 1 (1,4%) | 4 (3,9%) | *ns* |
| Mutation Leiden du FV | 5 (7,2%) | 3 (2,9%) | *ns* |
| polymorphisme MTHFR | 37 (53,6%) | 62 (61,3%) | *ns* |

Test exact de Fisher pour les variables quantitatives et test de Mann et Whitney pour les variables qualitatives. Différence significative pour p<=0,05. ns=non significatif

Tableau 8 : Analyse univariée comparant les groupes IC+ versus témoins

## 5) Analyse multivariée

Afin de déterminer les facteurs prédictifs indépendants de survenue d'un infarctus cérébral sans cause retrouvée, les données de l'analyse univariée intégrées dans le modèle multi-varié étaient les suivantes : l'âge, le sexe, et la présence d'au moins un allèle rare du

polymorphisme PZ G-79A. La prise de contraception par œstro-progestatif n'était pas intégrée dans l'analyse multi variée car directement liée au sexe des sujets.

Le polymorphisme PZ G-79A était un facteur de risque indépendant d'IC sans cause par rapport aux témoins (Tableau 9).

| | **Odds ratio** | **Intervalle de confiance 95%** | *p* |
|---|---|---|---|
| **PZ G-79A** | 2,5 | 1,35 ; 4,62 | *0,03* |

Analyse réalisée à l'aide du modèle de regression logistique linéaire.
p significatif si <0,05

Tableau 9 : Comparaison des groupes IC 0 versus témoins en analyse multivariée

L'âge était un facteur de risque indépendant d'IC avec cause par rapport aux témoins avec un Le sexe féminin était un facteur protecteur d'IC avec cause (Tableau 10).

| | **Odds ratio** | **Intervalle de confiance 95%** | *p* |
|---|---|---|---|
| **Age** | 1,06 | 1,03 ; 1,08 | *0,002* |
| **Sexe** | 0,44 | 0,27; 0,71 | *0,01* |

Analyse réalisée à l'aide du modèle de regression logistique linéaire.
p significatif si <0,05

Tableau 10 : Comparaison des groupes IC + versus témoins en analyse multivariée

L'analyse multi variée des groupe IC tous confondus versus témoins mettaient en évidence qu'un âge plus élevé et le polymorphisme PZ G-79A étaient des facteurs de risque indépendants d'IC. Le sexe féminin était un facteur protecteur indépendant d'IC (Tableau 11).

| | Odds ratio | Intervalle de confiance 95% | *p* |
|---|---|---|---|
| **Age** | 1,04 | 1,02 ; 1,07 | *0,005* |
| **Sexe** | 0,48 | 0,31; 0,73 | *0,01* |
| **PZ G-79A** | 1,92 | 1,20 ; 3,06 | *0,046* |

Analyse réalisée à l'aide du modèle de regression logistique linéaire.
p significatif si <0,05

Tableau 11 : Comparaison des groupes IC tous confondus versus témoins en analyse multivariée

## 6) Caractéristiques de la population ayant un déficit en PZ

Dans notre étude, 13 patients avaient un déficit en PZ (12.4%) soit un taux < 0,9 µg/ml. Seul un patient (7%) avait un IC de cause non retrouvée mais présentaient d'autres anomalies du bilan de thrombophilie associée. Les 12 autres patients avaient une cause établie à leur IC. Les données pour chacun de ces patients sont résumées dans le tableau 12. Trois témoins (2.97%) avaient un déficit en PZ.

Le déficit en PZ était significativement plus fréquent chez les patients ayant un IC que chez les témoins (p=0.01).

| n=13 patients | [PZ](µg/ml) | Etiologie de l'IC | Bilan de thrombophilie |
|---|---|---|---|
| 1 | 0,08 | Athérome | déficit PC, PS, MTHFR |
| 2 | 0,32 | Athérome | FV Leiden, PZ42, PZ79, PZ103 |
| 3 | 0,35 | CIVD (néoplasie) | élévation FVIII, MTHFR |
| 4 | 0,47 | Athérome | PZ13 |
| 5 | 0,51 | Dissection | élévation FVIII, MTHFR, PZ79 |
| 6 | 0,55 | Inconnue | élévation FVIII, FV Leiden, MTHFR, PZ79, PZ103 |
| 7 | 0,55 | Dissection | PZ13, PZ79, PZ103 |
| 8 | 0,57 | AC/FA | déficit PC, FVIII, MTHFR |
| 9 | 0,6 | Dissection | élévation FVIII, PZ79, PZ103 |
| 10 | 0,67 | Dissection | élévation FVIII, MTHFR |
| 11 | 0,74 | FOP isolé | 0 |
| 12 | 0,82 | AC/FA | MTHFR, PZ42 |
| 13 | 0,85 | AC/FA | PZ42 |

CIVD= Coagulation Intravasculaire Disséminée, AC/FA=Arythmie Complète par Fibrillation Auriculaire, FOP=Foramen Ovale Perméable, PC/PS=protéine C /S

Tableau 12 : Etiologies de l'IC retenues chez nos patients déficitaires en PZ (<0,9µg/ml) et résultat du bilan de thrombophilie

# IV) Discussion

## 1) Objectif principal

L'objectif principal de notre étude était la recherche d'une association entre le taux plasmatique de PZ et/ou la présence d'un polymorphisme du gène de la PZ et la survenue d'un IC chez le sujet jeune inexpliqué malgré un bilan étiologique complet. L'hypothèse étant, d'après la littérature, qu'un déficit en PZ jouerait un rôle prothrombogène.

### *a. Taux plasmatique de PZ*

Nous n'avons pas mis en évidence de lien entre le taux plasmatique de PZ et la survenue d'un IC chez le sujet jeune sans cause retrouvée au bilan étiologique.

Nous avons mis en évidence une diminution significative du taux plasmatique de PZ dans le groupe IC tous confondus comparativement aux témoins. Nous avons également mis en évidence qu'un déficit en PZ (taux <0.9µg/ml) était lié à la survenue d'un IC chez le sujet jeune, mais pas spécifiquement dans le sous-groupe des IC sans cause retrouvée.

Ce résultat est en accord avec plusieurs études réalisées entre 2001 et 2007 :

- la première chez 169 sujets de moins de 60 ans ayant eu un IC sans cause retrouvée versus 88 contrôles : 20% des patients avaient un déficit en PZ (<0.9µg/ml) (5% des contrôles) (58). Le dosage était réalisé 3 mois après l'épisode thrombotique en dehors de tout traitement anticoagulant.

- une étude chez des sujets de tous âges (âge moyen 58 ans) :154 patients ayant un premier IC et 206 témoins. Le taux plasmatique de PZ dosé à la phase aigüe de

l'IC était significativement plus bas dans les sous-groupes de patients suivants : les non diabétiques (1.78+-0.77µg/ml versus 2.28+-0.88µg/ml, p<0.0001) et les hommes (1.90+-0.90µg/ml versus 2.42+-0.99µg/ml p=0.0004). Un déficit en PZ inférieur au 15$^{e}$ percentile (≤ 1.46µg/ml) était associé significativement à la survenue d'un IC avec un odds ratio à 2.6 (IC95% [1.5-4.3]) (59).

- Enfin, une méta analyse réalisée en 2010 incluant 28 études cas-contrôles et 33 études de cohorte soit 4218 patients ayant un événement thrombotique (artériel ou veineux) et 4778 contrôles, a montré que la diminution de la concentration en PZ était un facteur de risque indépendant de survenue de thrombose (OR 2.90 IC95% [2.05 ; 4.12] p<0.00001) (80). Ce lien était confirmé dans le sous groupe concernant les pathologies artérielles (IC, IDM, AOMI) (OR=2.67 IC95% [1.60 ; 4.48] p=0.0002) mais également dans les 2 autres sous groupes : complications gravidiques (OR 4.17 IC95% [2.31 ;7.52] p<0.00001), maladie thromboembolique veineuse (OR 2.18 IC95% [1.19 ; 4.00] p=0.01).

La diminution du taux plasmatique de PZ serait prothombogène et expliquerait ainsi le lien retrouvé dans les précédentes études ainsi que la notre.

Les conséquences d'un déficit en PZ ont été analysés sur des souris dont le gène de la PZ est inactivé (PZ (-/-)). En effet, *Yin et collaborateurs* montre que les souris PZ(-/-) ont un développement normal alors que les souris PZ(-/-) atteintes de la mutation Leiden du facteur V meurent toutes en périodes néonatales de thromboses massives (65).

Concernant l'atteinte artérielle, l'étude de *Greten et collaborateurs* en 1998 suggère un rôle de la PZ dans le développement des lésions d'athérosclérose (81). En effet,

l'étude immunohistochimique d'artères de 18 patients étudiés ayant une pathologie thrombotique artérielle (dont 11 diabétiques) mettait en évidence des dépôts de PZ au sein des lésions d'athérosclérose. Aucun dépôt n'était retrouvé chez les 5 sujets contrôles. De même, l'étude histologique des placentas de patientes ayant une perte fœtale mettait en évidence des dépôts de PZ au sein des lésions vasculaires de 50% des patients déficitaires en PZ et 33% des patients sans déficit en PZ. Cependant la différence n'était pas significative entre les 2 groupes (73). Le déficit en PZ serait-il secondaire au dépôt de PZ au sein des lésions artérielles ? Les études ont mis en évidence des taux bas de PZ même à distance de l'évènement aigu : *Gris et collaborateurs* à 6 mois de la complication obstétricale (72), *Vasse et collaborateurs* à 3 mois d'un IC (58), *Heeb et collaborateurs* à 2 mois d'un IC (59).

Une des hypothèses est que le caillot artériel est principalement formé de plaquettes recrutant en quantité importante des phospholipides, nécessaires pour l'activité anticoagulante du complexe PZ/ZPI (82, 83). L'existence d'un récepteur spécifique de PZ au niveau artériel pourrait être une hypothèse. Enfin, il existe un lien entre l'inflammation et l'ischémie artérielle (84). Le complexe PZ/ZPI pourrait jouer un rôle anti-inflammatoire indépendamment de ses propriétés anticoagulantes comme confirmé pour d'autre facteurs anticoagulants « naturels » et serait ainsi « consommé » à la phase aigue (85). Cependant l'activité inhibitrice de PZ sur la synthèse des cytokines n'a pas été démontré (12). L'analyse à la fois des taux plasmatiques de PZ et des polymorphismes met en évidence des taux plus bas de PZ associé aux génotypes rares (86). Il est également montré que le taux de PZ diminuait avec la sévérité de la maladie artérielle. Il pourrait ainsi s'agir d'un déficit acquis en PZ et pourrait constituer un marqueur de la sévérité de la pathologie vasculaire.

Cependant une étude n'a pas montré de corrélation entre le taux plasmatique de PZ et l'épaisseur de la paroi des artères carotides (87).

A l'inverse, deux études trouvent un lien entre IC et augmentation du taux plasmatique de PZ. L'équipe de *Kobelt et collaborateurs* en 2001 : chez 157 patients de tous âges (âge moyen 40 ans) ayant eu un IC sans cause retrouvée versus 190 contrôles (âge moyen 39 ans) ($p=0.04$). Le dosage de PZ était réalisé au moins 2 mois après l'IC. Les patients ayant un IC avec une cause retrouvée étaient exclus de l'étude et les causes retenues pour ces patients n'étaient pas précisée (62). Cette hypothèse est également soutenue par une étude de 173 patients de tout âge en phase aiguë d'un premier IC versus 186 contrôles appariés en âge et en sexe (taux plasmatique de PZ 1.46µg/ml versus 1.16µg/ml pour les témoins, $p <0.0001$). A 3 et 6 mois de l'IC, la concentration moyenne de PZ était en revanche comparable entre les patients et les contrôles (61).

La grande variabilité des résultats des différentes études peut être expliquée par plusieurs mécanismes :

- La réalisation du prélèvement soit à la phase aigüe ou à distance de l'IC est à discuter car les mécanismes inflammatoires systémiques intervenant à la phase aiguë de l'IC pourraient modifier le taux de PZ. Cette hypothèse a été récemment étudiée dans les pathologies cancéreuses ou le lien entre inflammation et taux de PZ est discuté (88). Des études ont rapporté des taux plus bas de PZ chez des patients avec des taux élevés d'interleukine-6 (IL-6) et de fibrinogène (89, 90). Cependant, une autre étude a montré une élévation du taux plasmatique de PZ dans les 72h après une coronarographie (86). Les différences entre les études peuvent être liées aux comorbidités des patients

testés. Par exemple, le déficit en PZ associé à l'augmentation d'IL-6 était montré chez des patients ayant une leucémie aigue ou un lymphome, hémopathies connues pour être associées à des anomalies de coagulation, le déficit en PZ pouvant être ainsi une conséquence de la consommation de facteurs de coagulation (90). Plus récemment un lien entre l'activité de la polyarthrite rhumatoïde ($r=-0.45$, $p<0.0001$), l'augmentation de la CRP ($r=-0.48$ $p<0.0001$) et le déficit en PZ était mis en évidence (91). Néanmoins, même si ce taux est modifié en phase aiguë, un taux préalablement bas de PZ pourrait être évoqué chez les patients porteurs d'un ou plusieurs polymorphismes du gène de la PZ et exposer ces patients à un surrisque de thrombose artérielle.

- L'âge de la population testée est également variable selon les études. Une hypothèse est que la présence de facteurs de risque vasculaires chez les sujets plus âgés pourrait masquer le rôle de la PZ dans la survenue d'une thrombose artérielle et expliquer que le lien soit retrouvé particulièrement dans le sous-groupe des patients jeunes.

  En revanche, le taux plasmatique de PZ, selon la littérature, ne semble pas être dépendant de l'âge. Comme tous les facteurs vitamine K dépendants, le taux plasmatique de PZ est plus faible à la naissance sans différence entre les prématurés et les non prématurés en l'absence d'hypotrophie (92). Ensuite, il n'y a plus de variation avec l'âge chez l'adulte (51).

- Le sexe féminin est, de façon connue, un facteur protecteur de survenue d'un IC. En ce qui concerne le taux de PZ, d'après *Heeb et collaborateurs* il ne

différait pas dans le sous-groupe des femmes ayant un IC par rapport aux femmes témoins (79). Pour *Al Shanqueti et collaborateurs*, le sexe n'influence pas le taux de PZ (53). En revanche il semblerait plus élevé sous contraception œstro-progestative, chez les femmes de moins de 49 ans (53). Dans notre étude, le taux de PZ chez les témoins a pu être biaisé par la prédominance de femmes prenant une contraception œstro-progestative dans ce groupe. Une analyse en sous groupe sur la population de femmes uniquement aurait ainsi pu être intéressante et pourrait faire l'objet de travaux ultérieurs.

Malgré les controverses, un lien entre diminution du taux plasmatique voire déficit en PZ et IC semble exister. Notre travail conforte cette hypothèse chez les patients jeunes mais pas dans le sous groupe des IC sans cause retrouvée. Une diminution du taux de PZ semble jouer un rôle prothrombogène en addition à d'autres facteurs prothrombogènes. En revanche cela ne semble pas être une cause suffisante pour provoquer l'IC. En effet, si on s'intéresse à nos 13 patients déficitaires en PZ, la majorité (12 patients) avait au moins une anomalie du bilan de thrombophilie associée et le bilan étiologique de l'IC avait permis de mettre en évidence une cause autre à l'IC.

De façon parallèle, dans les thromboses veineuses, il a été montré qu'être porteur d'une mutation du facteur V, une hyperhomocystéinémie ou une mutation G20210A du facteur II et d'un déficit en PZ était associé à un début plus précoce des thromboses et à un nombre plus important d'épisodes thrombotiques (66). En revanche, un taux plasmatique bas de PZ seul ne serait pas un facteur de risque d'épisode thromboembolique veineux (93).

*b. Rôle des polymorphismes*

La détermination du taux plasmatique de PZ en fonction des polymorphismes du gène de PZ est également avancée par plusieurs auteurs (13).

Notre étude a montré que la prévalence du polymorphisme G-79A était plus fréquente dans la population de patients jeunes ayant un IC sans cause retrouvée que dans la population témoin et ce de façon indépendante (OR 2.5 IC95% [1.35 ; 4.62] p=0.03). Il existait également une plus forte prévalence de ce même polymorphisme dans le groupe de patients ayant un IC toutes causes confondues par rapport aux témoins (OR 1.92 IC95% [1.20 ; 3.06] p=0.046). Le polymorphisme G-79A du gène de la PZ semble donc être un facteur de risque de survenue d'un IC chez le sujet jeune et dans le sous-groupe des IC sans cause retrouvée. Notre population de témoins est originaire de la même région en France, et de même origine ethnique et est représentative du bagage génétique de notre région.

Ces résultats confortent ceux de précédentes études même si l'implication des polymorphismes du gène de la PZ a été peu étudiée au cours de l'IC :

- Une étude réalisée chez 91 enfants ayant eu un IC et 70 contrôles rapportait également un lien entre polymorphisme G-79A et IC mais uniquement pour les patients homozygotes : seul le génotype AA était un facteur de risque indépendant de survenue d'IC (94). Nous n'avons pas étudié dans notre travail les sous groupes de patients en fonction du génotype ce qui serait nécessaire dans un prochain travail.

- Une étude allemande réalisée en 2004, analysant 200 patients consécutifs (144AIC et 56AIT) et 199 témoins de même origine ethnique sans antécédents de pathologie vasculaire mettait en évidence un rôle protecteur de l'allèle A de façon significative pour le polymorphisme G-79A (55). Le génotype GG était un facteur de risque d'IC cryptogénique (OR 0.2 IC95% [0.1 ; 0.4] p=0.0005), ou d'origine cardio-embolique (OR 0.4 IC95% [0.2 ; 0.8] p=0.015). Il n'y avait pas de différence significative entre les 2 groupes pour le polymorphisme A-13G. Cette étude incluait cependant les AIT ce qui est susceptible de biaiser leurs résultats qui n'ont pas été confirmés a postériori.

Deux autres études contre-disent nos résultats et ne montraient pas d'association significative entre polymorphismes du gène de PZ et IC tous confondus, chez des patients tous âges confondu après ajustement sur les facteurs de risques habituels d'IC :

- *Staton et collaborateurs* en 2005 : 100 hommes et 50 femmes (âge moyen 67 ans) (63),
- *Obach et collaborateurs* en 2006 : 266 hommes et 124 femmes (âge moyen 67 ans) (64).

Les caractéristiques des populations ne sont en revanche pas comparable à notre population étudiée en terme d'âge, de répartition des sexes, et le sous groupe de patients ayant un IC sans cause retrouvée n'était pas analysé.

L'étude de *Staton et collaborateurs* montre l'association indépendante entre la présence de polymorphismes A-13G, et G-79A et le taux plasmatique de PZ (63). Une

seconde étude a été réalisée en 2009 sur 306 sujets sains issus de la cohorte FITE NAT d'origine caucasienne sans antécédents personnels de thrombose veineuse ou artérielle, d'insuffisance hépatique ou rénale, n'ayant pas de traitements anticoagulants au long cours (13). Tous les sujets avaient un dosage plasmatique de PZ et une étude ADN à la recherche des polymorphismes du gène de PZ suivants : A-13G, G-49A, G-103A. Les résultats sont résumés dans l'annexe 4.

Il a ainsi été montré une corrélation entre le taux plasmatique de PZ et les polymorphismes du gène mais également l'effet additionnel des différents polymorphismes représentés dans le tableau par la colonne "score". Plus le score est élevé, plus le patient est porteur de plusieurs de ces polymorphismes, et plus le taux plasmatique de PZ était bas ($p>0.001$).

*Santacroce et collaborateurs* ont étudiés 100 sujets sains (41 hommes et 59 femmes ; âge médian 52.5 ans) d'origine italienne et ont testé l'influence de 7 polymorphismes du gène de la PZ sur le taux plasmatique de PZ. Une association significative était mise en évidence pour les polymorphismes G-79A et G-103A (50).

*Lichy et collaborateurs* ont mis en évidence une corrélation entre le polymorphisme G-79A et le taux plasmatique de PZ dans un sous groupe de 42 sujets sains (coefficient de Spearman = -0.48). Les taux de PZ pour les patients ayant eu un IC n'étaient pas disponibles dans cette étude (55).

L'étude de *van Goor et collaborateurs* portant sur 118 patients (premier IC ou AIT) d'origine caucasienne comparés à 113 témoins appariés en âge et en sexe mettait en évidence une association significative (après ajustement sur les FDRCV) entre un taux plasmatique bas de PZ et la survenue d'un IC en phase aigue (7-14 jours) (OR 3 IC95% [1.1 ; 8.7]) et à distance de l'IC (3 mois) (OR 5.1 IC95% [1.2-21.9]).

Pour les patients ayant le génotype AA ou GA du polymorphisme G-79A, le taux plasmatique était significativement plus bas mais non associé significativement à la survenue d'un IC (95).

Dans d'autres pathologies telles que l'ischémie myocardique, la thrombose veineuse cérébrale, ou les pathologies gravidiques et plus récemment dans les crises vaso-occlusives de la drépanocytose, la présence de certains polymorphismes du gène de PZ semblent également jouer un rôle prothrombogène (68, 75, 96, 97). Dans la maladie de Behçet, il a été montré une fréquence plus importante de l'allèle A du polymorphisme G-79A comparativement aux contrôles (OR 6.8 IC95% [2.6 ;17.9] p=0.0001) (98).

## 2) Description de notre population

Notre population était constituée de 105 patients jeunes ayant un IC. Parmi ceux-ci, trente six patients soit 34,3% n'avaient pas d'étiologie déterminée malgré le bilan exhaustif réalisé selon les recommandations de la SFNV de 2008, proportion compatible aux données de la littérature. (3, 8, 99, 100), en dehors de quelques exceptions : l'équipe de *Leys et collaborateurs* (101) : 62.4% et *Musolino et collaborateurs* (102) : 13.3%. Ces pourcentages varient en fonction de l'exhaustivité du bilan étiologique réalisé.

Pour le groupe ayant un IC avec cause identifiée, la répartition des étiologies était comparable aux données de la littérature (5, 9, 103, 104).

Il n'y avait pas de différence significative pour l'âge entre les 2 groupes IC+ et IC0.

Concernant les déficits en PC, PS et AT, nous n'avons pas mis en évidence de lien significatif avec la survenue d'un infarctus cérébral, ce qui est concordant avec la littérature

(22). Leur prévalence dans notre étude dans la population tout IC confondus variait de 1.9 à 2.8%. (22, 25). Dans la population générale la prévalence est estimée entre 1/2000 et 1/5000 pour le déficit en AT, entre 1/200 et 1/700 pour le déficit en PC et entre 0.05 et 1% pour le déficit en PS (105).

Concernant la mutation G20210A du facteur II et la mutation Leiden du facteur V, nous n'avons pas mis en évidence de différence significative entre les différents groupes.
La prévalence de mutation G20210A du facteur II varie de 2 à 4% dans la population générale (3.9% dans notre population de témoins), et de 3 à 5% pour la mutation Leiden du facteur V (2.9% pour nos témoins) (105). Dans notre population d'IC, 6% des patients avait une mutation Leiden du facteur V et deux pourcent une mutation du facteur II, ces valeurs sont comparables à la précédente étude de 2001 pour les 219 cas, 4.6 et 3.7% respectivement. Il n'y avait pas non plus de différence significative avec les témoins (25).

L'élévation du facteur VIII était présente chez 50% des patients ayant un IC avec ou sans cause dans notre étude. Il n'y avait pas de différence significative entre ces 2 groupes malgré une prévalence un peu plus importante dans le groupe des IC sans cause qu'avec cause (61 vs 40%). Nous n'avons pas pu comparer cette prévalence à celle des témoins car la donnée était indisponible chez ces derniers. Dans la littérature, l'élévation du facteur VIII est associée au risque de thrombose artérielle selon *Folsom et collaborateurs* (41). Une étude récente réalisée en 2013 à propos de 116 patients consécutifs ayant un IC montre une proportion de 84 patients (72.4%) avec une élévation du facteur VIII>150% (106). Ce chiffre est également élevé mais les patients recrutés dans cette étude étaient sélectionnés justement en raison d'une suspicion de coagulopathie et leur âge n'était pas précisé. Une étude descriptive très récente portant sur des patients jeunes entre 46 et 63 ans a montré que chez 5

des 9 patients ayant un IC sans cause retrouvée, une élévation du facteur VIII (>150%) était retrouvée et qu'elle persistait chez ces 5 patients à 8-10mois (107). La présence d'un thrombus carotidien était également retrouvée chez 3 de ces patients. Les données disponibles pour la population générale sont une prévalence de l'augmentation du facteur VIII variant de 6 à 36% selon les études (108).

Concernant le polymorphisme du gène MTHFR, on estime à 30 à 40% la prévalence des individus hétérozygotes, et à 10-15% les homozygotes dans la population caucasienne (78). Dans les différents groupes de notre étude, la prévalence variait de 50 à 60% (patients homozygotes et hétérozygotes confondus). Il n'y avait pas de différence significative entre les différents groupes. Concernant le risque d'IC associé au polymorphisme MTHFR, une récente étude sur 155 patients âgés de moins de 55 ans ayant un IC et 150 contrôles a montré que la prévalence du polymorphisme MTHFR était significativement supérieure au contrôles ($p<0.001$) mais uniquement en analyse univariée. Il n'y avait par ailleurs pas de différence significative entre les 2 groupes concernant la mutation G20210A du facteur II et la mutation Leiden du facteur V(109). Une récente revue de la littérature à ce sujet met en exerce les données conflictuelles quant au px polymorphisme MTHFR, tantôt l'association avec la survenue d'un IC est significative tantôt il n'y a pas de différence significative. Par contre, l'hyperhomocystéinémie semble jouer un rôle et être corrélée à la présence du polymorphisme MTHFR (110).

## 3) Forces et limites de l'étude

A notre connaissance, aucune étude ne s'est intéressée à la comparaison des patients jeunes ayant un infarctus de cause non retrouvée et ceux ayant un infarctus de cause connue

concernant la PZ et les polymorphismes de son gène. Chez les patients souffrant d'un infarctus cérébral, l'enquête étiologique est primordiale puisqu'il en découle une prise en charge thérapeutique spécifique : et une évaluation du risque de récidive et du pronostic du patient.

Chez les patients ayant un IC sans cause retrouvée, il est difficile d'estimer le risque de récidive dans la littérature.

Notre étude comporte plusieurs biais : il s'agit d'une étude rétrospective. La population de témoins était déjà constituée et certaines données notamment les facteurs de risque vasculaires n'étaient pas disponibles. Notre population de patients n'était pas comparable aux témoins en termes d'âge, de sexe même si la littérature ne montre pas d'association forte entre taux plasmatique de PZ, polymorphismes, et ces variables. Le faible échantillon de patients est également une limite et la poursuite de ce travail serait nécessaire sur de plus grands effectifs pour augmenter la puissance des résultats. .

## V) Conclusions et perspectives

Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence de rôle spécifique de la protéine Z et des polymorphismes de son gène dans la survenue d'un IC sans cause retrouvée chez le sujet jeune. Il n'y a donc aucun argument à l'heure actuelle pour doser la PZ et/ou rechercher les polymorphismes principaux chez ces patients.

Notre travail met cependant en évidence un probable lien significatif entre taux plasmatique de PZ abaissé, déficit en PZ, présence du polymorphisme G-79A et survenue d'un infarctus cérébral chez le sujet jeune. Ces anomalies du taux de PZ ou de son polymorphisme génétique pourraient potentialiser le risque de thrombose en se combinant à d'autres facteurs thrombogènes comme une autre anomalie du bilan de coagulation ou la présence de facteurs de risque vasculaires, ou une cause connue d'IC comme une dissection ou une pathologie cardio-embolique (59, 66, 93).

La PZ semble également impliquée dans d'autres pathologies variées telles que les néoplasies et les pathologies hématologiques comme démontrées récemment (88, 111, 112). Le spectre d'action de la PZ semble donc large et partiellement connu. A l'heure actuelle les données à son sujet sont insuffisantes. Le rôle de la PZ et des polymorphismes de son gène dans les pathologies thrombotiques reste encore à élucider par des études plus larges et prospectives.

# VI) Annexes

Annexe 1 : Critères cliniques et biologiques du Syndrome des Anticorps anti Phospholipides selon les critères révisés de 2006 (47)

**Critères cliniques :**

1. Thromboses
Un ou plusieurs épisodes de thrombose artérielle, veineuse ou capillaire de tout tissu ou organe. L'IC est un critère clinique de diagnostic d'un SAPL. La thrombose doit avoir été objectivée par des critères valides (résultat d'imagerie appropriée ou d'histopathologie univoque). Pour les résultats histopathologiques la thrombose doit exister en l'absence d'inflammation significative du vaisseau thrombosé.

2. Pathologie obstétricale

- une ou plusieurs mort(s) foetale(s) d'un foetus morphologiquement normal après 10 semaines de gestation, documenté par échographie ou examen direct du foetus,
- ou, une ou plusieurs naissance(s) prématurée(s) d'un nouveau-né morphologiquement normal avant 34 semaines de gestation en rapport avec : une éclampsie, une prééclampsie sévère
- ou une insuffisance placentaire documentée, ou, au moins trois avortements spontanés consécutifs inexpliqués avant 10 semaines de gestation, après exclusion d'une anomalie anatomique ou hormonale maternelle et d'une anomalie chromosomique maternelle et paternelle.

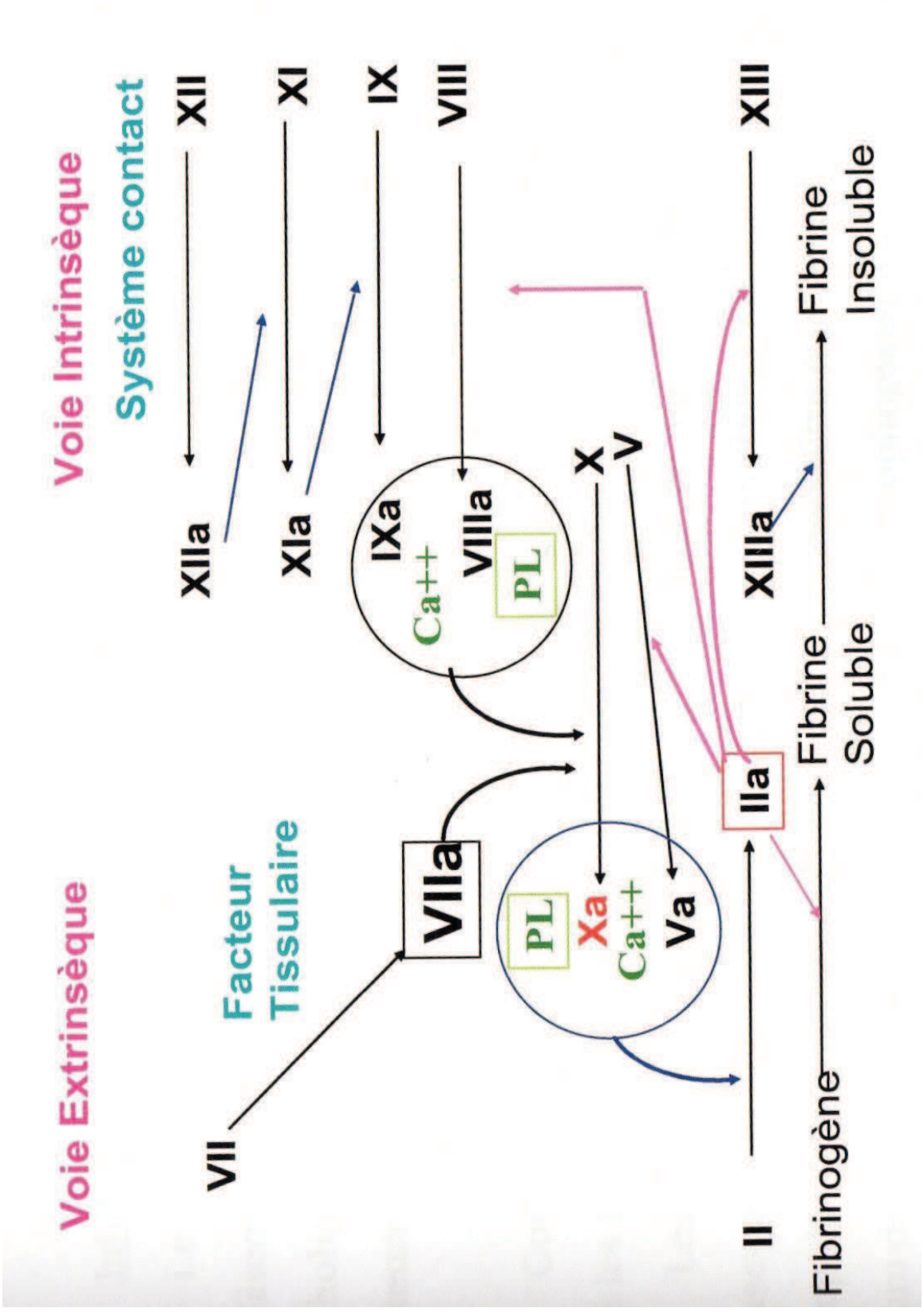
**Critères biologiques :**

1. Présence dans le plasma d'un Anticoagulant Lupique (LA), sur au moins deux prélèvements distants de plus de 12 semaines, mis en évidence d'après les recommandations de la société internationale de thrombose et d'hémostase (ISTH). Cette recherche est faussée en cas de traitement héparinique (faux positifs).

2. Anticorps Anti Cardiolipine (aCL) de type IgG et/ou IgM dans le sérum ou le plasma, présent à titre moyen ou fort (> 99ème percentile ou > 30 GPL ou MPL mais cette valeur varie selon le kit de dosage utilisé), sur au moins deux prélèvements distants de plus de 12 semaines.

3. Anticorps Anti-β2 glycoprotéine-1 de type IgG et/ou IgM dans le sérum ou le plasma, présent à titre moyen ou fort (> 99ème percentile), sur au moins deux prélèvements distants de plus de 12 semaines.

Annexe 2 : Physiologie de la coagulation



# SCORE NIH le … / … / … à … heures …

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1a | **Niveau de conscience**<br>Choisir une réponse même si une évaluation complète est impossible du fait d'une intubation, d'une barrière linguistique, d'un trauma oro-trachéal ou d'une autre raison. Le score 3 n'est attribué que si le patient ne réagit par aucun mouvement (en dehors de réflexe de posture) aux stimulations douloureuses. | - vigilant, réagit vivement<br>- Non vigilant (somnolent), mais réagit ou répond s'il est éveillé par une stimulation mineure.<br>- Non vigilant et ne réagit qu'à des stimulations répétées ou est inconscient et une stimulation intense et douloureuse est nécessaire pour obtenir des mouvements autres que stéréotypés.<br>- On obtient uniquement des réponses réflexes motrices ou végétatives ou le patient est totalement aréactif et flasque. | 0<br>1<br><br><br>2<br><br><br><br>3 | 3 | **Champ visuel**<br>Le champ visuel pourra être considéré comme normal si le patient regarde du côté du doigt en mouvement. En cas de cécité unilatérale ou d'énucléation, le champ visuel sera testé sur l'œil indemne. Le score 1 ne sera attribué que si il existe une asymétrie nette ou une quadranopsie. Le score 3 sera attribué en cas de cécité complète qu'elle qu'en soit la raison. Le score 1 sera attribué en cas d'extinction visuelle et les résultats de cette épreuve seront utilisés pour coter l'item 11. | - Aucun trouble du champ visuel.<br>- Hémianopsie partielle (ou extinction visuelle).<br>- Hémianopsie complète.<br>- Hémianopsie bilatérale (incluant la cécité corticale). | 0<br>1<br>2<br>3 |
| 1b | **Niveau de conscience**<br>Demander au patient le mois de l'année en cours et son âge. La réponse doit être correcte ; les réponses approximatives ne sont pas acceptées. Le score 2 sera attribué aux patients aphasiques ou stuporeux qui ne comprennent pas les question. Le score 1 sera attribué aux patients qui ne peuvent pas répondre du fait d'une intubation, d'un trauma oro-trachéal, d'une dysarthrie sévère qu'elle qu'en soit la cause, d'une barrière linguistique ou de toute autre raison non liée à une aphasie. Il est important de ne prendre en compte que la première réponse du patient et de ne pas aider le patient de quelque manière que ce soit. | - Répond aux 2 questions correctement.<br>- Ne répond qu'à une seule question.<br>- Ne répond correctement à aucune des 2 questions. | 0<br>1<br>2 | 4 | **Paralysie faciale**<br>Sur commande ou sur imitation, obtenir du patient de montrer les dents, de lever les sourcils et de fermer les yeux. En cas de faible réactivité ou de troubles de compréhension, utiliser une stimulation douloureuse (manœuvre de Pierre Marie et Foix) et tester la symétrie de la grimace. Dans la mesure du possible, ôter les pansements, etc. pouvant gêner l'examen. | - Mobilité normale.<br>- Paralysie mineure (effacement du sillon naso-génien, asymétrie du sourire).<br>- Paralysie partielle (paralysie de la partie inférieure de la face, totale ou subtotale).<br>- Paralysie complète (faciale supérieure et inférieure) | 0<br>1<br><br>2<br><br>3 |
| 1c | **Niveau de conscience**<br>Demander au patient d'ouvrir et de fermer les yeux, puis d'ouvrir et de fermer la main non parétique. Utiliser un ordre simple, si les mains ne peuvent être utilisées. L'épreuve est considérée comme bonne si le patient fait une tentative non équivoque, mais ne peut terminer du fait d'une faiblesse. Si le patient ne répond pas à la commande, l'épreuve sera effectuée sur imitation. En cas de trauma, d'amputation ou d'une autre incapacité physique, utiliser d'autres ordres simples. Seule la première tentative est prise en compte. | - Exécute les 2 ordres correctement.<br>- Exécute un seul ordre sur les 2.<br>- N'exécute aucun des 2 ordres. | 0<br>1<br>2 | | **Motricité des membres**<br>Le membre supérieur est placé en extension (paumes vers le bas à 90° en position assise ou 45° en position allongée. Le membre inférieur est placé en extension à 30° en position allongée. Le patient aphasique peut être encouragé par une stimulation vocale forte ou imitation, mais non par un stimulus nociceptif. Chaque membre est testé successivement, en commençant par le bras non paralysé. Seulement en cas d'amputation ou de blocage articulaire de l'épaule ou de la hanche, le score 9 sera attribué et l'examinateur devra fournir l'explication de ce score. | | |
| 2 | **Oculomotricité**<br>Seuls les mouvements horizontaux seront testés. Les mouvements volontaires et réflexes (oculo-céphaliques) seront testés sans épreuve calorique. En cas de déviation conjuguée des yeux pouvant être réduite par une activité volontaire ou réflexe, le score 1 sera attribué. En cas de paralysie isolée d'un nerf oculo-moteur, le score 1 sera attribué. L'oculomotricité peut et doit être testée chez tous les patients aphasiques. En cas de trauma oculaire, de cécité pré-existante ou d'autre anomalie de l'acuité visuelle ou du champ visuel, l'examinateur doit utiliser les mouvement réflexes et attribuer un score. L'existence d'une paralysie partielle de l'oculomotricité pourra être détectée par un mouvement de l'examinateur de part et d'autre du patient. | - Normal.<br>- Paralysie partielle. Ce score est attribué quand l'oculomotricité est anormale pour un ou 2 yeux, mais sans déviation forcé ni paralysie complète.<br>- Déviation forcée ou paralysie complète non vaincue par les manœuvres oculo-céphaliques. | 0<br>1<br><br><br>2 | 5 | **Motricité du membre supérieur** | • 5a. bras gauche<br>• 5b. bras droit<br>- Pas de chute.<br>- Chute : le MS chute en moins de 10 sec, mais sans atteindre le plan du lit.<br>- Le MS ne peut pas atteindre ou maintenir 90°(ou 45°), tombe sur le lit, mais le patient peut faire un certain mouvement contre pesanteur.<br>- Aucun mouvement contre pesanteur : le MS tombe.<br>- Absence de mouvement.<br>- Amputation, blocage articulaire, expliquer | <br><br>0<br>1<br><br>2<br><br><br>3<br>4<br>9 |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6 | **Motricité du membre inférieur** | • 6a membre inférieur gauche<br>• 6b membre inférieur droit<br>- Absence de chute pendant 5 secondes.<br>- Chute, la position ne peut être maintenue pendant 5 sec, mais le MI ne retombe pas sur le lit.<br>- Aucun mouvement contre pesanteur : le MI tombe instantanément.<br>- Absence de mouvement.<br>- Amputation, blocage articulaire, expliquer | 0<br>1<br>2<br>3<br>9 | 9 | **Meilleur langage**<br>On demandera au patient de décrire la scène se déroulant sur la figure qui lui sera présentée, de nommer les items représentés sur une autre figure et de lire une liste de phrases. Le niveau de compréhension est évalué à partir de ces épreuves spécifiques, ainsi qu'à partir de la réponse aux consignes données lors des phases précédentes de l'examen. En cas de troubles visuels, on demandera au patient d'identifier des objets placés dans sa main et on évaluera sa production verbale et la répétition. Chez un patient intubé, l'écriture sera évaluée. Le score 3 sera attribué aux patients stuporeux ou dont la coopération est limitée: le score 3 ne doit être attribué que si le patient est mutique et n'exécute aucun ordre simple. | - Normal, pas d'aphasie.<br>- Aphasie discrète à modérée. Il existe une perte indiscutable de la fluence ou des capacités de compréhension, mais sans limitation significative des idées exprimées ni de la forme de l'expression. Toutefois la réduction du discours ou de la compréhension rend la conversation à partir des documents fournis difficile, voire impossible. L'examinateur peut identifier l'image à partir de la réponse du patient.<br>- Aphasie sévère. L'expression est fragmentaire. L'examinateur doit faire des efforts et interroger pour déduire et deviner. L'étendue des informations échangées est limitée. L'examinateur supporte tout le poids de la conversation. Il ne peut identifier les objets à partir des réponses du patient.<br>- Mutisme : aphasie globale : pas de langage utile ni de compréhension du langage oral. | 0<br>1<br>2<br>3 |
| 7 | **Ataxie des membres**<br>Le but de cet item est de rechercher une atteinte cérébelleuse unilatérale. L'examen est réalisé les yeux ouverts. Les épreuves doigt-nez et talon-genou seront réalisées des 2 côtés. Une ataxie ne sera prise ne compte que si elle ne peut pas être expliquée par un déficit moteur. L'ataxie sera considérée comme absente chez un patient qui ne peut comprendre ou est paralysé. En cas d'amputation ou de blocage articulaire, le score 9 sera attribué. En cas de cécité, le test sera effectué en demandant au patient de toucher le nez à partir de la position bras en extension. | - Absente.<br>- Présente pour un membre.<br>- Présente pour 2 membres.<br>- Amputation arthrodèse, expliquer | 0<br>1<br>2<br>9 | 10 | **Dysarthrie**<br>Même si l'articulation semble normale, l'expression verbale doit être testée en demandant au patient de lire ou de répéter les mots de la liste. L'articulation du langage lors du discours spontané sera testée même chez le patient ayant une aphasie sévère. Le score 9 ne sera attribué qu'en cas d'intubation, ou autre empêchement mécanique. L'examinateur doit alors fournir la raison de cet empêchement. Le patient ne doit être averti que l'examinateur est en train de tester son articulation. | - Normal.<br>- Discrète à modérée : le patient n'articule pas bien au moins quelques mots et au pire, peut être compris avec quelques difficultés.<br>- Sévère : le discours du patient est tellement mal articulé qu'il devient inintelligible en l'absence ou hors de proportion avec toute éventuelle aphasie, ou est mutique, anarthrique.<br>- Intubation, autre obstacle mécanique, expliquer | 0<br>1<br>2<br>9 |
| 8 | **Sensibilité**<br>Etudier la sensation ou la grimace à la piqûre ou le retrait après stimulation nociceptive chez le patient confus ou aphasique. Seuls les troubles sensitifs liés à l'AVC sont pris en compte. L'examen doit porter sur les différentes parties du corps pour rechercher un déficit hémicorporel. Le score 2 ne doit être attribué que lorsqu'un déficit sévère ou total est clairement identifié. Le score 1 ou 0 est attribué aux patients stuporeux ou aphasiques. Le score 2 sera attribué aux patients atteints d'un AVC vertébro-basilaire ayant un déficit bilatéral. Le score 2 sera attribué, en l'absence de réponse, aux patients quadriplégiques et aux patients dans le coma. | - Normale<br>- Déficit sensitif discret à modéré : du côté atteint, la piqûre est moins bien perçue mais le patient est conscient d'être touché.<br>- Déficit sévère à total : le patient n'a pas conscience d'être touché au niveau de la face, du bras, de la jambe. | 0<br>1<br>2 | 11 | **Extinction ou négligence**<br>Des informations suffisantes peuvent être obtenues lors des épreuves précédentes. Le score 0 est attribué si le patient a un déficit visuel sévère empêchant la recherche d'une extinction visuelle, à condition que l'épreuve à la recherche d'une extinction sensitive soit normale. Le score est 0 si le patient est aphasique, mais donne l'impression de percevoir les stimuli des 2 côtés. La présence d'une négligence visuo-spatiale ou d'une anosognosie doit aussi être prise en compte. Dans la mesure où cette anomalie n'est scorée que si elle est présente, cet item n'est jamais intestable. | - Normal.<br>- Extinction ou négligence visuelle, tactile, auditive, spatiale ou personnelle à la stimulation bilatérale simultanée dans une des modalités.<br>- Héminégligence sévère ou portant sur plus d'une modalité sensorielle. Ne reconnaît pas sa propre main ou ne s'oriente que vers un côté de l'espace | 0<br>1<br>2 |

TOTAL :

Annexe 4 : Impact des polymorphismes du gène de PZ, scores additionnels, et génotypes sur le taux plasmatique de PZ. Etude de 306 sujets sains d'origine caucasienne (13)

| Polymorphisms (%) | PZ plasma level Mean ± SD | P (ANOVA)[a] | |
|---|---|---|---|
| PZ A-13G | | | |
| AA (88.0) | 2.16 ± 0.59 | < 0.001 [b] | |
| AG (11.6) | 1.73 ± 0.47 | | |
| GG (0.4) | 1.44 | | |
| PZ G-103A | | | |
| GG (72.1) | 2.26 ± 0.54 | < 0.001 | < 0.001 |
| GA (26.1) | 1.75 ± 0.53 | < 0.001 | |
| AA (1.8) | 1.22 ± 0.29 | | |
| PZ G79A | | | |
| GG (63.4) | 2.30 ± 0.52 | < 0.001 | < 0.001 |
| GA (32.6) | 1.85 ± 0.56 | < 0.001 | |
| AA (4.0) | 1.22 ± 0.23 | | |
| **Additionnal effect** | | | |
| **Score (%)** | | | |
| 0 (52.9) | 2.31 ± 0.52 | | |
| 1 (11.4) | 2.11 ± 0.52 | | |
| 2 (16.7) | 1.73 ± 0.54 | | |
| 3 (6.2) | 1.66 ± 0.51 | < 0.001 | |
| 4 (1.0) | 1.21 ± 0.41 | | |
| 5 (0.7) | 1.21 ± 0.01 | | |
| 6 (0.3) | 1.44 | | |
| **Combined effect** | | | |
| **Genotypes (%)** | | | |
| AA/GG/GG (59.1) | 2.32 ± 0.52 | | |
| AA/GA/GA (14.5) | 1.71 ± 0.56 | | |
| AA/GG/GA (10.9) | 2.10 ± 0.53 | < 0.001 | |
| AG/GA/GA (6.1) | 1.73 ± 0.52 | | |
| AG/GA/GG (2.5) | 1.97 ± 0.37 | | |
| Rares genotypes[c] (6.9) | 1.53 ± 0.50 | | |

## VII) Références


1. Haute Autorité de Santé - Accident vasculaire cérébral : prise en charge précoce (alerte, phase préhospitalière, phase hospitalière initiale, indications de la thrombolyse) [Internet]. [cité 1 févr 2014]. Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_830203/en/stroke-early-management

2. Khellaf M, Quantin C, d' Athis P, Fassa M, Jooste V, Hervieu M, et al. Age-period-cohort analysis of stroke incidence in Dijon from 1985 to 2005. Stroke J Cereb Circ. déc 2010;41(12):2762‑2767.

3. Putaala J, Metso AJ, Metso TM, Konkola N, Kraemer Y, Haapaniemi E, et al. Analysis of 1008 consecutive patients aged 15 to 49 with first-ever ischemic stroke: the Helsinki young stroke registry. Stroke J Cereb Circ. avr 2009;40(4):1195‑1203.

4. Ji R, Schwamm LH, Pervez MA, Singhal AB. Ischemic stroke and transient ischemic attack in young adults: risk factors, diagnostic yield, neuroimaging, and thrombolysis. JAMA Neurol. janv 2013;70(1):51‑57.

5. Singhal AB, Biller J, Elkind MS, Fullerton HJ, Jauch EC, Kittner SJ, et al. Recognition and management of stroke in young adults and adolescents. Neurology. 17 sept 2013;81(12):1089‑1097.

6. Leys D, Bandu L, Hénon H, Lucas C, Mounier-Vehier F, Rondepierre P, et al. Clinical outcome in 287 consecutive young adults (15 to 45 years) with ischemic stroke. Neurology. 9 juill 2002;59(1):26‑33.

7. Donnan GA, Fisher M, Macleod M, Davis SM. Stroke. Lancet. 10 mai 2008;371(9624):1612‑1623.

8. Rouanet F, Sibon I, Goizet C, Renou P, Meissner W, Groupe de travail de la SFNV. [Etiological assessment of cerebral infarct in the young. Proposals from the working group of the French Neuro-vascular Society (December 2008)]. Rev Neurol (Paris). déc 2009;165 Spec No 4:F283‑288.

9. Ferro JM, Massaro AR, Mas J-L. Aetiological diagnosis of ischaemic stroke in young adults. Lancet Neurol. nov 2010;9(11):1085‑1096.

10. Broze GJ Jr. Protein Z-dependent regulation of coagulation. Thromb Haemost. juill 2001;86(1):8‑13.

11. Le Cam-Duchez V, Barbay V, Soria C, Borg J-Y. [Protein Z, polymorphisms in the protein Z gene and thrombosis]. Rev Médecine Interne Fondée Par Société Natl Francaise Médecine Interne. août 2010;31(8):551‑557.

12. Vasse M. The protein Z/protein Z-dependent protease inhibitor complex. Systemic or local control of coagulation? Hämostaseologie. août 2011;31(3):155‑158, 160‑164.

13. Le Cam-Duchez V, Barbay V, Bal Dit Sollier C, Drouet L, Coudert M, Soria C, et al. Haplotypic or genotypic combinations of three protein Z polymorphisms influence protein Z plasma level. Thromb Haemost. janv 2009;101(1):212‑214.

14. Rice GI, Futers TS, Grant PJ. Identification of novel polymorphisms within the protein Z gene, haplotype distribution and linkage analysis. Thromb Haemost. juin 2001;85(6):1123‑1124.

15. 225.0812-Bilan etiologique des infarctus cérébraux du sujet jeune, propositions (SFNV).pdf.

16. Chang C-C, Chuang H-C, Lin C-L, Sung F-C, Chang Y-J, Hsu CY, et al. High incidence of stroke in young women with sleep apnea syndrome. Sleep Med. 12 févr 2014;

17. Melgaard L, Rasmussen LH, Skjøth F, Lip GYH, Larsen TB. Age Dependence of Risk Factors for Stroke and Death in Young Patients With Atrial Fibrillation: A Nationwide Study. Stroke J Cereb Circ. 27 mars 2014;

18. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. Stroke J Cereb Circ. janv 1993;24(1):35‑41.

19. Levine SR. Hypercoagulable states and stroke: a selective review. CNS Spectr. juill 2005;10(7):567‑578.

20. European Genetics Foundation, Cardiovascular Disease Educational and Research Trust, International Union of Angiology, Mediterranean League on Thromboembolism, Nicolaides AN, Breddin HK, et al. Thrombophilia and venous thromboembolism. International consensus statement. Guidelines according to scientific evidence. Int Angiol J Int Union Angiol. mars 2005;24(1):1‑26.

21. Morris JG, Singh S, Fisher M. Testing for inherited thrombophilias in arterial stroke: can it cause more harm than good? Stroke J Cereb Circ. déc 2010;41(12):2985‑2990.

22. De Lau LML, Leebeek FWG, de Maat MPM, Koudstaal PJ, Dippel DWJ. A review of hereditary and acquired coagulation disorders in the aetiology of ischaemic stroke. Int J Stroke Off J Int Stroke Soc. oct 2010;5(5):385‑394.

23. Blohorn A, Guegan-Massardier E, Triquenot A, Onnient Y, Tron F, Borg JY, et al. Antiphospholipid antibodies in the acute phase of cerebral ischaemia in young adults: a descriptive study of 139 patients. Cerebrovasc Dis Basel Switz. 2002;13(3):156‑162.

24. Lim W, Crowther MA. Antiphospholipid antibiodies: a critical review of the literature. Curr Opin Hematol. sept 2007;14(5):494‑499.

25. Hankey GJ, Eikelboom JW, van Bockxmeer FM, Lofthouse E, Staples N, Baker RI. Inherited thrombophilia in ischemic stroke and its pathogenic subtypes. Stroke J Cereb Circ. août 2001;32(8):1793‑1799.

26. Sakata T, Kario K, Katayama Y, Matsuyama T, Kato H, Miyata T. Studies on congenital protein C deficiency in Japanese: prevalence, genetic analysis, and relevance to the onset of arterial occlusive diseases. Semin Thromb Hemost. 2000;26(1):11‑16.

27. Martinelli I, Mannucci PM, De Stefano V, Taioli E, Rossi V, Crosti F, et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families. Blood. 1 oct 1998;92(7):2353‑2358.

28. Haywood S, Liesner R, Pindora S, Ganesan V. Thrombophilia and first arterial ischaemic stroke: a systematic review. Arch Dis Child. avr 2005;90(4):402‑405.

29. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. Nature. 5 mai 1994;369(6475):64‑67.

30. Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. Proc Natl Acad Sci U S A. 1 févr 1993;90(3):1004‑1008.

31. Botto N, Spadoni I, Giusti S, Ait-Ali L, Sicari R, Andreassi MG. Prothrombotic mutations as risk factors for cryptogenic ischemic cerebrovascular events in young subjects with patent foramen ovale. Stroke J Cereb Circ. juill 2007;38(7):2070‑2073.

32. Casas JP, Hingorani AD, Bautista LE, Sharma P. Meta-analysis of genetic studies in ischemic stroke: thirty-two genes involving approximately 18,000 cases and 58,000 controls. Arch Neurol. nov 2004;61(11):1652‑1661.

33. Kim RJ, Becker RC. Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: a meta-analysis of published studies. Am Heart J. déc 2003;146(6):948‑957.

34. Bushnell CD, Goldstein LB. Diagnostic testing for coagulopathies in patients with ischemic stroke. Stroke J Cereb Circ. déc 2000;31(12):3067‑3078.

35. Lalouschek W, Schillinger M, Hsieh K, Endler G, Tentschert S, Lang W, et al. Matched case-control study on factor V Leiden and the prothrombin G20210A mutation in patients with ischemic stroke/transient ischemic attack up to the age of 60 years. Stroke J Cereb Circ. juill 2005;36(7):1405‑1409.

36. Martinelli I, Battaglioli T, Burgo I, Di Domenico S, Mannucci PM. Oral contraceptive use, thrombophilia and their interaction in young women with ischemic stroke. Haematologica. juin 2006;91(6):844‑847.

37. Madonna P, de Stefano V, Coppola A, Cirillo F, Cerbone AM, Orefice G, et al. Hyperhomocysteinemia and other inherited prothrombotic conditions in young adults with a history of ischemic stroke. Stroke J Cereb Circ. janv 2002;33(1):51‑56.

38. Pettigrew LC, Bang H, Chambless LE, Howard VJ, Toole JF, Vitamin Intervention for Stroke Prevention Investigators. Assessment of pre- and post-methionine load homocysteine for prediction of recurrent stroke and coronary artery disease in the Vitamin Intervention for Stroke Prevention Trial. Atherosclerosis. oct 2008;200(2):345‑349.

39. Kelly PJ, Rosand J, Kistler JP, Shih VE, Silveira S, Plomaritoglou A, et al. Homocysteine, MTHFR 677C-->T polymorphism, and risk of ischemic stroke: results of a meta-analysis. Neurology. 27 août 2002;59(4):529‑536.

40. Bank I, Libourel EJ, Middeldorp S, Hamulyák K, van Pampus ECM, Koopman MMW, et al. Elevated levels of FVIII:C within families are associated with an increased risk for venous and arterial thrombosis. J Thromb Haemost JTH. janv 2005;3(1):79‑84.

41. Folsom AR, Rosamond WD, Shahar E, Cooper LS, Aleksic N, Nieto FJ, et al. Prospective study of markers of hemostatic function with risk of ischemic stroke. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. Circulation. 17 août 1999;100(7):736‑742.

42. Glueck CJ, Munjal J, Aregawi D, Agloria M, Winiarska M, Khalil Q, et al. Thrombophilia-hypofibrinolysis and atherothrombotic cardiovascular disease < or = age 45 years. Transl Res J Lab Clin Med. août 2007;150(2):93‑100.

43. Sastry S, Riding G, Morris J, Taberner D, Cherry N, Heagerty A, et al. Young Adult Myocardial Infarction and Ischemic Stroke: the role of paradoxical embolism and thrombophilia (The YAMIS Study). J Am Coll Cardiol. 15 août 2006;48(4):686‑691.

44. Pierangeli SS, Chen PP, González EB. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome: an update on treatment and pathogenic mechanisms. Curr Opin Hematol. sept 2006;13(5):366‑375.

45. Hughson MD, McCarty GA, Sholer CM, Brumback RA. Thrombotic cerebral arteriopathy in patients with the antiphospholipid syndrome. Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc. nov 1993;6(6):644‑653.

46. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. Arthritis Rheum. juill 1999;42(7):1309‑1311.

47. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost JTH. févr 2006;4(2):295‑306.

48. Almawi WY, Al-Shaikh FS, Melemedjian OK, Almawi AW. Protein Z, an anticoagulant protein with expanding role in reproductive biology. Reprod Camb Engl. août 2013;146(2):R73‑80.

49. Broze GJ Jr, Miletich JP. Human Protein Z. J Clin Invest. avr 1984;73(4):933‑938.

50. Santacroce R, Cappucci F, Di Perna P, Sessa F, Margaglione M. Protein Z gene polymorphisms are associated with protein Z plasma levels. J Thromb Haemost JTH. juill 2004;2(7):1197‑1199.

51. Ravi S, Mauron T, Lämmle B, Wuillemin WA. Protein Z in healthy human individuals and in patients with a bleeding tendency. Br J Haematol. sept 1998;102(5):1219‑1223.

52. Miletich JP, Broze GJ Jr. Human plasma protein Z antigen: range in normal subjects and effect of warfarin therapy. Blood. juin 1987;69(6):1580‑1586.

53. Al-Shanqeeti A, van Hylckama Vlieg A, Berntorp E, Rosendaal FR, Broze GJ Jr. Protein Z and protein Z-dependent protease inhibitor. Determinants of levels and risk of venous thrombosis. Thromb Haemost. mars 2005;93(3):411‑413.

54. Fujimaki K, Yamazaki T, Taniwaki M, Ichinose A. The gene for human protein Z is localized to chromosome 13 at band q34 and is coded by eight regular exons and one alternative exon. Biochemistry (Mosc). 12 mai 1998;37(19):6838‑6846.

55. Lichy C, Kropp S, Dong-Si T, Genius J, Dolan T, Hampe T, et al. A common polymorphism of the protein Z gene is associated with protein Z plasma levels and with risk of cerebral ischemia in the young. Stroke J Cereb Circ. janv 2004;35(1):40‑45.

56. Lichy C, Dong-Si T, Reuner K, Genius J, Rickmann H, Hampe T, et al. Risk of cerebral venous thrombosis and novel gene polymorphisms of the coagulation and fibrinolytic systems. J Neurol. mars 2006;253(3):316‑320.

57. Santacroce R, Sarno M, Cappucci F, Sessa F, Colaizzo D, Brancaccio V, et al. Low protein Z levels and risk of occurrence of deep vein thrombosis. J Thromb Haemost JTH. nov 2006;4(11):2417‑2422.

58. Vasse M, Guegan-Massardier E, Borg JY, Woimant F, Soria C. Frequency of protein Z deficiency in patients with ischaemic stroke. Lancet. 24 mars 2001;357(9260):933‑934.

59. Heeb MJ, Paganini-Hill A, Griffin JH, Fisher M. Low protein Z levels and risk of ischemic stroke: differences by diabetic status and gender. Blood Cells Mol Dis. oct 2002;29(2):139‑144.

60. Lopaciuk S, Bykowska K, Kwiecinski H, Czlonkowska A, Kuczynska-Zardzewialy A. Protein Z in young survivors of ischemic stroke. Thromb Haemost. sept 2002;88(3):536.

61. McQuillan AM, Eikelboom JW, Hankey GJ, Baker R, Thom J, Staton J, et al. Protein Z in ischemic stroke and its etiologic subtypes. Stroke J Cereb Circ. oct 2003;34(10):2415‑2419.

62. Kobelt K, Biasiutti FD, Mattle HP, Lämmle B, Wuillemin WA. Protein Z in ischaemic stroke. Br J Haematol. juill 2001;114(1):169‑173.

63. Staton J, Sayer M, Hankey GJ, Cole V, Thom J, Eikelboom JW. Protein Z gene polymorphisms, protein Z concentrations, and ischemic stroke. Stroke J Cereb Circ. juin 2005;36(6):1123‑1127.

64. Obach V, Muñoz X, Sala N, García de Frutos P, Chamorro A. Intronic c.573 + 79G>A polymorphism of protein Z gene in haemorrhagic and ischaemic stroke. Thromb Haemost. juin 2006;95(6):1040‑1041.

65. Yin ZF, Huang ZF, Cui J, Fiehler R, Lasky N, Ginsburg D, et al. Prothrombotic phenotype of protein Z deficiency. Proc Natl Acad Sci U S A. 6 juin 2000;97(12):6734‑6738.

66. Kemkes-Matthes B, Nees M, Kühnel G, Matzdorff A, Matthes KJ. Protein Z influences the prothrombotic phenotype in Factor V Leiden patients. Thromb Res. 15 mai 2002;106(4-5):183‑185.

67. Kemkes-Matthes B, Nees M, Kühnel G, Matzdorff A, Matthes KJ. Protein Z influences the prothrombotic phenotype in Factor V Leiden patients. Thromb Res. 15 mai 2002;106(4-5):183‑185.

68. Le Cam-Duchez V, Bagan-Triquenot A, Barbay V, Mihout B, Borg JY. The G79A polymorphism of protein Z gene is an independent risk factor for cerebral venous thrombosis. J Neurol. oct 2008;255(10):1521‑1525.

69. Sofi F, Cesari F, Vigiani S, Fatini C, Marcucci R, Giglioli C, et al. Protein Z plasma levels in different phases of activity of coronary atherosclerosis. J Thromb Haemost JTH. oct 2005;3(10):2254‑2258.

70. Le Cam-Duchez V, Soria C, Dit Sollier CB, Borg J-Y, Coudert M, Montalescot G, et al. Rare genotypes of protein Z gene are a risk factor for premature myocardial infarction but not protein Z plasma level. Thromb Haemost. juill 2009;102(1):131‑136.

71. Sofi F, Cesari F, Pratesi G, Cellai AP, Pulli R, Pratesi C, et al. Low protein Z levels in patients with peripheral arterial disease. Thromb Haemost. nov 2007;98(5):1114‑1117.

72. Gris J-C, Quéré I, Dechaud H, Mercier E, Pinçon C, Hoffet M, et al. High frequency of protein Z deficiency in patients with unexplained early fetal loss. Blood. 1 avr 2002;99(7):2606‑2608.

73. Bretelle F, Arnoux D, Shojai R, D'Ercole C, Sampol J, Dignat F, et al. Protein Z in patients with pregnancy complications. Am J Obstet Gynecol. nov 2005;193(5):1698‑1702.

74. Erez O, Hoppensteadt D, Romero R, Espinoza J, Goncalves L, Nien JK, et al. Preeclampsia is associated with low concentrations of protein Z. J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet. sept 2007;20(9):661‑667.

75. Dossenbach-Glaninger A, van Trotsenburg M, Helmer H, Oberkanins C, Hopmeier P. Association of the protein Z intron F G79A gene polymorphism with recurrent pregnancy loss. Fertil Steril. oct 2008;90(4):1155‑1160.

76. Barbay V. La Protéine Z : Rôle dans l'insuffisance vasculo-placentaire et relations phénotype-génotype dans deux études cas-témoins en Haute-Normandie. 2006.

77. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. Blood. 15 nov 1996;88(10):3698‑3703.

78. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet. mai 1995;10(1):111‑113.

79. Heeb MJ, Fisher M, Paganini-Hill A. Association of low protein Z levels with ischemic stroke in young women. Thromb Haemost. mars 2007;97(3):495‑496.

80. Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Broze GJ, Fedi S. A meta-analysis of potential risks of low levels of protein Z for diseases related to vascular thrombosis: Thromb Haemost. 13 janv 2010;103(4):749‑756.

81. Greten J, Kreis I, Liliensiek B, Allenberg J, Amiral J, Ziegler R, et al. Localisation of protein Z in vascular lesions of patients with atherosclerosis. VASA Z Für Gefässkrankh. août 1998;27(3):144‑148.

82. Huang X, Dementiev A, Olson ST, Gettins PGW. Basis for the specificity and activation of the serpin protein Z-dependent proteinase inhibitor (ZPI) as an inhibitor of membrane-associated factor Xa. J Biol Chem. 25 juin 2010;285(26):20399‑20409.

83. Wei Z, Yan Y, Carrell RW, Zhou A. Crystal structure of protein Z-dependent inhibitor complex shows how protein Z functions as a cofactor in the membrane inhibition of factor X. Blood. 22 oct 2009;114(17):3662‑3667.

84. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. N Engl J Med. 14 janv 1999;340(2):115‑126.

85. Okajima K. Regulation of inflammatory responses by natural anticoagulants. Immunol Rev. déc 2001;184:258‑274.

86. Cesari F, Fatini C, Sticchi E, Fedi S, Abbate R, Gensini GF, et al. Protein Z gene polymorphisms (intron F 79 G>A; -13 A>G) are not associated with acute coronary syndromes. Thromb Haemost. juill 2006;96(1):98‑99.

87. Grebe MT, Luu B, Sedding D, Heidt MC, Kemkes-Matthes B, Schaefer CA, et al. Fibrinogen promotes early atherosclerotic changes of the carotid artery in young, healthy adults. J Atheroscler Thromb. 27 oct 2010;17(10):1003‑1008.

88. Sierko E, Wojtukiewicz MZ, Zimnoch L, Tokajuk P, Ostrowska-Cichocka K, Kisiel W. Protein Z/protein Z-dependent protease inhibitor system in loco in human gastric cancer. Ann Hematol. 26 oct 2013;

89. Fedi S, Sofi F, Brogi D, Tellini I, Cesari F, Sestini I, et al. Low protein Z plasma levels are independently associated with acute coronary syndromes. Thromb Haemost. déc 2003;90(6):1173‑1178.

90. Undar L, Karadoğan I, Oztürk F. Plasma protein Z levels inversely correlate with plasma interleukin-6 levels in patients with acute leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. Thromb Res. 15 avr 1999;94(2):131‑134.

91. Krawiec P, Gluszko P, Kwasny-Krochin B, Undas A. Decreased proteinZ levels in patients with rheumatoid arthritis: links with inflammation. Thromb Haemost. sept 2011;106(3):548‑550.

92. Schettini F Jr, Laforgia N, Altomare M, Mautone A, Del Vecchio GC. Plasma protein Z levels in healthy and high-risk newborn infants. Acta Paediatr Oslo Nor 1992. mai 2004;93(5):654‑657.

93. Martinelli I, Razzari C, Biguzzi E, Bucciarelli P, Mannucci PM. Low levels of protein Z and the risk of venous thromboembolism. J Thromb Haemost JTH. déc 2005;3(12):2817‑2819.

94. Öztürk A, Egin Y, Deda G, Teber S, Akar N. Protein Z G79 A polymorphism in Turkish pediatric cerebral infarct patients. Turk J Hematol. 2008;(25):133‑135.

95. Van Goor MPJ, Dippel DWJ, Jie KS-G, de Maat MPM, Koudstaal PJ, Leebeek FWG. Low protein Z levels but not the protein Z gene G79A polymorphism are a risk factor for ischemic stroke. Thromb Res. 2008;123(2):213‑218.

96. Le Cam-Duchez V, Soria C, Dit Sollier CB, Borg J-Y, Coudert M, Montalescot G, et al. Rare genotypes of protein Z gene are a risk factor for premature myocardial infarction but not protein Z plasma level. Thromb Haemost. juill 2009;102(1):131‑136.

97. Mahdi N, Abu-Hijleh TM, Abu-Hijleh FM, Sater MS, Al-Ola K, Almawi WY. Protein Z polymorphisms associated with vaso-occlusive crisis in young sickle cell disease patients. Ann Hematol. août 2012;91(8):1215‑1220.

98. Demir HD, Yalçındağ FN, Oztürk A, Akar N. Intron F G79A polymorphism of the protein Z gene in Turkish Behçet patients. Curr Eye Res. juill 2012;37(7):630‑632.

99. Cerrato P, Grasso M, Imperiale D, Priano L, Baima C, Giraudo M, et al. Stroke in young patients: etiopathogenesis and risk factors in different age classes. Cerebrovasc Dis Basel Switz. 2004;18(2):154‑159.

100. Varona JF, Guerra JM, Bermejo F, Molina JA, Gomez de la Cámara A. Causes of ischemic stroke in young adults, and evolution of the etiological diagnosis over the long term. Eur Neurol. 2007;57(4):212‑218.

101. Leys D. [Ischemic strokes in young adults]. Rev Médecine Interne Fondée Par Société Natl Francaise Médecine Interne. sept 2003;24(9):585‑593.

102. Musolino R, La Spina P, Granata A, Gallitto G, Leggiadro N, Carerj S, et al. Ischaemic stroke in young people: a prospective and long-term follow-up study. Cerebrovasc Dis Basel Switz. 2003;15(1-2):121‑128.

103. Chatzikonstantinou A, Wolf ME, Hennerici MG. Ischemic stroke in young adults: classification and risk factors. J Neurol. avr 2012;259(4):653‑659.

104. Renna R, Pilato F, Profice P, Della Marca G, Broccolini A, Morosetti R, et al. Risk factor and etiology analysis of ischemic stroke in young adult patients. J Stroke Cerebrovasc Dis Off J Natl Stroke Assoc. mars 2014;23(3):e221‑227.

105. Alhenc-Gelas M. Mutations et polymorphismes des protéines de l'hémostase prédisposant à la thrombose. EMC - Cardiol. janv 2011;6(3):1‑18.

106. Chang TR, Albright KC, Boehme AK, Dorsey A, Sartor EA, Kruse-Jarres R, et al. Factor VIII in the setting of acute ischemic stroke among patients with suspected hypercoagulable state. Clin Appl Thromb Off J Int Acad Clin Appl Thromb. mars 2014;20(2):124‑128.

107. Lasek-Bal A, Puz P, Kazibutowska Z. Elevated factor VIII level and stroke in patients without traditional risk factors associated with cardiovascular diseases. Neuropsychiatr Dis Treat. 2013;9:847‑852.

108. Benjaber K, Constans J, Cougnard A, Salmi L-R. [High levels of factor VIIIc and risk of venous thrombosis: critical analysis of case-control studies]. Rev Médecine Interne Fondée Par Société Natl Francaise Médecine Interne. juin 2003;24(6):366‑371.

109. Supanc V, Sonicki Z, Vukasovic I, Solter VV, Zavoreo I, Kes VB. The role of classic risk factors and prothrombotic factor gene mutations in ischemic stroke risk development in young and middle-aged individuals. J Stroke Cerebrovasc Dis Off J Natl Stroke Assoc. mars 2014;23(3):e171‑176.

110. Kopyta I, Sarecka-Hujar B, Sordyl J, Sordyl R. The role of genetic risk factors in arterial ischemic stroke in pediatric and adult patients: a critical review. Mol Biol Rep. 1 mars 2014;

111. Sierko E, Wojtukiewicz MZ, Zimnoch L, Ostrowska-Cichocka K, Tokajuk P, Ramlau R, et al. Protein Z/protein Z-dependent protease inhibitor system in human non-small-cell lung cancer tissue. Thromb Res. avr 2012;129(4):e92‑96.

112. Doat S, Borgel D, François J-H, Bianchini E, Botton J, François D, et al. Unbalance between plasma levels of Protein Z and protein Z-dependent inhibitor in patients with colorectal and pancreatic cancer: a pilot study. Thromb Res. févr 2014;133(2):299‑300.

# RESUME

INTRODUCTION - Quinze pourcent des infarctus cérébraux (IC) surviennent chez le sujet jeune de moins de 60 ans et ont un impact socio-économique important. La réalisation d'une enquête étiologique complète comprend des explorations de la coagulation. Les troubles de coagulation représentent 0.5 à 15% des causes d'IC chez le sujet jeune. La protéine Z (PZ) est une protéine vitamine K dépendante qui semble jouer un rôle important dans la régulation de la coagulation. Plusieurs auteurs se sont intéressés au rôle de du taux de PZ et des polymorphismes de son gène dans la survenue des thromboses artérielles et veineuses, mais les résultats sont conflictuels et ce lien reste discuté.

OBJECTIFS DE L'ETUDE - Evaluer le rôle du taux plasmatique de PZ et des polymorphismes du gène de la PZ dans la survenue d'un IC chez le sujet jeune sans étiologie retrouvée.

MATERIEL ET METHODES - Il s'agit d'une étude cas témoins effectuée au CHU de Rouen de mai 2008 à mai 2009. Les patients âgés de plus de 18 ans et moins de 60 ans ayant un premier IC étaient inclus. Une population de 101 témoins indemnes d'évènement thrombotique artériel ou veineux était à notre disposition. Les caractéristiques cliniques suivantes étaient recueillies : sexe, âge, traitement en cours, score NIHSS, facteurs de risque vasculaires. Une enquête étiologique comprenant le bilan de thrombophilie complet selon les recommandations de la SFNV a été effectuée pour les patients. La mesure du taux plasmatique de protéine Z et l'analyse des 4 principaux polymorphismes de PZ, PZA-13G, PZG-79A, PZG-103A et PZG-42A ont été effectués pour les patients et les témoins. Les patients étaient répartis en 2 groupes selon le bilan étiologique. Les patients ayant un IC sans cause (IC0) ont été comparés aux patients ayant un IC avec cause retrouvée (IC+) puis ont été comparés aux témoins. Une régression logistique a été effectuée afin de déterminer les facteurs de risque de survenue d'un IC chez le sujet jeune sans étiologie retrouvée.

RESULTATS - Parmi les 105 patients inclus ayant un IC, 36 (34.3%) n'avaient pas d'étiologie retrouvée à l'IC. Nous n'avons pas retrouvé de lien entre protéine Z et IC sans cause retrouvée. En revanche le taux plasmatique de PZ était significativement plus bas dans le groupe IC tous confondus comparativement aux témoins (1,78 ± 0,72 vs. 2,11 ± 0,59 µg/ml, $p<0,001$) et le polymorphisme G-79A était significativement plus fréquent chez les patients (OR 1,92 IC95% [1,20 ; 3,06] p=0,046). Les témoins était significativement moins âgés ($p<0,001$) et plus souvent des femmes (p=0,04).

DISCUSSION - Le déficit en PZ et le polymorphisme G79A du gène de la protéine Z sont des facteurs de risque de survenue d'un infarctus cérébral chez le sujet jeune. Il existe probablement une régulation génétique du taux plasmatique de PZ. L'abaissement du taux de PZ et son déficit semblent être des facteurs prothrombogènes mais ne semblent pas être une cause suffisante pour expliquer un infarctus cérébral. C'est probablement l'association à d'autres facteurs prothrombogènes qui jouerait un rôle important. Le dosage de PZ et la recherche des polymorphismes ne sont pas indiqués à l'heure actuelle dans l'enquête étiologique d'un IC même lorsqu'aucune cause classique n'est retrouvée. Leurs rôles restent à l'avenir à élucider.



MOTS CLES - Infarctus cérébral, Protéine Z, Polymorphismes du gène de la protéine Z