HAL
open science

Impact du clopidogrel sur le CD40 ligand soluble plasmatique chez des patients atteints de lupus érythémateux systémique : résultats de l'étude pilote de phase I/II " CLOPUS "

Guillaume Vial

▶ **To cite this version:**

Guillaume Vial. Impact du clopidogrel sur le CD40 ligand soluble plasmatique chez des patients atteints de lupus érythémateux systémique : résultats de l'étude pilote de phase I/II " CLOPUS ". Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03008112

HAL Id: dumas-03008112

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03008112v1

Submitted on 16 Nov 2020

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 BORDEAUX

U.F.R. DES SCIENCES MÉDICALES

Année 2020 Thèse n°3133

THÈSE POUR L'OBTENTION DU

DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par Guillaume VIAL

Né le 21 mars 1990 à Castelnaudary

Le 2 octobre 2020

IMPACT DU CLOPIDOGREL SUR LE CD40 LIGAND SOLUBLE PLASMATIQUE CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE LUPUS ÉRYTHÉMATEUX SYSTÉMIQUE

Résultats de l'étude pilote de phase I/II « CLOPUS »

Sous la direction du Professeur Pierre DUFFAU

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Patrick MERCIÉ	Président
Madame le Professeur Chloé JAMES	Rapporteur
Madame le Professeur Estibaliz LAZARO	Examinateur
Madame le Docteur Isabelle PELLEGRIN	Examinateur
Monsieur le Professeur Christophe RICHEZ	Examinateur

université de BORDEAUX

U.F.R. DES SCIENCES MÉDICALES

Année 2020 Thèse n°3133

THÈSE POUR L'OBTENTION DU

DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par Guillaume VIAL

Né le 21 mars 1990 à Castelnaudary

Le 2 octobre 2020

IMPACT DU CLOPIDOGREL SUR LE CD40 LIGAND SOLUBLE PLASMATIQUE CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE LUPUS ÉRYTHÉMATEUX SYSTÉMIQUE

Résultats de l'étude pilote de phase I/II « CLOPUS »

Sous la direction du Professeur Pierre DUFFAU

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Patrick MERCIÉ	Président
Madame le Professeur Chloé JAMES	Rapporteur
Madame le Professeur Estibaliz LAZARO	Examinateur
Madame le Docteur Isabelle PELLEGRIN	Examinateur
Monsieur le Professeur Christophe RICHEZ	Examinateur

Impact du clopidogrel sur le CD40 ligand soluble plasmatique chez des patients atteints de lupus érythémateux systémique : résultats de l'étude pilote de phase I/II « CLOPUS »

Objectif : les interactions CD40–CD40 ligand (CD40L) sont impliquées dans la pathogénie du lupus érythémateux systémique (LES). Les plaquettes représentant le principal réservoir de CD40L soluble (sCD40L), nous avons effectué une étude pilote pour évaluer l'impact d'un inhibiteur plaquettaire, le clopidogrel, sur les taux plasmatiques de sCD40L chez des patients atteints de LES.
Méthodes : Nous avons effectué un essai de phase I/II, ouvert, à un bras, chez des patients porteurs de LES quiescent (pas de poussée dans les 3 mois avant l'inclusion) qui recevaient 75 mg de clopidogrel par jour durant 12 semaines. Le critère de jugement principal était la modification du taux de sCD40L plasmatique 12 semaines après l'inclusion. Les patients ont été suivis 4 semaines après la dernière dose. Cette étude a été enregistrée sur ClinicalTrials.gov, NCT02320357.
Résultats : Entre août 2015 et avril 2017, 24 patients ont été identifiés et 18 inclus. La concentration moyenne de sCD40L plasmatique a diminué la première semaine de traitement sans atteindre la significativité statistique ($p = 0.09$) puis s'est stabilisée jusqu'à la semaine 12 ($p = 0.34$). L'activation plaquettaire, évaluée par les niveaux d'expression de CD154+ (CD40L) et CD62+ (P-sélectine), a été significativement réduite après un jour de clopidogrel ($p = 0.002$). Deux patients ont arrêté le traitement en raison d'événement indésirable ou de décision personnelle. Le clopidogrel a été bien toléré avec seulement un incident hémorragique grave (ménorragie de grade 3).
Conclusion : le clopidogrel tend à diminuer l'activation plaquettaire chez les patients lupiques mais son effet sur la concentration de sCD40L reste à démontrer. Une plus grande étude contrôlée est nécessaire pour confirmer nos résultats avant d'envisager un essai clinique randomisé.

Mots clés : lupus érythémateux systémique, plaquettes, auto-immunité, clopidogrel, CD40/CD40L

The impact of clopidogrel on plasma-soluble CD40 ligand levels in systemic lupus erythematosus patients: the CLOPUS phase I/II pilot study.

Objective: CD40–CD40 ligand (CD40L) interactions are involved in systemic lupus erythematosus (SLE) pathogenesis. As platelets represent the main reservoir of soluble CD40L (sCD40L), we performed a pilot study to assess the impact of the platelet inhibitor clopidogrel on plasma sCD40L levels in SLE patients.
Methods: We performed a single-arm, open-label, phase I/II trial of clopidogrel in patients with quiescent SLE (no flare within 3 months before inclusion). Patients received clopidogrel 75 mg per day for 12 weeks. The primary outcome was the change in the plasma sCD40L concentration at 12 weeks after inclusion. Patients were followed for 4 weeks after the final dose. This study was registered on ClinicalTrials.gov, NCT02320357.
Results: Between August 2015 and April 2017, 24 patients were screened and 18 were included. The mean plasma sCD40L concentration decreased during the first week of treatment without achieving statistical significance ($p = 0.09$) and then plateaued until week 12 ($p = 0.34$). One day of clopidogrel significantly reduced platelet activation, as assessed by CD154+ (CD40L) and CD62+ (P-selectin) expression levels ($p = 0.002$). Two patients discontinued the treatment due to an adverse event or personal decision. Clopidogrel was well tolerated, with only a single serious bleeding incident (menorrhagia grade 3).
Conclusion: clopidogrel tends to decrease platelet activation in SLE patients, but its effect on the sCD40L concentration remains to be demonstrated. A more extensive controlled study is needed to confirm our results before considering a randomized clinical trial.

Keywords: systemic lupus erythematosus, platelets, auto-immunity, clopidogrel, CD40/CD40L

SERMENT D'HIPPOCRATE (REVU EN 2012 PAR L'ORDRE DES MÉDECINS)

Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque.

REMERCIEMENTS

Au président du Jury, le Pr Patrick Mercié, pour sa considération, pour sa bienveillance et pour me permettre de poursuivre ma formation prochainement au sein de son service.

Aux membres du Jury, le Pr Estibaliz Lazaro, le Dr Isabelle Pellegrin, le Pr Christophe Richez, pour leur temps investi dans l'analyse et l'évaluation de mon travail.

Au rapporteur de thèse, le Pr Chloé James pour sa validation appuyée par son œil expert.

Au directeur de thèse, le Pr Pierre Duffau, pour ses conseils avisés, pour la rapidité de ses corrections, pour la justesse de ses choix, pour sa confiance qui m'honore.

À Noémie, qui a partagé la plume pour écrire l'article de l'étude CLOPUS et avec qui j'aurai bientôt la chance de partager une partie de mon clinicat.

Aux méthodologistes et statisticiens, le Pr Rodolphe Thiebaut et Hélène Savel, pour les échanges fructueux que nous avons eus et pour leur aide précieuse pour la rédaction de l'article.

À l'attachée de recherche clinique, Valérie Aurillac, pour sa contribution indispensable à l'étude.

À ma famille,

Ma mère, qui malgré son admiration a longtemps cru que j'étais pédiatre.

Mon père, qui a su me montrer sa fierté aux échéances importantes de ma formation.

Ma petite sœur Aurélie, qui s'est promis de devenir juriste de la santé pour m'envoyer en prison.

Ma toute petite sœur Alexandra, qui a toujours cru au clopidogrel, autant qu'aux petits-fours.

Mes grands-parents, ceux qui veillent sur moi de là-haut, ceux qui veillent sur moi d'ici-bas.

Mes oncles, tantes et cousins, éloignés par la distance mais jamais par la pensée.

À mon essentielle Aurélie, qui partage ma vie, mes succès et mes échecs, sans qui rien ne serait pareil, sans qui le retour du travail le soir serait terne, sans qui les épreuves du quotidien seraient plus pénibles, mais aussi sans qui j'aurais sans doute regardé moins de séries et fini ma thèse plus tôt.

À ses parents, pour leur gentillesse, leur sympathie et leur dévouement.

À mes amis,

Ceux de la première heure, Jocelyn, Fred, Clément, Morgan.

Les Montpelliérains, Joris, Lucie, Thibaut, Marine, Alex, Hugues, Pierre, Isa, Dim, Apolline, Cédou, Guy, sans oublier mes anciens sous-colleurs gastronomes Alex et Fabian.

Les Aquitains, Margaux et Simon, Ju et Ju, Mathilde et Augustin, Étienne, David, Maxou, Kévin, Benjamin, Anne, Hugo, Arthur, Ade, Nono, Alex, Ainho, Juju, Niong-Niong, Clara, Ingrid, Gof, McBod, Flo, Simon, Raphaëlle, Flower, Isa, PL, Elise, Sarra et Coline.

Les rugbymen du Bordeaux Rugby Internat Club, Manu, Yoyo, Bertrand, Isma, Pedro, Bruno, Vince, le Suisse, l'Homme de Verre, Rudy, François, Adrien, Bastien, Guillaume, Gégé, Thomas, Thierry.

Les Guy éternels, il serait temps de grandir, Guy^{F}, Guy^{M}, Guy^{V} sans oublier ^{Co}Guy et ^{To}Guy.

À tous les autres que je ne peux pas citer ici mais qui sont avec moi en pensées.

À tous mes maîtres internistes rencontrés durant mon parcours, pour m'avoir accompagné au plan professionnel, m'avoir transmis l'Art, m'avoir façonné. Pour m'avoir aussi montré vos grandes qualités humaines et pour les moments de vie partagés. Par chronologie, je remercierai :

Le Dr Konaté, le Dr Rullier et le Pr Le Quellec, mes premiers mentors de Montpellier alors que je n'étais qu'externe, leur passion et leur appétit diagnostique m'ont invité à suivre leurs traces.

Le Dr Lifermann, grâce à qui mon cuir est épais depuis le tout premier jour du tout premier semestre.

Le Pr Viallard, sa passion pour la plaquette, son affinité pour la splénectomie, son sifflement de légende ; le Pr Lazaro, ses arbres diagnostiques aux ramifications infinies, sa polyvalence sans limite, ses interventions trilingues aux séminaires en terres basques ; le Pr Pellegrin, sa visite magnanime au lendemain d'une soirée de fin de stage un peu arrosée ; le Dr Greib, sa protection salvatrice pendant les

RCP de pathologies interstitielles ; le Dr Machelart, sa capacité à se rendre disponible pour ses patients, ses internes et sa famille ; le Dr Rivière, son encadrement universitaire de mon travail de mémoire.

Le Pr Mercié, son attention, sa prévenance, sa bonne humeur, ses galettes des rois parfaitement choisies ; le Pr Duffau, son affection pour l'ascenseur, son aversion pour l'escalier, son investissement professionnel qui force l'admiration ; le Dr Ribeiro, sa pertinence et la justesse chirurgicale de ses interventions, sa promesse de barbecue géant que l'on attend toujours ; le Dr Contis, sa grande implication dans ses dossiers, la découverte de la ville de Contis que je lui dois ; le Dr Baulier, l'exemplarité de ses premiers pas de chef de clinique, la qualité de taille irréprochable de sa barbe.

Le Dr Vareil, sa connaissance encyclopédique de l'infectiologie, sa faculté à penser que 20h c'est tôt ; le Dr Wille, ses débats argumentés dans les prises de décision, sa faculté à penser que 20h c'est tard ; le Dr Guerpillon, son calme, sa capacité à arrondir les angles, sa faculté à surfer dès 6h le matin.

Le Dr Camou, sa juste conjugaison de la réanimation, de l'infectiologie et de la médecine interne, sa juste pondération dans sa capacité à envoyer des piques avec le sourire ; le Dr Issa, sa grande disponibilité, la réassurance de ses croissants après les gardes difficiles.

Aux médecins des autres spécialités qui m'ont permis de cultiver la vision globale du patient :

Remerciement spécial aux rhumatologues, le Pr Schaeverbeke, le Pr Richez, le Pr Banwarth, le Dr Mehsen-Cetre, le Dr Truchetet, le Dr Poursac, le Dr Kostine, le Dr Scouppe, le Dr Mirabel qui m'ont si bien reçu qu'ils ont failli me convertir à leur belle spécialité.

Remerciement particulier aux gériatres le Pr Bourdel-Marchasson, le Dr Lafargue, le Dr Bailly et aux réanimateurs le Dr Guisset, le Dr Mourissoux, le Dr Issa, le Dr Camou, le Dr Cayrol avec qui j'ai partagé les joies d'une unité de médecine Covid et d'une réanimation Covid durant quelques semaines.

Remerciement bien sûr aux dermatologues, hématologues et néphrologues.

À tous les internes et anciens internes internistes ou infectiologues,

Ma promotion d'abord, Ritou, fidèle du premier jour, Pops, démon craint de tous, Laure, transfuge infectiologue mais adorée malgré tout, Jérémy qui déjà nous quitte pour sa contrée lointaine.

Les internistes des îles, en particulier Émilie, Dave, Damien, Cyril, Thylbert.

Mes ainés, en particulier Gildas, Vivien et Judith dont j'essayerai de m'inspirer pour les deux années à venir, Renaud, Noémie, Joëlle, Manon, Hélène, Claire, Camille, Inès, Gaël, Maëlig et Maïlys.

Aux plus jeunes et moins jeunes, Winnie, Félix, Cédric, Claire, Thomas, Gonzy, Carole, Victor, Hélène, Ditmar, Camille, Alys, Kevin, Thibaut, Steven.

Aux autres dont l'énumération exhaustive serait inutile et fastidieuse.

Aux internes de toutes les spécialités avec qui j'ai pu échanger sur ma route jusqu'ici.

À mes externes qui m'ont supporté durant cinq ans, puissent-ils avoir compris que la rigueur est au service du progrès et non de la tourmente.

Au personnel soignant de mes différents services au fil de mon internat :

Aux cadres de santé qui ont embelli mes semestres, en particulier Pat', N. Lalanne et Y. Borderie.

Aux infirmiers et infirmières qui ont supporté mes prescriptions à rallonge au quotidien.

À Jérémy, l'infirmier-anesthésiste jamais loin de moi lors de mes gestes périlleux.

Aux aides-soignants et aides-soignantes pour leur disponibilité.

Aux ASH pour m'avoir si souvent habillé de chaussons bleus trop petits pour moi.

Aux intervenants extérieurs pour leur aide : kinés, ergos, diets, psychologues, assistantes sociales.

Aux patients, pour leur confiance, souvent aussi pour leur courage et leur combativité.

À Hippocrate, pour la sincérité de sa mise en garde, il disait *L'art est long*, il n'avait pas menti.

TABLE DES MATIÈRES

SERMENT D'HIPPOCRATE **6**

REMERCIEMENTS **7**

TABLE DES MATIÈRES **11**

LISTE DES ABRÉVIATIONS **14**

AVANT-PROPOS SUR LE LUSPUS ÉRYTHÉMATEUX SYSTÉMIQUE **18**

1. PLAQUETTE : PHYSIOLOGIE ET PATHOLOGIE **22**

1.1. Généralités **22**

1.1.1. Thrombopoïèse et répartition des plaquettes 22

1.1.2. Morphologie et constitution de la plaquette 22

1.1.3. CD40L et sCD40L plaquettaires 23

1.2. Physiologie plaquettaire **25**

1.2.1. Place de la plaquette dans l'hémostase primaire 25

1.2.2. Place de la plaquette dans l'immunité 26

1.2.2.1. Un arsenal d'outils immunomodulateurs à disposition 26

1.2.2.2. Régulation des interactions entre cellules immunitaires 28

1.2.2.3. De l'inflammation vasculaire à l'inflammation systémique 30

1.3. La plaquette en pathologie humaine **32**

1.3.1. La plaquette activée dans la pathogénie du LES 32

1.3.1.1. Modes d'activation plaquettaire dans le LES 33

1.3.1.2. Conséquences de l'activation plaquettaire dans le LES 33

1.3.1.2.1. PN neutrophile et pDC « l'axe IFN » 34

1.3.1.2.2. Lymphocytes et DC « l'axe CD40/CD40L » 34

1.3.1.2.3. Le relargage de sérotonine 34

1.3.1.2.4. La surexposition antigénique 35

1.3.2. La plaquette activée dans la pathogénie de la maladie athéromateuse 36

1.3.2.1. Éléments plaquettaire impliqués dans l'athérogenèse 36

1.3.2.2. Maladies athéromateuses médiées par les plaquettes activées 37

2. CD40 LIGAND : PHYSIOLOGIE ET PATHOLOGIE **39**

2.1. Généralités **39**

2.2. Rôles physiologiques de l'axe CD40/CD40L **41**
2.2.1. L'axe CD40/CD40L dans la réponse immunitaire 41
2.2.1.1. Rôle dans l'immunité humorale 41
2.2.1.2. Rôle dans l'immunité cellulaire 42
2.2.1.3. Rôle dans la tolérance périphérique 43
2.2.2. L'axe CD40/CD40L dans l'athérosclérose 44
2.3. Implication de l'axe CD40/CD40L en pathologie humaine **45**
2.3.1. L'axe CD40/CD40L dans le syndrome hyper IgM lié à l'X 45
2.3.2. L'axe CD40/CD40L dans la transplantation 45
2.3.3. L'axe CD40/CD40L dans le LES 45
2.3.4. L'axe CD40/CD40L dans la maladie athéromateuse 46

3. THÉRAPEUTIQUES ANTI-PLAQUETTES ET ANTI-CD40 LIGAND **49**
3.1. Traitements ciblant les plaquettes **49**
3.1.1. Potentielles cibles de l'activation plaquettaire 49
3.1.2. Traitements antiplaquettaires d'intérêt dans le LES 50
3.2. Traitements ciblant le CD40L **52**
3.2.1. Les anticorps monoclonaux anti-CD40L 52
3.2.2. Les alternatives aux anticorps monoclonaux anti-CD40L 54
3.2.3. Les indications potentielles au blocage CD40/CD40L en immunologie clinique 56
3.2.4. Intérêts dans le LES des thérapies non ciblées impactant l'axe CD40/CD40L 57
3.2.4.1. Immunomodulateurs et immunosuppresseurs à activité anti-CD40L 57
3.2.4.2. Médicaments cardiovasculaires à activité anti-CD40L 59

4. JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE **62**

ARTICLE SCIENTIFIQUE **64**
Abstract **64**
Introduction **65**
Patients and methods **66**
Results **68**
Discussion **73**
Acknowledgement **75**
Supplementary material **76**
References **78**

DISCUSSION ET PERSPECTIVES **81**

BIBLIOGRAPHIE **86**

ANNEXES **109**

A1. Critères de classification du lupus de l'ACR révisés en 1997 ..... **109**

A2. Échelle PGA **109**

A3. Critères d'activité SLEDAI **110**

A4. RCP du clopidogrel **112**

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADAM : *a disintegrin and metalloproteinase*

ADN : acide désoxyribonucléique

mtADN : ADN mitochondrial

ATP, ADP, AMP : adénosine triphosphate, adénosine diphosphate, adénosine monophosphate

AINS : anti-inflammatoire non stéroïdien

AMM : autorisation de mise sur le marché

ANSM : agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

AP-1 : *activator protein 1*

APS : antipaludéen de synthèse

ARN, mARN, miARN : acide ribonucléique, ARN messager, micro ARN

AVK : antivitamine K

BCR : *B-cell receptor*

BLyS : *B lymphocyte stimulator*

CD : cluster de différenciation

CD40L : CD40 ligand

sCD40L, sCD40 : CD40 ligand soluble, CD40 soluble

CI : complexe immun

CMH : complexe majeure d'histocompatibilité

CPA : cellule présentatrice d'antigène

CRP : *C-reactive protein* (protéine C réactive)

DC, mDC, pDC : cellule dendritique, DC myéloïde, DC plasmacytoïde

EBV : Ebstein Barr virus

ELISA : *enzyme linked immuno sorbent assay*

EULAR : *European League Against Rheumatism*

FcγRIIA : récepteur Fc aux IgG IIA

GP : glycoprotéine

5-HT : 5-hydroxytryptamine

HLA : *human leukocyte antigen*

HNP1 : *human neutrophil peptide 1*

ICAM : *intercellular adhesion molecule*

IFN : interféron

Ig : immunoglobuline

IL : interleukine

ISRS : inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine

JAK : Janus kinase

LES : lupus érythémateux systémique

MAPK : *mitogen-activated protein kinase*

MCP-1 : *monocyte chemoattractant protein 1*

MICI : maladie inflammatoire chronique de l'intestin

MIP-1 : *macrophage inflammatory protein 1*

MMP : *matrix metalloproteinase*

MP : microparticule plaquettaire

NET : *neutrophil extracellular traps*

NFAT : *nuclear factor of activated T-cells*

NF-κB : *nuclear factor kappa B*

$P2Y_{12}R$: récepteur $P2Y_{12}$ plaquettaire

PAF : *platelet activating factor*

PAMPs : *pathogen-associated molecular patterns*

PAR : *protease-activated receptor*

PDGF : *platelet-derived growth factor*

PF4 : *platelet factor 4*

PGA : *physician global assessment*

PI3K : *phospho-inositide-3 kinase*

PLCγ : phospholipase Cγ

PN : polynucléaire

PR : polyarthrite rhumatoïde

PSGL-1 : *P-selectin glycoprotein ligand 1*

PTI : purpura thrombopénique immunologique

RANTES : *Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed and presumably Secreted*

RCP : résumé des caractéristiques du produit

ROS : *reactive oxygen species* (dérivés réactifs de l'oxygène)

SAPL / APL : syndrome des antiphospholipides / antiphospholipide

SCA : syndrome coronarien aigu

SGK1 : *serum/glucocorticoid-inducible kinase 1*

SLAM-R : *systemic lupus activity mesure-revised*

SLEDAI : *systemic lupus erythematosus disease activity index*

SNP : *single-nucleotide polymorphism* (polymorphismes nucléotidiques)

STAT : *signal transducer and activator of transcription*

TCR : *T-cell receptor*

Tfh : lymphocyte T *follicular helper*

TGF-β : *transforming growth factor-β*

TLR : *Toll-like receptor*

TNF : *tumor necrosis factor*

TRAF : *TNF-receptor associated factor*

TPO : thrombopoïétine

TSP-1 : thrombospondine-1

TXA2 : thromboxane A2

TYK2 : tyrosine kinase 2

VCAM : *vascular cell adhesion molecule*

VPM : volume plaquettaire moyen

vWF : facteur von Willebrand

AVANT-PROPOS SUR LE LUPUS ÉRYTHÉMATEUX SYSTÉMIQUE

Le lupus érythémateux systémique (LES) est une maladie auto-immune chronique plus fréquente chez les sujets d'origine afro-caribéenne, hispanique ou asiatique. Les dernières données françaises estiment l'incidence du LES à 3.32 pour 100 000 et sa prévalence à 47 pour 100 000. Cette maladie systémique a une expression clinique et une sévérité variables, le phénotype cutanéo-articulaire classique pouvant alors se compléter par des atteintes viscérales sévères notamment rénales ou neurologiques(1,2).

La cause exacte du LES n'est pas connue, la survenue de la maladie semble multifactorielle. Il existe des prédispositions génétiques et épigénétiques au LES comme en témoignent le taux de concordance de 24% chez les jumeaux monozygotes et de 2% chez les dizygotes(3). Les gènes concernés permettent la transcription de protéines impliquées dans les voies physiopathologiques clés : prise en charge des corps apoptotiques et complexes immuns (CIs), Toll-like récepteurs (TLR), signalisation des lymphocytes B et T et production d'interféron (IFN) de type I(4,5). La région du génome la plus associée avec la susceptibilité lupique est celle du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) localisée sur le chromosome 6, la région HLA est le prédicteur le plus fort du risque génétique, l'association avec le LES est particulièrement robuste pour les allèles HLA de classe II DRB1*0301 et DRB1*1501(6,7). L'imprégnation œstrogénique semble impliquée dans la maladie comme l'illustre le sex-ratio de 9 femmes pour 1 homme, diminuant en dehors de la période d'activité génitale à 2-6 pour 1 avant la puberté et 3-8 pour 1 après la ménopause. A noter que le phénotype clinique masculin diffère de celui de la femme avec moins d'atteintes cutanéo-articulaires, plus de sérites, plus d'atteintes rénales souvent plus évoluées(8,9). Les facteurs environnementaux ont un rôle important dans le développement l'activité de la maladie. Les infections bactériennes, parasitaires mais surtout virales -comme l'EBV- pourraient participer à la rupture de tolérance immunitaire notamment par mimétisme moléculaire avec les autoantigènes(10–12). L'exposition aux rayons ultraviolets provoque des dommages de l'ADN induisant l'apoptose des kératinocytes, augmente l'exposition antigénique et la production de cytokines pro-inflammatoires par les kératinocytes et le recrutement de cellules de l'immunité innée et adaptative(13). Enfin, le tabagisme augmente le risque de développer un lupus, s'associe à une évolution défavorable et diminue l'efficacité de traitements comme l'hydroxychloroquine et le belimumab(14). La pollution de l'air, la carence en vitamine D ou l'obésité sont des potentiels facteurs de risque, des données robustes manquent cependant pour conclure sur l'implication de ces facteurs(15).

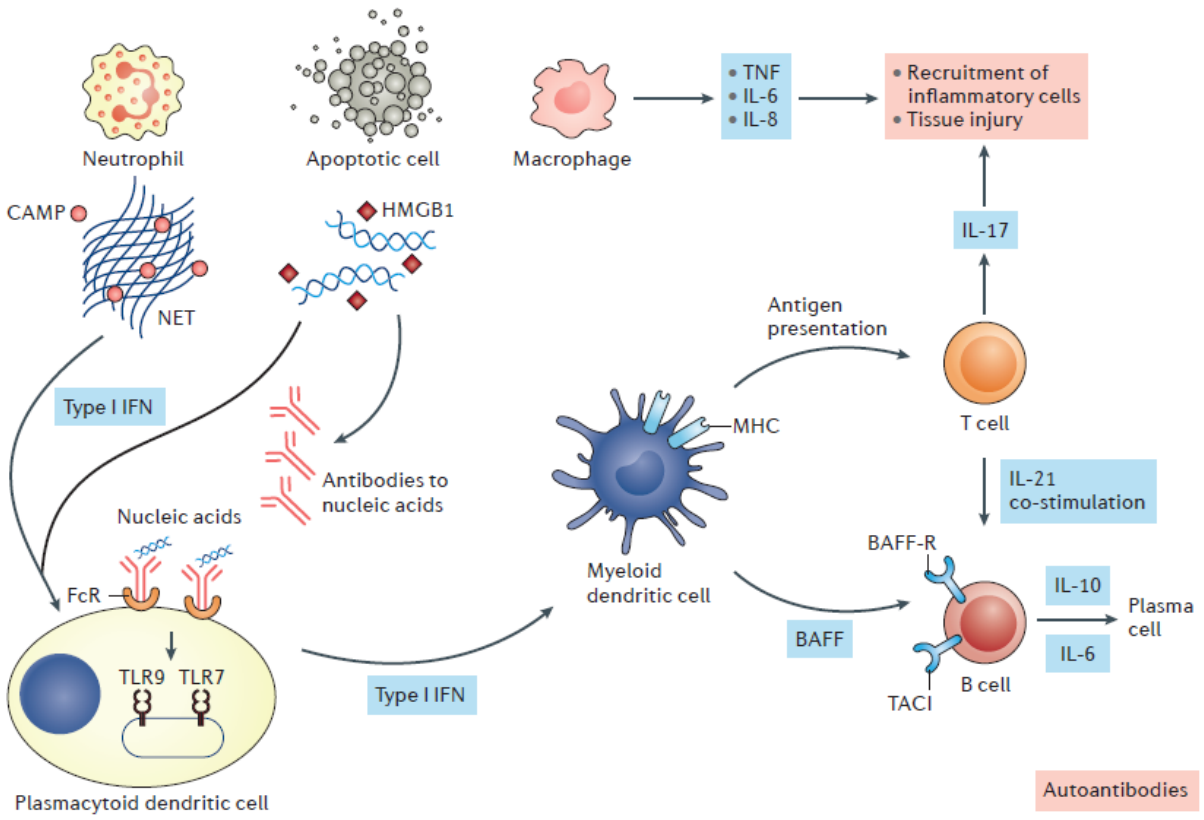
Les bases immunopathologiques du LES sont complexes. Il existe une perte de tolérance vis à vis d'antigènes d'origine nucléaire en rapport avec un déséquilibre entre production et clairance des corps

apoptotiques issus de la mort cellulaire. Cette surexposition à des autoantigènes nucléaires est prise en charge par les cellules dendritiques (DCs), cellules clés du système immunitaire à l'interface entre immunité innée et adaptative(16,17). L'immunité innée implique l'activation de DCs, cellules présentatrices d'antigène (CPA) professionnelles capables de capturer et présenter le matériel nucléaire aux cellules effectrices de l'immunité adaptative. Les DC plasmacytoïdes (pDC) peuvent produire de grandes quantités d'IFNα lorsqu'elles sont stimulées par les CIs endocytés via un mécanisme dépendant de leur récepteur FcγRIIA, les acides nucléiques issus des débris cellulaires sont alors reconnus par leurs TLR 7 et 9 ce qui conduit à la transcription du gène de l'IFNα. La production optimale d'IFNα par la pDC semble dépendante de la présence de CD40 ligand (CD40L) plaquettaire(18,19). L'IFNα sécrété a pour effet de favoriser sa propre sécrétion par les pDC et d'optimiser la présentation antigénique en promouvant la différenciation des monocytes en cellules dendritiques myéloïdes (mDC) capables de phagocyter les autoantigènes nucléaires, migrer et les présenter dans les organes lymphoïdes secondaires aux lymphocytes T et B, l'ensemble débouchant à une activation de l'immunité adaptative(19,20).

L'immunité adaptative alors sollicitée implique deux types de lymphocytes. Les lymphocytes T répondent par excès à la stimulation de leur TCR. Il existe un déséquilibre dans les sous populations lymphocytaires T. Les lymphocytes T CD4 *follicular helper* (Tfh) sont surexprimés et peuvent d'une part activer les lymphocytes B et induire la formation du centre germinatif et d'autre part activer les lymphocytes T CD8 cytotoxiques, participant aux lésions inflammatoires tissulaires. Les lymphocytes B sont indirectement activés par les lymphocytes T ou directement via la molécule BLyS ou BAFF, contrôlant la survie et l'activation des lymphocytes B. Leur sélection centrale et périphérique est dérégulée. Ils vont induire la production d'autoanticorps antinucléaires dirigés notamment contre l'ADN et les ribonucléoparticules impliqués dans la genèse des lésions. Les lymphocytes B ont la capacité de présenter l'antigène et d'entretenir l'activation des lymphocytes T autoréactifs(20–22).

Finalement, chaque cellule du système immunitaire est impliquée directement ou indirectement via la sécrétion de cytokines comme illustré dans la Figure 1. L'IFN de type I et le CD40 ligand soluble (sCD40L) semblent être les deux cytokines majeures dans la physiopathologie du LES, avec pour sources principales les pDC et les plaquettes respectivement(23).

<u>Figure 1</u> d'après Tsokos et al.(17) **: mécanismes cellulaires aboutissant au développement du LES.** *L'exposition aux acides nucléiques par la NETose et l'apoptose stimule les pDC qui produisent de l'IFN de type I capable de favoriser la présentation antigénique et d'activer les lymphocytes B et T de l'immunité adaptative conduisant à la production d'autoanticorps et aux lésions tissulaires*.



La stratégie thérapeutique médicamenteuse dépend de la sévérité du LES : l'hydroxychloroquine (antipaludéen de synthèse) peut être utilisée seule comme traitement de fond ou s'associer à la corticothérapie en première ligne, puis si nécessaire aux immunomodulateurs ou immunosuppresseurs(24). Les immunosuppresseurs conventionnels utilisés depuis longtemps dans le lupus systémique (mycophénolate mofétil, azathioprine, méthotrexate, cyclophosphamide, inhibiteurs de calcineurine) ont encore leur place dans le traitement y compris des formes graves comme la glomérulonéphrite. Cependant, ces traitements ont une toxicité non négligeable et sont associés à une mortalité prématurée et des dommages accrus. Dans ce contexte les thérapies ciblées pourraient avoir un intérêt pour limiter les effets secondaires(25). Les revues de la littérature sur l'utilisation des thérapies ciblées dans le LES présentent des résultats assez décevants (26–30). Seul le belimumab (anticorps monoclonal anti-BLyS soluble, cytokine de survie et de prolifération du lymphocyte B), a obtenu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) dans le lupus extrarénal après deux études de phase III positives en 2011(31,32). Le rituximab (anticorps monoclonal ciblant le CD20 du lymphocyte B) a montré une efficacité dans l'analyse post-hoc de l'étude EXPLORER(33) initialement négative(34), selon les recommandations de 2019 de l'EULAR (*European League Against Rheumatism*), il peut être utilisé hors AMM en situations réfractaires de lupus sévère, en particulier rénal, hématologique ou neurologique(24).

Le caractère bimodal de mortalité dans le LES a été initialement décrit en 1976 avec une mortalité précoce liée à l'activité de la maladie, puis une mortalité tardive d'origine cardiovasculaire(35). Le haut risque cardiovasculaire associé au LES s'explique d'une part par les facteurs de risque traditionnels, mais également par le caractère pro-athéromateux de l'inflammation et la toxicité des traitements comme la corticothérapie(36). L'ère de la corticothérapie a amélioré la survie à 10 ans dans le LES de 50% dans les années 1950 jusqu'à atteindre progressivement un plateau à 90% à 10 ans dans les années 1990(37). La mortalité cardiovasculaire est aujourd'hui un enjeu de premier plan et justifie de limiter les dommages organiques, en particulier liés à une corticothérapie prolongée de plus de 7.5 mg de prednisone par jour. Il est recommandé d'utiliser la corticothérapie la plus faible possible en s'appuyant sur un traitement de fond par hydroxychloroquine et immunosuppresseurs(38,39). L'objectif thérapeutique ou « treat to target » met en balance l'intérêt du contrôle du LES et le poids des séquelles thérapeutiques. L'objectif strict de rémission lupique laisse place au concept de « low disease activity » défini par un score SLEDAI-2K(40) inférieur ou égal à 4 sans activité d'organe majeur ni caractéristique lupique nouvelle avec un PGA (*physician global assessment*) inférieur ou égal à 1 sur 3 et une corticothérapie maximale de 7.5 mg par jour permise par un traitement de fond. Les patients entrant dans cette définition plus de 50% du temps cumulent significativement moins de dommages organiques(41). Il convient alors de trouver un traitement de fond optimal pour atteindre cet objectif sans augmenter par ailleurs le risque cardiovasculaire lupique.

Les plaquettes sont des éléments du sang traditionnellement connus pour leur rôle dans la régulation de l'hémostase en physiologie et dans l'athérome en pathologie. Des données récentes de plus en plus nombreuses montrent qu'elles ont également un rôle dans la régulation de l'inflammation, à la transition entre immunité innée et adaptative(42). Le LES étant une maladie inflammatoire à haut risque cardiovasculaire, la plaquette pourrait être un élément clé de sa physiopathologie et une cible thérapeutique éventuelle.

1. PLAQUETTE : PHYSIOLOGIE ET PATHOLOGIE

1.1. Généralités

1.1.1. Thrombopoïèse et répartition des plaquettes

Les plaquettes sont des éléments figurés du sang dépourvus de noyaux dérivant de la fragmentation du cytoplasme de leur précurseur, le mégacaryocyte médullaire, une cellule géante polyploïde ayant subi une endomitose. Chaque mégacaryocyte est capable de libérer plusieurs milliers de plaquettes. La mégacaryopoïèse est finement régulée par la thrombopoïétine (TPO), un facteur de croissance principalement synthétisé par le foie agissant sur les différentes étapes de maturation depuis la cellule souche hématopoïétique jusqu'au mégacaryocyte. Le récepteur à la TPO appelé MPL est un récepteur homodimérique dont le domaine cytoplasmique est couplé à deux protéines chaperonnes de la famille des Janus Kinases (JAK2 et TYK2). MPL est exprimé à la surface des cellules souches hématopoïétiques, des mégacaryocytes et des plaquettes. La TPO n'agit pas à proprement parler sur la formation des plaquettes même si elle est capable d'y préparer l'ultrastructure mégacaryocytaire (démarcation membranaire, formation des granules). A la fin de sa maturation, le mégacaryocyte change de microenvironnement médullaire en passant de la niche ostéoblastique à la niche vasculaire, il forme des pseudopodes appelées proplaquettes qui se fragmentent en plaquettes sous l'effet du flux sanguin. Ce processus de mégacaryopoïèse puis de thrombopoïèse permet la formation de 2×10^{11} plaquettes par jour(43,44). Cette production constante est contrebalancée par une demi-vie plaquettaire courte d'environ 10 jours, après quoi les plaquettes vieillies sont éliminées par le système réticulo-histiocytaire de la moelle osseuse, du foie ou de la rate, permettant une régulation d'un taux normal de plaquettes entre 150 et 350 G/L. Le pool plaquettaire se situe principalement dans le compartiment sanguin alors qu'un tiers est séquestré réversiblement dans la rate(45).

1.1.2. Morphologie et constitution de la plaquette

Alors que la plaquette est de forme discoïde au repos, elle prend une forme sphérique de 2-3 µm de diamètre une fois activée, avec de longues extensions dendritiques facilitant son adhésion. Le cytoplasme est riche en actine et myosine permettant les changements de forme. La plaquette n'a pas de noyau, mais parmi ses organites notables, on note la présence de mitochondries et celle de lysosomes, considérés comme des granules contenant des enzymes de dégradation.

Le système granulaire permet aux plaquettes de stocker dans leur cytoplasme des molécules bioactives synthétisées par le mégacaryocyte précurseur (facteur von Willebrand : vWF), endocytées

ultérieurement depuis le plasma (fibrinogène) ou encore synthétisées par la plaquette qui possède un transcriptome (IL-1β). Ces molécules ont des fonctions très variées (facteurs de coagulation, molécules d'adhésion, facteurs de croissance, facteurs angiogéniques, médiateurs de l'immunité), elles sont exprimées à la surface plaquettaire ou libérées par exocytose à partir des granules dans le flux sanguin lors de l'activation plaquettaire. Il existe deux types de granules sécrétoires. Le premier type concerne les granules denses, minoritaires (3 à 8 par plaquette mature), capables de contenir et de sécréter du calcium, de l'ADP, de l'ATP ou de la sérotonine renforçant ainsi l'hémostase primaire et l'activation plaquettaire en particulier via le récepteur plaquettaire $P2Y_{12}$. Le second type est représenté par les granules α, majoritaires (50 à 80 par plaquette mature) capables de contenir et de sécréter une vaste gamme de molécules nécessaire à l'hémostase primaire (vWF, fibrinogène, fibronectine) mais également à l'angiogenèse ou à l'inflammation.

Un réseau d'invaginations profondes de la membrane plaquettaire connecté à la surface appelé système canaliculaire facilite la sécrétion et l'endocytose. La membrane plaquettaire est dotée de nombreuses glycoprotéines (GPs) qui sont les médiateurs essentiels de l'hémostase primaire, permettant l'adhésion de la plaquette au tissu sous endothélial, l'activation plaquettaire, la formation du clou plaquettaire, puis à l'agrégation plaquettaire.

Enfin il convient de rapporter la capacité des plaquettes activées à produire des microparticules : soit des exosomes de 40-100 nm dérivant des granules α, soit plus grandes de 100-1000 nm dérivant directement de la membrane plaquettaire. Ces microparticules ont un rôle capital dans l'interaction avec les leucocytes et dans la promotion de la réponse inflammatoire(45–47).

1.1.3. CD40L et sCD40L plaquettaires

Le CD40L est une protéine transmembranaire trimérique dont l'expression a initialement été rapportée au niveau du lymphocyte T CD4+ activé, contribuant à la réponse humorale T dépendante. En 1998, Henn a rapporté la capacité des plaquettes à exprimer le CD40L quelques secondes après leur activation *in vitro* et dans le processus de formation de thrombose *in vivo*. Le CD40L permet à la plaquette de dialoguer via le CD40 avec les leucocytes et les cellules endothéliales, augmentant l'expression de leurs protéines d'adhésion (VCAM-1, ICAM-1, E-Selectine) et la sécrétion de chimiokines et cytokines inflammatoires (IL-8, MCP-1) ayant pour effet de recruter des PNs neutrophiles et des monocytes. Ces observations suggéraient déjà que la plaquette initiait une réponse inflammatoire au niveau du vaisseau(48).

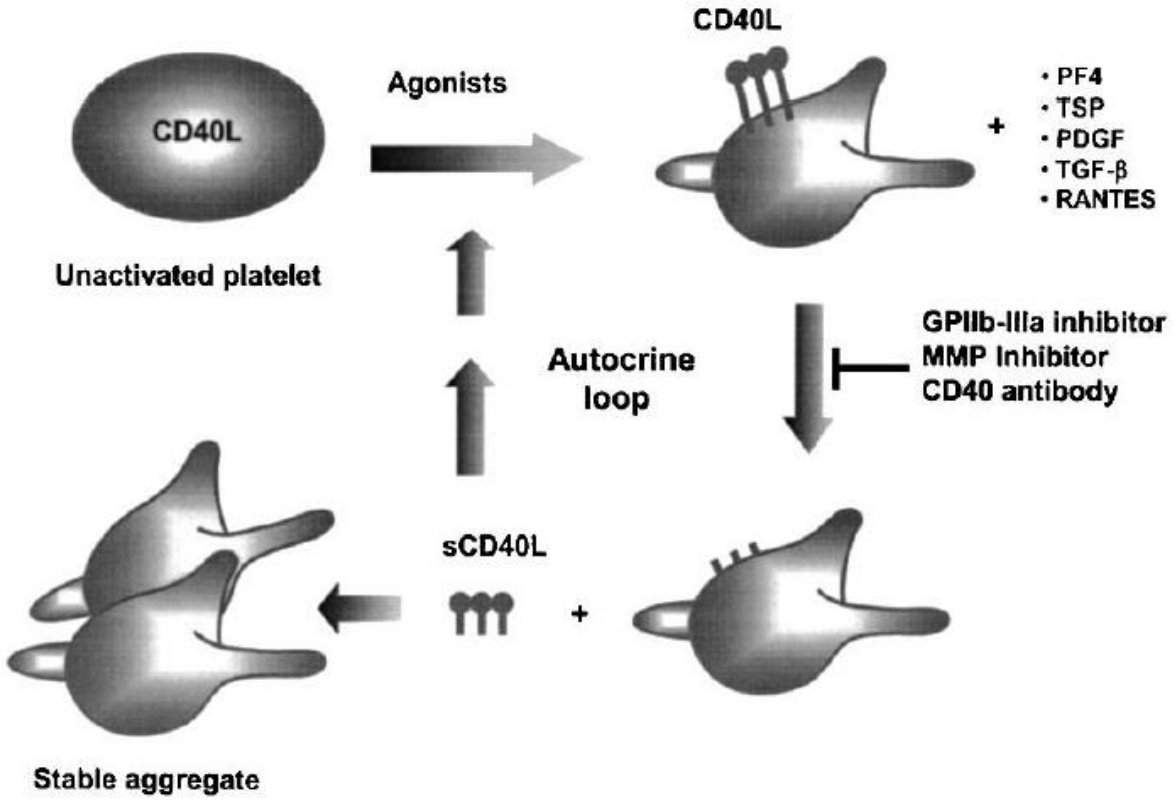
L'expression membranaire plaquettaire rapide du CD40L lors de l'activation plaquettaire s'explique par le fait que le CD40L est stocké à l'état préformé dans les granules α. Les plaquettes sont considérées comme le premier réservoir de CD40L circulant, stockant plus de 95% de ce dernier. Quelques minutes

à quelques heures après l'activation plaquettaire et l'expression du CD40L à la membrane, le CD40L est clivé et relargue du sCD40L conservant sa conformation trimérique(49–51).

Fonctionnellement, le sCD40L semble avoir la même bioactivité que le CD40L dans sa capacité à engager le CD40 et à apporter une réponse pro-inflammatoire comme cela est détaillé dans un chapitre dédié (2.2). Par ailleurs, il est important de souligner que le clivage du CD40L conduit à une exposition d'un motif KGD (lysine, arginine, glutamate) du sCD40L capable se lier à l'intégrine αIIbβ3 plaquettaire (ou GPIIb-IIIa) et de stabiliser le thrombus dans des conditions de cisaillement élevé. Cette interaction explique l'activité pro-thrombotique du sCD40L plaquettaire et sa fonction de stabilisateurs de thrombus artériel(52).

Il existe un axe CD40L/GPIIb-IIIa plaquettaire comme présenté dans la Figure 2. La GPIIb-IIIa est impliquée dans le clivage de CD40L par une métalloprotéase pour produire du sCD40L (comme en témoigne la réduction du sCD40L lors de l'antagonisation expérimentale de GPIIb-IIIa). En retour, une boucle autocrine permet au sCD40L d'entretenir l'activation plaquettaire via la GPIIb-IIIa et le CD40 plaquettaires(53).

Figure 2 d'après André et al.(50) **et Prasad et al.**(53) **: l'activation plaquettaire permet l'expression de CD40L à la membrane puis la libération de sCD40L ayant un rôle autocrine.** *L'activation plaquettaire par des agonistes multiples (ADP, thrombine, collagène) permet la translocation du CD40L granulaire à la membrane, concomitante du relargage du contenu des granules α. Le CD40L est alors clivé en sCD40L par une métalloprotéase, sous la dépendance de la GPIIb-IIIa. Le sCD40L est capable de former une boucle autocrine pour entretenir sa production.*



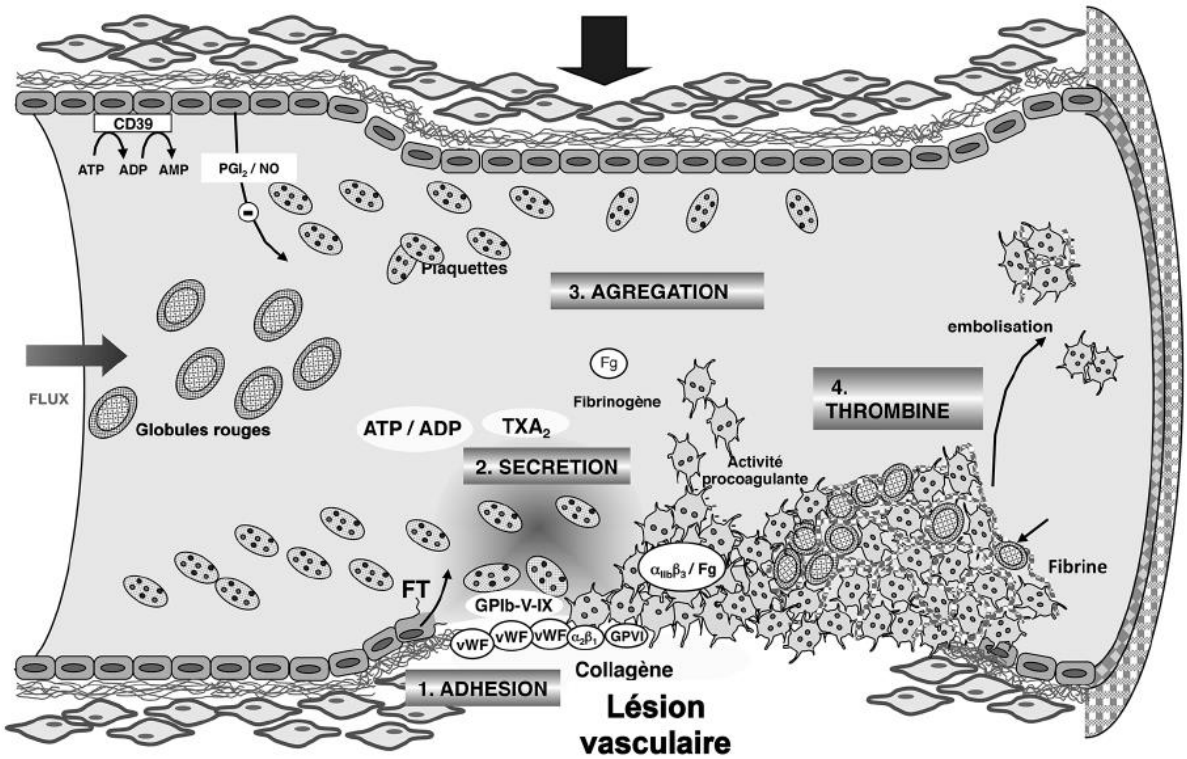
1.2. Physiologie plaquettaire

1.2.1. Place de la plaquette dans l'hémostase primaire

Lors d'une brèche vasculaire, les plaquettes sont les premiers acteurs chargés de contrôler le saignement, c'est-à-dire d'induire l'hémostase primaire. Les différentes étapes sont représentées dans la Figure 3. La première étape correspond à l'adhésion des plaquettes au sous endothélium exposé au travers du lien de la GPIb (complexe GPIb-IX-V) au domaine A1 du vWF et de la GPVI au collagène. Ces interactions au niveau du site vasculaire lésé permettent l'adhésion des plaquettes circulantes afin de former un thrombus stable. À la suite de l'adhésion, des signaux de transduction permettent l'activation plaquettaire, modifiant le cytosquelette, les capacités de sécrétion et l'expression d'intégrines entretenant l'adhésion et permettant l'agrégation. La principale intégrine GPIIb-IIIa (ou αIIbβ3) lie le vWF et le fibrinogène dans des conditions de cisaillement. L'activation plaquettaire (par le vWF, le collagène ou la thrombine) induit également la sécrétion d'autres agonistes plaquettaires (comme l'ADP et la sérotonine) et la génération membranaire de thromboxane A2 (TXA2) qui renforcent l'agrégation en activant des récepteurs plaquettaires couplés aux protéines G nommés (par exemple les récepteurs à l'ADP $P2Y_1$ et $P2Y_{12}$). Les plaquettes activées expriment également la P-selectine à leur surface, un contre-récepteur pour la GPIb plaquettaire et pour la PSGL-1 (*P-selectin glycoprotein ligand 1)*

leucocytaire, illustrant la diversité des interactions cellulaires : plaquette-plaquette, plaquette-cellule endothéliale et plaquette-leucocyte. Enfin l'agrégat de plaquettes activées ou thrombus accélère la cascade de la coagulation (hémostase secondaire) et conduit à la stabilisation du clou plaquettaire par la thrombine clivant le fibrinogène en fibrine(54,55).

<u>Figure 3</u> d'après Gachet(55) **: étapes de l'hémostase primaire après une brèche vasculaire.** *L'activation plaquettaire est d'abord provoquée par la paroi vasculaire lésée au moment de l'adhésion (1) mettant en contact les GPs plaquettaires avec le vWF, le collagène ou la fibronectine, puis elle est amplifiée par les médiateurs solubles des sécrétions granulaires (2) comprenant l'ADP, le TXA2 et la sérotonine interagissant avec un récepteur couplé aux protéines G. Cela permet d'aboutir à l'agrégation qui met en jeu la GPIIb-IIIa (3) et à la formation de thrombine (4) elle-même puissant activateur plaquettaire via un récepteur couplé aux protéines G.*



1.2.2. Place de la plaquette dans l'immunité

1.2.2.1. Un arsenal d'outils immunomodulateurs à disposition

En plus de leur fonction majeure dans l'hémostase primaire, les plaquettes ont également une fonction inflammatoire et peuvent réguler l'immunité innée et acquise. Cela est permis par l'expression de nombreuses cytokines et molécules immunomodulatrices situées dans le système granulaire ou dans la

membrane, leur procurant une capacité à interagir avec les différentes cellules du système immunitaire(56).

Un grand nombre des fonctions non-hémostatiques des plaquettes est lié aux molécules biologiquement actives contenues dans les granules plaquettaires à l'état de repos mais transloquées à la membrane ou libérées dans le flux sanguin lors de l'activation (la stimulation plaquettaire par la thrombine libère plus de 300 protéines). L'origine de ces protéines provient de l'endocytose, de la biosynthèse par le mégacaryocyte précurseur ou de la biosynthèse *de novo* par la plaquette elle-même. En effet, bien que dépourvue de noyau, elle dispose d'ARNm et de toute la machinerie traductionnelle nécessaire à la production de protéines, par exemple de la cytokine inflammatoire IL-1β. Les protéines contenues dans les granules α sont nombreuses, parmi lesquelles on retrouve des facteurs de coagulation, des chimiokines, des protéines d'adhésion, des facteurs mitogènes, des régulateurs de l'angiogenèse. Il semble exister une organisation dans le stockage et la libération par différentes classes de granules α. Les protéines contenues dans les granules denses, plus rares, contiennent notamment l'ADP. Le Tableau 1a résume de manière non exhaustive les différentes protéines granulaires d'intérêt pour notre propos. Le rôle fondamental du CD40L est développé dans une partie dédiée (2.2.), parmi les autres molécules ayant un rôle majeur dans l'inflammation on peut citer la P-selectine (interactions plaquettes-leucocytes-cellules endothéliales), la TSP-1 (phagocytose des corps apoptotiques, chimiotactisme), le PAF (activation plaquettaire, adhésion entre plaquettes, leucocytes et endothélium) ou encore RANTES et PF4/CXCL4 (adhésion et recrutement des monocytes et PNs neutrophiles, différenciation du monocyte en macrophage, activation lymphocytaire T, interaction avec la plaquette)(56–58).

Certaines molécules de la membrane plaquettaire assurent elles aussi un rôle dans la réponse immunitaire, les principales sont récapitulées dans le Tableau 1b. Certaines sont préformées comme le CD40 dont la fonction est détaillée dans la partie dédiée (2.2.) ou les TLRs, une famille de récepteur de l'immunité innée reconnaissant des motifs moléculaires conservés d'agents pathogènes présentés par les CPA. Lors de l'infarctus du myocarde, les signaux dangers libérés sont une voie à part entière déclenchant une activation pro-inflammatoire des TLR plaquettaires, les TLR 1 et 4 semblent particulièrement surexprimés. D'autres molécules membranaires d'intérêt dans l'inflammation sont générées *de novo* comme le dérivé lipidique thromboxane A2 (TXA2) et le PAF(57,59).

<u>Tableau 1</u> d'après Semple et al.(56) **et Koupenova et al.**(60) **: listes non exhaustive des molécules du système granulaire plaquettaire (a) et de la membrane plaquettaire (b) ayant un intérêt dans la réponse immunologique et l'hémostase.** DC : cellule dendritique, IL-1β : interleukine-1β, PF4 : platelet factor 4, PDGF : platelet-derived growth factor, PAF : platelet activating factor, PN : polynucléaire, TGF-β : transforming growth factor-β, TLR : Toll-like receptor, TSP-1 : thrombospondine-1, TXA2 : thromboxane A2, vWF : facteur von Willebrand

Molécule	Localisation	Cible(s)	Fonction(s)
ADP	Granules denses	Récepteurs $P2Y_1$- $P2Y_{12}$	Hémostase
Calcium	Granules denses	Interactions calcium-dépendantes	Hémostase
Sérotonine (5-HT)	Granules denses	Monocytes macrophage, cellule endothéliale, lymphocyte T, plaquette	Hémostase, Immunité adaptative
IL-1β	Granules denses	Monocyte, macrophage, lymphocyte T, DC	Cytokine inflammatoire
RANTES (CCL5)	Granules α	Monocyte, macrophage, DC, PN, *natural killer*, plaquette, lymphocyte T	Chimiokine inflammatoire
vWF	Granules α	Plaquettes	Hémostase
TSP-1	Granules α	Monocyte, macrophage, cellule endothéliale	Inflammation
PF4 (CXCL4)	Granules α	PN, monocyte, plaquette, érythrocyte, bactérie	Chimiokine inflammatoire, infection
TGF-β	Granules α	Monocyte, macrophage, lymphocytes T et B	Immunosupression
PDGF	Granules α	Monocyte, macrophage, lymphocyte T et B	Cicatrisation
P-selectine (CD62p)	Granules α	Cellule endothéliale, monocyte, PN, DC, C3b	Adhésion à endothélium Interaction leucocytaire Infection
CD40L	Granules α	CD40 (lymphocyte B, DC, macrophage, monocyte, cellule endothéliale)	Immunité, infection Interactions endothéliales

a

Molécule	Production	Cible(s)	Fonction(s)
TXA2	Synthétisé	Plaquette, macrophage, monocyte, lymphocyte T	Hémostase, inflammation
PAF	Synthétisé	Plaquette, PN, monocyte, macrophage	Inflammation
TLR 1-2-3-4-5-6-7-9	Préformé	DC, macrophage, monocyte, PN, plaquette	Détections de pathogènes et signaux dangers endogènes
GPIb (CD42)	Préformé	vWF, cellule endothéliale, leucocyte, bactérie	Hémostase, infection
GPIIb-IIIa (CD41)	Préformé, assemblé	Fibrinogène, bactérie, lymphocyte T	Hémostase, infection, interaction lymphocyte T
CD40	Préformé	CD40L leucocytaire	Immunité, infection, interactions endothéliales

b

1.2.2.2. Régulation des interactions entres cellules immunitaires

Les molécules bioactives relarguées (chimiokines et cytokines inflammatoire, dont le sCD40L) et exprimées à la membrane (dont la P-selectine et le CD40L) lors de l'activation plaquettaire permettent de nombreuses interactions entre les plaquettes entre-elles mais également avec les différentes cellules du système immunitaire comme cela est illustré dans la Figure 4. L'architecture du thrombus comprend un cœur de fibrine et des plaquettes très activées formant des réseaux serrés autour duquel la coque

externe est plus lâche et poreuse et les plaquettes sont moins activées. Un gradient d'activation plaquettaire et de concentration d'ADP et TXA2 permet cette architecture dynamique : les plaquettes très activées du cœur recrutent des leucocytes passant par l'enveloppe externe poreuse du thrombus pour réparer les lésions et éliminer les éventuels agents pathogènes.

L'interaction des plaquettes avec l'endothélium en conditions de stress (inflammation, infection) se résume par un roulage des plaquettes sur l'endothélium (médié par GPIb ou P-selectine), suivi d'une adhésion plaquettaire ferme (médiée par ICAM-1 et GPIIb-IIIa). Le CD40L plaquettaire est un autre mode d'interaction avec la cellule endothéliale lui faisant sécréter des protéines pro-inflammatoires (IL-8 et MCP-1) et exprimer des protéines d'intérêt dans l'inflammation (E-selectine, VCAM-1, ICAM-1). Par ailleurs, le relargage plaquettaire d'IL-1β augmente la perméabilité endothéliale et le recrutement leucocytaire. En retour la cellule endothéliale peut réguler l'activation plaquettaire en sécrétant de l'oxyde nitrique et des prostacyclines.

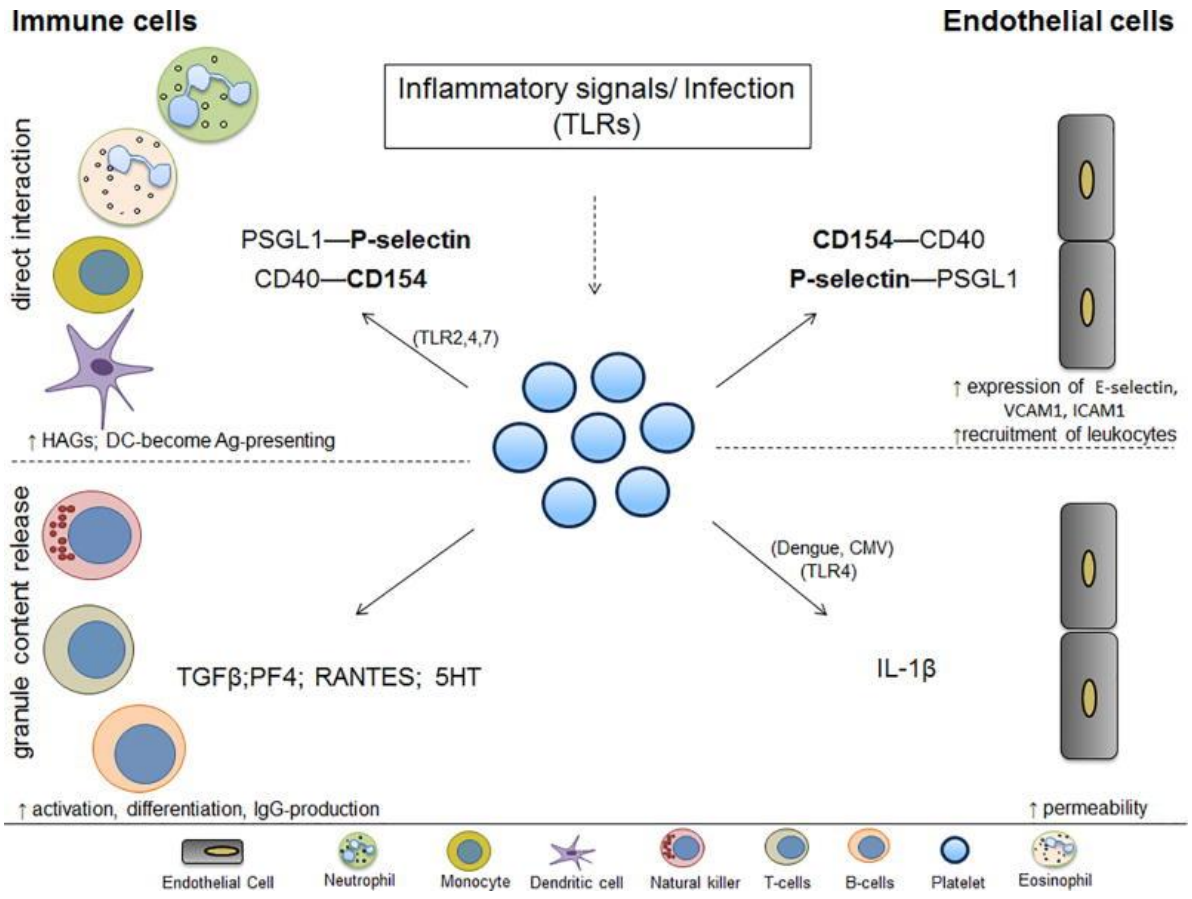
L'interaction des plaquettes avec les polynucléaires neutrophiles et les monocytes est capitale pour initier la réponse immunitaire innée. La formation d'agrégats plaquettes-neutrophiles est fonction de l'activation des TLR 2, 4 et 7 et médiée par l'interaction P-selectine plaquettaire/PSGL1 leucocytaire. La formation d'agrégats plaquettes-monocytes est complexe, leur adhésion semble résulter notamment d'une hétérodimérisation de RANTES avec HNP1 (*human neutrophil peptide 1*).

L'interaction des plaquettes avec les DCs se fait essentiellement par l'axe CD40/CD40L en stimulant la présentation antigénique des DCs aux lymphocytes T. De plus, les plaquettes peuvent interagir avec les DCs au travers de l'axe P-selectine/PSGL-1 permettant une adhésion entre plaquette et DC.

L'agrégation des plaquettes avec les lymphocytes T cytotoxiques ou auxiliaires est d'autant plus forte que ces derniers sont activés. Elle passe par l'interaction entre la GPIIb-IIIa ou le CD40L plaquettaire et le CD11b lymphocytaire. Les plaquettes facilitent le recrutement lymphocytaire T sur le site inflammatoire ou infecté et leur activité sécrétoire (RANTES-PF4, sérotonine) optimise la fonction des lymphocytes T. La réponse humorale des lymphocytes B semble également être optimisée par l'interaction plaquettaire.

L'interaction entre plaquette et cellule *natural killer* (NK) est mal connue. Le modèle tumoral semble montrer que les plaquettes peuvent protéger les cellules métastatiques des cellules NK par le relargage de TGF-β, leur faisant perdre leur cytotoxicité et leur capacité à produire l'IFNγ(60).

<u>Figure 4</u> d'après Koupenova et al.(60) **: interactions entre plaquettes et cellules de l'immunité.** Les plaquettes s'activent en réponse à une lésion vasculaire ou à un stimulus inflammatoire ou infectieux, elles modifient alors l'expression de leurs protéines membranaires, relarguent des molécules granulaires bioactives, et peuvent ainsi stimuler l'ensemble des cellules du système immunitaire.



1.2.2.3. De l'inflammation vasculaire à l'inflammation systémique

La fonction pro-inflammatoire de la plaquette a été initialement étayée à partir d'étude sur sa contribution au développement de l'athérosclérose. La voie inflammatoire empruntée par l'athérosclérose favorise le relargage de cytokines et chimiokines, l'activation des cellules impliquées dans l'athérosclérose et les interactions cellule-cellule : recrutement des monocytes dans les artères athérosclérotiques, formation d'agrégats plaquettes-monocytes, interaction avec l'endothélium et libération de chimiokines. La place centrale de la plaquette est représentée sur la Figure 5. La plaquette activée est à l'initiative de cette réponse inflammatoire par l'expression de P-selectine mais surtout de CD40L dont elle est la principale source (plus de 95% du CD40L circulants est plaquettaire). Au travers de l'interaction CD40/CD40L, les plaquettes sont capables de déclencher des réponses inflammatoires variées sur l'endothélium dont les modalités sont multiples (cytokines, métalloprotéases, molécules d'adhésion, facteur tissulaire). Les principales sécrétions pro-inflammatoires relarguées par la plaquette activée après l'adhésion à l'endothélium pathologique sont le sCD40L mais aussi RANTES (CCL5), PF4 (CXCL4) et IL-1β qui entretiennent l'inflammation endothéliales et recrutent les monocytes sur les sites athérosclérotiques. Le CD40L plaquettaire est en outre capable de promouvoir le processus inflammatoire de l'athérosclérose en inhibant le recrutement de lymphocytes T régulateurs(51,56).

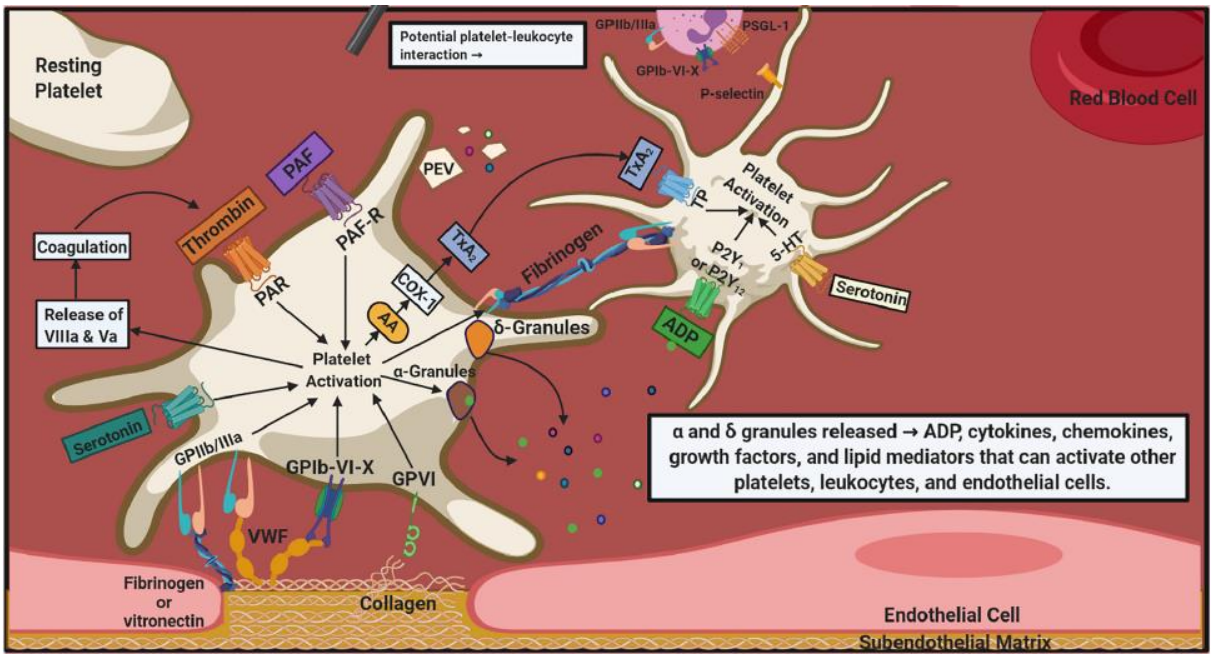
Comme vu précédemment, les plaquettes sont des éléments circulants riches en molécules bioactives permettant de multiples interactions cellulaires. L'activation plaquettaire ouvre également la possibilité d'une communication à distance par la libération dans la circulation de microparticules plaquettaires (MPs). Celles-ci renferment les molécules de l'inflammation que contiennent les plaquettes (P-selectine, RANTES, IL-1β notamment) et sont donc un vecteur de réponse inflammatoire à distance(61). Le CD40L plaquettaire, déjà à l'origine de nombreuses interactions immunitaires (comme la maturation des DCs et l'activation des lymphocytes B et T) peut également être transporté par des MPs, augmentant ainsi le nombre et la portée des interactions cellulaires. Il a été montré *in vitro* que les MPs sont un vecteur suffisant à la fonctionnalité du CD40L, permettant alors une activité à des sites éloignés du lieu d'activation plaquettaire(62). A titre d'illustration de l'action de longue portée des MPs, il a été montré la présence de MPs porteuses de signaux inflammatoires dans le liquide synovial de patients atteints d'arthrite inflammatoire de type polyarthrite rhumatoïde (PR) alors qu'elle étaient absentes en cas de pathologie mécanique (arthrose)(63).

Un autre mode de communication original des plaquettes avec les monocytes, macrophages ou cellules endothéliales est la transmission bidirectionnelle d'ARN : les ARN messagers (mARN) qui sont des transcrits codants et les micro ARN (miARN) qui sont de petits ARN non codants modulant l'expression des gènes par régulation post-transcriptionnelle. Les MPs sont particulièrement importantes pour ces échanges d'ARN(60). Les modifications de transcriptome engendrées peuvent avoir des conséquences inflammatoires, comme par exemple la reprogrammation vers un phénotype phagocytaire des macrophages ayant intégré le miARN miR-126-3p(64).

Enfin, les plaquettes sont capables de transférer des mitochondries, via des MPs ou non, notamment vers les PNs neutrophiles. Le contenu mitochondrial (acide arachidonique, ADN mitochondrial) renforce alors l'environnement pro-inflammatoire, l'internalisation modifie le fonctionnement du PN en augmentant son roulage sur l'endothélium et sa capacité à induire des NETs(65).

Les effets indésirables d'ordre inflammatoire rencontrés lors de transfusion sanguine concernent d'avantage les concentrés plaquettaires que leurs autres produits sanguins labiles : plus de 25% est lié aux concentrés plaquettaires qui ne représentent pourtant que 10% des produits sanguins labiles délivrés. Les publications de Cognasse et Garaud illustrent la capacité des plaquettes allogéniques à s'activer en réponse au stress de leur collecte, préparation ou passage veineux chez le receveur et ainsi à libérer des molécules inflammatoires (CD40L, RANTES, IL-1β notamment). Le risque de réaction inflammatoire systémique de type allergique ou réaction fébrile non hémolytique est directement corrélé au taux de sCD40L infusé chez le receveur. L'axe CD40/CD40L semble donc être un acteur majeur de l'inflammation systémique induite par les plaquettes dans le modèle transfusionnel(66,67).

<u>Figure 5</u> d'après Lordan et al.(68) **: la plaquette activée et ses MPs propagent une réponse inflammatoire dynamique en activant d'autres plaquettes puis des leucocytes et cellules endothéliales**. Lors de l'activation plaquettaire au contact de l'endothélium, plusieurs agonistes plaquettaires sont libérés comme l'ADP, le PAF, le TXA2 ou la thrombine permettant d'activer de nouvelles plaquettes par des voies multiples, puis d'autres molécules bioactives comme P-selectine, RANTES, PF4, IL-1β ou CD40L permettent l'activation de cellules endothéliales et leucocytaires.



1.3. La plaquette en pathologie humaine

Comme discuté précédemment, la plaquette activée a un rôle « historique » dans l'hémostase et un rôle en plein essor dans l'inflammation avec des applications cliniques dans des pathologies toujours plus nombreuses : rejet de greffe, thrombopénie induite par l'héparine, sepsis, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), psoriasis, PR ou encore LES en sont quelques exemples(57). Notre propos se limitera à l'implication de la plaquette dans la pathologie lupique et athéromateuse, ces deux maladies épidémiologiquement liées étant un enjeu allant de pair dans la pratique clinique.

1.3.1. La plaquette activée dans la pathogénie du LES

Le rôle de l'activation plaquettaire dans le LES est documenté depuis 20 ans. En pratique, l'activation plaquettaire est évaluable par la mesure du volume plaquettaire moyen (VPM), l'expression plaquettaire de CD62p ou de CD40L, les concentrations plasmatiques de P-selectine et de sCD40L, le niveau de

microparticules circulantes ou encore le taux d'agrégats plaquettes-leucocytes. La plaquette et les MPs qui en dérivent sont au carrefour des grandes voies physiopathologiques du LES comme la stimulation des cellules dendritiques, la promotion d'IFN de type I ou l'activation des lymphocytes B et T(69,70).

1.3.1.1. Modes d'activation plaquettaire dans le LES

Il existe trois grands acteurs pouvant déclencher l'activation plaquettaire et le relargage de MPs dans le LES : les complexes immuns (CIs), les anticorps antiphospholipides (APL) et les virus. Ces acteurs sont également importants dans la pathogénie lupique puisque le LES est une maladie caractérisée par la présence de CIs dans la circulation(71), dans laquelle la présence d'au moins un APL est retrouvée dans 42.5% des cas(72) et pour laquelle la place des agents infectieux comme déclencheurs de la dysimmunité est documentée(11,12).

Les CIs sont des complexes d'IgG et ont ainsi une affinité plus importante que les IgG monomériques avec les récepteurs plaquettaires à la portion Fc des IgG appelés FcγRIIA (ou encore CD32). L'activation plaquettaire CD32-dépendante induite par les CIs semble stimuler l'axe CD40/CD40L car il a été montré dans le LES que les concentrations sériques de sCD40L corrélaient avec les concentrations de CIs. L'intégrine plaquettaire αIIbβ3 (GPIIb-IIIa) n'est pas indispensable à la réponse aux CIs mais permet d'amplifier l'activation plaquettaire, la formation du thrombus et la libération des granules α(18,73,74).

Les APL circulants comme par exemple l'anticorps anti-β2GPI peuvent également stimuler l'activation plaquettaire, soit en liant l'intégrine GPIbα, soit en liant directement le récepteur lipoprotéique membranaire ApoER2(75,76).

Enfin, les virus peuvent contribuer à la stimulation plaquettaire en étant reconnus par les TLR fonctionnels de la plaquette. La stimulation de TLR7 en particulier est capable d'activer la plaquette et de stimuler son expression membranaire de P-selectine et de CD40L(60,77).

1.3.1.2. Conséquences de l'activation plaquettaire dans le LES

L'activation plaquettaire dans le LES est associée à la l'augmentation de la dégranulation mais également à la génération de MPs circulantes, expliquant que l'immunité médiée par la plaquette peut être directe ou transiter par l'action des MPs relarguées(78). Les plaquettes activées et leurs microparticules semblent être l'interface entre l'immunité innée et acquise dans la pathogénie lupique, capables de dialoguer avec l'ensemble des cellules du système immunitaire(79). Les différentes interactions sont présentées ci-dessous et résumées dans la Figure 6.

1.3.1.2.1. PN neutrophile et pDC « l'axe IFN »

Les PNs neutrophiles activés sont capables d'une mort cellulaire spécifique appelée NETose, consistant en un relargage extracellulaire de matériel nucléaire (ADN, histones, chromatine) et de matériel extranucléaire (myéloperoxydase, ribonucléoprotéines, dérivés réactifs de l'oxygène ou ROS) formant un réseau fibrillaire « traps » dont le but premier est le piégeage bactérien. Dans le LES cependant, les NETs (*neutrophil extracellular traps*) sont également capables de présenter des autoantigènes au système immunitaire inné et d'activer les pDC via leur récepteur TLR9 ou indépendamment via la chromatine circulante, conduisant dans les deux cas à une production élevée d'IFNα(80,81). La NETose du PN neutrophile a donc un rôle clé dans la pathogénie lupique.

Dans le LES, les plaquettes activées sont capables de stimuler la NETose de plusieurs manières. La P-selectine exprimée par la plaquette activée dans une forme membranaire ou soluble peut interagir avec son récepteur PSGL-1 exprimé par le PN neutrophile pour promouvoir la NETose(82). Le transfert de mitochondries fonctionnelles et d'ADN mitochondrial par les plaquettes activées ou leurs MPs aux PNs neutrophiles optimise la production de ROS et ainsi stimule également la NETose et la production d'IFNα(65,83). D'autre part, l'ADN mitochondrial oxydé peut aussi stimuler la pDC en étant reconnu comme un signal danger par le récepteur membranaire TLR9(84) ou via un senseur cytosolique (cGAS) qui en se liant à la protéine STING engage la production d'IFN de type I(85).

1.3.1.2.2. Lymphocytes et DC « l'axe CD40/CD40L »

L'axe CD40/CD40L est détaillé dans le second chapitre de ce manuscrit qui lui est dédié.

Les plaquettes activées expriment le CD40L et sont la principale source de CD40L et sCD40L circulant. Cette molécule essentielle à la réponse immunitaire innée est également essentielle à l'immunité adaptative comme l'ont illustré des modèles murins KO pour le CD40L. Le CD40L plaquettaire majore la sécrétion d'IFN par la pDC, induit la maturation des mDCs, promeut la présentation antigénique, permet l'expression des molécules de costimulation nécessaire à l'activation des lymphocytes T CD4+, optimise la réponse lymphocytaire B dépendante du lymphocyte Tfh, et augmente la réponse lymphocytaire CD8+ cytotoxique (86–89).

1.3.1.2.3. Le relargage de sérotonine

La sérotonine est un dérivé du tryptophane, la majorité de la sérotonine circulante est stockée dans les granules dense des plaquettes et transportée dans le sang périphérique jusqu'au relargage au moment de la stimulation plaquettaire. De nombreuses cellules immunitaires expriment un récepteur à la sérotonine, lui attribuant des fonctions pro-inflammatoires mais parfois aussi immunorégulatrices. La sérotonine est

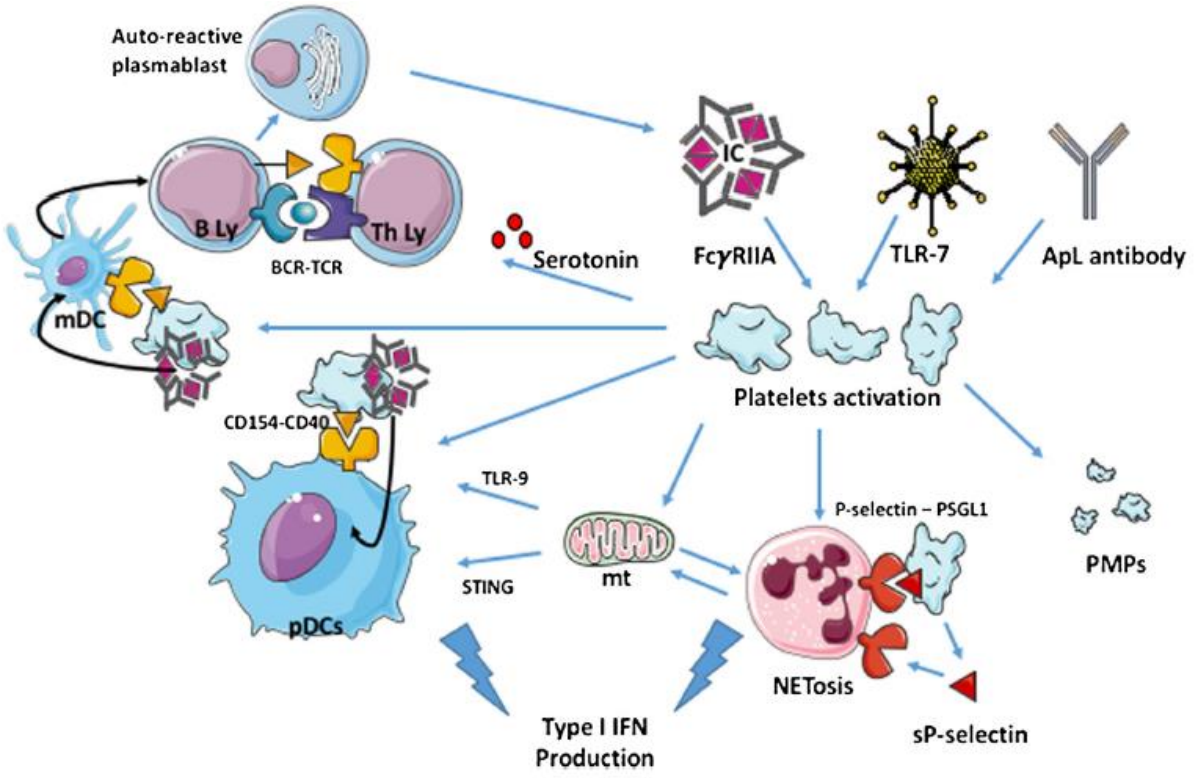
capable de recruter des cellules de l'immunité innée sur un site inflammatoire (DCs, monocytes, macrophage, mastocytes, PNs éosinophiles) et de moduler l'immunité adaptative, en particulier l'activation et la prolifération du lymphocyte T. Le relargage de sérotonine par les plaquettes activées est établi dans le LES, même si son rôle précis demeure incertain. Les taux de sérotonine sérique et plaquettaire diminuent avec l'activité du lupus. Cela peut être expliqué par sa consommation rapide par les cellules immunitaires réceptrices ou encore par les taux élevés d'IFNα relargués par la pDC orientant la transformation par l'indoleamine 2,3-dioxygénase du tryptophane en kynurenine plutôt qu'en sérotonine(90–92).

1.3.1.2.4. La surexposition antigénique

Le purpura thrombopénique immunologique (PTI) est une manifestation hématologique du LES caractérisée par une thrombopénie périphérique en lien avec une réponse auto-immune ciblant des glycoprotéines plaquettaires, notamment la GPIIb-IIIa. Il a été montré que le CD40L plaquettaire était augmenté dans le PTI et qu'il était nécessaire à l'activation des lymphocytes B autoréactifs et à la production d'anticorps anti-GPIIb-IIIa(93).

Les plaquettes sont donc capables d'amplifier la réponse inflammatoire dans le lupus notamment à travers l'axe CD40/CD40L qui est devenu un acteur majeur dans la compréhension actuelle de la physiopathologie du LES(94).

Figure 6 d'après Scherlinger et al.(70) **: rôle central des plaquettes dans l'immunopathogénie du LES.** *L'activation plaquettaire par les CIs, les virus ou les APL conduit à une stimulation de la réponse immunitaire innée et adaptative passant par plusieurs voies dont celle du CD40/CD40L.*



1.3.2. La plaquette activée dans la pathogénie de la maladie athéromateuse

Les premières données impliquant la plaquette dans la maladie athéromateuse remontent aux travaux de Fitzgerald en 1986, ce dernier retrouvait des signes d'activation plaquettaire chez les patients présentant un angor instable(95). En 2020, la plaquette activée est reconnue comme un élément au croisement entre l'inflammation et l'hémostase, lui donnant un rôle central dans l'athérosclérose, un état vasculaire chronique faisant le lit des événements athérothrombotiques aigus. La plupart des médiateurs pro-inflammatoires et pro-thrombotiques délivrés par la plaquette sont à présent identifiés(68).

1.3.2.1. Éléments plaquettaires impliqués dans l'athérogenèse

L'athérosclérose est une maladie inflammatoire chronique des vaisseaux conduisant à la survenue de maladies cardiovasculaires. La plaquette activée tient un rôle pro-thrombotique mais également pro-inflammatoire dans la pathogénie de l'athérome. On distinguera d'abord les libérations plaquettaires de cytokines et médiateurs lipidiques bioactifs puis les interactions cellulaires médiées par la plaquette promouvant l'inflammation et l'athérogenèse(96).

Comme détaillé précédemment (en 1.2.1.), les plaquettes sont capables d'interactions avec le sous-endothélium, initialement par leur complexe GPIb-V-IX, conduisant à leur activation calcium-dépendante, permettant d'une part d'engager les interactions de la coagulation détaillées précédemment,

mais également de libérer de nombreuses substances bioactives. Certaines de ces molécules libérées par les plaquettes ou les MPs amplifient l'activation plaquettaire (ADP, sérotonine, TXA2, PAF), d'autres participent directement à l'hémostase (facteur tissulaire), d'autres encore sont des cytokines ou chimiokines pro-inflammatoires (RANTES, IL-1β)(97,98). Certaines de ces voies sont dérégulées dans des contextes pathologiques conduisant à une hyperagrégabilité et un haut risque cardiovasculaire. Dans le diabète par exemple, la biosynthèse plaquettaire du TXA2 est augmentée et fonction du contrôle métabolique(99).

Les plaquettes et les MPs sont capables d'interagir avec les monocytes principalement via l'interaction P-selectine/PSGL-1. Elles peuvent former des complexes plaquettes-monocytes pro-athérogènes en recrutant ces derniers sur la paroi vasculaire et leur permettant de passer entre les cellules endothéliales activées(100,101). Dans les plaques d'athérosclérose se forment des complexes plaquettes-macrophages où les plaquettes sont capables, en régulant l'expression de Socs3, de reprogrammer le macrophage vers un phénotype pro-inflammatoire orienté vers la production de cytokines inflammatoires (IL-1β, IL-6, TNFα) au détriment de sa capacité phagocytaire(102). La P-selectine plaquettaire a également une action sur la PSGL-1 des DCs et lui prête un rôle important dans l'athérosclérose. Elle permet la maturation des DCs, facilite leur migration et adhésion sur les lésions artérioscléreuses, induit la communication avec les lymphocytes T et stimule leur production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-6 et le TNF-α. Le rôle essentiel de la P-selectine dans l'athérosclérose est confirmé par les modèles de souris KO pour la P-selectine ou PSGL-1 qui développent des lésions d'athérosclérose moins importantes(103).

L'axe CD40/CD40L tient un rôle central dans l'athérosclérose développé dans une partie dédiée (2.2.2.). Ces molécules sont présentes dans toutes les cellules impliquées dans l'athérosclérose et l'activation de la voie CD40 permet de générer les molécules d'adhésion, chimiokines ou cytokines nécessaires à l'athérosclérose. On constate que l'expression histologique du CD40 et CD40L est d'autant plus marquée que l'évolution de la plaque d'athérome est avancée voire rompue(104). Les données expérimentales confirment que le CD40L plaquettaire régule les processus de l'inflammation afin de promouvoir l'athérosclérose en facilitant la formation d'agrégats plaquettes-leucocytes et l'adhésion des plaquettes et leucocytes sur l'endothélium(105).

1.3.2.2. Maladies athéromateuses médiées par les plaquettes activées

La morbi-mortalité cardiovasculaire est un problème de santé publique majeure en Europe. Selon les dernières données de l'*European Society of Cardiology*, l'incidence dans les 54 pays membres -dont la France- en 2017 était de 19.9 millions de nouveaux cas et la prévalence était de 108.7 millions de cas, la majorité des pathologies étant coronariennes ou cérébrovasculaires. La maladie cardiovasculaire représente toujours la première cause de mortalité dans ces pays(106).

Les patients porteurs de facteurs de risque cardiovasculaire (diabète de type 2, obésité, hypertension, dyslipidémie) sont aussi porteurs de stigmates d'activation plaquettaire (augmentation du VPM, du taux de MPs circulantes, du taux de P-selectine soluble, du taux de sCD40L) et sont moins sensibles aux inhibiteurs plaquettaires. Cela est expliqué par les lésions vasculaires hémodynamiques et métaboliques qui existent chez ces patients, l'inflammation chronique à bas bruit, le stress oxydatif, et la résistance à l'insuline pouvant rentrer dans le cadre du syndrome métabolique(107).

Dans le syndrome coronarien aigu, il existe une élévation d'autant plus importante que la troponine est élevée des marqueurs de l'inflammation (CRP, IL-6) et des marqueurs de l'activation plaquettaire (agrégats plaquettes-monocytes, P-selectine soluble, sCD40L, VPM)(108,109). Dans l'infarctus cérébral, on retrouve une élévation des marqueurs inflammatoires (TNFα, IL-6, IL-1β, CRP et des marqueurs d'activation plaquettaire (MPs, P-selectine soluble et membranaire, sCD40L), le sCD40L semble être prédictif d'une évolution péjorative à 3 mois(110,111). Dans la maladie artérielle périphérique, les marqueurs inflammatoires (CRP, IL-6) et les marqueurs de l'activation plaquettaire (CD40L, P-selectine) sont associés à la présence de la maladie mais seuls les marqueurs inflammatoires semblent associés à sa sévérité(112,113).

Les biomarqueurs de l'activation plaquettaire, de l'agrégation plaquettaire ainsi que de l'inflammation qui en est conséquente ont un intérêt clinique chez les patients ayant des maladies découlant de l'athérosclérose. Même si cela n'est pas encore fait en pratique de routine, le monitorage de ces paramètres pourrait apporter des informations diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques dans le maniement des traitements antiplaquettaires(114).

2. CD40 LIGAND : PHYSIOLOGIE ET PATHOLOGIE

2.1. Généralités

Le CD40 ligand (CD40L) encore appelé CD154 est une glycoprotéine transmembranaire appartenant à la famille du TNF (*tumor necrosis factor*). Il possède une structure trimérique comme d'autres membres de la famille du TNF. Chez l'homme, le gène codant pour le CD40L se situe sur le chromosome X (locus Xq26.3-Xq27.1). Le CD40L a initialement été décrit à la surface des lymphocytes T CD4+ activés, interagissant avec le CD40 des lymphocytes B(115).

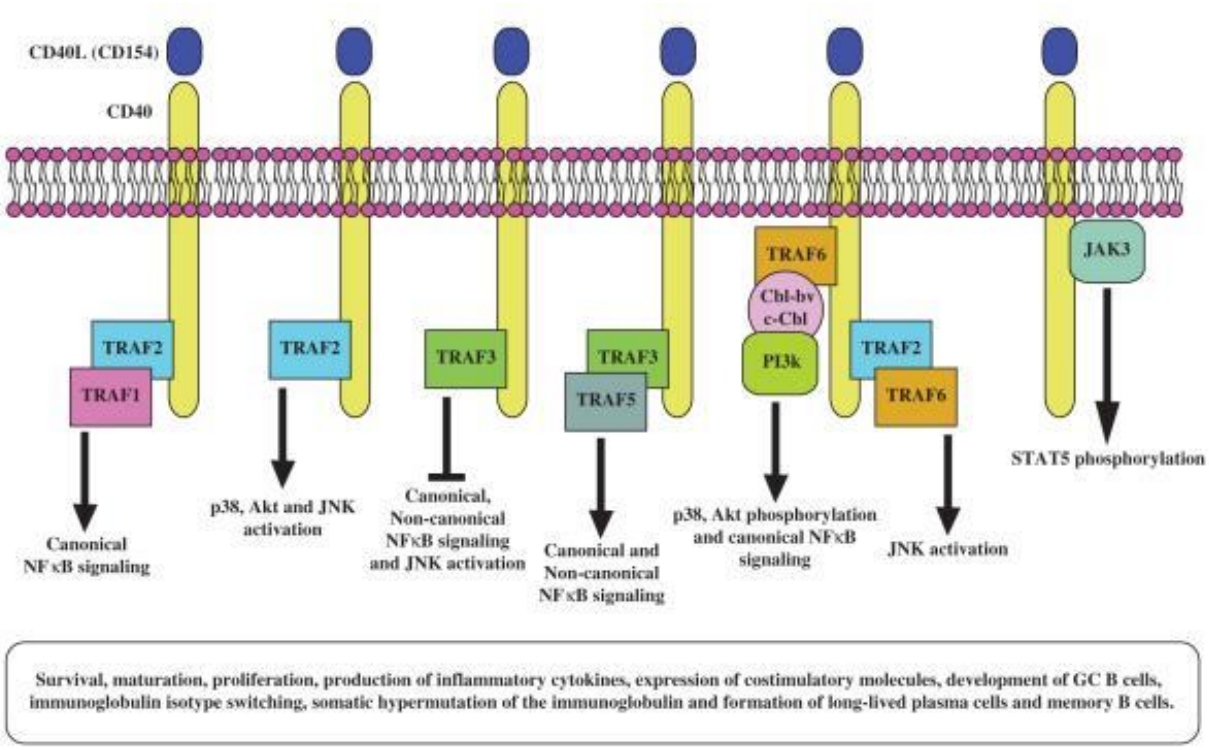
Des descriptions ultérieures ont montré que l'expression du couple CD40/CD40L dépasse l'interaction lymphocyte B / lymphocyte T. Le CD40 est constitutivement exprimé par les lymphocytes B et ses précurseurs, par les progéniteurs hématopoïétiques CD34+, par les PNs éosinophiles et basophiles, par les monocytes, par les macrophages, par les cellules dendritiques, par les plaquettes, par les cellules épithéliales, par les cellules endothéliales et les fibroblastes. Le CD40L quant à lui est exprimé de manière inductible par les lymphocytes T CD4+ activés par l'antigène et par les plaquettes activées. Le CD40L est également exprimé à des niveaux variables par les cellules *natural killers*, les monocytes, les PNs éosinophiles et basophiles, et les lymphocytes B(48,116–118). Le Tableau 2 synthétise les expressions cellulaires de CD40 et CD40L.

Tableau 2 d'après Van Kooten(116)**, Elgueta**(119) **et al : principales cellules exprimant le CD40L et le récepteur CD40.** Le récepteur CD40 est exprimé à l'état basal alors que l'expression du ligand CD40L (CD154) est dépendante de conditions inflammatoires et d'activations cellulaires.

CD40L	CD40
Lymphocyte T Lymphocyte B Plaquette Cellule *natural killer* PN basophile PN éosinophile Monocyte Mastocyte	Lymphocyte B Cellule dendritique Monocyte Macrophage PN basophile Progéniteurs hématopoïétiques Cellule endothéliale Cellule épithéliale Cellule musculaire lisse Fibroblaste Synoviocyte Plaquette

L'interaction entre récepteur et ligand met en jeu un complexe trimérique de part et d'autre. La transduction du signal fait intervenir le recrutement de protéines adaptatrices associées TRAF (*TNF-receptor associated factor*) ou JAK (*Janus Kinase*) dans le domaine cytoplasmique de CD40, responsables d'activation de différentes voies pathologiques représentées en Figure 7 et impliquant des seconds messagers comme les MAPKs (*mitogen-activated protein kinases*), PI3K (*phospho-inositide-3 kinase*), PLCγ (phospholipase Cγ2) ou STAT5 (*signal transducer and activator of transcription 5*). La transduction du signal CD40 est notamment responsable de l'activation NF-κB, NFAT et d'AP-1 et de la transcription de gènes codant notamment pour des cytokines (IL-6, IL-10, TNFα), des molécules d'adhésion (ICAM) et de costimulation lymphocytaire (CD80 ou B7-1, CD86 ou B7-2). L'ensemble explique la prolifération et la différenciation du lymphocyte B et les différents effets cellulaires de l'axe CD40/CD40L(119–121).

<u>Figure 7</u> d'après Elgueta et al.(119) **: voies de signalisation mises en jeu par l'activation du CD40.** *L'activation par le CD40L est responsable de la mise en place de plusieurs voies de signalisation dépendantes des TRAFs (TNF-receptor associated factors) avec pour conséquence principale l'activation de la voie NF-κB, ou indépendante des TRAFs induisant le facteur de transcription STAT5.*



En plus de son affinité pour le CD40, le CD40L est un ligand pour au moins trois autres récepteurs de type intégrine listés ci-après. Mac-1 (αMβ2) augmente l'adhésion monocytaire, le recrutement sur les

sites inflammatoires et les sécrétions cytokiniques. VLA-5 (α5β1) induit l'expression de chimiokines et cytokines inflammatoires (comme l'IL-1β ou l'IL-6) par les monocytes, fibroblastes et cellules épithéliales et favorise l'activation plaquettaire. GPIIb-IIIa (αIIbβ3) a un rôle dans l'activation plaquettaire et la production de MPs ainsi que dans la stabilisation du thrombus artériel(122,123).

Il existe deux formes de CD40L : une forme liée à la membrane de 33 kDa et une forme plus courte soluble de 18 kDa (sCD40L) correspondant au domaine extracellulaire du CD40L, après un clivage dépendant des métalloprotéinases ADAM 7 et 10. La métalloprotéinase de matrice MMP-2 joue également un rôle dans la protéolyse de CD40L via son interaction avec la GPIIb-IIIa à la surface des plaquettes activées. Les deux formes semblent garder leur capacité à former des trimères pour se lier au CD40 et délivrer un signal biologique, cela prête à la forme soluble de CD40L une activité de cytokine pouvant activer à distance les cellules exprimant le CD40(121,124,125).

2.2. Rôles physiologiques de l'axe CD40/CD40L

2.2.1. L'axe CD40/CD40L dans la réponse immunitaire

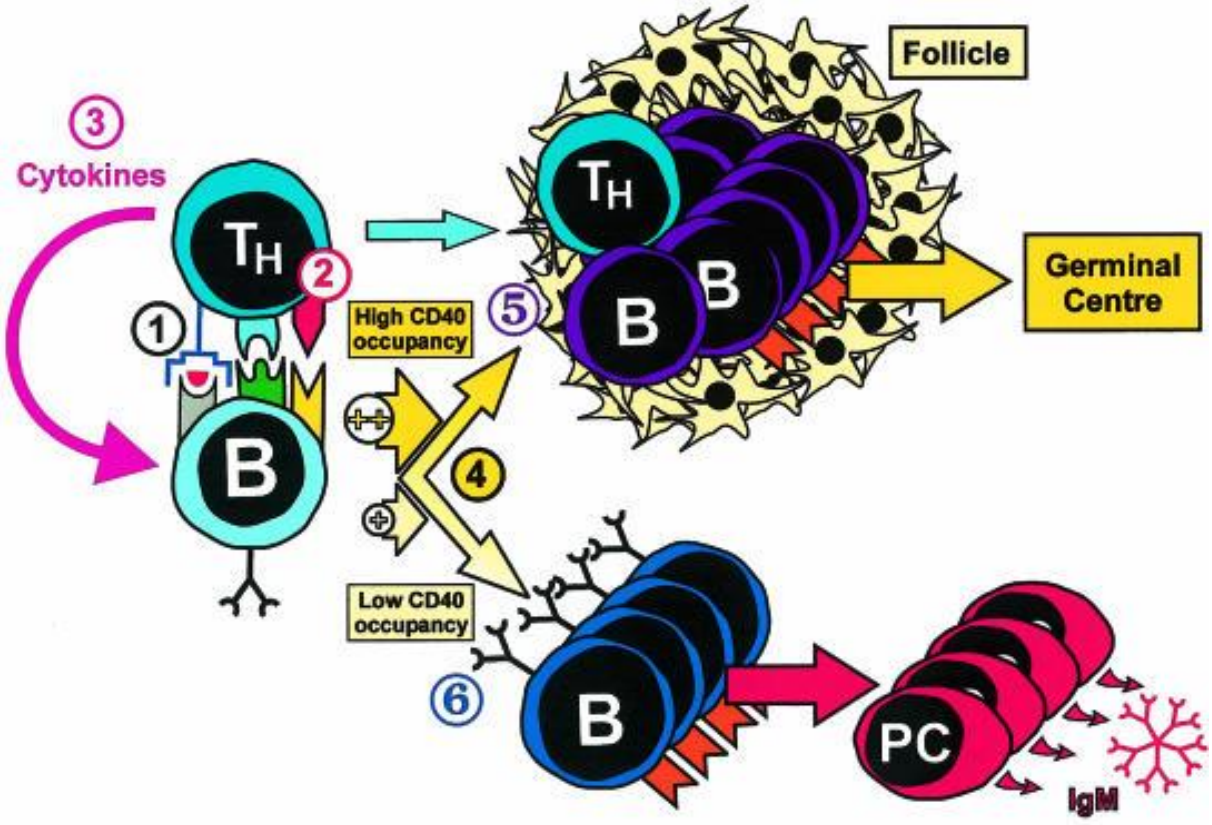
2.2.1.1. Rôle dans l'immunité humorale

La première étape de l'activation des lymphocytes B se déroule dans les zones des organes lymphoïdes secondaires riches en lymphocytes T et en DCs interdigitantes ayant capturé l'antigène. L'antigène présenté par les DCs est reconnu spécifiquement par le récepteur du lymphocyte T (TCR) entrainant l'activation du lymphocyte T et l'expression de CD40L. L'antigène est également reconnu par le récepteur du lymphocyte B (BCR), en présence d'une costimulation du CD40 du lymphocyte B par le CD40L du lymphocyte T activé, cela va permettre l'activation et la prolifération des lymphocytes B. Les lymphocytes B peuvent alors connaître deux évolutions possibles, schématisées par la Figure 8, dont la polarisation est fonction de l'importance du signal CD40-CD40L : un fort signal différencie les lymphoblastes en centroblastes et permet une prolifération intense dans le centre germinatif, un faible signal conduit les plasmablastes à une réponse extrafolliculaire en se différenciant en plasmocytes sécrétant des IgM(126).

Les centroblastes subissent des hypermutations somatiques au hasard sur les régions variables des gènes des Ig permettant l'apparition d'anticorps à la surface des lymphocytes B de forte affinité pour l'antigène. Ils se différencient en centrocytes. Les centrocytes ayant le plus d'affinité pour l'antigène présenté par les DCs folliculaires sont sélectionnés, l'engagement du CD40 à leur surface permet leur survie. Ces centrocytes de haute affinité sont capables de présenter l'antigène aux lymphocytes T et en les activant de stimuler l'expression de CD40L. Le signal CD40/CD40L est ensuite indispensable pour

permettre la commutation isotypique des centrocytes, diversifiant les fragments Fc des immunoglobulines et permettant l'expression des isotypes IgG, IgA et IgE. La différentiation terminale des centrocytes en cellules B mémoires ou en plasmablastes est également sous la dépendance de la signalisation du CD40, l'activation de cette voie orientant préférentiellement vers la cellule B mémoire et inhibant la génération de plasmocytes(126,127).

<u>Figure 8</u> d'après Gordon et Pound(126) **: implication du CD40/CD40L dans la réponse humorale.** *La quantité de CD40L disponible pour activer le CD40 détermine la voie ultérieure prise par le lymphocyte B, soit dans le follicule pour une réaction germinative ou hors du follicule pour une différentiation plasmocytaire.*



2.2.1.2. Rôle dans l'immunité cellulaire

L'engagement du lymphocyte T CD4+ naïf dans la réponse immunitaire adaptative « priming » nécessite que deux signaux soient apportés au lymphocyte T. Le premier signal est l'interaction entre le TCR du lymphocyte T avec le complexe CMH de classe II-peptide antigénique. Le second signal est une costimulation du récepteur CD28 du lymphocyte T avec son ligand B7 1-2 (ou CD80-CD86). *In vivo*, ces deux signaux sont fournis par la CPA.

Les lymphocytes B ont une capacité à initier le « priming » du lymphocyte T en agissant comme des CPA. Après leur prise en charge de l'antigène, les lymphocytes B ont un phénotype activé et une augmentation des molécules B7 et du CMH de classe II. Le « priming » du lymphocyte T par le lymphocyte B via l'antigène semble potentialisé par l'interaction CD40/CD40L même si certaines étapes comme l'augmentation des molécules B7 du lymphocytes B ont été identifiées indépendantes de cette interaction(128,129).

D'autres CPA expriment également le CD40 comme les cellules dendritiques ou les macrophages. Il est donc suggéré que l'interaction CD40/CD40L est impliquée dans l'initiation et les phases effectrices de la réponse immunitaire cellulaire via ces autres CPA. En effet, cette interaction permet l'activation des CPA porteuses de CD40, régule à la hausse les facteurs de costimulation (CD80, CD86) et régule la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-12, l'IL-8, MIP-1α et TNFα. La production d'IL-12 par la DC a un rôle particulièrement important pour l'activation du lymphocyte T et le développement d'une réponse Th1(118).

Comme pour le lymphocyte CD4+, le « priming » du lymphocyte CD8+ lors de la réponse cytotoxique accorde également une place importante au couple CD40/CD40L. La présentation croisée « cross-priming » de l'antigène endocyté par la CPA (la DC) au lymphocyte T cytotoxique se fait via le CMH de classe I alors que la présentation au lymphocyte T axillaire passe par le CMH de classe II. Parmi les récepteurs de surface de la DC prenant en charge les antigènes, le CD40 est un des récepteurs les moins efficaces pour l'internalisation de l'antigène, mais pourtant le plus efficace pour la présentation croisée. Yin et al ont montré en comparant 9 récepteurs de surface humains de DC que le CD40 était associé au « priming » lymphocytaire CD8+ le plus efficace(130–132).

2.2.1.3. Rôle dans la tolérance périphérique

Malgré l'existence d'une sélection négative des lymphocytes autoréactifs dans les organes lymphoïdes centraux, des populations auto-réactives peuvent échapper à cette régulation et causer une éventuelle auto-immunité en périphérie. Il y a donc nécessité d'une tolérance périphérique. Parmi les stratégies visant à éviter l'activation des lymphocytes autoréactifs, l'induction d'anergie correspond à la présentation au TCR du lymphocyte T d'un complexe peptide antigénique/CMH (premier signal) par une CPA alors que les facteurs CD80/86 ne sont pas exprimés pour provoquer la costimulation (second signal). Les DCs immatures sont les acteurs majeurs de la tolérance périphérique en répondant à cette configuration. Par ailleurs, elles sont également capables de stimuler les lymphocytes T régulateurs, suppresseurs actifs des cellules auto-immunes(133).

L'activation de la voie NF-κB par l'engagement du CD40 des DCs est indispensable pour la maturation des DCs et leur capacité à déclencher une réponse immunitaire en présentant l'antigène. L'interaction

CD40/CD40L au niveau de la DC augmente l'expression des molécules de costimulation, d'adhésion et du CMH et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-12. Tant qu'elles ne sont pas maturées par la voie CD40/CD40L, les DCs immatures conservent une capacité à induire la tolérance périphérique par l'anergie et la stimulation des T régulateurs(133,134).

Expérimentalement l'utilisation d'anticorps agonistes fixant le CD40 peut annuler l'induction d'anergie T par les DCs et changer la réponse en « priming » lymphocytaire(135). A l'inverse, le blocage de la signalisation CD40 dans les modèles de transplantation atténue la réponse alloréactive T et induit la tolérance du greffon(136). Ces expériences confirment que l'axe CD40/CD40L est un polarisateur de la réponse à l'antigène en orientant vers l'immunité ou la tolérance.

2.2.2. L'axe CD40/CD40L dans l'athérosclérose

Le rôle fondamental du système immunitaire dans l'athérogenèse est désormais bien identifié, si bien que l'athérosclérose est parfois qualifiée de maladie inflammatoire. L'athérosclérose commence par une réponse immunitaire innée des macrophages et monocytes à une accumulation excessive de lipides au sein de la paroi artérielle suivi d'une réponse immunitaire adaptative impliquant les lymphocytes T spécifiques des antigènes modifiés (comme les LDL oxydés) présentés par des macrophages ou des DCs. L'accumulation de cellules inflammatoires et la production locale de cytokines entraine la progression des lésions(137).

L'interaction CD40/CD40L semble jouer un rôle majeur puisque d'une part, les lymphocytes T activés dans les parois artérielles atteintes expriment le CD40L et que d'autre part il a été retrouvée une co-expression de CD40 et CD40L par les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les macrophages *in vitro* mais également in situ dans les lésions d'athérosclérose humaine. Le CD40L semble avoir une activité sur ces cellules associées à l'athérosclérose (monocyte, macrophage cellule endothéliale, cellule musculaire lisse, fibroblaste), pour promouvoir l'expression de molécules athérogènes comme les molécules d'adhésion (E-selectine, VCAM, ICAM), cytokines (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNFα), chimiokines (MCP-1, MIP-1, RANTES), métalloprotéinases (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9) et le facteur tissulaire. Par ailleurs, l'engagement de la voie CD40 des cellules de la paroi vasculaire est associé au recrutement de cellules mononuclées fragilisant la plaque d'athérome. La stimulation chronique des cellules du microenvironnement de la plaque par le CD40L serait à l'origine de sa déstabilisation et de son risque de rupture(104,137,138). Le sCD40L relargué par les plaquettes activées a aussi un grand rôle dans l'athérogenèse en interagissant avec l'endothélium vasculaire en induisant la surexpression de E-Selectine et P-selectine et le relargage d'IL-6 et de facteur tissulaire(56).

Expérimentalement, le blocage *in vivo* de la signalisation CD40 par anticorps anti-CD40L chez la souris dyslipidémique réduit la taille des lésions d'athérosclérose de 59%, leur contenu lipidique de 79% et

leur composition en macrophages et en lymphocytes T (64% et 70%), soutenant l'implication des voies inflammatoires dans l'athérosclérose et en particulier du couple CD40/CD40L(139).

2.3. Implication de l'axe CD40/CD40L en pathologie humaine

2.3.1. L'axe CD40/CD40L dans le syndrome hyper IgM lié à l'X

La première démonstration du rôle crucial de l'interaction CD40/CD40L *in vivo* provient de la description du syndrome hyper IgM, un déficit immunitaire lié à l'X causé par une altération du gène codant pour le CD40L. Ce syndrome se caractérise par un déficit sévère en immunoglobulines sériques IgG, IgA et IgE contrastant avec des IgM normales ou élevées et une susceptibilité aux infections opportunistes. Il illustre l'importance de l'interaction entre le récepteur CD40 du lymphocyte B et le CD40L du lymphocyte T pour générer la formation de centres germinatifs, de la réponse humorale T-dépendante, de la génération de lymphocytes B mémoires et témoigne de l'absence de mécanisme compensateur(140).

2.3.2. L'axe CD40/CD40L dans la transplantation

La maladie du greffon contre l'hôte survient au décours d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, elle concerne 35 à 50% des patients allogreffés dans sa forme aiguë dont la moitié évolue vers une forme chronique. Elle repose sur une cytotoxicité contre la peau, le foie ou le tractus digestif de l'hôte par des lymphocytes T du donneur, activés par les CPA de l'hôte et du donneur(141). L'utilisation d'anticorps anti-CD40L semble diminuer l'expression des molécules de costimulation des CPA et l'activation des lymphocytes T, favorisant la tolérance du greffon et réduisant la mortalité de cette maladie(142).

Le lymphocyte T CD4+ est la cellule responsable de l'initiation du rejet de greffe après une transplantation d'organe solide. La réponse humorale par les alloanticorps a un rôle plus tardif dans le rejet chronique. L'implication du système CD40/CD40L dans la costimulation lymphocytaire T mais également dans la réponse lymphocytaire B a suggéré dès les années 1990 que le CD40L pouvait être une cible d'intérêt en transplantation pour la survie à court terme et long terme du greffon(143). Il a été montré chez le primate que l'utilisation d'anticorps bloquants anti-CD40L augmentait la survie du greffon notamment lors des transplantations rénale et cardiaque(144,145).

2.3.3. L'axe CD40/CD40L dans le LES

L'axe CD40/CD40L est un pivot de la physiopathologie du LES en ayant une action pro-inflammatoire sur de nombreuses cellules cibles. Son engagement permet à la cellule endothéliale d'interagir avec les leucocytes(48), à la mDC de s'activer et se maturer, à la pDC d'optimiser sa sécrétion d'IFNα (18,146,147), au lymphocyte B de connaître une activation T-dépendante aboutissant à la prolifération, différenciation, formation des centres germinatifs, commutation isotypique, expansion clonale de lymphocytes B de haute affinité, différentiation en cellules mémoires(121,148), au lymphocyte T CD8+ d'optimiser sa réponse cytotoxique, au lymphocyte T auxiliaire de s'activer et se différencier(149). Il est à noter que le CD40L peut également avoir d'autres interactions immunomodulatrices ne passant pas par le biais du couple CD40/CD40L mais par d'autres récepteurs, potentiellement synergiques. Le CD40L est par exemple capable de stimuler l'activation plaquettaire via la GPIIb-IIIa ou l'activation monocytaire par l'intégrine α5β1(122).

En 1995, Mohan et al décrivaient l'importance de l'axe CD40/CD40L dans la costimulation lymphocytaire de modèles murins lupiques. L'utilisation d'un anticorps anti-CD40L bloquait la production d'autoanticorps T-dépendante et la survenue de néphrite lupique(150). L'anticorps anti-CD40L semblait avoir une action sur la formation de centres germinatifs, la génération d'autoanticorps et le développement de lymphocytes B mémoires(151). Les bénéfices du blocage du CD40L chez la souris lupique sur le titre d'autoanticorps, la survenue de néphrite, ou encore la survie globale ont été confirmés à plusieurs reprises par des études ultérieures(152,153).

Il existe chez les sujets porteurs de LES actif une surexpression de CD40L par les lymphocytes T, mais également une expression ectopique par les lymphocytes B. Cette surexpression est fonctionnelle puisque son blocage par anti-CD40L inhibe la production lymphocytaire d'autoanticorps *in vitro*(154). Cette expression ectopique de CD40L sur les lymphocytes B pourrait suffire à l'induction d'une auto-immunité comme le suggèrent le modèle de souris transgéniques pour des lymphocytes B exprimant le CD40L, ces souris étant capable de développer une maladie « lupus-like » avec autoanticorps circulants et glomérulonéphrite à dépôts d'immuns complexes(155).

Chez les sujets lupiques, il a également été montré une augmentation des taux plasmatiques ou sériques de sCD40L sous une forme trimérique fonctionnelle, dont la concentration corrèle avec le titre d'autoanticorps anti-ADN et avec l'activité du LES(156,157). Le sCD40L plaquettaire semble également capable d'optimiser la sécrétion d'IFNα dans une LES(18), ce dernier étant lui-même corrélé à l'activité de cette maladie(158). Le sCD40L se comporte donc comme un biomarqueur du LES, quelques données suggèrent même qu'une élévation du sCD40L pourrait être prédictive d'une poussée lupique imminente(159).

2.3.4. L'axe CD40/CD40L dans la maladie athéromateuse

Les lésions d'athérosclérose sont histologiquement caractérisées par une accumulation de lipides et de dépôts de la matrice extracellulaires, par une prolifération des cellules intimales et par l'infiltration de cellules immunitaires comme les macrophages ou les lymphocytes T. L'importance de l'axe CD40/CD40L est déjà avancée dans les années 1990 comme faisant le lien pro-inflammatoire entre les lymphocytes T activés et les autres cellules impliquées dans l'athérogenèse porteuses de récepteurs CD40 (cellules endothéliales, cellules musculaires lisses, macrophages). Il est également déjà supposé que l'activité biologique du CD40L est capable de fragiliser la plaque d'athérome(138).

Dans les années 2000, il est montré que les interactions CD40/CD40L influencent la composition de la plaque d'athérome et sa stabilité. Le blocage de cette voie par un anticorps anti-CD40L dans un modèle murin d'athérosclérose induit un phénotype de stabilité pour les plaques avancées : moins de lymphocytes T et de macrophages mais plus de léiomyocytes et de myofibroblastes, composition pauvre en lipides mais riche en collagène comparé au groupe contrôle. Dans cette étude l'anticorps anti-CD40L est capable de transformer un phénotype instable en un phénotype stable pour les plaques d'athérome avancées mais n'a pas d'efficacité pour prévenir l'apparition de lésions précoces(160).

L'expression immunohistochimique du CD40 et CD40L existe dans les plaques récentes, mais elle est plus importante dans les plaques évoluées, pré-ruptures ou rompues. La bioactivité du CD40/CD40L au niveau des plaques avancées est capable de stimuler des métalloprotéinases et du facteur tissulaire pour aboutir à la rupture de la plaque et à la thrombose. L'expression de CD40L par les plaquettes activées et les thrombi frais sont une boucle de stimulation de cette voie. La rupture des plaques correspondant aux complications aiguës de la maladie athéromateuse, ces données illustrent la place de l'axe CD40/CD40L en pathologie cardiovasculaire(104).

Les différentes cibles de l'athérome sont concernées par la proximité avec le système CD40/CD40L. Dans la maladie coronarienne, le CD40L est impliqué dans la dysfonction endothéliale coronaire et des concentrations élevées de sCD40L sont retrouvées dans l'angor instable ou l'infarctus du myocarde. Dans la maladie cérébrovasculaire, l'expression plaquettaire et lymphocytaire T du CD40L est majorée durant les 3 mois suivant une ischémie cérébrale, par ailleurs les patients porteurs de sténoses carotidiennes asymptomatiques ont des concentrations de sCD40L plus élevées que les autres. Dans la maladie artérielle périphérique, le sCD40L plasmatique est également élevé. Les facteurs de risque cardiovasculaire semblent également liés au système CD40/CD40L puisque l'on retrouve des niveaux élevés d'expression plaquettaire de CD40L ou de concentration de sCD40L dans l'hypertension artérielle, l'obésité, le diabète, l'hypercholestérolémie, le tabagisme et le syndrome métabolique(161). A l'inverse, la pratique d'une activité physique en endurance, connue pour diminuer le risque cardiovasculaire, semble réduire les niveaux de sCD40L(162).

L'intérêt d'utiliser le CD40L comme biomarqueur cardiovasculaire a été étudié mais les résultats ne sont pas unanimes. Les résultats de l'importante étude LURIC évaluant l'association entre sCD40L

plasmatique et mortalité de toute cause et cardiovasculaire à court et long terme sont globalement décevants. Les seules associations positives concernent les sous-groupes de sujets hypertendus, coronariens et insuffisants cardiaques à fraction d'éjection préservée. Cette cohorte n'avait pas pour but d'étudier le bénéfice propre des nombreux traitements poursuivis (dont les antiagrégants et les statines) susceptibles d'influencer l'axe CD40/CD40L(163,164). D'autres études au contraire ont montré un intérêt prédictif du sCD40L pour des événements cardiovasculaires bien spécifiques comme par exemple le risque de récurrence d'un événement cérébrovasculaire après un accident ischémique constitué ou transitoire(165) ou le risque d'infarctus du myocarde ou de décès après un syndrome coronarien aigu(166). Le sCD40L a également montré un intérêt prédictif de la réponse à la daltéparine sur la survenue d'infarctus chez des patients ayant fait un syndrome coronarien aigu sans élévation du segment ST(167). Le CD40L et notamment sa forme soluble le sCD40L apparaissent donc comme de potentiels marqueurs d'intérêt dans le suivi pronostique et thérapeutique des pathologies cardiovasculaires.

3. THÉRAPEUTIQUES ANTI-PLAQUETTES ET ANTI-CD40 LIGAND

3.1. Traitements ciblant les plaquettes

3.1.1. Potentielles cibles de l'activation plaquettaire

Les principaux médiateurs de l'activation plaquettaires, représentés dans la Figure 5, sont la thrombine, le PAF, l'ADP et le TXA2(68). La thrombine (ou facteur IIa) est le plus puissant des activateurs plaquettaires. Elle interagit avec des récepteurs plaquettaires couplés à des protéines G nommés *protease-activated receptors* (PARs), essentiellement PAR-1 et PAR-4, en collaboration avec la GPIb et GPV(168). Le PAF, dont le récepteur est également couplé à une protéine G, est un médiateur phospholipidique pro-inflammatoire à large champ d'action. Il favorise l'activation plaquettaire, l'agrégation avec les leucocytes, et le relargage de médiateurs inflammatoires(169). L'ADP est un puissant agoniste des récepteurs plaquettaires couplés aux protéines G nommés $P2Y_1$ et $P2Y_{12}$. Il permet une activation plaquettaire en induisant des événements de signalisation intracellulaire : influx rapide de calcium, inhibition de l'activation de l'adénylate cyclase (réduisant donc la formation d'AMP cyclique à partir de l'ATP), activation de la phospholipase C et de la phospholipase A2 dont la fonction est de générer à partir des phospholipides de l'acide arachidonique puis du TXA2, un autre agoniste plaquettaire(170). La sérotonine (ou 5-HT pour 5-hydroxytryptamine) relarguée depuis les granules denses lors de l'activation plaquettaire est capable secondairement de stimuler l'activation plaquettaire selon une boucle autocrine. Le récepteur $5\text{-}HT_{2A}$ à la surface plaquettaire est également couplé à une protéine G, avec la phospholipase C comme second messager(171). L'IL-1β est une autre molécule relarguée par la plaquette activée capable d'agir comme agoniste plaquettaire via les récepteurs à l'IL-1 exprimés par la plaquette, stimulant sa propre production et amplifiant l'activation plaquettaire par la voie des lipopolysaccharides(172).

Les données récentes de Petito et al. suggèrent une dichotomie dans la réponse des plaquettes vers une fonction pro-hémostatique (agrégation plaquettaire) ou pro-inflammatoire (migration et chimiotactisme), polarisée en fonction de la nature du stimulus reçu, hémostatique (dont le collagène, l'ADP ou le TXA2) ou inflammatoire (dont la sérotonine ou l'IL-1β). Leurs résultats restent cependant nuancés pour plusieurs stimuli faisant ainsi exception à la règle de dichotomie(173). L'aspirine et les antagonistes du récepteur $P2Y_{12}$ ($P2Y_{12}R$) ciblent respectivement la voie du TXA2 et de l'ADP, sans être indépendantes puisque l'activation de la voie de l'ADP permet le relargage de TXA2(174). Le blocage de ces voies (considérées « hémostatiques » par l'équipe de Petito) a été associé à une baisse des marqueurs inflammatoires tels que la CRP dans le modèle de l'athérothrombose(175). La multiplicité et la complexité des voies contribuant à l'activation plaquettaires ne permet pas à ce jour

d'isoler les fonctions inflammatoires et hémostatiques de la plaquette. La compréhension des mécanismes d'activation reste à développer, cela étant d'autant plus difficile que les techniques d'évaluation de l'activation plaquettaire sont variées avec des sensibilités différentes(176).

3.1.2. Traitements antiplaquettaires d'intérêt dans le LES

Les nombreuses voies d'activation plaquettaire et le rôle central de la plaquette activée dans la physiopathologie du LES justifient de s'interroger sur les traitements antiplaquettaires pouvant prendre une place dans le traitement du lupus, pour leur bénéfice anti-inflammatoire ou antithrombotique.

L'hydroxychloroquine est un antipaludéen de synthèse (APS) aujourd'hui largement utilisé dans le traitement du lupus depuis son AMM en 2004. Dans les années 1970, il était utilisé comme antiagrégant plaquettaire en prophylaxie de la thrombose veineuse notamment post opératoire, l'inhibition par la voie de l'ADP était déjà avancée(177,178). Des travaux ont montré ultérieurement que l'hydroxychloroquine pouvait inhiber l'activation plaquettaire médiée par les antiphospholipides(179), réduire l'agrégation plaquettaire induite par la voie de l'ADP(180,181) ou du TXA2(182) et empêcher la libération des granules α(183). Il existe un bénéfice dans la prévention des événements thrombotiques dans le LES(184) et dans le SAPL primitif(185). Son bénéfice anti-inflammatoire dans le contrôle de l'activité lupique est largement démontré et justifie que cet APS soit encore la pierre angulaire du traitement du LES à l'heure actuelle(186).

Le clopidogrel est une prodrogue antiagrégante antagoniste spécifique du $P2Y_{12}R$ plaquettaire. Ce récepteur à l'ADP couplé à une protéine G est responsable de l'inhibition de formation d'AMP cyclique et donc permissif de l'activation plaquettaire(187,188). En inhibant la réactivité plaquettaire à l'ADP et l'activation plaquettaire, le clopidogrel réduit l'expression plaquettaire de P-selectine et de CD40L ainsi que la libération de médiateurs pro-inflammatoires chez l'animal(189) et chez l'homme en contexte de syndrome coronarien aigu (SCA) notamment(190). Il est utilisé selon son AMM dans le SCA, l'infarctus cérébral et l'artériopathie des membres inférieurs. Même si de nouvelles générations d'antagonistes du $P2Y_{12}R$ ont vu le jour, le clopidogrel reste un traitement antiplaquettaire majeur en pratique clinique cardiovasculaire à l'heure actuelle(191). Son utilisation dans le lupus n'a été étudiée que sur modèle murin : il réduit l'expression des marqueurs d'activation plaquettaire dont le sCD40L, le taux d'anticorps anti-ADN, la protéinurie, l'activation lymphocytaire T et améliore la survie et le score histologique rénal(18). Le clopidogrel semble conserver un intérêt dans le LES alors que l'expression plaquettaire du $P2Y_{12}R$ est diminuée chez le sujet lupique comparativement au sujet non lupique(192).

Le prasugrel et le ticagrelor sont respectivement une prodrogue et un inhibiteur direct du $P2Y_{12}R$ agissant donc via la voie de l'ADP comme le clopidogrel. Le ticagrelor a en plus une activité d'inhibition de l'absorption de l'adénosine cellulaire par son action sur le transporteur équilibrant des nucléosides

de type 1(188,193). Ils sont indiqués dans le SCA. Dans le SCA, le ticagrelor permet une meilleure antiagrégation plaquettaire que le clopidogrel(194) et semble supérieur au clopidogrel pour prévenir le décès cardiovasculaire sans augmenter le risque hémorragique(195). Une étude randomisée récente comparant les trois molécules dans le SCA stenté a montré la supériorité du prasugrel sur le ticagrelor et le clopidogrel dans l'amélioration de la fonction endothéliale, l'inhibition plaquettaire et la diminution du taux d'IL-6(196). Il existe cependant des données dans le SCA montrant que le prasugrel(197) et le ticagrelor(198) auraient une action équivalente au clopidogrel sur les niveaux de sCD40L. Malgré de nombreuses évaluations dans le SCA, le prasugrel et le ticagrelor n'ont jamais été évalués dans le LES.

L'iloprost est un analogue de la prostacycline capable de dilatation les artérioles et veinules mais également de diminuer l'activation plaquettaire(199). L'iloprost est capable de diminuer l'agrégation plaquettaire médiée par la voie de l'ADP comme les inhibiteurs du $P2Y_{12}R$(188). Ses indications pour sa forme intraveineuse sont l'ischémie chronique sévère des membres inférieurs et le phénomène de Raynaud sévère et pour sa forme en inhalation le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire primitive symptomatique. Il existe quelques données sur son intérêt vasculaire dans le lupus, essentiellement dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire associée(200,201).

L'aspirine est un antiagrégant inhibiteur irréversible de la cyclo-oxygénase 1, enzyme constitutive qui transforme l'acide arachidonique en TXA2, un agoniste plaquettaire(178). Il est utilisé en prévention des événements cardiovasculaires chez les sujets à risque. L'aspirine a également des propriétés anti-inflammatoires, il diminue les agrégats plaquettes-leucocytes (avec un bénéfice incertain dans le LES) et inhibe la cyclo-oxygénase 2 inductible lorsqu'il est utilisé à forte dose(202). Dans le LES, la biosynthèse de TXA2 est augmentée et associée à l'activité de la maladie. L'aspirine réduit l'excrétion de thromboxane chez les sujets sains mais cette réduction n'est pas significative chez les sujets lupiques avec une grande variabilité interindividuelle de réponse, possiblement en raison des nombreuses voies d'activation plaquettaire dans cette maladie(203). Une étude récente retrouve une réponse insuffisante chez 0% des témoins contre 15% des lupiques avec une association de cette réponse sous-optimale au syndrome métabolique, à l'obésité et à l'élévation de la CRP(204). Par ailleurs l'impact de l'aspirine sur les concentrations de sCD40L plasmatique est négligeable chez le sujet sain(205) et inférieur à celui du clopidogrel chez les patients ayant un AVC ischémique(206,207). Sur le plan hémostatique, l'aspirine a montré une réduction de risque de la thrombose artérielle dans le SAPL en particulier lors de l'association à un LES(208).

Les glucocorticoïdes, en particulier la prednisolone, sont capables *in vitro* d'avoir une action non génomique sur l'agrégation plaquettaire stimulée par la voie de l'ADP, probablement par modulation de la voie $P2Y_{12}$(209). La kinase SGK1 (*serum/glucocorticoid-regulated kinase 1*) exprimée sur les plaquettes circulantes semble également impliquée en modulant plusieurs fonctions calcium-

dépendantes comme l'activation et l'agrégation(210). L'effet antiplaquettaire des glucocorticoïdes n'a pas été spécifiquement étudié chez les patients lupiques.

Les statines initialement connues et utilisées pour leurs propriétés hypocholestérolémiantes ont également une activité anti-inflammatoire complexe documentée depuis plusieurs années(211). Ces molécules paraissent intéressantes dans une maladie comme le LES ayant une athérosclérose accélérée. L'utilisations des statines dans le LES semble avoir un effet bénéfique sur le taux de CRP (en particulier l'atorvastatine) sans pour autant réduire le score d'activité SLEDAI(212). Les statines ont aussi montré une réduction du risque thrombotique dans le LED associé aux antiphospholipides(213). Le sCD40L semble faire le lien entre la dyslipidémie et l'état pro-coagulant : sa concentration est corrélée à l'activation plaquettaire et au taux de LDL cholestérol et diminue lors du traitement par statines(214). Il existe quelques données sur la réduction du sCD40L sous fluvastatine chez les porteurs d'antiphospholipides(215) mais l'effet des statines sur l'axe CD40-CD40L dans le LES n'a pas encore été étudié.

La metformine, est un antidiabétique oral augmentant la sensibilité à l'insuline utilisé selon son AMM dans le diabète de type 2. Chez le sujet non diabétique, une corrélation a été montrée entre le niveau de sCD40L et le niveau d'insulinorésistance(216). Plus récemment, la metformine a été identifiée comme un agent antiplaquettaire inhibant le relargage de mtADN et l'activation lymphocytaire B et CD4(217,218). En population lupique, la metformine a montré un intérêt pour réduire la NETose et la production d'IFNα avec une réduction de 51% du risque de poussée de la maladie(219).

Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) sont initialement connus et utilisés comme antidépresseurs. Comme les neurones, les plaquettes sont concernées par les mécanismes de recapture de la sérotonine et sont donc une cible des ISRS(220). La sérotonine, majoritairement contenue dans les plaquettes et libérée après leur activation, est capable d'immunomodulation sur la plupart des cellules immunitaires(221). Les ISRS n'ont pas été spécifiquement étudiés dans le LES à ce jour.

L'abciximab (fragment Fab d'anticorps chimérique), le tirofiban (antagoniste non peptidique) et l'eptifibatide (inhibiteur peptidique de synthèse) sont dirigés contre le récepteur de la GPIIb-IIIa plaquettaire liant le fibrinogène et le vWF, leur action se situe en aval de l'activation plaquettaire. Ces antiagrégants sont développés dans le SCA(222), il n'existe pas de donnée dans le lupus à ce jour.

3.2. Traitements ciblant le CD40L

3.2.1. Les anticorps monoclonaux anti-CD40L

La dérégulation de l'axe CD40/CD40L a une place importante dans les pathologies inflammatoires humaines, tant pour des pathologies auto-immunes systémiques que pour l'auto-immunité spécifique de tissu. On retrouve ainsi des concentrations augmentées de sCD40L ou une expression membranaire accrue de CD40L sur les lymphocytes ou monocytes chez les patients atteints de LES, PR, syndrome de Sjögren, sclérose en plaque ou encore MICI(223).

L'équipe de Lederman génère en 1992 un anticorps IgG2 murin nommé mAb 5c8 qui est alors le premier anticorps monoclonal anti-CD40L de l'histoire, capable de bloquer la différentiation des lymphocytes B induite par les lymphocytes T CD4+ activés(224). Le mAb 5c8 a montré quelques années plus tard son intérêt dans la prévention du rejet d'allogreffe rénale chez le primate avec une bonne tolérance, en bloquant la costimulation lymphocytaire de façon synergique avec la protéine de fusion CTLA4-Ig(225).

Devant ces résultats précliniques prometteurs, plusieurs autres anticorps monoclonaux anti-CD40L ont été développés dans les années 2000 pour évaluation clinique chez l'homme, en particulier dans le LES. Le ruplizumab (BG9588, hu5c8) est un anticorps anti-CD40L de type IgG1 humanisé qui a montré une réduction de la protéinurie et de l'hématurie, une réduction du titre d'anticorps anti-ADN ainsi qu'une remontée des taux de C3 chez des patients porteurs d'une glomérulonéphrite lupique. Cependant son étude a été arrêtée prématurément en raison d'événements thrombotiques à type d'infarctus du myocarde ou d'embolie pulmonaire(226). Le toralizumab (IDEC-131, hu24-31) est également une IgG1 humanisée n'ayant pas montré de supériorité par rapport au placebo dans son étude de phase II chez des sujets lupiques(227). Son développement exporté dans d'autres pathologies dysimmunitaires a été stoppé à la suite d'une toxicité thromboembolique dans la maladie de Crohn(223,228). Un troisième anticorps IgG1 anti-CD40L cette fois-ci complètement humain, nommé ABI793, a été évalué en transplantation rénale chez le singe. L'ABI793 était associé à une survie prolongée du greffon rénal mais également à des événements indésirables thromboemboliques affectant différents organes(144,229). Il n'existe pas de donnée publiée sur l'utilisation de l'ABI793 dans le LES.

Le dapirolizumab pégol (CDP7657) est un anticorps de nouvelle génération issu d'un assemblage de fragment Fab d'anticorps anti-CD40L conjugué avec un polyéthylène glycol de haut poids moléculaire. Il ne dispose pas de fragment Fc contrairement aux trois anticorps précédents. Sa première évaluation humaine chez le sujet sain puis lupique en 2015 n'a pas été associée à aucun événement thromboembolique(230). Sa sécurité d'emploi a été confirmée chez 16 patients lupiques en phase I en 2017, aucun événement indésirable thromboembolique n'a été rapporté(231). Son évaluation de phase IIb en 2019 n'a pas atteint son critère de jugement principal mais a montré un intérêt biologique du traitement (sur le titre d'anticorps anti-ADN notamment) et une bonne tolérance (un unique événement thromboembolique dans le groupe traitement contre trois dans le groupe placebo)(232). Ces résultats ont été jugés suffisants pour débuter une évaluation contre placebo en phase III, enregistrée sur ClinicalTrials.gov en mai 2020 (NCT04294667).

Le letolizumab (BMS-986004) est une protéine de fusion composée d'un domaine anticorps anti-CD40L humain dimérique lié avec la portion Fc d'IgG1 modifiée pour diminuer ses fonctions effectrices (capacité de liaison à son récepteur et fixation au complément). Dans un essai pré-clinique de transplantation rénale chez le singe, il a montré un bénéfice pour prévenir le rejet d'allogreffe sans occasionner d'événement thromboembolique(233). Un essai de tolérance et de sécurité du letolizumab dans le PTI s'est terminé en 2019 (NCT02273960), les résultats préliminaires disponibles signalent des événements indésirables sérieux uniquement d'ordre hémorragique, la publication des résultats est à ce jour en attente.

Le VIB4920 est le dernier né des antagonistes du CD40L et dispose d'une construction originale, sans portion Fc, consistant en deux protéines Tn3 identiques (molécules inhibant le CD40L, issues de la fibronectine de type III de la tenascine-C humaine(234)) attachées par des liens de type polyglycines à une albumine sérique humaine. Son étude pharmacologique chez le singe a montré sa capacité à bloquer l'interaction CD40/CD40L sans aucune toxicité thromboembolique associée(235). Des données de phase Ib chez 57 patients ayant une PR séropositive active, présentées à l'ACR en 2018, ont montré la capacité du VIB4920 à diminuer l'activité de la maladie sans occasionner d'événement thromboembolique. Le bon profil de tolérance du VIB4920 chez des sujets sains et chez les porteurs de PR ainsi que les résultats prometteurs dans cette maladie, laissent entrevoir des perspectives d'évaluation dans diverses pathologies dysimmunitaires, à composante humorale en particulier(236).

3.2.2. Les alternatives aux anticorps monoclonaux anti-CD40L

Les complications thromboemboliques du ruplizumab, du toralizumab et de l'ABI793, longtemps mal comprises, notamment en l'absence d'anticorps antiphospholipides, ont conduit à l'arrêt de leur développement clinique malgré leurs résultats encourageants(223,237). Le dapirolizumab, le letolizumab et le VIB4920 sont arrivés plus tardivement et ont été différemment pensés dans leur construction, leur permettant de rencontrer un meilleur profil de tolérance(232,233,235,236) et d'être toujours en développement à l'heure actuelle.

Deux grandes hypothèses ont été évoquées pour expliquer cette toxicité thromboembolique. La première hypothèse implique la construction de l'anticorps et en particulier son fragment Fc. Des complexes immuns, formés par les anticorps anti-CD40L administrés et le sCD40L endogène, seraient capables de se fixer aux plaquettes par l'intermédiaire de leur récepteur aux IgG de surface (FcγRIIA) pouvant ainsi les activer et promouvoir l'agrégation et la thrombose(238). Cette activation plaquettaire dépendante du FcγRIIA a été occultée dans les essais pré-cliniques chez les souris puisque leurs plaquettes ne disposent naturellement pas de ce récepteur. En revanche, on arrive à reproduire expérimentalement l'activation plaquettaire et les événements thrombotiques par les complexes immuns induits par les anti-CD40L chez les souris transgéniques pour le FcγRIIA, confirmant le mécanisme d'activation(239). Cette

hypothèse expliquerait la bonne tolérance du dapirolizumab, du letolizumab et du VIB4920, construits sans fragment Fc(231,235) ou avec un fragment Fc diminué de ses fonctions effectrices(233). La seconde hypothèse s'intéresse à l'impact des récepteurs non-CD40 du CD40L, en particulier l'intégrine plaquettaire αIIbβ3 (GPIIb-IIIa). L'intégrine αIIbβ3, qui a un rôle dans l'activation plaquettaire, a également un intérêt dans la stabilisation du thrombus artériel par son interaction avec le CD40L(52). Le blocage du CD40L est alors potentiellement responsable de la déstabilisation du thrombus et de sa capacité à emboliser. Cette hypothèse est à mettre en balance avec les données expérimentales de blocage orthostérique de l'intégrine αIIbβ3, supposé bloquer les différents ligands dont le CD40L, qui montre une prévention de la thrombose par inhibition de l'agrégation plaquettaire induite par le collagène(240).

Devant les effets indésirables des anticorps monoclonaux anti-CD40L, thromboemboliques notamment, de nouvelles stratégies ont été développées pour cibler une partie plus restreinte de l'axe CD40/CD40L. Des données intéressantes concernent la nanoimmunothérapie : de petites molécules nommées TRAF-STOPs ciblant les protéines associées TRAF ont été évaluées sur modèles murins. Le blocage de l'interaction CD40/TRAF6 a été bien toléré, il a montré une réduction de l'inflammation adipocytaire et de la stéatose hépatique ainsi qu'une augmentation de la sensibilité à l'insuline chez la souris obèse(241). D'autres données chez la souris et le primate athéromateux confirment la bonne tolérance et montrent des bénéfices dans la réduction et la stabilisation des plaques d'athérome ainsi que la diminution de leur contenu cellulaire inflammatoire(242,243). Malgré ces preuves de concept, il n'existe pas à ce jour de donnée concernant l'utilisation des TRAF-STOPs chez l'homme en pathologie cardiovasculaire ou inflammatoire(244).

Le ciblage des récepteurs non-CD40 au CD40L a été évoqué comme un traitement alternatif anti-CD40L. C'est le cas en particulier du blocage de l'intégrine Mac-1, supposée médiée une part de la réponse inflammatoire induite par le CD40L. L'inhibition chez la souris par une petite molécule peptidique de Mac-1 n'a pas montré de bénéfice significatif pour réduire l'inflammation ni l'athérogenèse(245). Toujours sur modèle murin, l'inhibition spécifique par un anticorps monoclonal de l'interaction CD40L/Mac-1 a montré un bénéfice anti-inflammatoire avec notamment une diminution du recrutement leucocytaire(246). Ce modèle de blocage de Mac-1 n'a pas été transposé chez l'homme à ce jour.

De manière plus anecdotique, une série de cas d'utilisation du rituximab, anticorps monoclonal anti-CD20, utilisé en traitement de rattrapage de LES réfractaires a été associés à une régulation négative de l'expression des CD40 et CD80 par les lymphocytes B au bout d'une semaine de traitement. Cette régulation négative se maintenait lors de la reconstitution lymphocytaire B avec un suivi jusqu'à 1 an. Cette série suggère que le rituximab corrige les expressions aberrantes des lymphocytes B, impactant ainsi la costimulation lymphocytaire et l'activation des lymphocytes T autoréactifs(247).

3.2.3. Les indications potentielles au blocage CD40/CD40L en immunologie clinique

L'influence ubiquiste de l'axe CD40/CD40L sur les cellules clés immunitaires (principalement lymphocytes B, lymphocytes T, DCs, monocytes, macrophages) et non immunitaires (principalement cellules endothéliales, cellules épithéliales, fibroblastes) lui permet d'avoir un rôle capital dans la physiopathologie des maladies dysimmunitaires et du rejet immunologique(248). Plusieurs maladies dysimmunitaires systémiques ou spécifiques d'organe ont été candidates à un traitement chez l'homme par anti-CD40L. Les maladies systémiques dysimmunitaires, dont le LES, dans lesquelles l'intérêt du blocage du CD40L a été évalué sont résumées dans le Tableau 3.

Tableau 3 : principales études cliniques ayant évalué l'intérêt chez l'homme d'un traitement ciblé anti-CD40L dans les maladies dysimmunitaires systémiques.

Maladie	*Anti-CD40L*	*Développement*	*Référence*
LES	Ruplizumab (BG9588, hu5c8)	Phase II : arrêt pour thrombose	Boumpas 2003(226)
	Toralizumab (IDEC-131, hu24-31)	Phase I : bonne tolérance	Davis 2001(249)
		Phase II : négative	Kalunian 2002(227)
	Dapirolizumab pégol (CDP7657)	Phase I : bonne tolérance	Chamberlain 2017(231)
		Phase IIb : négative, bonne tolérance	Furie 2019(232)
		Phase III : en cours	NCT04294667, 2020
PTI	Ruplizumab (BG9588, hu5c8)	Phase I/II : 43% réponse, pas de thrombose	Patel 2008(250)
	Toralizumab (IDEC-131, hu24-31)	Phase I : 15% réponse, pas de thrombose	Kuwana 2004(251)
		Phase I/II : 16% réponse, pas de thrombose	Patel 2008(250)
	Letolizumab (BMS-986004)	Phase I/II : publication attendue	NCT02273960, 2019
MICI	Toralizumab (IDEC-131, hu24-31)	Phase II : arrêt pour thrombose	Non publié, 2002
PR	VIB4920	Phase Ib : > 50% réponse significative, pas de thrombose	Karnell 2019(236)
		Phase II : en cours	NCT04163991, 2020
Sjogrën	VIB4920	Phase II : en cours	NCT04129164, 2020

En plus de son implication dans les maladies auto-immunes, l'axe CD40/CD40L a un rôle dans la régulation de l'allo-immunité. Des essais thérapeutiques utilisant des anticorps anti-CD40L ont ainsi été menés depuis le début des années 2000 et ont montré des bénéfices dans la prévention du rejet d'allogreffe(252). Cette thématique ne sera pas développée, mais on peut constater que les molécules récentes précédemment citées sont en plein essor en transplantation avec pour exemples le développement du VIB4920 en phase II dans la prévention du rejet de greffon rénal (NCT04046549), ou du letolizumab en phase I dans la maladie du greffon contre l'hôte (NCT03605927).

3.2.4. Intérêts dans le LES des thérapies non ciblées impactant l'axe CD40/CD40L

Devant l'intérêt croissant suscité par l'axe CD40/CD40L dans les pathologies dysimmunitaires et au vu des résultats mitigés des thérapies ciblant le CD40L, l'analyse des molécules déjà existantes susceptibles de freiner cet axe paraît pertinente. Le CD40L ayant un positionnement physiologique à la frontière entre l'immunologie et l'hémostase, il paraît intuitif de rechercher les potentiels inhibiteurs de CD40L dans les traitements immunomodulateurs et immunosuppresseurs ou encore dans les traitements antiagrégants et anti-athéromateux.

3.2.4.1. Immunomodulateurs et immunosuppresseurs à activité anti-CD40L

En 1950, Hench est récompensé d'un prix Nobel pour sa découverte de l'utilisation thérapeutique des corticoïdes dans le traitement des maladies inflammatoires. Ce traitement révolutionnaire s'inscrit dès lors comme très efficace dans le contrôle de l'activité du LES. Il reste encore aujourd'hui un pilier des traitements de cette maladie, utilisé à la dose minimale possible afin de s'affranchir d'une toxicité et de séquelles au long cours qui ne sont pas négligeables(253). Même si l'impact des corticoïdes sur le CD40L n'a jamais été spécifiquement évalué dans le LES, des données existent dans d'autres pathologies dysimmunitaires. Dans la maladie de Behçet, l'augmentation de l'expression du CD40L semble corrélée à l'activité de la maladie et parmi les patients actifs, ceux traités par corticoïdes expriment moins le CD40L que ceux naïfs de traitement(254). La maladie de Graves a également été associée à une augmentation de sCD40L et CD40 soluble (sCD40) comparativement aux témoins. L'augmentation du ratio sCD40/sCD40L semblerait liée à la non réponse aux corticoïdes ce qui laisse supposer un impact des corticoïdes sur l'axe CD40/CD40L dans cette maladie qui reste cependant à éclaircir(255). L'impact de sept glucocorticoïdes sur l'activation du facteur de transcription pro-inflammatoire NF-κB induite par le CD40L a été mesuré expérimentalement. Tous les glucocorticoïdes testés étaient capables d'induire une inhibition concentration-dépendante de l'activation de NF-κB induite par le CD40L. Dans cette étude, l'inhibition de l'activation de NF-κB induite par le CD40L était

partielle (au maximum de l'ordre de 40%) et semblait plus importante avec les glucocorticoïdes non halogénés testés (hydrocorticone, prednisolone, loteprednol etabonate) qu'avec les halogénés(256).

Le cyclophosphamide est une prodrogue métabolisée par le cytochrome P450 en moutarde-phosphoramide alkylante et en acroléine. Les lésions de l'ADN qu'il occasionne par sa liaison aux purines inhibent la prolifération lymphocytaire B et T. Cela fait du cyclophosphamide un immunosuppresseur efficace dans le LES depuis 1978. Son utilisation est aujourd'hui limitée aux formes sévères au vu de sa grande toxicité infectieuse, hématologique, mutagène, tératogène, ovarienne et vésicale(253). Les effets de 6 cures de cyclophosphamide intraveineux sur l'expression des marqueurs lymphocytaires à 8 semaines du traitement ont été étudiés chez 34 patients ayant un LES. Le ratio de lymphocytes T CD40L+ parmi les lymphocytes T totaux était diminué chez les patients lupiques répondant au traitement par cyclophosphamide intraveineux, suggérant l'impact de cette drogue sur l'axe CD40/CD40L(257).

L'hydroxychloroquine, dont les premières séries d'utilisation dans le LES remontent à 1956, est un antipaludéen de synthèse ayant un intérêt dans la réduction de l'activité inflammatoire du LES mais également dans la réduction des risques thrombotiques et infectieux. Présentant un bon profil de tolérance, il devenu la pierre angulaire du traitement du LES. La chloroquine est une alternative en cas d'échec ou d'intolérance(253). Il a été montré qu'un traitement *in vitro* par hydroxychloroquine des lymphocytes T activés de patients lupiques inhibait de façon dose-dépendante l'expression membranaire de CD40L des lymphocytes T activés et bloquait la voie de signalisation NFAT. La significativité de réduction d'expression du CD40L était atteinte pour des concentrations d'hydroxychloroquine de 3000 ng/mL *in vitro*(258). L'hydroxychloroquine est donc un traitement candidat au blocage de l'axe CD40/CD40L, mais cela mérite d'être confirmé *in vivo* avec des doses correspondant à celles utilisées en pratique clinique. Quelques données expérimentales récentes sur la cellule tubulaire rénale hypoxique suggèrent que la chloroquine pourrait également avoir un intérêt pour bloquer la production induite par le CD40L de cytokines inflammatoires comme l'IL-6(259).

Les autres immunosuppresseurs et immunomodulateurs usuellement utilisés dans le lupus sont respectivement le méthotrexate, l'azathioprine, le mycophénolate mofétil, la ciclosporine A, le tacrolimus d'une part, la thalidomide et le lénalidomide d'autre part(253). Les données sur l'impact de ces molécules sur l'axe CD40/CD40L sont rares, en particulier dans le LES spécifiquement, elles sont résumées ci-après.

Le méthotrexate a indirectement suggéré son lien avec le CD40L sérique dans la PR dans une étude de progression structurale qui montrait que chez les patients mis sous méthotrexate, les changements de concentration de CD40L corrélaient avec les modifications du score radiographique(260).

Le traitement par acide mycophénolique (métabolite actif de la prodrogue mycophénolate mofétil) de lymphocytes CD4+ de patients lupiques a montré sa capacité de modifications épigénétiques de l'ADN

en régulant l'acétylation des histones. En diminuant l'acétylation des histones dans la région promotrice du CD40L, l'acide mycophénolique a été associée à une répression de l'expression de CD40L(261).

Il a été montré que les patients porteurs de néphrite lupique active avaient conjointement une hyperactivation de la calcineurine et une surexpression de CD40L dans les cellules sanguines mononuclées comparativement au groupe contrôle. L'utilisation de tacrolimus, inhibiteur de la calcineurine, était capable de réduire la production de CD40L par les cellules sanguines mononuclées du groupe de néphrites lupiques actives. Ces données suggèrent que l'hyperactivation de la calcineurine participe à la surexpression du CD40L et donc que le tacrolimus pourrait avoir une place pour freiner l'axe CD40/CD40L dans la néphrite lupique(262). Ces données sont toutefois à mettre en balance avec l'échec d'inhibition par la ciclosporine A de la surexpression de CD40L par les monocytes et lymphocytes T de sujets lupiques, rapporté par Katsiari et al., suggérant que d'autres voies que celle de la calcineurine sont impliquées dans la dysrégulation de CD40L dans le LES(263).

La thalidomide et le lénalidomide sont des agents anti-angiogéniques et immunomodulateurs modifiant de nombreuses sécrétions cytokiniques monocytaires. Ils sont utilisés dans l'atteinte cutanée du lupus avec de bons résultats mais une toxicité thrombotique, neurologique et tératogène non négligeable(253). La thalidomide a un effet immunomodulateur *in vitro* sur la capacité de stimulation et le profil de sécrétion cytokinique des DCs dérivant du monocyte. L'ajout de thalidomide sur des cultures de DCs en cours de maturation permet notamment d'atteindre un plus grand niveau d'expression de CD40 par la DC(264). Chez des patients atteints de myélome, un pré-traitement par lénalidomide est capable d'une part d'augmenter la sensibilité des cibles plasmocytaires CD138+CD40+ au traitement par SGN-40 (un anticorps monoclonal anti-CD40), et d'autre part d'induire l'expression de CD40L par les lymphocytes NK CD56+CD3-. Ces deux modulations à la hausse du CD40 de la cible et CD40L aboutissent finalement à augmenter la cytotoxicité du SGN-40 sur les cellules myélomateuses(265). Dans la leucémie lymphoïde chronique, une autre hémopathie lymphoïde B, il a été montré *in vitro* et *in vivo* que le lénalidomide induisait l'expression de l'antigène CD40L sur les cellules leucémiques à l'état fonctionnel, augmentant la production d'anticorps par les cellules B normales résiduelles(266). L'ensemble de ces données suggère que ces deux immunomodulateurs ne sont pas des traitements diminuant l'axe CD40/CD40L et seraient même potentiellement capable de le promouvoir.

3.2.4.2. Médicaments cardiovasculaires à activité anti-CD40L

Les traitements antiagrégants plaquettaires sont les principaux médicaments à tropisme cardiovasculaire étudiés dans le blocage du CD40L. Des données de 2003 suggèrent que l'aspirine, connu pour inhiber la production de TXA2, est aussi capable de diminuer le relargage de sCD40L par les plaquettes activées de donneurs sains mais uniquement lorsque l'agoniste responsable de la réponse est le collagène(267). Chez le volontaire sain, les plaquettes activées par une lésion vasculaire libèrent du sCD40L et

expriment le CD40L, ce dernier activant la cellule endothéliale (de manière antagonisable par un anticorps anti-CD40L). Dans ce modèle, l'administration expérimentale *in vivo* de 500 mg d'aspirine n'a pas inhibé l'expression plaquettaire du CD40L alors qu'elle a réduit significativement l'expression de P-selectine et inhibé la production de thromboxane B2 sérique, un dérivé du TXA2(268). D'autres données chez le sujet sain avec un schéma d'une semaine d'aspirine à 81 mg par jour montrent en revanche un diminution sur le taux de sCD40L sérique mais pas plasmatique, ainsi qu'une diminution de P-selectine sérique et plasmatique(205). Dans le LES, l'efficacité de l'aspirine a été évaluée sur sa capacité à inhiber la voie du TXA2, montrant une efficacité moindre par rapport aux sujets sains(204), mais l'impact de l'aspirine sur le CD40L n'a jamais été évalué dans cette pathologie.

Il a été montré dès le début des années 2000 que le niveau d'expression de CD40L par la plaquette activée n'était pas inhibé par l'aspirine alors qu'il l'était par le clopidogrel(269). Le clopidogrel a montré une supériorité face à l'aspirine dans la réduction de l'expression de CD40L plaquettaire chez les sujets ayant eu un infarctus cérébral (206,207). Il réduit également les concentrations de sCD40L plasmatique en évaluation contre placebo après 8 semaines dans la maladie coronarienne stable, chez des patients déjà tous sous aspirine(270). Dans le syndrome métabolique en association à l'aspirine, le clopidogrel a montré une supériorité au placebo dans la réduction de l'expression de CD40L à 6 semaines de traitement(271). Chez le diabétique de type 2 sous aspirine 75 mg par jour, la stratégie d'ajout de clopidogrel 75 mg par jour a montré sa supériorité sur le doublement de posologie d'aspirine à 150 mg par jour pour réduire les concentrations plasmatiques de sCD40L après 8 semaines de traitement(272). L'inhibition de l'axe CD40/CD40L est donc bien documentée en pathologie cardiovasculaire. Dans le SCA, le clopidogrel semble inhiber le CD40L à un niveau identique à celui des autres inhibiteurs de $P2Y_{12}R$ comme le prasugrel(197) ou le ticagrelor(198). Les antagonistes de GPIIb-IIIa ont montré un intérêt *in vitro* dans l'inhibition de l'hydrolyse du CD40L plaquettaire et son relargage sous forme de sCD40L(267), ils semblent synergiques avec le clopidogrel pour réduire les taux de sCD40L(273). Dans le LES, l'intérêt du clopidogrel sur la réduction des marqueurs d'activité de la maladie dont le taux de sCD40L n'a été montré que sur modèle murin lupique en 2010(18). Depuis, il n'existe pas de donnée sur l'intérêt des inhibiteurs de $P2Y_{12}R$ dans le LES chez l'homme.

Il a été montré au début des années 2000 que les patients porteurs d'hypercholestérolémie avaient des taux de sCD40L significativement plus élevés que les sujets sains. Le niveau de sCD40L sérique corrélait d'une part avec le cholestérol (total et *low density lipoprotein*), et d'autre part avec l'intensité de l'activation plaquettaire et l'état pro-coagulant. L'hypothèse que les statines puissent réduire les taux de sCD40L, a été confirmée par Cipollone et al. avec une double étude positive contre placebo pour la pravastatine et la cerivastatine(214). Ces données ont également été confirmées avec l'atorvastatine *versus* règles hygiéno-diététiques sur les taux de sCD40L plasmatique et l'expression de CD40L plaquettaire(274). Comme les statines précédemment citées, la simvastatine a également été associée à

une diminution significative de 60.2% des taux de sCD40L chez des patients ayant une hyperlipidémie combinée(275).

L'utilisation de la fluvastatine a été évaluée chez des patients ayant une biologie APL ou un SAPL primaires ou secondaires à un LES. Initialement, tous les patients avaient des taux de sCD40L significativement plus élevés chez les sujets contrôles. Le sCD40L diminuait significativement après 3 mois de fluvastatine 40 mg par jour, puis remontait chez 90% des patients après l'arrêt du traitement dans un délai moyen de 45 jours(215). L'impact des statines dans le LES a été spécifiquement étudié chez 21 patients issus de la cohorte multiethnique LUMINA. Les concentrations moyennes de sCD40L étaient initialement plus élevées chez les patients que chez des témoins, elles diminuaient de 46.5% sous statines, sans atteindre la significativité statistique cependant. Le traitement par statines était en revanche associé à une diminution de l'activité lupique évaluée par le score *systemic lupus activity mesure-revised* (SLAM-R)(276). Une méta-analyse récente a synthétisé les données de 8 études évaluant l'utilisation des statines (pravastatine, atorvastatine, rosuvastatine) dans le LES avec une administration de 2 mois à 3 ans. Un bénéfice inflammatoire sur la diminution de la CRP a été observé, en particulier avec l'atorvastatine, mais il n'a pas été retrouvé de réduction significative de l'activité de la maladie dans cette méta-analyse(277).

L'ensemble de ces données suggèrent que les statines sont de bons candidats au blocage de l'interaction CD40/CD40L, leur conférant de multiples intérêts potentiels dans l'athérome, la thrombose ou l'inflammation. Toutefois les données dans le LES ne sont pas assez robustes pour valider leur prescription dans cette maladie.

4. JUSTIFICATION DE L'ÉTUDE

Le LES reste aujourd'hui une maladie grave pouvant engager le pronostic fonctionnel ou vital. Sa complexité physiopathologique laisse entrevoir un grand nombre de stratégies thérapeutiques. Malgré une recherche clinique dense sur cette maladie, les innovations thérapeutiques demeurent très limitées.

Les données récentes prêtent à la plaquette une place prédominante dans la pathogénie du LES. De toutes les molécules ayant une activité antiplaquettaire, seule l'hydroxychloroquine est validée dans le traitement du LES et dispose d'une AMM.

Il existe déjà sur le marché d'autres molécules ciblant la plaquette, utilisées en cardiologie depuis plusieurs années. Le recul sur ces molécules permet d'en connaître le profil de tolérance, les effets indésirables attendus et le coût d'utilisation pour la société.

Parmi ces molécules, le clopidogrel est le seul antagoniste de $P2Y_{12}R$ à avoir déjà montré des preuves de son bénéfice dans le lupus en modèle murin. Il permet de diminuer les concentrations de sCD40L d'origine plaquettaire, une cytokine majeure dans la pathogénie du LES responsable notamment d'une hyperproduction d'IFNα par les pDC(18).

Comme vu précédemment, les données suggérant une meilleure inhibition plaquettaire du prasugrel et du ticagrelor en comparaison au clopidogrel dans le SCA(194,196) sont à mettre en balance avec d'autres données ne montrant pas de différence significative sur le sCD40L(197,198). Par ailleurs, aucune donnée murine dans le LES ne justifiait leur évaluation chez l'homme.

Dans le but de transposer les résultats obtenus chez la souris avec le clopidogrel, il nous a paru pertinent d'évaluer l'impact du clopidogrel *in vivo* chez des patients porteurs de LES en mesurant les marqueurs d'activation plaquettaire avec au premier plan le sCD40L comme critère de jugement principal, biomarqueur ayant montré une corrélation à l'activité de la maladie(156,157,278).

Les données de la littérature de cardiologie sur l'utilisation du clopidogrel ont été prises en considération pour choisir la durée de l'étude et les périodes de mesure du sCD40L selon les cinétiques déjà rapportées(279–281). De la même manière, les interactions médicamenteuses du clopidogrel rapportées avec l'oméprazole et l'ésoméprazole(282) ont été prises en compte dans le protocole en imposant l'arrêt de ces molécules à l'inclusion.

En l'absence de données antérieures chez l'homme, nous avons cherché à établir une « preuve de concept » à travers une étude pilote. En plus d'évaluer l'intérêt de la molécule et sa tolérance, ce type d'étude permet d'évaluer les méthodes de recrutement, les procédures du protocole, la taille de l'effet, la dose administrée et la taille d'échantillon nécessaire dans le but d'améliorer les procédures pour des études ultérieures plus importantes.

Les perspectives d'avenir passent par l'identification des cibles pathogéniques d'intérêt *in vitro*, puis par l'exportation de traitements *in vivo* via des études de phase II afin de pouvoir à terme proposer un traitement spécifiquement adapté aux mécanismes défaillants de chaque patient(283).

ARTICLE SCIENTIFIQUE

ABSTRACT

Objective: CD40–CD40 ligand (CD40L) interactions are involved in systemic lupus erythematosus (SLE) pathogenesis. As platelets represent the main reservoir of soluble CD40L (sCD40L), we performed a pilot study to assess the impact of the platelet inhibitor clopidogrel on plasma sCD40L levels in SLE patients, and its safety.

Methods: We performed a single-arm, open-label, phase I/II trial of clopidogrel in patients with quiescent SLE (no flare within 3 months before inclusion). Patients received clopidogrel 75 mg per day for 12 weeks. The primary outcome was the change in the plasma sCD40L concentration at 12 weeks after inclusion. Patients were followed for 4 weeks after the final dose. All adverse events were recorded. This study was registered on ClinicalTrials.gov, NCT02320357.

Results: Between 19 August 2015 and 11 April 2017, 24 patients were screened and 18 were included. The mean plasma sCD40L concentration decreased during the first week of treatment without achieving statistical significance ($p = 0.09$) and then plateaued until week 12 ($p = 0.34$). One day of clopidogrel significantly reduced platelet activation, as assessed by CD154+ (CD40L) and CD62+ (P-selectin) expression levels ($p = 0.002$). Two patients discontinued the treatment due to an adverse event or personal decision. Clopidogrel was well tolerated, with only a single serious bleeding incident (menorrhagia grade 3).

Conclusion: clopidogrel tends to decrease platelet activation in SLE patients, but its effect on the sCD40L concentration remains to be demonstrated. A more extensive controlled study is needed to confirm our results before considering a randomized clinical trial.

INTRODUCTION

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune systemic disease that is characterized by a wide spectrum of clinical manifestations with potentially life-threatening consequences and the production of autoantibodies directed against nuclear components (1). Conventional immunosuppression leads to considerable morbidity, and the success of modern therapies is limited in SLE patients (2).

CD40L (also known as CD154) is a transmembrane protein belonging to the tumour necrosis factor family and is expressed on the surface of activated platelets, which are a major source of CD40L (3). Upon platelet activation, CD40L is cleaved by metalloproteinases into membrane-bound CD40L and soluble plasma CD40L (sCD40L), which is likely a biologically active form, the concentrations of which have been correlated with disease activity during SLE (4,5).

Inhibition of the CD40–CD40L axis is a promising therapeutic strategy in SLE. In patients with SLE, anti-CD40L monoclonal antibodies have been assessed. Ruplizumab (BG9588, hu5c8) and toralizumab (IDEC-131, hu24-31) have provided promising benefits but have been associated with increased risks of thromboembolic events (6–9). Dapirolizumab pegol, a pegylated Fab' fragment against CD40L, showed a biological effect in a phase IIb study with no thromboembolic events and an acceptable safety profile (10).

In lupus-prone mice, administration of clopidogrel (a P2Y12 receptor antagonist) inhibited the expression of platelet activation markers, including sCD40L, and improved all measures of disease activity and overall survival (5). We initiated this phase I/II study to measure the impact of clopidogrel on sCD40L levels and to assess its safety in SLE patients.

PATIENTS AND METHODS

Study design and interventions

This single-arm, open-label, monocentric phase I/II trial was performed in Bordeaux, France. Patients were enrolled to receive 75 mg oral clopidogrel once a day for 12 weeks, with concomitant standard SLE treatment. Care visits were planned at 24 hours, 7 days, and 4, 8, 12, and 16 weeks after the initiation of treatment. The CLOPUS project (NCT02320357) was approved by the French Ethics Committee (CPP SOOM III, Bordeaux, France) and Regulatory Authority (ANSM) and was conducted in accordance with the ethical standards of the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practices.

Patient population

The study patients were aged 18–65 years of age. All patients were affiliated with a health insurance scheme, satisfied the revised American College of Rheumatology classification criteria for SLE, and provided informed consent before any examinations took place. Patients with recent disease flares, with antiphospholipid syndrome, taking aspirin, or for whom taking clopidogrel posed a risk were excluded. The detailed exclusion criteria are provided in the supplementary material.

Intervention

Clopidogrel 75 mg, one tablet per day (administered *per os*), was added to the standard treatment for patients for 12 weeks according to the product recommendations. Due to interactions with cytochrome P450, omeprazole and esomeprazole had to be replaced by lansoprazole, pantoprazole, or ranitidine during the pre-inclusion period.

Endpoints and assessments

The primary outcome was the change in the plasma sCD40L concentration over the first 12 weeks after inclusion (D0): day 1 (D1), day 7 (D7), week 4 (W4), week 8 (W8), and week 12 (W12). The measurements were performed in all patients by the same operator and using the same enzyme-linked immunosorbent assay kit (Human sCD40L Platinum ELISA Product, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). The key secondary outcomes were the plasma sCD40L level at 4 weeks before (W-4) and 16 weeks (W16) after inclusion in the trial, expression of platelet activation markers (CD40L

and CD62p), and rate of haemorrhagic adverse events during follow-up. Other secondary outcomes are listed in the supplementary material.

Statistical analysis

The sample size was calculated based on an expected decrease of at least 30% at W12. Based on a paired Student's t-test, a total of 30 participants were needed to provide a power of 80% and a type I error rate of 5%. The sCD40L level was measured at each time point. A comparison of the concentrations of sCD40L before (D0) and after treatment (W12) was conducted using a paired Wilcoxon test because the normality assumption was not verified. The relationships between the sCD40L level and the continuous variables of interest were estimated using Spearman's correlation coefficients. The change in the sCD40L level was estimated using a piecewise linear mixed-effects model. The analyses were carried out using SAS® software (version 9.3 and later).

RESULTS

Participants

From August 19, 2015 to April 11, 2017, 24 patients were screened and pre-included in the CLOPUS study. Of these, four patients refused to participate in the study at the time of inclusion, one patient was excluded because he was 69 years old at pre-inclusion, and one patient was excluded because he had disease with a risk of severe haemorrhage (congenital factor VII deficiency). Seven patients had to switch their omeprazole or esomeprazole to lansoprazole (n = 3), pantoprazole (n = 2), ranitidine (n = 1), or none (n = 1). In total, 18 patients were included and received clopidogrel. The patient characteristics at inclusion are summarized in Table 1. Two patients dropped out of the study before the end, the first for personal reasons and the second due to a serious adverse event (menorrhagia grade 3) (Figure 1).

Variable (unit) [no./total no.]	Mean (SD) or no. (%)	Minimum–Maximum
Age (years) [18/18]	48.8 (16.4)	22–80
Sex [18/18]	Females: 15 (83.3%)	
BMI (kg/m²) [18/18]	23.5 (3.6)	18–30
Clinical phenotypes [18/18]	Musculoskeletal: 17 (94.4%) Mucocutaneous: 15 (83.3%) Serositis: 4 (22.2%) Renal: 4 (22.2%) Neurological: 3 (16.7%) Haematological: 2 (11.1%) Myocarditis: 1 (5.6%) Digestive: 1 (5.6%)	
SLEDAI score [18/18]	0.8 (2.1)	0–8
Specific treatment for lupus [18/18]	Hydroxychloroquine: 15 (83.3 %) Chloroquine: 1 (5.6 %) Prednisone: 11 (61.1 %), mean 3.9 mg/day (4) Methotrexate: 4 (22.2 %) Mycophenolate mofetil: 4 (22.2 %)	
Standard PPI treatment [18/18]	PPI: 7 (38.9%) Esomeprazole: 5 (27.8 %) Omeprazole: 2 (11.1 %)	
Platelets (G/L) [17/18]	243.6 (61.7)	159–395
MPV (fL) [17/18]	8.5 (1.0)	7.4–10.9
CRP (mg/L) [18/18]	3.5 (3.8)	0.3–13.3
ANA titre > 1/80 (%) [18/18]	18 (100)	80.0–5120.0

Anti-dsDNA (UI/mL) [18/18]	43.3 (47)	10.0–159.0
CH50 compl (UI/mL) [16/18]	68.2 (13.0)	47.0–95.0
C3 compl (g/L) [18/18]	1.0 (0.2)	0.7–1.4
C4 compl (g/L) [18/18]	0.2 (0.1)	0.1–0.3
sCD40L (ng/mL) [18/18]	80.8 (70.7)	28.5–347.1

Table 1. Baseline clinical and biological patient characteristics. SD: standard deviation. BMI: body mass index. SLEDAI: systemic lupus erythematosus disease activity index. PPI: proton pump inhibitor. MPV: mean platelet volume. CRP: C-reactive protein. ANA: antinuclear antibody. dsDNA: double-stranded DNA. compl: complement. sCD40L: soluble CD40 ligand.

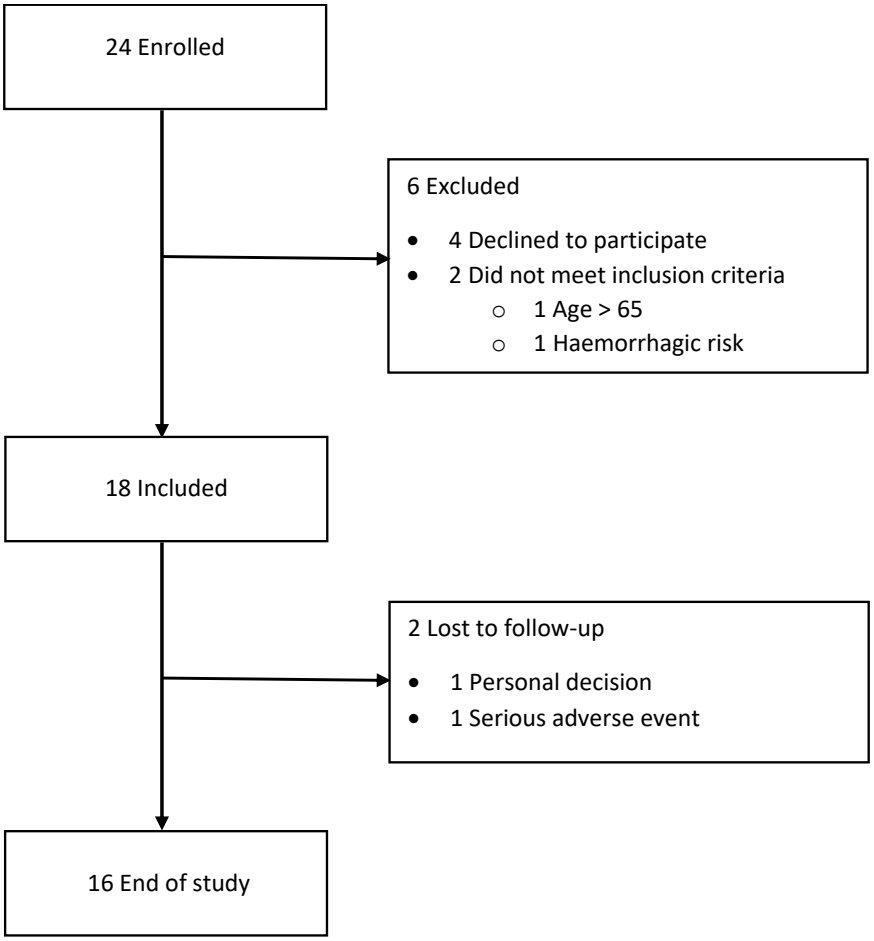


Figure 1. Enrollment flowchart.

Effect of clopidogrel on the plasma sCD40L level

The mean ± standard deviation sCD40L level was stable between W-4 (74.9 ± 35.2 ng/mL) and D0 (80.8 ± 70.7 ng/mL). After the initiation of clopidogrel, the sCD40L level decreased from 80.8 ng/mL at D0 to 60.3 ± 5.7 ng/mL at D1, 49.8 ± 2.8 ng/mL at D7, 45 ± 24.3 ng/mL at W4, 56.8 ± 29.2 ng/mL at W8, and 65.1 ± 39.4 ng/mL at W12. The change in the sCD40L level was estimated using a piecewise linear mixed-effects model, with a change in slope seen at D0, D7, and W12 (Figures 2A and 2B). Despite a sharp decrease in the sCD40L level soon after the initiation of clopidogrel, the changes in slope in the sCD40L level between D0 and D7 ($p = 0.093$) and between D7 and W12 ($p = 0.349$) were not statistically different. The difference in the sCD40L level between D0 and W12 was not statistically different ($p = 0.715$).

The effect of clopidogrel on platelet activation

The absolute number of platelets did not change during the treatment period. The mean platelet volume (MPV) decreased from 8.5 ± 1.0 fL at D0 to 8.3 ± 0.9 fL at W12, after which the MPV increased without treatment to 8.6 ± 1.0 fL at W16. Despite a negative slope of the curve (Figure 2E), the change in the MPV from D0 before W4 was not statistically significant ($p = 0.099$).

Platelet activation, assessed by the percentage of cells co-labelled with CD61+CD154+CD62+ (reflecting the expression of CD40L and P-selectin), was decreased by the use of clopidogrel (Figure 2C), while the percentage of resting platelets (CD154-CD62-) increased with clopidogrel (Figure 2D). In terms of the change in the percentage of CD61+CD154+CD62+ cells, the negative change in the slope between D0 and D1 was significant ($p = 0.002$). In terms of the change in the percentage of non-activated platelets (CD154-CD62-), there was an increase between D0 and D7 ($p < 0.0001$) and then a decrease after W12 ($p = 0.016$).

There was a significant correlation between the sCD40L level and CD154+CD62+ activated platelets (Figure 2F), with a correlation coefficient ρ of −0.63 at W12 ($p = 0.011$, 95% CI −0.86 to −0.17) and 0.49 at W16 ($p = 0.051$, 95% CI 0.00 to 0.79).

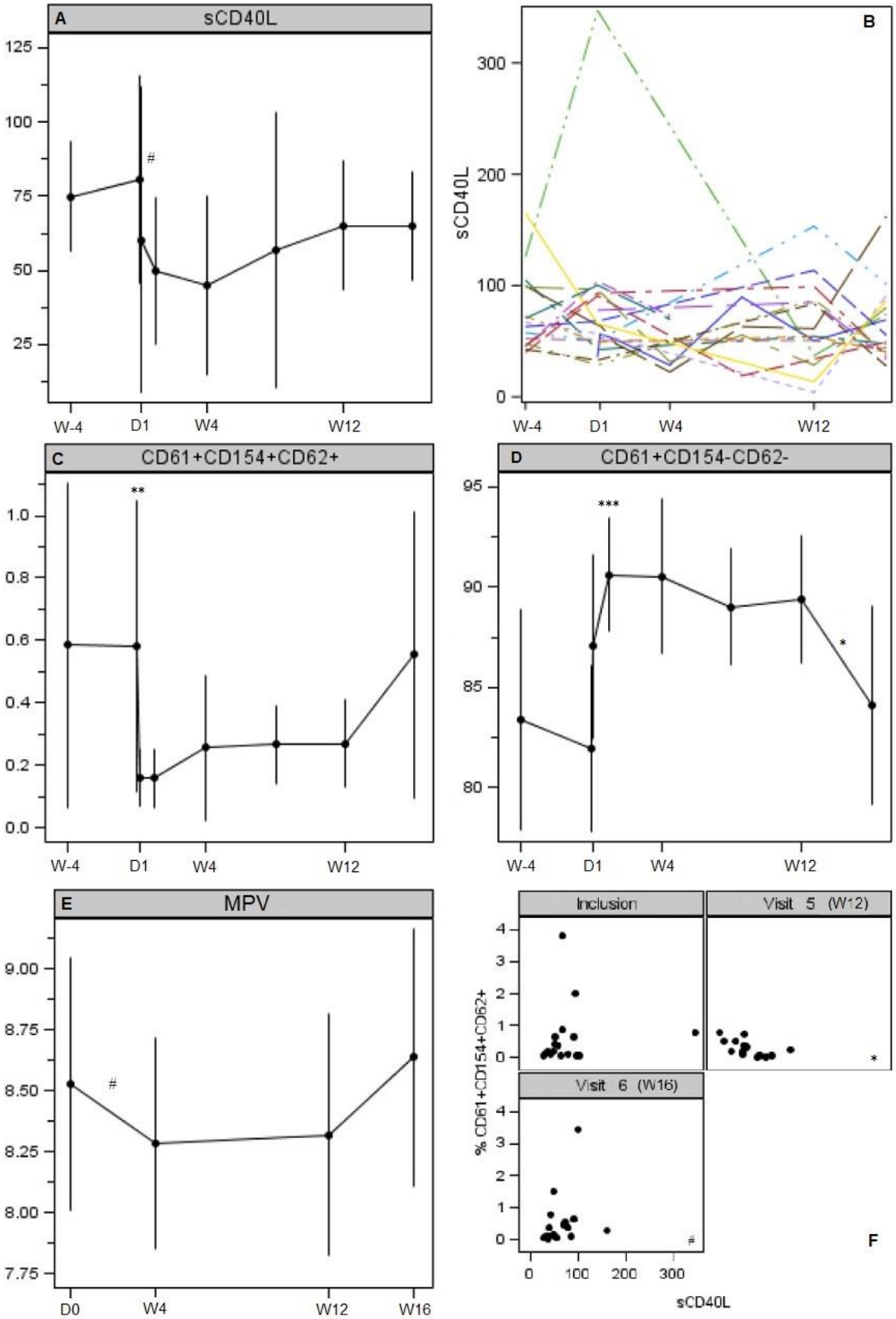

A
sCD40L
125
100
75
50
25
#
W-4
D1
W4
W12
B
sCD40L
300
200
100
0
W-4
D1
W4
W12
C
CD61+CD154+CD62+
**
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
W-4
D1
W4
W12
D
CD61+CD154-CD62-
***
95
90
85
80
*
W-4
D1
W4
W12
E
MPV
9.00
8.75
8.50
8.25
8.00
7.75
#
D0
W4
W12
W16
Inclusion
Visit 5 (W12)
Visit 6 (W16)
% CD61+CD154+CD62+
sCD40L
0
100
200
300
F

Figure 2. The levels of platelet activation biomarkers are influenced by clopidogrel [A] Mean sCD40L level (ng/mL). [B] Spaghetti plot of sCD40L in each patient (ng/mL). [C] Percentage of CD61+CD154+CD62+ cells according to flow cytometry. [D] Percentage of CD61+CD154-CD62- cells according to flow cytometry. [E] Mean platelet volume (fL). [F] Correlation between the sCD40L level (ng/mL) and percentage of CD61+CD154+CD62+ cells.

# $p < 0.1$, * $p < 0.025$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.0001$. Error bars represent 95% confidence intervals.

Safety

Eight haemorrhagic adverse events occurred in five patients, but only one was a severe grade 3 adverse event. Two patients discontinued the study because of adverse events rated as grade 1 and grade 3, respectively. All haemorrhagic adverse events healed without sequelae (Table 2). The infectious diseases that occurred during the study were bronchitis (n = 3), nasopharyngitis (n = 3), and sinusitis (n = 2), but no patient required antibiotics.

Patient number	Type of side effect	Day of occurrence	Drug responsibility	Severity	Impact on the study
3	Skin haemorrhage	13	No	Grade 1	Continuation
3	Haematoma	31	No	Grade 1	Continuation
7	Haematoma	2	Yes	Grade 1	Stop
13	Haematoma	25	Yes	Grade 1	Continuation
21	Ecchymosis	3	No	Grade 1	Continuation
21	Menorrhagia	22	Yes	Grade 3	Stop
22	Ecchymosis	9	Yes	Grade 1	Continuation
22	Subcutaneous haematoma	13	Yes	Grade 1	Continuation

Table 2. Haemorrhagic adverse events that occurred during the study

DISCUSSION

This pilot study shows that clopidogrel can reduce plasma sCD40L concentrations in SLE patients. sCD40L is detectable in almost all patients with SLE, and its concentration is correlated with disease activity (11). In addition to P-selectin expression or MPV, sCD40L is considered another biomarker of lupus activity (12). Our results may be useful for evaluating feasibility, sample size, and drug tolerance before starting a randomized clinical trial. Our primary endpoint was not statistically met, despite the curve showing a temporal relationship between the sCD40L level and clopidogrel exposure and significant correlations found between the sCD40L levels and platelet activation markers at W12. The duration of the assessment was determined according to the use of clopidogrel for coronary artery disease. The maximal inhibition of ADP-induced platelet aggregation is achieved 3–7 days after the start of clopidogrel at 75 mg/day (13); the level of sCD40L decreases considerably from 1 month after starting clopidogrel (14) and then increases significantly from 1 week after stopping clopidogrel (15).

The variability of interindividual on-treatment platelet reactivity has been well investigated among patients on clopidogrel, a prodrug activated by CYP2C1. The determinants of the high platelet reactivity phenotype are comprised of individual factors (such as high BMI, renal failure, and old age) and genetic factors (P2Y12 receptor polymorphisms and liver cytochrome genetic variants such as CYP2C19*2). The prevalence of high platelet reactivity in patients treated with clopidogrel ranges from 16% to 50% according to the platelet function test used (16). In contrast, the prevalence of clopidogrel non-responders ranges from 5% to 11% and that of semi-responders from 9% to 26% in patients with stable angina pectoris (17). In addition, variability is influenced by drug interactions. The CYP2C19-mediated interaction between omeprazole or esomeprazole and clopidogrel decreases exposure to the active metabolite. This interaction is not considered to be a class effect of the proton pump inhibitor, and a weaker effect is seen with pantoprazole or lansoprazole (18). We tried to minimize the risk of underdosing clopidogrel by using proton pump inhibitors with the weakest interactions.

Our study shows that the use of clopidogrel is safe and well-tolerated in SLE patients. Our rate of haemorrhagic adverse events of 27.8% is close to that (32.3%) reported after clopidogrel treatment by the Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System in cardiovascular diseases

(19). In contrast, we did not report any thromboembolic events described previously with anti-CD40L monoclonal antibodies (6–9). The mechanism of this complication is uncertain, but platelet aggregation is probably due to the interaction between the Fc domain of anti-CD40L and FcγRIIA expressed on the platelet surface (4,9). According to this hypothesis, the use of a non-antibody CD40L inhibitor appears to be safe.

A comparison between clopidogrel and other oral P2Y12 inhibitors can be investigated, based on cardiological practices. A recent meta-analysis on acute coronary syndrome revealed that ticagrelor, in addition to aspirin, reduced the risk of ischemic events without significantly increasing major bleeding, compared with clopidogrel (20). However, to the best of our knowledge, no study has evaluated ticagrelor in SLE patients or murine models. In addition, ticagrelor is more expensive than clopidogrel, which constitutes an economic constraint on its development. Aspirin is not an alternative because it does not inhibit platelet CD40L expression (21).

The main limitation of our study is the sample size. We did not succeed in recruiting the 30 subjects we had initially planned to achieve a statistical power of 80%. A major difficulty was the exclusion of patients with active lupus during the 3 months before the start of the trial. This decision was essential to assess the specific effect of clopidogrel. On the one hand, sCD40L levels remain higher in patients with quiescent SLE than in controls (11, 22); on the other hand, the impact of immunosuppressive therapy prescribed for any recent flare-up activity on the sCD40L level is unknown and could, therefore, represent a confounding factor. The single-arm design of our study is another limitation; however, this is expected for a pilot phase I/II study that aimed to reproduce the results obtained in mice in humans (5).

Clopidogrel may have significant impacts on sCD40L levels, platelet CD40L and P-selectin expression and MPV, indicating that this drug decreases platelet activation. The haemorrhagic adverse events of clopidogrel in patients with SLE are similar to those described in patients with cardiovascular disease. The tolerance is acceptable. Our pilot study is encouraging for further evaluation because clopidogrel has clinical value as a treatment for SLE and thus could be an interesting add-on strategy.

ACKNOWLEDGEMENTS

This project is sponsored by the University Hospital of Bordeaux and funded by the French Ministry of Health (GIRCI SOOM, 2013 PHRC-I). The English in this document has been checked by at least two professional editors, both native speakers of English. The authors declare no conflicts of interest.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Inclusion criteria	- Age 18–65 years - Diagnosis of SLE based on fulfilment of 4 or more of the 11 revised criteria of the American College of Rheumatology - Health insurance coverage - Provision of informed consent (after the day of inclusion and before any examinations required for research)
Exclusion criteria	- More than 20 mg/day prednisone equivalent for more than 7 days during the 30 days before pre-inclusion - Disease flare at 3 months before inclusion, defined by an increase in the SLEDAI score of at least 3 points, a change in the immunosuppressive treatment, or an increase in the steroid dose - Current treatment with, or previous treatment with, steroids pulses or intravenous immunoglobulins within 3 months before pre-inclusion - Previous treatment with cyclophosphamide within 3 months before pre-inclusion - Previous treatment with biotherapy within 6 months before pre-inclusion - Previous treatment with B-cell-depleting therapy within 12 months before pre-inclusion - Renal involvement that could require a kidney biopsy - Requirement for surgery within the next 12 weeks - Contraindication to clopidogrel (defined by the product summary characteristics) - History of cancer, except for healed basal cell carcinoma - History of severe haemorrhage - Disease increasing the risk of haemorrhage - Associated antiphospholipid syndrome - Pregnant or breastfeeding women - No contraception use in women of childbearing age - Severe hypertension - Current treatment with statin, non-steroidal anti-inflammatory, antiplatelet, and anticoagulant drugs - Under guardianship - Participation in other biomedical research with an exclusion period at the screening visit

Supplementary Table 1: Extended inclusion/exclusion criteria.

Secondary outcomes	- Plasma sCD40L concentrations measured at 1 month before inclusion and at 24 hours, 7 days, 4 weeks, 8 weeks, and 16 weeks after inclusion - Levels of platelet activation markers (CD40L and CD62p) measured by flow cytometry - Platelet/circulating mononuclear cell aggregates measured by flow cytometry - T lymphocyte activation (HLA-DR) measured by flow cytometry - Levels of inflammation markers (C-reactive protein, erythrocyte sediment rate), auto-antibody levels (antinuclear antibodies, anti-double-stranded DNA antibodies), and complement fractions (C3, C4, CH50) - Expression of IFN-inducible genes measured by RT-PCR in circulating monocytes - Rate of haemorrhagic side effects during follow up
Flow cytometry detailed protocol	**Platelet CD40L/CD154 and CD62/P-selectin** Plasma rich platelets (PRP) were prepared by centrifugation of 1 mL whole blood in an acid citrate dextrose (ACD) tube at room temperature (1000 rpm for 20 minutes, then 2000 rpm for 10 minutes). After removal of the supernatant, the platelet pellet was resuspended in 2 mL PBS. The PRP panel was prepared in FACS tubes with a vortexed mixture of antibodies: CD154-FITC (10 µL), CD61-PC7 (3 µL), and CD62P-PE (3µL). The PRP preparation (10 µL) was incubated in the dark for 15 minutes. PBS (2 mL) was added to the PRP preparation and then centrifuged at room temperature at 1500 rpm for 5 minutes, and the supernatant was removed. The cellular pellet was resuspended in 200 µL PBS. Data acquisition was performed using the cytometer NAVIOS® (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). **Platelet/circulating mononuclear cell aggregates** Whole blood drawn (200 µL) in ACD tubes was incubated in the dark at room temperature for 15 minutes with the following antibodies: CD154-FITC (10 µL), CD61-PC7 (3 µL), CD62P-PE (3 µL), and CD3-AF750 (3 µL). After incubation, the red blood cells were lysed using 2 mL Beckman 1X lysis solution. Data analysis was performed using the cytometer NAVIOS® (Beckman Coulter). **T lymphocyte activation** Whole blood (100 µL) was added to 10 µL of the monoclonal anti-HLA-DR-PC7 antibody and to a 10 µL mixture of the tetrachrome monoclonal anti-CD45-FITC, anti-CD3-PC5, anti-CD4-PE, and anti-CD8-ECD antibodies The incubation and the distribution of the lysis were carried out using the TQ-prep workstation. Flow-Count bead solution (100 µL) was added. No washing was necessary. Data analysis was performed by the cytometer CYTOMICS FC 500® (Beckman Coulter).

Supplementary Table 2: Extended secondary outcomes and flow cytometry protocol

REFERENCES

1. Di Battista M, Marcucci E, Elefante E, Tripoli A, Governato G, Zucchi D, et al. One year in review 2018: systemic lupus erythematosus. Clin Exp Rheumatol. oct 2018;36(5):763-77.

2. Carreira PL, Isenberg DA. Recent developments in biologic therapies for the treatment of patients with systemic lupus erythematosus. Rheumatology (Oxford). 01 2019;58(3):382-7.

3. Viallard J-F, Solanilla A, Gauthier B, Contin C, Déchanet J, Grosset C, et al. Increased soluble and platelet-associated CD40 ligand in essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. Blood. 1 avr 2002;99(7):2612-4.

4. Linge P, Fortin PR, Lood C, Bengtsson AA, Boilard E. The non-haemostatic role of platelets in systemic lupus erythematosus. Nat Rev Rheumatol. 21 2018;14(4):195-213.

5. Duffau P, Seneschal J, Nicco C, Richez C, Lazaro E, Douchet I, et al. Platelet CD154 potentiates interferon-alpha secretion by plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. Sci Transl Med. 1 sept 2010;2(47):47ra63.

6. Boumpas DT, Furie R, Manzi S, Illei GG, Wallace DJ, Balow JE, et al. A short course of BG9588 (anti-CD40 ligand antibody) improves serologic activity and decreases hematuria in patients with proliferative lupus glomerulonephritis. Arthritis Rheum. mars 2003;48(3):719-27.

7. Huang W, Sinha J, Newman J, Reddy B, Budhai L, Furie R, et al. The effect of anti-CD40 ligand antibody on B cells in human systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. juin 2002;46(6):1554-62.

8. Kalunian KC, Davis JC, Merrill JT, Totoritis MC, Wofsy D, IDEC-131 Lupus Study Group. Treatment of systemic lupus erythematosus by inhibition of T cell costimulation with anti-CD154: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Arthritis Rheum. déc 2002;46(12):3251-8.

9. Law C-L, Grewal IS. Therapeutic interventions targeting CD40L (CD154) and CD40: the opportunities and challenges. Adv Exp Med Biol. 2009;647:8-36.

10. Furie R, Bruce IN, Dörner T, Leon MG, Leszczynski P, Urowitz MB, et al. FRI0195 EFFICACY AND SAFETY OF DAPIROLIZUMAB PEGOL (DZP) IN PATIENTS WITH MODERATELY TO SEVERELY ACTIVE SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS (SLE): A RANDOMISED, PLACEBO (PBO)-CONTROLLED STUDY. Ann Rheum Dis. 1 juin 2019;78(Suppl 2):775.

11. Vakkalanka RK, Woo C, Kirou KA, Koshy M, Berger D, Crow MK. Elevated levels and functional capacity of soluble CD40 ligand in systemic lupus erythematosus sera. Arthritis Rheum. mai 1999;42(5):871-81.

12. Scherlinger M, Sisirak V, Richez C, Lazaro E, Duffau P, Blanco P. New Insights on Platelets and Platelet-Derived Microparticles in Systemic Lupus Erythematosus. Curr Rheumatol Rep. août 2017;19(8):48.

13. Steinhubl S, Roe MT. Optimizing platelet P2Y12 inhibition for patients undergoing PCI. Cardiovasc Drug Rev. 2007;25(2):188-203.

14. Lowenstern A, Storey RF, Neely M, Sun J-L, Angiolillo DJ, Cannon CP, et al. Platelet-related biomarkers and their response to inhibition with aspirin and p2y12-receptor antagonists in patients with acute coronary syndrome. J Thromb Thrombolysis. août 2017;44(2):145-53.

15. Wykrzykowska JJ, Warnholtz A, de Jaeger P, Curzen N, Oldroyd KG, Collet JP, et al. Effect of clopidogrel discontinuation at 1 year after drug eluting stent placement on soluble CD40L, P-selectin and C-reactive protein levels: DECADES (Discontinuation Effect of Clopidogrel After Drug Eluting Stent): a multicenter, open-label study. J Thromb Thrombolysis. nov 2009;28(4):410-7.

16. Fontana P, Roffi M, Reny J-L. Platelet Function Test Use for Patients with Coronary Artery Disease in the Early 2020s. J Clin Med. 10 janv 2020;9(1).

17. Müller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schönig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. Thromb Haemost. mai 2003;89(5):783-7.

18. Wedemeyer R-S, Blume H. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors: an update. Drug Saf. avr 2014;37(4):201-11.

19. Serebruany VL, Hall TS, Atar D, Agewall S, Hyun Kim M, Geudelin B, et al. Mortality and adverse events with brand and generic clopidogrel in the US Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System. Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 1 oct 2019;5(4):210-5.

20. Ma S, Li Z, Yu P, Song H, Jiang Z, Li Y, et al. Efficacy and Safety of Potent Oral P2Y12 Inhibitors in Medically Managed ACS Patients: a Meta-analysis. Cardiovasc Drugs Ther. 1 févr 2020;

21. Hermann A, Rauch BH, Braun M, Schrör K, Weber AA. Platelet CD40 ligand (CD40L)--subcellular localization, regulation of expression, and inhibition by clopidogrel. Platelets. mars 2001;12(2):74-82.

22. Kato K, Santana-Sahagún E, Rassenti LZ, Weisman MH, Tamura N, Kobayashi S, et al. The soluble CD40 ligand sCD154 in systemic lupus erythematosus. J Clin Invest. oct 1999;104(7):947-55.

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

L'étude CLOPUS a évalué pour la première fois l'intérêt et la tolérance du clopidogrel chez des patients atteints de LES quiescents, cherchant à transposer chez l'homme les résultats prometteurs du clopidogrel constatés chez la souris lupique(18). Après une semaine de traitement par clopidogrel, il a été observé une diminution des concentrations plasmatiques de sCD40L à la limite de la significativité statistique ($p = 0.093$). Le clopidogrel a diminué d'autres marqueurs d'activation plaquettaire comme l'expression plaquettaire de CD40L et de P-selectine (de manière significative) ou le VPM (à la limite de la significativité), suggérant l'efficacité du clopidogrel pour diminuer l'activation plaquettaire, pivot de la physiopathologie du LES(70). Le profil de tolérance, évalué par la collecte des effets indésirables liés au traitement, est rassurant. Il n'a été retrouvé aucun décès durant l'étude et seulement 5 patients sur 18 (27.8%) ont eu des effets indésirables hémorragiques, ce taux étant proche de celui de 32.3% récemment rapporté dans l'utilisation du clopidogrel dans les pathologies cardiovasculaires(284).

L'activité biologique du sCD40L est connue depuis les années 1990, notamment sa capacité à promouvoir la prolifération et différentiation du lymphocyte B(285). Il a été décrit que les formes monomériques, dimériques et trimériques de sCD40L sont toutes capables de lier le CD40 avec une haute affinité. Il existe cependant une hiérarchisation fonctionnelle dans la capacité de prolifération et différenciation lymphocytaire B selon le degré d'oligomérisation du sCD40L : le sCD40L trimérique induit une réponse B plus importante que sa forme dimérique, elle-même induisant une réponse B plus importante que sa forme monomérique(286). La conformation homotrimérique du sCD40L est la seule à pouvoir stimuler le CD40 d'une manière comparable au CD40L membranaire(286,287). Il a été montré que le clivage de CD40L membranaire humain était capable de relarguer du sCD40L sous cette conformation trimérique bioactive(288). Les plaquettes activées étant un réservoir majeur à la fois de sCD40L et de CD40L membranaire (directement ou via leurs MPs), il a été soulevé plusieurs questions concernant les différences de bioactivité entre les formes solubles et membranaires de CD40L(289). Des données *in vitro* ont notamment avancé que le sCD40L avait une capacité moindre que le CD40L membranaire plaquettaire à activer la cellule endothéliale sur un mode pro-inflammatoire(290). Le débat reste ouvert même si plusieurs données cliniques appuient le rôle de biomarqueur du sCD40L en montrant son augmentation parallèle à celle du CD40L plaquettaire dans le SCA(291) ou sa corrélation avec les autres marqueurs d'activation plaquettaires dans l'athérosclérose avancée(292). Les travaux originaux de Kato suggèrent également que le sCD40L est un ligand fonctionnel dans le LES, plus élevé chez les patients que chez les témoins, et corrélé à l'activité clinique de la maladie et au titre d'anticorps anti-ADN(156). À ces distinctions théoriques s'opposent par ailleurs des limitations pratiques puisque

la détection par ELISA de sCD40L détecte également le CD40L des MPs circulantes sans pouvoir les différencier(293).

La résistance au clopidogrel, sous réserve d'une définition non-consensuelle en l'absence de méthode de mesure standardisée, concerne jusqu'à un patient sur cinq selon une méta-analyse dans la coronaroplastie percutanée(294). La mauvaise réponse plaquettaire au clopidogrel *ex vivo* semble avoir des conséquences cliniques préjudiciables comme la thrombose de stent post-coronarographie(295). Les données scientifiques divergent d'autant que les tests fonctionnels plaquettaires sont multiples et doivent être interprétés en tenant compte de facteurs individuels (âge, indice de masse corporelle, diabète, fonction ventriculaire gauche, inflammation biologique) qui sont autant de facteurs de confusion(294,296). Même s'il n'existe pas de preuve suffisante validant les tests fonctionnels plaquettaires en routine pour ajuster le traitement anti-agrégant(295), un récent consensus international retient l'intérêt des tests fonctionnels ou génétiques pour guider les décisions thérapeutiques dans des situations cliniques bien particulières(297). Les mécanismes modulant la réponse au clopidogrel sont incomplètement élucidés, ils impliquent la biodisponibilité du métabolite actif et la réponse de la plaquette. Les principaux facteurs affectant la réponse plaquettaire au clopidogrel sont la dose administrée, l'inflammation, la fonction rénale, l'âge, l'indice de masse corporelle, le diabète, le tabagisme, l'absorption digestive, la conversion hépatique par les cytochromes P450 (dépendant d'interactions médicamenteuses ou de polymorphismes), la capacité de ligation des récepteurs plaquettaires (dépendant du nombre de récepteurs $P2Y_{12}$ ou des polymorphismes)(297,298). Au vu de la variabilité interindividuelle de réponse au clopidogrel, l'étude des polymorphismes pourrait être une approche séduisante pour prédire des profils génétiques « répondeurs » ou « non-répondeurs ».

Concernant les variants de cytochromes P450, il a été rapporté des variations alléliques du CYP3A, CYP2C19, et CYP2C9 associées à une réponse diminuée (CYP3A 4*1B, 4*3, 4*4, 5*3 ; CYP2C19 *2, *4 ; CYP2C9 *2, *3), normale (CYP3A 5*1 ; CYP2C19 *1 ; CYP2C9 *1), ou augmentée (CYP2C19 *17) au clopidogrel. Plusieurs études suggèrent que le portage de variants alléliques perte de fonction de CYP2C19 est associé à une moindre production de métabolite actif, une moindre réponse plaquettaire au traitement, et un surrisque d'événements cardiovasculaires. Cependant, au vu des nombreux autres facteurs en jeu, la part d'implication des variants alléliques dans la variabilité de réponse au clopidogrel, et *a fortiori* les conséquences cliniques qui en découlent, reste à déterminer(299).

Dans le cadre de l'étude CLOPUS, il paraît intéressant de s'interroger sur les facteurs génétiques propres à l'axe CD40/CD40L qui pourraient influencer la réponse au clopidogrel. Des études génétiques ont identifié des corrélations entre le risque d'athérosclérose et certains polymorphismes nucléotidiques (SNPs) dans le gène CD40, en particulier le SNP -1T>C (rs1883832). L'homozygotie pour l'allèle C de ce SNP est associée à une surexpression de CD40 (par les cellules endothéliales, lymphocytes B et

monocytes), à un phénotype endothélial pro-inflammatoire (adhésion monocytaire renforcée, réponse au sCD40L dans l'expression des gènes pro-inflammatoires accrue) et à un surrisque d'événements cardiovasculaires(123,300). Une récente métanalyse montre que les polymorphismes rs4810495, rs1883832 et rs376545 du CD40 sont associés à une susceptibilité lupique et que les patients lupiques ont des taux plus élevés de sCD40L et sCD40 que les témoins(301). Les polymorphismes du gène CD40L ont également été étudiés dans le LES. Il a été montré que l'allèle C du SNP rs1126535 T/C était associé au risque de LES, à l'augmentation du sCD40L et à l'activité de la maladie(302). Il n'a pas été identifié à ce jour de signature génétique CD40 ou CD40L prédisant l'efficacité des traitements ciblant cet axe. Cette carence bibliographique pourrait faire l'objet d'analyses génétiques exploratoires dans une future étude ayant pour but de confirmer nos résultats sur l'intérêt du clopidogrel dans le LES.

La principale limite de l'étude pilote CLOPUS est son faible effectif de patients sur lequel ses résultats reposent. La difficulté à inclure n'a pas permis d'atteindre le nombre de sujets nécessaires pour atteindre la puissance statistique souhaitée. Cette étude ne semble pas suffisante pour justifier d'emblée un essai clinique randomisé de phase III. En revanche, en qu'étude pilote, l'étude CLOPUS apporte des données de faisabilité méthodologique en termes de taille d'échantillon à inclure, cinétique de variation des critères biologiques de jugement ou encore tolérance. Une étude comparative à deux bras contre placebo de plus grande ampleur pourrait avoir la puissance nécessaire pour démontrer de manière plus robuste l'impact du clopidogrel en *add-on therapy* sur la diminution de sCD40L dans le LES. En plus d'évaluer la diminution de cette cytokine corrélée à l'activité du LES, une telle étude pourrait s'intéresser à d'autres bénéfices potentiels du clopidogrel dans le LES.

Selon son AMM, le clopidogrel est un médicament prescrit en premier lieu pour son bénéfice cardiovasculaire. Cet aspect qui n'a pas été investigué par l'étude pilote CLOPUS revêt pourtant une importance majeure dans le LES, maladie dans laquelle il a été montré un surrisque cardiovasculaire spécifique après ajustement sur les facteurs de risques cardiovasculaires traditionnels(36,303). La prise en charge du risque cardiovasculaire et de l'athérosclérose accélérée dans le LES, encore au second plan de la scène il y a quelques années, a été repositionnée dans les 10 défis contemporains de la prise en charge du LES par le centre de référence français des maladies auto-immunes systémiques rares(304). Il n'existe pas d'outils spécifiquement adapté à l'évaluation du surrisque athéromateux dans le LES, une méta-analyse récente montre cependant que l'athérosclérose infraclinique peut être évaluée chez les sujets lupiques en se basant sur l'épaisseur carotidienne intima-média, la présence de plaques carotidiennes et la réduction de la dilatation induite par le flux(305), autant de paramètres qui pourraient faire l'objet de critères de jugement dans des études ultérieures dans le LES. La progression accélérée des plaques d'athérome dans le LES a été récemment évaluée en Europe sur 3 ans de suivi. Elle semble se faire même à de bas niveaux d'activité lupique et dépend surtout de la durée de la maladie et de la

dose cumulée de corticoïdes reçue, la présence d'APL et les facteurs de risques cardiovasculaires traditionnels étant des facteurs de progression indépendants(306). Ces données suggèrent l'intérêt de la prévention systématique de l'athérosclérose dans le LES, y compris chez les patients contrôlés. Plusieurs stratégies de prévention primaire ou secondaire des événements cardiovasculaires dans le LES ont récemment fait l'objet d'une revue systématique parmi lesquelles les règles hygiéno-diététiques, les hypolipémiants, les antihypertenseurs, les APS ou les antiplaquettaires. Les résultats sur ces derniers reposent essentiellement sur l'aspirine et semblent montrer un bénéfice pour prévenir les événements thrombotiques chez les patients lupiques(307). Les recommandations pour la pratique clinique françaises de 2015 ne valident la prévention primaire par aspirine que dans le risque cardiovasculaire élevé ou en présence d'APL(308). La réduction du niveau d'expression plaquettaire de $P2Y_{12}R$ dans le LES est supposé être un mécanisme protecteur contre les complications thrombotiques, l'influence de la diminution du nombre de récepteurs sur l'efficacité du clopidogrel n'est en revanche pas connue(192). Alors qu'il a été récemment montré une discrète supériorité des antagonistes de $P2Y_{12}R$ sur l'aspirine en prévention secondaire de l'infarctus du myocarde sans surrisque hémorragique(309), le bénéfice cardiovasculaire du clopidogrel n'a jamais été comparé à celui de l'aspirine chez des patients porteurs de LES à ce jour.

Les taux d'APL tendent à fluctuer chez les patients ayant un LES, on estime qu'environ 30 à 40% des patients ont des APL au cours du suivi. La présence d'APL au diagnostic a été associée à un risque de thrombose veineuse de 42% dans les 20 ans. Cette association à haut risque thrombotique impose un traitement prophylactique et de multiples candidats ont été évalués comme l'aspirine, l'hydroxychloroquine, les statines ou encore la vitamine D(310). Contrairement à l'aspirine, il n'existe pas de recommandation internationale sur le positionnement du clopidogrel en prévention primaire ou secondaire dans la positivité biologique aux APL associée ou non au LES. L'étude CLOPUS ne répond pas à cette question puisque le SAPL était un critère protocolaire d'exclusion et que seul un patient était porteur d'un anticardiolipine biologique. Les recommandations de 2019 de l'EULAR proposent une prévention primaire par aspirine des cas d'APL associés au LES et une prévention secondaire d'événement artériel par un antivitamine K (AVK) avec des cibles variables selon l'association ou non à l'aspirine. Dans les formes artérielles récidivantes, le switch des AVK pour une héparine ou l'ajout d'aspirine sont proposés. L'ajout de statines ou d'APS peut aussi être considéré, en revanche il n'existe aucun positionnement clair du clopidogrel(311). Le débat sur le positionnement du clopidogrel comme antiagrégant plaquettaire dans le SAPL reste cependant ouvert comme l'illustre le consensus pluridisciplinaire hollandais de 2019, privilégiant l'utilisation des AVK ou du clopidogrel en cas de premier événement artériel dans le SAPL(312).

En conclusion, l'étude CLOPUS apporte des résultats montrant la capacité du clopidogrel à inhiber l'activation plaquettaire, voie physiopathologique majeure dans le LES, avec une tolérance et une sécurité d'emploi tout à fait acceptables chez les patients lupiques. Les résultats de cette étude pilote menée sur une petite série de patients ayant une maladie non-active ont vocation à être confirmés dans une étude de plus grande ampleur contre placebo. Le clopidogrel en inhibant la plaquette et la voie du CD40/CD40L possède une double activité anti-inflammatoire et antithrombotique. Il semblerait légitime pour les prochaines évaluations du clopidogrel dans le LES de s'intéresser à ces deux aspects qui constituent des intérêts majeurs dans le traitement du LES aujourd'hui.

BIBLIOGRAPHIE

1. Lewis MJ, Jawad AS. The effect of ethnicity and genetic ancestry on the epidemiology, clinical features and outcome of systemic lupus erythematosus. Rheumatology (Oxford). 01 2017;56(suppl_1):i67-77.

2. 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. nov 2014;13(11):1082-9.

3. Deapen D, Escalante A, Weinrib L, Horwitz D, Bachman B, Roy-Burman P, et al. A revised estimate of twin concordance in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. mars 1992;35(3):311-8.

4. Gatto M, Zen M, Ghirardello A, Bettio S, Bassi N, Iaccarino L, et al. Emerging and critical issues in the pathogenesis of lupus. Autoimmun Rev. févr 2013;12(4):523-36.

5. Delgado-Vega A, Sánchez E, Löfgren S, Castillejo-López C, Alarcón-Riquelme ME. Recent findings on genetics of systemic autoimmune diseases. Curr Opin Immunol. déc 2010;22(6):698-705.

6. International MHC and Autoimmunity Genetics Network, Rioux JD, Goyette P, Vyse TJ, Hammarström L, Fernando MMA, et al. Mapping of multiple susceptibility variants within the MHC region for 7 immune-mediated diseases. Proc Natl Acad Sci USA. 3 nov 2009;106(44):18680-5.

7. Ghodke-Puranik Y, Niewold TB. Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: A comprehensive review. J Autoimmun. nov 2015;64:125-36.

8. Ramírez Sepúlveda JI, Bolin K, Mofors J, Leonard D, Svenungsson E, Jönsen A, et al. Sex differences in clinical presentation of systemic lupus erythematosus. Biol Sex Differ. 16 2019;10(1):60.

9. Murphy G, Isenberg D. Effect of gender on clinical presentation in systemic lupus erythematosus. Rheumatology (Oxford). déc 2013;52(12):2108-15.

10. Qiu CC, Caricchio R, Gallucci S. Triggers of Autoimmunity: The Role of Bacterial Infections in the Extracellular Exposure of Lupus Nuclear Autoantigens. Front Immunol. 2019;10:2608.

11. James JA, Neas BR, Moser KL, Hall T, Bruner GR, Sestak AL, et al. Systemic lupus erythematosus in adults is associated with previous Epstein-Barr virus exposure. Arthritis Rheum. mai 2001;44(5):1122-6.

12. Illescas-Montes R, Corona-Castro CC, Melguizo-Rodríguez L, Ruiz C, Costela-Ruiz VJ. Infectious processes and systemic lupus erythematosus. Immunology. 2019;158(3):153-60.

13. Wolf SJ, Estadt SN, Gudjonsson JE, Kahlenberg JM. Human and Murine Evidence for Mechanisms Driving Autoimmune Photosensitivity. Front Immunol. 2018;9:2430.

14. Parisis D, Bernier C, Chasset F, Arnaud L. Impact of tobacco smoking upon disease risk, activity and therapeutic response in systemic lupus erythematosus: A systematic review and meta-analysis. Autoimmun Rev. nov 2019;18(11):102393.

15. Gergianaki I, Bortoluzzi A, Bertsias G. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic lupus erythematosus. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2018;32(2):188-205.

16. La Paglia GMC, Leone MC, Lepri G, Vagelli R, Valentini E, Alunno A, et al. One year in review 2017: systemic lupus erythematosus. Clin Exp Rheumatol. août 2017;35(4):551-61.

17. Tsokos GC, Lo MS, Costa Reis P, Sullivan KE. New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus. Nat Rev Rheumatol. 22 2016;12(12):716-30.

18. Duffau P, Seneschal J, Nicco C, Richez C, Lazaro E, Douchet I, et al. Platelet CD154 potentiates interferon-alpha secretion by plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. Sci Transl Med. 1 sept 2010;2(47):47ra63.

19. Rönnblom L. The type I interferon system in the etiopathogenesis of autoimmune diseases. Ups J Med Sci. nov 2011;116(4):227-37.

20. Contin-Bordes C, Lazaro E, Pellegrin J-L, Viallard J-F, Moreau J-F, Blanco P. [Systemic lupus erythematosus: from pathophysiology to treatment]. Rev Med Interne. déc 2009;30(12 Suppl):H9-13.

21. Zucchi D, Elefante E, Calabresi E, Signorini V, Bortoluzzi A, Tani C. One year in review 2019: systemic lupus erythematosus. Clin Exp Rheumatol. oct 2019;37(5):715-22.

22. Rose T, Dörner T. Drivers of the immunopathogenesis in systemic lupus erythematosus. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2017;31(3):321-33.

23. Blanco P, Pellegrin J-L, Moreau J-F, Viallard J-F. [Pathophysiology of systemic lupus erythematosus]. Presse Med. mai 2007;36(5 Pt 2):825-34.

24. Fanouriakis A, Kostopoulou M, Alunno A, Aringer M, Bajema I, Boletis JN, et al. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis. 2019;78(6):736-45.

25. Durcan L, O'Dwyer T, Petri M. Management strategies and future directions for systemic lupus erythematosus in adults. Lancet. 8 juin 2019;393(10188):2332-43.

26. Lazaro E, Scherlinger M, Truchetet M-E, Chiche L, Schaeverbeke T, Blanco P, et al. Biotherapies in systemic lupus erythematosus: New targets. Joint Bone Spine. mai 2017;84(3):267-74.

27. Murphy G, Isenberg DA. New therapies for systemic lupus erythematosus - past imperfect, future tense. Nat Rev Rheumatol. juill 2019;15(7):403-12.

28. Samotij D, Reich A. Biologics in the Treatment of Lupus Erythematosus: A Critical Literature Review. Biomed Res Int. 2019;2019:8142368.

29. Carreira PL, Isenberg DA. Recent developments in biologic therapies for the treatment of patients with systemic lupus erythematosus. Rheumatology (Oxford). 01 2019;58(3):382-7.

30. Magro R. Biological therapies and their clinical impact in the treatment of systemic lupus erythematosus. Ther Adv Musculoskelet Dis [Internet]. 20 sept 2019 [cité 25 mars 2020];11. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6755633/

31. Navarra SV, Guzmán RM, Gallacher AE, Hall S, Levy RA, Jimenez RE, et al. Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. Lancet. 26 févr 2011;377(9767):721-31.

32. Furie R, Petri M, Zamani O, Cervera R, Wallace DJ, Tegzová D, et al. A phase III, randomized, placebo-controlled study of belimumab, a monoclonal antibody that inhibits B lymphocyte stimulator, in patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. déc 2011;63(12):3918-30.

33. Scherlinger M, Carcaud C, Truchetet M-E, Barnetche T, Duffau P, Couzi L, et al. Rituximab in moderate to severe non-renal systemic lupus erythematosus: a reanalysis of the EXPLORER study. Ann Rheum Dis. 2019;78(7):1007-10.

34. Merrill JT, Neuwelt CM, Wallace DJ, Shanahan JC, Latinis KM, Oates JC, et al. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: the randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial. Arthritis Rheum. janv 2010;62(1):222-33.

35. Urowitz MB, Bookman AA, Koehler BE, Gordon DA, Smythe HA, Ogryzlo MA. The bimodal mortality pattern of systemic lupus erythematosus. Am J Med. févr 1976;60(2):221-5.

36. Soubrier M, Mathieu S, Dubost J-J. Atheroma and systemic lupus erythematosus. Joint Bone Spine. déc 2007;74(6):566-70.

37. Tektonidou MG, Lewandowski LB, Hu J, Dasgupta A, Ward MM. Survival in adults and children with systemic lupus erythematosus: a systematic review and Bayesian meta-analysis of studies from 1950 to 2016. Ann Rheum Dis. 2017;76(12):2009-16.

38. Ruiz-Irastorza G, Danza A, Khamashta M. Glucocorticoid use and abuse in SLE. Rheumatology (Oxford). juill 2012;51(7):1145-53.

39. Ruiz-Arruza I, Ugarte A, Cabezas-Rodriguez I, Medina J-A, Moran M-A, Ruiz-Irastorza G. Glucocorticoids and irreversible damage in patients with systemic lupus erythematosus. Rheumatology (Oxford). août 2014;53(8):1470-6.

40. Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. J Rheumatol. févr 2002;29(2):288-91.

41. Franklyn K, Lau CS, Navarra SV, Louthrenoo W, Lateef A, Hamijoyo L, et al. Definition and initial validation of a Lupus Low Disease Activity State (LLDAS). Ann Rheum Dis. sept 2016;75(9):1615-21.

42. Thomas MR, Storey RF. The role of platelets in inflammation. Thromb Haemost. 31 août 2015;114(3):449-58.

43. Vainchenker W, Besancenot R, Favale F. [Megakaryopoiesis: regulation of platelet production by thrombopoietin]. Bull Acad Natl Med. févr 2013;197(2):395-406.

44. Kaushansky K. Thrombopoiesis. Semin Hematol. janv 2015;52(1):4-11.

45. George JN. Platelets. Lancet. 29 avr 2000;355(9214):1531-9.

46. Heijnen H, van der Sluijs P. Platelet secretory behaviour: as diverse as the granules … or not? J Thromb Haemost. déc 2015;13(12):2141-51.

47. Chen CH, Lo RW, Urban D, Pluthero FG, Kahr WHA. α-granule biogenesis: from disease to discovery. Platelets. mars 2017;28(2):147-54.

48. Henn V, Slupsky JR, Gräfe M, Anagnostopoulos I, Förster R, Müller-Berghaus G, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. Nature. 5 févr 1998;391(6667):591-4.

49. Nagasawa M, Zhu Y, Isoda T, Tomizawa D, Itoh S, Kajiwara M, et al. Analysis of serum soluble CD40 ligand (sCD40L) in the patients undergoing allogeneic stem cell transplantation: platelet is a major source of serum sCD40L. Eur J Haematol. janv 2005;74(1):54-60.

50. André P, Nannizzi-Alaimo L, Prasad SK, Phillips DR. Platelet-derived CD40L: the switch-hitting player of cardiovascular disease. Circulation. 20 août 2002;106(8):896-9.

51. Lievens D, Eijgelaar WJ, Biessen EAL, Daemen MJAP, Lutgens E. The multi-functionality of CD40L and its receptor CD40 in atherosclerosis. Thromb Haemost. août 2009;102(2):206-14.

52. André P, Prasad KSS, Denis CV, He M, Papalia JM, Hynes RO, et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin--dependent mechanism. Nat Med. mars 2002;8(3):247-52.

53. Prasad KSS, Andre P, Yan Y, Phillips DR. The platelet CD40L/GP IIb-IIIa axis in atherothrombotic disease. Curr Opin Hematol. sept 2003;10(5):356-61.

54. Andrews RK, Berndt MC. Platelet physiology and thrombosis. Thromb Res. 2004;114(5-6):447-53.

55. Gachet C. [Molecular mechanisms of platelet activation]. Bull Acad Natl Med. févr 2013;197(2):361-73.

56. Semple JW, Italiano JE, Freedman J. Platelets and the immune continuum. Nat Rev Immunol. avr 2011;11(4):264-74.

57. Smyth SS, McEver RP, Weyrich AS, Morrell CN, Hoffman MR, Arepally GM, et al. Platelet functions beyond hemostasis. J Thromb Haemost. nov 2009;7(11):1759-66.

58. Lopez-Dee Z, Pidcock K, Gutierrez LS. Thrombospondin-1: multiple paths to inflammation. Mediators Inflamm. 2011;2011:296069.

59. Hally KE, La Flamme AC, Larsen PD, Harding SA. Platelet Toll-like receptor (TLR) expression and TLR-mediated platelet activation in acute myocardial infarction. Thromb Res. oct 2017;158:8-15.

60. Koupenova M, Clancy L, Corkrey HA, Freedman JE. Circulating Platelets as Mediators of Immunity, Inflammation, and Thrombosis. Circ Res. 19 2018;122(2):337-51.

61. Morrell CN, Aggrey AA, Chapman LM, Modjeski KL. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells. Blood. 1 mai 2014;123(18):2759-67.

62. Sprague DL, Elzey BD, Crist SA, Waldschmidt TJ, Jensen RJ, Ratliff TL. Platelet-mediated modulation of adaptive immunity: unique delivery of CD154 signal by platelet-derived membrane vesicles. Blood. 15 mai 2008;111(10):5028-36.

63. Boilard E, Nigrovic PA, Larabee K, Watts GFM, Coblyn JS, Weinblatt ME, et al. Platelets Amplify Inflammation in Arthritis via Collagen-Dependent Microparticle Production. Science. 29 janv 2010;327(5965):580-3.

64. Laffont B, Corduan A, Rousseau M, Duchez A-C, Lee CHC, Boilard E, et al. Platelet microparticles reprogram macrophage gene expression and function. Thromb Haemost. janv 2016;115(2):311-23.

65. Boudreau LH, Duchez A-C, Cloutier N, Soulet D, Martin N, Bollinger J, et al. Platelets release mitochondria serving as substrate for bactericidal group IIA-secreted phospholipase A2 to promote inflammation. Blood. 2 oct 2014;124(14):2173-83.

66. Garraud O, Hamzeh-Cognasse H, Laradi S, Pozzetto B, Cognasse F. [Blood transfusion and inflammation as of yesterday, today and tomorrow]. Transfus Clin Biol. août 2015;22(3):168-77.

67. Cognasse F, Garraud O. Cytokines and related molecules, and adverse reactions related to platelet concentrate transfusions. Transfus Clin Biol. sept 2019;26(3):144-6.

68. Lordan R, Tsoupras A, Zabetakis I. Platelet activation and prothrombotic mediators at the nexus of inflammation and atherosclerosis: Potential role of antiplatelet agents. Blood Reviews. 21 avr 2020;100694.

69. Joseph JE, Harrison P, Mackie IJ, Isenberg DA, Machin SJ. Increased circulating platelet-leucocyte complexes and platelet activation in patients with antiphospholipid syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Br J Haematol. nov 2001;115(2):451-9.

70. Scherlinger M, Sisirak V, Richez C, Lazaro E, Duffau P, Blanco P. New Insights on Platelets and Platelet-Derived Microparticles in Systemic Lupus Erythematosus. Curr Rheumatol Rep. août 2017;19(8):48.

71. Weissmann G. Rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus as immune complex diseases. Bull NYU Hosp Jt Dis. 2009;67(3):251-3.

72. Marchetti T, Ribi C, Perneger T, Trendelenburg M, Huynh-Do U, de Moerloose P, et al. Prevalence, persistence and clinical correlations of classic and novel antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. Rheumatology (Oxford). 01 2018;57(8):1350-7.

73. Kang J, Cabral C, Kushner L, Salzman EW. Membrane glycoproteins and platelet cytoskeleton in immune complex-induced platelet activation. Blood. 15 mars 1993;81(6):1505-12.

74. Zhi H, Dai J, Liu J, Zhu J, Newman DK, Gao C, et al. Platelet Activation and Thrombus Formation over IgG Immune Complexes Requires Integrin αIIbβ3 and Lyn Kinase. PLoS ONE. 2015;10(8):e0135738.

75. Zhang W, Gao F, Lu D, Sun N, Yin X, Jin M, et al. Anti-β2 glycoprotein I antibodies in complex with β2 glycoprotein I induce platelet activation via two receptors: apolipoprotein E receptor 2' and glycoprotein I bα. Front Med. mars 2016;10(1):76-84.

76. Khamashta MA, Harris EN, Gharavi AE, Derue G, Gil A, Vázquez JJ, et al. Immune mediated mechanism for thrombosis: antiphospholipid antibody binding to platelet membranes. Ann Rheum Dis. oct 1988;47(10):849-54.

77. Cognasse F, Nguyen KA, Damien P, McNicol A, Pozzetto B, Hamzeh-Cognasse H, et al. The Inflammatory Role of Platelets via Their TLRs and Siglec Receptors. Front Immunol. 2015;6:83.

78. Lood C, Tydén H, Gullstrand B, Nielsen CT, Heegaard NHH, Linge P, et al. Decreased platelet size is associated with platelet activation and anti-phospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. Rheumatology (Oxford). 01 2017;56(3):408-16.

79. Linge P, Fortin PR, Lood C, Bengtsson AA, Boilard E. The non-haemostatic role of platelets in systemic lupus erythematosus. Nat Rev Rheumatol. 21 2018;14(4):195-213.

80. Lande R, Ganguly D, Facchinetti V, Frasca L, Conrad C, Gregorio J, et al. Neutrophils activate plasmacytoid dendritic cells by releasing self-DNA-peptide complexes in systemic lupus erythematosus. Sci Transl Med. 9 mars 2011;3(73):73ra19.

81. Lindau D, Mussard J, Rabsteyn A, Ribon M, Kötter I, Igney A, et al. TLR9 independent interferon α production by neutrophils on NETosis in response to circulating chromatin, a key lupus autoantigen. Ann Rheum Dis. déc 2014;73(12):2199-207.

82. Etulain J, Martinod K, Wong SL, Cifuni SM, Schattner M, Wagner DD. P-selectin promotes neutrophil extracellular trap formation in mice. Blood. 9 juill 2015;126(2):242-6.

83. Lood C, Blanco LP, Purmalek MM, Carmona-Rivera C, De Ravin SS, Smith CK, et al. Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease. Nat Med. févr 2016;22(2):146-53.

84. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, et al. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. Nature. 4 mars 2010;464(7285):104-7.

85. White MJ, McArthur K, Metcalf D, Lane RM, Cambier JC, Herold MJ, et al. Apoptotic caspases suppress mtDNA-induced STING-mediated type I IFN production. Cell. 18 déc 2014;159(7):1549-62.

86. Viallard J-F, Solanilla A, Gauthier B, Contin C, Déchanet J, Grosset C, et al. Increased soluble and platelet-associated CD40 ligand in essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. Blood. 1 avr 2002;99(7):2612-4.

87. Elzey BD, Tian J, Jensen RJ, Swanson AK, Lees JR, Lentz SR, et al. Platelet-mediated modulation of adaptive immunity. A communication link between innate and adaptive immune compartments. Immunity. juill 2003;19(1):9-19.

88. Sprague DL, Sowa JM, Elzey BD, Ratliff TL. The role of platelet CD154 in the modulation in adaptive immunity. Immunol Res. 2007;39(1-3):185-93.

89. Scherlinger M, Guillotin V, Truchetet M-E, Contin-Bordes C, Sisirak V, Duffau P, et al. Systemic lupus erythematosus and systemic sclerosis: All roads lead to platelets. Autoimmun Rev. juin 2018;17(6):625-35.

90. Wan M, Ding L, Wang D, Han J, Gao P. Serotonin: A Potent Immune Cell Modulator in Autoimmune Diseases. Front Immunol. 2020;11:186.

91. Lood C, Tydén H, Gullstrand B, Klint C, Wenglén C, Nielsen CT, et al. Type I interferon-mediated skewing of the serotonin synthesis is associated with severe disease in systemic lupus erythematosus. PLoS ONE. 2015;10(4):e0125109.

92. León-Ponte M, Ahern GP, O'Connell PJ. Serotonin provides an accessory signal to enhance T-cell activation by signaling through the 5-HT7 receptor. Blood. 15 avr 2007;109(8):3139-46.

93. Solanilla A, Pasquet J-M, Viallard J-F, Contin C, Grosset C, Déchanet-Merville J, et al. Platelet-associated CD154 in immune thrombocytopenic purpura. Blood. 1 janv 2005;105(1):215-8.

94. Boilard E, Blanco P, Nigrovic PA. Platelets: active players in the pathogenesis of arthritis and SLE. Nat Rev Rheumatol. sept 2012;8(9):534-42.

95. Fitzgerald DJ, Roy L, Catella F, FitzGerald GA. Platelet activation in unstable coronary disease. N Engl J Med. 16 oct 1986;315(16):983-9.

96. Zhu Y, Xian X, Wang Z, Bi Y, Chen Q, Han X, et al. Research Progress on the Relationship between Atherosclerosis and Inflammation. Biomolecules. 23 2018;8(3).

97. Ghoshal K, Bhattacharyya M. Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. ScientificWorldJournal. 2014;2014:781857.

98. Badimon L, Suades R, Fuentes E, Palomo I, Padró T. Role of Platelet-Derived Microvesicles As Crosstalk Mediators in Atherothrombosis and Future Pharmacology Targets: A Link between Inflammation, Atherosclerosis, and Thrombosis. Front Pharmacol. 2016;7:293.

99. Davì G, Catalano I, Averna M, Notarbartolo A, Strano A, Ciabattoni G, et al. Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus. N Engl J Med. 21 juin 1990;322(25):1769-74.

100. da Costa Martins P, van den Berk N, Ulfman LH, Koenderman L, Hordijk PL, Zwaginga JJ. Platelet-monocyte complexes support monocyte adhesion to endothelium by enhancing secondary tethering and cluster formation. Arterioscler Thromb Vasc Biol. janv 2004;24(1):193-9.

101. Nomura S. Function and clinical significance of platelet-derived microparticles. Int J Hematol. déc 2001;74(4):397-404.

102. Barrett TJ, Schlegel M, Zhou F, Gorenchtein M, Bolstorff J, Moore KJ, et al. Platelet regulation of myeloid suppressor of cytokine signaling 3 accelerates atherosclerosis. Sci Transl Med. 06 2019;11(517).

103. Ye Z, Zhong L, Zhu S, Wang Y, Zheng J, Wang S, et al. The P-selectin and PSGL-1 axis accelerates atherosclerosis via activation of dendritic cells by the TLR4 signaling pathway. Cell Death Dis. 01 2019;10(7):507.

104. Lutgens E, Daemen MJAP. CD40-CD40L interactions in atherosclerosis. Trends Cardiovasc Med. janv 2002;12(1):27-32.

105. Gerdes N, Seijkens T, Lievens D, Kuijpers MJE, Winkels H, Projahn D, et al. Platelet CD40 Exacerbates Atherosclerosis by Transcellular Activation of Endothelial Cells and Leukocytes. Arterioscler Thromb Vasc Biol. mars 2016;36(3):482-90.

106. Timmis A, Townsend N, Gale CP, Torbica A, Lettino M, Petersen SE, et al. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2019. Eur Heart J. 01 2020;41(1):12-85.

107. Barale C, Russo I. Influence of Cardiometabolic Risk Factors on Platelet Function. Int J Mol Sci. 17 janv 2020;21(2).

108. Zhang S-Z, Jin Y-P, Qin G-M, Wang J-H. Association of platelet-monocyte aggregates with platelet activation, systemic inflammation, and myocardial injury in patients with non-st elevation acute coronary syndromes. Clin Cardiol. janv 2007;30(1):26-31.

109. Sansanayudh N, Anothaisintawee T, Muntham D, McEvoy M, Attia J, Thakkinstian A, et al. Mean platelet volume and coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. Int J Cardiol. 20 août 2014;175(3):433-40.

110. Llombart V, Garcia-Berrocoso T, Bustamante A, Fernandez-Cadenas I, Montaner J. Cardioembolic stroke diagnosis using blood biomarkers. Curr Cardiol Rev. nov 2013;9(4):340-52.

111. Tony AA, Tony EA, Mohammed WS, Kholef EF. Evaluation of plasma levels of neopterin and soluble CD40 ligand in patients with acute ischemic stroke in upper Egypt: can they surrogate the severity and functional outcome? Neuropsychiatr Dis Treat. 2019;15:575-86.

112. Berger JS, Ballantyne CM, Davidson MH, Johnson JL, Tarka EA, Lawrence D, et al. Peripheral artery disease, biomarkers, and darapladib. Am Heart J. mai 2011;161(5):972-8.

113. Krishna SM, Moxon JV, Golledge J. A review of the pathophysiology and potential biomarkers for peripheral artery disease. Int J Mol Sci. 18 mai 2015;16(5):11294-322.

114. Bigalke B, Schuster A, Sopova K, Wurster T, Stellos K. Platelets in atherothrombosis--diagnostic and prognostic value of platelet activation in patients with atherosclerotic diseases. Curr Vasc Pharmacol. sept 2012;10(5):589-96.

115. Graf D, Korthäuer U, Mages HW, Senger G, Kroczek RA. Cloning of TRAP, a ligand for CD40 on human T cells. Eur J Immunol. déc 1992;22(12):3191-4.

116. Van Kooten C, Banchereau J. CD40-CD40 ligand: a multifunctional receptor-ligand pair. Adv Immunol. 1996;61:1-77.

117. Grewal IS, Flavell RA. The CD40 ligand. At the center of the immune universe? Immunol Res. févr 1997;16(1):59-70.

118. Grewal IS, Flavell RA. CD40 and CD154 in cell-mediated immunity. Annu Rev Immunol. 1998;16:111-35.

119. Elgueta R, Benson MJ, de Vries VC, Wasiuk A, Guo Y, Noelle RJ. Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system. Immunol Rev. mai 2009;229(1):152-72.

120. van Kooten C, Banchereau J. Functions of CD40 on B cells, dendritic cells and other cells. Curr Opin Immunol. juin 1997;9(3):330-7.

121. van Kooten C, Banchereau J. CD40-CD40 ligand. J Leukoc Biol. janv 2000;67(1):2-17.

122. Alturaihi H, Hassan GS, Al-Zoobi L, Salti S, Darif Y, Yacoub D, et al. Interaction of CD154 with different receptors and its role in bidirectional signals. Eur J Immunol. févr 2015;45(2):592-602.

123. Bosmans LA, Bosch L, Kusters PJH, Lutgens E, Seijkens TTP. The CD40-CD40L Dyad as Immunotherapeutic Target in Cardiovascular Disease. J Cardiovasc Transl Res. 28 mars 2020;

124. Yacoub D, Benslimane N, Al-Zoobi L, Hassan G, Nadiri A, Mourad W. CD154 is released from T-cells by a disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10 (ADAM10) and ADAM17 in a CD40 protein-dependent manner. J Biol Chem. 13 déc 2013;288(50):36083-93.

125. Choi W-S, Jeon O-H, Kim D-S. CD40 ligand shedding is regulated by interaction between matrix metalloproteinase-2 and platelet integrin alpha(IIb)beta(3). J Thromb Haemost. juin 2010;8(6):1364-71.

126. Gordon J, Pound JD. Fortifying B cells with CD154: an engaging tale of many hues. Immunology. juill 2000;100(3):269-80.

127. Basu S, Kaw S, D'Souza L, Vaidya T, Bal V, Rath S, et al. Constitutive CD40 Signaling Calibrates Differentiation Outcomes in Responding B Cells via Multiple Molecular Pathways. J Immunol. 01 2016;197(3):761-70.

128. Constant SL. B lymphocytes as antigen-presenting cells for CD4+ T cell priming in vivo. J Immunol. 15 mai 1999;162(10):5695-703.

129. Rodríguez-Pinto D, Moreno J. B cells can prime naive CD4+ T cells in vivo in the absence of other professional antigen-presenting cells in a CD154-CD40-dependent manner. Eur J Immunol. avr 2005;35(4):1097-105.

130. Alloatti A, Kotsias F, Magalhaes JG, Amigorena S. Dendritic cell maturation and cross-presentation: timing matters! Immunol Rev. 2016;272(1):97-108.

131. Chatterjee B, Smed-Sörensen A, Cohn L, Chalouni C, Vandlen R, Lee B-C, et al. Internalization and endosomal degradation of receptor-bound antigens regulate the efficiency of cross presentation by human dendritic cells. Blood. 6 sept 2012;120(10):2011-20.

132. Yin W, Gorvel L, Zurawski S, Li D, Ni L, Duluc D, et al. Functional Specialty of CD40 and Dendritic Cell Surface Lectins for Exogenous Antigen Presentation to CD8+ and CD4+ T Cells. EBioMedicine. 28 janv 2016;5:46-58.

133. Quezada SA, Jarvinen LZ, Lind EF, Noelle RJ. CD40/CD154 interactions at the interface of tolerance and immunity. Annu Rev Immunol. 2004;22:307-28.

134. Ara A, Ahmed KA, Xiang J. Multiple effects of CD40-CD40L axis in immunity against infection and cancer. Immunotargets Ther. 2018;7:55-61.

135. Diehl L, den Boer AT, Schoenberger SP, van der Voort EI, Schumacher TN, Melief CJ, et al. CD40 activation in vivo overcomes peptide-induced peripheral cytotoxic T-lymphocyte tolerance and augments anti-tumor vaccine efficacy. Nat Med. juill 1999;5(7):774-9.

136. Pinelli DF, Wagener ME, Liu D, Yamniuk A, Tamura J, Grant S, et al. An anti-CD154 domain antibody prolongs graft survival and induces Foxp3(+) iTreg in the absence and presence of CTLA-4 Ig. Am J Transplant. nov 2013;13(11):3021-30.

137. Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Pecoraro R, Arnao V, Pinto A, Licata G. Atherosclerosis as an inflammatory disease. Curr Pharm Des. 2012;18(28):4266-88.

138. Mach F, Schönbeck U, Libby P. CD40 signaling in vascular cells: a key role in atherosclerosis? Atherosclerosis. avr 1998;137 Suppl:S89-95.

139. Mach F, Schönbeck U, Sukhova GK, Atkinson E, Libby P. Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signalling. Nature. 9 juill 1998;394(6689):200-3.

140. Notarangelo LD, Peitsch MC, Abrahamsen TG, Bachelot C, Bordigoni P, Cant AJ, et al. CD40lbase: a database of CD40L gene mutations causing X-linked hyper-IgM syndrome. Immunol Today. nov 1996;17(11):511-6.

141. Jacobsohn DA, Vogelsang GB. Acute graft versus host disease. Orphanet J Rare Dis. 4 sept 2007;2:35.

142. Briones J, Novelli S, Sierra J. T-cell costimulatory molecules in acute-graft-versus host disease: therapeutic implications. Bone Marrow Res. 2011;2011:976793.

143. Sayegh MH, Turka LA. The role of T-cell costimulatory activation pathways in transplant rejection. N Engl J Med. 18 juin 1998;338(25):1813-21.

144. Kanmaz T, Fechner JJH, Torrealba J, Kim HT, Dong Y, Oberley TD, et al. Monotherapy with the novel human anti-CD154 monoclonal antibody ABI793 in rhesus monkey renal transplantation model. Transplantation. 27 mars 2004;77(6):914-20.

145. Pierson RN, Chang AC, Blum MG, Blair KS, Scott MA, Atkinson JB, et al. Prolongation of primate cardiac allograft survival by treatment with ANTI-CD40 ligand (CD154) antibody. Transplantation. 15 déc 1999;68(11):1800-5.

146. Nomura S, Fujita S, Nakanishi T, Yokoi T, Shimamoto K, Miyamoto R, et al. Platelet-derived microparticles cause CD154-dependent activation of dendritic cells. Platelets. 2012;23(1):81-2.

147. Kaneider NC, Kaser A, Tilg H, Ricevuti G, Wiedermann CJ. CD40 ligand-dependent maturation of human monocyte-derived dendritic cells by activated platelets. Int J Immunopathol Pharmacol. déc 2003;16(3):225-31.

148. Delmas Y, Viallard J-F, Villeneuve J, Grosset C, Pasquet J-M, Déchanet-Merville J, et al. [Platelet-associated CD154: a new interface in haemostasis and in the inflammatory reaction]. Med Sci (Paris). oct 2005;21(10):825-31.

149. Mackey MF, Barth RJ, Noelle RJ. The role of CD40/CD154 interactions in the priming, differentiation, and effector function of helper and cytotoxic T cells. J Leukoc Biol. avr 1998;63(4):418-28.

150. Mohan C, Shi Y, Laman JD, Datta SK. Interaction between CD40 and its ligand gp39 in the development of murine lupus nephritis. J Immunol. 1 févr 1995;154(3):1470-80.

151. Foy TM, Laman JD, Ledbetter JA, Aruffo A, Claassen E, Noelle RJ. gp39-CD40 interactions are essential for germinal center formation and the development of B cell memory. J Exp Med. 1 juill 1994;180(1):157-63.

152. Early GS, Zhao W, Burns CM. Anti-CD40 ligand antibody treatment prevents the development of lupus-like nephritis in a subset of New Zealand black x New Zealand white mice. Response correlates with the absence of an anti-antibody response. J Immunol. 1 oct 1996;157(7):3159-64.

153. Kalled SL, Cutler AH, Datta SK, Thomas DW. Anti-CD40 ligand antibody treatment of SNF1 mice with established nephritis: preservation of kidney function. J Immunol. 1 mars 1998;160(5):2158-65.

154. Desai-Mehta A, Lu L, Ramsey-Goldman R, Datta SK. Hyperexpression of CD40 ligand by B and T cells in human lupus and its role in pathogenic autoantibody production. J Clin Invest. 1 mai 1996;97(9):2063-73.

155. Higuchi T, Aiba Y, Nomura T, Matsuda J, Mochida K, Suzuki M, et al. Cutting Edge: Ectopic expression of CD40 ligand on B cells induces lupus-like autoimmune disease. J Immunol. 1 janv 2002;168(1):9-12.

156. Kato K, Santana-Sahagún E, Rassenti LZ, Weisman MH, Tamura N, Kobayashi S, et al. The soluble CD40 ligand sCD154 in systemic lupus erythematosus. J Clin Invest. oct 1999;104(7):947-55.

157. Vakkalanka RK, Woo C, Kirou KA, Koshy M, Berger D, Crow MK. Elevated levels and functional capacity of soluble CD40 ligand in systemic lupus erythematosus sera. Arthritis Rheum. mai 1999;42(5):871-81.

158. Mathian A, Mouries-Martin S, Dorgham K, Devilliers H, Barnabei L, Ben Salah E, et al. Monitoring Disease Activity in Systemic Lupus Erythematosus With Single-Molecule Array Digital Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Quantification of Serum Interferon-α. Arthritis & Rheumatology (Hoboken, NJ). 2019;71(5):756-65.

159. Munroe ME, Vista ES, Guthridge JM, Thompson LF, Merrill JT, James JA. Proinflammatory adaptive cytokine and shed tumor necrosis factor receptor levels are elevated preceding systemic lupus erythematosus disease flare. Arthritis & Rheumatology (Hoboken, NJ). juill 2014;66(7):1888-99.

160. Lutgens E, Cleutjens KB, Heeneman S, Koteliansky VE, Burkly LC, Daemen MJ. Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype. Proc Natl Acad Sci USA. 20 juin 2000;97(13):7464-9.

161. Santilli F, Basili S, Ferroni P, Davì G. CD40/CD40L system and vascular disease. Intern Emerg Med. déc 2007;2(4):256-68.

162. Geertsema L, Lucas SJE, Cotter JD, Hock B, McKenzie J, Fernyhough LJ. The cardiovascular risk factor, soluble CD40 ligand (CD154), but not soluble CD40 is lowered by ultra-endurance exercise in athletes. Br J Sports Med. janv 2011;45(1):42-5.

163. Gergei I, Kälsch T, Scharnagl H, Kleber ME, Zirlik A, März W, et al. Association of soluble CD40L with short-term and long-term cardiovascular and all-cause mortality: The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. Atherosclerosis. 2019;291:127-31.

164. Pesau G, Schernthaner G-H. sCD40L: An overestimated marker for cardiovascular risk prediction? Atherosclerosis. 2019;291:122-3.

165. Li J, Wang Y, Lin J, Wang D, Wang A, Zhao X, et al. Soluble CD40L Is a Useful Marker to Predict Future Strokes in Patients With Minor Stroke and Transient Ischemic Attack. Stroke. juill 2015;46(7):1990-2.

166. Varo N, de Lemos JA, Libby P, Morrow DA, Murphy SA, Nuzzo R, et al. Soluble CD40L: risk prediction after acute coronary syndromes. Circulation. 2 sept 2003;108(9):1049-52.

167. Mälarstig A, Lindahl B, Wallentin L, Siegbahn A. Soluble CD40L levels are regulated by the -3459 A>G polymorphism and predict myocardial infarction and the efficacy of antithrombotic

treatment in non-ST elevation acute coronary syndrome. Arterioscler Thromb Vasc Biol. juill 2006;26(7):1667-73.

168. De Candia E. Mechanisms of platelet activation by thrombin: a short history. Thromb Res. mars 2012;129(3):250-6.

169. Palur Ramakrishnan AVK, Varghese TP, Vanapalli S, Nair NK, Mingate MD. Platelet activating factor: A potential biomarker in acute coronary syndrome? Cardiovasc Ther. févr 2017;35(1):64-70.

170. Jin J, Quinton TM, Zhang J, Rittenhouse SE, Kunapuli SP. Adenosine diphosphate (ADP)-induced thromboxane A(2) generation in human platelets requires coordinated signaling through integrin alpha(IIb)beta(3) and ADP receptors. Blood. 1 janv 2002;99(1):193-8.

171. Mammadova-Bach E, Mauler M, Braun A, Duerschmied D. Autocrine and paracrine regulatory functions of platelet serotonin. Platelets. sept 2018;29(6):541-8.

172. Brown GT, Narayanan P, Li W, Silverstein RL, McIntyre TM. Lipopolysaccharide stimulates platelets through an IL-1β autocrine loop. J Immunol. 15 nov 2013;191(10):5196-203.

173. Petito E, Amison RT, Piselli E, Shah SA, Momi S, Pitchford SC, et al. A dichotomy in platelet activation: Evidence of different functional platelet responses to inflammatory versus haemostatic stimuli. Thromb Res. 2018;172:110-8.

174. Jennings LK. Mechanisms of platelet activation: need for new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis. Thromb Haemost. août 2009;102(2):248-57.

175. Steinhubl SR, Badimon JJ, Bhatt DL, Herbert J-M, Lüscher TF. Clinical evidence for anti-inflammatory effects of antiplatelet therapy in patients with atherothrombotic disease. Vasc Med. mai 2007;12(2):113-22.

176. Le Minh G, Peshkova AD, Andrianova IA, Weisel JW, Litvinov RI. Differential sensitivity of various markers of platelet activation with adenosine diphosphate. Bionanoscience. mars 2019;9(1):53-8.

177. Hansen EH, Jessing P, Lindewald H, Ostergaard P, Olesen T, Malver EI. Hydroxychloroquine sulphate in prevention of deep venous thrombosis following fracture of the hip, pelvis, or thoracolumbar spine. J Bone Joint Surg Am. déc 1976;58(8):1089-93.

178. Turpie AG, Hirsh J. Platelet suppressive therapy. Br Med Bull. mai 1978;34(2):183-90.

179. Espinola RG, Pierangeli SS, Gharavi AE, Harris EN, Ghara AE. Hydroxychloroquine reverses platelet activation induced by human IgG antiphospholipid antibodies. Thromb Haemost. mars 2002;87(3):518-22.

180. Winocour PD, Kinlough-Rathbone RL, Mustard JF. The effect of phospholipase inhibitor mepacrine on platelet aggregation, the platelet release reaction and fibrinogen binding to the platelet surface. Thromb Haemost. 30 juin 1981;45(3):257-62.

181. Petri M. Use of hydroxychloroquine to prevent thrombosis in systemic lupus erythematosus and in antiphospholipid antibody-positive patients. Curr Rheumatol Rep. févr 2011;13(1):77-80.

182. Achuthan S, Ahluwalia J, Shafiq N, Bhalla A, Pareek A, Chandurkar N, et al. Hydroxychloroquine's Efficacy as an Antiplatelet Agent Study in Healthy Volunteers: A Proof of Concept Study. J Cardiovasc Pharmacol Ther. mars 2015;20(2):174-80.

183. Prowse C, Pepper D, Dawes J. Prevention of the platelet alpha-granule release reaction by membrane-active drugs. Thromb Res. 1 févr 1982;25(3):219-27.

184. Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, Pijoan JI, Garmendia M, Villar I, Martinez-Berriotxoa A, et al. Effect of antimalarials on thrombosis and survival in patients with systemic lupus erythematosus. Lupus. 2006;15(9):577-83.

185. Kravvariti E, Koutsogianni A, Samoli E, Sfikakis PP, Tektonidou MG. The effect of hydroxychloroquine on thrombosis prevention and antiphospholipid antibody levels in primary antiphospholipid syndrome: A pilot open label randomized prospective study. Autoimmun Rev. avr 2020;19(4):102491.

186. Basta F, Fasola F, Triantafyllias K, Schwarting A. Systemic Lupus Erythematosus (SLE) Therapy: The Old and the New. Rheumatol Ther. 2 juin 2020;

187. Savi P, Herbert J-M. Clopidogrel and ticlopidine: P2Y12 adenosine diphosphate-receptor antagonists for the prevention of atherothrombosis. Semin Thromb Hemost. avr 2005;31(2):174-83.

188. Iyú D, Glenn JR, White AE, Fox SC, van Giezen H, Nylander S, et al. Mode of action of P2Y(12) antagonists as inhibitors of platelet function. Thromb Haemost. janv 2011;105(1):96-106.

189. Wang X-L, Deng H-F, Li T, Miao S-Y, Xiao Z-H, Liu M-D, et al. Clopidogrel reduces lipopolysaccharide-induced inflammation and neutrophil-platelet aggregates in an experimental endotoxemic model. J Biochem Mol Toxicol. avr 2019;33(4):e22279.

190. Thomas MR, Storey RF. Effect of P2Y12 inhibitors on inflammation and immunity. Thromb Haemost. 31 août 2015;114(3):490-7.

191. Patti G, Micieli G, Cimminiello C, Bolognese L. The Role of Clopidogrel in 2020: A Reappraisal. Cardiovasc Ther. 2020;2020:8703627.

192. Wang L, Erling P, Bengtsson AA, Truedsson L, Sturfelt G, Erlinge D. Transcriptional down-regulation of the platelet ADP receptor P2Y(12) and clusterin in patients with systemic lupus erythematosus. J Thromb Haemost. août 2004;2(8):1436-42.

193. Armstrong D, Summers C, Ewart L, Nylander S, Sidaway JE, van Giezen JJJ. Characterization of the adenosine pharmacology of ticagrelor reveals therapeutically relevant inhibition of equilibrative nucleoside transporter 1. J Cardiovasc Pharmacol Ther. mars 2014;19(2):209-19.

194. Storey RF, Angiolillo DJ, Patil SB, Desai B, Ecob R, Husted S, et al. Inhibitory Effects of Ticagrelor Compared With Clopidogrel on Platelet Function in Patients With Acute Coronary Syndromes: The PLATO (PLATelet inhibition and patient Outcomes) PLATELET Substudy. Journal of the American College of Cardiology. 26 oct 2010;56(18):1456-62.

195. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. N Engl J Med. 10 sept 2009;361(11):1045-57.

196. Schnorbus B, Daiber A, Jurk K, Warnke S, Koenig J, Lackner KJ, et al. Effects of clopidogrel vs. prasugrel vs. ticagrelor on endothelial function, inflammatory parameters, and platelet function in patients with acute coronary syndrome undergoing coronary artery stenting: a randomized, blinded, parallel study. Eur Heart J. 3 janv 2020;

197. Grosdidier C, Blanz KD, Deharo P, Bernot D, Poggi M, Bastelica D, et al. Platelet CD40 ligand and bleeding during P2Y12 inhibitor treatment in acute coronary syndrome. Res Pract Thromb Haemost. oct 2019;3(4):684-94.

198. Husted S, Storey RF, Harrington RA, Emanuelsson H, Cannon CP. Changes in inflammatory biomarkers in patients treated with ticagrelor or clopidogrel. Clin Cardiol. avr 2010;33(4):206-12.

199. Lessiani G, Vazzana N, Cuccurullo C, Di Michele D, Laurora G, Sgrò G, et al. Inflammation, oxidative stress and platelet activation in aspirin-treated critical limb ischaemia: beneficial effects of iloprost. Thromb Haemost. févr 2011;105(2):321-8.

200. Mok MY, Tse HF, Lau CS. Pulmonary hypertension secondary to systemic lupus erythematosus: prolonged survival following treatment with intermittent low dose iloprost. Lupus. 1999;8(4):328-31.

201. Hernández-Oropeza JL, Rodríguez-Reyna TS, Carrillo-Pérez DL, Rodríguez-Andoney J de J, Narváez-David R, Salado-Morales Y, et al. Pulmonary Vasoreactivity and Phenotypes in Pulmonary Arterial Hypertension Associated to Connective Tissue Diseases. Rev Invest Clin. 2018;70(2):82-7.

202. Schrottmaier WC, Kral JB, Badrnya S, Assinger A. Aspirin and P2Y12 Inhibitors in platelet-mediated activation of neutrophils and monocytes. Thromb Haemost. 31 août 2015;114(3):478-89.

203. Avalos I, Chung CP, Oeser A, Milne GL, Borntrager H, Morrow JD, et al. Aspirin therapy and thromboxane biosynthesis in systemic lupus erythematosus. Lupus. 2007;16(12):981-6.

204. Kawai VK, Avalos I, Oeser A, Oates JA, Milne GL, Solus JF, et al. Suboptimal inhibition of platelet cyclooxygenase 1 by aspirin in systemic lupus erythematosus: association with metabolic syndrome. Arthritis Care Res (Hoboken). févr 2014;66(2):285-92.

205. Valdes V, Nardi MA, Elbaum L, Berger JS. Reproducibility over time and effect of low-dose aspirin on soluble P-selectin and soluble CD40 ligand. J Thromb Thrombolysis. juill 2015;40(1):83-7.

206. Sternberg Z, Chichelli T, Sternberg D, Sawyer R, Ching M, Janicke D, et al. Relationship between Inflammation and Aspirin and Clopidogrel Antiplatelet Responses in Acute Ischemic Stroke. J Stroke Cerebrovasc Dis. févr 2016;25(2):327-34.

207. Tsai N-W, Chang W-N, Shaw C-F, Jan C-R, Chang H-W, Huang C-R, et al. Serial change in platelet activation markers with aspirin and clopidogrel after acute ischemic stroke. Clin Neuropharmacol. févr 2010;33(1):40-5.

208. Arnaud L, Mathian A, Ruffatti A, Erkan D, Tektonidou M, Cervera R, et al. Efficacy of aspirin for the primary prevention of thrombosis in patients with antiphospholipid antibodies: an international and collaborative meta-analysis. Autoimmun Rev. mars 2014;13(3):281-91.

209. Liverani E, Banerjee S, Roberts W, Naseem KM, Perretti M. Prednisolone exerts exquisite inhibitory properties on platelet functions. Biochem Pharmacol. 15 mai 2012;83(10):1364-73.

210. Lang F, Gawaz M, Borst O. The serum- & glucocorticoid-inducible kinase in the regulation of platelet function. Acta Physiol (Oxf). janv 2015;213(1):181-90.

211. Jain MK, Ridker PM. Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. Nat Rev Drug Discov. déc 2005;4(12):977-87.

212. Zeiser R. Immune modulatory effects of statins. Immunology. 2018;154(1):69-75.

213. Watanabe T, Oku K, Amengual O, Hisada R, Ohmura K, Nakagawa I, et al. Effects of statins on thrombosis development in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibodies. Lupus. févr 2018;27(2):225-34.

214. Cipollone F, Mezzetti A, Porreca E, Di Febbo C, Nutini M, Fazia M, et al. Association between enhanced soluble CD40L and prothrombotic state in hypercholesterolemia: effects of statin therapy. Circulation. 23 juill 2002;106(4):399-402.

215. Erkan D, Willis R, Murthy VL, Basra G, Vega J, Ruiz-Limón P, et al. A prospective open-label pilot study of fluvastatin on proinflammatory and prothrombotic biomarkers in antiphospholipid antibody positive patients. Ann Rheum Dis. juin 2014;73(6):1176-80.

216. Filozof C, Gómez-Garre D, Reinares L, González-Rubio ML, Muñoz-Pacheco P, Rueda A, et al. Relationship between plasma levels of soluble CD40L and insulin sensitivity and insulin secretion status in non-diabetic dyslipidemic patients. Diabetes Res Clin Pract. janv 2008;79(1):48-55.

217. Xin G, Wei Z, Ji C, Zheng H, Gu J, Ma L, et al. Metformin Uniquely Prevents Thrombosis by Inhibiting Platelet Activation and mtDNA Release. Sci Rep. 02 2016;6:36222.

218. Tan MKX, Heng TYJ, Mak A. The Potential Use of Metformin, Dipyridamole, N-Acetylcysteine and Statins as Adjunctive Therapy for Systemic Lupus Erythematosus. Cells. 06 2019;8(4).

219. Wang H, Li T, Chen S, Gu Y, Ye S. Neutrophil Extracellular Trap Mitochondrial DNA and Its Autoantibody in Systemic Lupus Erythematosus and a Proof-of-Concept Trial of Metformin. Arthritis & Rheumatology (Hoboken, NJ). déc 2015;67(12):3190-200.

220. de Abajo FJ. Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on platelet function: mechanisms, clinical outcomes and implications for use in elderly patients. Drugs Aging. 1 mai 2011;28(5):345-67.

221. Herr N, Bode C, Duerschmied D. The Effects of Serotonin in Immune Cells. Front Cardiovasc Med. 2017;4:48.

222. Holmes LE, Gupta R, Rajendran S, Luu J, French JK, Juergens CP. A randomized trial assessing the impact of three different glycoprotein IIb/IIIa antagonists on glycoprotein IIb/IIIa platelet receptor inhibition and clinical endpoints in patients with acute coronary syndromes. Cardiovasc Ther. oct 2016;34(5):330-6.

223. Law C-L, Grewal IS. Therapeutic interventions targeting CD40L (CD154) and CD40: the opportunities and challenges. Adv Exp Med Biol. 2009;647:8-36.

224. Lederman S, Yellin MJ, Krichevsky A, Belko J, Lee JJ, Chess L. Identification of a novel surface protein on activated CD4+ T cells that induces contact-dependent B cell differentiation (help). J Exp Med. 1 avr 1992;175(4):1091-101.

225. Kirk AD, Harlan DM, Armstrong NN, Davis TA, Dong Y, Gray GS, et al. CTLA4-Ig and anti-CD40 ligand prevent renal allograft rejection in primates. Proc Natl Acad Sci USA. 5 août 1997;94(16):8789-94.

226. Boumpas DT, Furie R, Manzi S, Illei GG, Wallace DJ, Balow JE, et al. A short course of BG9588 (anti-CD40 ligand antibody) improves serologic activity and decreases hematuria in patients with proliferative lupus glomerulonephritis. Arthritis Rheum. mars 2003;48(3):719-27.

227. Kalunian KC, Davis JC, Merrill JT, Totoritis MC, Wofsy D, IDEC-131 Lupus Study Group. Treatment of systemic lupus erythematosus by inhibition of T cell costimulation with anti-CD154: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Arthritis Rheum. déc 2002;46(12):3251-8.

228. Dumont FJ. IDEC-131. IDEC/Eisai. Curr Opin Investig Drugs. mai 2002;3(5):725-34.

229. Schuler W, Bigaud M, Brinkmann V, Di Padova F, Geisse S, Gram H, et al. Efficacy and safety of ABI793, a novel human anti-human CD154 monoclonal antibody, in cynomolgus monkey renal allotransplantation. Transplantation. 15 mars 2004;77(5):717-26.

230. Tocoian A, Buchan P, Kirby H, Soranson J, Zamacona M, Walley R, et al. First-in-human trial of the safety, pharmacokinetics and immunogenicity of a PEGylated anti-CD40L antibody fragment (CDP7657) in healthy individuals and patients with systemic lupus erythematosus. Lupus. sept 2015;24(10):1045-56.

231. Chamberlain C, Colman PJ, Ranger AM, Burkly LC, Johnston GI, Otoul C, et al. Repeated administration of dapirolizumab pegol in a randomised phase I study is well tolerated and accompanied by improvements in several composite measures of systemic lupus erythematosus disease activity and changes in whole blood transcriptomic profiles. Ann Rheum Dis. nov 2017;76(11):1837-44.

232. Furie R, Bruce IN, Dörner T, Leon MG, Leszczynski P, Urowitz MB, et al. FRI0195 EFFICACY AND SAFETY OF DAPIROLIZUMAB PEGOL (DZP) IN PATIENTS WITH MODERATELY TO SEVERELY ACTIVE SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS (SLE): A RANDOMISED, PLACEBO (PBO)-CONTROLLED STUDY. Ann Rheum Dis. 1 juin 2019;78(Suppl 2):775.

233. Kim SC, Wakwe W, Higginbotham LB, Mathews DV, Breeden CP, Stephenson AC, et al. Fc-Silent Anti-CD154 Domain Antibody Effectively Prevents Nonhuman Primate Renal Allograft Rejection. Am J Transplant. mai 2017;17(5):1182-92.

234. Oganesyan V, Ferguson A, Grinberg L, Wang L, Phipps S, Chacko B, et al. Fibronectin type III domains engineered to bind CD40L: cloning, expression, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of two complexes. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. sept 2013;69(Pt 9):1045-8.

235. Nicholson SM, Casey KA, Gunsior M, Drabic S, Iverson W, Cook H, et al. The enhanced immunopharmacology of VIB4920, a novel Tn3 fusion protein and CD40L antagonist, and assessment of its safety profile in cynomolgus monkeys. Br J Pharmacol. mars 2020;177(5):1061-76.

236. Karnell JL, Albulescu M, Drabic S, Wang L, Moate R, Baca M, et al. A CD40L-targeting protein reduces autoantibodies and improves disease activity in patients with autoimmunity. Sci Transl Med. 24 2019;11(489).

237. Sidiropoulos PI, Boumpas DT. Lessons learned from anti-CD40L treatment in systemic lupus erythematosus patients. Lupus. 2004;13(5):391-7.

238. Langer F, Ingersoll SB, Amirkhosravi A, Meyer T, Siddiqui FA, Ahmad S, et al. The role of CD40 in CD40L- and antibody-mediated platelet activation. Thromb Haemost. juin 2005;93(6):1137-46.

239. Robles-Carrillo L, Meyer T, Hatfield M, Desai H, Dávila M, Langer F, et al. Anti-CD40L immune complexes potently activate platelets in vitro and cause thrombosis in FCGR2A transgenic mice. J Immunol. 1 août 2010;185(3):1577-83.

240. Adair BD, Alonso JL, van Agthoven J, Hayes V, Ahn HS, Yu I-S, et al. Structure-guided design of pure orthosteric inhibitors of αIIbβ3 that prevent thrombosis but preserve hemostasis. Nat Commun. 21 2020;11(1):398.

241. Chatzigeorgiou A, Seijkens T, Zarzycka B, Engel D, Poggi M, van den Berg S, et al. Blocking CD40-TRAF6 signaling is a therapeutic target in obesity-associated insulin resistance. Proc Natl Acad Sci USA. 18 févr 2014;111(7):2686-91.

242. Lameijer M, Binderup T, van Leent MMT, Senders ML, Fay F, Malkus J, et al. Efficacy and safety assessment of a TRAF6-targeted nanoimmunotherapy in atherosclerotic mice and non-human primates. Nat Biomed Eng. 2018;2(5):279-92.

243. Seijkens TTP, van Tiel CM, Kusters PJH, Atzler D, Soehnlein O, Zarzycka B, et al. Targeting CD40-Induced TRAF6 Signaling in Macrophages Reduces Atherosclerosis. J Am Coll Cardiol. 06 2018;71(5):527-42.

244. Abdullah M, Berthiaume JM, Willis MS. Tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 as a nuclear factor kappa B-modulating therapeutic target in cardiovascular diseases: at the heart of it all. Transl Res. 2018;195:48-61.

245. Wolf D, Hohmann J-D, Wiedemann A, Bledzka K, Blankenbach H, Marchini T, et al. Binding of CD40L to Mac-1's I-domain involves the EQLKKSKTL motif and mediates leukocyte recruitment and atherosclerosis--but does not affect immunity and thrombosis in mice. Circ Res. 11 nov 2011;109(11):1269-79.

246. Wolf D, Anto-Michel N, Blankenbach H, Wiedemann A, Buscher K, Hohmann JD, et al. A ligand-specific blockade of the integrin Mac-1 selectively targets pathologic inflammation while maintaining protective host-defense. Nat Commun. 06 2018;9(1):525.

247. Tokunaga M, Fujii K, Saito K, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, et al. Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab. Rheumatology (Oxford). févr 2005;44(2):176-82.

248. Karnell JL, Rieder SA, Ettinger R, Kolbeck R. Targeting the CD40-CD40L pathway in autoimmune diseases: Humoral immunity and beyond. Adv Drug Deliv Rev. 15 2019;141:92-103.

249. Davis JC, Totoritis MC, Rosenberg J, Sklenar TA, Wofsy D. Phase I clinical trial of a monoclonal antibody against CD40-ligand (IDEC-131) in patients with systemic lupus erythematosus. J Rheumatol. janv 2001;28(1):95-101.

250. Patel VL, Schwartz J, Bussel JB. The effect of anti-CD40 ligand in immune thrombocytopenic purpura. Br J Haematol. mai 2008;141(4):545-8.

251. Kuwana M, Nomura S, Fujimura K, Nagasawa T, Muto Y, Kurata Y, et al. Effect of a single injection of humanized anti-CD154 monoclonal antibody on the platelet-specific autoimmune response in patients with immune thrombocytopenic purpura. Blood. 15 févr 2004;103(4):1229-36.

252. Zhang T, Pierson RN, Azimzadeh AM. Update on CD40 and CD154 blockade in transplant models. Immunotherapy. 2015;7(8):899-911.

253. Felten R, Scher F, Sibilia J, Chasset F, Arnaud L. Advances in the treatment of systemic lupus erythematosus: From back to the future, to the future and beyond. Joint Bone Spine. 2019;86(4):429-36.

254. Djaballah-Ider F, Djeraba Z, Chemli M, Dammene-Debbihe N, Lounis D, Belguendouz H, et al. Influence of corticosteroid therapy on IL-18 and nitric oxide production during Behçet's disease. Inflammopharmacology. juin 2018;26(3):725-35.

255. Myśliwiec J, Waligórski D, Nikołajuk A, Górska M. Soluble CD40 and its ligand CD154 in patients with Graves' ophthalmopathy during combined therapy with corticosteroids and teleradiotherapy. Adv Med Sci. 2007;52:104-8.

256. Cechin SR, Buchwald P. Effects of representative glucocorticoids on TNFα- and CD40L-induced NF-κB activation in sensor cells. Steroids. juill 2014;85:36-43.

257. Amano H, Morimoto S, Kaneko H, Tokano Y, Takasaki Y, Hashimoto H. Effect of intravenous cyclophosphamide in systemic lupus erythematosus: relation to lymphocyte subsets and activation markers. Lupus. 2000;9(1):26-32.

258. Wu S-F, Chang C-B, Hsu J-M, Lu M-C, Lai N-S, Li C, et al. Hydroxychloroquine inhibits CD154 expression in CD4+ T lymphocytes of systemic lupus erythematosus through NFAT, but not STAT5, signaling. Arthritis Res Ther. 09 2017;19(1):183.

259. Dewitte A, Villeneuve J, Lepreux S, Bouchecareilh M, Gauthereau X, Rigothier C, et al. CD154 Induces Interleukin-6 Secretion by Kidney Tubular Epithelial Cells under Hypoxic Conditions: Inhibition by Chloroquine. Mediators Inflamm. 2020;2020:6357046.

260. Wagner C, Chen D, Fan H, Hsia EC, Mack M, Emery P, et al. Evaluation of serum biomarkers associated with radiographic progression in methotrexate-naive rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate or golimumab. J Rheumatol. mai 2013;40(5):590-8.

261. Yang Y, Tang Q, Zhao M, Liang G, Wu H, Li D, et al. The effect of mycophenolic acid on epigenetic modifications in lupus CD4+T cells. Clin Immunol. mai 2015;158(1):67-76.

262. Gu H-Y, Liang M, Lu J-H, Yang X, Li Y-J, Kong Q-Y, et al. [Significance of calcineurin activation and CD40L expression in patients with active lupus nephritis]. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi. août 2005;21(3):334-8.

263. Katsiari CG, Liossis SNC, Dimopoulos AM, Charalambopoulo DV, Mavrikakis M, Sfikakis PP. CD40L overexpression on T cells and monocytes from patients with systemic lupus erythematosus is resistant to calcineurin inhibition. Lupus. 2002;11(6):370-8.

264. Mohty M, Stoppa A-M, Blaise D, Isnardon D, Gastaut J-A, Olive D, et al. Differential regulation of dendritic cell function by the immunomodulatory drug thalidomide. J Leukoc Biol. nov 2002;72(5):939-45.

265. Tai Y-T, Li X-F, Catley L, Coffey R, Breitkreutz I, Bae J, et al. Immunomodulatory drug lenalidomide (CC-5013, IMiD3) augments anti-CD40 SGN-40-induced cytotoxicity in human multiple myeloma: clinical implications. Cancer Res. 15 déc 2005;65(24):11712-20.

266. Lapalombella R, Andritsos L, Liu Q, May SE, Browning R, Pham LV, et al. Lenalidomide treatment promotes CD154 expression on CLL cells and enhances production of antibodies by normal B cells through a PI3-kinase-dependent pathway. Blood. 1 avr 2010;115(13):2619-29.

267. Nannizzi-Alaimo L, Alves VL, Phillips DR. Inhibitory effects of glycoprotein IIb/IIIa antagonists and aspirin on the release of soluble CD40 ligand during platelet stimulation. Circulation. 4 mars 2003;107(8):1123-8.

268. Giannini S, Falcinelli E, Bury L, Guglielmini G, Rossi R, Momi S, et al. Interaction with damaged vessel wall in vivo in humans induces platelets to express CD40L resulting in endothelial activation with no effect of aspirin intake. Am J Physiol Heart Circ Physiol. juin 2011;300(6):H2072-2079.

269. Hermann A, Rauch BH, Braun M, Schrör K, Weber AA. Platelet CD40 ligand (CD40L)--subcellular localization, regulation of expression, and inhibition by clopidogrel. Platelets. mars 2001;12(2):74-82.

270. Azar RR, Kassab R, Zoghbi A, Aboujaoudé S, El-Osta H, Ghorra P, et al. Effects of clopidogrel on soluble CD40 ligand and on high-sensitivity C-reactive protein in patients with stable coronary artery disease. Am Heart J. févr 2006;151(2):521.e1-521.e4.

271. Willerson JT, Cable G, Yeh ETH, PROCLAIM Investigators. PROCLAIM: pilot study to examine the effects of clopidogrel on inflammatory markers in patients with metabolic syndrome receiving low-dose aspirin. Tex Heart Inst J. 2009;36(6):530-9.

272. Rosiak M, Postula M, Kaplon-Cieslicka A, Kondracka A, Trzepla E, Czlonkowski A, et al. Effect of ASA dose doubling versus switching to clopidogrel on plasma inflammatory markers concentration in patients with type 2 diabetes and high platelet reactivity: the AVOCADO study. Cardiol J. 2013;20(5):545-51.

273. Judge HM, Buckland RJ, Holgate CE, Storey RF. Glycoprotein IIb/IIIa and P2Y12 receptor antagonists yield additive inhibition of platelet aggregation, granule secretion, soluble CD40L release and procoagulant responses. Platelets. nov 2005;16(7):398-407.

274. Sanguigni V, Pignatelli P, Lenti L, Ferro D, Bellia A, Carnevale R, et al. Short-term treatment with atorvastatin reduces platelet CD40 ligand and thrombin generation in hypercholesterolemic patients. Circulation. 1 févr 2005;111(4):412-9.

275. Wang T-D, Chen W-J, Lin J-W, Cheng C-C, Chen M-F, Lee Y-T. Efficacy of fenofibrate and simvastatin on endothelial function and inflammatory markers in patients with combined hyperlipidemia: relations with baseline lipid profiles. Atherosclerosis. oct 2003;170(2):315-23.

276. Willis R, Seif AM, McGwin G, Martinez-Martinez LA, González EB, Doan E, et al. Effects of statins on proinflammatory/prothrombotic biomarkers and on disease activity scores in SLE patients: data from LUMINA (LXXVI), a multi-ethnic US cohort. Clin Exp Rheumatol. avr 2014;32(2):162-7.

277. Sahebkar A, Rathouska J, Derosa G, Maffioli P, Nachtigal P. Statin impact on disease activity and C-reactive protein concentrations in systemic lupus erythematosus patients: A systematic review and meta-analysis of controlled trials. Autoimmun Rev. avr 2016;15(4):344-53.

278. Goules A, Tzioufas AG, Manousakis MN, Kirou KA, Crow MK, Routsias JG. Elevated levels of soluble CD40 ligand (sCD40L) in serum of patients with systemic autoimmune diseases. J Autoimmun. mai 2006;26(3):165-71.

279. Steinhubl S, Roe MT. Optimizing platelet P2Y12 inhibition for patients undergoing PCI. Cardiovasc Drug Rev. 2007;25(2):188-203.

280. Lowenstern A, Storey RF, Neely M, Sun J-L, Angiolillo DJ, Cannon CP, et al. Platelet-related biomarkers and their response to inhibition with aspirin and p2y12-receptor antagonists in patients with acute coronary syndrome. J Thromb Thrombolysis. août 2017;44(2):145-53.

281. Wykrzykowska JJ, Warnholtz A, de Jaeger P, Curzen N, Oldroyd KG, Collet JP, et al. Effect of clopidogrel discontinuation at 1 year after drug eluting stent placement on soluble CD40L, P-selectin and C-reactive protein levels: DECADES (Discontinuation Effect of Clopidogrel After Drug Eluting Stent): a multicenter, open-label study. J Thromb Thrombolysis. nov 2009;28(4):410-7.

282. Wedemeyer R-S, Blume H. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors: an update. Drug Saf. avr 2014;37(4):201-11.

283. Schneider M. Target Therapy in SLE. Autoimmun Rev. janv 2019;18(1):21-4.

284. Serebruany VL, Hall TS, Atar D, Agewall S, Hyun Kim M, Geudelin B, et al. Mortality and adverse events with brand and generic clopidogrel in the US Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System. Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother. 1 oct 2019;5(4):210-5.

285. Burlinson EL, Graber P, Bonnefoy JY, Ozanne BW, Cushley W. Soluble CD40 ligand induces expression of CD25 and CD23 in resting human tonsillar B lymphocytes. Eur J Immunol. mai 1996;26(5):1069-73.

286. Fanslow WC, Srinivasan S, Paxton R, Gibson MG, Spriggs MK, Armitage RJ. Structural characteristics of CD40 ligand that determine biological function. Semin Immunol. oct 1994;6(5):267-78.

287. Mazzei GJ, Edgerton MD, Losberger C, Lecoanet-Henchoz S, Graber P, Durandy A, et al. Recombinant soluble trimeric CD40 ligand is biologically active. J Biol Chem. 31 mars 1995;270(13):7025-8.

288. Pietravalle F, Lecoanet-Henchoz S, Blasey H, Aubry JP, Elson G, Edgerton MD, et al. Human native soluble CD40L is a biologically active trimer, processed inside microsomes. J Biol Chem. 15 mars 1996;271(11):5965-7.

289. Dewitte A, Tanga A, Villeneuve J, Lepreux S, Ouattara A, Desmoulière A, et al. New frontiers for platelet CD154. Exp Hematol Oncol [Internet]. 1 mars 2015 [cité 11 juill 2020];4. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4355125/

290. Chen Y, Chen J, Xiong Y, Da Q, Xu Y, Jiang X, et al. Internalization of CD40 regulates its signal transduction in vascular endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun. 23 juin 2006;345(1):106-17.

291. Anand SX, Viles-Gonzalez JF, Badimon JJ, Cavusoglu E, Marmur JD. Membrane-associated CD40L and sCD40L in atherothrombotic disease. Thromb Haemost. sept 2003;90(3):377-84.

292. Gremmel T, Ay C, Riedl J, Kopp CW, Eichelberger B, Koppensteiner R, et al. Platelet-specific markers are associated with monocyte-platelet aggregate formation and thrombin generation potential in advanced atherosclerosis. Thromb Haemost. mars 2016;115(3):615-21.

293. Mobarrez F, Sjövik C, Soop A, Hållström L, Frostell C, Pisetsky DS, et al. CD40L expression in plasma of volunteers following LPS administration: A comparison between assay of CD40L on platelet microvesicles and soluble CD40L. Platelets. 2015;26(5):486-90.

294. Snoep JD, Hovens MMC, Eikenboom JCJ, van der Bom JG, Jukema JW, Huisman MV. Clopidogrel nonresponsiveness in patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis. Am Heart J. août 2007;154(2):221-31.

295. Deharo P, Cuisset T. Monitoring platelet function: what have we learned from randomized clinical trials? Cardiovasc Diagn Ther. oct 2018;8(5):621-9.

296. Tantry US, Bonello L, Aradi D, Price MJ, Jeong Y-H, Angiolillo DJ, et al. Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding. J Am Coll Cardiol. 17 déc 2013;62(24):2261-73.

297. Sibbing D, Aradi D, Alexopoulos D, Ten Berg J, Bhatt DL, Bonello L, et al. Updated Expert Consensus Statement on Platelet Function and Genetic Testing for Guiding P2Y12 Receptor Inhibitor Treatment in Percutaneous Coronary Intervention. JACC Cardiovasc Interv. 26 2019;12(16):1521-37.

298. Gurbel PA, Tantry US. Clopidogrel resistance? Thromb Res. 2007;120(3):311-21.

299. Fefer P, Matetzky S. The genetic basis of platelet responsiveness to clopidogrel. A critical review of the literature. Thromb Haemost. août 2011;106(2):203-10.

300. Sultan CS, Weitnauer M, Turinsky M, Kessler T, Brune M, Gleissner CA, et al. Functional association of a CD40 gene single-nucleotide polymorphism with the pathogenesis of coronary heart disease. Cardiovasc Res. 1 mai 2020;116(6):1214-25.

301. Bae S-C, Lee YH. Association between CD40 polymorphisms and systemic lupus erythematosus and correlation between soluble CD40 and CD40 ligand levels in the disease: a meta-analysis. Lupus. oct 2019;28(12):1452-9.

302. Xiang Y, Guo J, Peng Y-F, Huang H-T, Lan Y, Wei Y-S. Association study of CD154 polymorphisms and serum CD154 level with systemic lupus erythematous in Chinese population. Rheumatol Int. août 2017;37(8):1287-94.

303. Arnaud L, Mathian A, Bruckert E, Amoura Z. [Assessing the cardiovascular risk in patients with systemic lupus erythematosus]. Rev Med Interne. nov 2014;35(11):723-9.

304. Felten R, Sagez F, Gavand P-E, Martin T, Korganow A-S, Sordet C, et al. 10 most important contemporary challenges in the management of SLE. Lupus Sci Med. 2019;6(1):e000303.

305. Henrot P, Foret J, Barnetche T, Lazaro E, Duffau P, Seneschal J, et al. Assessment of subclinical atherosclerosis in systemic lupus erythematosus: A systematic review and meta-analysis. Joint Bone Spine. 2018;85(2):155-63.

306. Kravvariti E, Konstantonis G, Sfikakis PP, Tektonidou MG. Progression of subclinical atherosclerosis in systemic lupus erythematosus versus rheumatoid arthritis: the impact of low disease activity. Rheumatology (Oxford). 01 2018;57(12):2158-66.

307. Andrades C, Fuego C, Manrique-Arija S, Fernández-Nebro A. Management of cardiovascular risk in systemic lupus erythematosus: a systematic review. Lupus. nov 2017;26(13):1407-19.

308. Arnaud L, Mathian A, Adoue D, Bader-Meunier B, Baudouin V, Belizna C, et al. [Screening and management of cardiovascular risk factors in systemic lupus erythematosus: Recommendations for clinical practice based on the literature and expert opinion]. Rev Med Interne. juin 2015;36(6):372-80.

309. Chiarito M, Sanz-Sánchez J, Cannata F, Cao D, Sturla M, Panico C, et al. Monotherapy with a P2Y12 inhibitor or aspirin for secondary prevention in patients with established atherosclerosis: a systematic review and meta-analysis. Lancet. 09 2020;395(10235):1487-95.

310. Petri M. Antiphospholipid syndrome. Transl Res. 12 mai 2020;

311. Tektonidou MG, Andreoli L, Limper M, Amoura Z, Cervera R, Costedoat-Chalumeau N, et al. EULAR recommendations for the management of antiphospholipid syndrome in adults. Ann Rheum Dis. 2019;78(10):1296-304.

312. Limper M, de Leeuw K, Lely AT, Westerink J, Teng YKO, Eikenboom J, et al. Diagnosing and treating antiphospholipid syndrome: a consensus paper. Neth J Med. 2019;77(3):98-108.

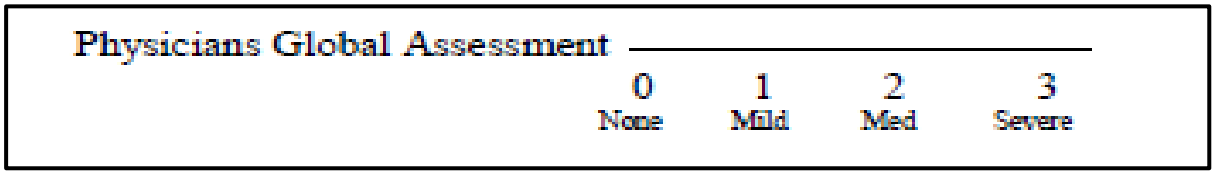
ANNEXES

A1 : Critères de classification du LES proposés par l'ACR en 1982 et actualisés en 1997

1. Rash malaire ;
2. Lupus discoïde ;
3. Photosensibilité ;
4. Ulcérations orales ou nasopharyngées ;
5. Arthrites non érosives touchant au moins 2 articulations périphériques, caractérisées 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/µl constatée à 2 reprises, ou
   - Lymphopénie < 1 500/µl constatée à 2 reprises, ou
   - Thrombopénie < 100 000/µl, 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, anticorps anti-Sm, ou présence d'anticorps antiphospholipides : 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 4 des 11 critères « de classification » proposés par l'ACR permet d'affirmer l'existence d'un LS avec une sensibilité et une spécificité de 96 %. Ces critères, qui surreprésentent les items dermatologiques, sont des critères de classification et **ne doivent pas être utilisés dans un but diagnostique à l'échelon individuel (par exemple : le diagnostic de lupus systémique pourra être posé chez un patient avec une polyarthrite, des anticorps anti-nucléaires et des anticorps anti-Sm alors qu'il n'a que 3 critères ACR).** Ils ne sont notamment pas pertinents pour identifier un éventuel LS chez un malade porteur d'un SAPL.

A2 : PGA (Physician's Global Assessment) scale



La PGA est une échelle analogique visuelle d'évaluation globale de l'activité par le clinicien.

Échelle PGA sur 3	Niveau d'activité
PGA = 0	Nulle
PGA entre 0 et 1	Légère
PGA entre 2 et 2.5	Modérée
PGA ≥ 2.5	Sévère

A3 : Critères d'activité selon le score SLEDAI et révisions

Wt	Present	Descriptor	Definition
8	☐	Seizure	Recent onset. Exclude metabolic, infectious or drug cause
8	☐	Psychosis	Altered ability to function in normal activity due to severe disturbance in the perception of reality. Include hallucinations, incoherence, marked loose associations, impoverished thought content, marked illogical thinking, bizarre, disorganized, or catatonic behavior. Excluded uremia and drug causes.
8	☐	Organic Brain Syndrome	Altered mental function with impaired orientation, memory or other intelligent function, with rapid onset fluctuating clinical features. Include clouding of consciousness with reduced capacity to focus, and inability to sustain attention to environment, plus at least two of the following: perceptual disturbance, incoherent speech, insomnia or daytime drowsiness, or increased or decreased psychomotor activity. Exclude metabolic, infectious or drug causes.
8	☐	Visual Disturbance	Retinal changes of SLE. Include cytoid bodies, retinal hemorrhages, serious exodate or hemorrhages in the choroids, or optic neuritis. Exclude hypertension, infection, or drug causes.
8	☐	Cranial Nerve Disorder	New onset of sensory or motor neuropathy involving cranial nerves.
8	☐	Lupus Headache	Severe persistent headache: may be migrainous, but must be non-responsive to narcotic analgesia.
8	☐	CVA	New onset of cerebrovascular accident(s). Exclude arteriosclerosis
8	☐	Vasculitis	Ulceration, gangrene, tender finger nodules, periungual, infarction, splinter hemorrhages, or biopsy or angiogram proof of vasculitis
4	☐	Arthritis	More than 2 joints with pain and signs of inflammation (i.e. tenderness, swelling, or effusion).
4	☐	Myositis	Proximal muscle aching/weakness, associated with elevated creatine phosphokinase/adolase or electromyogram changes or a biopsy showing myositis.
4	☐	Urinary Casts	Heme-granular or red blood cell casts
4	☐	Hematuria	>5 red blood cells/high power field. Exclude stone, infection or other cause.
4	☐	Proteinuria	>0.5 gm/24 hours. New onset or recent increase of more than 0.5 gm/24 hours.
4	☐	Pyuria	>5 white blood cells/high power field. Exclude infection.
2	☐	New Rash	New onset or recurrence of inflammatory type rash.
2	☐	Alopecia	New onset or recurrence of abnormal, patchy or diffuse loss of hair.
2	☐	Mucosal Ulcers	New onset or recurrence of oral or nasal ulcerations

2	☐	Pleurisy	Pleuritic chest pain with pleural rub or effusion, or pleural thickening.
2	☐	Pericarditis	Pericardial pain with at least 1 of the following: rub, effusion, or electrocardiogram confirmation.
2	☐	Low Complement	Decrease in CH50, C3, or C4 below the lower limit of normal for testing laboratory.
2	☐	Increased DNA binding	>25% binding by Farr assay or above normal range for testing laboratory.
1	☐	Fever	>38°C. Exclude infectious cause
1	☐	Thrombocytopenia	<100,000 platelets/mm3
1	☐	Leukopenia	<3,000 White blood cell/mm3. Exclude drug causes.

SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index)

Le score SLEDAI décrit en 1992 mesure l'activité par l'évaluation des nouvelles manifestations survenues dans les 10 jours précédents l'évaluation. Les 24 items cliniques et biologiques sont pondérés de 1 à 8 et permettent de déterminer un score de 0 à 105.

SELENA-SLEDAI (Safety of Estrogen in Lupus Erythematosus National Assessment Group-SLEDAI)

Le score SELENA-SLEDAI est une modification du SLEDAI par l'ajout d'un glossaire apportant une définition précise des atteintes notamment neurologique et ajoutant certaines atteintes comme l'épisclérite. Il introduit la cotation d'atteinte chronique dont la présence est persistante.

SLEDAI-2k (SLEDAI 2000)

Le score SLEDAI-2k modifie en 2002 le SLEDAI en validant la cotation d'atteintes chroniques, soit la présence (nouvelle, récurrente ou persistante) de l'éruption cutanée, de l'alopécie, des ulcères muqueux et de la protéinurie supérieure à 0.5 g par 24h.

A4 : RCP du clopidogrel (selon http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0245911.htm)

1. DENOMINATION DU MEDICAMENT

CLOPIDOGREL ZYDUS 75 mg, comprimé pelliculé

2. COMPOSITION QUALITATIVE ET QUANTITATIVE

Clopidogrel 75 mg
(Sous forme de besilate)
Pour un comprimé pelliculé.
Pour la liste complète des excipients, voir rubrique 6.1.

3. FORME PHARMACEUTIQUE

Comprimé pelliculé.
Comprimé rose, biconvexe, avec un diamètre de 8,3 mm et gravé « 75 » sur une face

4. DONNEES CLINIQUES

4.1. Indications thérapeutiques

Prévention des événements athérothrombotiques

Le clopidogrel est indiqué :

- chez les patients adultes souffrant d'un infarctus du myocarde (datant de quelques jours à moins de 35 jours), d'un accident vasculaire cérébral ischémique (datant de plus de 7 jours et de moins de 6 mois) ou d'une artériopathie oblitérante des membres inférieurs établie.

4.2. Posologie et mode d'administration

Posologie

- Chez l'adulte et chez le sujet âgé

1 comprimé de clopidogrel à 75 mg en une prise quotidienne.

- En cas d'oubli d'une prise :

○ si le patient s'en aperçoit moins de 12 heures après l'horaire prévu de la prise : le patient doit prendre cette dose immédiatement puis prendre la dose suivante à l'horaire habituel.

○ si le patient s'en aperçoit plus de 12 heures après l'horaire prévu : le patient doit prendre la dose suivante à l'horaire habituel, sans doubler la dose.

- Population pédiatrique :
Le clopidogrel ne doit pas être utilisé chez les enfants en raison de problèmes d'efficacité (voir rubrique 5.1).

- Chez l'insuffisant rénal :

L'expérience de ce traitement est limitée chez les patients présentant une insuffisance rénale (voir rubrique 4.4).

- Chez l'insuffisant hépatique :

L'expérience de ce traitement est limitée chez les patients présentant une insuffisance hépatique modérée susceptible d'entraîner une diathèse hémorragique (voir rubrique 4.4).

Mode d'administration

Voie orale.
Ce médicament peut être administré au cours ou en dehors des repas.

4.3. Contre-indications

- Hypersensibilité à la substance active ou à l'un des excipients mentionnés à la rubrique 2 ou à la rubrique 6.1.

- Insuffisance hépatique sévère.

- Lésion hémorragique évolutive telle qu'un ulcère gastroduodénal ou une hémorragie intracrânienne.

4.4. Mises en garde spéciales et précautions d'emploi

Saignements et troubles hématologiques

En raison du risque de saignement et d'effets indésirables hématologiques, une Numération-Formule Sanguine et/ou tout autre examen approprié doivent être rapidement envisagés chaque fois que des signes cliniques évocateurs de saignement surviennent pendant le traitement (voir rubrique 4.8). Comme les autres antiagrégants plaquettaires, le clopidogrel doit être utilisé avec prudence chez les patients présentant une augmentation du risque de saignement liée à un traumatisme, à une intervention chirurgicale ou à toute autre cause et chez les patients traités par AAS, héparine, anti GPIIb-IIIa ou Anti- Inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS) y compris les inhibiteurs de la Cox-2 ou par inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine (ISRS). Une recherche soigneuse de tout signe de saignement, y compris de saignement occulte, doit être effectuée notamment pendant les premières semaines de traitement et/ou après gestes cardiaques invasifs ou chirurgie. L'administration simultanée de clopidogrel et d'anticoagulants oraux n'est pas recommandée, ces associations pouvant augmenter l'intensité des saignements (voir rubrique 4.5).
Dans le cas d'une intervention chirurgicale programmée, si un effet anti-agrégant plaquettaire n'est temporairement pas souhaitable, il convient d'arrêter le traitement par le clopidogrel 7 jours avant l'intervention. Les malades doivent informer leurs médecins et dentistes du traitement par le clopidogrel avant un geste chirurgical programmé et avant la prescription d'un nouveau médicament. Le clopidogrel allonge le temps de saignement et doit donc être utilisé avec prudence chez les patients ayant des lésions susceptibles de saigner (en particulier gastrointestinales et intraoculaires).
Les malades doivent être informés que le traitement par le clopidogrel (pris seul ou en association avec l'AAS) est susceptible d'allonger le temps de saignement et qu'ils doivent consulter un médecin en cas de saignement anormal (par sa localisation ou sa durée).

Purpura thrombopénique thrombotique (PTT)

De très rares cas de purpura thrombopénique thrombotique (PTT) ont été rapportés lors de l'utilisation de clopidogrel, parfois après un court délai d'exposition. Cette affection est caractérisée par une thrombopénie et une anémie hémolytique microangiopathique associées à des troubles neurologiques, des troubles de la fonction rénale ou de la fièvre. Le PTT est une affection d'évolution potentiellement fatale qui impose un traitement rapide incluant la plasmaphérèse.

Hémophilie acquise

Des cas d'hémophilie acquise ont été rapportés lors de l'utilisation de clopidogrel. En cas de confirmation de prolongation du temps de céphaline activée (TCA) isolée, avec ou sans saignement, une hémophilie acquise doit être envisagée. Les patients chez lesquels le diagnostic d'hémophilie acquise est confirmé doivent être pris en charge par un spécialiste et le traitement par clopidogrel doit être arrêté.

Accident vasculaire cérébral ischémique récent

En l'absence de données, le clopidogrel n'est pas recommandé dans les 7 premiers jours après un accident vasculaire cérébral ischémique aigu.

Cytochrome P450 2C19 (CYP2C19)

Pharmacogénétique : chez les patients qui sont métaboliseurs lents du CYP2C19, le clopidogrel administré aux doses recommandées entraîne moins de formation de métabolite actif du clopidogrel et a un effet antiagrégant plaquettaire moindre. Il existe des tests permettant d'identifier le génotype du CYP2C19 des patients.
Le clopidogrel étant transformé en métabolite actif en partie par le CYP2C19, l'utilisation de médicaments inhibant l'activité de cette enzyme serait susceptible d'entraîner une diminution du taux de métabolite actif du clopidogrel. La pertinence clinique de cette interaction est incertaine. Par mesure de précaution, l'association d'inhibiteurs puissants ou modérés du CYP2C19 doit être déconseillée (voir rubrique 4.5 pour la liste des inhibiteurs du CYP2C19 ; voir aussi rubrique 5.2).

Réactions croisées entre thiénopyridines

Des réactions croisées entre thiénopyridines ayant été rapportées, il convient donc de rechercher chez les patients tout antécédent d'hypersensibilité à une thiénopyridine (telle que clopidogrel, ticlopidine, prasugrel) (voir rubrique 4.8). Les thiénopyridines peuvent provoquer des réactions allergiques légères à sévères tels qu'un rash, un angioedème, ou des réactions hématologiques croisées telles qu'une thrombocytopénie ou une neutropénie. Les patients ayant un antécédent de réaction allergique et/ou de réaction hématologique à une thiénopyridine ont un risque accru de présenter la même ou une autre réaction à une autre thiénopyridine. Il est recommandé de surveiller la survenue des signes d'hypersensibilité chez les patients ayant un antécédent d'allergie à une thiénopyridine.

Insuffisance rénale

On ne dispose que de données limitées concernant l'utilisation du clopidogrel chez des malades ayant une insuffisance rénale. Le clopidogrel sera donc utilisé avec prudence chez ce type de malade (voir rubrique 4.2).

Insuffisance hépatique

De même, l'expérience avec le clopidogrel est limitée chez les malades présentant une insuffisance hépatique modérée susceptible d'entraîner une diathèse hémorragique. Le clopidogrel sera donc utilisé avec prudence dans cette population (voir rubrique 4.2).
Ce médicament contient du lactose. Son utilisation est déconseillée chez les patients présentant une intolérance au galactose, un déficit en lactase de lapp ou un syndrome de malabsorption du glucose ou du galactose (maladies héréditaires rares).

4.5. Interactions avec d'autres médicaments et autres formes d'interactions

Anticoagulants oraux : l'administration simultanée de clopidogrel et d'anticoagulants oraux n'est pas recommandée, ces associations pouvant augmenter l'intensité des saignements (voir rubrique 4.4).
Bien que l'administration de 75 mg/jr de clopidogrel n'ait pas modifié les paramètres pharmacocinétiques de la S-warfarine, ni l'INR (International Normalised Ratio) chez les patients traités au long cours par la warfarine, l'association du clopidogrel et de la warfarine augmente le risque de saignement, en raison de leurs effets indépendants sur l'hémostase.

Anti GPIIb-IIIa : le clopidogrel doit être utilisé avec prudence chez les patients traités par anti GPIIb-IIIa (voir rubrique 4.4).
Acide acétylsalicylique (AAS) : l'AAS n'a pas modifié l'inhibition exercée par le clopidogrel sur l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP, tandis que le clopidogrel a potentialisé l'activité de l'AAS sur l'agrégation plaquettaire induite par le collagène. Cependant, l'administration simultanée de 500 mg d'AAS deux fois par jour pendant une journée n'a pas modifié de façon significative l'allongement du temps de saignement provoqué par le clopidogrel. Une interaction pharmacodynamique entre le clopidogrel et l'AAS est possible, conduisant à une augmentation du risque de saignement. Par conséquent, l'administration simultanée de ces deux produits devra être entreprise avec prudence (voir rubrique 4.4). Cependant, le clopidogrel et l'AAS ont été administrés en association pendant des durées allant jusqu'à un an (voir rubrique 5.1).
Héparine : dans une étude clinique réalisée chez des sujets sains, il n'a pas été nécessaire de modifier la posologie de l'héparine et l'activité de l'héparine sur la coagulation n'a pas été altérée. L'administration simultanée d'héparine n'a pas modifié l'inhibition de l'agrégation plaquettaire due au clopidogrel. Une interaction pharmacodynamique entre le clopidogrel et l'héparine est possible, conduisant à une augmentation du risque de saignement. Par conséquent, l'administration simultanée de ces deux produits devra être entreprise avec prudence (voir rubrique 4.4).
Thrombolytiques : la tolérance de l'administration simultanée de clopidogrel, de thrombolytiques spécifiques ou non de la fibrine et d'héparines a été étudiée chez des patients présentant un infarctus du myocarde aigu. La fréquence des saignements cliniquement significatifs a été similaire à celle observée lors de l'administration simultanée de thrombolytiques et d'héparine avec l'AAS (voir rubrique 4.8).
AINS : une étude clinique réalisée chez des volontaires sains a montré que l'administration concomitante de clopidogrel et de naproxène a augmenté la fréquence des hémorragies digestives occultes. Cependant, en raison du manque d'études d'interactions avec d'autres AINS, il n'est pas actuellement clairement établi si le risque d'augmentation de saignements gastro-intestinaux existe avec tous les AINS. Par conséquent, l'association clopidogrel/AINS y compris les inhibiteurs de la Cox-2 impose la prudence (voir rubrique 4.4).
Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) : les ISRS ayant une action sur l'activation plaquettaire et augmentant le risque de saignement, l'administration concomitante d'un ISRS avec le clopidogrel doit être entreprise avec prudence.
Interactions avec d'autres médicaments : le clopidogrel étant transformé en métabolite actif en partie par le CYP2C19, l'utilisation de médicaments inhibant l'activité de cette enzyme serait susceptible d'entraîner une diminution du taux du métabolite actif du clopidogrel. La pertinence clinique de cette interaction est incertaine. Par mesure de précaution, l'association d'inhibiteurs puissants ou modérés du CYP2C19 doit être déconseillée (voir rubriques 4.4 et 5.2).
Les médicaments inhibant le CYP2C19 sont notamment : oméprazole et ésoméprazole, fluvoxamine, fluoxétine, moclobémide, voriconazole, fluconazole, ticlopidine, ciprofloxacine, cimétidine, carbamazépine, oxcarbazépine et chloramphénicol.
Inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) :
L'administration de 80 mg d'oméprazole en une prise par jour, soit en même temps que le clopidogrel, soit à 12 heures d'intervalle, a diminué l'exposition au métabolite actif de 45% (à la dose de charge) et de 40% (à la dose d'entretien). L'inhibition de l'agrégation plaquettaire a également diminué, de 39% (à la dose de charge) et de 21% (à la dose d'entretien). Une interaction similaire est attendue avec l'ésoméprazole.
Des données contradictoires sur les conséquences cliniques de cette interaction pharmacocinétique (PK) / pharmacodynamique (PD) en termes de survenue d'événements cardiovasculaires majeurs ont été rapportées dans des études observationnelles et cliniques. Par mesure de précaution, l'association d'oméprazole ou d'ésoméprazole doit être déconseillée (voir rubrique 4.4).
Une diminution moins prononcée de l'exposition au métabolite actif a été observée avec le pantoprazole ou le lansoprazole.
Les concentrations plasmatiques du métabolite actif ont diminué de 20% (à la dose de charge) et de 14% (à la dose d'entretien) lors de l'association de 80 mg de pantoprazole en une prise par jour. L'inhibition moyenne de l'agrégation plaquettaire a également diminué de 15% et 11%, respectivement. Ces résultats indiquent que le pantoprazole peut être associé au clopidogrel. Il n'y a pas de preuve montrant que les autres médicaments réduisant l'acidité gastrique tels que les antihistaminiques H2 (à l'exception de la cimétidine qui est un inhibiteur du CYP2C19) ou les antiacides interfèrent avec l'activité antiplaquettaire du clopidogrel.
Autres médicaments : plusieurs autres études cliniques ont été réalisées en vue de déterminer les éventuelles interactions pharmacodynamiques et pharmacocinétiques entre le clopidogrel et d'autres

médicaments administrés simultanément. Aucune interaction pharmacodynamique notable au plan clinique n'a été constatée lors de l'administration simultanée de clopidogrel et d'aténolol, de nifédipine, ou de ces deux médicaments à la fois. De plus, l'activité pharmacodynamique du clopidogrel n'a pas présenté de modification sensible en cas d'administration simultanée de phénobarbital ou d'œstrogènes.
L'administration concomitante du clopidogrel n'a pas modifié les paramètres pharmacocinétiques de la digoxine ni ceux de la théophylline. Les antiacides n'ont pas eu d'influence sur l'absorption du clopidogrel.
Les données de l'étude CAPRIE montrent que l'association du tolbutamide et de la phénytoïne (qui sont métabolisés par le CYP2C9) avec le clopidogrel est bien tolérée.
En dehors des interactions médicamenteuses spécifiques décrites ci-dessus, aucune autre étude d'interaction entre le clopidogrel et certains médicaments couramment utilisés chez les patients ayant une maladie athérothrombotique n'a été réalisée. Cependant, les patients inclus dans les études cliniques du clopidogrel ont reçu de nombreux médicaments associés incluant des diurétiques, bêtabloquants, IEC, inhibiteurs calciques, hypocholestérolémiants, vasodilatateurs coronariens, antidiabétiques (dont l'insuline), antiépileptiques et anti GPIIb-IIIa, sans manifestation notable d'interaction médicamenteuse cliniquement significative.

4.6. Grossesse et allaitement

Grossesse

Dans la mesure où il n'existe pas de données cliniques sur l'utilisation du clopidogrel pendant la grossesse, par mesure de précaution, il est préférable de ne pas utiliser le clopidogrel pendant la grossesse.
Les études chez l'animal n'ont pas montré d'effets délétères directs ou indirects sur la gestation, le développement embryonnaire ou fœtal, l'accouchement ou le développement post-natal (voir rubrique 5.3).

Allaitement

Dans l'espèce humaine il n'existe pas de données concernant l'excrétion du clopidogrel dans le lait maternel. Les études réalisées chez l'animal ont montré une excrétion du clopidogrel dans le lait maternel. Par mesure de précaution, l'allaitement ne devrait pas être continué en cas de traitement par clopidogrel.

Fertilité

Les études effectuées chez l'animal n'ont pas montré d'altération de la fécondité avec le clopidogrel.

4.7. Effets sur l'aptitude à conduire des véhicules et à utiliser des machines

Le clopidogrel n'a aucun effet ou un effet négligeable sur l'aptitude à conduire des véhicules et à utiliser des machines.

4.8. Effets indésirables

Résumé du profil de tolérance

La tolérance du clopidogrel a été étudiée chez plus de 44 000 patients ayant participé aux études cliniques dont plus de 12 000 ont été traités pendant un an ou plus. Dans le cadre de l'étude CAPRIE, la tolérance du clopidogrel 75 mg/jour s'est montré globalement comparable à celle de l'AAS 325 mg/jour, indépendamment de l'âge, du sexe et de la race. Les effets indésirables notables au plan clinique qui ont été enregistrés au cours des études CAPRIE, CURE, CLARITY, COMMIT et ACTIVE-A sont présentés ci après. En plus de l'expérience au cours des études cliniques, des effets indésirables ont été spontanément rapportés.

Les saignements sont les effets indésirables les plus fréquemment rapportés tant dans les études cliniques que depuis la mise sur le marché. Ils sont principalement rapportés pendant le premier mois de traitement.
Dans CAPRIE, chez les malades traités par clopidogrel ou par AAS, la fréquence globale de saignements a été de 9,3%. La fréquence des épisodes sévères était similaire pour le clopidogrel et pour l'AAS.
Dans CURE, il n'a pas été constaté d'augmentation des saignements majeurs avec l'association clopidogrel + AAS dans les 7 jours suivant un pontage coronarien chez les malades qui avaient arrêté leur traitement plus de 5 jours avant la chirurgie. Chez les malades qui sont restés sous traitement au cours de ces 5 jours, cette fréquence a été de 9,6% pour le groupe clopidogrel + AAS et de 6,3% pour le groupe placebo +AAS.
Dans CLARITY, une augmentation globale des saignements a été constatée dans le groupe clopidogrel + AAS vs le groupe placebo + AAS. La fréquence des saignements majeurs était similaire entre les 2 groupes. Ceci était homogène dans les sous-groupes de patients définis selon les caractéristiques initiales des patients et le type de traitement fibrinolytique ou d'héparine.
Dans COMMIT, le taux global des hémorragies majeures non cérébrales et des hémorragies cérébrales était faible et similaire dans les 2 groupes.
Dans ACTIVE-A, le taux de saignements majeurs a été supérieur dans le groupe clopidogrel + AAS par rapport au groupe placebo + AAS (6,7% versus 4,3%). Les saignements majeurs étaient essentiellement d'origine extracrânienne dans les 2 groupes (5,3% dans le groupe clopidogrel + AAS versus 3,5% dans le groupe placebo + AAS), principalement d'origine gastro-intestinale (3,5% vs 1,8%). Il y a eu plus de saignements intracrâniens dans le groupe clopidogrel + AAS que dans le groupe placebo + AAS (respectivement 1,4% versus 0,8%). Il n'y a eu aucune différence statistiquement significative entre les 2 groupes, ni sur les hémorragies à issue fatale (1,1% dans le groupe clopidogrel + AAS versus 0,7% dans le groupe placebo + AAS), ni sur les AVC hémorragiques (respectivement 0,8% versus 0,6%).

Tableau des effets indésirables

Les effets indésirables survenus soit pendant les études cliniques soit spontanément rapportés, sont présentés dans le tableau ci-dessous. Leur fréquence est définie en utilisant la convention suivante : fréquent (>1/100 à <1/10) ; peu fréquent (>1/1 000 à <1/100) ; rare (>1/10 000 à <1/1 000) ; très rare (<1/10 000), fréquence indéterminée (ne peut être estimée sur la base des données disponibles). Pour chaque classe de système d'organes, les effets indésirables sont présentés suivant un ordre décroissant de gravité.

Système classe-organe	Fréquent	Peu fréquent	Rare	Très rare, fréquence indéterminée*
Affections hématologiques et du système lymphatique		Thrombocytopénie, leucopénie, éosinophilie	Neutropénie, y compris neutropénie sévère	Purpura thrombopénique thrombotique (PTT) (voir rubrique 4.4), aplasie médullaire, pancytopénie, agranulocytose, thrombocytopénie sévère, hémophilie A acquise, granulocytopénie, anémie
Affections du système immunitaire				Maladie sérique, réactions anaphylactoïdes, réactions allergiques croisées entre thiénopyridines (telles que ticlopidine, prasugrel) (voir rubrique 4.4)*

Affections psychiatriques				Hallucinations, confusion
Affections du système nerveux		Hémorragie intracrânienne (quelques cas dont l'issue a été fatale ont été rapportés), céphalée, paresthésie, étourdissement		Troubles du goût
Affections oculaires		Saignement oculaire (conjonctival, intra-oculaire, rétinien)		
Affections de l'oreille et du labyrinthe			Vertige	
Affections vasculaires	Hématome			Hémorragie grave, hémorragie d'une plaie opératoire, vascularite, hypotension
Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales	Epistaxis			Saignement des voies respiratoires (hémoptysie, hémorragie pulmonaire), bronchospasme, pneumopathie interstitielle, pneumopathie à éosinophiles
Affections gastro-intestinales	Hémorragie gastro-intestinale, diarrhée, douleur abdominale, dyspepsie	Ulcère gastrique et ulcère duodénal, gastrite, vomissement, nausée, constipation, flatulence	Hémorragie rétro-péritonéale	Hémorragie gastro-intestinale et rétro-péritonéale à issue fatale, pancréatite, colite (dont colite ulcéreuse et colite lymphocytaire), stomatite
Affections hépato-biliaires				Insuffisance hépatique aiguë, hépatite, anomalie des tests de la fonction hépatique
Affections de la peau et du tissu sous-cutané	Contusion	Rash, prurit, saignement cutané (purpura)		Eruption bulleuse (syndrome de Lyell, Syndrome de Stevens-Johnson, érythème polymorphe), angioedème, syndrome d'hypersensibilité médicamenteuse, syndrome de DRESS (rash cutané avec éosinophilie et symptômes systémiques), rash érythémateux, exfoliation cutanée, urticaire, eczéma, lichen plan
Affections musculo-squelettiques,				Saignement musculo-articulaire

systémiques et osseuses				(hémarthrose), arthrite, arthralgie, myalgie
Affections du rein et des voies urinaires		Hématurie		Glomérulonéphrite, élévation de la créatininémie
Troubles généraux et anomalies liées à l'administration	Saignement au point d'injection			Fièvre
Investigations (examens biologiques)		Allongement du temps de saignement, diminution du nombre de neutrophiles, diminution du nombre des plaquettes		

* Information relative au clopidogrel, avec fréquence "indéterminée".

Déclaration des effets indésirables suspectés
La déclaration des effets indésirables suspectés après autorisation du médicament est importante. Elle permet une surveillance continue du rapport bénéfice/risque du médicament. Les professionnels de santé déclarent tout effet indésirable suspecté via le système national de déclaration : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (Ansm) et réseau des Centres Régionaux de Pharmacovigilance - Site internet: www.ansm.sante.fr.

4.9. Surdosage

Le surdosage peut conduire à un allongement du temps de saignement et à des complications hémorragiques. L'instauration d'un traitement approprié doit être envisagée en cas de saignement.
Il n'existe aucun antidote connu à l'activité pharmacologique du clopidogrel. Si une correction rapide d'un temps de saignement prolongé est nécessaire, une transfusion plaquettaire peut corriger les effets du clopidogrel.

5. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES

5.1. Propriétés pharmacodynamiques

Classe pharmacothérapeutique: inhibiteurs de l'agrégation plaquettaire à l'exclusion de l'héparine, code ATC: B01AC-04.

Mécanisme d'action

Le clopidogrel est une pro-drogue dont l'un des métabolites est un inhibiteur de l'agrégation plaquettaire. Le clopidogrel doit être métabolisé par les enzymes du cytochrome P450 pour que soit synthétisé son métabolite actif qui inhibe l'agrégation plaquettaire. Le métabolite actif du clopidogrel inhibe de façon sélective la fixation de l'adénosine diphosphate (ADP) à son récepteur plaquettaire $P2Y_{12}$, et donc l'activation du complexe GPIIb-IIIa provoquée par l'ADP, de sorte que l'agrégation plaquettaire est inhibée. Suite à cette fixation irréversible, le fonctionnement des plaquettes est modifié pour le reste de leur durée de vie (environ 7 à 10 jours) et la restauration d'une fonction plaquettaire normale correspond à la période de renouvellement des plaquettes. L'agrégation plaquettaire provoquée par d'autres agonistes de l'ADP est également inhibée par la neutralisation de l'amplification de l'activation plaquettaire par l'ADP libéré.
Le métabolite actif étant synthétisé par les enzymes du cytochrome P450, dont certaines sont polymorphes ou inhibées par d'autres médicaments, tous les patients n'auront pas une inhibition plaquettaire adaptée.

Effets pharmacodynamiques

L'administration répétée de 75 mg par jour s'est traduite par une inhibition importante de l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP à partir du 1er jour de traitement; cette inhibition augmente progressivement pour atteindre un plateau d'équilibre entre le 3ème et le 7ème jour. A l'état d'équilibre, la dose quotidienne de 75 mg par jour a permis d'obtenir un taux moyen d'inhibition de 40% à 60%. L'agrégation plaquettaire et le temps de saignement sont revenus progressivement à leurs valeurs initiales, généralement dans les 5 jours après l'arrêt du traitement.

Efficacité et sécurité clinique

La tolérance et l'efficacité du clopidogrel ont été évaluées au cours de 5 études menées en double-aveugle chez plus de 88 000 patients : l'étude CAPRIE qui a comparé le clopidogrel à l'AAS et les études CURE, CLARITY, COMMIT et ACTIVE-A qui ont comparé le clopidogrel à un placebo, les 2 médicaments étant administrés en association à l'AAS et à d'autres traitements conventionnels.

Infarctus du myocarde (IDM) récent, accident vasculaire cérébral récent ou artériopathie oblitérante des membres inférieurs établie

L'étude CAPRIE a inclus 19 185 malades ayant une localisation d'athérothrombose qui s'est manifestée par un infarctus du myocarde récent (< 35 jours), un accident vasculaire cérébral ischémique récent (entre 7 jours et 6 mois) ou une artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI) établie. Les malades ont été répartis de façon aléatoire dans les deux groupes de traitement : clopidogrel à raison de 75 mg/jour ou AAS à raison de 325 mg/jour et ils ont été suivis pendant 1 à 3 ans. Dans le sous-groupe des malades inclus pour infarctus du myocarde, la plupart ont reçu de l'AAS pendant les tout premiers jours suivant la phase aiguë d'infarctus du myocarde.
Le clopidogrel a réduit de façon significative la fréquence de survenue de nouveaux accidents ischémiques (critère d'évaluation combinant l'infarctus du myocarde, l'accident vasculaire cérébral ischémique et le décès d'origine vasculaire) par rapport à l'AAS. Dans l'analyse en intention de traiter, 939 événements ont été observés dans le groupe sous clopidogrel et 1 020 événements dans le groupe sous AAS (réduction du risque relatif (RRR) 8,7%, [95% IC : 0,2 à 16,4; p=0,045). Ceci permet, par rapport à l'AAS, d'éviter chez 10 patients supplémentaires (IC : 0 à 20), sur 1 000 traités pendant 2 ans, la survenue d'un nouvel événement ischémique. L'analyse de la mortalité totale (critère secondaire) ne montre aucune différence significative entre le clopidogrel (5,8%) et l'AAS (6,0%).
Dans une analyse en sous-groupe par événement qualifiant (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral ischémique, artériopathie oblitérante des membres inférieurs), le bénéfice est apparu plus important (atteignant une significativité statistique de p=0,003) chez les malades inclus pour une artériopathie oblitérante des membres inférieurs (plus particulièrement chez ceux qui avaient aussi un antécédent d'infarctus du myocarde) (RRR=23,7%; IC : 8,9 à 36,2) et plus faible (non significativement différent de l'AAS) chez les malades inclus pour accident vasculaire cérébral (RRR=7,3% ; IC : -5,7 à 18,7 [p=0,258]). Chez les malades qui ont été inclus dans l'étude avec comme seul critère un infarctus du myocarde récent, le résultat sous clopidogrel était numériquement inférieur, mais non statistiquement différent de celui sous AAS (RRR=-4,0%; IC : -22,5 à 11,7 [p=0,639]). De plus, une analyse en sousgroupe par âge a suggéré que le bénéfice du clopidogrel chez les malades de plus de 75 ans était inférieur à celui observé chez les malades âgés de 75 ans ou moins.
Puisque l'étude CAPRIE n'a pas été conçue pour avoir la puissance statistique nécessaire pour évaluer l'efficacité dans chacun des sous-groupes, il n'est pas évident que les différences observées dans la réduction du risque relatif en fonction de l'événement qualifiant soient réelles ou le résultat du hasard.

Population pédiatrique

Une étude de titration de posologie du clopidogrel (Etude PICOLO) a été réalisée chez 86 nouveau-nés ou nourrissons âgés au maximum de 24 mois présentant un risque de thrombose ; aux doses consécutives de 0,01, 0,1 et 0,2 mg/kg chez les nouveau-nés et les nourrissons, et de 0,15 mg/kg chez les nouveau-nés uniquement.
La dose de 0,2 mg/kg a permis d'atteindre un pourcentage moyen d'inhibition de 49,3 % (agrégation plaquettaire induite par l'ADP de 5 µM), résultat comparable à celui observé chez des adultes traités par 75 mg par jour de clopidogrel.
Dans une étude randomisée (Etude CLARINET), en double aveugle, en groupes parallèles réalisée chez 906 nouveau-nés et nourrissons atteints d'une cardiopathie congénitale cyanogène corrigée par anastomose artérielle aorto-pulmonaire ont été randomisés pour recevoir soit le clopidogrel 0,2 mg/kg

(n=467) soit le placebo (n=439) en combinaison avec un traitement de fond concomitant jusqu'à la deuxième étape chirurgicale.
La durée moyenne entre l'anastomose artérielle aorto-pulmonaire et la première administration du médicament à l'étude était de 20 jours.
Environ 88 % des patients ont reçu de l'acide acétylsalicylique (ASA) en association à la dose de 1 à 23 mg/kg/jour).
Aucune différence significative entre les groupes de traitement n'a été observée sur le critère d'évaluation composite associant décès, thrombose de l'anastomose ou intervention attribuable à une maladie cardiaque avant un délai de 120 jours après un évènement de nature thrombotique, soit respectivement (89 [19,1 %] dans le groupe clopidogrel et 90 [20,5 %] dans le groupe placebo) (voir rubrique 4.2).
Le saignement a été l'effet indésirable le plus fréquemment signalé dans les deux groupes (clopidogrel et placebo). Cependant, aucune différence significative des taux de saignement n'a été observée entre les deux groupes.
Lors du suivi de la tolérance à long terme de cette étude, 26 patients dont l'anastomose était toujours en place à un an ont reçu le clopidogrel jusqu'à 18 mois. Aucun événement nouveau relatif à la tolérance n'a été observé pendant le suivi à long terme de cette étude.
Les études CLARINET et PICOLO ont été réalisées en utilisant une solution reconstituée de clopidogrel.
Une étude de biodisponibilité relative chez l'adulte, a montré que la solution reconstituée de clopidogrel présentait une exposition similaire et une vitesse d'absorption légèrement plus rapide sur la base du principal métabolite circulant (inactif) en comparaison au comprimé autorisé.

5.2. Propriétés pharmacocinétiques

Absorption

Le clopidogrel est rapidement absorbé après administration orale d'une dose unique ou de doses répétées de 75 mg/jour. Les concentrations plasmatiques maximales moyennes de clopidogrel inchangé (environ 2,2 à 2,5 ng/ml après administration orale d'une dose unique de 75 mg) sont obtenues environ 45 minutes après l'administration. Les données d'élimination urinaire des métabolites de clopidogrel indiquent que le taux d'absorption est au moins égal à 50%.

Distribution

In vitro, le clopidogrel et son principal métabolite circulant (inactif) se lient de façon réversible aux protéines plasmatiques humaines (taux de liaison respectifs de 98% et de 94%). Cette liaison aux protéines n'est pas saturable *in vitro* sur une large gamme de concentrations.

Biotransformation

Le clopidogrel subit une biotransformation importante au niveau hépatique.
In vitro et in vivo, le clopidogrel est métabolisé selon 2 principales voies métaboliques : la première par le biais des estérases, conduisant à une hydrolyse en dérivé acide carboxylique inactif (correspondant à 85% des métabolites circulants), et la deuxième par le biais des cytochromes P450. Le clopidogrel est d'abord transformé en métabolite intermédiaire 2-oxo-clopidogrel. La deuxième étape est une transformation de ce métabolite intermédiaire 2-oxo-clopidogrel en métabolite actif, un dérivé thiol du clopidogrel. *In vitro*, cette voie métabolique passe par les CYP3A4, CYP2C19, CYP1A2 et CYP2B6. Le métabolite actif thiol, qui a été isolé *in vitro*, se fixe rapidement et de façon irréversible aux récepteurs plaquettaires, inhibant ainsi l'agrégation plaquettaire.
La C_{max} du métabolite actif est multipliée par 2 après une dose de charge unique de 300 mg de clopidogrel versus après 4 jours de traitement à une dose d'entretien de 75 mg par jour. La Cmax est observée environ 30 à 60 minutes après la prise.

Elimination

Après l'administration par voie orale d'une dose de clopidogrel marqué au 14C chez l'homme, 50% environ de la dose sont éliminés dans les urines et 46% environ dans les selles au cours des 120 heures qui suivent l'administration. Après l'administration par voie orale d'une dose unique de 75 mg de

clopidogrel, la demi-vie d'élimination du clopidogrel est de 6 heures environ. La demi-vie d'élimination du principal métabolite circulant (inactif) a été de 8 heures tant après administration d'une dose unique qu'après administration réitérée.

Pharmacogénétique

Le CYP2C19 est impliqué dans la synthèse à la fois du métabolite actif et du métabolite intermédiaire 2- oxo-clopidogrel. Selon des études d'agrégation plaquettaire réalisées ex-vivo, les propriétés pharmacocinétiques et antiagrégantes du métabolite actif du clopidogrel diffèrent selon le génotype du CYP2C19.
L'allèle CYP2C19*1 correspond à un métabolisme fonctionnel complet tandis que les allèles CYP2C19*2 et CYP2C19*3 ne sont pas fonctionnels. Les allèles CYP2C19*2 et CYP2C19*3 représentent la majorité des allèles à fonction réduite chez les métaboliseurs lents caucasiens (85%) et asiatiques (99%). Les autres allèles associés à une absence de métabolisme ou à un métabolisme réduit sont moins fréquents et sont notamment les CYP2C19*4, *5, *6, *7 et *8. Un patient métaboliseur lent possède 2 allèles non fonctionnels, tels que définis ci-dessus. Les fréquences publiées des génotypes du CYP2C19 associés à une faible métabolisation sont d'environ 2% chez les caucasiens, 4% chez les noirs et 14% chez les chinois. Il existe des tests permettant d'identifier le génotype du CYP2C19 des patients.
Une étude en cross-over, menée chez 40 sujets sains, 10 dans chacun des 4 groupes de métaboliseurs du CYP2C19 (ultrarapides, rapides, intermédiaires et lents), a évalué les paramètres pharmacocinétiques et les réponses antiagrégantes après administration soit de 300 mg, suivi de 75 mg par jour, soit de 600 mg, suivi de 150 mg par jour, chaque groupe étant traité pendant une durée de 5 jours (concentration à l'équilibre). Aucune différence importante ni dans l'exposition au métabolite actif, ni dans l'inhibition moyenne de l'agrégation plaquettaire (IAP) n'a été observée entre les métaboliseurs ultrarapides, rapides et intermédiaires. Chez les métaboliseurs lents, l'exposition au métabolite actif a diminué de 63-71% par rapport aux métaboliseurs rapides. Après administration de la posologie à 300 mg/75 mg, les réponses antiagrégantes ont diminué chez les métaboliseurs lents, avec une IAP moyenne (avec 5µM d'ADP) de 24% (à 24 heures) et de 37% (à J5). L'IAP chez les métaboliseurs rapides est de 39 % (à 24 heures) et de 58% (à J5), celle chez les métaboliseurs intermédiaires étant de 37% (à 24 heures) et de 60% (à J5). Chez les métaboliseurs lents ayant reçu la posologie à 600 mg/150 mg, l'exposition au métabolite actif était supérieur par rapport à ceux ayant reçu la posologie à 300 mg/75 mg. De plus, l'IAP était de 32% (à 24 heures) et de 61% (à J5), soit supérieure à l'IAP chez les métaboliseurs lents ayant reçu la posologie 300 mg/75 mg, et était similaire à l'IAP des autres groupes de métaboliseurs du CYP2C19 ayant reçu la posologie 300 mg/75 mg. La posologie optimale pour cette population n'a pas été établie dans des essais cliniques.
Dans une méta-analyse de 6 études incluant 335 sujets traités par clopidogrel à la concentration d'équilibre, l'exposition au métabolite actif a diminué de 28% chez les métaboliseurs intermédiaires et de 72% chez les métaboliseurs lents, tandis que l'IAP (avec 5 µM d'ADP) a diminué de 5,9% et de 21,4% respectivement, par rapport aux métaboliseurs rapides. Les résultats de cette méta-analyse sont cohérents avec ceux de l'étude présentée ci-dessus.
L'influence du génotype du CYP2C19 sur les événements cliniques chez les patients traités par clopidogrel n'a pas été évaluée dans des essais prospectifs, randomisés, contrôlés. Cependant, plusieurs analyses rétrospectives ont évalué les effets chez les patients traités par clopidogrel en fonction du génotype : CURE (n=2721), CHARISMA (n=2428), CLARITY-TIMI 28 (n=227), TRITON-TIMI 38 (n=1477) et ACTIVE-A (n=601), ainsi que plusieurs études de cohorte publiées.
Dans TRITON-TIMI 38 et dans 3 des études de cohorte (Collet, Sibbing, Giusti), les patients métaboliseurs intermédiaires et lents, rassemblés dans un même groupe, ont présenté un taux d'événements cardiovasculaires (décès, infarctus du myocarde et AVC) ou de thrombose de stent supérieur aux métaboliseurs rapides.
Dans CHARISMA et dans 1 des études de cohorte (Simon), l'augmentation du taux d'événements n'a été observée que chez les métaboliseurs lents, par rapport aux métaboliseurs rapides.
Dans CURE, CLARITY, ACTIVE-A et dans 1 des études de cohorte (Trenk), aucune augmentation du taux d'événements n'a été observée en fonction du type de métabolisation.
Aucune de ces études n'a inclus suffisamment de patients pour permettre de détecter des différences sur les événements cliniques chez les métaboliseurs lents.

Populations particulières

Les propriétés pharmacocinétiques du métabolite actif du clopidogrel ne sont pas connues chez ces populations particulières.

Chez l'insuffisant rénal

Après une administration réitérée de 75 mg/jour, chez les sujets présentant une insuffisance rénale sévère (clairance de la créatinine entre 5 et 15 ml/min), l'inhibition de l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP a été plus faible (25%) que celle observée chez les sujets sains, cependant, l'allongement du temps de saignement a été similaire à l'allongement constaté chez les sujets sains ayant reçu 75 mg de clopidogrel par jour. De plus, la tolérance clinique a été bonne chez tous les patients.

Chez l'insuffisant hépatique

Après l'administration de doses répétées de 75 mg par jour de clopidogrel pendant 10 jours chez les patients présentant une insuffisance hépatique sévère, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP a été similaire à celle observée chez les sujets sains. L'allongement du temps de saignement moyen a également été similaire dans les 2 groupes.

Particularités ethniques

La prévalence des différents allèles du CYP2C19 à l'origine d'un métabolisme intermédiaire et faible varie en fonction de la race (voir Pharmacogénétique). Les données de la littérature permettant d'évaluer les conséquences cliniques en fonction du génotype du CYP2C19 dans la population asiatique sont limitées.

5.3. Données de sécurité préclinique

Les effets les plus fréquemment observés lors des essais non cliniques réalisés chez le rat et le babouin ont été des modifications hépatiques. Celles-ci se sont produites à des doses représentant une exposition au moins 25 fois supérieure à celle observée chez l'homme recevant une dose thérapeutique de 75 mg/jour et ont été la conséquence de l'effet sur les enzymes du métabolisme hépatique. Aucun effet sur les enzymes du métabolisme hépatique n'a été observé chez l'homme recevant du clopidogrel à la dose thérapeutique.
A des doses très importantes, une mauvaise tolérance gastrique du clopidogrel (gastrites, érosions gastriques et/ou vomissements) a aussi été rapportée chez le rat et le babouin.
Aucun effet cancérigène n'a été relevé lors de l'administration du clopidogrel à des souris pendant 78 semaines et à des rats pendant 104 semaines à des doses allant jusqu'à 77 mg/kg/jour (représentant au moins 25 fois l'exposition chez un être humain recevant une dose thérapeutique de 75 mg/jour).
Le clopidogrel a été testé dans des études de génotoxicité *in vitro* et *in vivo* et n'a pas montré d'activité génotoxique.
Le clopidogrel n'a exercé aucune incidence sur la fertilité des rats mâles et femelles et n'a présenté de tératogénicité ni chez le rat ni chez le lapin. Administré à des rats en période de lactation, le clopidogrel a été responsable d'un léger retard dans le développement de la progéniture. Des études de pharmacocinétique spécifique réalisées avec du clopidogrel radiomarqué ont montré que la molécule mère ou ses métabolites étaient excrétés dans le lait. En conséquence, un effet direct (légère toxicité) ou indirect (goût peu agréable) ne peut être exclu.

6. DONNEES PHARMACEUTIQUES

6.1. Liste des excipients

Amidon prégélatinisé, cellulose microcristalline, crospovidone, silice colloïdale anhydre, acide stéarique.
Pelliculage: cire de Carnauba, OPADRY II rose 31K34111 [lactose monohydraté, hypromellose, dioxyde de titane (E171), triacétine (E1518), oxyde de fer rouge (E172)].

6.2. Incompatibilités

Sans objet.

6.3. Durée de conservation

2 ans.

6.4. Précautions particulières de conservation

A conserver à une température ne dépassant pas 25°C.

6.5. Nature et contenu de l'emballage extérieur

14, 28, 30, 50, 84, 90 ou 100 comprimés pelliculés sous plaquettes thermoformées (OPA/Alu/PVC/Alu).
Toutes les présentations peuvent ne pas être commercialisées.

6.6. Précautions particulières d'élimination et de manipulation

Tout produit non utilisé ou déchet doit être éliminé conformément à la réglementation en vigueur.

7. TITULAIRE DE L'AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHE

ZYDUS FRANCE
ZAC les hautes pâtures, parc d'activité des peupliers, 25 rue des peupliers, 92000 NANTERRE

8. NUMERO(S) D'AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHE

- 396 973-0 ou 34009 396 973 0 7: 14 comprimés pelliculés sous plaquettes thermoformées (OPA/Alu/PVC/Alu).

- 396 974-7 ou 34009 396 974 7 5: 28 comprimés pelliculés sous plaquettes thermoformées (OPA/Alu/PVC/Alu).

- 396 975-3 ou 34009 396 975 3 6: 30 comprimés pelliculés sous plaquettes thermoformées (OPA/Alu/PVC/Alu).

- 396 977-6 ou 34009 396 977 6 5: 50 comprimés pelliculés sous plaquettes thermoformées (OPA/Alu/PVC/Alu).

- 396 978-2 ou 34009 396 978 2 6: 84 comprimés pelliculés sous plaquettes thermoformées (OPA/Alu/PVC/Alu).

- 396 979-9 ou 34009 396 979 9 4: 90 comprimés pelliculés sous plaquettes thermoformées (OPA/Alu/PVC/Alu).

- 396 980-7 ou 34009 396 980 7 6: 100 comprimés pelliculés sous plaquettes thermoformées (OPA/Alu/PVC/Alu)

Impact du clopidogrel sur le CD40 ligand soluble plasmatique chez des patients atteints de lupus érythémateux systémique : résultats de l'étude pilote de phase I/II « CLOPUS »

Objectif : les interactions CD40–CD40 ligand (CD40L) sont impliquées dans la pathogénie du lupus érythémateux systémique (LES). Les plaquettes représentant le principal réservoir de CD40L soluble (sCD40L), nous avons effectué une étude pilote pour évaluer l'impact d'un inhibiteur plaquettaire, le clopidogrel, sur les taux plasmatiques de sCD40L chez des patients atteints de LES.
Méthodes : Nous avons effectué un essai de phase I/II, ouvert, à un bras, chez des patients porteurs de LES quiescent (pas de poussée dans les 3 mois avant l'inclusion) qui recevaient 75 mg de clopidogrel par jour durant 12 semaines. Le critère de jugement principal était la modification du taux de sCD40L plasmatique 12 semaines après l'inclusion. Les patients ont été suivis 4 semaines après la dernière dose. Cette étude a été enregistrée sur ClinicalTrials.gov, NCT02320357.
Résultats : Entre août 2015 et avril 2017, 24 patients ont été identifiés et 18 inclus. La concentration moyenne de sCD40L plasmatique a diminué la première semaine de traitement sans atteindre la significativité statistique (p = 0.09) puis s'est stabilisée jusqu'à la semaine 12 (p = 0.34). L'activation plaquettaire, évaluée par les niveaux d'expression de CD154+ (CD40L) et CD62+ (P-sélectine), a été significativement réduite après un jour de clopidogrel (p = 0.002). Deux patients ont arrêté le traitement en raison d'événement indésirable ou de décision personnelle. Le clopidogrel a été bien toléré avec seulement un incident hémorragique grave (ménorragie de grade 3).
Conclusion : le clopidogrel tend à diminuer l'activation plaquettaire chez les patients lupiques mais son effet sur la concentration de sCD40L reste à démontrer. Une plus grande étude contrôlée est nécessaire pour confirmer nos résultats avant d'envisager un essai clinique randomisé.

Mots clés : lupus érythémateux systémique, plaquettes, auto-immunité, clopidogrel, CD40/CD40L

The impact of clopidogrel on plasma-soluble CD40 ligand levels in systemic lupus erythematosus patients: the CLOPUS phase I/II pilot study.

Objective: CD40–CD40 ligand (CD40L) interactions are involved in systemic lupus erythematosus (SLE) pathogenesis. As platelets represent the main reservoir of soluble CD40L (sCD40L), we performed a pilot study to assess the impact of the platelet inhibitor clopidogrel on plasma sCD40L levels in SLE patients.
Methods: We performed a single-arm, open-label, phase I/II trial of clopidogrel in patients with quiescent SLE (no flare within 3 months before inclusion). Patients received clopidogrel 75 mg per day for 12 weeks. The primary outcome was the change in the plasma sCD40L concentration at 12 weeks after inclusion. Patients were followed for 4 weeks after the final dose. This study was registered on ClinicalTrials.gov, NCT02320357.
Results: Between August 2015 and April 2017, 24 patients were screened and 18 were included. The mean plasma sCD40L concentration decreased during the first week of treatment without achieving statistical significance (p = 0.09) and then plateaued until week 12 (p = 0.34). One day of clopidogrel significantly reduced platelet activation, as assessed by CD154+ (CD40L) and CD62+ (P-selectin) expression levels (p = 0.002). Two patients discontinued the treatment due to an adverse event or personal decision. Clopidogrel was well tolerated, with only a single serious bleeding incident (menorrhagia grade 3).
Conclusion: clopidogrel tends to decrease platelet activation in SLE patients, but its effect on the sCD40L concentration remains to be demonstrated. A more extensive controlled study is needed to confirm our results before considering a randomized clinical trial.

Keywords: systemic lupus erythematosus, platelets, auto-immunity, clopidogrel, CD40/CD40L

Guillaume Vial, Médecine Interne, U.F.R. des Sciences Médicales, Université de Bordeaux