HAL
open science

Dosage de l'annexine A2 au cours du lupus érythémateux systémique

Anne Sagnier

To cite this version:

Anne Sagnier. Dosage de l'annexine A2 au cours du lupus érythémateux systémique. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01941122

HAL Id: dumas-01941122

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01941122v1

Submitted on 30 Nov 2018

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.

Université de Picardie Jules Verne

Faculté de Médecine d'Amiens

Année 2017 N° 2017-136

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Spécialité : Médecine Interne

DOSAGE DE L'ANNEXINE A2 AU COURS DU LUPUS ERYTHEMATEUX SYSTEMIQUE

ANNE SAGNIER

Date de soutenance : 19 octobre 2017

Le président du jury :	**Monsieur le Professeur Pierre DUHAUT**
Les membres du jury :	**Monsieur le Professeur Jean-Pierre MAROLLEAU**
	Monsieur le Professeur Antoine GALMICHE
	Monsieur le Professeur Julien MAIZEL
	Monsieur le Docteur Jean SCHMIDT
Le directeur de thèse :	**Monsieur le Docteur Valéry SALLE**

REMERCIEMENTS

Monsieur le Professeur Pierre DUHAUT

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

(Médecine Interne)

Chef du service de Médecine interne et maladies systémiques

Pôle "Médico-chirurgical digestif, rénal, infectieux, médecine interne et endocrinologie"

(D.R.I.M.E)

Qui me fait l'honneur d'être le président de mon jury de thèse. Veuillez recevoir toute ma gratitude. Je vous remercie encore du temps que vous m'avez accordé pendant ces cinq ans.

Monsieur le Professeur Jean-Pierre MAROLLEAU

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

(Hématologie, transfusion)

Chef du service d'hématologie clinique et de thérapie cellulaire

Chef du Pôle « Oncopôle »

Qui me fait l'honneur de siéger à mon jury de thèse. Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail. Veuillez recevoir toute ma gratitude. Merci encore de m'avoir accueillie un semestre en Hématologie.

Monsieur le Professeur Antoine GALMICHE

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

Centre de biologie humaine - Biologie spécialisée

Qui me fait l'honneur de siéger à mon jury de thèse. Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail. Veuillez recevoir toute ma gratitude. Je vous remercie encore, ainsi que toute votre équipe, de m'avoir accueillie au laboratoire de Biochimie.

Monsieur le Professeur Julien MAIZEL

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

(Réanimation, médecine d'urgence)

Qui me fait l'honneur de siéger à mon jury de thèse. Je te remercie d'avoir accepté de juger mon travail. Je te suis très reconnaissante du temps que tu m'as accordé en garde et pendant ces deux semestres en réanimation, de ton enseignement et tes conseils. Encore merci de m'avoir accueillie dans ton équipe. J'espère ne pas te décevoir.

Monsieur le Docteur Jean SCHMIDT

Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier

Médecine interne

Merci d'avoir accepté de juger mon travail et de me faire l'honneur de siéger à mon jury de thèse. Je ne te remercierai jamais assez pour ta disponibilité et ton aide durant ces derniers mois.

Monsieur le Docteur Valéry SALLE

Praticien Hospitalier

Médecine interne

Je te remercie encore d'avoir été mon directeur de thèse et de m'avoir fait découvrir le monde de la recherche (et toutes les galères qui vont avec !). Merci de m'avoir appris à réaliser les tests ELISA et de m'avoir supervisée au laboratoire. Merci pour ta patience de ces derniers temps, et le soutien dans les périodes difficiles. Merci encore pour tout le temps que tu m'as accordé sans compter durant ces cinq ans d'internat.

Je remercie toutes les personnes qui m'ont permis d'accomplir ce travail :

La Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation : merci à Carl Picard, Data Manager, pour la création de la base de données informatisée ; Jonathan Meynier, Statisticien, pour la réalisation des statistiques, et Lucie Desjardins, chef de projet. Merci de votre disponibilité, votre gentillesse et votre réactivité.

Les techniciens du laboratoire de Biochimie Recherche : merci à Marie-Alix, Coco et Christophe, de m'avoir appris dans la bonne humeur à me servir d'une pipette et du lecteur de plaques. Je remercie encore Marie-Alix pour toute son aide dans la réalisation de ce travail.

La Biobanque de Picardie : merci au personnel de la Biobanque de Picardie pour la gestion et la conservation des prélèvements, en particulier Yves-Edouard Herpe et Adrien Dersigny.

Le Centre de Recherche Clinique : merci au Docteur Sandrine Soriot-Thomas et à Madame Marie-Laurence Lepilliez pour leur aide dans l'inclusion des témoins.

Le service de Biochimie conventionnelle : merci au Dr Françoise Rose-Robert.

Enfin, merci aux patients et aux témoins d'avoir accepté de participer au protocole.

A mes proches

A Maleaume. Tu sais pourquoi.

Papa, Maman, merci de m'avoir toujours soutenue dans les moments difficiles, je n'y serai pas arrivée sans vous.

A mes grands-parents. J'espère pouvoir un jour vous arriver à la cheville.

A Cécile, ma petite sœur, continue à me faire rêver avec ta musique et pester avec tes idées farfelues ! A Marjolaine, ma grande sœur et marraine, Emmanuel et Pierre-François, mes grands frères que j'ai sûrement fait tourner en bourrique plus d'une fois…

A ma famille, mon parrain, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines, Francis. J'ai de la chance de vous avoir.

A mes amis, qui ne m'en ont pas voulu d'avoir été moins disponible ces derniers temps : Maxime, pour son amitié inestimable à laquelle ces mots ne font pas justice ; Rose et Mathilde (nous trois, c'est pour la vie !) ; Gil (encore merci pour toutes les leçons d'humanité, et pour tout le reste) ; Titou ; Romain ; Florie (on repart pour 20 ans ?) ; Léna ; Tiphaine (c'était quand même « un peu » plus long à écrire que les TPE !). A Yann et Cécile, Aurélien, Lysiane et Ben, Céline et Benoit, Laurie et Mika, pour toutes ces fous rires depuis la MPSI et tous ceux à venir.

Aux « cercleux », Sylvain (ma soupape !), Alex (mon chouchou !), Annabelle, Sophie et Julien, Eddy et Gwen, Franklin (copain de galère de St Q !) et Julie, Adeline et Foxy, Tommy, Mariane et Julian, Nina et Wlad.

A Greg, Franck et à tous ceux du JCE SW, pour avoir indirectement changé ma vie…

A tous ceux que je vois moins maintenant, mais que je n'oublie pas.

Aux amitiés inoubliables des « années médecine » :

Mes co-externes et leurs moitiés, Lucie et Seb, Nico et Leslie, Anita et Sylvain, Val et Yacine. Vivement le prochain WE tous ensemble.

A Julie, reste telle que tu es.

A Marie-Adeline (ce premier semestre n'aurait pas été pareil sans toi !) et Matthias, Caroline et Guillaume. Merci pour tout votre soutien.

A Eléonore, mon rayon de soleil de la néphro, tu me manques tellement ! Sans oublier Fred.

A Pauline, ma choupette, merci pour tout, et le mot est faible.

L'équipe de médecine interne :

Merci à toutes les personnes qui ont participé (ou qui voulaient participer) au protocole. Ça n'aurait pas été possible sans vous.

Au **Professeur Jean-Pierre Ducroix** pour son enseignement.

Au **Docteur Amar Smail**. Merci Amar d'avoir été un modèle d'humanité, de professionnalisme et de gentillesse, et d'avoir toujours été disponible, surtout lors du premier semestre et durant ces derniers mois ! Merci encore pour votre aide pendant ces années.

Au **Docteur Julien Desblache** et à **Suleiman**, pour le stage d'externat qui m'a fait choisir la médecine interne à l'ECN.

A mes co-internes, Juliette (merci ma Juju pour tout ce qu'on a partagé pendant ces 5 ans), Myriam (le théâtre, c'est mieux que les diners de labo !), Clément G (même si techniquement c'était un semestre de réa… merci pour ces derniers mois), JD (la première Faro, ça ne s'oublie pas !), Matthieu M (encore merci de m'avoir sauvé la peau en mai avec le topo, tu vois, je ne te l'avais pas encore assez dit), Pauline T, Amandine, Agathe, Audrey, Xavier. Vous avez été des co-internes au top. Fanny, Marc-Antoine, Mathilde, c'était toujours sympa de vous croiser en congrès, en DES ou à l'AJIP.

A mes co-internes de ce dernier semestre, Yohan, Sanja, Maxime A, Micka, pour tout votre soutien. Vous avez été géniaux.

A toute l'équipe paramédicale, les infirmières et les aides-soignantes qui m'ont tant appris, avec une pensée particulière pour Claire, Léonie, Virginie, Assita, qui ont assisté aux galères des premiers jours… sans oublier Mme Cauchefer, Mr Degouy, Martine, Sylvie, et les ASH.

A toute l'équipe d'hôpital de jour : vous êtes toutes fantastiques. Une pensée particulière pour Laïla pour tous les cappuccino !

Aux secrétaires, Brigitte (merci pour tout, sauf les fessées !), Catherine (encore merci d'avoir tapé mes courriers ce semestre), Vanessa, Véronique, Emilie, Martine et Isabelle.

A Delphine, pour son aide et pour le soutien moral.

L'équipe de réanimation médicale :

Au Professeur Slama, Loay, François, Dimitri, Bertrand, Antoine, Thierry, Gaëlle, Clément B, Yoann, Julien Marc, Magalie, Pablo, et aux infirmièr(e)s et aux aide-soignant(e)s. Encore merci pour tout ce que vous m'avez appris pendant ces deux semestres géniaux. Merci pour toute votre bonne humeur. Ça a toujours été un plaisir de travailler avec vous et j'ai hâte de revenir.

Merci à mes co-internes de ces deux semestres, Justine (ma Louloute, tu me manques !), Ariane, Mathieu S (mon foie se souvient encore de la Saint Patrick du semestre d'hémato… merci pour tous les fous-rires, volontaires ou pas !), Lucie M (merci pour tes messages d'encouragement, ça m'a fait tellement plaisir), Jérôme P, Xavier C, Clément G, Christophe, Gagan, Hélène, Nathalie. Merci à tous mes co-internes du DESC.

Les autres services, **parce que l'internat ne s'est pas résumé à la médecine interne et à la réa méd… :**

Mes co-internes, Marie C et Jean-Philippe, ce semestre en gastro n'aurait pas été pareil sans vous ! Iléana, Caroline D, Anne P, Rémi, Younès, Ophélie et Mathilde.

Merci à Benjamin, pour son aide au labo et le soutien moral en ces derniers mois de galère.

Merci à tous les médecins et aux équipes paramédicales qui ont contribué à ma formation, avec une pensée particulière pour le Dr Bachir Henaoui.

Merci à toutes les personnes qui m'ont aidée d'une façon ou d'une autre durant cet internat.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS 3

TABLE DES ILLUSTRATIONS 15

LISTE DES ABREVIATIONS 16

I. INTRODUCTION 18

1- Rappels physiopathologiques sur le Lupus Erythémateux Systémique 18

2- Intérêt des biomarqueurs pour le suivi des patients lupiques 20

3- Annexine A2 21

a. Généralités sur l'Annexine A2 21

b. Annexine A2 et Lupus Erythémateux Systémique 22

II. MATERIEL ET METHODES 25

1- Données cliniques 26

2- Echantillons biologiques 26

3- Méthodologie biologique 27

a. Dosages sériques et urinaires d'Annexine A2 27

b. Détection des anticorps anti-Annexine A2 27

4- Activité de la maladie lupique 28

5- Méthodologie statistique 28

III. RESULTATS 29

1- Caractéristiques cliniques et démographiques des patients et des témoins 29

2- Activité clinico-biologique du LES 34

3- Taux d'Annexine A2 chez les patients et les témoins 35

4- Annexine A2 et phénotype clinique du LES 36

5- Annexine A2 et activité clinico-biologique du LES 38

6- Anticorps anti-Annexine A2 38

IV. DISCUSSION 40

ANNEXES 47

Annexe I : Critères de classification du LES mis à jour par l'ACR en 1997 47

Annexe II : Classification de la néphrite lupique d'après l'ISN/RPS 2003 48

Annexe III : Critères diagnostiques de SAPL selon Miyakis *et al.*, 2006 49

Annexe IV : SLEDAI, Bombardier *et al.*, 1992 50

BIBLIOGRAPHIE 51

RESUME 58
ABSTRACT 59

TABLE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

Figure 1 :	ANXA2 tétramérique	22
Figure 2 :	Diagramme de flux	30
Figure 3 :	Taux d'ANXA2 sérique chez les patients et les témoins	35
Figure 4 :	Taux d'ANXA2 urinaire chez les patients	36
Figure 5 :	IgG anti-ANXA2 chez les patients et les témoins	39
Figure 6 :	IgM anti-ANXA2 chez les patients et les témoins	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :	Caractéristiques cliniques et facteurs de risque cardiovasculaire	30
Tableau 2 :	Fréquence des différentes atteintes cliniques du LES	31
Tableau 3 :	Caractéristiques clinico-biologiques du SAPL au diagnostic	32
Tableau 4 :	Traitements actuels ou antérieurs des patients en rapport avec le LES	33
Tableau 5 :	Critères d'activité biologique du LES	34
Tableau 6 :	Anticorps anti-phospholipides, atteinte rénale histologiquement prouvée, et biologie urinaire des patients porteurs d'un SAPL	37

LISTE DES ABREVIATIONS

ACR : American College of Rheumatology

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AIT : Accident Ischémique Transitoire

ANXA2 : Annexine A2

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

β2GPI : bêta2-glycoprotéineI

BSA : Albumine de Sérum Bovin

CHC : Carcinome Hépato-Cellulaire

CHU-AP : Centre Hospitalier Universitaire Amiens-Picardie

CMV : Cytomégalovirus

CRC : Centre de Recherche Clinique

CRP : Protéine C Réactive

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire

DO : Densité Optique

DS : Déviation Standard

EBV : Ebstein-Barr Virus

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

EULAR : European Ligue Against Rheumatism

HELLP : Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets

HTA : Hypertension artérielle

IFN : Interféron

Ig : Immunoglobulines

IgIV : Immunoglobulines intra-veineuses

IMC : Indice de Masse Corporelle

ISN/RPS : International Society of Nephrology/Renal Pathology Society

kD : kilo Dalton

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

LES : Lupus Erythémateux Systémique

LNP : Lupus neuropsychiatrique

MDRD : Modification of Diet in Renal Disease

NAPL : Néphropathie associée aux anticorps anti-phospholipides

NETs : Neutrophil Extracellular Traps

NL : Néphrite lupique

NFS : Numération Formule Sanguine

PAMP : Motifs moléculaires associés aux pathogènes

PBR : Ponction-Biopsie Rénale

PBS : Tampon phosphate salin

PNN : Polynucléaires Neutrophiles

SAPL : Syndrome des Anti-Phospholipides

SLEDAI : Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index

TLR : Récepteurs de type Toll

TMB : Tétraméthylbenzidine

I. INTRODUCTION

1- Rappels physiopathologiques sur le Lupus Erythémateux Systémique

Le Lupus Erythémateux Systémique (LES) est une maladie auto-immune chronique dont la prévalence brute française a été estimée à 47/100.000 habitants en 2010, avec un pic observé à 138,8/100.000 habitants chez les femmes de 40 à 49 ans et à 22,3/100.000 habitants chez les hommes de 60 à 69 ans (1). Le LES touche principalement les femmes jeunes avec un sex ratio atteignant 13 femmes pour un homme chez les 20-29 ans (1).

Sa physiopathologie est complexe et multifactorielle, impliquant un dérèglement de l'immunité innée et adaptative et l'action de facteurs environnementaux (rayons ultra-violets, tabagisme, médicaments, infections virales – notamment à EBV et CMV – par mimétisme moléculaire, certains produits chimiques…) sur un terrain de susceptibilité génétique (2,3). Les mécanismes physiopathologiques résultent également d'interactions entre immunité innée et adaptative (3). Les récepteurs de type Toll (TLR) reconnaissent des motifs moléculaires conservés présents chez de nombreux pathogènes (PAMP : motifs moléculaires associés aux pathogènes) (4). La reconnaissance d'acides nucléiques endogènes par certains récepteurs intracytoplasmiques (TLR7, TLR9) au niveau des cellules dendritiques plasmacytoïdes est responsable de la sécrétion d'interféron de type I et de multiples cytokines (3). Il en résulte une activation des lymphocytes B et T, qui participent à l'auto-réactivité (4) : les cellules B et T produisent respectivement des auto-anticorps, et l'interleukine 17 contribuant au recrutement des cellules inflammatoires (3).

Au cours du LES, il existe une apoptose anormale ou excessive et/ou un défaut de clairance des corps apoptotiques par les macrophages (4), notamment en cas de déficit en fraction C1q du complément d'origine génétique (5). Il en résulte la production de cytokines pro-inflammatoires (dont l'interféron α) par les macrophages et les cellules dendritiques, et l'augmentation de la présentation par les cellules dendritiques d'auto-antigènes apoptotiques tels que l'ADN (acide désoxyribonucléique) natif, les nucléosomes, les protéines SSA, SSB et les phospholipides (4,6,7). Les auto-antigènes lupiques proviendraient également d'un excès de NETs (Neutrophil Extracellular Traps) constitués de longs filaments de chromatine contenant de l'ADN, résultant de la mort cellulaire des polynucléaires neutrophiles (PNN) (4).

De la perte de tolérance contre ces auto-antigènes, découlent l'activation des lymphocytes T puis B auto-réactifs, lymphoprolifération, production d'une myriade d'auto-

anticorps polyclonaux par les lymphocytes B, dépôt de complexes immuns, et inflammation tissulaire systémique (6,8,9).

Parmi ces auto-anticorps polyclonaux, les auto-anticorps anti-nucléaires sont quasiment constants : ils comprennent notamment les Immunoglobulines (Ig) G anti-ADN natif, caractéristiques et spécifiques du LES (4,10), et dont la présentation est associée à la présence de l'haplotype HLA-DR3 (impliqué dans la présentation antigénique) (4,11).

Les mécanismes lésionnels tissulaires au cours du LES sont multiples. Bien qu'un large spectre d'auto-anticorps puisse être présent au cours du LES, quelques auto-anticorps contribuent spécifiquement au dommage tissulaire, tels que les anticorps dirigés contre les leucocytes, les plaquettes et les globules rouges, induisant des cytopénies ; on peut aussi citer les anti-ADN natif à l'origine de la néphrite lupique, ou encore les anticorps anti-phospholipides causant des événements thrombotiques. La formation et le dépôt de complexes immuns (résultant de la fixation des auto-anticorps à des auto-antigènes) dans les tissus initient la réaction inflammatoire *via* l'activation de la voie classique du complément (4). De même, les cytokines pro-inflammatoires sécrétées suite à l'activation des cellules de l'immunité innée (macrophages, cellules dendritiques, PNN) en réponse à l'accumulation de débris cellulaires issus de l'apoptose, ont un effet pathogène dans les tissus (4). Il existe également des lésions vasculaires dues soit à un mécanisme thrombotique impliquant les anti-phospholipides, soit à une agression endothéliale secondaire à l'activation du système immunitaire et à l'action des médiateurs inflammatoires solubles (4).

Il existe donc une grande variabilité clinique et biologique intra et inter-individuelle des patients lupiques. Entre 1990 et 2000, il a été relevé à partir de la cohorte prospective Euro-Lupus les principales manifestations cliniques et biologiques de 1000 patients lupiques, ainsi que leur fréquence. Ont ainsi été observés chez les patients atteints de LES : arthrite (48,1%), rash malaire (31,1%), néphropathie (27,9%), photosensibilité (22,9%), atteinte neurologique (19,4%), fièvre (16,6%), phénomène de Raynaud (16,3%), sérite (16%), thrombopénie (13,4%), ulcérations orales (12,5%), thrombose (9,2%), lésions discoïdes (7,8%), livedo reticularis (7%), lésions cutanées subaiguës (6,7%), anémie hémolytique (4,8%), myosite (4,3%) (12).

L'évolution de la maladie lupique n'est pas linéaire : elle est entrecoupée de poussées qui surviennent parfois sans facteur déclenchant évident (13). Ces poussées et le traitement qui en découle, peuvent conduire à des atteintes d'organes parfois sévères (13,14), et la qualité de vie est significativement altérée chez les patients avec une maladie active (15). Les atteintes neuropsychiatriques, rénales et vasculaires sont particulièrement redoutées ; les atteintes

cutanéo-articulaires, bien que n'engageant pas le pronostic vital, ne sont pas à négliger en raison du préjudice esthétique potentiel, et du retentissement sur la vie quotidienne, notamment en termes d'absentéisme au travail (16). De plus, la survie des patients atteints de LES, bien qu'en augmentation, reste cependant moins bonne que celle de la population générale (2).

2- Intérêt des biomarqueurs pour le suivi des patients lupiques

Le monitorage de l'activité de la maladie lupique est donc nécessaire pour en optimiser le suivi et le traitement. L'European Ligue Against Rheumatism (EULAR) suggère d'ailleurs d'utiliser à chaque visite au moins un index validé de mesure d'activité de la maladie lupique (17). Outre les signes cliniques de poussée lupique, il faut mesurer l'activité biologique, jusqu'à 15% des patients lupiques étant cliniquement inactifs mais « sérologiquement » actifs (18). Les dosages biologiques sanguins réalisés en routine pour le suivi des patients lupiques sont la numération formule sanguine (NFS) et les plaquettes, la vitesse de sédimentation, la protéine C-réactive (CRP), la créatininémie avec estimation du débit de filtration glomérulaire (DFG), les fractions C3, C4 et CH50 du complément, et les anticorps anti-ADN natif. Les dosages urinaires effectués en routine sont la recherche d'anomalies du sédiment urinaire, la protéinurie, et le rapport protéinurie/créatininurie (19). Ces biomarqueurs conventionnels, y compris les anticorps anti-ADN natif, sont inconstants (20,21), et, quand ils sont positifs, ne permettent pas toujours de distinguer une atteinte aigue d'organe due à une poussée lupique (et donc potentiellement réversible), d'une atteinte chronique parfois irréversible (19).

Prenons l'exemple de la néphrite lupique : diagnostiquée à temps, elle constitue une cause curable d'insuffisance rénale (22). Or, si la mise en évidence d'une consommation des fractions C3 et C4 du complément, d'une élévation du taux d'anticorps anti-ADN natif, d'une protéinurie et d'anomalies du sédiment urinaire est corrélée à l'activité de la maladie rénale, seule la protéinurie est corrélée à l'atteinte rénale elle-même (19). De plus, les études portant sur ces biomarqueurs trouvent des résultats négatifs ou équivoques en ce qui concerne la prédiction des poussées de néphrite lupique, et la corrélation à l'histologie rénale (19). La ponction-biopsie rénale reste donc le *gold-standard* du diagnostic et de la classification de l'atteinte rénale, mais ses complications potentielles rendent difficile la répétition de cet examen chez un même malade (19,23). De même, l'étude des cytokines et des biomarqueurs d'atteinte neurologique (tels que les anticorps anti-NR2) dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) au cours du neurolupus n'est actuellement ni recommandée, ni réalisable en pratique (24). Idéalement, il faudrait privilégier des biomarqueurs sanguins (et/ou urinaires le cas échéant) spécifiques de

l'atteinte d'organe suspectée, le dosage de ces biomarqueurs étant plus facilement accepté par les patients que la réalisation de prélèvements invasifs (20). De plus, dans le cas de la néphrite lupique, l'analyse urinaire pourrait permettre une meilleure évaluation du micro-environnement rénal que les prélèvements sanguins périphériques (25).

Pour évaluer le LES et notamment la néphrite lupique, de nombreux biomarqueurs sanguins et/ou urinaires potentiels ont donc été étudiés, tels que des cytokines, des chémokines, des molécules d'adhésion et des facteurs de croissance (18–20,23), mais peu ont été testés à but pronostique, et peu ont été validés par des études de grand effectif (19).

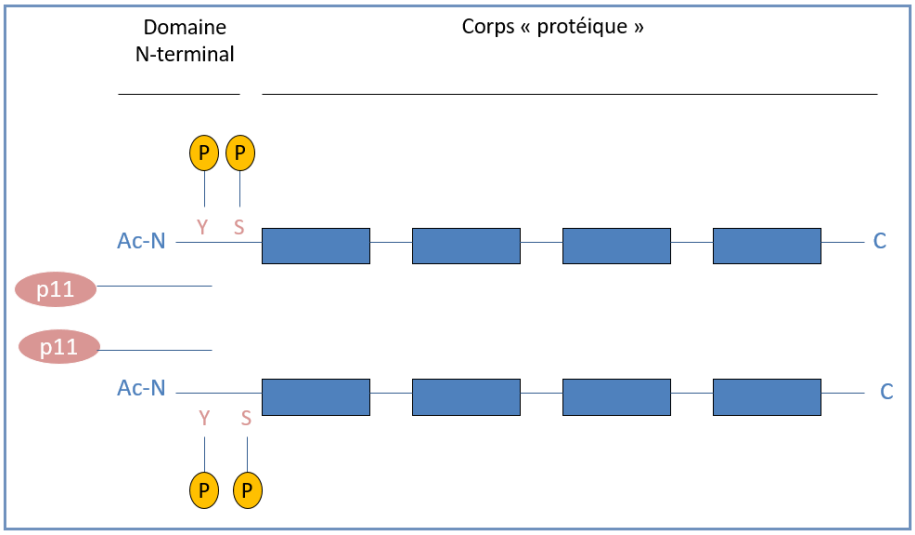
3- L'Annexine A2

a. Généralités sur l'Annexine A2

L'Annexine A2 (ANXA2) est une protéine de 36 kD appartenant à la superfamille des annexines, qui sont des protéines liant les phospholipides de manière dépendante du calcium (26). Elle existe sous forme monomérique et tétramérique (26,27). L'ANXA2 est présente dans de nombreuses cellules de l'organisme : cellules endothéliales, cellules syncytiotrophoblastiques, monocytes, macrophages, cellules mésangiales, certaines cellules tumorales...(26–28). Elle est principalement localisée dans le cytoplasme et la membrane plasmique ; elle est aussi présente en faible proportion dans le noyau cellulaire (26).

Elle comporte un domaine C-terminal (contenant les sites de liaison aux phospholipides membranaires), et un domaine N-terminal pouvant interagir avec différents ligands tels que l'activateur tissulaire du plasminogène, et la protéine S100A10 (également appelée p11) (26). La phosphorylation d'un résidu tyrosine participe à la formation d'un complexe actif avec la protéine S100A10, complexe pouvant être transloqué à l'extérieur de la membrane cellulaire (29). Il existe donc des hétérotétramères constitués de deux protéines S100A10 entourées par deux monomères d'ANXA2 (30). L'ANXA2 tétramérique est représentée en **figure 1**.

Figure 1 : ANXA2 tétramérique



Les rôles biologiques de l'ANXA2 sont multiples : elle est impliquée dans l'inflammation, la fibrinolyse, l'endocytose, l'exocytose, le recyclage des anticorps, la néo-angiogenèse… (26). Des modèles animaux ont permis d'objectiver la présence d'ANXA2 dans des neurones du cortex cérébral et de l'hippocampe ; elle jouerait un rôle dans la transduction des signaux et le remodelage synaptique *via* une association avec les radeaux lipidiques dendritiques (31). Chez l'homme, elle participerait également à la migration cellulaire et à la résistance au traitement quand elle est surexprimée à la surface de certaines cellules cancéreuses (26,32–34). D'autres implications de l'ANXA2 en pathologie humaine ont été suggérées (35).

b. Annexine A2 et Lupus Erythémateux Systémique

Le défaut de clairance des corps apoptotiques est un des principaux mécanismes physiopathologiques du LES ; or, Martin *et al.* ont montré que l'ANXA2 était un des ligands de la fraction C1q du complément à la surface des cellules apoptotiques (5).

L'ANXA2 a aussi été identifiée comme un nouvel auto-antigène au cours du syndrome des anti-phospholipides (SAPL) (36,37), caractérisé par l'association d'une manifestation clinique de thrombose vasculaire et/ou de morbidité obstétricale, et la présence à au moins douze semaines d'intervalle d'un anticoagulant circulant de type lupique et/ou d'anticorps anti-cardiolipides et/ou anti-bêta2glycoprotéineI (β2GPI) à taux significatifs (38). Or, les anticorps anti-β2GPI activent les cellules endothéliales *via* un complexe de signalisation impliquant

notamment ANXA2, β2GPI et TLR de type 4 (39). D'après Petri, les anticorps anti-β2GPI sont présents chez 32,5% des patients lupiques (40).

De plus, de multiples travaux (sur modèles murins et chez l'homme) ont étudié l'implication des TLR au cours du LES (41). La fixation des auto-antigènes nucléaires sur des TLR spécifiques induit la production de cytokines pro-inflammatoires et d'auto-anticorps pathologiques contribuant aux atteintes d'organes des patients lupiques (8). Chez les adultes lupiques, l'expression des TLR est significativement augmentée, et significativement corrélée à l'activité de la maladie (41–43).

Plusieurs équipes ont objectivé des auto-anticorps anti-ANXA2 (IgM et IgG) par technique ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) chez des patients lupiques. L'équipe de Cesarman-Maus a trouvé une prévalence d'anticorps anti-ANXA2 (à taux significatifs) de 25,8% chez les patients lupiques avec SAPL secondaire, contre 6,3% chez les patients lupiques sans antécédents thrombotiques ($p < 0,001$), 2,1% chez 145 témoins sains, et 0% chez les patients aux antécédents de thrombose non auto-immune (36). Pour Ao *et al.*, la prévalence des IgG anti-ANXA2 était de 21,8% dans le SAPL et 26,8% dans le LES avec thrombose, contre 6,5% chez les patients lupiques n'ayant jamais thrombosé ($p < 0,01$), et 4,2% chez les témoins sains (44). Enfin, Salle *et al.* ont détecté des IgG anti-ANXA2 chez 7,5% des patients atteints de LES (37).

L'ANXA2 est également impliquée dans la néphrite lupique. Il a été montré que les auto-anticorps anti-ADN natif pouvaient se fixer sur l'ANXA2 exprimée par les cellules mésangiales au cours de la néphrite lupique, induisant de ce fait une synthèse d'interleukine 6 et d'ANXA2 (45). De plus, l'ANXA2 est localisée avec les IgG et les dépôts de C3 dans les néphrites lupiques d'origine murine et humaine (45), et l'expression glomérulaire d'ANXA2 est corrélée à la sévérité de la glomérulonéphrite lupique (45). Au cours de cette même étude, des IgG anti-ANXA2 à taux significatifs ont été détectés chez 32,5% des 80 patients présentant une glomérulonéphrite lupique (45). Au cours d'une autre étude portant sur des patients atteints de glomérulonéphrite lupique, Zheng *et al.* ont objectivé des anti-ANXA2 chez 28% des patients ayant une thrombose glomérulaire associée, contre 14,4% en l'absence de thrombose glomérulaire (46). Par ailleurs, une étude française réalisée au Centre Hospitalier Universitaire Amiens-Picardie (CHU-AP) a montré que la présence de lésions vasculaires dans les néphrites lupiques était associée à une augmentation significative de l'expression vasculaire d'ANXA2 (47).

Compte-tenu de son implication au cours du LES, l'ANXA2 pourrait donc représenter un biomarqueur pronostique et d'activité de la maladie lupique. On peut également suspecter, compte-tenu du caractère ubiquitaire de l'ANXA2 et des rôles pathologiques déjà connus, une association entre le taux d'ANXA2 et certains phénotypes de la maladie (atteintes rénale, neurologique, vasculaire...).

A ce jour, l'analyse de la littérature ne trouve pas de travaux ayant étudié les concentrations sériques et urinaires d'ANXA2 chez les patients lupiques. Ainsi il nous a semblé important d'évaluer l'ANXA2 en tant que nouveau biomarqueur de la maladie lupique au cours d'une étude pilote menée au CHU-AP.

L'objectif principal de notre étude était d'évaluer les taux sériques et urinaires d'ANXA2 chez les patients suivis au CHU-AP pour LES quels que soient le stade de la maladie et les traitements antérieurs, et de comparer ces dosages à ceux de témoins appariés par âge et par sexe. Les objectifs secondaires étaient d'une part d'étudier chez les patients la corrélation entre les taux (sériques et/ou urinaires) d'ANXA2, le phénotype clinique du LES, et l'activité clinico-biologique de la maladie lupique ; et, d'autre part, d'étudier chez les patients et les témoins la corrélation entre les taux (sériques et/ou urinaires) d'ANXA2 et les anticorps anti-ANXA2.

II. MATERIEL ET METHODES

Nous avons mené une étude pilote monocentrique dans le service de Médecine Interne du CHU-AP (France) entre le 9 mai 2017 et le 24 août 2017.

Les patients éligibles devaient être âgés d'au moins 18 ans, être affiliés au régime de sécurité sociale, et être atteints de LES possédant au minimum quatre des critères de l'American College of Rheumatology (ACR) 1997 (Annexe I), permettant d'affirmer l'existence d'un LES avec une sensibilité et une spécificité de 96% (48,49).

Les patients ont été recrutés prospectivement au cours d'une consultation (programmée ou en urgence), d'un hôpital de jour ou d'une hospitalisation programmée ou non. Ils recevaient en mains propres une notice d'information dédiée. Quand cela était possible, les modalités de l'étude étaient expliquées au préalable au patient par leur médecin référent et/ou par l'attachée de recherche clinique du service, par téléphone ou lors d'une consultation antérieure. En cas d'impossibilité, cette information était donnée le jour de la consultation ou lors de l'hospitalisation, et un délai de réflexion était proposé aux patients.

Ont été exclus les patients refusant ou étant dans l'incapacité de signer le consentement éclairé, les femmes enceintes, ainsi que les patients porteurs d'un LES induit par des traitements médicamenteux.

Chaque patient inclus a été apparié par âge et par sexe à un témoin rémunéré, recruté par l'intermédiaire du Centre de Recherche Clinique (CRC) du CHU-AP.

Tous les patients et les témoins ont signé le consentement libre, éclairé et écrit pour la participation à l'étude, ainsi que le formulaire d'accord pour la conservation de leurs échantillons biologiques à la Biobanque de Picardie.

Notre étude a reçu l'avis favorable du Comité de Protection des Personnes Ile de France XI le 29 avril 2017. Nous avons obtenu le financement de l'Appel d'offre local 2016 du CHU-AP.

Toutes les données cliniques ont été collectées à l'interrogatoire lors de l'inclusion. Nous avons ensuite consulté le dossier médical des patients (à l'aide du logiciel DxCare ou du dossier papier archivé pour les données antérieures à 2004), et corrigé ou complété les données manquantes le cas échéant.

1- Données cliniques

Nous avons colligé pour l'ensemble des patients et des témoins les données démographiques (âge à l'inclusion, sexe), les facteurs de risque cardiovasculaire (hypertension artérielle, diabète de type II, hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie, tabagisme, surpoids et obésité) et, chez les femmes, les complications obstétricales (fausses couches précoces, mort fœtale *in utero*, prématurité, retard de croissance intra-utérin, pré-éclampsie, éclampsie, et HELLP syndrome). Le surpoids et l'obésité ont été définis par un indice de masse corporelle (IMC) supérieur ou égal à 25 ou 30 kg/m², respectivement.

Nous avons recensé chez les patients lupiques les atteintes suivantes : articulaires, rénales (glomérulonéphrite selon la classification de l'International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) 2003 (Annexe II) (50), tubulopathie ou autre), neurologiques centrales (d'origine thrombotique ou inflammatoire), psychiatriques, et cardiovasculaires. De même, était cherchée l'association à un SAPL selon les critères révisés de Miyakis *et al.* (Annexe III) (38), ainsi que le type de SAPL (veineux, artériel, obstétrical, micro-vasculaire) et la positivité (simple, double ou triple) des anticorps anti-phospholipides.

Nous avons également noté les traitements administrés pour le LES (en cours ou non).

2- Echantillons biologiques

Immédiatement après inclusion, les échantillons biologiques (sang et urine) ont été recueillis à la centrale de prélèvement du CHU-AP site Nord (ou dans le service d'hospitalisation le cas échéant) pour les patients ; les témoins ont été prélevés par l'infirmière du CRC (sur les sites Nord et Sud du CHU-AP). Les patients qui avaient pu être contactés préalablement et qui avaient donné leur accord oral de participation étaient prélevés à jeun.

Nous avons évalué chez les patients et les témoins la créatininémie (avec estimation du DFG), la créatininurie, la protéinurie sur échantillon (avec calcul du rapport créatininurie/protéinurie), et les anomalies du sédiment urinaire. Dans le cadre du suivi systématique de leur maladie lupique, nous avons également dosé chez les patients les anticorps anti-ADN natif et anti-phospholipides (anti-β2GPI, anti-cardiolipides et anticoagulant circulant), et les fractions C3, C4 et CH50 du complément. Ces prélèvements, destinés aux

dosages des biomarqueurs conventionnels, ont été adressés aux laboratoires de Biochimie et d'Immunologie.

Nous avons prélevé chez les patients quatre tubes de 10 millilitres (deux tubes secs, et deux tubes beiges d'urine fraiche) qui ont été acheminés et techniqués dans les 4 heures suivantes (sauf exception) à la Biobanque de Picardie, pour être conservés sous forme de cryotubes à – 80°C, en vue des dosages ultérieurs d'ANXA2, et d'IgG et IgM anti-ANXA2.

3- Méthodologie biologique

a. Dosages sériques et urinaires d'Annexine A2

Les dosages sériques et urinaires d'ANXA2 ont été effectués à l'aide d'un kit commercial ELISA sandwich (CLOUD-CLONE CORP., USA ; lot L170420750) selon la procédure donnée par le fabricant. Les valeurs sont exprimées en ng/ml.

b. Détection des anticorps anti-Annexine A2

Pour la détection de ces anticorps, une méthode ELISA en phase liquide a été mise au point dans le laboratoire de Biochimie Recherche du CHU Amiens-Picardie (Pr Galmiche). 100 µl d'une solution de tampon phosphate salin (PBS) seuls ou contenant l'Annexine A2 recombinante (ABNOVA, Taïwan) à la concentration de 1 µg/ml ont été respectivement déposés dans les puits impairs et pairs de plaques ELISA Nunc Maxisorp (Nunc A/S, Roskilde, Danemark). Après incubation une nuit à +4°C, les plaques ont été lavées 3 fois avec une solution de PBS Tween 0.1% et ont été ensuite saturées avec 200 µl d'une solution de PBS Tween 0.1% et 3% d'albumine de sérum bovin (BSA), puis placées à température ambiante pendant 1h30. Ensuite, après 3 lavages avec une solution de PBS Tween 0.1%, les sérums à tester des patients et des témoins sains ont été dilués au 1/50ème dans une solution contenant du PBS Tween 0.1% et 3% de BSA et ont été déposés en double dans les puits pairs et impairs (100 µl/puits) à température ambiante pendant 1 heure. Comme contrôle positif, nous avons utilisé un anticorps de souris d'isotype IgG1 anti-annexine II (Z014) (Invitrogen, Camarillo, Californie, USA). Après 3 lavages avec une solution de PBS Tween 0.1%, un anticorps de chèvre polyclonal anti-IgG humaine (*Fc-specific*) (Sigma) ou anti-IgM humaine (*µ-chain-specific*) couplé à la péroxydase (Sigma) dilués au 1/5000ème dans une solution de PBS Tween 0.1% et un anticorps de chèvre polyclonal anti-IgG de souris (*whole molecule*) couplé à la peroxydase (Sigma) dilué

au 1/2000ème dans une solution de PBS Tween 0.1% ont été déposés dans les puits à température ambiante pendant 45 minutes (100 µl/puits). Les puits ont ensuite été lavés 3 fois avec une solution de PBS Tween 0.1% et 100 µl d'une solution de tétraméthylbenzidine (TMB) (Sigma) ont été déposés dans les puits. Après 10 minutes d'incubation, la réaction enzymatique a été stoppée en ajoutant dans chaque puits 50 µl d'acide sulfurique H_2SO_4. La densité optique de chaque puits a été déterminée à 450 nm, à l'aide d'un lecteur de microplaques ELISA. Pour chaque sérum étudié, les densités optiques des puits impairs ont été soustraites de celles des puits pairs.

4- Activité de la maladie lupique

Pour évaluer l'activité du LES chez nos patients, nous avons recueilli les items nécessaires au calcul du SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index), index composite validé prenant en compte le taux d'anticorps anti-ADN natif (Annexe IV) (51). Les manifestations décrites étaient prises en compte si elles étaient présentes le jour de l'inclusion ou dans les dix jours précédents (51).

5- Méthodologie statistique

L'ensemble des analyses statistiques a été réalisé avec le logiciel SAS 9.4 (© SAS Institute Inc, USA).

Pour les données démographiques, les variables quantitatives ont été décrites à l'aide de la moyenne ± écart type (DS : Déviation Standard) et/ou de la médiane (minimum - maximum). Les variables qualitatives ont été décrites par leur fréquence.

Les taux sériques d'ANXA2 des patients et des témoins ont été comparés à l'aide du test de Mann-Whitney. Dans le groupe patient, les taux sériques d'ANXA2 ont été corrélés avec les taux urinaires d'ANXA2 à l'aide du coefficient de Spearman. Le test de Mann-Whitney et le coefficient de Spearman ont été utilisés pour comparer les taux sériques et urinaires d'ANXA2 avec les variables qualitatives et quantitatives, respectivement. La normalité des taux d'anticorps anti-ANXA2 des témoins a été testée par le test de Shapiro-Wilk.

Le risque de première espèce a été fixé à 5% pour l'ensemble des analyses statistiques (tests bilatéraux).

III. RESULTATS

1- Caractéristiques cliniques et démographiques des patients et des témoins

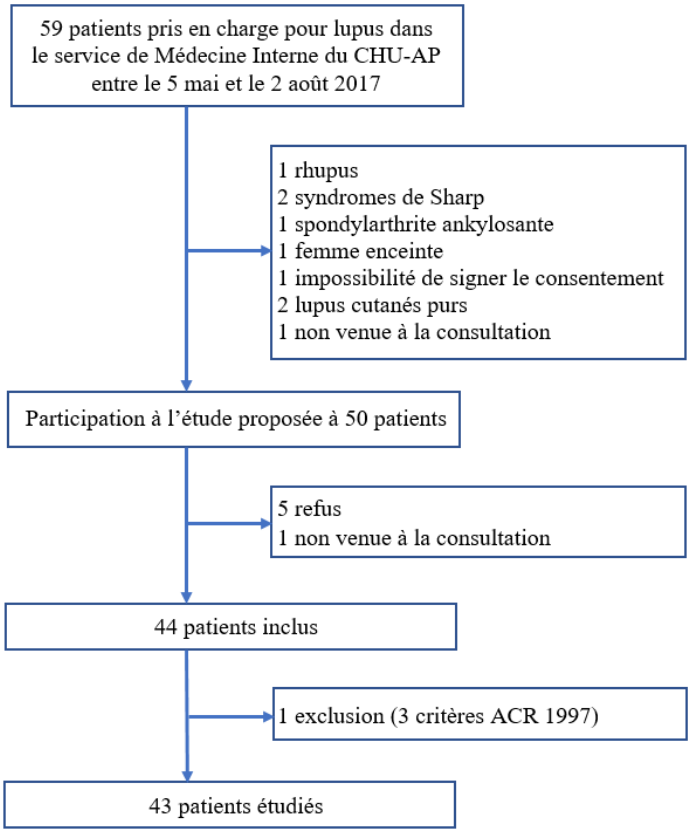
Parmi les 59 patients suivis pour lupus qui ont été pris en charge dans notre service entre le 9 mai et le 2 août 2017, 4 patientes dont le tableau clinique initial avait fait évoquer un LES présentaient en fait d'autres connectivites (un rhupus, deux syndromes de Sharp, et une spondylarthrite ankylosante), 1 patiente était enceinte, et 2 patientes présentaient des lupus cutanés ne possédant pas au moins 4 critères de l'ACR 1997. Une patiente ne s'est pas présentée à son rendez-vous de consultation. Enfin, une patiente avait des troubles cognitifs séquellaires d'une atteinte neurologique de son LES, ce qui ne permettait pas la signature du consentement éclairé.

Nous avons proposé aux 50 patients restants de participer à notre étude : 5 patients ont refusé (3 femmes et 2 hommes), une patiente avait accepté de participer mais ne s'est pas présentée à la consultation. Quarante-quatre patients ont pu être inclus dans notre étude (**figure 2**). Nous avons exclu secondairement une patiente qui, après analyse de certains éléments archivés de son dossier médical dont nous ne disposions pas à la consultation initiale, ne présentait au final que trois critères de l'ACR 1997.

Les patients étudiés étaient en grande majorité des femmes (93,0 %) ; 25,6% des patients étaient en surpoids et 18,6% étaient obèses. L'IMC moyen des patients était à 24,8 kg/m² (± 4,8) ; celui des témoins était à 23,7 kg/m² (± 4,2). L'âge moyen à l'inclusion était de 42,7 ans (± 14,4) pour les patients et 43,7 ans (± 14,6) pour les témoins. Les caractéristiques démographiques et les fréquences des facteurs de risque cardiovasculaire des patients et des témoins sont détaillées dans le **tableau 1**. Les complications obstétricales étaient plus fréquentes chez les patientes (23/40) que les témoins (7/40).

Tous nos patients lupiques avaient une atteinte articulaire. Par ordre de fréquence, venaient ensuite l'atteinte cardiovasculaire (23/43), l'atteinte rénale (14/43, comprenant 10 glomérulonéphrites lupiques histologiquement prouvées, dont une ayant évolué vers une insuffisance rénale terminale ayant nécessité la mise en dialyse), l'atteinte psychiatrique (10/43, dont une forme catatonique ayant nécessité la réalisation de 25 échanges plasmatiques), et l'atteinte neurologique centrale (8/43). Enfin, 11 patients avaient un SAPL associé. Les caractéristiques des atteintes lupiques et du SAPL sont précisées dans les **tableaux 2 et 3.**

Figure 2 : Diagramme de flux



CHU-AP : Centre Hospitalier Universitaire Amiens-Picardie ; ACR : American College of Rheumatology

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques et facteurs de risque cardiovasculaire

	Patients (n = 43)	**Témoins (n = 43)**
Sexe, n (%)		
Femme	40/43 (93%)	40/43 (93%)
Homme	3/43 (7%)	3/43 (7%)
Age à l'inclusion, années – moy (± DS)	42,7 (± 14,4)	43,7 (± 14,6)
IMC, n (%)		
Surpoids (IMC ≥ 25 kg/m²)	11/43 (25,6%)	9/43 (20,9%)
Obésité (IMC ≥ 30 kg/m²)	8/43 (18,6%)	4/43 (9,3%)
Facteurs de risque cardiovasculaire, n (%)		
Tabagisme actif	18/42 (42,9%)	7/43 (16,3%)
Tabagisme sevré	5/42 (11,9%)	3/43 (7%)
HTA	12/43 (27,9%)	4/43 (9,3%)
Hypercholestérolémie	20/43 (46,5%)	3/43 (7%)
Hypertriglycéridémie	13/43 (30,2%)	1/43 (2,3%)
Diabète de type II	1/43 (2,3%)	1/43 (2,3%)
Consommation d'alcool quotidienne	1/42 (2,4%)	1/43 (2,3%)
Consommation d'alcool occasionnelle	22/42 (52,4%)	31/43 (74,4%)

moy : moyenne ; DS : déviation standard ; IMC : indice de masse corporelle ; HTA : hypertension artérielle

Tableau 2 : Fréquence des différentes atteintes cliniques du LES

Atteinte clinique	Nombre (%)
Polyarthrite	**43/43 (100%)**
Atteinte rénale	**14/43 (32,6%)**
Glomérulonéphrite lupique	10/43 (23,3%)
Classe I	0/43 (0%)
Classe II	1/43 (2,3%)
Classe III	2/43 (4,7%)
Classe IV	3/43 (7%)
Classe V	4/43 (9,3%)
Classe VI	0/43 (0%)
Tubulopathie	1/43 (2,3%)
Protéinurie avec refus ou impossibilité d'effectuer une PBR	3/43 (7%)
Atteinte neurologique centrale	**8/43 (18,6%)**
AVC ischémique constitué ou AIT	5/43 (11,6%)
Epilepsie	2/43 (4,7%)
Neurolupus	5/43 (11,6%)
Atteinte psychiatrique	**10/43 (23,3%)**
Catatonie	1/43 (2,3%)
Troubles anxieux	8/43 (18,6%)
Personnalité névrotique	1/43 (2,3%)
Hallucinations	1/43 (2,3%)
Troubles du comportement	1/43 (2,3%)
Autres	2/43 (4,7%)
Atteinte cardiovasculaire	**23/43 (53,5%)**
Myocardite lupique	1/43 (2,3%)
Endocardite lupique	3/43 (7%)
Péricardite lupique	12/43 (27,9%)
Insuffisance coronarienne	3/43 (7%)
Angor	2/43 (4,7%)
Infarctus du myocarde	2/43 (4,7%)
Artériopathie	4/43 (9,3%)
Troncs supra-aortiques	1/43 (2,3%)
Membres inférieurs	1/43 (2,3%)
Aorte	2/43 (4,7%)
Maladie thrombo-embolique veineuse	14/43 (32,6%)
Thrombose veineuse profonde	8/42 (19%)
Thrombose veineuse superficielle	4/42 (9,5%)
Embolie pulmonaire	7/14 (50%)
SAPL associé	**11/43 (25,6%)**

PBR : ponction-biopsie rénale ; AVC : accident vasculaire cérébral ; AIT : accident ischémique transitoire ; SAPL : syndrome des anti-phospholipides.

Tableau 3 : Caractéristiques clinico-biologiques du SAPL au diagnostic

Type de SAPL, n (%)	
Veineux	7/11 (63,3%)
Artériel	4/11 (36,4%)
Obstétrical	5/11 (45,5%)
Microvasculaire	2/11 (18,2%)
Positivité des auto-anticorps, n (%)	
Simple positif	4/11 (36,4%)
Double positif	3/11 (27,3%)
Triple positif	3/11 (27,3%)
Non connue	1/11 (9,1%)

SAPL : syndrome des anti-phospholipides

Concernant les différents traitements pris par les patients à l'inclusion, 23 patients avaient une corticothérapie systémique, 9 patients étaient sous traitement immunosuppresseur, 3 patients avaient un traitement immunomodulateur, et 37 patients prenaient un antipaludéen de synthèse. Les différents traitements sont recensés dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Traitements actuels ou antérieurs des patients en rapport avec le LES

Type de traitement, n (%)		Traitement actuel	Traitement antérieur
Corticothérapie systémique	**42/43 (97,7%)**		
Prednisone	40/43 (93%)	20/43 (46,5%)	20/43 (46,5%)
Prednisolone	2/43 (4,7%)	2/43 (4,7%)	0/43 (0%)
Hydrocortisone	1/43 (2,3%)	0/43 (0%)	1/43 (2,3%)
Methylprednisolone	12/43 (27,9%)	1/43 (2,3%)	11/43 (25,6%)
Anticoagulants	**24/42 (57,1%)**	10/42 (23,8%)	14/42 (33,3%)
Antiagrégants plaquettaires	**24/43 (55,8%)**	12/43 (27,9%)	12/43 (27,9%)
Immunomodulateurs	**6/43 (14%)**		
Thalidomide	4/43 (9,3%)	3/43 (7%)	1/43 (2,3%)
Leflunomide	1/43 (2,3%)	0/43 (0%)	1/43 (2,3%)
Ig IV	1/43 (2,3%)	0/43 (0%)	1/43 (2,3%)
Immunosuppresseurs	**20/43 (46,5%)**		
Cyclophosphamide	6/42 (14,3%)	0/42 (0%)	6/42 (14,3%)
Méthotrexate	7/43 (16,3%)	1/43 (2,3%)	6/43 (14%)
Mycophénolate Mofétil	10/43 (23,3%)	5/43 (11,6%)	5/43 (11,6%)
Azathioprine	6/42 (14,3%)	2/42 (4,8%)	4/42 (9,5%)
Tacrolimus	1/42 (2,4%)	1/42 (2,4%)	0/42 (0%)
Antipaludéens de synthèse	**42/43 (97,7%)**		
Hydroxychloroquine	41/43 (95,3%)	36/43 (83,7%)	5/43 (11,6%)
Chloroquine	5/43 (11,6%)	1/43 (2,3%)	4/43 (9,3%)
Biothérapie	**4/43 (9,3%)**		
Rituximab	3/43 (7%)	0/43 (0%)	3/43 (7%)
Belimumab	1/43 (2,3%)	1/43 (2,3%)	0/43 (0%)
Adalimumab*	1/43 (2,3%)	0/43 (0%)	1/43 (2,3%)
Etanercept*	1/43 (2,3%)	0/43 (0%)	1/43 (2,3%)
Biphosphonates	**12/43 (27,9%)**	2/43 (4,7%)	10/43 (23,3%)

Ig IV : Immunoglobulines intra-veineuses

** patiente ayant reçu de l'Adalimumab et de l'Etanercept pour une atteinte articulaire*

2- Activité clinico-biologique du LES

Le SLEDAI médian était de 5 points (score minimum : 0 points, score maximum : 21 points).

Une patiente avait un DFG < 60 ml/min selon la formule MDRD, et 9 patients avaient un DFG entre 60 et 90 ml/min, parmi lesquels 4 patients avaient une glomérulonéphrite connue. Le rapport protéinurie/créatininurie sur échantillon était anormal dans 19,5% des cas (8/41) ; le seuil retenu était de 30 mg/mmol (66). Parmi les 26 patients ayant eu une recherche d'anomalies du sédiment urinaire, un patient avait une hématurie, 2 patients avaient une leucocyturie, et 2 patients avaient à la fois une leucocyturie et une hématurie. Le complément était consommé dans 71,4% des cas (30/42). Les résultats sont détaillés dans le **tableau 5.**

Tableau 5 : Critères d'activité biologique du LES

Dosages (unité)	**Effectif**	**Moyenne (± DS)**	**Médiane**	**Minimum**	**Maximum**
Sanguins					
Créatininémie (µmol/l)	43	76,0 (± 88,8)	61,0	44,0	639,0
DFG selon MDRD (ml/min)	43	101,0 (± 23,3)	100,0	6,0	141,0
Complément	42				
C3 (g/l)	42	0,82 (± 0,24)	0,81	0,03	1,26
C4 (g/l)	42	0,16 (± 0,07)	0,17	0,01	0,37
CH50 (UI/ml)	42	51,89 (± 14,51)	51,70	16,10	80,50
Urinaires					
Protéinurie (mg/l)	41	479,2 (± 1190,2)	85,0	9,0	5305,0
Protéinurie/créatininurie (mg/mmol)	39	53,9 (± 173,6)	6,1	2,4	884,2
Microalbuminurie/créatininurie (mg/mmol)	19	65,9 (± 179,3)	2,15	0,41	635,0

DFG : Débit de Filtration Glomérulaire ; MDRD : Modelisation of Diet in Renal Disease ; DS : déviation standard ; UI : Unité Internationale

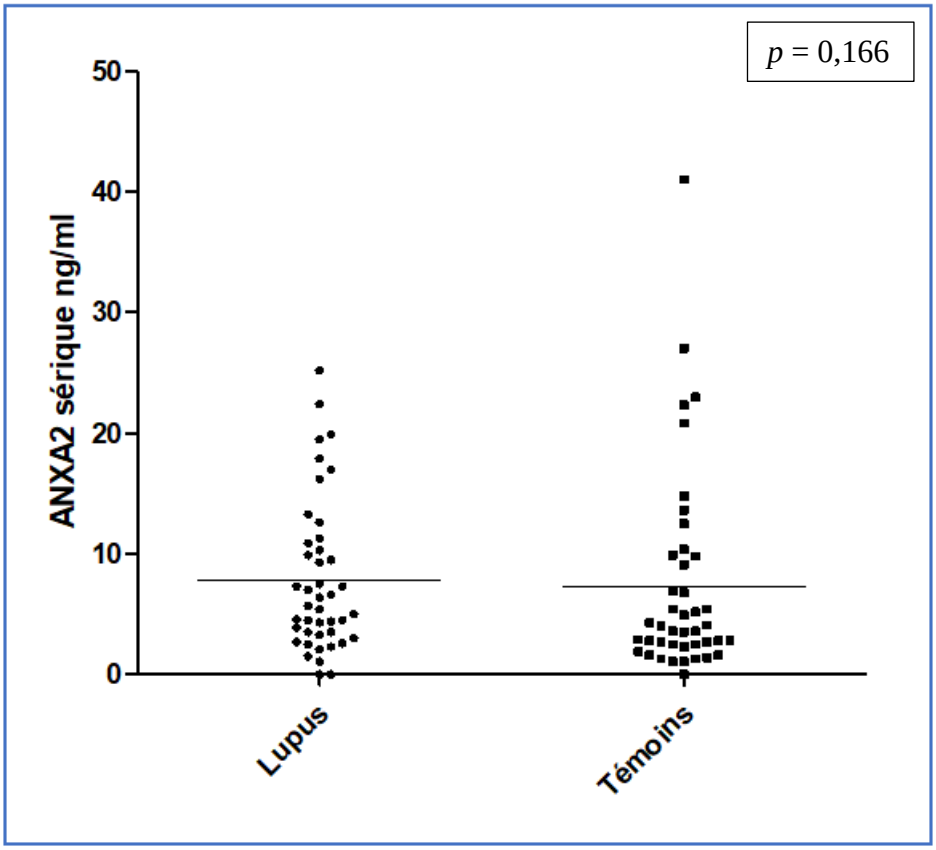
Les anticorps anti-ADN natif étaient supérieurs à la norme du laboratoire (fixée à 15 UI/ml) chez 23,3% des patients (10/43). On note que des IgG et des IgM anti-cardiolipides étaient présentes chez 14,0% et 7,0% des patients, respectivement ; les anticorps anti-β2GPI étaient moins fréquents (IgG et IgM positives respectivement chez 9,3% et 2,3% des patients). Enfin, 7 patients sur 39 possédaient un anticoagulant circulant de type lupique.

3- Taux d'Annexine A2 chez les patients et les témoins

Nous n'avons pas pu doser l'ANXA2 sérique chez 1 témoin, et l'ANXA2 urinaire chez 3 patients. On note qu'une patiente était partie de l'hôpital sans déposer son prélèvement urinaire.

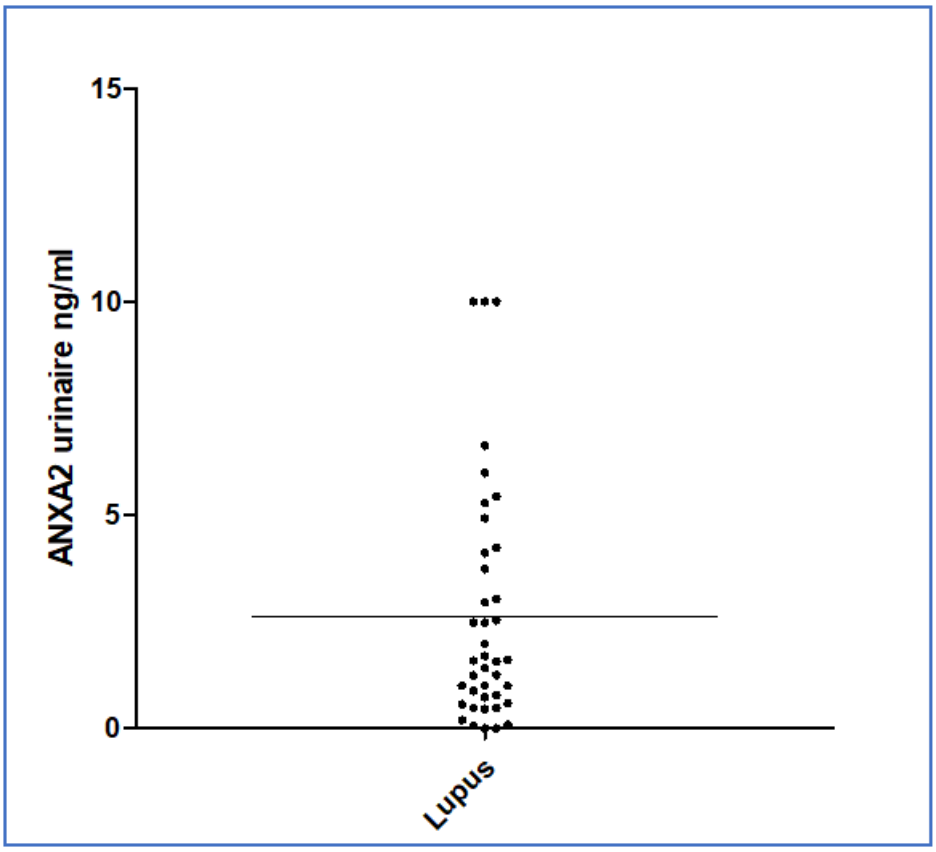
Chez les patients, le taux médian d'ANXA2 sérique était à 5,7 ng/ml (taux minimum à 0 ng/ml ; taux maximum à 25,2 ng/ml). Le taux médian d'ANXA2 sérique des témoins était de 3,8 ng/ml, avec un taux minimum également à 0 ng/ml et un taux maximum à 41,0 ng/ml. Il n'y avait pas de différence significative entre les taux d'ANXA2 sérique des patients et des témoins (p = 0,166 ; **figure 3**).

Figure 3 : Taux d'ANXA2 sérique chez les patients et les témoins



Le taux médian d'ANXA2 urinaire chez les patients était à 1,6 ng/ml (**figure 4** ; taux minimum à 0 ng/ml ; taux maximum à 10 ng/ml, qui correspondait au premier point de dilution de la courbe d'étalonnage). Les taux d'ANXA2 sériques et urinaires des patients n'étaient pas corrélés (p = 0,127).

Figure 4 : Taux d'ANXA2 urinaire chez les patients



4- Annexine A2 et phénotype clinique du LES

Les taux sériques d'ANXA2 n'étaient pas corrélés à l'atteinte rénale (p = 0,817), à l'atteinte neurologique centrale (p = 0,142), à l'atteinte cardiovasculaire (p = 0,818), ni à la présence d'un SAPL (p = 0,069).

Les taux urinaires d'ANXA2 étaient corrélés à l'atteinte neurologique centrale (p = 0,017) et à la présence d'un SAPL (p = 0,045) ; par contre, l'ANXA2 urinaire n'était pas corrélée à l'atteinte rénale (p = 0,187) ni à l'atteinte cardiovasculaire (p = 0,098).

Le bilan biologique sanguin et urinaire des patients porteurs d'un SAPL est détaillé dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : Anticorps anti-phospholipides, atteinte rénale histologiquement prouvée, et biologie urinaire des patients porteurs d'un SAPL

Type de SAPL	Profil des APL au diagnostic	ACL IgG/IgM (U-GPL, U-MPL)	a-β2GP1 IgG/IgM (U/ml)	ACC	DFG (ml/min)	PBR	Protides urinaires (mg/l)	Micro-albuminurie (mg/l)	SU	ANXA2 urinaire (ng/ml)
V	Simple +	N/N	N/N	-	109	Non	85	25,8	NC	10
O	Double +	N/159	N/N	+	93	Non	48	NC	NC	1,7
V/A	Double +	N/N	N/N	-	110	Non	123	10,1	NC	4,9
A	Simple +	N/N	N/N	-	132	GN V	659	NC	N	1,2
V	NC	N/N	N/N	-	62	GN III	3379	2240	N	2,5
V	Double +	N/N	N/N	-	107	Non	85	56,9	NC	2,0
V/A/O	Triple +	137/N	9,2/N	+	121	Oui[1]	56	NC	N	6,6
V/O	Simple +	N/N	N/N	+	131	Non	NC	NC	NC	NC
A/MV	Triple +	33/N	7,3/N	+	92	Non[2]	978	688	N	3,0
O	Simple +	26/N	39/N	+	104	Non	147	44,8	N	1,6
V/O/MV	Triple +	17/N	22/N	NC[3]	9	GN V[4]	NC	NC	NC	NC

SAPL : syndrome des anti-phospholipides ; APL : anticorps anti-phospholipides ; ACL : anticorps anti-cardiolipides ; IgG : Immunoglobulines G ; IgM : Immunoglobulines M ; a-β2GPI : anticorps anti-β2GPI ; ACC : anticoagulant circulant ; DFG : débit de filtration glomérulaire ; PBR : ponction-biopsie rénale ; SU : sédiment urinaire ; ANXA2 : Annexine A2 ; V : veineux ; O : obstétrical ; A : artériel ; MV : microvasculaire ; + : positif ; - : négatif ; N : normal ; NC : non connu ; GN V : glomérulonéphrite de classe V ; GN III : glomérulonéphrite de classe III ;

[1] *Protéinurie pendant 1 an ½, PBR (1990) : discrètes lésions segmentaires mais pas d'immunofixation faite ;*

[2] *Syndrome néphrotique impur, PBR non effectuée à l'époque vu l'impossibilité d'arrêter le traitement anticoagulant ;*

[3] *ACC non recherché devant un surdosage en anti-vitamine K ;*

[4] *Evolution vers une insuffisance rénale terminale ayant nécessité la mise en dialyse ; lésions de SAPL sur la dernière PBR.*

5- Annexine A2 et activité clinico-biologique du LES

Il existe une corrélation entre le SLEDAI et les taux urinaires d'ANXA2 ($\rho = 0,32$, $p = 0,045$), mais cette corrélation n'est pas présente avec les taux sériques d'ANXA2 ($p = 0,293$).

Les taux sériques d'ANXA2 ne sont pas corrélés aux différents marqueurs biologiques d'activité du LES que sont la créatininémie ($p = 0,083$), le DFG ($p = 0,929$), les anticorps anti-ADN natif ($p = 0,248$), le complément ($p = 0,112$ pour la fraction C3, $p = 0,201$ pour la fraction C4, et $p = 0,520$ pour le CH50), la protéinurie ($p = 0,562$), le rapport protéinurie/créatininurie ($p = 0,416$), et la présence d'anomalies du sédiment urinaire ($p = 0,797$).

De même, il n'y a pas de corrélation entre les taux urinaires d'ANXA2 et la créatininémie ($p = 0,769$), le DFG ($p = 0,485$), les anticorps anti-ADN natif ($p = 0,225$), le complément ($p = 0,521$ pour la fraction C3, $p = 0,805$ pour la fraction C4, et $p = 0,716$ pour le CH50), la protéinurie ($p = 0,064$), le rapport protéinurie/créatininurie ($p = 0,110$), et la présence d'anomalies du sédiment urinaire ($p = 0,138$).

6- Anticorps anti-Annexine A2

Les taux d'anticorps anti-ANXA2 sont exprimés en densité optique (DO).

Chez les patients, les taux sanguins d'ANXA2 ne sont corrélés ni avec les IgG anti-ANXA2 ($p = 0,452$), ni avec les IgM anti-ANXA2 ($p = 0,777$). De même, l'ANXA2 urinaire n'est corrélée ni aux IgG, ni aux IgM anti-ANXA2 ($p = 0,145$ et $p = 0, 948$, respectivement).

Chez les témoins, l'ANXA2 sanguine n'est pas corrélée aux IgG ou aux IgM anti-ANXA2 ($p = 0,366$ et $p = 0,614$, respectivement).

Il n'y avait pas de différence significative entre les anticorps anti-ANXA2 des patients et des témoins ($p = 0,076$ pour les IgG, **figure 5** ; $p = 0,193$ pour les IgM, **figure 6**).

La distribution des IgG et des IgM anti-ANXA2 chez les témoins ne suivant pas une distribution normale, nous n'avons pas pu établir de seuil de positivité.

Figure 5 : IgG anti-ANXA2 chez les patients et les témoins

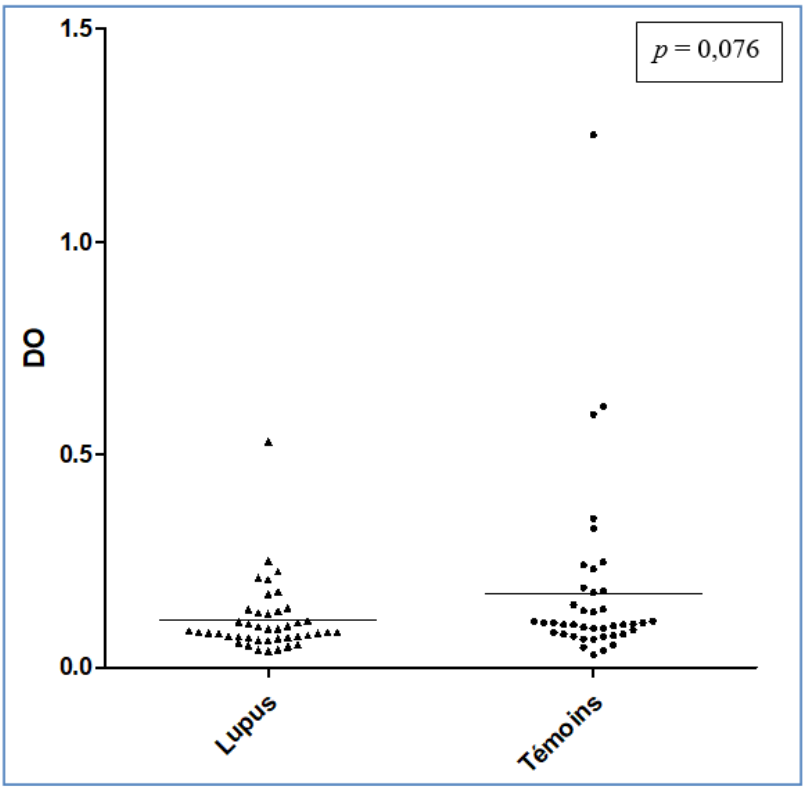
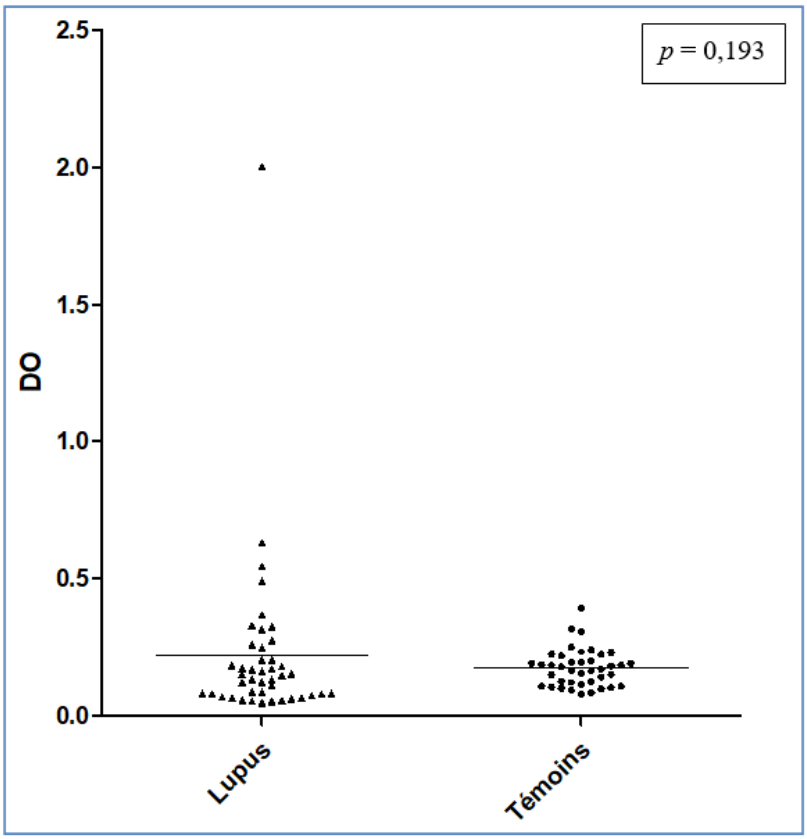


Figure 6 : IgM anti-ANXA2 chez les patients et les témoins



IV. DISCUSSION

Notre étude visait à évaluer l'ANXA2 sérique et urinaire comme biomarqueur potentiel du LES en comparant les taux d'ANXA2 des patients lupiques à ceux de témoins appariés, et en cherchant une corrélation entre les taux d'ANXA2, l'atteinte clinique, et l'activité clinico-biologique du LES.

Nous n'avons pas mis en évidence de différence entre l'ANXA2 sérique des patients et des témoins (p = 0,166). L'ANXA2 sérique a déjà été dosée chez des témoins lors d'études évaluant cette protéine comme biomarqueur de cancer. Yang *et al.* ont montré que les taux sériques d'ANXA2 de 42 patients atteints de cancer bronchique étaient plus élevés que ceux de 43 témoins sains (p < 0,01), mais les auteurs avaient utilisé un kit « maison » (52). Shaker *et al.* ont trouvé des taux élevés d'ANXA2 sérique chez 50 patients présentant un carcinome hépatocellulaire (CHC) au stade précoce compliquant une cirrhose Child-Pugh A ou B, par rapport à 25 patients cirrhotiques sans CHC (taux médian d'ANXA2 à 130 ng/ml avec un intervalle interquartile de [15 - 240], contre 15 ng/ml [15 - 17], p < 0,01) et à 15 témoins sains (taux médian d'ANXA2 sérique à 17 ng/ml [15 - 30], p < 0,01) (53). Ils avaient utilisé un autre kit commercial (53). L'ANXA2 sérique a aussi été évaluée comme marqueur de pré-éclampsie au cours d'une étude comparant 40 femmes suivies pour pré-éclampsie à 40 femmes ayant une grossesse non compliquée (54). Les taux sériques moyens d'ANXA2 étaient plus faibles en cas de pré-éclampsie (0,88 ± 0,38 ng/ml contre 1,06 ± 0,44 ng/ml, p = 0,029) (54). L'ANXA2 sérique a aussi été proposée comme biomarqueur d'insuffisance cardiaque avancée avec des taux moyens plus élevés (2354 ± 218 unités arbitraires) chez les patients comparativement aux témoins (44 ± 6 unités arbitraires, p < 0,05), sur des faibles effectifs (55). Au cours de ces différentes études, les taux différaient significativement entre les patients et les témoins malgré les effectifs restreints. Ceci suggère que l'absence de mise en évidence d'une différence entre les taux sériques d'ANXA2 des patients et des témoins dans notre étude ne serait pas imputable à l'effectif de notre population.

Quelques témoins sains (4 femmes et 1 homme) possédaient des taux d'ANXA2 sérique supérieurs à 20 ng/ml, le taux maximal étant à 41,0 ng/ml. Il est mentionné dans le manuel d'utilisation du kit commercial ELISA sandwich utilisé pour nos dosages d'ANXA2, que ceux-ci ne devaient pas être effectués sur du sérum hémolysé pour ne pas influencer les dosages. Le sérum de ces témoins n'était pas hémolysé, ce qui permet d'écarter ce facteur de confusion

potentiel. On note que ces témoins n'avaient pas d'antécédent de complications obstétricales ou de facteurs de risque cardiovasculaire en dehors d'un éthylisme occasionnel.

Par ailleurs, tous les dosages d'ANXA2 avaient été effectués par la même technicienne de recherche du service de Biochimie Recherche, pour améliorer la reproductibilité.

Nous n'avons pas pu comparer les taux d'ANXA2 urinaire des patients et des témoins. Ces dosages seront réalisés ultérieurement.

L'ANXA2 sérique n'était corrélée à aucun des phénotypes cliniques étudiés chez nos patients, tandis que l'ANXA2 urinaire était corrélée à l'atteinte neurologique centrale (p = 0,017) et à la présence d'un SAPL (p = 0,045). Nous n'avons pas étudié la corrélation entre ANXA2 et atteinte articulaire, cette atteinte étant constante chez nos patients lupiques, ce qui est nettement supérieur aux 48,1% d'arthrites objectivées dans la cohorte Eurolupus (12). Par contre, la prévalence des atteintes rénale (27,9%) et neurologique (19,4%) était globalement similaire à celle de notre étude (32,6% et 18,6%, respectivement) (12).

L'ANXA2 sérique et urinaire n'était pas corrélée à l'atteinte cardiovasculaire dans notre étude. Vingt-trois patients avaient une atteinte cardiovasculaire, parmi lesquels 14 patients avaient au moins un antécédent de thrombose veineuse. L'ANXA2 est pourtant impliquée dans l'homéostasie vasculaire : l'hétérotétramère formé par l'ANXA2 avec la protéine S100A10 à la surface de la cellule endothéliale est un ligand de l'activateur tissulaire du plasminogène et du plasminogène, initiant la fibrinolyse en induisant la formation de plasmine (26,56). Les anticorps anti-ANXA2 sont inducteurs de thrombose chez l'homme (36). Les événements thrombotiques artériels et veineux présentés par nos patients étaient tous antérieurs à l'inclusion et avaient tous été traités, mais il est intéressant de noter que nous avons détecté des IgM anti-ANXA2 à titres élevés chez une de nos patientes ayant un antécédent d'AVC ischémique et d'embolie pulmonaire dans un contexte de SAPL triple positif. Dans une autre étude, Cesarman-Maus *et al.* ont objectivé des anticorps anti-ANXA2 chez 12,5% d'une série de 40 patients présentant une thrombophlébite cérébrale, contre 2,1% chez 145 témoins sains (p < 0,01) ; parmi les 5 patients de cette étude possédant des anticorps anti-ANXA2, seuls une femme et un homme avaient des anticorps anti-phospholipides (57). Il a également été porté à notre connaissance que la patiente avec le taux d'ANXA2 le plus élevé parmi les patients lupiques (25,2 ng/ml) a présenté quelques mois après l'inclusion une thrombophlébite cérébrale ; cette patiente n'est pas connue porteuse de SAPL. Ces éléments nous laissent

supposer que les taux élevés d'ANXA2 pourraient être le reflet d'une dysfonction endothéliale, malgré l'absence de corrélation entre l'ANXA2 et l'atteinte cardiovasculaire dans notre étude.

Concernant l'insuffisance cardiaque, des taux élevés d'ANXA2 ont été détectés chez des patients atteints d'insuffisance cardiaque avancée (55) ; parmi les 3 patients de notre étude ayant un antécédent d'insuffisance coronarienne, aucun n'avait d'insuffisance cardiaque séquellaire.

L'ANXA2 sanguine n'était pas corrélée à la présence d'un SAPL, contrairement à l'ANXA2 urinaire (p = 0,045). 11 patients (1 homme et 10 femmes) étaient porteurs d'un SAPL dans notre étude. Nous n'avons pas pu doser l'ANXA2 urinaire chez deux d'entre elles, dont une patiente dialysée trois fois par semaine pour une insuffisance rénale terminale (**tableau 6**). L'ANXA2 est un auto-antigène connu du SAPL : en effet, l'ANXA2 est un ligand de la protéine β2GPI à la surface des cellules endothéliales et contribue à l'activation de ces dernières par les anticorps anti-β2GPI et les anticorps anti-ANXA2 (36,58–60). L'ANXA2 est impliquée dans les effets thrombogènes *in vivo* et *in vitro* induits par les anticorps anti-phospholipides (60). Romay-Penabad *et al.* ont également montré, dans un modèle de thrombose veineuse fémorale et après injection d'IgG purifiées provenant du sérum d'un patient porteur d'un SAPL triple positif à des souris *knock-out* pour le gène de l'ANXA2, que le thrombus induit était plus petit que dans les souris *wild-type* (p = 0,001) (60).

Aucun de nos patients n'avait présenté récemment de thrombose d'un gros tronc veineux ou artériel et les dosages d'ANXA2 sériques n'ont pas été effectués au cours d'une poussée de SAPL, ce qui pourrait expliquer l'absence de corrélation entre la présence d'un SAPL et les taux d'ANXA2 sérique.

Compte-tenu de la corrélation objectivée entre l'ANXA2 urinaire et le SAPL dans notre étude, nous nous sommes intéressés aux atteintes rénales et aux biomarqueurs urinaires de nos patients possédant un SAPL (**tableau 6**). En effet, une atteinte parenchymateuse rénale peut survenir en cas de SAPL primaire ou secondaire : il s'agit de la néphropathie associée aux anti-phospholipides (NAPL), de présentation aspécifique et d'évolution pouvant être lentement progressive, conduisant à sous-estimer son incidence (61). Silvariño *et al.* ont identifié une prévalence de NAPL de 11,4% sur 79 biopsies rénales de 77 patients atteints de LES (62). La présence à l'histologie d'une hyperplasie intimale fibreuse, d'une atrophie corticale focale ou d'occlusions artériolaires fibreuses suggère une NAPL chronique (62). Il a déjà été objectivé

une fixation intense d'ANXA2 dans les capillaires péritubulaires sur la PBR d'un patient présentant une néphrite lupique de classe III/C avec NAPL (47). Dans notre étude, parmi les 9 patients atteints de SAPL ayant bénéficié d'un dosage d'ANXA2 urinaire, 4 avaient une atteinte rénale connue dont 3 étaient histologiquement prouvées ; la dernière patiente présentait au diagnostic un syndrome néphrotique impur mais n'avait pas pu avoir de PBR en raison de l'impossibilité d'arrêter son traitement anti-coagulant dans un contexte de syndrome catastrophique des anti-phospholipides. Les 5 autres patientes n'avaient pas de protéinurie ; toutes avaient eu une corticothérapie systémique, mais 2 patientes seulement prenaient une corticothérapie à l'inclusion ; et seule une patiente avait eu une recherche d'anomalies du sédiment urinaire s'étant avérée négative. Cependant, 2 patientes (qui n'étaient pas sous corticothérapie à l'inclusion) avaient une microalbuminurie supérieure à 30 mg/l (**tableau 6**), et une d'entre elles, âgée de 32 ans, avait une pression artérielle à 160/90 mmHg à l'inclusion sachant qu'elle n'avait pas d'antécédent connu de diabète ou d'hypertension artérielle. Ceci pourrait, en cas de persistance, suggérer une atteinte rénale débutante. Les biomarqueurs urinaires, provenant directement des tissus lésés, semblent plus prometteurs pour détecter les atteintes rénales (19). Compte-tenu de ces éléments, il pourrait être intéressant d'étudier l'ANXA2 urinaire comme marqueur de NAPL chez les patients atteints de LES.

Chez nos patients lupiques, l'atteinte neurologique centrale était corrélée uniquement à l'ANXA2 urinaire ($p = 0,017$), et n'était pas corrélée à l'ANXA2 sérique. La moitié des patients ayant une atteinte neurologique centrale avaient également un SAPL avec atteinte rénale préalablement connue. La corrélation entre le SAPL et l'ANXA2 urinaire précédemment objectivée explique probablement ce résultat, qui nous conduit cependant à discuter l'implication potentielle de l'ANXA2 dans l'atteinte neurologique centrale du LES.

Parmi les 4 autres patients, seule une patiente avait une forme neurologique « pure » s'étant manifestée par deux AVC ischémiques. Les autres patients avaient en effet des formes neuropsychiatriques dont une atteinte catatonique extrêmement sévère ayant nécessité 25 échanges plasmatiques, et une forme conversive sur un terrain de personnalité névrotique (la présentation initiale évoquait un AVC sylvien ; le diagnostic avait été porté sur la biologie et notamment sur les anomalies de la ponction lombaire, et la normalité de l'IRM). Outre les accidents vasculaires, les céphalées, les méningites aseptiques et les troubles convulsifs, l'atteinte neurologique centrale du LES peut comporter également un syndrome confusionnel aigu, des troubles de l'anxiété, des troubles cognitifs, des troubles de l'humeur et une psychose,

regroupés sous le terme de lupus neuropsychiatrique (LNP) (24). Sa physiopathologie implique deux mécanismes pouvant être intriqués : des lésions vasculaires médiées par les anticorps anti-phospholipides, les complexes immuns et la leuco-agglutination (se traduisant par des accidents ischémiques focaux et une dysfonction cognitive), et une atteinte inflammatoire avec augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, formation intrathécale de complexes immuns, et production de médiateurs inflammatoires tels que l'IFNα (24). Ceci peut induire des atteintes neuropsychiatriques diffuses telles qu'une psychose et un état confusionnel aigu (24). Weiss *et al.* ont objectivé à l'aide d'un modèle animal que la présence d'IgG anti-ANXA2 réduisait significativement les modifications du comportement liées à l'anxiété et à la dépression, et que les IgG anti-ANXA2 étaient localisées au niveau cérébral (63). Un autre modèle animal a permis de quantifier des taux plus élevés d'ANXA2 en cas de schizophrénie comparativement à un groupe contrôle ($p = 0,002$) (64). L'ANXA2 pourrait donc être impliquée dans la physiopathologie de certaines atteintes psychiatriques. Il pourrait être intéressant de doser l'ANXA2 dans le LCR de ces patients, les biomarqueurs de LNP étant étudiés à partir de dosages sanguins et/ou dans le LCR. Il est cependant important de noter que l'ANXA2 ne faisait pas partie des 137 auto-antigènes identifiés par une approche protéomique dans le LCR de patients atteints de LNP (65).

Notre étude n'a pas montré de corrélation entre l'ANXA2 et l'atteinte rénale au cours du LES. L'ANXA2 sérique et urinaire n'était pas non plus corrélée à la présence d'anomalies du sédiment urinaire, à la protéinurie, aux fractions C3 et C4 du complément, ni aux anticorps anti-ADN natif qui sont tous des biomarqueurs corrélés à l'activité de la maladie rénale chez les patients lupiques (19). La micro-albuminurie étant manquante dans plus de la moitié des cas, nous n'avons donc pas étudié sa corrélation avec l'ANXA2 urinaire. De même, l'analyse du sédiment urinaire n'a pas été effectuée chez tous les patients (par oubli ou devant une quantité d'urine insuffisante). De plus, la plupart des prélèvements étaient souillés et ont été considérés comme négatifs, ce qui a très probablement sous-estimé la prévalence réelle des anomalies du sédiment urinaire. Compte-tenu de cette très faible prévalence, nous n'avons pas pu rechercher spécifiquement de corrélation entre l'ANXA2 et la présence d'une hématurie et/ou d'une leucocyturie. Or, la présence de ces anomalies doit faire suspecter une atteinte rénale. Notre étude n'a donc pas identifié de corrélation entre l'ANXA2 et une atteinte rénale lupique connue, mais ne permet pas d'écarter définitivement l'ANXA2 urinaire comme reflet d'une atteinte rénale débutante.

L'activité clinico-biologique du LES évaluée par le SLEDAI n'était pas corrélée à l'ANXA2 sérique dans notre étude. Cependant, il s'agissait d'un prélèvement ponctuel, et la majorité de nos patients avaient une maladie lupique contrôlée et ont été inclus au cours d'une consultation de suivi. On note d'ailleurs que lors de leur inclusion, 9 patients étaient sous traitement immunosuppresseur, une patiente était sous belimumab, 3 patientes étaient sous thalidomide, 37 avaient un antipaludéen de synthèse, et 23 prenaient une corticothérapie systémique. A l'inclusion, seules 4 patientes étaient hospitalisées pour une poussée lupique : deux patientes présentaient une thrombopénie auto-immune et avaient reçu une corticothérapie systémique à fortes doses en bolus dans les jours précédant l'inclusion (et le jour de l'inclusion pour l'une d'entre elles), une patiente a nécessité une majoration de sa corticothérapie per os pour une péricardite peu sévère, et la dernière patiente avait été hospitalisée pour céphalées sévères avec ralentissement psychomoteur. En consultation, deux patients (un homme et une femme) avaient une majoration importante de leur protéinurie justifiant un renforcement de leur traitement au décours. Les autres patients étaient globalement stables en dehors d'arthralgies et de céphalées relativement contrôlées par leur traitement habituel. Le lupus étant une maladie chronique dont l'évolution est marquée par la survenue de poussées, il serait intéressant de doser à nouveau l'ANXA2 sérique chez certains patients pour évaluer la cinétique de l'ANXA2 en fonction de l'évolution clinique de ces patients.

Le SLEDAI était par contre corrélé à l'ANXA2 urinaire (p = 0,045). Dans notre étude, le SLEDAI médian était à 5 points, pour un maximum à 21 points (le maximum théorique est à 105 points, mais le SLEDAI dépasse rarement 45 points) (51). Chez nos patients, le SLEDAI reflétait la présence de céphalées (5/43, dont une patiente ayant également un ralentissement psychomoteur) et d'atteinte rénale (6 protéinuries sévères, 4 leucocyturies et 3 hématuries). Il serait intéressant de regarder si cette corrélation persiste dans les sous-groupes de patients ayant un SAPL associé, pour conforter ces précédents résultats.

Notre étude présente plusieurs limites. Il s'agissait d'une étude monocentrique avec un effectif réduit, ce qui était attendu compte-tenu de la prévalence du LES. De plus, les nombreuses données manquantes concernant la micro-albuminurie et les anomalies du sédiment urinaire ont pu nous conduire à sous-estimer la prévalence de ces anomalies, et par extension le SLEDAI. Il faut également garder en mémoire que les données cliniques du

SLEDAI sont recueillies à partir de l'interrogatoire des patients, ce qui peut conduire à les surestimer ou les sous-estimer.

En conclusion, les taux sériques d'Annexine A2 et les anticorps anti-Annexine A2 de patients suivis dans le service de Médecine Interne du CHU Amiens-Picardie pour un lupus érythémateux systémique ne diffèrent pas de ceux de témoins appariés par âge et par sexe. L'Annexine A2 sérique n'est pas corrélée au phénotype clinique de la maladie lupique ni aux anticorps anti-Annexine A2, et ne semble pas être un marqueur d'activité du LES. L'Annexine A2 urinaire parait plus prometteuse et pourrait avoir un intérêt dans l'évaluation de l'activité du LES, mais aussi comme biomarqueur d'atteinte rénale chez les patients ayant un syndrome des anticorps anti-phospholipides associé au LES. D'autres études seront nécessaires pour confirmer ces données préliminaires.

ANNEXES

Annexe I : Critères de classification du LES proposés par l'ACR en 1982 et mis à jour par l'ACR en 1997 (48,49).

1. Rash malaire
2. Lupus discoïde
3. Photosensibilité
4. Ulcérations orales ou nasopharyngées
5. Arthrite non érosive touchant au moins 2 articulations périphériques, caractérisée par une douleur, un gonflement ou un épanchement
6. Pleurésie ou péricardite
7. Protéinurie persistante > 0,5 g/jour ou cylindrurie
8. Convulsions ou psychose (en l'absence de cause médicamenteuse ou métabolique)
9. Atteinte hématologique :
   - Anémie hémolytique, ou
   - Leucopénie < 4 000/mm^3 constatée à 2 reprises, ou
   - Lymphopénie < 1 500/mm^3 constatée à 2 reprises, ou
   - Thrombopénie < 100 000/mm^3, en l'absence de drogues cytopéniantes ;
10. Titre anormal d'anticorps antinucléaires par immunofluorescence (en l'absence de drogues inductrices)
11. Perturbations immunologiques :
    - Titre anormal d'anticorps anti-ADN natif, ou
    - Présence d'anticorps anti-Sm, ou
    - Présence d'anticorps anti-phospholipides : sérologie syphilitique dissociée constatée à 2 reprises en 6 mois, ou anticoagulant circulant de type lupique, ou titre anormal d'anticorps anti-cardiolipine en IgG ou IgM.

La présence d'au moins quatre des onze critères permet d'affirmer l'existence d'un LES avec une sensibilité et une spécificité de 96%.

Annexe II : Classification de la néphrite lupique (NL) d'après l'ISN/RPS 2003 (50).

Classe I : NL mésangiale minime

Classe II : NL proliférative mésangiale

Classe III : NL proliférative focale (< 50% des glomérules atteints)

- III (A) : lésions actives
- III (A/C) : lésions actives et chroniques
- III (C) : lésions chroniques

Classe IV : NL diffuse (≥ 50% des glomérules atteints)

- IV (A) : lésions actives
- IV (A/C) : lésions actives et chroniques
- IV (C) : lésions chroniques

Classe V : NL extra-membraneuse

Classe VI : Sclérose avancée (≥ 90% des glomérules sclérosés sans activité résiduelle)

Annexe III : Critères diagnostiques de SAPL selon Miyakis *et al.*, 2006 (38).

Critères cliniques :

- *Thrombose vasculaire* : au moins un 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 lors de l'examen anatomopathologique ; la thrombose doit être présente sans qu'il y ait une inflammation vasculaire sous-jacente).

- *Morbidité obstétricale* :

  - Survenue d'au moins une mort fœtale inexpliquée, après la 10ème semaine d'aménorrhée, avec morphologie fœtale normale documentée par une échographie ou par examen macroscopique,

  - Survenue d'au moins une naissance prématurée avant la 34ème semaine d'aménorrhée, d'un fœtus morphologiquement normal, en rapport avec la survenue d'une éclampsie ou d'une pré-éclampsie sévère ou avec démonstration d'une insuffisance placentaire,

  - Survenue d'au moins 3 fausses couches consécutives et inexpliquées avant la 10ème semaine d'aménorrhée, après exclusion d'une anomalie anatomique ou hormonale maternelle et d'une anomalie chromosomique maternelle ou paternelle.

Critères biologiques :

- *Lupus anticoagulant* présent à au moins 2 reprises, à 12 semaines d'intervalle, détecté selon les recommandations de l'International Society of Thrombosis and Hemostasis,

- *Anticorps anti-cardiolipines* (IgG et/ou IgM) présents à au moins 2 reprises, à un titre intermédiaire ou élevé (> 40 U-GPL ou MPL ou > au 99ème percentile) mesuré par une technique ELISA standardisée,

- *Anticorps anti-β2GPI* (IgG ou IgM) présents à un titre > au 99ème 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.

Annexe IV : SLEDAI, Bombardier *et al.*, 1992 (51).

Valeur	Manifestations	Définition	Score
8	**CONVULSION**	Apparition récente. Exclusion des causes métaboliques, infectieuses ou médicamenteuses.	
8	**PSYCHOSE**	Perturbation de l'activité normale en rapport avec une altération sévère de la perception de la réalité. Comprend : hallucinations, incohérence, appauvrissement du contenu de la pensée, raisonnement illogique, comportement bizarre, désorganisé ou catatonique. Exclusion d'une insuffisance rénale ou d'une cause médicamenteuse.	
8	**ATTEINTE CEREBRALE**	Altération des fonctions mentales avec troubles de l'orientation, de la mémoire ou autre d'apparition brutale et d'évolution fluctuante. Comprend : troubles de la conscience avec réduction des capacités de concentration, incapacité à rester attentif avec en plus 2 au moins des manifestations suivantes : troubles perceptifs, discours incohérent, insomnie ou somnolence diurne, augmentation ou diminution de l'activité psychomotrice.	
8	**ATTEINTE VISUELLE**	Atteinte rétinienne du lupus. Comprend : nodules dysoriques, hémorragies rétiniennes, exsudats séreux ou hémorragies choroïdiennes, névrite optique. Exclusion d'une cause hypertensive, infectieuse ou médicamenteuse.	
8	**NERFS CRANIENS**	Neuropathie sensitive ou motrice d'apparition récente touchant un nerf crânien.	
8	**CEPHALEES**	Céphalées sévères et persistantes, pouvant être migraineuses mais résistant aux antalgiques majeurs.	
8	**AVC**	Accident vasculaire cérébral d'apparition récente. Artériosclérose exclue.	
8	**VASCULARITE**	Ulcérations, gangrène, nodules digitaux douloureux, infarctus péri-unguéaux ou preuve histologique ou artériographie de vascularite.	
4	**ARTHRITES**	Plus de 2 articulations douloureuses avec des signes inflammatoires locaux (douleur, tuméfaction ou épanchement articulaire).	
4	**MYOSITE**	Douleur/faiblesse musculaire proximale associées à une élévation des CPK et/ou aldolase ou à des modifications électromyographiques ou à une biopsie montrant des signes de vascularite.	
4	**CYLINDRES URINAIRES**	Cylindres de globules rouges.	
4	**HEMATURIE**	> 5 GR/champ en l'absence de lithiase, d'infection ou d'une autre cause.	
4	**PROTEINURIE**	> 0,5 g/24h. Apparition récente ou majoration récente de plus de 0,5g/24h.	
4	**PYURIE**	> 5 GB/champ en l'absence d'infection.	
2	**ALOPECIE**	Apparition récente ou récidive d'une alopécie en plaque ou diffuse.	
2	**ULCERES MUQUEUX**	Apparition récente ou récidive d'ulcérations orales ou nasales.	
2	**PLEURESIE**	Douleur thoracique d'origine pleurale avec frottement ou épanchement ou épaississement pleural.	
2	**PERICARDITE**	Douleur péricardique avec au moins l'une des manifestations suivantes : frottement, épanchement ou confirmation électrographique ou échographique.	
2	**COMPLEMENT**	Diminution du CH50, du C3 ou du C4 < à la normale inférieure du laboratoire.	
2	**ANTI-ADN**	Positivité > à 25% par le test de Farr ou taux > à la normale du laboratoire.	
1	**FIEVRE**	> 38° en l'absence de cause infectieuse.	
1	**THROMBOPENIE**	< 100 000 plaquettes/mm^3.	
1	**LEUCOPENIE**	< 3 000 GB/mm^3 en l'absence de cause médicamenteuse.	

BIBLIOGRAPHIE

1. Arnaud L, Fagot J-P, Mathian A, Paita M, Fagot-Campagna A, Amoura Z. Prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in France: a 2010 nation-wide population-based study. Autoimmun Rev. 2014;13:1082-9.

2. Lisnevskaia L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. Lancet Lond Engl. 2014;384:1878-88.

3. Wahren-Herlenius M, Dörner T. Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease. The Lancet. 2013;382:819-31.

4. Mathian A, Arnaud L, Amoura Z. [Physiopathology of systemic lupus erythematosus: a 2014 update]. Rev Med Interne. 2014;35:503-11.

5. Martin M, Leffler J, Blom AM. Annexin A2 and A5 serve as new ligands for C1q on apoptotic cells. J Biol Chem. 2012;287:33733-44.

6. Nagata S, Hanayama R, Kawane K. Autoimmunity and the clearance of dead cells. Cell. 2010;140:619-30.

7. Casciola-Rosen LA, Anhalt G, Rosen A. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. J Exp Med. 1994;179:1317-30.

8. Liu Z, Davidson A. Taming lupus-a new understanding of pathogenesis is leading to clinical advances. Nat Med. 2012;18:871-82.

9. Tsokos GC. Systemic Lupus Erythematosus. N Engl J Med. 2011;365:2110-21.

10. Hahn BH. Antibodies to DNA. N Engl J Med. 1998;338:1359-68.

11. Taylor KE, Chung SA, Graham RR, Ortmann WA, Lee AT, Langefeld CD, et al. Risk alleles for systemic lupus erythematosus in a large case-control collection and associations with clinical subphenotypes. PLoS Genet. 2011;7:e1001311.

12. Cervera R, Khamashta MA, Hughes GRV. The Euro-lupus project: epidemiology of systemic lupus erythematosus in Europe. Lupus. 2009;18:869-74.

13. Fernandez D, Kirou KA. What Causes Lupus Flares? Curr Rheumatol Rep. 2016;18:14.

14. Stoll T, Sutcliffe N, Mach J, Klaghofer R, Isenberg DA. Analysis of the relationship between disease activity and damage in patients with systemic lupus erythematosus--a 5-yr prospective study. Rheumatol Oxf Engl. 2004;43:1039-44.

15. Chaigne B, Chizzolini C, Perneger T, Trendelenburg M, Huynh-Do U, Dayer E, et al. Impact of disease activity on health-related quality of life in systemic lupus erythematosus - a cross-sectional analysis of the Swiss Systemic Lupus Erythematosus Cohort Study (SSCS). BMC Immunol. 2017;18:17.

16. Al Dhanhani AM, Gignac MAM, Su J, Fortin PR. Work disability in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 2009;61:378-85.

17. Mosca M, Tani C, Aringer M, Bombardieri S, Boumpas D, Brey R, et al. European League Against Rheumatism recommendations for monitoring patients with systemic lupus erythematosus in clinical practice and in observational studies. Ann Rheum Dis. 2010;69:1269-74.

18. Conti F, Ceccarelli F, Perricone C, Miranda F, Truglia S, Massaro L, et al. Flare, persistently active disease, and serologically active clinically quiescent disease in systemic lupus erythematosus: a 2-year follow-up study. PloS One. 2012;7:e45934.

19. Soliman S, Mohan C. Lupus nephritis biomarkers. Clin Immunol Orlando Fla. 2016.

20. Wu H, Zeng J, Yin J, Peng Q, Zhao M, Lu Q. Organ-specific biomarkers in lupus. Autoimmun Rev. 2017;16:391-7.

21. Bizzaro N, Villalta D, Giavarina D, Tozzoli R. Are anti-nucleosome antibodies a better diagnostic marker than anti-dsDNA antibodies for systemic lupus erythematosus? A systematic review and a study of metanalysis. Autoimmun Rev. 2012;12:97-106.

22. Yung S, Chan TM. Anti-dsDNA antibodies and resident renal cells - Their putative roles in pathogenesis of renal lesions in lupus nephritis. Clin Immunol Orlando Fla. 2016.

23. Szeto C-C. Urine miRNA in nephrotic syndrome. Clin Chim Acta Int J Clin Chem. 2014;436:308-13.

24. Hanly JG. Diagnosis and management of neuropsychiatric SLE. Nat Rev Rheumatol. 2014;10:338-47.

25. Arriens C, Wren JD, Munroe ME, Mohan C. Systemic lupus erythematosus biomarkers: the challenging quest. Rheumatol Oxf Engl. 2017;56:i32-45.

26. Cañas F, Simonin L, Couturaud F, Renaudineau Y. Annexin A2 autoantibodies in thrombosis and autoimmune diseases. Thromb Res. 2015;135:226-30.

27. Hajjar KA, Jacovina AT, Chacko J. An endothelial cell receptor for plasminogen/tissue plasminogen activator. I. Identity with annexin II. J Biol Chem. 1994;269:21191-7.

28. Kaczan-Bourgois D, Salles JP, Hullin F, Fauvel J, Moisand A, Duga-Neulat I, et al. Increased content of annexin II (p36) and p11 in human placenta brush-border membrane vesicles during syncytiotrophoblast maturation and differentiation. Placenta. 1996;17:669-76.

29. Deora AB, Kreitzer G, Jacovina AT, Hajjar KA. An annexin 2 phosphorylation switch mediates p11-dependent translocation of annexin 2 to the cell surface. J Biol Chem. 2004;279:43411-8.

30. Lambert O, Cavusoglu N, Gallay J, Vincent M, Rigaud JL, Henry J-P, et al. Novel organization and properties of annexin 2-membrane complexes. J Biol Chem. 2004;279:10872-82.

31. Zhao W-Q, Waisman DM, Grimaldi M. Specific localization of the annexin II heterotetramer in brain lipid raft fractions and its changes in spatial learning. J Neurochem. 2004;90:609-20.

32. Jung H, Kim JS, Kim WK, Oh K-J, Kim J-M, Lee HJ, et al. Intracellular annexin A2 regulates NF-κB signaling by binding to the p50 subunit: implications for gemcitabine resistance in pancreatic cancer. Cell Death Dis. 2015;6:e1606.

33. Wang Y, Chen K, Cai Y, Cai Y, Yuan X, Wang L, et al. Annexin A2 could enhance multidrug resistance by regulating NF-κB signaling pathway in pediatric neuroblastoma. J Exp Clin Cancer Res CR. 2017;36:111.

34. Feng X, Liu H, Zhang Z, Gu Y, Qiu H, He Z. Annexin A2 contributes to cisplatin resistance by activation of JNK-p53 pathway in non-small cell lung cancer cells. J Exp Clin Cancer Res CR. 2017;36:123.

35. Luo M, Hajjar KA. Annexin A2 system in human biology: cell surface and beyond. Semin Thromb Hemost. 2013;39:338-46.

36. 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;107:4375-82.

37. Salle V, Mazière JC, Smail A, Cévallos R, Mazière C, Fuentes V, et al. Anti-annexin II antibodies in systemic autoimmune diseases and antiphospholipid syndrome. J Clin Immunol. 2008;28:291-7.

38. 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;4:295-306.

39. Allen KL, Fonseca FV, Betapudi V, Willard B, Zhang J, McCrae KR. A novel pathway for human endothelial cell activation by antiphospholipid/anti-β2 glycoprotein I antibodies. Blood. 2012;119:884-93.

40. Petri M. Update on anti-phospholipid antibodies in SLE: the Hopkins' Lupus Cohort. Lupus. 2010;19:419-23.

41. Wu Y, Tang W, Zuo J. Toll-like receptors: potential targets for lupus treatment. Acta Pharmacol Sin. 2015;36:1395-407.

42. Komatsuda A, Wakui H, Iwamoto K, Ozawa M, Togashi M, Masai R, et al. Up-regulated expression of Toll-like receptors mRNAs in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus. Clin Exp Immunol. 2008;152:482-7.

43. Wu O, Chen GP, Chen H, Li XP, Xu JH, Zhao SS, et al. The expressions of Toll-like receptor 9 and T-bet in circulating B and T cells in newly diagnosed, untreated systemic lupus erythematosus and correlations with disease activity and laboratory data in a Chinese population. Immunobiology. 2009;214:392-402.

44. Ao W, Zheng H, Chen X-W, Shen Y, Yang C-D. Anti-annexin II antibody is associated with thrombosis and/or pregnancy morbidity in antiphospholipid syndrome and systemic lupus erythematosus with thrombosis. Rheumatol Int. 2011;31:865-9.

45. Yung S, Cheung KF, Zhang Q, Chan TM. Anti-dsDNA antibodies bind to mesangial annexin II in lupus nephritis. J Am Soc Nephrol JASN. 2010;21:1912-27.

46. Zheng H, Chen Y, Ao W, Shen Y, Chen X, Dai M, et al. Antiphospholipid antibody profiles in lupus nephritis with glomerular microthrombosis: a prospective study of 124 cases. Arthritis Res Ther. 2009;11:R93.

47. Salle V, Cordonnier C, Schmidt J, Mazière C, Smail A, Attencourt C, et al. Vascular expression of annexin A2 in lupus nephritis. J Clin Pathol. 2016;69:533-6.

48. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 1982;25:1271-7.

49. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 1997;40:1725.

50. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. J Am Soc Nephrol JASN. 2004;15:241-50.

51. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. Arthritis Rheum. 1992;35:630-40.

52. Yang J, Yang F, Nie J, Zou X, Tian H, Qin Y, et al. Evaluation of Annexin A2 as a novel diagnostic serum biomarker for lung cancer. Cancer Biomark Sect Dis Markers. 2015;15:205-11.

53. Shaker MK, Abdel Fattah HI, Sabbour GS, Montasser IF, Abdelhakam SM, El Hadidy E, et al. Annexin A2 as a biomarker for hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. World J Hepatol. 2017;9:469-76.

54. Abd El-Latif M, Azzam H, Othman M, Warda O, El-Sharawy S, Ghoneim H. Assessment of annexin A5 and annexin A2 levels as biomarkers for pre-eclampsia: A pilot study. Pregnancy Hypertens. 2017;8:65-9.

55. Chugh S, Ouzounian M, Lu Z, Mohamed S, Li W, Bousette N, et al. Pilot study identifying myosin heavy chain 7, desmin, insulin-like growth factor 7, and annexin A2 as circulating biomarkers of human heart failure. Proteomics. 2013;13:2324-34.

56. Flood EC, Hajjar KA. The Annexin A2 System and Vascular Homeostasis. Vascul Pharmacol. 2011;54:59.

57. Cesarman-Maus G, Cantú-Brito C, Barinagarrementeria F, Villa R, Reyes E, Sanchez-Guerrero J, et al. Autoantibodies against the Fibrinolytic Receptor, Annexin A2, in Cerebral Venous Thrombosis. Stroke J Cereb Circ. 2011;42:501.

58. Zhang J, McCrae KR. Annexin A2 mediates endothelial cell activation by antiphospholipid/anti-beta2 glycoprotein I antibodies. Blood. 2005;105:1964-9.

59. Cockrell E, Espinola RG, McCrae KR. Annexin A2: biology and relevance to the antiphospholipid syndrome. Lupus. 2008;17:943-51.

60. Romay-Penabad Z, Montiel-Manzano MG, Shilagard T, Papalardo E, Vargas G, Deora AB, et al. Annexin A2 is involved in antiphospholipid antibody-mediated pathogenic effects in vitro and in vivo. Blood. 2009;114:3074-83.

61. Bienaimé F, Legendre C, Terzi F, Canaud G. Antiphospholipid syndrome and kidney disease. Kidney Int. 2017;91:34-44.

62. Silvariño R, Sant F, Espinosa G, Pons-Estel G, Solé M, Cervera R, et al. Nephropathy associated with antiphospholipid antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. Lupus. 2011;20:721-9.

63. Weiss R, Bitton A, Ben Shimon M, Elhaik Goldman S, Nahary L, Cooper I, et al. Annexin A2, autoimmunity, anxiety and depression. J Autoimmun. 2016;73:92-9.

64. Sun L, Min L, Zhou H, Li M, Shao F, Wang W. Adolescent social isolation affects schizophrenia-like behavior and astrocyte biomarkers in the PFC of adult rats. Behav Brain Res. 2017;333:258-66.

65. Hu C, Huang W, Chen H, Song G, Li P, Shan Q, et al. Autoantibody profiling on human proteome microarray for biomarker discovery in cerebrospinal fluid and sera of neuropsychiatric lupus. PloS One. 2015;10:e0126643.

66. Collège Universitaire des Enseignants de Néphrologie, 7ème édition. Ellipses ; 2016. Chapitre 8.

RESUME

Dosage de l'Annexine A2 au cours du Lupus Erythémateux Systémique

Introduction L'Annexine A2 (ANXA2), protéine liant les phospholipides membranaires, est un ligand du C1q à la surface des cellules apoptotiques. Des anticorps anti-ANXA2 ont été détectés chez des patients atteints de Lupus Erythémateux Systémique (LES), maladie auto-immune en partie due à un défaut de clairance des corps apoptotiques. Notre étude visait à corréler les taux d'ANXA2 de patients suivis pour LES, au phénotype clinique et à l'activité du LES, évaluée par le SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) et certains biomarqueurs.

Matériel et méthodes L'ANXA2 sérique et urinaire a été dosée avec un kit commercial ELISA sandwich chez 43 patients lupiques recrutés prospectivement dans notre service. Les dosages sériques ont été comparés à ceux de témoins appariés par âge et par sexe.

Résultats Quatorze patients avaient une atteinte rénale, 8 une atteinte neurologique centrale, 23 une atteinte cardiovasculaire, et 11 patients un syndrome des anti-phospholipides (SAPL) associé. Les taux médians d'ANXA2 sérique des patients (5,7 ng/ml) et des témoins (3,8 ng/ml) ne différaient pas (p = 0,166). Les taux sériques d'ANXA2 ne sont pas associés à l'atteinte clinique. L'ANXA2 urinaire est corrélée à l'atteinte neurologique centrale (p = 0,017) et au SAPL (p = 0,045). Le SLEDAI est corrélé à l'ANXA2 urinaire (ρ = 0,32 ; p = 0,045), mais pas à l'ANXA2 sérique. L'ANXA2 n'est pas corrélée aux biomarqueurs étudiés d'activité du LES.

Conclusion L'ANXA2 sérique n'est corrélée ni au phénotype clinique, ni à l'activité clinico-biologique du LES. L'utilisation de l'ANXA2 urinaire comme marqueur d'activité du LES est à valider par des études de plus grand effectif.

Mots-clés : Annexine A2, lupus, syndrome des anti-phospholipides, SLEDAI, biomarqueur.

ABSTRACT

Assessment of Annexin A2 in patients with Systemic Lupus Erythematosus

Background Annexin A2 (ANXA2) is a phospholipid-binding protein. ANXA2 is a ligand for C1q on the surface of apoptotic cells. Antibodies against ANXA2 have been detected in patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE), an auto-immune disease partly due to an impaired clearance of apoptotic material. The aim of our pilot study was to correlate ANXA2 levels with specific organ involvement and disease activity assessed by the SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) and some classical biomarkers.

Materials and methods We used a commercial ELISA sandwich kit to detect ANXA2 in the serum and urine of 43 SLE patients prospectively enrolled in our department of Internal Medicine. We also assessed serum ANXA2 levels in age and sex-matched controls.

Results Fourteen patients had SLE-associated nephropathy, 8 had central nervous system involvement, 23 had cardiovascular involvement ; 11 also had APS (antiphospholipid syndrome). Serum median ANXA2 level was 5,7 ng/ml in patients and 3,8 ng/ml in controls. Serum ANXA2 levels did not differ in patients and controls (p = 0,166). There was no correlation between serum ANXA2 and urinary ANXA2, specific organ involvement and SLEDAI. There was a correlation between urinary ANXA2 and central nervous system involvement (p = 0,017), APS (p = 0,045), and SLEDAI (ρ = 0,32, p = 0,045). Serum and urinary ANXA2 did not correlate with the classical biomarkers of disease activity.

Conclusion Serum ANXA2 can’t be used to assess specific organ involvement or disease activity in SLE patients. Urinary ANXA2 could be used as a biomarker of disease activity. Other studies are needed to confirm these results.

Keywords : Annexin A2, lupus, antiphospholipid syndrome, SLEDAI, biomarker.

Titre de la thèse	Dosage de l'Annexine A2 au cours du Lupus Erythémateux Systémique
Auteur	Anne SAGNIER
Directeur	Monsieur le Docteur Valéry SALLE
Résumé	**Introduction** L'Annexine A2 (ANXA2), protéine liant les phospholipides membranaires, est un ligand du C1q à la surface des cellules apoptotiques. Des anticorps anti-ANXA2 ont été détectés chez des patients atteints de Lupus Erythémateux Systémique (LES), maladie auto-immune en partie due à un défaut de clairance des corps apoptotiques. Notre étude visait à corréler les taux d'ANXA2 de patients suivis pour LES, au phénotype clinique et à l'activité du LES, évaluée par le SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) et certains biomarqueurs. **Matériel et méthodes** L'ANXA2 sérique et urinaire a été dosée avec un kit commercial ELISA sandwich chez 43 patients lupiques recrutés prospectivement dans notre service. Les dosages sériques ont été comparés à ceux de témoins appariés par âge et par sexe. **Résultats** Quatorze patients avaient une atteinte rénale, 8 une atteinte neurologique centrale, 23 une atteinte cardiovasculaire, et 11 patients un syndrome des anti-phospholipides (SAPL) associé. Les taux médians d'ANXA2 sérique des patients (5,7 ng/ml) et des témoins (3,8 ng/ml) ne différaient pas (p = 0,166). Les taux sériques d'ANXA2 ne sont pas associés à l'atteinte clinique. L'ANXA2 urinaire est corrélée à l'atteinte neurologique centrale (p = 0,017) et au SAPL (p = 0,045). Le SLEDAI est corrélé à l'ANXA2 urinaire (ρ = 0,32 ; p = 0,045) mais pas à l'ANXA2 sérique. L'ANXA2 n'est pas corrélée aux biomarqueurs étudiés d'activité du LES. **Conclusion** L'ANXA2 sérique n'est corrélée ni au phénotype clinique, ni à l'activité clinico-biologique du LES. L'utilisation de l'ANXA2 urinaire comme marqueur d'activité du LES est à valider par des études de plus grand effectif.
Mots-clés	Annexine A2, lupus, syndrome des antiphospholipides, SLEDAI, biomarqueur
Title	Assessment of Annexin A2 in patients with Systemic Lupus Erythematosus
Abstract	**Background** Annexin A2 (ANXA2) is a phospholipid-binding protein. ANXA2 is a ligand for C1q on the surface of apoptotic cells. Antibodies against ANXA2 have been detected in patients with Systemic Lupus Erythematosus (SLE), an auto-immune disease partly due to an impaired clearance of apoptotic material. The aim of our pilot study was to correlate ANXA2 levels with specific organ involvement and disease activity assessed by the SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) and some classical biomarkers. **Materials and methods** We used a commercial ELISA sandwich kit to detect ANXA2 in the serum and urine of 43 SLE patients prospectively enrolled in our department of Internal Medicine. We also assessed serum ANXA2 levels in age and sex-matched controls. **Results** Fourteen patients had SLE-associated nephropathy, 8 had central nervous system involvement, 23 had cardiovascular involvement ; 11 also had APS (antiphospholipid syndrome). Serum median ANXA2 level was 5,7 ng/ml in patients and 3,8 ng/ml in controls. Serum ANXA2 levels did not differ in patients and controls (p = 0,166). There was no correlation between serum ANXA2 and urinary ANXA2, specific organ involvement and SLEDAI. There was a correlation between urinary ANXA2 and central nervous system involvement (p = 0,017), APS (p = 0,045), and SLEDAI (ρ = 0,32, p = 0,045). Serum and urinary ANXA2 did not correlate with the classical biomarkers of disease activity. **Conclusion** Serum ANXA2 can't be used to assess specific organ involvement or disease activity in SLE patients. Urinary ANXA2 could be used as a biomarker of disease activity. Other studies are needed to confirm these results.
Keywords	Annexin A2, lupus, antiphospholipid syndrome, SLEDAI, biomarker.