



HAL
open science

Étude du polymorphisme du récepteur Toll-like 4 dans le syndrome des anti-phospholipides

Cécile Devloo

► **To cite this version:**

Cécile Devloo. Étude du polymorphisme du récepteur Toll-like 4 dans le syndrome des anti-phospholipides. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01665117

HAL Id: dumas-01665117

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01665117>

Submitted on 15 Dec 2017

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

THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

ANNEE : 2017

N°

Diplôme d'Etat

PAR

CECILE DEVLOO

Née le 27 avril 1987

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 09 OCTOBRE 2017

**Etude du polymorphisme du récepteur Toll-like 4 dans
le syndrome des anti-phospholipides**

PRESIDENT DE JURY

Professeur Hervé LEVESQUE

DIRECTEUR DE THESE

Professeur Ygal BENHAMOU

MEMBRES DU JURY

Docteur Fabien Lamoureux

Docteur Serge Jacquot

Docteur Véronique Lecam-Duchez

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

ANNEE : 2017

N°

Diplôme d'Etat

PAR

CECILE DEVLOO

Née le 27 avril 1987

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 09 OCTOBRE 2017

**Etude du polymorphisme du récepteur Toll-like 4 dans
le syndrome des anti-phospholipides**

PRESIDENT DE JURY

Professeur Hervé LEVESQUE

DIRECTEUR DE THESE

Professeur Ygal BENHAMOU

MEMBRES DU JURY

Docteur Fabien Lamoureux

Docteur Serge Jacquot

Docteur Véronique Lecam-Duchez

ANNEE UNIVERSITAIRE 2016 – 2017
U.F.R. DE MEDECINE ET DE-PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**
Professeur Benoit VEBER
Professeur Pascal JOLY
Professeur Stéphane MARRET

I - MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal BENHAMOU	HCN	Médecine interne
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mme Bouchra LAMIA	Havre	Pneumologie
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE (<i>détachement</i>)	HCN	Médecine interne (gériatrie) – Détachement
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Jean-Nicolas CORNU	HCN	Urologie
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Pierre CZERNICHOW (<i>surnombre</i>)	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition

Mr Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric DI FIORE	CB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
Mr Philippe DUCROTTE	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Michel GODIN (<i>sumombre</i>)	HB	Néphrologie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
Mr Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato - Vénérologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique

M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépatogastro-entérologie
M. Benoit MISSET	HCN	Réanimation Médicale
Mr Jean-François MUIR (<i>sumombre</i>)	HB	Pneumologie
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
Mr Philippe MUSETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace ROMAN	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépatogastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Christian THUILLEZ (<i>sumombre</i>)	HB	Pharmacologie
Mr Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
M. Gilles TOURNEL	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier TROST	HCN	Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive

Mr Jean-Pierre VANNIER (<i>surnombre</i>)	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	HB	Service Santé Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
Mr Jacques WEBER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Neurophysiologie
Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
Mr Thomas MOUREZ	HCN	Virologie
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia ROLLIN	HCN	Médecine du Travail
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr David WALLON	HCN	Neurologie

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mme Dominique LANIEZ	UFR	Anglais – retraite 01/10/2016
Mr Thierry WABLE	UFR	Communication

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
Mr Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE (Professeur émérite)	Toxicologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mme Isabelle LEROUX - NICOLLET	Physiologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Jérémy BELLIEN (MCU-PH)	Pharmacologie
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER (LE CLEZIO)	Statistiques
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mr Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie

Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Dominique DUTERTE- BOUCHER	Pharmacologie
Mr Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Nejla EL GHARBI-HAMZA	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
Mr Hervé HUE	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia LE GOFF	Parasitologie – Immunologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Marine MALLETER	Toxicologie
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mme Tiphaine ROGEZ-FLORENT	Chimie analytique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mr Jean-François HOUIVET	Pharmacie officinale

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
----------------------------	---------

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mme Sandrine DAHOT	Bactériologie
---------------------------	---------------

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mr Souleymane ABDOUL-AZIZE	Biochimie
Mme Hanane GASMI	Galénique
Mme Caroline LAUGEL	Chimie organique
Mr Romy RAZAKANDRAINIBE	Parasitologie

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Roland CAPRON	Biophysique
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX-NICOLLET	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Rémi VARIN	Pharmacie clinique
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR

Mr Jean-Loup **HERMIL** UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mr Emmanuel **HAZARD** UFR Médecine Générale

Mme Lucile **PELLERIN** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

Mme Marie Thérèse **THUEUX** UFR Médecine générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Serguei FETISSOV (med)	Physiologie (ADEN)
Mr Paul MULDER (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su RUAN (med)	Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil ADRIOUCH (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine CLEREN (med)	Neurosciences (Néovasc)
M. Sylvain FRAINEAU (phar)	Physiologie (Inserm U 1096)
Mme Pascaline GAILDRAT (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (med)	Chirurgie Expérimentale
Mme Rachel LETELLIER (med)	Physiologie
Mme Christine RONDANINO (med)	Physiologie de la reproduction
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Isabelle TOURNIER (med)	Biochimie (UMR 1079)

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 SJ - Saint Julien Rouen

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 leur auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Pr Levesque, qui me fait l'honneur de présider le jury de ma thèse. Merci pour votre enseignement, votre vision de la médecine interne associant médecine polyvalente et médecine interne spécialisée et votre sens clinique infaillible qui force l'admiration de tous.

Au Professeur Ygal Benhamou, qui m'a fait goûter à la médecine interne rouennaise en 1^{er} semestre, et qui a continué à me transmettre son expérience et son savoir pendant tout l'internat. Merci pour ton encadrement et ta disponibilité.

Au Docteur Fabien Lamoureux, dont la collaboration a permis la réalisation de ce travail. Merci pour ton aide précieuse et l'encadrement des manipulations techniques. Merci de m'avoir fait découvrir l'extraction d'ADN, la PCR, l'onglet « gene » sur pubmed et la database SNP.

Au Docteur Serge Jacquot, qui me fait le plaisir de juger ma thèse. Merci de m'avoir fait découvrir les merveilles de l'immunologie fondamentale en master 1, puis en stage au laboratoire d'immunologie.

Au Docteur Véronique Lecam-Duchez qui me fait l'honneur de juger ma thèse pour son expertise dans le domaine de l'hémostase. Merci de votre participation à l'inclusion des patients grâce notamment aux prélèvements de la DNAthèque du laboratoire d'hématologie.

Toute ma reconnaissance à Caroline Haubreux technicienne du laboratoire de pharmacogénétique, à Caroline Bulte technicienne de recherche clinique en médecine interne, et aux infirmières de consultation de médecine interne pour avoir activement participé à ce travail.

Merci à tous les patients et soignants qui ont croisé mon chemin pendant ce voyage que sont les études de médecine ; chacun m'a enrichi par son histoire personnelle.

Merci aux praticiens et assistants de médecine interne pour m'avoir accueilli au sein de leurs différentes unités et transmis chacun leurs pratiques et leurs compétences.

Merci au Pr Boyer de m'avoir accueillie au sein du laboratoire d'immunologie et m'avoir soutenue dans le projet de DESC d'immunologie. A Jeremy et mon initiation aux Prup, Cor, Ara. A Fabienne et mon apprentissage de la lecture d'ANCA et AAN en IFI qui m'ont donné

envie de reprendre ma chambre d'AAN. A Julie et Justine dont nos entrevues à la fée et les concerts seront à poursuivre.

Merci au Docteur Christian Richard et aux praticiens de l'hôpital de Vernon de m'accueillir et de m'accorder leur confiance, notamment Lamine mon futur confrère. Aux soignants de l'unité du 4A, 4B, 3A et des urgences de Vernon pour leur travail, compétences, motivation et investissement. Aux secrétaires du 4, les meilleures.

A tous mes anciens externes qui ont maintenant bien grandi.

A tous mes co-internes, ma véritable famille pendant l'internat. Au St Mac, qui nous a permis de partager toutes nos peines et nos joies.

A Marie-Ange, Anne-Céline et Marie avec qui j'ai découvert la médecine de la P1 à la D4.

Pensée toute particulière à Nico mon ex-voisin pour son accueil en Normandie, la bonne cuisine et les soirées jeux avec trou normand. A JBou qui a partagé mes premières émotions d'interne en 1^{er} semestre.

Une grosse pensée aux anciens et actuels internes en médecine interne. A notre Bento, notre modèle à tous ! A Elise, mon interne sénior alors que je faisais mes premiers pas en médecine interne.

A loulou, la co-interne douce comme une loutre, l'amie, la confidente, la péseuse de chat, la loueuse de sac à dos, la baby-sitter de tortue et j'en passe.

A mes co-internes de gériatrie qui ont rendu ce stage inoubliable. La prochaine soirée raclette annuelle est d'ailleurs à prévoir, hein Manu ? et pourquoi pas MacDal chez Thilbault cette année ? Et merci à Laurent, que j'ai toujours plaisir à revoir.

A Quentin, mon sudiste préféré. A Vincent, notre père. A Kladum passé maître dans l'art du camouflage, à Alexandre le brasseur préféré et aux ptits jeunes prometteurs. A Maxime pour son amour des bêtes et des chauves-souris bois-guillaumaises.

Spéciale dédicace aux rhumatologues chefs et internes, à Clarisse et Marine, et surtout à mon François adoré sans qui toutes ses soirées au St Mac aurait été bien fadasses.

Aux réanimateurs de LHBeach dont les qualités humanistes ont rendu ce stage de réa si enrichissant. La pratique drosophile si particulière à Marc restera graver.

A mes co-internes de réa, Thomas et sa célopurine qui ne fait pourtant pas pousser les muscles ni de 3^e membre, à Lucile la belle dulcinée reine des squats, à Prolapi juste d'être lui-même, à Pierrot ma princesse et Gwendo la gastro licornesque.

A Maud, sans qui la thèse ne se serait sans doute jamais achevée. Malgré son désir de la renommer « étude des télomérases », je la remercie infiniment. Je nous souhaite encore de bons moments d'amitié.

A mes dernières co-internes Vernonnaises pardi ! Elaine, Bérénice, Lucile et Sabine à qui je souhaite bonne continuation.

A mes parents, qui m'ont transmis leurs valeurs de travail et d'humilité. Merci pour leur amour et leur soutien.

A ma sœur, dont la vie m'a parfois éloignée. Merci de m'offrir avec Zak, le bonheur d'être la tata de merveilleux neveux et nièces.

A Jézabel et Jean-Michel, mes beaux-parents, dont le soutien, la gentillesse, les attentions m'ont toujours particulièrement touchée. A la toute la belle-famille qui me reçoit toujours à bras ouverts.

A Benjamin, mon alcoolyte d'amour qui a accepté de partager ma vie, mes joies, mes pleurs, mes surprises, mes craintes, mes émerveillements et toutes ces petites choses de la vie si riches en émotions. Hommage à notre chère titine qui nous conduit à travers les chemins de nos vies, que j'espère poursuivre à tes côtés. A notre fille d'eau, Martha, dont les mensurations sont notre fierté.

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac : Anticorps

aCL : Anti-cardiolipine

ADN : Acide desoxyribo nucléique

Ag : Antigène

AP-1 : Activator protein 1

aPL : Anti-phospholipides

ApoER2 : Apolipoprotein E receptor 2

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

AVK : Anti-vitamine K

β2Gp1 : Béta 2 glycoprotéine 1

C5 : Complement 5

CAPS : Syndrome catastrophique des anti-phospholipides

CCL6 : Chemokine (C-C motif) ligand 6

CD : Cluster de différenciation

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

DAMP : Danger associated molecular pattern

ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay

FT : Facteur tissulaire

HBPM : Héparine de bas poids moléculaire

IFN : Interféron

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

iNOS : Inducible nitric oxide synthase

IRAK : IL-1 receptor-associated kinase

IRF : Interferon regulatory factor

IRM : Imagerie par résonance magnétique

kDa : Kilodalton

KO : Knock-out

LA : lupus anticoagulant

LBP : LPS binding protein

LDL : Low density lipoprotein

LES : Lupus érythémateux systémique

LPS : Lipopolysaccharides

LTA : Acide lipotéchoïque

LRR : Leucine rich repeat

MAF : Fréquence allélique mineure

MAL : MyD88-adaptor like

MFIU : Mort foetale intra-utérine

miARN : micro-ARN

MyD88 : Myeloid differentiation primary response gene 88

NF- κ B : Nuclear factor-kappa B

NK : Natural killer

NLR : nucleotide-binding oligomerization domain receptor

NOD : nucleotide-binding oligomerization domain

p : Protein

PAMP : Pathogen associated molecular pattern

p38MAP kinase : p38 mitogen activated protein kinase

PNN : Polynucléaires neutrophiles

PRR : Pattern recognition receptor

RIP : Receptor-interacting protein

RLU : unite relative de lumière

RLR : Retinoic acide Inductible Gene-I-like RNA helicase

SA : Semaine d'aménorrhée

SAPL : Syndrome des anti-phospholipides

SARM : Sterile α and armadillo-motif-containing protein

siRNA : short interfering ARN

SNP : Single nucleotid polymorphism

TCA : Temps de céphaline activée

TCK : Temps de céphaline Kaolin

TFPI : Tissue factor pathway inhibitor

TIR : Toll – interleukin 1 receptor

TIRAP : TIR- containig adaptator protein

TLR : Toll-like receptor

TNF : Tumor necrosis factor

TRAF6 : TNF-receptor-associated factor 6

TRAM : TRIF related adaptor molecule

TRIF : Toll-interleukin 1 receptor domain containing adaptor inducing interferon β

UVB : Ultraviolet B

VCAM : Vascular cell adhesion molecule

VDRL : Veneral disease research laboratory

WT : Wild type

SOMMAIRE

I. RATIONNEL DE L'ETUDE	1
II. INTRODUCTION	3
1. SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES	3
1) Généralités	3
2) Critères diagnostiques.....	3
3) Expression clinique.....	4
4) Physiopathologie	7
a. Principaux mécanismes	7
b. Les anticorps anti-phospholipides	7
c. Les anticorps anti-cardiolipine	7
d. Les anticorps anti- β 2GPI.....	8
e. Les anticorps anti-prothrombine.....	9
f. Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine	9
g. Activation cellulaire	9
h. Dysfonction endothéliale.....	9
i. Trouble de l'hémostase	10
5) Evènements cliniques et anticorps anti-phospholipides	10
6) Prise en charge thérapeutique du SAPL.....	11
a. Prévention primaire	11
b. Prévention secondaire thrombotique	11
c. Prévention secondaire obstétricale	15
2. RECEPTEURS TOLL-LIKE	16
1) Généralités sur l'immunité innée.....	16
2) Définition et structure des TLR.....	16
3) Transduction du signal des TLR.....	18
4) Stimulation de l'immunité adaptative	20
5) Polymorphisme des TLR.....	21
6) TLR et maladies auto immunes.....	21
7) TLR4 et SAPL	22

III. PATIENTS ET METHODES	24
1. PATIENTS.....	24
1) <i>Données cliniques</i>	25
2) <i>Données biologiques</i>	25
2. TEMOINS.....	26
3. ETUDE DU POLYMORPHISME DU TLR4	26
1) <i>Extraction d'ADN</i>	26
2) <i>Identification des polymorphismes</i>	26
a) Polymorphismes rs4986790 et rs4986791 de TLR4.....	26
b) RT-PCR.....	27
3. ANALYSES STATISTIQUES	27
IV. RESULTATS.....	28
1. PATIENTS.....	28
1) <i>Inclusion</i>	28
2) <i>Données cliniques</i>	29
3) <i>Données biologiques</i>	30
2. TEMOINS.....	30
3. ETUDE DES POLYMORPHISMES RS4986790 ET RS498679 DU TLR4	31
1) <i>Déséquilibre de liaison complet pour les deux polymorphismes</i>	31
2) <i>Etude du polymorphisme du SNP rs4986790 du TLR4 chez les patients atteints de SAPL versus groupe témoin</i>	31
3) <i>Etude du polymorphisme rs4986790 du TLR4 des patients atteints de SAPL et des patients porteurs de « SAPL biologique »</i>	31
4) <i>Etude du polymorphisme du SNP rs4986790 du TLR4 selon le profil phénotypique des patients atteints de SAPL</i>	32
5) <i>Etude du polymorphisme du SNP rs4986790 du TLR4 chez les SAPL obstétricaux</i>	33
6) <i>Etude du polymorphisme du SNP rs4986790 du TLR4 chez les SAPL thrombotiques</i>	33
7) <i>Etude du polymorphisme du SNP rs4986790 du TLR4 et les profils biologiques des patients SAPL..</i>	34
V. DISCUSSION	35
VI. CONCLUSION	39

I. RATIONNEL DE L'ETUDE

Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune systémique définie par l'association de manifestations cliniques thrombotiques et/ou obstétricales récurrentes et la présence d'anticorps anti-phospholipides (aPL) persistants et à titre significatif (1).

La physiopathogénie est imprécise et probablement multifactorielle avec notamment l'interaction des aPL avec les cellules endothéliales induisant dans les vaisseaux sanguins un état pro-inflammatoire et pro-coagulant favorisant la thrombose (2).

La prise en charge thérapeutique a pour but de prévenir la survenue de thromboses. En l'absence de traitement, le risque de récurrence est important, et certaines atteintes peuvent menacer le pronostic vital. En prévention secondaire, l'anticoagulation doit être prolongée (3), à l'origine de contraintes pour le patient dont un risque hémorragique non négligeable.

La recherche de facteurs pronostiques ou prédictifs de thrombose est un enjeu essentiel dans le SAPL afin de pouvoir stratifier le risque thrombotique et proposer un traitement personnalisé. L'identification de tels facteurs nécessite une meilleure connaissance des mécanismes physiopathologiques à l'origine des complications de la maladie.

Les récepteurs Toll-like (TLR) sont des protéines transmembranaires qui interviennent dans l'immunité innée. Plusieurs études suggèrent que les TLR jouent un rôle important dans la pathogénèse des maladies auto-immunes (4), que l'on caractérise généralement par une rupture de tolérance à l'auto-antigène.

Des travaux ont également mis en évidence l'implication du TLR4 dans la régulation de la dysfonction endothéliale (5) (6).

L'absence de formation du complexe TLR avec les lipopolysaccharides (LPS) réduit l'activité thrombogène (7). Deux polymorphismes de TLR4, rs4986790(Asp299Gly) et rs4986791 (Thr399Ile), de type « single nucleotide polymorphism (SNP) », induisent une réponse diminuée au LPS chez l'homme (8), et pourraient jouer un rôle protecteur dans le SAPL.

Pierangeli et *al.* ont étudié ces deux polymorphismes de TLR4 chez 110 patients SAPL thrombotiques et 220 contrôles. Les résultats retrouvent une diminution des polymorphismes chez les patients SAPL par rapport aux contrôles, ce qui suggère un rôle protecteur de ces deux polymorphismes de TLR4 (7).

L'objectif principal de notre travail est d'étudier le polymorphisme du TLR4 au sein d'une cohorte de patients atteints d'un SAPL comparativement à un groupe témoin et de comparer les caractéristiques cliniques et les profils évolutifs des patients SAPL en fonction de leur polymorphisme du TLR4.

II. INTRODUCTION

1. Syndrome des anti-phospholipides

1) Généralités

Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune systémique définie par l'association de manifestations cliniques thrombotiques et/ou obstétricales récurrentes et la présence d'anticorps anti-phospholipides (aPL) persistants à plus de 12 semaines à titre significatif. La maladie peut être isolée (SAPL primaire) ou associée à une maladie auto-immune (SAPL secondaire). La présence isolée d'aPL en l'absence d'évènement thrombotique ou obstétrical ne permet pas de définir un SAPL. Nous le dénommerons dans notre travail le « SAPL biologique ». La prévalence du SAPL dans la population générale n'est pas connue. Les marqueurs biologiques anti-phospholipides sont retrouvés dans 20 % des cas d'accidents vasculaires cérébraux avant 50 ans et chez 24% des cas de thrombose veineuse. Les fausses couches répétées représentent 1% de la population générale, et des anti-phospholipides sont retrouvés dans 10 à 15% des bilans de fausses couches à répétition (2).

2) Critères diagnostiques

Les atteintes du SAPL ont été initialement décrites au cours du lupus érythémateux systématique. Puis en 1983, Hughes et Harris décrivent le syndrome des anti-cardiolipines, ou syndrome de Hughes, qui peut associer thromboses veineuses ou artérielles, fausses couches répétées, thrombopénie et évènements neurologiques en présence d'un anticoagulant lupique (9). Les critères préliminaires de classification du SAPL date de 1998 lors du 8^{ème} symposium international sur les anticorps aPL à Sapporo et repose sur l'association d'au moins un critère clinique (thromboses vasculaires et/ou les épisodes obstétricaux) et d'au moins un critère biologique (10). Ces critères diagnostiques ont été révisés au congrès international de Sydney en 2006 (1). La persistance des marqueurs biologiques a été portée à 12 semaines au lieu de 6 semaines afin d'en améliorer la spécificité. Les anticorps anti B2Gp1 ont été ajoutés aux critères biologiques avec l'anticoagulant circulant lupique (LA) et les anticorps anti-cardiolipine (aCL). Et seuls les taux d'aPL supérieurs à 40 unités GPL ou MPL ou au 99^e percentile seront pris en compte dans le diagnostic. Ces derniers critères diagnostiques sont présentés dans le tableau ci-dessous. **(Tableau 1)**

TABLEAU I. – CONSENSUS INTERNATIONAL SUR LA MISE À JOUR DES CRITÈRES SAPL (D'APRÈS MIYAKIS ET AL. J THROMB HAEMOSTASIS, 2006, 4 : 295-306).

Critères cliniques :

1. Thrombose vasculaire :

Au moins 1 épisode thrombotique artériel, veineux ou des petits vaisseaux, touchant tout tissu ou organe. La thrombose doit être confirmée par un critère objectif et validé (aspect typique à l'imagerie ou pour l'examen anatomopathologique, la thrombose doit être présente sans qu'il y ait présence d'une inflammation vasculaire sous-jacente)

2. Morbidité obstétricale :

- a) Survenue d'au moins une mort fœtale inexplicée, à la 10^e semaine d'aménorrhée ou après la 10^e semaine d'aménorrhée, avec morphologie fœtale normale documentée par une échographie ou par examen macroscopique
- b) Survenue d'au moins une naissance prématurée avant la 34^e semaine d'aménorrhée, d'un fœtus morphologiquement normal, en rapport avec la survenue d'une éclampsie ou d'une prééclampsie sévère, ou avec démonstration d'une insuffisance placentaire
- c) Survenue d'au moins 3 fausses couches consécutives et inexplicées avant la 10^e semaine d'aménorrhée, après exclusion d'une anomalie anatomique ou hormonale maternelle, et d'une anomalie chromosomique maternelle ou paternelle

Critères biologiques :

- 1. Lupus anticoagulant présent à au moins 2 reprises, à 12 semaines d'intervalle, détection selon les recommandations de l'ISTH
- 2. Anticorps anticardiolipines (IgG et/ou IgM) présents à au moins deux reprises, à un titre intermédiaire ou élevé (> 40 UGPL ou MPL, ou > 99^e percentile), mesuré par une technique ELISA standardisée
- 3. Anticorps anti-beta2GPI (IgG ou IgM) présents à un titre > au 99^e percentile, à au moins 2 reprises, à 12 semaines d'intervalle selon une technique ELISA standardisée

Les critères de SAPL sont remplis si au moins un critère clinique et un critère biologique sont présents

Tableau 1 : Critères diagnostiques de SAPL, selon Miyakis et *al.* (1)

3) *Expression clinique*

Les lésions thrombotiques vasculaires du SAPL touchent tous les territoires vasculaires et surviennent principalement sur une paroi vasculaire saine sans inflammation (11) (12). (Tableau 2)

TABLE 5. CLINICAL MANIFESTATIONS OF THE ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME.

ORGAN SYSTEM	PRIMARY PATHOGENIC PROCESS*	
	THROMBOEMBOLISM OF LARGE VESSELS†	THROMBOTIC MICROANGIOPATHY
Arterial	Thrombosis of the aorta or axillary, carotid, hepatic, iliofemoral, mesenteric, pancreatic, popliteal, splenic, or subclavian artery	
Cardiac	Angina, myocardial infarction, cardiac valvular vegetations, valvular abnormalities, intracardiac thrombi, nonbacterial thrombotic (Libman-Sacks) endocarditis, peripheral embolization, or atherosclerosis	Myocardial infarction, myocardial microthrombi, myocarditis, or valvular abnormalities
Cutaneous	Superficial thrombophlebitis, splinter hemorrhages, leg ulcers, distal cutaneous ischemia, infarcts of the skin, blue toe syndrome, or acrocyanosis	Livedo reticularis, superficial gangrene, purpura, ecchymoses, or subcutaneous nodules
Endocrine or reproductive	Adrenal infarction, adrenal failure, testicular infarction, prostate infarction, necrosis of the pituitary gland, or pituitary failure	
Gastrointestinal	Budd-Chiari syndrome, hepatic infarction, intestinal infarction, splenic infarction, esophageal perforation, ischemic colitis, infarction of the gall bladder not attributable to gallstones, pancreatitis, or ascites	Intestinal, hepatic, pancreatic, and splenic infarctions or gangrene
Hematologic	Thrombocytopenia, hemolytic anemia, or hemolytic-uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura	Disseminated intravascular coagulation (catastrophic antiphospholipid syndrome only)
Miscellaneous	Perforation of the nasal septum or avascular necrosis of bone	
Neurologic	Transient ischemic attack, cerebrovascular accident (thrombotic or embolic), chorea, seizures, multi-infarct dementia, transverse myelitis, encephalopathy, migraines, pseudotumor cerebri, cerebral venous thrombosis, mononeuritis multiplex, or amaurosis fugax	Microthrombi or microinfarctions
Obstetrical	Pregnancy loss, intrauterine growth retardation, HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and a low platelet count in association with preeclampsia), oligohydramnios, uteroplacental insufficiency, or preeclampsia	
Ophthalmologic	Thrombosis of the retinal artery, thrombosis of the retinal vein, or amaurosis fugax	Retinitis
Pulmonary	Pulmonary emboli, pulmonary hypertension, pulmonary arterial thrombosis, or alveolar hemorrhage	Acute respiratory distress syndrome or alveolar hemorrhage
Renal	Thrombosis of the renal vein, thrombosis of the renal artery, renal infarction, hypertension, acute renal failure, chronic renal failure, proteinuria, hematuria, or the nephrotic syndrome	Acute renal failure (often requiring dialysis), thrombotic microangiopathy, or hypertension
Venous	Deep venous thrombosis of the legs or thrombosis of the adrenal, hepatic, mesenteric, portal, or splenic vein or of the inferior vena cava	

*Many of the clinical manifestations of the antiphospholipid syndrome listed in this table can occur as a result of thromboembolism of large vessels, thrombotic microangiopathy, or both. For convenience, these are listed as manifestations of thromboembolism of large vessels. Only manifestations that are seen exclusively with thrombotic microangiopathy or that constitute a major feature of this syndrome are listed under thrombotic microangiopathy.

†Manifestations of the antiphospholipid syndrome whose pathogenic origin is uncertain (e.g., thrombocytopenia) are also listed as manifestations of thromboembolism of large vessels.

Tableau 2 : Principales manifestations cliniques du SAPL, selon Levine et al. (12)

Le projet Euro phospholipid, a permis la création d'un registre international prospectif avec l'inclusion et le suivi de 1000 patients, et a permis de recueillir des données épidémiologiques et cliniques robustes. (13) (14). L'analyse mettait en évidence une prépondérance du SAPL chez les femmes, surtout dans sa forme associée au lupus érythémateux systémique (8 femmes/1 homme) comparativement au SAPL primaire (3,5 femmes/1 homme). Il était noté 53% de formes primaires et 36% des SAPL était associés au lupus. La moyenne d'âge du diagnostic du SAPL était de 42 +/- 14 ans.

Au cours du suivi à 5 ans et à 10 ans, les taux de récurrences thrombotiques étaient respectivement de 16.6 % à 5 ans et de 15.3 % à 10 ans. La mortalité à 10 ans était de 9,7 % principalement sur récurrence thrombotique (36,5% des cas).

Les manifestations cliniques initiales étaient majoritairement des thromboses veineuses dans 53 % des cas, des thromboses artérielles dans plus de 35 % des cas, dont 19,8% d'accident

vasculaire cérébral et 11 % d'accidents transitoires. Un livedo *reticularis* était décrit dans 24 % des cas au diagnostic.

Les SAPL obstétricaux étaient constitués à l'inclusion de fausses couches précoces (<10 semaines d'aménorrhée) dans 35 % des cas, de fausses couches tardives (>10 semaines d'aménorrhée) dans 17 % des cas et de vasculopathie placentaire dans 5,2 % des cas. Au cours du suivi, la principale complication obstétricale observée était la survenue d'une fausse couche précoce dans 16,5 % des grossesses, 48,2% de prématurité et 26% de retard de croissance intra-utérin.

Une forme particulière et fort heureusement rarissime de SAPL dénommée CAPS pour syndrome catastrophique des anti-phospholipides (CAPS) doit être individualisée tant par sa définition mais surtout par son pronostic et sa prise en charge spécifique. (15) Le CAPS représente environ 1% des SAPL. Il peut être révélateur du SAPL dans 50% des cas. Il se définit par l'apparition, en moins d'une semaine, de thromboses multiples atteignant essentiellement la microcirculation, responsable d'un tableau de défaillance multiviscérale, en présence d'anticorps anti-phospholipides. Sa confirmation est anatomopathologique avec la mise en évidence de thrombose micro-vasculaire au sein d'un organe ou tissu. Des atteintes macro-vasculaires avec thromboses artérielles ou veineuses peuvent s'y associer. (16) (17)

Le CAPS met en jeu le pronostic vital. La mortalité à court terme est actuellement inférieure à 30 %. Les facteurs qui favorisent la survenue du CAPS sont les infections, le geste chirurgical et/ou l'arrêt transitoire ou une modification de l'anticoagulation. (18)

La création d'un registre CAPS en 2016 a permis de colliger 500 patients (69% de femmes, 38 ans en moyenne d'âge) qui ont présenté au total 522 épisodes de CAPS. (19) Une maladie auto-immune était associée dans 40% des cas, dont 75% de lupus. Cliniquement, l'atteinte rénale représentait 75% des cas, l'atteinte pulmonaire 60%, l'atteinte cérébrale 56%, l'atteinte cardiaque 50% et cutanée 47% des cas. Les anticorps anti-phospholipides retrouvés par ordre croissant étaient le lupus anticoagulant circulant (83%), l'IgG anti-cardiolipine (81%) et l'anti- β 2-glycoprotéine1 (78%).

4) *Physiopathologie*

a. Principaux mécanismes

La physiopathologie du SAPL est multifactorielle. Le processus repose essentiellement sur l'interaction des anticorps anti-phospholipides avec diverses cibles antigéniques qui induit principalement une dysfonction endothéliale avec un état pro-inflammatoire et pro-coagulant au sein des vaisseaux. (2)

Les principaux mécanismes thrombotiques reposent sur la perturbation des composants de l'anticoagulation, avec les facteurs de la coagulation, l'activité de la protéine C, l'annexine V, et l'inhibition de la fibrinolyse. Ils dépendent également de l'activation des cellules endothéliales, des plaquettes, des monocytes circulants, ainsi que de l'activation du complément. Les mécanismes des pertes fœtales reposent quant à eux, sur les thromboses du tissu placentaire, l'apoptose des cellules placentaires et embryonnaires, l'induction d'un phénotype inflammatoire, et l'inhibition de la différenciation syncytium-trophoblaste. (20)

b. Les anticorps anti-phospholipides

Les phospholipides, répartis en bi-couche, constituent la membrane plasmique cellulaire. Les anticorps anti-phospholipides sont des auto-anticorps dirigés contre les phospholipides, contre des protéines plasmatiques se liant aux phospholipides ou dirigés contre certains complexes protéines-phospholipides. Ils ne sont pas directement pathogènes et agissent *via* des cibles protéiques et co-facteurs. La β 2GPI est la principale cible antigénique. On peut également citer d'autres cibles comme la prothrombine, la protéine S, la protéine C, la thrombine et l'annexine V. Des anticorps dirigés contre le plasminogène, la plasmine ou l'activateur tissulaire du plasminogène ont été également décrits. (21)

c. Les anticorps anti-cardiolipine

Les anticorps anti-cardiolipine reconnaissent des phospholipides anioniques, dont principalement la cardiolipine, notamment dans sa forme oxydée, mais aussi le phosphatidylglycérol, phosphatidylinositol et phosphatidylsérine. Il existe des anti-cardiolipines dont la réactivité est dépendante de la présence d'un cofacteur, et d'autres non dépendants. Au cours du SAPL, il s'agit essentiellement d'anti-cardiolipine « dépendant » d'un cofacteur, dont le principal est la protéine plasmatique β 2GPI (22).

d. Les anticorps anti- β 2GPI

La β 2GPI présente une forte affinité pour les molécules chargées négativement. Lorsque la β 2GPI circulante se fixe sur les phospholipides anioniques, elle change de conformation et passe d'une forme circulaire à une forme ouverte qui permet à la partie Fab des anticorps anti- β 2GPI de se fixer. La fixation des anticorps anti- β 2GPI au complexe β 2GPI-phospholipides, *via* l'annexine A2 présente sur les cellules endothéliales et les monocytes, est à l'origine d'une dimérisation de la protéine (23) (20). La liaison de la β 2GPI à l'annexine A2 (24) permet aux anticorps anti- β 2GPI d'activer les cellules endothéliales.

La β 2GPI dimérisée est reconnue par différentes structures des récepteurs LDL, responsables de l'activation des cellules endothéliales (25) (26). L'ApoER2, récepteur appartenant à la famille des LDL, est exprimé au niveau des cellules endothéliales et des plaquettes et peut ainsi être la cible des complexes anti- β 2GPI/ β 2GPI et induire une activation cellulaire des plaquettes et des cellules endothéliales (25).

Des analogies de structure entre la β 2GPI et certains agents microbiens, permettent l'interaction entre les TLR et les anticorps anti- β 2GPI à l'origine d'une activation de l'endothélium. Les TLR2 et TLR4 ont été particulièrement étudiés dans l'activation des cellules endothéliales. (27) (28) (29)

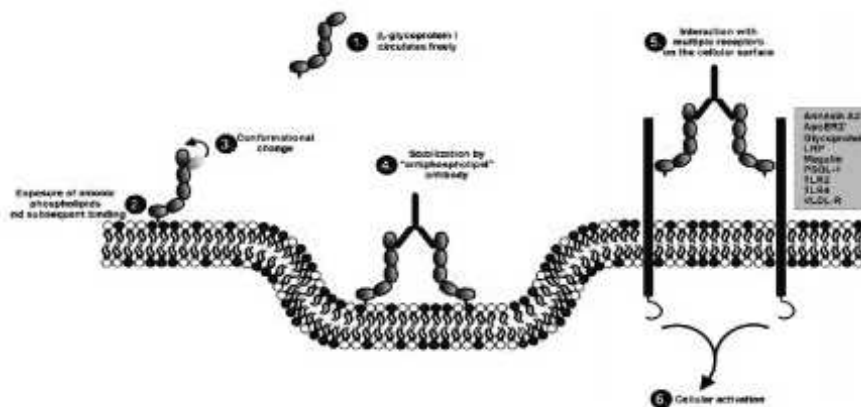


Figure 1 Chain of events in cellular activation by anti- β ₂-glycoprotein I antibodies. 1. β ₂-Glycoprotein I circulates freely in its native conformation. 2. Upon surface exposure of anionic phospholipids, β ₂-glycoprotein I binds and 3. undergoes a conformational change, exposing a cryptic epitope. 4. Anti- β ₂-glycoprotein I antibodies are now able to bind β ₂-glycoprotein I at a region surrounding arginine 43 on domain I, resulting in dimerization and stabilization of its conformation. 5. The antibody- β ₂-glycoprotein I complex is then able to interact with several cellular receptors. 6. Interaction of the complex with these receptors results in cellular activation.

Figure 1 : Représentation séquentielle des différentes étapes aboutissant à l'activation intracellulaire *via* les anticorps, selon Urbanus et *al.* (30)

e. Les anticorps anti-prothrombine

Les anticorps anti-prothrombine augmentent l'affinité de la prothrombine (facteur II) pour les phospholipides anioniques. Le complexe anti-prothrombine – thrombine inhibe la fixation des facteurs de la coagulation, perturbe la formation du complexe pro-thrombinase et modifie l'action de la protéine C activée (31).

f. Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine

Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine fixent la phosphatidyléthanolamine (PE) qui est un phospholipide neutre. Ces anticorps peuvent être recherchés et identifiés chez des patients à la symptomatologie de SAPL sans anticorps standards retrouvés. Les isotypes IgG sont dépendants de cofacteurs protéiques comme les kininogènes (32).

g. Activation cellulaire

Les mécanismes d'activation des cellules endothéliales ne sont pas encore clairement établis. Les aPL permettent une translocation nucléaire de NF- κ B (33) et une activation de la p38MAP kinase (34). Des protéines de signalisation intracellulaires telles que MyD88 et TRAF6 sont également impliquées (35). Les cellules endothéliales activées secrètent davantage de molécules d'adhésion à leur surface et augmentent le facteur tissulaire. Les monocytes activés participent à l'augmentation de production du facteur tissulaire. Les plaquettes activées expriment davantage β 2GPI, augmentent la production de thromboxane A2 et participent à l'activation du complément. (2)

h. Dysfonction endothéliale

La dysfonction endothéliale est caractérisée par un phénotype pro-adhésif avec l'augmentation d'expression de molécules d'adhésions telles que VCAM-1 et la sélectine-E (36) (37). Il a été mis en évidence un phénotype pro-coagulant *via* la surexpression du facteur tissulaire et la modulation du système protéine C et S (38) (34). La sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et de chémokines participe à un phénotype pro-inflammatoire avec augmentation des taux d'IL6, d'IL1 et du TNF α (39).

Ces travaux ont permis de comprendre que l'activation endothéliale est à l'origine de l'adhésion et de l'activation des plaquettes et des monocytes responsables d'un état d'hypercoagulabilité.

i. Trouble de l'hémostase

Le complexe anticorps anti- β 2GPI-phospholipides perturbe également l'activité des inhibiteurs physiologiques de la coagulation. La β 2GPI dimérisée en présence de son anticorps multiplie par 100 son affinité pour les phospholipides anioniques et empêche par inhibition compétitive l'annexine V de jouer son rôle dans la coagulation. Or, l'annexine V rend moins accessibles les phospholipides anioniques à la surface des cellules, ce qui permet de limiter physiologiquement l'action des facteurs de coagulation. (40).

En présence du complexe anticorps anti β 2GPI- β 2GPI fixé sur l'annexine II des cellules endothéliales, le plasminogène n'est plus capable de s'activer en plasmine, ce qui inhibe la fibrinolyse, l'une des étapes essentielles de la coagulation (41).

On rapporte également, chez les patients SAPL, une diminution de l'inhibiteur du facteur tissulaire (TFPI), dont le rôle physiologique est de réguler la génération de thrombine *via* le complexe Facteur tissulaire-facteur VII activé (42).

5) *Evènements cliniques et anticorps anti-phospholipides*

La présence d'anticoagulant circulant est associée au risque le plus thrombogène (OR 4,1 à 16,2 en fonction des études), suivi de l'anti-cardiolipine persistant à taux moyens ou élevés (OR de 2,6 à 3,2 en fonction des études). (43) (44) (45) (46) (47)

L'association anticoagulant circulant, anti-cardiolipine et anti-B2Gp1, qui définit la triple positivité, est également associée à un risque thrombotique et cardiovasculaire plus élevé (55) (48).

Les anti-cardiolipine persistants à taux moyens ou élevés, c'est à dire supérieur à 40 U ou supérieur au 99^e percentile, sont particulièrement associés au risque thrombotique (49). L'isotype IgG présente un risque de thrombose plus élevé que l'isotype IgM (12).

Les anti-PE semblent présenter un intérêt en cas de « SAPL séronégatif » (32). Rodriguez-Garcia JL *et al*, proposaient de définir le « SAPL » séronégatif sur la présence d'un critère clinique majeur de SAPL, et au moins deux critères mineurs parmi : livedo *reticularis*, phénomène de Raynaud, migraines, troubles cognitifs, chorée, autre manifestation neurologique, présence d'anomalies de la substance blanche à l'IRM, valvulopathie mitrale ou aortique, des antécédents d'au moins 2 fausses couches spontanées avant 10 SA ou un taux de

plaquettes inférieur à 100 000/mm³ (50). Le manque de standardisation limite l'usage des anti-PE et des études prospectives restent nécessaires pour analyser le risque thrombotique et obstétrical avec anti-PE comparés aux patients SAPL.

Les manifestations obstétricales ont également été étudiées. Les anticorps anti-phospholipides augmentent le risque de pré-éclampsie (RR 9,7 versus 5,9 sans Apl (51)) (OR à 2,9 dans une autre étude (52)) . L'anticoagulant circulant est associé significativement aux fausses couches spontanées tardives (OR 7,8), ainsi que l'anti-cardiolipine (OR 3,6) (53). La triple positivité est aussi associée aux pertes fœtales (OR 4,1) (54).

6) *Prise en charge thérapeutique du SAPL*

a. Prévention primaire

Les recommandations de 2011 recommandent une thromboprophylaxie en prévention primaire des situations à risque comme l'immobilisation, la chirurgie, et la grossesse (55).

En présence d'anticorps anti-phospholipides sans expression clinique, les études sont peu nombreuses et n'ont pas mis en évidence de rôle protecteur significatif d'un traitement systématique par aspirine, même si une tendance existe (44) (56) (57).

En cas de lupus associé à des anticoagulants circulants et/ou des anticorps anti-cardiolipine persistants à taux significatifs, sans expression clinique de SAPL, les études sont en faveur d'un traitement préventif par aspirine (57) (58) (59) (60), après évaluation des facteurs de risques cardiovasculaires et du risque hémorragique. L'action anti thrombotique de l'hydroxychloroquine a été rapportée chez des patients lupiques, mais aucun essai randomisé n'a prouvé son effet anti thrombotique et hypocholestérolémiant (61) (62).

b. Prévention secondaire thrombotique

La prise en charge thérapeutique a pour but de prévenir les thromboses. En l'absence de traitement, le risque de récurrence est important, certaines atteintes pouvant menacer le pronostic vital. Le traitement des manifestations thrombotiques du SAPL repose sur l'utilisation d'un traitement anticoagulant au long cours de type anti-vitamine K (AVK).

Intensité de l'anticoagulation

La cible de l'INR recommandée actuellement est comprise entre 2 et 3. Antérieurement, l'objectif de l'INR était supérieur à 3 dans les formes artérielles, comme le préconisait les premières études (63) (3). Des études plus récentes n'ont pas montré de différence d'efficacité dans la prévention de la récurrence thrombotique, entre l'objectif d'INR conventionnel compris entre 2 et 3, et l'objectif d'INR « forte intensité » avec un INR compris entre 3 et 4 (64) (65). Cependant, la méta-analyse de Ruiz-Irastorza et *al*, oriente vers une stratification de l'intensité du traitement anticoagulant en fonction du caractère veineux ou artériel du premier épisode thrombotique (66). Les patients atteints de SAPL thrombotique veineux présentaient une meilleure protection contre les récurrences avec un INR cible compris entre 2 et 3. En revanche, les patients avec un SAPL thrombotique artériel étaient à risque accru de récurrence sous anticoagulation avec un INR cible compris entre 2 et 3.

Durée de l'anticoagulation

En prévention secondaire, l'anticoagulation doit être prolongée, l'arrêt de celle-ci représente un risque majeur de récurrence (53% à 70% de récurrence à l'arrêt), notamment les six premiers mois suivant l'arrêt de l'anticoagulation. (63) (3) (55).

Des études chez des patients avec antécédents thromboembolique et des aCL positifs en IgG ou un LA, qui arrêtaient l'anticoagulation à 6 mois pour les aCL et à 3mois pour le LA, avaient un risque de rechute thrombotique supérieur comparativement aux patients sans marqueurs biologiques (47) (67).

Même sous traitement anticoagulant, la récurrence thrombotique existe. Au sein de la cohorte Euro-phospholipid, le taux de récurrence entre les cinq premières années de traitement et les cinq années suivantes était de l'ordre de 15% à 16% (14).

Stratification du risque thrombotique

Les facteurs de risque de cardiovasculaire font partie des facteurs de risque thrombotique (30). Les recommandations de 2011 préconisent le contrôle strict des facteurs de risque cardiovasculaire (55). Une étude a mis en évidence qu'un traitement par rosuvastatine réduirait le risque thromboembolique chez les sujets sains de plus de 50 ans chez l'homme, et plus de 60 ans chez la femme (68). Il n'existe cependant pas d'essai de grande ampleur qui analyse l'intérêt de ces molécules dans le SAPL.

La recherche de facteur de risque transitoire est indispensable.

Le profil biologique du SAPL peut être classé en haut et faible risques. Cette classification a été validée en prévention primaire, mais il paraît logique de l'utiliser également pour la prévention secondaire (69). L'isotypie des anticorps bien qu'étudiée à de nombreuses reprises dans des méta-analyses (70) ne semble pas être à prendre en compte en prévention secondaire. Le profil biologique à risque élevé est représenté par la présence d'un anticoagulant circulant de type LA, l'association de plusieurs aPL (LA + aCL + anti-β2GPI) ou des titres persistants d'aPL à un taux moyen ou élevé. Le risque est considéré faible en cas de titres intermittents et isolés d'aCL ou d'anti-β2GPI à un taux faible ou moyen.

Il est intéressant de connaître s'il existe une association au lupus érythémateux systémique, (71), la nature de l'épisode thrombotique initial, (embolie pulmonaire, thrombose proximale, thrombose distale) et le nombre d'événements (premier épisode ou récurrence), bien qu'aucune étude spécifique au SAPL n'ait été menée sur ces facteurs.

La prise en compte de ces éléments est indispensable dans la discussion de la balance bénéfico-risque d'un arrêt du traitement anticoagulant dans certaines situations.

Traitement des formes thrombotiques récurrentes sous anticoagulant

Il n'existe pas de recommandations sur la prise en charge des événements thrombotiques récurrents malgré un traitement anticoagulant bien mené.

Une revue systématique de la littérature a montré que la plupart des patients traités par warfarine qui ont eu une récurrence de thrombose avaient un INR <3,0 au moment de l'événement. En revanche, le taux de récurrence thrombotique était faible chez les patients anticoagulés avec un INR cible entre 3 et 4 (66). Il est donc nécessaire de garantir un INR dans la cible en favorisant l'éducation thérapeutique et en augmentant la fréquence de contrôles.

Si le patient présente une récurrence thrombotique avec un INR dans les objectifs, une intensité de l'anticoagulation paraît souhaitable avec INR cible > 3.0. Il peut être proposé de passer de l'anticoagulation orale à un traitement par HBPM au long cours. L'association d'aspirine ou d'hydroxychloroquine est également possible sans aucune preuve scientifique solide (72). L'utilisation du rituximab a été rapportée chez quelques patients SAPL primaire afin de diminuer le titre des anticorps avec des réponses variables (73) (74).

Place des anticoagulants oraux directs (AOD)

L'étude RAPS est une étude randomisée prospective de phase II/III, chez des patients SAPL veineux primaire ou secondaire, qui compare l'intensité de l'anticoagulation sous rivaroxaban versus warfarine. Le critère de jugement principal biologique et non clinique, repose sur la mesure de génération de thrombine à la randomisation et à J42. Sous rivaroxaban (54 patients), il est observé une augmentation du potentiel endogène de thrombine, de manière significative ($p < 0,001$) versus warfarine (56 patients) au 42^e jour de l'étude. Concernant le critère de jugement secondaire clinique, il n'a pas été observé d'évènement thrombotique dans les 2 groupes, mais la durée de suivi était de 6 mois uniquement (75). Ces résultats imposent la prudence quant à l'utilisation du rivaroxaban en première intention dans le SAPL veineux.

L'étude TRAPS en cours, est une étude de phase III, prospective, multicentrique, randomisée en ouvert qui a pour but de démontrer la non-infériorité du rivaroxaban 20mg par rapport à la warfarine dans le SAPL thrombotique avec triple positivité uniquement, basée sur des critères de jugement clinique (76).

L'étude AstroAPS, est un essai randomisé, prospectif en ouvert, qui étudie warfarine versus apixaban 2,5mg 2 fois par jour, dans la prévention secondaire de la thrombose chez les patients SAPL. (77).

Traitements de seconde ligne: Corticothérapie, échanges plasmatiques, immunoglobulines intraveineuses et anticorps monoclonaux

L'utilisation d'un traitement immunosuppresseur et des échanges plasmatiques, associée au traitement anticoagulant, améliore significativement ($p < 0,001$) la survie des CAPS (survie 78%), comparativement au traitement anticoagulant seul (survie 69%) (78) (16). La corticothérapie est recommandée dans le CAPS en association au traitement anticoagulant. Les échanges plasmatiques ou les IgIV se discutent en fonction de l'état hémodynamique, de la fonction cardiaque, de la fonction rénale, du taux de plaquettes, de la présence de schizocytes. Le cyclophosphamide est utilisé en cas de lupus actif associé (18).

Un essai portant sur cinq patients porteurs de SAPL récidivant, a étudié l'usage d'immunoglobulines. Sur un suivi de plus de 5ans, les patients n'ont pas présenté de récurrence (79). A cette étude, s'y associe plusieurs autres case-report. Mais l'usage des immunoglobulines est limité en raison de leur disponibilité et de leur coût, et n'est pas recommandé systématiquement dans le SAPL et doit être discuté au cas par cas.

Le rituximab, anticorps monoclonal anti-CD20, a été étudié dans l'essai RITAPS, et a montré un bénéfice dans certaines atteintes non thrombotiques du SAPL comme la thrombopénie, l'ulcère cutané et l'atteinte neurologique cognitive (73). Le RITUXIMAB a également été utilisé lors de CAPS réfractaire ou récidivant avec une efficacité rapportée chez 20 patients du registre international des CAPS (80).

L'usage de l'eculizumab, anticorps monoclonal anti fraction C5 du complément, a été rapporté dans des case-reports en cas de micro-angiopathie thrombotique lors de CAPS réfractaires (81) (82) (83) (84).

c. Prévention secondaire obstétricale

Le SAPL est l'une des causes les plus fréquentes de fausses couches répétées. Un dépistage précoce des femmes à risque peut leur permettre d'augmenter leurs chances de mener une grossesse ultérieure à terme et limiter les complications obstétricales.

Lors de la grossesse, en cas d'antécédent de SAPL artériel ou veineux, l'anticoagulation par AVK est remplacée par une HBPM à dose hypocoagulante.

En cas d'antécédent de SAPL obstétrical sans manifestation thrombotique, il est recommandé d'associer ASPIRINE et HBPM à dose hypocoagulante. Il n'a cependant pas été démontré de différence entre HBPM à dose isocoagulante ou hypocoagulante dans cette indication. (85) (86)

2. Récepteurs Toll-Like

1) Généralités sur l'immunité innée

L'immunité repose sur les réponses immunitaires innées et adaptatives. L'immunité innée est caractérisée par une réponse moins spécifique mais plus rapide et transitoire. Les principaux acteurs de l'immunité innée sont les macrophages, les cellules NK, les cellules dendritiques, les polynucléaires neutrophiles, les cellules épithéliales et les protéines du complément. Sur ces cellules se trouvent les récepteurs « pattern recognition receptors » (PRR). Les PRR reconnaissent des motifs moléculaires conservés communs à des groupes de pathogènes, ce sont les « pathogen associated molecular pattern » (PAMP). Parmi les PRR, on retrouve les « toll-like receptors » (TLR), les « nucleotide-binding oligomerization domain NOD » (NLR), les « Retinoic acide inductible gene-I-like RNA helicase » (RLR) et les lectines. Les PRR activent les cellules qui produisent des cytokines pro-inflammatoires, des chimiokines ou des molécules de co-stimulation, participant à la réponse inflammatoire. Cela augmente la capacité des cellules présentatrices d'antigènes, favorise le recrutement d'autres cellules de l'immunité innée et permet une réponse locale, avec les cellules NK *via* leurs perforines, les polynucléaires neutrophiles *via* leur réaction oxydative et les macrophages *via* leur phagocytose des PNN apoptotiques et leur production de cytokines.

2) Définition et structure des TLR

Les TLR sont des récepteurs cellulaires communs chez tous les mammifères, découverts initialement chez la drosophile. En 1988, des chercheurs ont mis en évidence une protéine Toll dont l'absence était responsable d'anomalies du développement embryonnaire de *Drosophila melanogaster* (87). En 1996, des travaux décrivent des drosophiles déficientes en Toll, par mutations du gène codant Toll, qui ne survivent pas et meurent d'infection fongique (88). C'est ainsi que les travaux se succédèrent pour chercher l'équivalent de telles protéines chez l'homme et leur rôle dans l'immunité (89).

Sur le plan structural, les TLR sont des récepteurs transmembranaires organisés en trois domaines ; un domaine N-terminal extracellulaire, un domaine transmembranaire et un domaine C-terminal. Le domaine extracellulaire est constitué de copies de motifs riches en leucine « leucine rich repeat » (LRR) permettant la reconnaissance du pathogène et l'initiation de la signalisation. Le domaine C-terminal est cytoplasmique et comprend une séquence « Toll-IL1 receptor » (TIR), qui présente des analogies avec le récepteur de l'IL1, responsable de la transduction du signal.

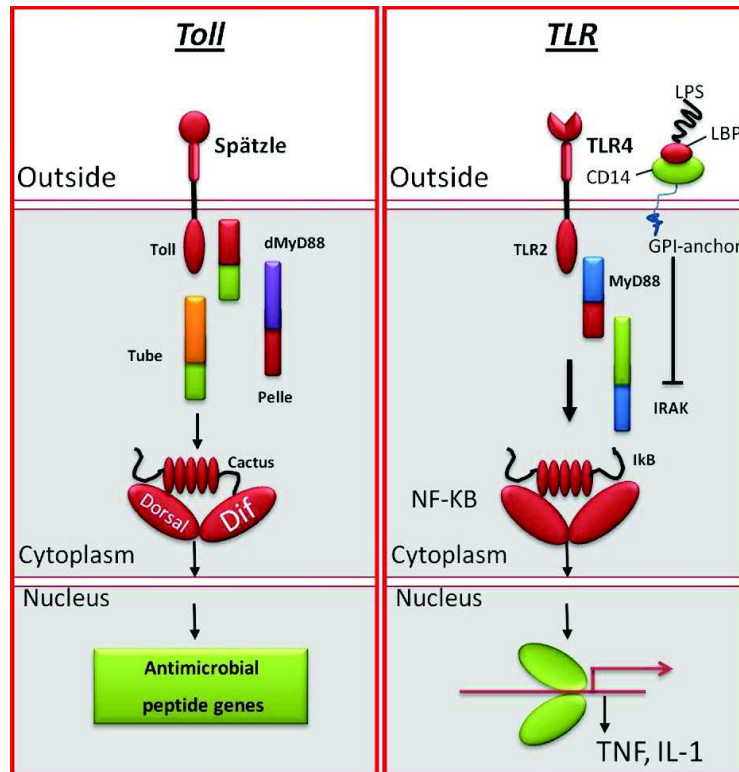


Figure 2 : Analogies structurelles des protéines Toll et des TLR, selon Abdelsadik et *al.* (90)

Chez l'homme, treize récepteurs TLR sont désormais décrits (91).

Les TLR sont présents sur les cellules de l'immunité innée comme les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules natural killer (NK), les lymphocytes B ; et des cellules non immunes comme les fibroblastes, les synoviocytes, les kératinocytes, et les cellules épithéliales des systèmes digestif, respiratoire et urogénital.

Les TLR sont des protéines transmembranaires avec des localisations différentes en fonction du compartiment cellulaire dans lequel se trouvent les pathogènes reconnus. Les TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10 et TLR11 sont identifiés sur la membrane cellulaire et les TLR3, TLR7, TLR8 et TLR9 sont exprimés sur la membrane endosomale.

Les TLR font partie de la famille des PRR et reconnaissent différents type de PAMP, qui sont des ligands naturels exogènes. Les principaux ligands sont résumés dans le tableau ci-dessous. **(Tableau 3)**

Ligands exogènes et endogènes des TLR

TLR	PAMP	DAMPS
TLR1	Lipopeptides des mycobactéries	β -défensines humaines (hBD)
TLR2	Lipoprotéines des bactéries Peptidoglycane des bactéries Gram positif acide lipotéichoïque (LTA) des streptocoques B Porines des <i>Neisseria</i> Lipoarabinomannane des mycobactéries Zymozan des <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Phospholipomannane des <i>Candida albicans</i> Glucuronoxylomannane des <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>mutin-type transmembran glycoprotein</i> (tGPI-mutin) des trypanosomes	Protéines du choc thermique (HSP) HMGB1
TLR3	<i>polyinosinic-polycytidylic acid</i> (poly IC)	ARNm, HSP, HMGB1, fragments de hyaluronane
TLR4	Lipopolysaccharides (LPS) bactériens (bactéries Gram négatif) Mannanes des champignons Glycoinositolphospholipides des parasites Protéines de l'enveloppe des virus	HMGB1 Fibrinectine Surfactant A Lipoprotéines
TLR5	Flagelline des bactéries flagellées	
TLR6	Lipoprotéines des mycoplasmes LTA des streptocoques B Zymozan des <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Protéines du choc thermique (HSP) HMGB1
TLR7 et TLR8	ARN simple brin des virus à ARN	ARN simple brin
TLR9	<i>cytosine-phosphate-guanine</i> (CpG) ADN des bactéries Hémozoïne du plasmodium l'ADN des virus	ADN
TLR10	Inconnu	Inconnu
TLR11	Bactéries à tropisme urologique <i>profilin-like</i> de <i>Toxoplasma gondii</i>	

Tableau 3 : Ligands exogènes et endogènes des TLR., selon Essakalli et *al.* (92)

3) Transduction du signal des TLR

La reconnaissance du ligand entraîne une dimérisation des TLR en hétéro-dimères ou homo-dimères. Le motif TIR interagit alors avec des molécules adaptatrices impliquées dans la transduction du signal. Ce complexe ligand/récepteur/molécule adaptatrice active une cascade de signalisation intracellulaire aboutissant à la translocation des facteurs nucléaires, à leur transcription et à la synthèse de protéines effectrices (93). Les molécules adaptatrices connues sont au nombre de cinq :

- MyD88 (myeloid differentiation primary response gene 88),
- MAL (MyD88-adaptor like) ou TIRAP (TIR- containig adaptor protein),
- TRIF (Toll-IL1 receptor domain containing adaptor inducing IFN β),
- TRAM (TRIF related adaptor molecule)
- SARM (sterile α and armadillo-motif-containing protein).

Les molécules MyD88, MAL, TRIF, TRAM vont activer des facteurs de transcription. La molécule SARM inhibe l'action de TRIF. (94)

En fonction du TLR, les molécules adaptatrices engagées sont différentes et vont activer différents facteurs de transcription : NF- κ B, AP-1 (activator protein 1), IRF3, IRF5, IRF7 (interferon regulatory factor) (95). Les principales voies de signalisation sont figurées dans le schéma ci-dessous.

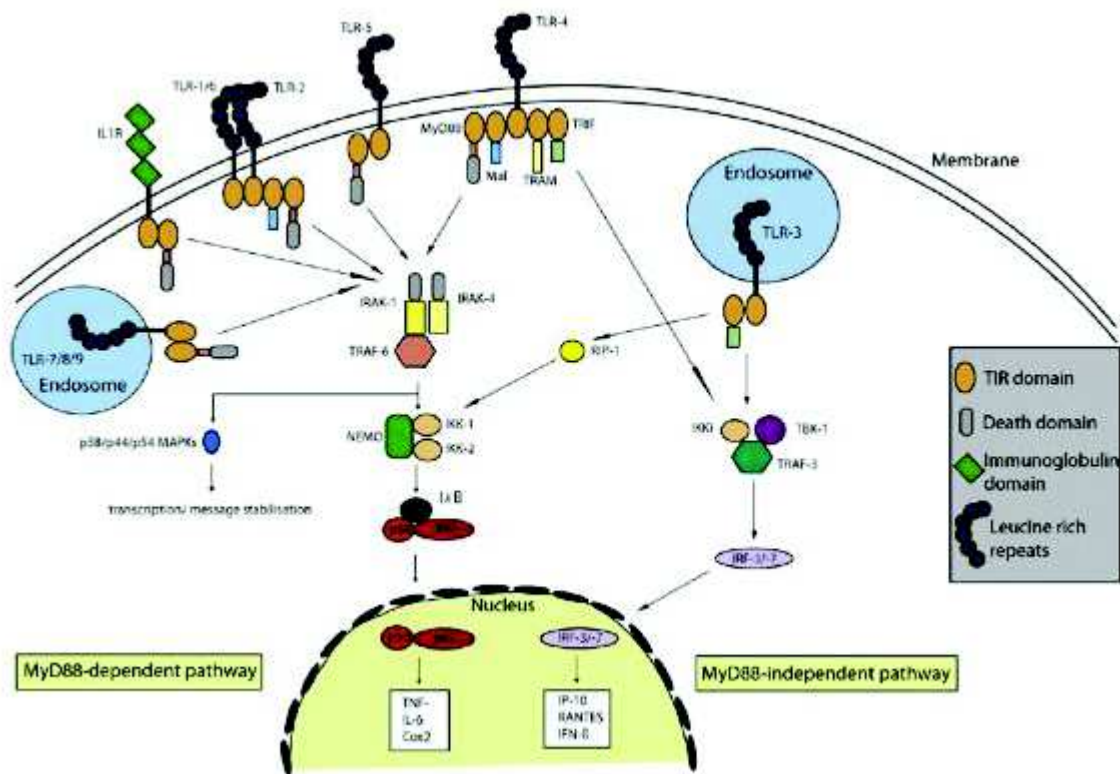


Figure 3 : Localisation des TLR et schématisation des principales voies de signalisation intracellulaire, selon Drexler et *al.* (96)

Les TLR5, TLR7, TLR8 et TLR9 utilisent la molécule adaptatrice MyD88, qui va interagir avec la famille des IRAK (protéines kinases IL-1 receptor-associated kinase). L'activation d'IRAK avec la phosphorylation d'IRAK4 permet de former le complexe IRAK4-TRAF6 (TNF-receptor-associated factor 6). Ce complexe aboutit à l'activation des facteurs de transcription NF- κ B, IRF1 et IRF5. L'activation de NF- κ B entraîne la synthèse de cytokines pro-inflammatoires : INF β , p35, IL12. L'activation d'IRF1 entraîne la synthèse d'IFN β , p35, IL12 et d'« inductible nitric oxide synthetase » (iNOS). L'activation d'IRF5 entraîne la synthèse de l'IL6 et du TNF. (95) (97)

Le TLR3 fixe sur son domaine TIR la molécule adaptatrice TRIF. TRIF active TRAF6 qui se lie à RIP1 (receptor-interacting protein 1) qui va rejoindre la voie MyD88 décrite ci-dessus. TRIF peut aussi activer TRAF3 qui phosphoryle IRF3 et entraîner la synthèse de l'IFN β .

La reconnaissance du LPS par le TLR4 nécessite la formation du complexe LPS et LBP (LPS binding protein) (98). Deux adaptateurs, CD14 et MD-2, sont également nécessaires pour atteindre la membrane plasmique et interagir avec le LPS (99). Deux voies de signalisation sont possibles. Une première voie utilise MAL pour fixer MyD88 qui aboutit à l'activation des facteurs de transcription NF- κ B, IRF1 et IRF5 entraînant la synthèse de l'INF β , p35, IL12, iNOS, IL-6 et TNF. La deuxième voie de signalisation utilise TRAM pour fixer TRIF qui active TRAF6 et TRAF3 ce qui aboutit à la synthèse de l'IFN β . (100)

Les TLR1, TLR2 et TLR6 suivent la voie de signalisation MyD88 par l'intermédiaire de MAL (100).

4) Stimulation de l'immunité adaptative

La reconnaissance du ligand par les TLR des cellules présentatrices d'antigènes leur permet une première réponse effectrice locale et de stimuler l'immunité adaptative. La maturation des cellules dendritiques est marquée par des modifications phénotypiques et fonctionnelles concomitantes de leur migration des tissus vers les organes lymphoïdes. Les cellules dendritiques matures permettent d'induire une réponse des lymphocytes T naïfs vis-à-vis d'un antigène soluble, elles font office « d'adjuvants naturels » (101).

La maturation augmente le nombre de molécules de complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II membranaires, augmente l'expression de molécules de co-stimulation et produit des cytokines et chémokines telles que l'IL12, l'IFN, le TNF et d'autres interleukines IL1, IL6, IL10. Les cellules dendritiques myéloïdes de la peau et des organes et les cellules dendritiques plasmacytoïdes ne secrètent pas les mêmes cytokines. La migration vers les organes lymphoïdes est sous la dépendance de molécules chimiotactiques et de leur récepteur.

Une fois dans la zone T des organes lymphoïdes, l'activation des cellules T naïves nécessite un 1^{er} signal qui correspond à la reconnaissance du complexe CMH/peptide par le récepteur TCR des lymphocytes T. Un second signal de co-stimulation est nécessaire pour former la « synapse immunologique » avec les CD80 et CD86 des cellules dendritiques et la molécule CD28 des lymphocytes T ; et CD40 des cellules dendritiques avec CD40L des

lymphocytes T. L'activation du lymphocytes T renvoie des signaux d'activation aux cellules dendritiques et induit l'expression de molécules de co-stimulation et de cytokines comme l'IL12 et l'IFN qui permettent d'orienter la différenciation des lymphocytes T helper en TH1 ou TH2 et amplifier la réponse des lymphocytes cytotoxiques T CD8 (102).

Les TLR exprimés par les lymphocytes B agissent comme sur les cellules présentatrices d'antigène, en augmentant la sécrétion de cytokines (103). Les TLR vont également entraîner une augmentation de production des immunoglobulines, notamment les IgM (104). Ainsi, de par leurs fonctions multiples, les TLR sont fréquemment impliqués au cours des maladies auto-immunes.

5) Polymorphisme des TLR

Le polymorphisme nucléotidique est la plus fréquente des variations génétiques et correspond à la variation d'une seule paire de base entre deux chromosomes, pour un gène donné dans la population. Le gène est dit polymorphe en raison de ce poly-allélisme et si au moins deux de ses allèles ont une fréquence allélique supérieure à 1% dans la population (105). Le polymorphisme d'un seul nucléotide est représenté par un SNP, single-nucleotide polymorphism. Il s'agit dans la plupart des cas de substitution d'une purine par une autre purine (A <--> G), ou d'une pyrimidine par une autre pyrimidine (C <--> T), les transversions sont plus rares (A <--> C, A<--> T, G <--> C, G <-->T). Des insertions ou délétions de petites tailles sont également possibles.

Le polymorphisme des TLR a été étudié dans les maladies auto-immunes, en oncologie, en maladie infectieuse et dans la variabilité de réponse à certains traitements (106) (107) (108).

6) TLR et maladies auto immunes

La reconnaissance par les TLR de molécules endogènes similaires aux PAMP, les « danger associated molecular pattern » (DAMP), peut intervenir dans la physiopathologie de certaines maladies auto-immunes. En effet, les pathologies dysimmunitaires sont caractérisées par « le dérèglement » du système immunitaire qui entraîne une rupture de tolérance vis-à-vis de l'auto-antigène. Les DAMP sont des ligands endogènes assimilés à des signaux de danger, libérés par des cellules endommagées en mort cellulaire ou ischémie, soit par des cellules cancéreuses, soit par des lésions tissulaires chimiques ou physiques.

Les TLR interviennent dans la pathogénie de maladies auto-immunes comme le syndrome de Sjögren, le lupus érythémateux systémique, la sclérose en plaques, la polyarthrite rhumatoïde, la sclérodermie et le psoriasis (4).

7) *TLR4 et SAPL*

Il a été démontré que les anticorps anti- β 2Gp1 activent les cellules endothéliales avec production de facteur tissulaire (FT). En effet, il existe une analogie de structure entre la β 2GPI et les composants lipopolysaccharidiques de la paroi des bactéries, ligands naturels des TLR4. Des études ont mis en évidence que le complexe TLR4-MD-2-annexine 2 est responsable de l'augmentation de l'activité et de l'expression du FT après incubation avec les aPL. En cas d'inhibition de MD-2, aucune augmentation du facteur tissulaire n'est observée. (109) (110).

Une étude italienne a démontré que les anticorps anti- β 2GPI activaient les cellules endothéliales par la voie de signalisation dépendante de la MyD88, impliquant indirectement les TLR4 et dans une moindre mesure les TLR2 (27).

Plusieurs modèles expérimentaux, utilisant des techniques d'inactivations des récepteurs TLR ont été utilisés pour étudier l'implication des TLR dans le SAPL. TLR-2 et TLR-4 jouent un rôle pathogène dans la médiation des anomalies vasculaires chez les patients atteints de SAPL ; comme le démontre une étude sur la dysfonction endothéliale et l'activation de la voie TLR2 et TLR4 chez des patients SAPL artériel comparativement à des témoins (6). Les auteurs ont démontré l'activation de la voie TLR chez les patients atteints avec augmentation de l'expression de l'ARN messager TLR-2 et TLR-4 et une augmentation d'IRAK-1 qui permet l'activation de facteur de transcription. L'expression de TLR-2 et de TLR-4 était plus élevée chez les patients atteints de SAPL que chez les témoins, avec des anomalies des différents paramètres structurels vasculaires. L'injection d'aPL chez des souris WT a mis en évidence une dysfonction endothéliale et une augmentation de l'expression de TF, ce qui n'a pas été retrouvé chez les souris TLR-2-KO ou TLR-4-KO. Des études murines et chez l'homme portant sur le polymorphisme de TLR4 ont démontré que le TLR4 participe à l'initiation et la progression de l'athérosclérose (111).

Pierangeli et *al.* ont étudié l'implication du TLR4 dans l'activité thrombogène chez des souris répondeuses au LPS (LPS+/+) et non répondeuses au LPS (LPS-/-), après avoir reçu des injections intrapéritonéales d'aPL d'origine humaine. Les souris (LPS+/+) ayant reçu les aPL

ont développé des thrombi plus importants et une adhésion des leucocytes plus marquée qu'en cas d'injections de solutions contrôles dépourvues d'aPL. Ces résultats ont disparu en présence d'un chélateur des anticorps anti- β 2GPI, ce qui renforce l'implication forte de ces anticorps et par conséquent de son antigène, la β 2GPI. De même, l'activité thrombogène était significativement réduite en présence de souris (LPS-/-). Les résultats étaient similaires pour l'activité du facteur tissulaire qui était diminuée chez les souris (LPS-/-) par rapport aux souris (LPS+/+). Un autre essai a retrouvé une réponse diminuée au LPS chez des souris TLR4-déficientes (112).

Par analogie à cette réponse diminuée dans le groupe LPS-/-, des études chez l'homme à la recherche de polymorphismes pouvant être associés à cette même diminution de réponse au LPS ont été menées. La plupart des études se sont concentrées sur deux SNP, rs4986790(Asp299Gly) et rs4986791 (Thr399Ile), au sein du gène codant TLR4. La prévalence de ces deux SNP est associée à une diminution de la réponse au LPS chez l'homme (8).

Par la suite, du fait de l'importance du lien entre le TLR4 et le LPS mais aussi du fait de l'implication de ce récepteur dans le SAPL, Pierangeli et *al*, ont étudiés la prévalence des SNP rs4986790(Asp299Gly) et rs4986791(Thr399Ile) de TLR4 chez 110 patients SAPL thrombotiques et 220 sujets contrôles. La prévalence de la forme mutée était significativement diminuée chez les patients SAPL et augmentation de la prévalence de la forme sauvage de ces deux SNP chez les patients SAPL. Ces données renforçaient l'implication de TLR 4 dans le SAPL. D'après les auteurs, ces résultats suggéraient que les SNP mutés rs4986790 (Asp299Gly) et rs4986791 (Thr399Ile) de TLR4 pourraient avoir un rôle protecteur dans le SAPL (7).

III. PATIENTS ET METHODES

1. Patients

Il s'agit d'une étude monocentrique rétrospective au sein du CHU de Rouen. L'inclusion des patients s'est faite en deux temps.

Une première inclusion s'est basée sur la DNA-thèque issue des consultations d'hémostase du laboratoire d'hématologie et des consultations ou hospitalisations de médecine interne pour exploration de TCA allongé ou bilan de thrombophilie, de 1999 à 2016. Parmi la DNA-thèque, ont été sélectionnés les prélèvements issus de patients porteurs d'anticorps anti-phospholipides qui ont été transférés au laboratoire de pharmacogénétique pour la suite de notre travail. L'analyse du PMSI (programme de médicalisation des systèmes d'informations) avec le code CIM-10 D68.6 et D686, a permis d'identifier les patients atteints de SAPL et les patients porteurs d'anticorps anti-phospholipides sans manifestation clinique de SAPL, parfois appelé « SAPL biologique ».

Nous avons exclu les prélèvements pour lesquels les critères biologiques n'étaient pas respectés, c'est-à-dire confirmé sur au moins deux prélèvements espacés d'au moins 12 semaines d'intervalle.

Une deuxième inclusion de patient SAPL ou porteurs de « SAPL biologique », a été réalisée lors des consultations de médecine interne, des consultations d'hémostase ou de gynécologie, de janvier 2016 à juillet 2017, avec présentation de l'étude au patient *via* une notice d'information. Pour le prélèvement à but d'étude de biologie moléculaire, la fiche de consentement d'étude génétique a été remplie et signée par le patient, puis le patient a été prélevé sur tube EDTA acheminé au laboratoire de pharmacogénétique à température ambiante.

1) Données cliniques

Nous avons colligé les données démographiques telles que l'âge au diagnostic, le genre, les atteintes thrombotiques, artérielles ou veineuses, les manifestations obstétricales, les CAPS les antécédents familiaux de SAPL et les récurrences thrombotiques sous traitement anticoagulant par AVK. Les patients ont été classés en forme dite primaire ou secondaire de SAPL selon l'existence ou non d'une pathologie auto-immune associée.

2) Données biologiques

La présence persistante d'anticorps anti-cardiolipine et/ou d'anti β 2Gp1 et/ou d'anticoagulant circulant type lupique a été recueillie, ainsi que la triple positivité en présence de ces trois marqueurs. En leur absence, les patients avec critères cliniques de SAPL étaient classés « SAPL biologique ». L'anticorps anti-PE a été notifié dans le recueil. Les taux de plaquettes et le TCA au diagnostic ont également été relevés.

La recherche d'anticorps anti-cardiolipine et anticorps anti- β 2Gp1 se fait par technique au laboratoire d'immunologie du CHU de Rouen, par chimie-luminescence (automate BioFlash®) depuis novembre 2015 et par ELISA technologie Elia (automate Unicap 250®) auparavant. Le seuil de positivité retenu est de 20CU en chimie-luminescence à partir de novembre 2015, rapidement revu à 31CU en IgM et 101CU en IgG en janvier 2016, devant la forte sensibilité des tests pour respecter le seuil du 99^e percentile. Sur la technique précédente, le seuil était de 10 UA/ml pour les anti- β 2Gp1 IgM ou IgG, 21 UGPL/ml pour les anti-cardiolipines IgM et 16 UMPL/ml pour les anti-cardiolipines IgG.

La recherche d'anticoagulant circulant lupique se réalise au laboratoire d'hématologie du CHU de Rouen. En règle générale, la première étape est une détection d'allongement du temps de coagulation lors de tests de coagulation comme le temps de céphaline avec activateur (TCA), le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT) très sensible, ou le temps de Quick réalisé avec une thromboplastine diluée (TTd). La deuxième étape est l'identification de la présence d'un inhibiteur de la coagulation avec un test mélangeant du plasma patient et un plasma témoin. L'indice de Rossner se calcule comme suit, $((TCA[\text{mélange patient-témoin}] - TCA[\text{témoin}]) / TCA[\text{patient}]) \times 100$, et s'interprète positif si >15%, négatif si <12% et douteux entre 12% et 15%. La troisième étape est une confirmation que cet inhibiteur est dépendant des phospholipides, puis enfin l'exclusion d'un inhibiteur dirigé contre un facteur de la coagulation ou un déficit en un facteur de coagulation.

2. Témoins

Le groupe de témoins est constitué de patients suivis en néphrologie, prélevés dans le cadre d'un bilan pré-transplantation pour le génotypage CYP3A5/CYP3A4. Le consentement d'étude génétique à des fins de recherche avait déjà été recueilli lors du bilan pré-transplantation.

3. Etude du polymorphisme du TLR4

1) Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN des prélèvements (tubes EDTA) issus de patients inclus en consultation ou hospitalisation, s'est fait à partir du sang total au moyen de kits Qiagen® (ref. QiAmp DNA blood Mini®), après recueil du consentement signé des patients.

2) Identification des polymorphismes

L'ADN extrait des prélèvements des patients issus des consultation et hospitalisation et les prélèvements issus de la DNAtèque ont permis l'analyse des polymorphismes de TLR4.

a) Polymorphismes rs4986790 et rs4986791 de TLR4

Le choix des polymorphismes génétiques des gènes codant pour TLR-4 ont été sélectionnés d'après les données de la littérature :

- rs4986790 A>G (AA forme sauvage ou ancestrale et AG forme mutée ou variante) est sur le gène codant TLR4, sur le chromosome 9. La mutation faux-sens qui substitue le codon GAT par GGT est responsable du changement d'acide aminé de l'acide aspartique (Asp) par de la Glycine (Gly). La fréquence allélique mineure (MAF) globale de ce polymorphisme est de 5,99%, avec une MAF plus faible dans la population caucasienne entre 3,3% et 5,6% (databaseSNP et Haploview)

- rs4986791 C>T (CC forme sauvage et CT forme mutée) est sur le gène codant TLR4, sur le chromosome 9. La mutation faux-sens substitue le codon ACC par ATC, responsable du changement d'acide aminé Thréonine (Thr) par Isoleucine (Ile) La fréquence allélique mineure globale de ce polymorphisme est de 4,07%, avec une MAF dans la population caucasienne entre 4,4% et 5,7%.(databaseSNP et Haploview)

b) RT-PCR

Nous avons amplifié les régions d'ADN contenant les SNP d'intérêt, par PCR en temps réel (RT-PCR) avec des amorces spécifiques permettant d'encadrer les SNP étudiés, avec détection de fluorescence au moyen de kits TaqMan® (LifeTechnologies).

3. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel PRISM® version 5.00.288 (Graph Pad) et du logiciel XLSTAT version 2016.

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm écart type pour les variables continues ; et en pourcentage pour les variables catégorielles. Le test statistique exact de Fisher a été utilisé pour analyser les variables catégorielles. Une valeur de $p < 0,05$ était considérée comme significative.

IV. RESULTATS

1. Patients

1) Inclusion

Nous avons identifié 49 patients porteurs de marqueurs biologiques de SAPL à partir de la DNAtèque du laboratoire d'hématologie de CHU de Rouen. Parmi ces prélèvements d'ADN, 45 ont pu être analysés et 4 ont été exclus : 3 patients sans marqueur biologique du SAPL persistant à au moins 12 semaines d'intervalle et 1 patient dont le prélèvement de la DNAtèque ne contenait plus d'ADN.

Les consultations et hospitalisations de médecine interne et gynécologie ont permis de colliger 50 patients atteints de SAPL ou porteurs de « SAPL biologique ». Parmi ces patients, 8 patients ont été exclus, dont 6 patients déjà présents dans la DNAtèque, et 2 patients sans marqueur biologique du SAPL retrouvé persistant à au moins 12 semaines d'intervalle.

Au total, 87 patients ont été inclus dans notre travail. (Figure 4)

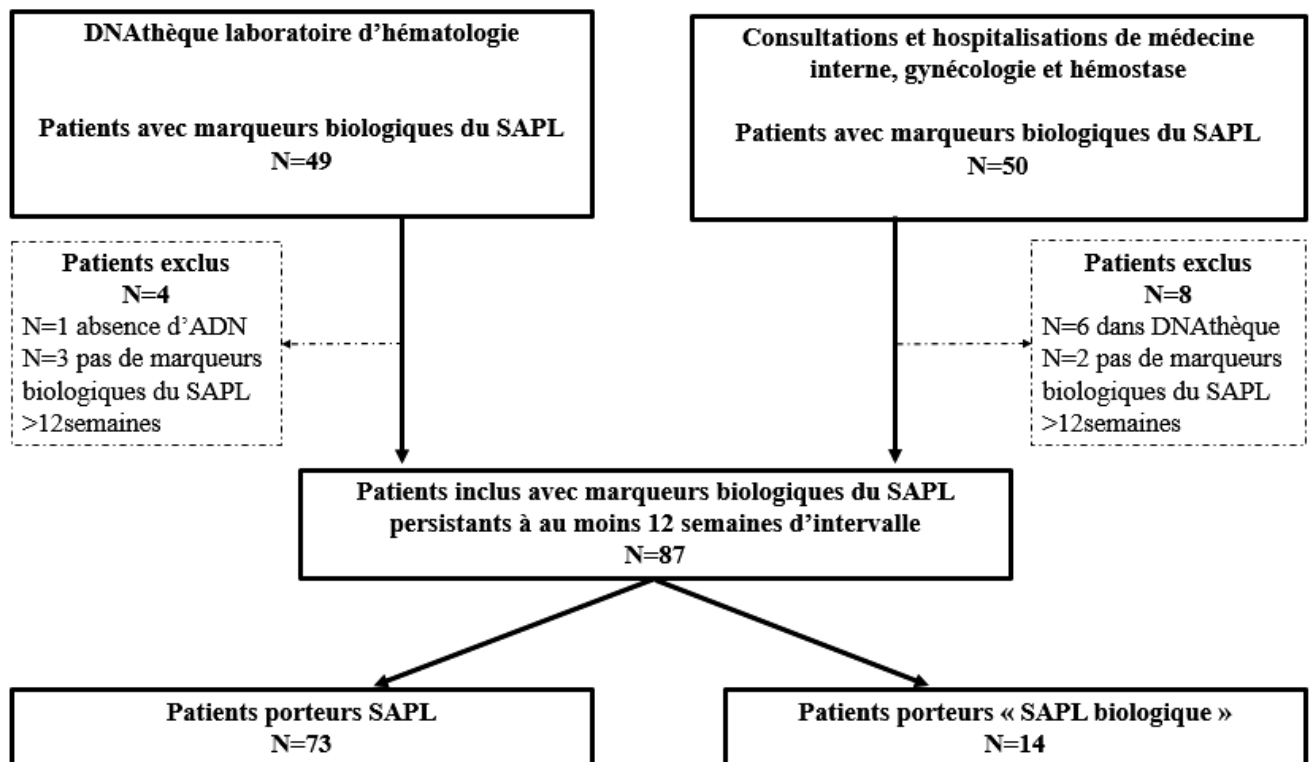


Figure 4 : Flow Chart de l'étude

2) Données cliniques

L'âge moyen de la population étudiée était de 42 +/- 13 ans au diagnostic. Le sex ratio était de 1:3 (66 femmes pour 21 hommes). Il y avait 14 patients porteurs d'un « SAPL biologique » et 73 patients atteints de SAPL. Parmi les SAPL, il y avait 61 SAPL thrombotiques et 25 SAPL obstétricaux. Deux patients avaient des antécédents familiaux de SAPL. Il y avait 2 CAPS probables et 1 CAPS certain. Sept récurrences thrombotiques sous AVK ont été colligées.

Les SAPL primaire étaient au nombre de 49 (67% des SAPL). Parmi les 24 SAPL secondaire (33% des SAPL), les pathologies associées étaient des lupus érythémateux systémiques (67%), PTI (13%), Gougerot-Sjögren (8%), syndrome de Sharp (4%) et un terrain dysimmunitaire avec phénomène de Raynaud avec anticorps anti-nucléaires à titre significatifs (8%).

Données démographiques et cliniques	Total N=87 (%)
Genre Féminin	66 (76%)
Age moyen au diagnostic	42 +/- 13 ans
« SAPL biologique »	14 (16%)
SAPL	73 (84%)
SAPL primaires (% parmi SAPL)	49 (67%)
SAPL secondaires (% parmi SAPL)	24 (33%)
Antécédents familiaux de SAPL (% parmi SAPL)	2 (3%)
CAPS certain ou probable (% parmi SAPL)	3 (4%)
SAPL obstétricaux (% parmi SAPL)	25 (34%)
- FCS et/ou MFIU (% parmi SAPL obstétricaux)	- 19 (76%)
- Pré-éclampsie(s) sans antécédent de FCS ou MFIU (% parmi SAPL obstétricaux)	- 6 (24%)
SAPL thrombotiques (% parmi SAPL)	61 (84%)
- SAPL artériels (% parmi SAPL thrombotiques)	- 20 (33%)
- AVC/AIT (% parmi SAPL artériels)	- 10 (50%)
- CAPS (% parmi SAPL artériels)	- 3 (15%)
- Thrombose artère gros ou moyen calibre (% parmi SAPL artériels)	- 7 (35%)
- SAPL veineux (% parmi SAPL thrombotiques)	- 47 (77%)
- EP (% parmi SAPL veineux)	- 5 (11%)
- EP + TVP (% parmi SAPL veineux)	- 15 (32%)
- TVP (% parmi SAPL veineux)	- 21 (45%)
- OVCR (% parmi SAPL veineux)	- 1 (2%)
- Thrombose veine porte (% parmi SAPL veineux)	- 2 (4%)
- Thrombose veine rénale (% parmi SAPL veineux)	- 2 (4%)
- SAPL veineux et artériel (% parmi SAPL thrombotiques)	- 6 (10%)

Tableau 4: Données cliniques des patients de l'étude

3) Données biologiques

Parmi les patients atteints de SAPL, il était retrouvé une majorité d'anti-cardiolipine IgG (N=42 soit 58%). L'anticoagulant circulant (N= 39) et l'anti-β2Gp1 IgG (N=39) était présents dans 53% des cas. Il y avait 21 patients triple-positifs et 1 patient avec anticorps anti-PE.

Parmi les patients « SAPL biologique », l'anticoagulant circulant était plus fréquemment retrouvé que chez les patients atteints de SAPL (p=0,04). L'isotype IgM des anticorps anti-cardiolipine était plus fréquent chez les patients porteurs de « SAPL biologique » que chez ceux atteints de SAPL (p=0,04). Il n'avait pas d'anti-PE dans le groupe de patients « SAPL biologique ».

Données biologiques	SAPL N=73 (%)	« SAPL biologique » N=14 (%)	Total N=87 (%)	Valeur de p
Triple positivité	21 (29%)	7 (50%)	28 (32%)	0,13
Anticoagulant circulant	39 (53%)	12 (86%)	51 (59%)	0,04
Anti-cardiolipine IgG	42 (58%)	8 (57%)	50 (57%)	0,54
Anti-cardiolipine IgM	14 (19%)	7 (50%)	20 (23%)	0,04
Anti-β2Gp1 IgG	39 (53%)	6 (43%)	45 (52%)	0,56
Anti-β2Gp1 IgM	10 (14%)	4 (29%)	14 (16%)	0,23
Anti-PE	1 (1%)	0 (0%)	1 (1%)	1
Thrombopénie au diagnostic	11 (15%)	3 (21%)	14 (16%)	0,69

Tableau 5 : Données biologiques des patients de l'étude

2. Témoins

Parmi 75 patients suivis en néphrologie en vue d'une transplantation, nous avons exclu 5 patients : deux patients porteurs d'aPL sans expression clinique de SAPL, deux patients suivis pour maladie auto-immune (1 polyarthrite rhumatoïde et 1 maladie de Crohn) et un patient dont le résultat de la PCR était douteux. Nous avons ainsi constitué un groupe témoins de 70 patients.

3. Etude des polymorphismes rs4986790 et rs498679 du TLR4

1) Déséquilibre de liaison complet pour les deux polymorphismes

Nous avons mené une étude préliminaire portant sur 36 des patients inclus. Nous avons retrouvé un déséquilibre de liaison complet entre les deux différents SNP du TLR4, SNP rs4986790 et SNP rs498679. En effet, les patients présentaient les SNP sauvages ou SNP mutés de façon conjointe pour les deux polymorphismes. Le déséquilibre de liaison complet permet une transmission conjointe et systématique de ces SNP, ce qui a justifié de ne rechercher qu'un seul SNP sur les deux, pour les 51 autres patients.

2) Etude du polymorphisme du SNP rs4986790 du TLR4 chez les patients atteints de SAPL versus groupe témoin

Parmi les 70 sujets témoins, il a été identifié 65 formes sauvages du SNP rs4986790 du TLR4 et 5 formes mutées. Dans le groupe SAPL, les formes sauvages étaient au nombre de 58 et les formes mutées au nombre de 15. La forme mutée du SNP rs4986790 était significativement plus fréquente dans le groupe SAPL comparativement au groupe témoin (N=15 (21%) versus N=5 (7%), p=0,03).

	Témoins N=70	SAPL N=73	Valeur de p
SNP sauvage TLR4rs4986790 AA	65 (93%)	58 (79%)	0,03
SNP muté TLR4rs4986790 A>G	5 (7%)	15 (21%)	0,03

Tableau 6 : Polymorphisme rs4986790 chez les patients atteints de SAPL versus groupe témoins

3) Etude du polymorphisme rs4986790 du TLR4 des patients atteints de SAPL et des patients porteurs de « SAPL biologique »

Le travail mené sur les 87 patients inclus a permis d'identifier 71 SNP sauvages et 16 SNP mutés, dont 1 SNP muté parmi les patients porteurs de « SAPL biologiques » et 15 SNP mutés parmi les patients atteints de SAPL. Aucune différence de fréquence de la forme mutée ou

sauvage n'était retrouvée entre le groupe SAPL et le groupe « SAPL biologique ».

	«SAPL biologique » N=14	SAPL N=73	Valeur de p
SNP sauvage TLR4rs4986790 AA N=71	13 (93%)	58 (79%)	0,45
SNP muté TLR4rs4986790 A>G N=16	1 (7%)	15 (21%)	0,45

Tableau 7 : Polymorphisme rs4986790 chez les patients atteints de SAPL et les patients porteurs de « SAPL biologique »

4) Etude du polymorphisme du SNP rs4986790 du TLR4 selon le profil phénotypique des patients atteints de SAPL

La prévalence de la forme sauvage du SNP était significativement plus importante chez les patients SAPL primaire que chez les patients SAPL secondaire (N=43 (74%) vs N=15 (26%), p=0,03).

Il n'y avait pas de différence significative pour les deux formes du SNP, concernant le type de SAPL, obstétrical ou thrombotique, la survenue d'un CAPS, ni la présence ou non d'antécédents familiaux.

SAPL N=73	SNP sauvage TLR4rs4986790 AA N=58	SNP muté TLR4rs4986790 A>G N=15	Valeur de p
SAPL Primaires	43 (88%)	6 (12%)	0,03
SAPL Secondaires	15 (63%)	9 (37%)	0,03
SAPL thrombotiques	50 (82%)	11 (18%)	0,25
SAPL obstétricaux	20 (80%)	5 (20%)	1
CAPS certain ou probable	2 (67%)	1 (33%)	0,50
Antécédents familiaux de SAPL	2 (100%)	0 (0%)	1

Tableau 8 : Répartition du polymorphisme rs4986790 chez les patients atteints de SAPL en fonction du profil phénotypique

5) Etude du polymorphisme du SNP rs4986790 du TLR4 chez les SAPL obstétricaux

Parmi les 25 SAPL obstétricaux, il n'y avait pas de différence significative entre les formes du polymorphisme et le profil d'expression du SAPL obstétrical entre les fausses couches spontanées précoces ou morts fœtales intra-utérines, et les pré-éclampsies.

SAPL obstétricaux N=25	SNP sauvage TLR4rs4986790 AA N=20	SNP muté TLR4rs4986790 A>G N=5	Valeur de p
SAPL obstétricaux	20 (80%)	5 (20%)	1
Antécédent(s) FCS ou MFIU	15 (79%)	4 (21%)	1
Antécédent(s) de pré-éclampsie, sans FCS ou MFIU	5 (83%)	1 (17%)	1

Tableau 9 : Répartition du polymorphisme rs4986790 chez les patients atteints de SAPL obstétricaux

6) Etude du polymorphisme du SNP rs4986790 du TLR4 chez les SAPL thrombotiques

Parmi les SAPL thrombotiques veineux, la prévalence de TVP isolée était significativement plus importante dans le groupe SNP sauvage (N=21 (57%) versus N=1 (10%), p=0,01).

Concernant les récurrences thrombotiques, nous avons observé 7 patients qui ont présenté des récurrences thrombotiques sous traitement anticoagulant par AVK. Parmi eux, 5 patients (71%) avaient un INR sous-dosé lors de la récurrence thrombotique. Les récurrences thrombotiques étaient plus nombreuses dans le groupe SNP muté, sans différence significative avec le groupe SNP sauvage.

SAPL thrombotiques N=61	SNP sauvage TLR4rs4986790 AA N=50	SNP muté TLR4rs4986790 A>G N=11	Valeur de p
SAPL thrombotiques	50 (82%)	11 (18%)	0,25
SAPL artériels	17 (85%)	3 (15%)	1
- AVC/AIT	- 8 (80%)	- 2 (20%)	1
- CAPS	- 2 (67%)	- 1 (33%)	0,43
- Thrombose artère moyen ou gros calibre	- 7 (100%)	- 0 (0%)	0,52
- 1 épisode	6 (100%)	0 (0%)	0,52
- Récidivant avant traitement ou sous traitement anticoagulant	11 (79%)	3 (21%)	0,52
SAPL veineux	37 (79%)	10 (21%)	0,43
- EP	- 2 (40%)	- 3 (60%)	0,06
- EP + TVP	- 10 (67%)	- 5 (33%)	0,25
- TVP	- 21 (95%)	- 1 (5%)	0,01
- OVCR	- 1 (100%)	- 0 (0%)	1
- Thrombose veine porte	- 1 (50%)	- 1 (50%)	0,38
- Thrombose veine rénale	- 2 (100%)	- 0 (0%)	1
1 épisode	22 (88%)	3 (12%)	0,72
Récidivant avant traitement ou sous traitement anticoagulant	15 (68%)	7 (32%)	0,72
SAPL veineux et artériels	4 (67%)	2 (33%)	0,29
Récidive(s) thrombotique(s) sous traitement anticoagulant	5 (71%)	2 (29%)	0,6

Tableau 10 : Répartition du polymorphisme rs4986790 chez les patients atteints de SAPL thrombotiques

7) Etude du polymorphisme du SNP rs4986790 du TLR4 et les profils biologiques des patients SAPL

Les différents profils biologiques n'étaient pas associés à l'une ou l'autre des formes du polymorphisme du SNP rs4986790 de TLR4.

Données biologiques des 73 patients atteints de SAPL	SNP sauvage TLR4rs4986790 AA N=58	SNP muté TLR4rs4986790 A>G N=15	Valeur de p
Triple positivité	14 (70%)	6 (30%)	0,33
Anticoagulant circulant	30 (77%)	9 (23%)	0,77
Anti-cardiolipine IgG	32 (76%)	10 (24%)	0,56
Anti-cardiolipine IgM	9 (64%)	5 (36%)	0,15
Anti-β2Gp1 IgG	31 (79%)	8 (21%)	1
Anti-β2Gp1 IgM	6 (60%)	4 (40%)	0,20
Anti-PE	1 (100%)	0 (0%)	1
Thrombopénie	9 (82%)	2 (18%)	1

Tableau 11 : Répartition du polymorphisme rs4986790 chez les patients atteints de SAPL en fonction du profil biologique

V. DISCUSSION

Dans notre étude, les principaux résultats retrouvés sont :

- Une fréquence de la forme mutée du SNP rs4986790 du TLR4 significativement plus élevée dans le groupe SAPL comparativement au groupe témoin,
- Une prévalence de la forme mutée du SNP rs4986790 significativement plus élevée chez les patients atteints de SAPL secondaire que chez les patients atteints de SAPL primaire,
- Une absence de différence significative pour les deux formes du SNP, concernant le profil biologique et le profil phénotypique de SAPL, le caractère récidivant des thromboses, la survenue d'un CAPS et la présence ou non d'antécédents familiaux.

Les patients inclus dans le groupe SAPL étaient représentatifs de la population générale SAPL. En effet, leurs données démographiques étaient proches de celles des patients inclus dans l'étude Europhospholipid (13). Néanmoins la présentation clinique des patients était différente avec notamment moins de formes artérielles dans notre cohorte, 20% de SAPL artériels dont 10% d'AVC contre 35 dont 19,8% d'AVC dans la cohorte Europhospholipid. De même, 7 récurrences thrombotiques sous traitement anticoagulant, soit 9,6% des patients atteints de SAPL ont été colligées contre 15% dans la cohorte Europhospholipid (13). Parmi les récurrences thrombotiques sous traitement anticoagulant, nous avons observé une majorité de patients (71%) avec un INR sous-dosé lors de la récurrence. La littérature retrouve en effet un risque majeur de récurrence thrombotique à l'arrêt du traitement anticoagulant de 53% à 70% selon les études (3) (63) (55). L'anticoagulation est aujourd'hui indispensable pour prévenir les récurrences thrombotiques. A l'heure des études à la recherche de facteurs pronostiques de récurrence, l'étude du polymorphisme des TLR prend toute sa place dans le SAPL afin de pouvoir moduler ce traitement. Malheureusement nous n'avons pas mis en évidence de différence entre le groupe de patients récidivant et celui ne récidivant pas.

La prévalence des SNP mutés était significativement ($p=0,03$) plus importante dans les SAPL secondaire. Ceci semble cohérent avec les données de la littérature qui retrouvent un rôle des polymorphismes des TLR dans la pathogénie de nombreuses maladies auto-immunes.

La reconnaissance des DAMP, assimilés à des signaux de danger similaires aux PAMP, par les TLR initie une réponse inflammatoire (4). L'implication des TLR a été étudiée dans de nombreuses maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux systémique, le psoriasis, la polyarthrite rhumatoïde, le syndrome de Sjögren, la sclérodermie, la sclérose en plaque (4). Dans l'exemple du LES, des travaux sur des modèles lupiques murins ont étudié l'inactivation ou la surexpression des gènes codant pour les TLR. Ainsi l'étude du TLR4 dans les modèles murins lupiques, rapporte que son activation est associée à une aggravation de la pathologie lupique murine avec la majoration de la production d'auto-anticorps et l'apparition d'une glomérulonéphrite (113) ; son inactivation diminue le taux d'auto-anticorps, les taux d'IL6 et d'IFN et diminue l'atteinte rénale (114).

Nos résultats mettent en évidence une fréquence de la forme mutée du SNP rs4986790 du TLR4 significativement plus élevée dans le groupe SAPL comparativement au groupe témoin, orientant vers un rôle pathologique de la forme mutée du SNP. Ces résultats sont discordants de ceux de l'étude menée par Pierangeli et *al.* en 2007, qui retrouvait une proportion diminuée de la forme mutée du polymorphisme rs4986790 du TLR4 chez les patients SAPL, laissant suggérer un rôle protecteur de la forme mutée de ce SNP dans le SAPL (7).

L'étude de Pierangeli et *al.* est la seule étude clinique à ce jour qui étudie les polymorphismes rs4986790 (Asp299Gly) et rs4986791 (Thr399Ile) du TLR4 au sein d'un groupe témoin et d'un groupe de patients SAPL. Les résultats pour le SNP rs4986790 (Asp299Gly) et rs4986791 (Thr399Ile) du TLR4 (7) étaient identiques, confirmant le déséquilibre de liaison complet pour l'un ou l'autre des deux SNP.

Leur groupe témoin était constitué de 220 patients sains, soit deux fois plus patients que dans leur groupe SAPL constitué de 110 patients. Les auteurs rapportaient dans leur travail, 6 formes mutées (5,5%) et 104 formes sauvages (94,5%) des SNP étudiés dans le groupe SAPL ; 25 formes mutées (11,4%) et 195 formes sauvages (88,6%) dans le groupe témoin, avec une différence significative ($p=0,038$). Notre travail comparait un groupe témoin de 70 patients, à un groupe SAPL de 73 patients. Nous avons identifié 15 formes mutées (21%) et 58 formes sauvages (79%) dans le groupe SAPL ; 5 formes mutées (7%) et 65 formes sauvages (93%) dans le groupe témoin, avec une différence significative $p=0,03$.

Nos résultats sont différents pour la population témoin. Plusieurs hypothèses à cela, tout d'abord, nos témoins étaient tous en attente d'une transplantation rénale avec des comorbidités classiques dont certaines sont associées à une activation du TLR4 comme le diabète. Devaraj et al, ont mis en évidence des taux significativement plus élevés des ligands de TLR2 et TLR4 chez des patients diabétique type I comparativement à un groupe contrôle ($p < 0,01$) (115). Zaharieva et al. ont démontré une augmentation significative des formes mutées des SNP rs4986790 (Asp299Gly) et SNP rs4986791 (Thr399Ile) de TLR4 chez les patients diabétiques de type II avec rétinopathie diabétique comparativement aux patients sans rétinopathie diabétique ($p=0,018$) (116).

L'autre explication qui parait la plus plausible car sous-tendue par les résultats en population générale, est la prévalence de la forme mutée classiquement admise chez les témoins. En effet, la fréquence allélique mineure globale du SNP rs4986790 est de 5,6%, ce qui est proche de la fréquence du polymorphisme identifiée dans notre groupe témoin à 7%, alors que la fréquence du polymorphisme dans le groupe témoin de l'étude de Pierangeli était de 11,7%, très éloignée la fréquence allélique décrite dans la population générale (7). Nous ne connaissons pas les origines ethniques du groupe témoin de l'étude de Pierangeli, mais cette étude italienne est certainement basée sur des patients caucasiens dont la fréquence allélique mineure pour le SNP étudié est encore plus faible que celle de la population générale (entre 3,3% et 5,6% d'après la database SNP Haploview). Ainsi les différences observées dans notre étude ne paraissent pas être comparables à celles de l'étude italienne dans la mesure où les groupes témoins diffèrent fortement. De plus, la population SAPL de l'étude italienne était composée de SAPL primaire rapportant ainsi une fréquence du polymorphisme mutée de 5.5% soit la valeur attendue dans la population générale.

En analysant notre sous-groupe de patients avec un SAPL primaire, la fréquence retrouvée est de 12% soit seulement deux fois plus que l'étude italienne sans différence significative avec nos témoins. L'ensemble de ces résultats amènent à la conclusion que d'une part nos populations SAPL étaient différentes et d'autre part que nos populations témoins l'étaient d'avantage. Les différences statistiques retrouvées doivent être donc prises avec caution et seule une augmentation des effectifs pourra permettre de conclure de façon plus robuste.

Dans notre travail, l'analyse de la répartition du polymorphisme du SNP rs4986790 entre les patients atteints de SAPL et les patients porteurs de SAPL biologique, présentait un intérêt majeur pour identifier et comprendre les facteurs qui aboutissent au développement de la pathologie avec expression clinique et n'avait jusqu'alors jamais été réalisée. Malheureusement, notre étude n'a pas mis en évidence de différence entre les deux groupes ($p=0,45$). Le groupe « SAPL biologique », avec 14 patients, regroupait cinq fois moins de patient que le groupe SAPL qui comportant 73 patients, un manque de puissance statistique semble assez évident.

Limites de l'étude

Les limites principales de notre travail sont son caractère monocentrique et son effectif qui reste faible. Un effectif avec un $N > 100$ aurait été souhaitable pour l'étude du polymorphisme de ces SNP, au vue de leur fréquence allélique mineure. Un manque de puissance est également à déplorer dans l'analyse du polymorphisme SNP rs4986790 au vue des données des groupes de patients SAPL et « SAPL biologique ». Enfin, le profil phénotypique des patients de notre groupe témoin constitue un biais notable, au vue des données de la littérature sur l'implication du TLR4 dans l'athérosclérose, l'insuffisance rénale et le diabète. De plus, la recherche de marqueurs biologiques du SAPL n'était pas systématique en l'absence d'indication, dans ce groupe de patients suivis en néphrologie et prélevés dans le cadre du bilan pré-transplantation rénale.

Perspectives de l'étude

L'une des perspectives de travail intéressante serait d'augmenter l'effectif avec une étude multicentrique, afin de confirmer ou infirmer nos résultats. Rééquilibrer les effectifs entre le groupe de patients atteints de SAPL et le groupe de patients porteurs de « SAPL biologique » permettrait d'améliorer la puissance statistique. Les inclusions peuvent se poursuivre en hospitalisation et consultation dans notre centre, et il est envisagé d'inclure la cohorte de patients SAPL de l'hôpital Cochin, à Paris.

Une autre perspective intéressante, serait d'étudier le polymorphisme du TLR2 dans le SAPL (6) (117), ainsi que l'implication du TLR8 dans le SAPL obstétrical au vue des données de la littérature (118) (119) (120)

VI. CONCLUSION

Notre travail a permis d'observer un enrichissement significatif des formes mutées des polymorphismes rs4986790(Asp299Gly) et rs4986791(Thr399Ile) du TLR4 chez des patients atteints de SAPL comparativement à un groupe témoin, et chez les patients SAPL secondaire versus SAPL primaire. Ces résultats sont encore préliminaires et méritent d'être confirmés sur une cohorte plus conséquente. La recherche de facteur individuel favorisant la survenue ou la récurrence d'un SAPL revêt un enjeu majeur car la personnalisation du traitement est capitale pour ces patients souvent jeunes dont le seul traitement préventif est le recours à une anticoagulation curative prolongée

BIBLIOGRAPHIE

1. 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*. 2006 Feb;4(2):295–306.
2. Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome. *Lancet Lond Engl*. 2010 Oct 30;376(9751):1498–509.
3. Khamashta MA, Cuadrado MJ, Mujic F, Taub NA, Hunt BJ, Hughes GR. The management of thrombosis in the antiphospholipid-antibody syndrome. *N Engl J Med*. 1995 Apr 13;332(15):993–7.
4. Chen J-Q, Szodoray P, Zeher M. Toll-Like Receptor Pathways in Autoimmune Diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016 Feb;50(1):1–17.
5. Benhamou Y, Favre J, Musette P, Renet S, Thuillez C, Richard V, et al. Toll-like receptors 4 contribute to endothelial injury and inflammation in hemorrhagic shock in mice. *Crit Care Med*. 2009 May;37(5):1724–8.
6. Benhamou Y, Bellien J, Armengol G, Brakenhielm E, Adriouch S, Iacob M, et al. Role of Toll-like receptors 2 and 4 in mediating endothelial dysfunction and arterial remodeling in primary arterial antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2014 Nov;66(11):3210–20.
7. Pierangeli SS, Vega-Ostertag ME, Raschi E, Liu X, Romay-Penabad Z, De Micheli V, et al. Toll-like receptor and antiphospholipid mediated thrombosis: in vivo studies. *Ann Rheum Dis*. 2007 Oct;66(10):1327–33.
8. Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, Zabner J, Kline JN, Jones M, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet*. 2000 Jun;25(2):187–91.
9. Hughes GR, Harris NN, Gharavi AE. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol*. 1986 Jun;13(3):486–9.
10. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette J-C, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: Report of an International workshop. *Arthritis Rheum*. 1999 Jul 1;42(7):1309–11.
11. Piette JC, Frances C. Quelle est la nature des lésions vasculaires du syndrome des antiphospholipides? *Rev Médecine Interne*. 1993 Jun 1;14(6):476–80.
12. Levine JS, Branch DW, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Engl J Med*. 2002 Mar 7;346(10):752–63.
13. Cervera R, Piette J-C, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum*. 2002 Apr;46(4):1019–27.

14. Cervera R, Serrano R, Pons-Estel GJ, Ceberio-Hualde L, Shoenfeld Y, Ramón E de, et al. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 10-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients. *Ann Rheum Dis.* 2015 Jun 1;74(6):1011–8.
15. Asherson RA. The catastrophic antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol.* 1992 Apr;19(4):508–12.
16. Cervera R, Font J, Gómez-Puerta JA, Espinosa G, Cucho M, Bucciarelli S, et al. Validation of the preliminary criteria for the classification of catastrophic antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2005 Aug;64(8):1205–9.
17. Erkan D, Espinosa G, Cervera R. Catastrophic antiphospholipid syndrome: updated diagnostic algorithms. *Autoimmun Rev.* 2010 Dec;10(2):74–9.
18. Costedoat-Chalumeau N, Coutte L, Le Guern V, Morel N, Leroux G, Paule R, et al. [2016 review on catastrophic antiphospholipid syndrome]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 2016 Dec;45(12 Pt 1):1084–92.
19. Rodríguez-Pintó I, Moitinho M, Santacreu I, Shoenfeld Y, Erkan D, Espinosa G, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS): Descriptive analysis of 500 patients from the International CAPS Registry. *Autoimmun Rev.* 2016 Dec;15(12):1120–4.
20. Meroni P-L, Chighizola C. Pathophysiology of the antiphospholipid syndrome (APS). *Rev Med Interne.* 2012 Dec;33 Suppl 2:A2-4.
21. Willis R, Pierangeli SS. Pathophysiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *Auto-Immun Highlights.* 2011 Nov;2(2):35–52.
22. Hörkkö S, Miller E, Branch DW, Palinski W, Witztum JL. The epitopes for some antiphospholipid antibodies are adducts of oxidized phospholipid and beta2 glycoprotein 1 (and other proteins). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Sep 16;94(19):10356–61.
23. Meroni PL, Raschi E, Testoni C, Borghi MO. Endothelial cell activation by antiphospholipid antibodies. *Clin Immunol Orlando Fla.* 2004 Aug;112(2):169–74.
24. Zhang J, McCrae KR. Annexin A2 mediates endothelial cell activation by antiphospholipid/anti-beta2 glycoprotein I antibodies. *Blood.* 2005 Mar 1;105(5):1964–9.
25. de Groot PG, van Lummel M, Pennings M, Urbanus R, Bas de Laat H, Lenting PJ, et al. Beta2-glycoprotein I and LDL-receptor family members. *Thromb Res.* 2004;114(5–6):455–9.
26. Pennings MTT, van Lummel M, Derksen RHW, Urbanus RT, Romijn RA, Lenting PJ, et al. Interaction of beta2-glycoprotein I with members of the low density lipoprotein receptor family. *J Thromb Haemost JTH.* 2006 Aug;4(8):1680–90.
27. Raschi E, Testoni C, Borghi MO, Fineschi S, Meroni PL. Endothelium activation in the anti-phospholipid syndrome. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother.* 2003 Sep;57(7):282–6.

28. Satta N, Dunoyer-Geindre S, Reber G, Fish RJ, Boehlen F, Kruithof EKO, et al. The role of TLR2 in the inflammatory activation of mouse fibroblasts by human antiphospholipid antibodies. *Blood*. 2007 Feb 15;109(4):1507–14.
29. Pierangeli SS, Vega-Ostertag ME, Raschi E, Liu X, Romay-Penabad Z, De Micheli V, et al. Toll-like receptor and antiphospholipid mediated thrombosis: in vivo studies. *Ann Rheum Dis*. 2007 Oct;66(10):1327–33.
30. Urbanus RT, Siegerink B, Roest M, Rosendaal FR, de Groot PG, Algra A. Antiphospholipid antibodies and risk of myocardial infarction and ischaemic stroke in young women in the RATIO study: a case-control study. *Lancet Neurol*. 2009 Nov;8(11):998–1005.
31. Rao LV, Hoang AD, Rapaport SI. Mechanism and effects of the binding of lupus anticoagulant IgG and prothrombin to surface phospholipid. *Blood*. 1996 Dec 1;88(11):4173–82.
32. Sanmarco M, Alessi MC, Harle JR, Sapin C, Aillaud MF, Gentile S, et al. Antibodies to phosphatidylethanolamine as the only antiphospholipid antibodies found in patients with unexplained thromboses. *Thromb Haemost*. 2001 May;85(5):800–5.
33. Dunoyer-Geindre S, de Moerloose P, Galve-de Rochemonteix B, Reber G, Kruithof EKO. NFkappaB is an essential intermediate in the activation of endothelial cells by anti-beta(2)-glycoprotein 1 antibodies. *Thromb Haemost*. 2002 Nov;88(5):851–7.
34. Vega-Ostertag M, Casper K, Swerlick R, Ferrara D, Harris EN, Pierangeli SS. Involvement of p38 MAPK in the up-regulation of tissue factor on endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum*. 2005 May;52(5):1545–54.
35. Raschi E, Testoni C, Bosisio D, Borghi MO, Koike T, Mantovani A, et al. Role of the MyD88 transduction signaling pathway in endothelial activation by antiphospholipid antibodies. *Blood*. 2003 May 1;101(9):3495–500.
36. Kaplanski G, Cacoub P, Farnarier C, Marin V, Grégoire R, Gatel A, et al. Increased soluble vascular cell adhesion molecule 1 concentrations in patients with primary or systemic lupus erythematosus-related antiphospholipid syndrome: correlations with the severity of thrombosis. *Arthritis Rheum*. 2000 Jan;43(1):55–64.
37. Pierangeli SS, Espinola RG, Liu X, Harris EN. Thrombogenic effects of antiphospholipid antibodies are mediated by intercellular cell adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1, and P-selectin. *Circ Res*. 2001 Feb 2;88(2):245–50.
38. Kinev AV, Roubey R a. S. Tissue factor in the antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2008 Oct;17(10):952–8.
39. Ahmed K, Vianna JL, Khamashta MA, Hughes GR. IL-2, IL-6 and TNF levels in primary antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 1992 Oct;10(5):503.
40. de Laat B, Wu X-X, van Lummel M, Derksen RHW, de Groot PG, Rand JH. Correlation between antiphospholipid antibodies that recognize domain I of beta2-glycoprotein I and a reduction in the anticoagulant activity of annexin A5. *Blood*. 2007 Feb 15;109(4):1490–4.

41. Cesarman-Maus G, Ríos-Luna NP, Deora AB, Huang B, Villa R, Cravioto M del C, et al. Autoantibodies against the fibrinolytic receptor, annexin 2, in antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2006 Jun 1;107(11):4375–82.
42. Adams MJ, Donohoe S, Mackie IJ, Machin SJ. Anti-tissue factor pathway inhibitor activity in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol*. 2001 Aug;114(2):375–9.
43. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood*. 2003 Mar 1;101(5):1827–32.
44. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Testa S, Fierro T, Marongiu F, et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood*. 2011 Oct 27;118(17):4714–8.
45. Moulis G, Audemard-Verger A, Arnaud L, Luxembourger C, Montastruc F, Gaman AM, et al. Risk of thrombosis in patients with primary immune thrombocytopenia and antiphospholipid antibodies: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev*. 2016 Mar;15(3):203–9.
46. Wahl DG, Guillemin F, de Maistre E, Perret-Guillaume C, Lecompte T, Thibaut G. Meta-analysis of the risk of venous thrombosis in individuals with antiphospholipid antibodies without underlying autoimmune disease or previous thrombosis. *Lupus*. 1998;7(1):15–22.
47. Schulman S, Svenungsson E, Granqvist S. Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. Duration of Anticoagulation Study Group. *Am J Med*. 1998 Apr;104(4):332–8.
48. Mustonen P, Lehtonen KV, Javela K, Puurunen M. Persistent antiphospholipid antibody (aPL) in asymptomatic carriers as a risk factor for future thrombotic events: a nationwide prospective study. *Lupus*. 2014 Dec;23(14):1468–76.
49. Galli M. Antiphospholipid antibodies and thrombosis: do test patterns identify the patients' risk? *Thromb Res*. 2004;114(5–6):597–601.
50. Rodriguez-Garcia JL, Bertolaccini ML, Cuadrado MJ, Sanna G, Ateka-Barrutia O, Khamashta MA. Clinical manifestations of antiphospholipid syndrome (APS) with and without antiphospholipid antibodies (the so-called 'seronegative APS'). *Ann Rheum Dis*. 2012 Feb;71(2):242–4.
51. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ*. 2005 Mar 12;330(7491):565.
52. Nodler J, Moolamalla SR, Ledger EM, Nuwayhid BS, Mulla ZD. Elevated antiphospholipid antibody titers and adverse pregnancy outcomes: analysis of a population-based hospital dataset. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2009 Mar 16;9:11.
53. Opatrny L, David M, Kahn SR, Shrier I, Rey E. Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a metaanalysis. *J Rheumatol*. 2006 Nov;33(11):2214–21.

54. Ruffatti A, Tonello M, Visentin MS, Bontadi A, Hoxha A, De Carolis S, et al. Risk factors for pregnancy failure in patients with anti-phospholipid syndrome treated with conventional therapies: a multicentre, case-control study. *Rheumatol Oxf Engl*. 2011 Sep;50(9):1684–9.
55. Ruiz-Irastorza G, Cuadrado MJ, Ruiz-Arruza I, Brey R, Crowther M, Derksen R, et al. Evidence-based recommendations for the prevention and long-term management of thrombosis in antiphospholipid antibody-positive patients: report of a task force at the 13th International Congress on antiphospholipid antibodies. *Lupus*. 2011 Feb;20(2):206–18.
56. Erkan D, Harrison MJ, Levy R, Peterson M, Petri M, Sammaritano L, et al. Aspirin for primary thrombosis prevention in the antiphospholipid syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in asymptomatic antiphospholipid antibody-positive individuals. *Arthritis Rheum*. 2007 Jul;56(7):2382–91.
57. Arnaud L, Mathian A, Devilliers H, Ruffatti A, Tektonidou M, Forastiero R, et al. Patient-level analysis of five international cohorts further confirms the efficacy of aspirin for the primary prevention of thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies. *Autoimmun Rev*. 2015 Mar;14(3):192–200.
58. Tektonidou MG, Laskari K, Panagiotakos DB, Moutsopoulos HM. Risk factors for thrombosis and primary thrombosis prevention in patients with systemic lupus erythematosus with or without antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum*. 2009 Jan 15;61(1):29–36.
59. Tarr T, Lakos G, Bhattoa HP, Soltesz P, Shoenfeld Y, Szegedi G, et al. Clinical thrombotic manifestations in SLE patients with and without antiphospholipid antibodies: a 5-year follow-up. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2007 Apr;32(2):131–7.
60. Wahl DG, Bounameaux H, de Moerloose P, Sarasin FP. Prophylactic antithrombotic therapy for patients with systemic lupus erythematosus with or without antiphospholipid antibodies: do the benefits outweigh the risks? A decision analysis. *Arch Intern Med*. 2000 Jul 10;160(13):2042–8.
61. Ruiz-Irastorza G, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Khamashta MA. Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Ann Rheum Dis*. 2010 Jan;69(1):20–8.
62. Szymezak J, Ankri A, Fischer A-M, Darnige L. [Hydroxychloroquine: a new therapeutic approach to the thrombotic manifestations of antiphospholipid syndrome]. *Rev Med Interne*. 2010 Dec;31(12):854–7.
63. Rosove MH, Brewer PM. Antiphospholipid thrombosis: clinical course after the first thrombotic event in 70 patients. *Ann Intern Med*. 1992 Aug 15;117(4):303–8.
64. Crowther MA, Ginsberg JS, Julian J, Denburg J, Hirsh J, Douketis J, et al. A comparison of two intensities of warfarin for the prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid antibody syndrome. *N Engl J Med*. 2003 Sep 18;349(12):1133–8.
65. Finazzi G, Marchioli R, Brancaccio V, Schinco P, Wisloff F, Musial J, et al. A randomized clinical trial of high-intensity warfarin vs. conventional antithrombotic therapy for the

- prevention of recurrent thrombosis in patients with the antiphospholipid syndrome (WAPS). *J Thromb Haemost JTH*. 2005 May;3(5):848–53.
66. Ruiz-Irastorza G, Hunt BJ, Khamashta MA. A systematic review of secondary thromboprophylaxis in patients with antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum*. 2007 Dec 15;57(8):1487–95.
 67. Kearon C, Gent M, Hirsh J, Weitz J, Kovacs MJ, Anderson DR, et al. A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 1999 Mar 25;340(12):901–7.
 68. Glynn RJ, Danielson E, Fonseca FAH, Genest J, Gotto AM, Kastelein JJP, et al. A randomized trial of rosuvastatin in the prevention of venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2009 Apr 30;360(18):1851–61.
 69. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Testa S, Fierro T, Marongiu F, et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood*. 2011 Oct 27;118(17):4714–8.
 70. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood*. 2003 Mar 1;101(5):1827–32.
 71. Tektonidou MG, Laskari K, Panagiotakos DB, Moutsopoulos HM. Risk factors for thrombosis and primary thrombosis prevention in patients with systemic lupus erythematosus with or without antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum*. 2009 Jan 15;61(1):29–36.
 72. Erkan D, Aguiar CL, Andrade D, Cohen H, Cuadrado MJ, Danowski A, et al. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies: task force report on antiphospholipid syndrome treatment trends. *Autoimmun Rev*. 2014 Jun;13(6):685–96.
 73. Erkan D, Vega J, Ramón G, Kozora E, Lockshin MD. A pilot open-label phase II trial of rituximab for non-criteria manifestations of antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum*. 2013 Feb;65(2):464–71.
 74. Pons I, Espinosa G, Cervera R. [Efficacy and safety of rituximab in the treatment of primary antiphospholipid syndrome: analysis of 24 cases from the bibliography review]. *Med Clin (Barc)*. 2015 Feb 2;144(3):97–104.
 75. Cohen H, Hunt BJ, Efthymiou M, Arachchillage DRJ, Mackie IJ, Clawson S, et al. Rivaroxaban versus warfarin to treat patients with thrombotic antiphospholipid syndrome, with or without systemic lupus erythematosus (RAPS): a randomised, controlled, open-label, phase 2/3, non-inferiority trial. *Lancet Haematol*. 2016 Sep;3(9):e426-436.
 76. Pengo V, Banzato A, Bison E, Zoppellaro G, Padayattil Jose S, Denas G. Efficacy and safety of rivaroxaban vs warfarin in high-risk patients with antiphospholipid syndrome: Rationale and design of the Trial on Rivaroxaban in AntiPhospholipid Syndrome (TRAPS) trial. *Lupus*. 2016 Mar;25(3):301–6.
 77. Woller SC, Stevens SM, Kaplan DA, Branch DW, Aston VT, Wilson EL, et al. Apixaban for the Secondary Prevention of Thrombosis Among Patients With Antiphospholipid

- Syndrome: Study Rationale and Design (ASTRO-APS). *Clin Appl Thromb Off J Int Acad Clin Appl Thromb*. 2016 Apr;22(3):239–47.
78. Bucciarelli S, Cervera R, Espinosa G, Gómez-Puerta JA, Ramos-Casals M, Font J. Mortality in the catastrophic antiphospholipid syndrome: causes of death and prognostic factors. *Autoimmun Rev*. 2006 Dec;6(2):72–5.
 79. Sciascia S, Giachino O, Roccatello D. Prevention of thrombosis relapse in antiphospholipid syndrome patients refractory to conventional therapy using intravenous immunoglobulin. *Clin Exp Rheumatol*. 2012 Jun;30(3):409–13.
 80. Berman H, Rodríguez-Pintó I, Cervera R, Morel N, Costedoat-Chalumeau N, Erkan D, et al. Rituximab use in the catastrophic antiphospholipid syndrome: descriptive analysis of the CAPS registry patients receiving rituximab. *Autoimmun Rev*. 2013 Sep;12(11):1085–90.
 81. Shapira I, Andrade D, Allen SL, Salmon JE. Brief report: induction of sustained remission in recurrent catastrophic antiphospholipid syndrome via inhibition of terminal complement with eculizumab. *Arthritis Rheum*. 2012 Aug;64(8):2719–23.
 82. Kronbichler A, Frank R, Kirschfink M, Szilágyi Á, Csuka D, Prohászka Z, et al. Efficacy of eculizumab in a patient with immunoadsorption-dependent catastrophic antiphospholipid syndrome: a case report. *Medicine (Baltimore)*. 2014 Nov;93(26):e143.
 83. Strakhan M, Hurtado-Sbordoni M, Galeas N, Bakirhan K, Alexis K, Elrafei T. 36-year-old female with catastrophic antiphospholipid syndrome treated with eculizumab: a case report and review of literature. *Case Rep Hematol*. 2014;2014:704371.
 84. Zikos TA, Sokolove J, Ahuja N, Berube C. Eculizumab Induces Sustained Remission in a Patient With Refractory Primary Catastrophic Antiphospholipid Syndrome. *J Clin Rheumatol Pract Rep Rheum Musculoskelet Dis*. 2015 Sep;21(6):311–3.
 85. Ziakas PD, Pavlou M, Voulgarelis M. Heparin treatment in antiphospholipid syndrome with recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2010 Jun;115(6):1256–62.
 86. Mak A, Cheung MW-L, Cheak AA, Ho RC-M. Combination of heparin and aspirin is superior to aspirin alone in enhancing live births in patients with recurrent pregnancy loss and positive anti-phospholipid antibodies: a meta-analysis of randomized controlled trials and meta-regression. *Rheumatol Oxf Engl*. 2010 Feb;49(2):281–8.
 87. Hashimoto C, Hudson KL, Anderson KV. The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell*. 1988 Jan 29;52(2):269–79.
 88. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*. 1996 Sep 20;86(6):973–83.
 89. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997 Jul 24;388(6640):394–7.

90. Abdelsadik A, Trad A. Toll-like receptors on the fork roads between innate and adaptive immunity. *Hum Immunol*. 2011 Dec;72(12):1188–93.
91. Takeda K, Akira S. Toll-like receptors. *Curr Protoc Immunol*. 2015 Apr 1;109:14.12.1-10.
92. Essakalli M, Atouf O, Bennani N, Benseffaj N, Ouadghiri S, Brick C. [Toll-like receptors]. *Pathol Biol (Paris)*. 2009 Jul;57(5):430–8.
93. Strober W, Murray PJ, Kitani A, Watanabe T. Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2. *Nat Rev Immunol*. 2006 Jan;6(1):9–20.
94. O’Neill LAJ, Bowie AG. The family of five: TIR-domain-containing adaptors in Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*. 2007 May;7(5):353–64.
95. Kawai T, Akira S. Toll-like receptor downstream signaling. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(1):12–9.
96. Drexler SK, Foxwell BM. The role of toll-like receptors in chronic inflammation. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010 Apr;42(4):506–18.
97. Xu D, Liu H, Komai-Koma M. Direct and indirect role of Toll-like receptors in T cell mediated immunity. *Cell Mol Immunol*. 2004 Aug;1(4):239–46.
98. Park BS, Song DH, Kim HM, Choi B-S, Lee H, Lee J-O. The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature*. 2009 Apr 30;458(7242):1191–5.
99. Nagai Y, Akashi S, Nagafuku M, Ogata M, Iwakura Y, Akira S, et al. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. *Nat Immunol*. 2002 Jul;3(7):667–72.
100. Imler JL, Hoffmann JA. Toll receptors in innate immunity. *Trends Cell Biol*. 2001 Jul;11(7):304–11.
101. Pulendran B. Modulating vaccine responses with dendritic cells and Toll-like receptors. *Immunol Rev*. 2004 Jun;199:227–50.
102. Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2000;18:767–811.
103. Pasare C, Medzhitov R. Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature*. 2005 Nov 17;438(7066):364–8.
104. Barr TA, Brown S, Ryan G, Zhao J, Gray D. TLR-mediated stimulation of APC: Distinct cytokine responses of B cells and dendritic cells. *Eur J Immunol*. 2007 Nov;37(11):3040–53.
105. Levy S, Sutton G, Ng PC, Feuk L, Halpern AL, Walenz BP, et al. The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS Biol*. 2007 Sep 4;5(10):e254.
106. Cristofaro P, Opal SM. Role of Toll-like receptors in infection and immunity: clinical implications. *Drugs*. 2006;66(1):15–29.

107. Tsan M-F. Toll-like receptors, inflammation and cancer. *Semin Cancer Biol.* 2006 Feb;16(1):32–7.
108. Rakoff-Nahoum S, Medzhitov R. Toll-like receptors and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2009 Jan;9(1):57–63.
109. Borghi MO, Raschi E, Grossi C, Chighizola CB, Meroni PL. Toll-like receptor 4 and β 2 glycoprotein I interaction on endothelial cells. *Lupus.* 2014 Oct;23(12):1302–4.
110. Zhou H, Yan Y, Xu G, Zhou B, Wen H, Guo D, et al. Toll-like receptor (TLR)-4 mediates anti- β 2GPI/ β 2GPI-induced tissue factor expression in THP-1 cells. *Clin Exp Immunol.* 2011 Feb;163(2):189–98.
111. Pasterkamp G, Van Keulen JK, De Kleijn DPV. Role of Toll-like receptor 4 in the initiation and progression of atherosclerotic disease. *Eur J Clin Invest.* 2004 May;34(5):328–34.
112. Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T, Sanjo H, Ogawa T, Takeda Y, et al. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1999 Apr 1;162(7):3749–52.
113. Liu B, Yang Y, Dai J, Medzhitov R, Freudenberg MA, Zhang PL, et al. TLR4 up-regulation at protein or gene level is pathogenic for lupus-like autoimmune disease. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2006 Nov 15;177(10):6880–8.
114. Lartigue A, Colliou N, Calbo S, François A, Jacquot S, Arnoult C, et al. Critical role of TLR2 and TLR4 in autoantibody production and glomerulonephritis in *lpr* mutation-induced mouse lupus. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2009 Nov 15;183(10):6207–16.
115. Devaraj S, Dasu MR, Park SH, Jialal I. Increased levels of ligands of Toll-like receptors 2 and 4 in type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2009 Aug;52(8):1665–8.
116. Zaharieva ET, Kamenov ZA, Savov AS. TLR4 polymorphisms seem not to be associated with prediabetes and type 2 diabetes but predispose to diabetic retinopathy; TLR4 polymorphisms in glucose continuum. *Endocr Regul.* 2017 Jul 1;51(3):137–44.
117. Kaiser R, Tang LF, Taylor KE, Sterba K, Nititham J, Brown EE, et al. A polymorphism in TLR2 is associated with arterial thrombosis in a multiethnic population of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* 2014 Jul;66(7):1882–7.
118. Hurst J, Prinz N, Lorenz M, Bauer S, Chapman J, Lackner KJ, et al. TLR7 and TLR8 ligands and antiphospholipid antibodies show synergistic effects on the induction of IL-1 β and caspase-1 in monocytes and dendritic cells. *Immunobiology.* 2009;214(8):683–91.
119. Döring Y, Hurst J, Lorenz M, Prinz N, Clemens N, Drechsler MD, et al. Human antiphospholipid antibodies induce TNF α in monocytes via Toll-like receptor 8. *Immunobiology.* 2010 Mar;215(3):230–41.

120. Gysler SM, Mulla MJ, Guerra M, Brosens JJ, Salmon JE, Chamley LW, et al. Antiphospholipid antibody-induced miR-146a-3p drives trophoblast interleukin-8 secretion through activation of Toll-like receptor 8. *Mol Hum Reprod*. 2016 Jul;22(7):465–74.
121. Saadoun D, Piette J-C, Wahl D, Costedoat-Chalumeau N. [Management of antiphospholipid syndrome]. *Rev Med Interne*. 2012 Apr;33(4):217–22.
122. Roth J, Blatteis CM. Mechanisms of fever production and lysis: lessons from experimental LPS fever. *Compr Physiol*. 2014 Oct;4(4):1563–604.

ANNEXES

Recommandations pour la prévention et la prise en charge à long terme des thromboses chez les patients ayant des anticorps antiphospholipides^a.

Recommandations (niveau des recommandations)

Recommandations générales pour les patients ayant des aPL

Un contrôle strict des facteurs de risque cardiovasculaires devrait être obtenu chez tous les patients avec un profil d'aPL à haut risque (non coté)

Les auteurs recommandent que tous les patients ayant des aPL aient une thromboprophylaxie par HBPM préventive en cas de chirurgie, immobilisation prolongée et de post-partum (1C)

Prévention primaire des thromboses chez les patients lupiques ayant des aPL

Les patients lupiques devraient avoir des recherches régulières d'aPL (non coté)

Les auteurs recommandent que les patients ayant un lupus et soit un ACC, soit des aCL persistants à un taux moyen ou élevé, aient une thromboprophylaxie par hydroxychloroquine (1B) et aspirine à dose antiagrégante (2B)^b

Prévention primaire des thromboses chez les patients ayant des aPL sans lupus associé

Les auteurs suggèrent que les patients ayant un profil d'aPL à haut risque (et plus particulièrement ceux ayant d'autres facteurs de risque de thrombose) aient une thromboprophylaxie par aspirine à dose antiagrégante (2C)

Prophylaxie secondaire des thromboses

Les auteurs recommandent que les patients ayant une thrombose veineuse ou artérielle et des aPL ne remplissant pas les critères de classification pour le SAPL (donc ayant des titres faibles ou des aPL non persistants), soient pris en charge de la même façon que s'ils n'avaient pas d'aPL (1C)

Les auteurs recommandent que les patients ayant un SAPL défini et un premier épisode de thrombose veineuse reçoivent des AVK avec un objectif d'INR entre 2 et 3 (1B)

Les patients ayant un SAPL défini et une thrombose artérielle devraient être traités par AVK avec un objectif d'INR supérieur à 3 ou par aspirine à dose antiagrégante et AVK avec un objectif d'INR entre 2 et 3^c (non coté du fait d'un manque de consensus)

Une estimation du risque hémorragique devrait être faite avant de prescrire des AVK avec un objectif d'INR supérieur à 3 ou une combinaison d'aspirine et d'AVK (non coté)

Les patients non lupiques, ayant un premier épisode d'AVC (embols d'origine cardiaque exclus) avec un profil d'aPL à faible risque et ayant un facteur déclenchant réversible, pourraient être traités par aspirine à dose antiagrégante (non coté)

Durée du traitement

Les auteurs recommandent que les patients ayant un SAPL défini avec thrombose soient traités de façon indéfinie par anticoagulants (1C)

En cas de premier épisode de thrombose veineuse avec un profil d'aPL à faible risque et avec un facteur déclenchant identifié et transitoire, l'anticoagulation pourrait être limitée à 3 à 6 mois (non coté)

Cas difficiles ou résistants

Pour les patients dont la prise en charge est difficile du fait de thromboses récidivantes, de fluctuations de l'INR, de saignement majeur ou de risque important de saignements graves, les alternatives thérapeutiques pourraient comporter les traitements par HBPM au long cours, l'hydroxychloroquine ou les statines (non coté)

Tableau 12 : Recommandations pour la prévention et prise en charge à long terme des thromboses chez les patients ayant des anticorps anti-phospholipides, selon Saadoun et *al.* (121)

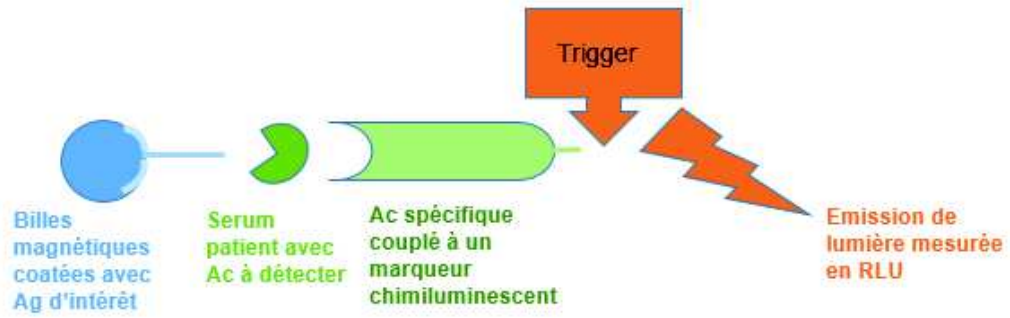


Figure 5: Principe de la technique par chimie-luminescence

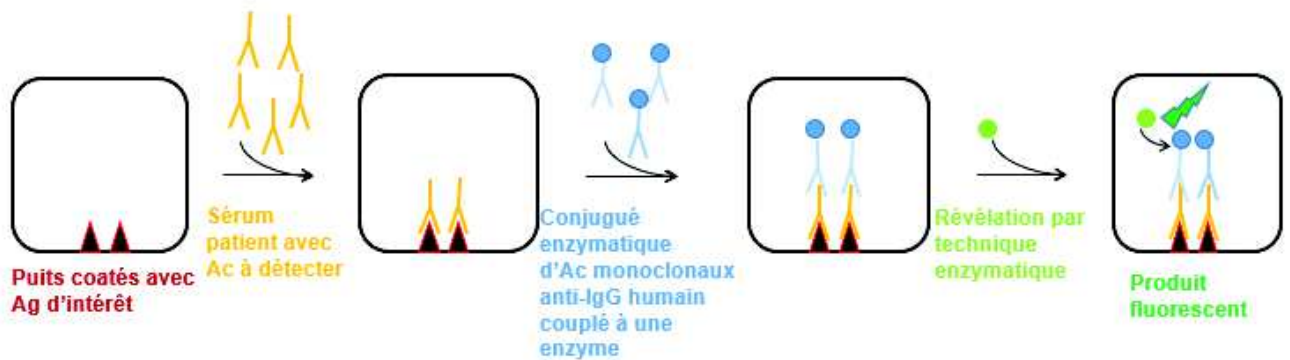


Figure 6 : Principe de la technique par ELISA

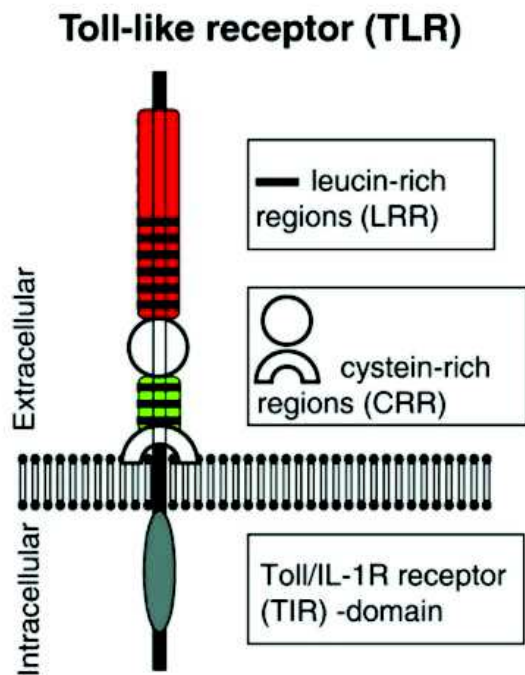
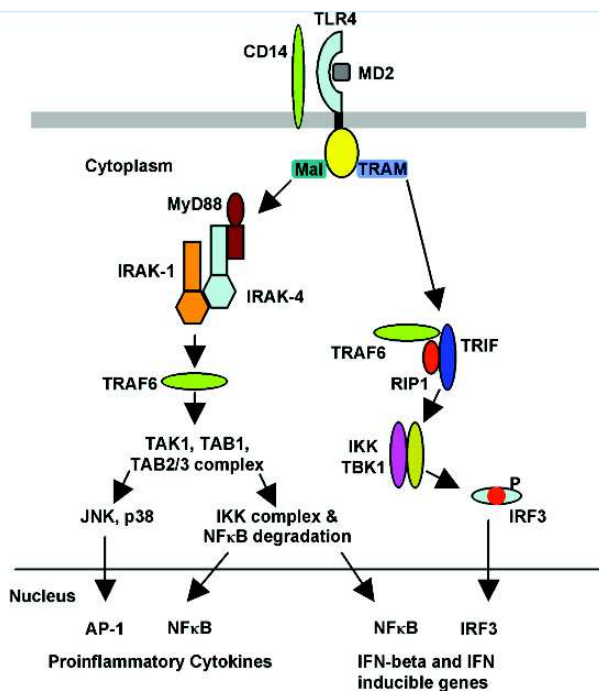


Figure 7: Structure du TLR, selon Roth et Blatteis. (122)



<i>Auteurs et années</i>	<i>TLR</i>	<i>Conclusions</i>
Rashi 2003	MyD88/TLR4	1 ^{ère} étude à décrire l'implication de la voie MyD88 dépendante après stimulation par des aPL.
Sorice 2007	TLR4	Présence de l'annexine 2 et de la β 2GPI à la surface des rafts lipidiques issus des monocytes. Recrutement du TLR4 dans les raft après stimulation par les aPL ou le LPS permettant l'activation des monocytes (phosphorylation de IRAK).
Pierrangeli 2007	TLR4	Augmentation de la taille du thrombus et de l'adhésion leucocytaire dans un modèle e souris après stimulation par des aPL et injection de LPS. Diminution de ces effets dans des souris LPS-/- suggérant un rôle clé du TLR4.
Mulla 2009	TLR4	Augmentation de l'expression de IL8, MCP-1, IL1- β par les trophoblastes après incubation avec les aPL. Absence de cette expression sur des trophoblastes "dominant négatifs" pour MyD88 et TLR4
Lambrianides 2010	TLR4	Augmentation de l'activité du facteur tissulaire après incubation des monocytes avec des aPL. Réduction de 45% de cette activité en présence d'un antagoniste du TLR4 (<i>E.Coli</i> K12 msbB LPS) et de 22% en présence d'un anticorps anti-TLR2.
Satta 2011	TLR2	Activation des monocytes (expression et activité du FT) et des cellules endothéliales (expression de la E-selectine) par 19 des 31 aPL testés. Ces effets disparaissent en présence d'un anti-TLR2 mais pas en présence d'un anti-TLR4.
Zhou 2011	TLR4	Mise en évidence d'un complexe annexine 2-TLR4 MD-2 responsable de l'augmentation de l'activité et de l'expression du FT après incubation avec les aPL. Si inhibition de MD-2 par le paclitaxel, aucune augmentation du facteur tissulaire est observée
Prinz 2011	TLR7/TLR8	L'utilisation de trois anticorps aPL monoclonaux induit le transfert des TLR7 (cellules dendritiques) et TLR8

		(monocytes) du réticulum endoplasmique vers l'endosome, et active la NADPH oxydase endosomiale, aboutissant à la production d'anions superoxyde.
Benhamou 2014	TLR2/TLR4	Activation de la voie TLR chez les patients SAPL avec augmentation de l'expression de l'ARNm TLR-2 et TLR-4, et augmentation d'IRAK-1 qui permet l'activation de facteur de transcription. L'expression de TLR-2 et de TLR-4 était plus élevée chez les patients SAPL que chez les témoins, avec des anomalies des différents paramètres structurels vasculaires. L'injection d'aPL chez des souris WT a mis en évidence une dysfonction endothéliale et une augmentation de l'expression de TF, ce qui n'a pas été retrouvé chez les souris TLR-2-KO ou TLR-4-KO
Kaiser 2014	TLR2	Génotypage de 77SNP de 10 gènes codant TLR2,4,7 et 9, chez 3587 patients atteints de lupus. En analyse combinée, le SNP rs893629 du TLR2 était significativement associé à des thromboses artérielles chez les patients lupiques étudiés.
Gysler 2016	TLR8	Les aPL augmentaient l'expression de mi ARN146a-5p, miARN156a-3p, miR-155 et miR-210 à la surface des cellules trophoblastiques, via TLR4. miR-146a-3p régulait la sécrétion de l'interleukine-8 en activant le capteur d'ARN de TLR8. Les patientes avec SAPL obstétricaux exprimaient significativement plus de miARN156a-3p circulant que les sujets sains.
Azuma 2016	TLR2/TLR4	Cultures de cellules trophoblastiques de premier trimestre avec IgG obtenue à partir d'un sérum avec anticorps anti β -GP1 positif et d'un sérum négatif. Analyse des cytokines dans le surnageant et utilisation d'anticorps monoclonaux anti-TLR2 ou TLR4. La production de cytokines (IL-6 et IL-8), était plus importante en réponse au serum anti-B2-Gp1 positif qu'au sérum négatif. La sécrétion de cytokines à partir des cellules trophoblastiques a diminué lorsque le TLR a été bloqué avec des anticorps anti-TLR2 monoclonaux de souris et anti-TLR4

Tableau 13: Tableau récapitulatif des études cliniques impliquant les TLR au cours du SAPL

RESUME

Introduction : Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) est caractérisé par la survenue de thromboses et d'évènements obstétricaux pouvant engager le pronostic vital. Une meilleure compréhension de sa physiopathogénie permettrait de stratifier le risque thrombotique. Les récepteurs Toll-like (TLR), acteurs de l'immunité innée, sont impliqués dans de nombreuses maladies auto-immunes. Le TLR4 joue un rôle dans la régulation de la dysfonction endothéliale et deux de ses polymorphismes, SNP rs4986790(Asp299Gly) et SNP rs4986791(Thr399Ile), ont été étudiés. L'objectif principal de notre travail était d'étudier le polymorphisme du TLR4 dans une cohorte de patients atteints de SAPL comparativement à un groupe témoin. L'objectif secondaire était de comparer les caractéristiques cliniques des patients SAPL en fonction de leur polymorphisme du TLR4.

Patients et méthodes : Il s'agit d'une étude monocentrique rétrospective au sein du CHU de Rouen. L'inclusion des patients atteints de SAPL ou porteurs de « SAPL biologique » reposait sur la DNA-thèque d'exploration de TCA allongé et bilan de thrombophilie de 1999 à 2016, et sur des patients issus de consultations de janvier 2016 à juillet 2017. L'ADN de ces derniers a été extrait après signature d'un consentement éclairé. Un groupe de témoins indemnes de SAPL a été constitué. Les SNP rs4986790 et rs4986791 du TLR4 ont été analysés par PCR-temps réel avec identification des formes sauvages ou des formes mutées.

Résultats : Au total 87 patients ont été inclus, dont 14 patients porteurs de « SAPL biologique » et 73 patients atteints de SAPL. Le groupe témoin était constitué de 70 patients. Au sein de la cohorte de SAPL, le sex ratio était de 1:3 et l'âge moyen au diagnostic de 42 +/- 14 ans. Les SAPL primaires étaient au nombre de 49 (67%), et les SAPL secondaires au nombre de 24 (33%). L'étude du polymorphisme de TLR4 dans le groupe SAPL versus groupe témoin a mis en évidence une augmentation significative des SNP mutés dans le groupe SAPL (N=15 (21%) comparativement au groupe témoin (N=5 (7%), p= 0,03). La prévalence de la forme mutée du SNP était significativement augmentée chez les patients SAPL secondaires comparativement aux SAPL primaires (N=9 (60%) versus N=6 (40%), p=0,03).

Conclusion : Nos résultats font évoquer un rôle pathogène de la forme mutée des SNP rs4986790(Asp299Gly) et rs4986791(Thr399Ile) du TLR4 dans le SAPL. Cette donnée pourrait permettre de mieux évaluer le risque thrombotique et la balance bénéfico-risque d'une anticoagulation prolongée chez certains patients et permettre une prise en charge personnalisée.

Mots clés : Syndrome des anti-phospholipides, immunité innée, polymorphisme du TLR4

RESUME

Introduction : Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) est caractérisé par la survenue de thromboses et d'évènements obstétricaux pouvant engager le pronostic vital. Une meilleure compréhension de sa physiopathogénie permettrait de stratifier le risque thrombotique. Les récepteurs Toll-like (TLR), acteurs de l'immunité innée, sont impliqués dans de nombreuses maladies auto-immunes. Le TLR4 joue un rôle dans la régulation de la dysfonction endothéliale et deux de ses polymorphismes, SNP rs4986790(Asp299Gly) et SNP rs4986791(Thr399Ile), ont été étudiés. L'objectif principal de notre travail était d'étudier le polymorphisme du TLR4 dans une cohorte de patients atteints de SAPL comparativement à un groupe témoin. L'objectif secondaire était de comparer les caractéristiques cliniques des patients SAPL en fonction de leur polymorphisme du TLR4.

Patients et méthodes : Il s'agit d'une étude monocentrique rétrospective au sein du CHU de Rouen. L'inclusion des patients atteints de SAPL ou porteurs de « SAPL biologique » reposait sur la DNA-thèque d'exploration de TCA allongé et bilan de thrombophilie de 1999 à 2016, et sur des patients issus de consultations de janvier 2016 à juillet 2017. L'ADN de ces derniers a été extrait après signature d'un consentement éclairé. Un groupe de témoins indemnes de SAPL a été constitué. Les SNP rs4986790 et rs4986791 du TLR4 ont été analysés par PCR-temps réel avec identification des formes sauvages ou des formes mutées.

Résultats : Au total 87 patients ont été inclus, dont 14 patients porteurs de « SAPL biologique » et 73 patients atteints de SAPL. Le groupe témoin était constitué de 70 patients. Au sein de la cohorte de SAPL, le sex ratio était de 1:3 et l'âge moyen au diagnostic de 42 +/- 14 ans. Les SAPL primaires étaient au nombre de 49 (67%), et les SAPL secondaires au nombre de 24 (33%). L'étude du polymorphisme de TLR4 dans le groupe SAPL versus groupe témoin a mis en évidence une augmentation significative des SNP mutés dans le groupe SAPL (N=15 (21%) comparativement au groupe témoin (N=5 (7%), p= 0,03). La prévalence de la forme mutée du SNP était significativement augmentée chez les patients SAPL secondaires comparativement aux SAPL primaires (N=9 (60%) versus N=6 (40%), p=0,03).

Conclusion : Nos résultats font évoquer un rôle pathogène de la forme mutée des SNP rs4986790(Asp299Gly) et rs4986791(Thr399Ile) du TLR4 dans le SAPL. Cette donnée pourrait permettre de mieux évaluer le risque thrombotique et la balance bénéfice-risque d'une anticoagulation prolongée chez certains patients et permettre une prise en charge personnalisée.

Mots clés : Syndrome des anti-phospholipides, immunité innée, polymorphisme du TLR4