

THÈSE

**PRÉSENTÉE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

Diplôme d'État
DES Médecine Interne

PAR

JACQUEL Léa

Née le 06/11/1992 à Sélestat

Syndrome Primaire des Antiphospholipides :

**Description clinico-biologique et apport des outils de biologie moléculaire
dans la caractérisation d'une cohorte de 21 patients « triple positifs »**

Président de thèse : Professeur Anne-Sophie KORGANOW

Directeur de thèse : Docteur Aurélien GUFFROY

**FACULTÉ DE MÉDECINE, MAÏEUTIQUE ET
SCIENCES DE LA SANTÉ**

Edition FEVRIER 2022
Année universitaire 2021-2022



- **Président de l'Université** M. DENEKEN Michel
- **Doyen de la Faculté** M. SIBILIA Jean
- **Premier Doyen de la Faculté** M. DERUELLE Philippe
- **Doyens honoraires :** (1976-1983) M. DORNER Marc
- (1983-1989) M. MANTZ Jean-Marie
- (1989-1994) M. VINCENDON Guy
- (1994-2001) M. GERLINGER Pierre
- (2001-2011) M. LUCES Bertrand
- **Chargé de mission auprès du Doyen** M. VICENTE Gilbert
- **Responsable Administratif** M. STEEGMANN Geoffroy



HOPITAUX UNIVERSITAIRES
DE STRASBOURG (HUS)
Directeur général : M. GALY Michaël

A1 - PROFESSEUR TITULAIRE DU COLLEGE DE FRANCE

MANDEL Jean-Louis Chaire "Génétique humaine" (à compter du 01.11.2003)

A2 - MEMBRE SENIOR A L'INSTITUT UNIVERSITAIRE DE FRANCE (I.U.F.)

BAHRAM Séiamak Immunologie biologique (01.10.2013 au 31.09.2018)
DOLLFUS Hélène Génétique clinique (01.10.2014 au 31.09.2019)

A3 - PROFESSEUR(E)S DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS (PU-PH)

PO224	NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
	ADAM Philippe P0001	NRP6 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service d'Hospitalisation des Urgences de Traumatologie / HP	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
	AKLADIOS Cherif P0191	NRP6 CS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique/ HP	54.03 Gynécologie-Obstétrique ; gynécologie médicale Option : Gynécologie-Obstétrique
	ANDRES Emmanuel P0002	RP6 CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Serv. de Médecine Interne, Diabète et Maladies métaboliques/HC	53.01 Option : médecine Interne
	ANHEIM Mathieu P0003	NRP6 NCS	• Pôle Tête et Cou-CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Haute-pierre	49.01 Neurologie
	Mme ANTAL Maria Cristina M0003 / P0219	NRP6 CS	• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Haute-pierre • Institut d'Histologie / Faculté de Médecine	42.02 Histologie, Embryologie et Cytogénétique (option biologique)
	ARNAUD Laurent P0186	NRP6 NCS	• Pôle MIRNED - Service de Rhumatologie / Hôpital de Haute-pierre	50.01 Rhumatologie
	BACHELLIER Philippe P0004	RP6 CS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Serv. de chirurgie générale, hépatique et endocrinienne et Transplantation / HP	53.02 Chirurgie générale
	BAHRAM Seiamak P0005	NRP6 CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil - Institut d'Hématologie et d'Immunologie / Hôpital Civil / Faculté	47.03 Immunologie (option biologique)
	BAUMERT Thomas P0007	NRP6 CS	• Pôle Hépato-digestif de l'Hôpital Civil - Institut de Recherche sur les Maladies virales et hépatiques/Fac	52.01 Gastro-entérologie ; hépatologie Option : hépatologie
	Mme BEAU-FALLER Michèle M0007 / P0170	NRP6 NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.03 Biologie cellulaire (option biologique)
	BEAUJEUX Rémy P0008	NRP6 CS	• Pôle d'Imagerie - CME / Activités transversales • Unité de Neuroradiologie interventionnelle / Haute-pierre	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
	BECMEUR François P0009	NRP6 NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Chirurgie Pédiatrique / Hôpital Haute-pierre	54.02 Chirurgie infantile
	BERNA Fabrice P0192	NRP6 CS	• Pôle de Psychiatrie, Santé mentale et Addictologie - Service de Psychiatrie I / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes ; Addictologie Option : Psychiatrie d'Adultes
	BERTSCHY Gilles P0013	RP6 CS	• Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychiatrie II / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes
	BIERRY Guillaume P0178	NRP6 NCS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie II - Neuroradiologie-imagerie ostéoarticulaire-Pédiatrie / Hôpital Haute-pierre	43.02 Radiologie et Imagerie médicale (option clinique)
	BILBAULT Pascal P0014	RP6 CS	• Pôle d'Urgences / Réanimations médicales / CAP - Service des Urgences médico-chirurgicales Adultes / HP	48.02 Réanimation ; Médecine d'urgence Option : médecine d'urgence
	BLANC Frédéric P0213	NRP6 NCS	• Pôle de Gériatrie - Service Evaluation - Gériatrie - Hôpital de la Robertsau	53.01 Médecine interne ; addictologie Option : gériatrie et biologie du vieillissement
	BODIN Frédéric P0187	NRP6 NCS	• Pôle de Chirurgie Maxillo-faciale, morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie Plastique et maxillo-faciale / Hôpital Civil	50.04 Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique ; Brûlologie
	BONNEMAINS Laurent M0099 / P0215	NRP6 NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie 1 - Hôpital de Haute-pierre	54.01 Pédiatrie
	BONNOMET François P0017	NRP6 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service d'Orthopédie-Traumatologie du Membre inférieur / HP	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
	BOURCIER Tristan P0018	NRP6 NCS	• Pôle de Spécialités médicales-Ophthalmologie / SMO - Service d'Ophthalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophthalmologie
	BOURGIN Patrice P0020	NRP6 CS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie - Unité du Sommeil / Hôpital Civil	49.01 Neurologie
	Mme BRIGAND Cécile P0022	NRP6 NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale
	BRUANT-RODIER Catherine P0023	NRP6 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie Plastique et Maxillo-faciale / HP	50.04 Option : chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
	Mme CAILLARD-OHLMANN Sophie P0171	NRP6 NCS	• Pôle de Spécialités médicales-Ophthalmologie / SMO - Service de Néphrologie-Transplantation / NHC	52.03 Néphrologie

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
CASTELAIN Vincent P0027	NRP6 NCS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation médicale / Hôpital Hautepierre	48.02 Réanimation
CHAKFE Nabil P0029	NRP6 CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Serv. de Chirurgie vasculaire et de transplantation rénale NHC	51.04 Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire Option : chirurgie vasculaire
CHARLES Yann-Philippe M0013 / P0172	NRP6 NCS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie du rachis / Chirurgie B / HC	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mme CHARLOUX Anne P0028	NRP6 NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option biologique)
Mme CHARPIOT Anne P0030	NRP6 NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Serv. d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale / HP	55.01 Oto-rhino-laryngologie
Mme CHENARD-NEU Marie-Pierre P0041	NRP6 CS	• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Hautepierre	42.03 Anatomie et cytologie pathologiques (option biologique)
CLAVERT Philippe P0044	NRP6 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service d'Orthopédie-Traumatologie du Membre supérieur / HP	42.01 Anatomie (option clinique, orthopédie traumatologique)
COLLANGE Olivier P0193	NRP6 NCS	• Pôle d'Anesthésie / Réanimations chirurgicales / SAMU-SMUR - Service d'Anesthésiologie-Réanimation Chirurgicale / NHC	48.01 Anesthésiologie-Réanimation ; Médecine d'urgence (option Anesthésiologie- Réanimation - Type clinique)
COLLONGUES Nicolas M0116 / P0220	NRP6 NCS	• Pôle Tête et Cou-CETD - Centre d'Investigation Clinique / NHC et HP	49.01 Neurologie
CRIBIER Bernard P0045	NRP6 CS	• Pôle d'Urologie, Morphologie et Dermatologie - Service de Dermatologie / Hôpital Civil	50.03 Dermato-Vénérologie
de BLAY de GAIX Frédéric P0048	RP6 CS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Pneumologie / Nouvel Hôpital Civil	51.01 Pneumologie
de SEZE Jérôme P0057	NRP6 CS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Centre d'Investigation Clinique (CIC) - AX5 / Hôp. de Hautepierre	49.01 Neurologie
DEBRY Christian P0049	RP6 CS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Serv. d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale / HP	55.01 Oto-rhino-laryngologie
DERUELLE Philippe P0199	RP6 NCS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique / Hôpital de Hautepierre	54.03 Gynécologie-Obstétrique; gynécologie médicale: option gynécologie-obstétrique
Mme DOLLFUS-WALTMANN Hélène P0054	NRP6 CS	• Pôle de Biologie - Service de Génétique Médicale / Hôpital de Hautepierre	47.04 Génétique (type clinique)
EHLINGER Matthieu P0188	NRP6 NCS	• Pôle de l'Appareil Locomoteur - Service d'Orthopédie-Traumatologie du membre inférieur / HP	50.02 Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
Mme ENTZ-WERLE Natacha P0059	NRP6 NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie III / Hôpital de Hautepierre	54.01 Pédiatrie
Mme FACCA Sybille P0179	NRP6 CS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie de la Main - SOS Main / Hôp. Hautepierre	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mme FAFI-KREMER Samira P0060	NRP6 CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire (Institut) de Virologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Bactériologie-Virologie ; Hygiène Hospitalière Option Bactériologie-Virologie biologique
FAITOT François P0216	NRP6 NCS	• Pôle de Pathologie digestives, hépatiques et de la transplantation - Serv. de chirurgie générale, hépatique et endocrinienne et Transplantation / HP	53.02 Chirurgie générale
FALCOZ Pierre-Emmanuel P0052	NRP6 NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Chirurgie Thoracique / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
FORNECKER Luc-Matthieu P0208	NRP6 NCS	• Pôle d'Oncolo-Hématologie - Service d'hématologie / ICANS	47.01 Hématologie ; Transfusion Option : Hématologie
GALLIX Benoit P0214	NCS	• IHU - Institut Hospitalo-Universitaire - Hôpital Civil	43.02 Radiologie et imagerie médicale
GANGI Afshin P0062	RP6 CS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie A interventionnelle / Nouvel Hôpital Civil	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
GARNON Julien P0221	NRP6 NCS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie A interventionnelle / Nouvel Hôpital Civil	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
GAUCHER David P0063	NRP6 NCS	• Pôle des Spécialités Médicales - Ophtalmologie / SMO - Service d'Ophtalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophtalmologie
GENY Bernard P0064	NRP6 CS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option biologique)
GEORG Yannick P0200	NRP6 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Serv. de Chirurgie Vasculaire et de transplantation rénale / NHC	51.04 Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire/ Option : chirurgie vasculaire
GICOUEL Philippe P0065	NRP6 CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Chirurgie Pédiatrique / Hôpital de Hautepierre	54.02 Chirurgie infantile
GOICHOT Bernard P0066	NRP6 CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Médecine interne et de nutrition / HP	54.04 Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
Mme GONZALEZ Maria P0067	NRP6 CS	• Pôle de Santé publique et santé au travail - Service de Pathologie Professionnelle et Médecine du Travail/HC	46.02 Médecine et santé au travail Travail
GOTTENBERG Jacques-Eric P0068	NRP6 CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Rhumatologie / Hôpital Hautepierre	50.01 Rhumatologie
HANNEDOUCHE Thierry P0071	NRP6 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Néphrologie - Dialyse / Nouvel Hôpital Civil	52.03 Néphrologie
HANSMANN Yves P0072	RP6 NCS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service des Maladies infectieuses et tropicales / NHC	45.03 Option : Maladies infectieuses
Mme HELMS Julie M0114 / P0209	NRP6 NCS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation Médicale / Nouvel Hôpital Civil	48.02 Médecine Intensive-Réanimation
HIRSCH Edouard P0075	NRP6 NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie
IMPERIALE Alessio P0194	NRP6 NCS	• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine Nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
ISNER-HOROBETI Marie-Eve P0189	RP6 CS	• Pôle de Médecine Physique et de Réadaptation - Institut Universitaire de Réadaptation / Clémenceau	49.05 Médecine Physique et Réadaptation
JAUHAC Benoît P0078	NRP6 CS	• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie-virologie (biologique)
Mme JEANDIDIER Nathalie P0079	NRP6 CS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service d'Endocrinologie, diabète et nutrition / HC	54.04 Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
Mme JESEL-MOREL Laurence P0201	NRP6 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civil	51.02 Cardiologie
KALTENBACH Georges P0081	RP6 CS	• Pôle de Gériatrie - Service de Médecine Interne - Gériatrie / Hôpital de la Robertsau - Secteur Evaluation - Gériatrie / Hôpital de la Robertsau	53.01 Option : gériatrie et biologie du vieillissement

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
Mme KESSLER Laurence P0084	NRP6 NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Serv. d'Endocrinologie, Diabète, Nutrition et Addictologie/ Méd.B/HC	54.04 Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
KESSLER Romain P0085	NRP6 NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Pneumologie / Nouvel Hôpital Civil	51.01 Pneumologie
KINDO Michel P0195	NRP6 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie Cardio-vasculaire / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme KORGANOW Anne-Sophie P0087	NRP6 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne et d'Immunologie Clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
KREMER Stéphane M0038 / P0174	NRP6 CS	• Pôle d'Imagerie - Service Imagerie II - Neuroradio Ostéoarticulaire - Pédiatrie / HP	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
KUHN Pierre P0175	NRP6 CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Serv. de Néonatalogie et Réanimation néonatale (Pédiatrie II)/HP	54.01 Pédiatrie
KURTZ Jean-Emmanuel P0089	RP6 NCS	• Pôle d'Onco-Hématologie - Service d'hématologie / ICANS	47.02 Option : Cancérologie (clinique)
Mme LALANNE-TONGIO Laurence P0202	NRP6 CS	• Pôle de Psychiatrie, Santé mentale et Addictologie - Service de Psychiatrie I / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes ; Addictologie (Option : Addictologie)
LANG Hervé P0090	NRP6 NCS	• Pôle de Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, Chirurgie maxillofaciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie Urologique / Nouvel Hôpital Civil	52.04 Urologie
LAUGEL Vincent P0092	RP6 CS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie 1 / Hôpital Hautepierre	54.01 Pédiatrie
Mme LEJAY Anne M0102 / P0217	NRP6 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale cardiovasculaire - Service de Chirurgie vasculaire et de Transplantation rénale / NHC	51.04 Option : Chirurgie vasculaire
LE MINOR Jean-Marie P0190	NRP6 NCS	• Pôle d'Imagerie - Institut d'Anatomie Normale / Faculté de Médecine - Service de Neuroradiologie, d'imagerie Ostéoarticulaire et interventionnelle/ Hôpital de Hautepierre	42.01 Anatomie
LESSINGER Jean-Marc P0	RP6 CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie générale et spécialisée / LBGS / NHC - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / Hautepierre	82.00 Sciences Biologiques de Pharmacie
LIPSKER Dan P0093	NRP6 NCS	• Pôle de Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, Chirurgie maxillofaciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Dermatologie / Hôpital Civil	50.03 Dermato-vénérologie
LIVERNEAUX Philippe P0094	RP6 NCS	• Pôle de l'Appareil locomoteur - Service de Chirurgie de la Main - SOS Main / Hôp. de Hautepierre	50.02 Chirurgie orthopédique et traumatologique
MALOUF Gabriel P0203	NRP6 NCS	• Pôle d'Onco-hématologie - Service d'Oncologie médicale / ICANS	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option : Cancérologie
MARK Manuel P0098	NRP6 NCS	• Pôle de Biologie - Département Génomique fonctionnelle et cancer / IGBMC	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
MARTIN Thierry P0099	NRP6 NCS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne et d'Immunologie Clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
Mme MASCAUX Céline P0210	NRP6 NCS	• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Pneumologie / Nouvel Hôpital Civil	51.01 Pneumologie ; Addictologie
Mme MATHÉLIN Carole P0101	NRP6 CS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Unité de Sénologie / ICANS	54.03 Gynécologie-Obstétrique ; Gynécologie Médicale
MAUVIEUX Laurent P0102	NRP6 CS	• Pôle d'Onco-Hématologie - Laboratoire d'Hématologie Biologique - Hôpital de Hautepierre - Institut d'Hématologie / Faculté de Médecine	47.01 Hématologie ; Transfusion Option Hématologie Biologique
MAZZUCOTELLI Jean-Philippe P0103	NRP6 CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie Cardio-vasculaire / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
MENARD Didier P0222	NRP6 NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale/PTM HUS	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
MERTES Paul-Michel P0104	RP6 CS	• Pôle d'Anesthésiologie / Réanimations chirurgicales / SAMU-SMUR - Service d'Anesthésiologie-Réanimation chirurgicale / NHC	48.01 Option : Anesthésiologie-Réanimation (type mixte)
MEYER Alain M0093 / P0223	NRP6 NCS	• Institut de Physiologie / Faculté de Médecine • Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option biologique)
MEYER Nicolas P0105	NRP6 NCS	• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Laboratoire de Biostatistiques / Hôpital Civil • Biostatistiques et Informatique / Faculté de médecine / Hôp. Civil	46.04 Biostatistiques, Informatique Médicale et Technologies de Communication (option biologique)
MEZIANI Ferhat P0106	NRP6 CS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation Médicale / Nouvel Hôpital Civil	48.02 Réanimation
MONASSIER Laurent P0107	NRP6 CS	• Pôle de Pharmacie-pharmacologie - Labo. de Neurobiologie et Pharmacologie cardio-vasculaire-EAT295 / Fac	48.03 Option : Pharmacologie fondamentale
MOREL Olivier P0108	NRP6 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civil	51.02 Cardiologie
MOULIN Bruno P0109	NRP6 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Néphrologie - Transplantation / Nouvel Hôpital Civil	52.03 Néphrologie
MUTTER Didier P0111	RP6 NCS	• Pôle Hépato-digestif de l'Hôpital Civil - Service de Chirurgie Viscérale et Digestive / NHC	52.02 Chirurgie digestive
NAMER Izzie Jacques P0112	NRP6 CS	• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine Nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
NOEL Georges P0114	NRP6 NCS	• Pôle d'Imagerie - Service de radiothérapie / ICANS	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option Radiothérapie biologique
NOLL Eric M0111 / P0218	NRP6 NCS	• Pôle d'Anesthésie Réanimation Chirurgicale SAMU-SMUR - Service Anesthésiologie et de Réanimation Chirurgicale - HP	48.01 Anesthésiologie-Réanimation
OHANA Mickaël P0211	NRP6 NCS	• Pôle d'Imagerie - Serv. d'Imagerie B - Imagerie viscérale et cardio-vasculaire / NHC	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
OHLMANN Patrick P0115	RP6 CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civil	51.02 Cardiologie
Mme OLLAND Anne P0204	NRP6 NCS	• Pôle de Pathologie Thoracique - Service de Chirurgie thoracique / Nouvel Hôpital Civil	51.03 Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme PAILLARD Catherine P0180	NRP6 CS	• Pôle médico-chirurgicale de Pédiatrie - Service de Pédiatrie III / Hôpital de Hautepierre	54.01 Pédiatrie
PELACCIA Thierry P0205	NRP6 NCS	• Pôle d'Anesthésie / Réanimation chirurgicales / SAMU-SMUR - Centre de formation et de recherche en pédagogie des sciences de la santé / Faculté	48.05 Réanimation ; Médecine d'urgence Option : Médecine d'urgences

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
Mme PERRETTA Silvana P0117	NRP6 NCS	• Pôle Hépatodigestif de l'Hôpital Civil - Service de Chirurgie Viscérale et Digestive / Nouvel Hôpital Civil	52.02 Chirurgie digestive
PESSAUX Patrick P0118	NRP6 CS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie Viscérale et Digestive / Nouvel Hôpital Civil	52.02 Chirurgie Digestive
PETIT Thierry P0119	CDp	• ICANS - Département de médecine oncologique	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option : Cancérologie Clinique
PIVOT Xavier P0206	NRP6 NCS	• ICANS - Département de médecine oncologique	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie Option : Cancérologie Clinique
POTTECHER Julien P0181	NRP6 CS	• Pôle d'Anesthésie / Réanimations chirurgicales / SAMU-SMUR - Service d'Anesthésie et de Réanimation Chirurgicale/Hautepierre	48.01 Anesthésiologie-réanimation ; Médecine d'urgence (option clinique)
PRADIGNAC Alain P0123	NRP6 NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Médecine interne et nutrition / HP	44.04 Nutrition
PROUST François P0182	NRP6 CS	• Pôle Tête et Cou - Service de Neurochirurgie / Hôpital de Hautepierre	49.02 Neurochirurgie
Pr RAUL Jean-Sébastien P0125	NRP6 CS	• Pôle de Biologie - Service de Médecine Légale, Consultation d'Urgences médico-judiciaires et Laboratoire de Toxicologie / Faculté et NHC • Institut de Médecine Légale / Faculté de Médecine	46.03 Médecine Légale et droit de la santé
REIMUND Jean-Marie P0126	NRP6 NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Serv. d'Hépatogastro-Entérologie et d'Assistance Nutritive / HP	52.01 Option : Gastro-entérologie
Pr RICCI Roméo P0127	NRP6 NCS	• Pôle de Biologie - Département Biologie du développement et cellules souches / IG BMC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
ROHR Serge P0128	NRP6 CS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale
ROMAIN Benoît M0061 / P0224	NRP6 NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale
Mme ROSSIGNOL-BERNARD Sylvie P0196	NRP6 NCS	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie I / Hôpital de Hautepierre	54.01 Pédiatrie
ROUL Gérard P0129	NRP6 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Cardiologie / Nouvel Hôpital Civi	51.02 Cardiologie
Mme ROY Catherine P0140	NRP6 CS	• Pôle d'Imagerie - Serv. d'Imagerie B - Imagerie viscérale et cardio-vasculaire / NHC	43.02 Radiologie et imagerie médicale (opt clinique)
SANANES Nicolas P0212	NRP6 NCS	• Pôle de Gynécologie-Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique/ HP	54.03 Gynécologie-Obstétrique ; gynécologie médicale Option : Gynécologie-Obstétrique
SAUER Arnaud P0183	NRP6 NCS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service d'Ophtalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophtalmologie
SAULEAU Erik-André P0184	NRP6 NCS	• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Service de Santé Publique / Hôpital Civil • Biostatistiques et Informatique / Faculté de médecine / HC	46.04 Biostatistiques, Informatique médicale et Technologies de Communication (option biologique)
SAUSSINE Christian P0143	RP6 CS	• Pôle d'Urologie, Morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie Urologique / Nouvel Hôpital Civil	52.04 Urologie
Mme SCHATZ Claude P0147	NRP6 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service d'Ophtalmologie / Nouvel Hôpital Civil	55.02 Ophtalmologie
Mme SCHLUTH-BOLARD Caroline P0225	NRP6 NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic Génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
SCHNEIDER Francis P0144	NRP6 CS	• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation médicale / Hôpital de Hautepierre	48.02 Réanimation
Mme SCHRÖDER Carmen P0185	NRP6 CS	• Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychothérapie pour Enfants et Adolescents / HC	49.04 Pédopsychiatrie ; Addictologie
SCHULTZ Philippe P0145	NRP6 NCS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Serv. d'Oto-rhino-laryngologie et de Chirurgie cervico-faciale / HP	55.01 Oto-rhino-laryngologie
SERFATY Lawrence P0197	NRP6 CS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service d'Hépatogastro-Entérologie et d'Assistance Nutritive/HP	52.01 Gastro-entérologie ; Hépatologie ; Addictologie Option : Hépatologie
SIBILIA Jean P0146	NRP6 NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Rhumatologie / Hôpital Hautepierre	50.01 Rhumatologie
STEPHAN Dominique P0150	NRP6 CS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Serv. des Maladies vasculaires-HTA-Pharmacologie clinique/NHC	51.04 Option : Médecine vasculaire
THAVEAU Fabien P0152	NRP6 NCS	• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Service de Chirurgie vasculaire et de transplantation rénale / NHC	51.04 Option : Chirurgie vasculaire
Mme TRANCHANT Christine P0153	NRP6 CS	• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie
VEILLON Francis P0155	NRP6 CS	• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie 1 - Imagerie viscérale, ORL et mammaire / HP	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
VELTEN Michel P0156	NRP6 NCS	• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Département de Santé Publique / Secteur 3 - Epidémiologie et Economie de la Santé / Hôpital Civil • Laboratoire d'Epidémiologie et de santé publique / HC / Faculté	46.01 Epidémiologie, économie de la santé et prévention (option biologique)
VETTER Denis P0157	NRP6 NCS	• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Médecine Interne, Diabète et Maladies métaboliques/HC	52.01 Option : Gastro-entérologie
VIDAILHET Pierre P0158	NRP6 CS	• Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychiatrie I / Hôpital Civil	49.03 Psychiatrie d'adultes
VIVILLE Stéphane P0159	NRP6 NCS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Pathologies tropicales / Faculté	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
VOGEL Thomas P0160	NRP6 CS	• Pôle de Gériatrie - Serv. de soins de suite et réadaptation gériatrique/Hôp.Robertsau	51.01 Option : Gériatrie et biologie du vieillissement
WEBER Jean-Christophe Pierre P0162	NRP6 CS	• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne / Nouvel Hôpital Civil	53.01 Option : Médecine Interne

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
WOLF Philippe P0207	NRP6 NCS	• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie Générale et de Transplantations multiorganes / HP - Coordonnateur des activités de prélèvements et transplantations des HU	53.02 Chirurgie générale
Mme WOLFF Valérie P0001	NRP6 CS	• Pôle Tête et Cou - Unité Neurovasculaire / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie

HC : Hôpital Civil - HP : Hôpital de Hautepierre - NHC : Nouvel Hôpital Civil - PTM = Plateau technique de microbiologie

* : CS (Chef de service) ou NCS (Non Chef de service hospitalier) Cspi : Chef de service par intérim CSp : Chef de service provisoire (un an)

CU : Chef d'unité fonctionnelle

P6 : Pôle RP6 (Responsable de Pôle) ou NRP6 (Non Responsable de Pôle)

Cons. : Consultanat hospitalier (poursuite des fonctions hospitalières sans chef de service) Dir : Directeur

(1) En surnombre universitaire jusqu'au 31.08.2018

(3) (7) Consultant hospitalier (pour un an) éventuellement renouvelable --> 31.08.2017

(5) En surnombre universitaire jusqu'au 31.08.2019 (8) Consultant hospitalier (pour une 2ème année) --> 31.08.2017

(6) En surnombre universitaire jusqu'au 31.08.2017 (9) Consultant hospitalier (pour une 3ème année) --> 31.08.2017

A4 - PROFESSEUR ASSOCIE DES UNIVERSITES

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
CALVEL Laurent	NRP6 CS	• Pôle Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Soins palliatifs / NHC	46.05 Médecine palliative
HABERSETZER François	CS	• Pôle Hépato-digestif - Service de Gastro-Entérologie - NHC	52.01 Gastro-Entérologie
MIYAZAKI Toru		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie Biologique / HC	
SALVAT Eric	CS	• Pôle Tête-Cou - Centre d'Evaluation et de Traitement de la Douleur / HP	

B1 - MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS (MCU-PH)

MO142			
NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
AGIN Arnaud M0001		• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et Médecine nucléaire
Mme ANTONI Delphine M0109		• Pôle d'Imagerie - Service de Radiothérapie / ICANS	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie
Mme AYME-DIETRICH Estelle M0117		• Pôle de Pharmacologie - Unité de Pharmacologie clinique / Faculté de Médecine	48.03 Pharmacologie fondamentale : pharmacologie clinique ; addictologie Option : pharmacologie fondamentale
Mme BIANCALANA Valérie M0008		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic Génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
BLONDET Cyrille M0091		• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire (option clinique)
BOUSIGES Olivier M0092		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
Mme BRU Valérie M0045		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale/PTM HUS • Institut de Parasitologie / Faculté de Médecine	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
Mme BUND Caroline M0129		• Pôle d'Imagerie - Service de médecine nucléaire et imagerie moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
CARAPITO Raphaël M0113		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil	47.03 Immunologie
CAZZATO Roberto M0118		• Pôle d'Imagerie - Service d'Imagerie A interventionnelle / NHC	43.02 Radiologie et imagerie médicale (option clinique)
Mme CEBULA Hélène M0124		• Pôle Tête-Cou - Service de Neurochirurgie / HP	49.02 Neurochirurgie
CERLINE Jocelyn M0012		• Pôle de Biologie - Département de Biologie structurale Intégrative / IGBMC	47.02 Cancérologie ; Radiothérapie (option biologique)
CHERRIER Thomas M0136		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil	47.03 Immunologie (option biologique)
CHOQUET Philippe M0014		• Pôle d'Imagerie - UF6237 - Imagerie Préclinique / HP	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
CLERE-JEHL Raphaël M0137		• Pôle Urgences - Réanimations médicales / Centre antipoison - Service de Réanimation médicale / Hôpital de Hautepierre	48.02 Réanimation
Mme CORDEANU Elena Mihaela M0138		• Pôle d'activité médico-chirurgicale Cardio-vasculaire - Serv. des Maladies vasculaires-HTA-Pharmacologie clinique/NHC	51.04 Option : Médecine vasculaire
DALI-YOUCHEF Ahmed Nassim M0017		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
DELHORME Jean-Baptiste M0130		• Pôle des Pathologies digestives, hépatiques et de la transplantation - Service de Chirurgie générale et Digestive / HP	53.02 Chirurgie générale
DEVYS Didier M0019		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
Mme DINKELACKER Véra M0131		• Pôle Tête et Cou - CETD - Service de Neurologie / Hôpital de Hautepierre	49.01 Neurologie
DOLLÉ Pascal M0021		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
Mme ENACHE Irina M0024		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / IGBMC	44.02 Physiologie
Mme FARRUGIA-JACAMON Audrey M0034		• Pôle de Biologie - Service de Médecine Légale, Consultation d'Urgences médico-judiciaires et Laboratoire de Toxicologie / Faculté et HC • Institut de Médecine Légale / Faculté de Médecine	46.03 Médecine Légale et droit de la santé
FELTEN Renaud M0139		• Pôle Tête et Cou - CETD - Centre d'Investigation Clinique (CIC) - AX5 / Hôpital de Hautepierre	48.04 Thérapeutique, Médecine de la douleur, Addictologie
FILISSETTI Denis M0025	CS	• Pôle de Biologie - Labo. de Parasitologie et de Mycologie médicale / PTM HUS et Faculté	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
FOUCHER Jack M0027		• Institut de Physiologie / Faculté de Médecine • Pôle de Psychiatrie et de santé mentale - Service de Psychiatrie I / Hôpital Civil	44.02 Physiologie (option clinique)
GANTNER Pierre M0132		• Pôle de Biologie - Laboratoire (Institut) de Virologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Bactériologie-Virologie ; Hygiène Hospitalière Option Bactériologie-Virologie biologique
GIES Vincent M0140		• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine Interne et d'Immunologie Clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
GRILLON Antoine M0133		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie-virologie (biologique)
GUERIN Eric M0032		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.03 Biologie cellulaire (option biologique)
GUFFROY Aurélien M0125		• Pôle de Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - Service de Médecine interne et d'immunologie clinique / NHC	47.03 Immunologie (option clinique)
Mme HARSAN-RASTEI Laura M0119		• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine Nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
HUBELE Fabrice M0033		• Pôle d'Imagerie - Service de Médecine nucléaire et Imagerie Moléculaire / ICANS - Service de Biophysique et de Médecine Nucléaire / NHC	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
KASTNER Philippe M0089		• Pôle de Biologie - Département Génomique fonctionnelle et cancer / IGBMC	47.04 Génétique (option biologique)
Mme KEMMEL Véronique M0036		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
KOCH Guillaume M0126		- Institut d'Anatomie Normale / Faculté de Médecine	42.01 Anatomie (Option clinique)
Mme KRASNY-PACINI Agata M0134		• Pôle de Médecine Physique et de Réadaptation - Institut Universitaire de Réadaptation / Clémenceau	49.05 Médecine Physique et Réadaptation
Mme LAMOUR Valérie M0040		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
Mme LANNES Béatrice M0041		• Institut d'Histologie / Faculté de Médecine • Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Hautepierre	42.02 Histologie, Embryologie et Cytogénétique (option biologique)
LAUVAUX Thomas M0042		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire / HP	44.03 Biologie cellulaire

NOM et Prénoms	CS*	Services Hospitaliers ou Institut / Localisation	Sous-section du Conseil National des Universités
LENORMAND Cédric M0103		• Pôle de Chirurgie maxillo-faciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Dermatologie / Hôpital Civil	50.03 Dermato-Vénérologie
HERMITTE Benoît M0115		• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Haute-pierre	42.03 Anatomie et cytologie pathologiques
LUTZ Jean-Christophe M0046		• Pôle de Chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, Chirurgie maxillofaciale, Morphologie et Dermatologie - Service de Chirurgie Plastique et Maxillo-faciale / Hôpital Civil	55.03 Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
MIGUET Laurent M0047		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Hématologie biologique / Hôpital de Haute-pierre et NHC	44.03 Biologie cellulaire (type mixte : biologique)
Mme MOUTOU Céline ép. GUNTNER M0049	CS	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic préimplantatoire / CMCO Schiltigheim	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
MULLER Jean M0050		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique (option biologique)
Mme NICOLAE Alina M0127		• Pôle de Biologie - Service de Pathologie / Hôpital de Haute-pierre	42.03 Anatomie et Cytologie Pathologiques (Option Clinique)
Mme NOURRY Nathalie M0011		• Pôle de Santé publique et Santé au travail - Serv. de Pathologie professionnelle et de Médecine du travail/HC	46.02 Médecine et Santé au Travail (option clinique)
PENCREAC'H Erwan M0052		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et biologie moléculaire / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire
PFUFF Alexander M0053		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale /PTM HUS	45.02 Parasitologie et mycologie
Mme PITON Amélie M0094		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / NHC	47.04 Génétique (option biologique)
Mme PORTER Louise M0135		• Pôle de Biologie - Service de Génétique Médicale / Hôpital de Haute-pierre	47.04 Génétique (type clinique)
PREVOST Gilles M0057		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie-virologie (biologique)
Mme RADOSAVLJEVIC Mirjana M0058		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie biologique / Nouvel Hôpital Civil	47.03 Immunologie (option biologique)
Mme REIX Nathalie M0095		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire / NHC - Service de Chirurgie / ICANS	43.01 Biophysique et médecine nucléaire
Mme RIOU Marianne M0141		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option clinique)
ROGUE Patrick (cf. A2) M0060		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Biochimie Générale et Spécialisée / NHC	44.01 Biochimie et biologie moléculaire (option biologique)
Mme ROLLAND Delphine M0121		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Hématologie biologique / Haute-pierre	47.01 Hématologie ; transfusion (type mixte : Hématologie)
Mme RUPPERT Elisabeth M0106		• Pôle Tête et Cou - Service de Neurologie - Unité de Pathologie du Sommeil / HC	49.01 Neurologie
Mme SABOU Alina M0096		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Parasitologie et de Mycologie médicale/PTM HUS - Institut de Parasitologie / Faculté de Médecine	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
Mme SCHEIDECKER Sophie M0122		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic génétique / Nouvel Hôpital Civil	47.04 Génétique
SCHRAMM Frédéric M0068		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie-virologie (biologique)
Mme SOLIS Morgane M0123		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Virologie / Hôpital de Haute-pierre	45.01 Bactériologie-Virologie ; hygiène hospitalière Option : Bactériologie-Virologie
Mme SORDET Christelle M0069		• Pôle de Médecine Interne, Rhumatologie, Nutrition, Endocrinologie, Diabétologie (MIRNED) - Service de Rhumatologie / Hôpital de Haute-pierre	50.01 Rhumatologie
Mme TALAGRAND-REBOUL Emilie M0142		• Pôle de Biologie - Institut (Laboratoire) de Bactériologie / PTM HUS et Faculté	45.01 Option : Bactériologie-virologie (biologique)
TALHA Samy M0070		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et explorations fonctionnelles / NHC	44.02 Physiologie (option clinique)
Mme TALON Isabelle M0039		• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Chirurgie Pédiatrique / Hôpital Haute-pierre	54.02 Chirurgie infantile
TELETIN Marius M0071		• Pôle de Biologie - Service de Biologie de la Reproduction / CMCO Schiltigheim	54.05 Biologie et médecine du développement et de la reproduction (option biologique)
VALLAT Laurent M0074		• Pôle de Biologie - Laboratoire d'Immunologie Biologique - Hôpital de Haute-pierre	47.01 Hématologie ; Transfusion Option Hématologie Biologique
Mme VELAY-RUSCH Aurélie M0128		• Pôle de Biologie - Laboratoire de Virologie / Hôpital Civil	45.01 Bactériologie-Virologie ; Hygiène Hospitalière Option Bactériologie-Virologie biologique
Mme VILLARD Odile M0076		• Pôle de Biologie - Labo. de Parasitologie et de Mycologie médicale / PTM HUS et Fac	45.02 Parasitologie et mycologie (option biologique)
Mme WOLF Michèle M0010		• Chargé de mission - Administration générale - Direction de la Qualité / Hôpital Civil	48.03 Option : Pharmacologie fondamentale
Mme ZALOSZYC Ariane ép. MARCANTONI M0116		• Pôle Médico-Chirurgical de Pédiatrie - Service de Pédiatrie I / Hôpital de Haute-pierre	54.01 Pédiatrie
ZOLL Jeffrey M0077		• Pôle de Pathologie thoracique - Service de Physiologie et d'Explorations fonctionnelles / HC	44.02 Physiologie (option clinique)

B2 - PROFESSEURS DES UNIVERSITES (monoappartenant)

Pr BONAHE Christian P0166

Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine

72. Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques

B3 - MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES (monoappartenant)

Mr KESSEL Nils	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72.	Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques
Mr LANDRE Lionel	ICUBE-UMR 7357 - Equipe IMIS / Faculté de Médecine	69.	Neurosciences
Mme THOMAS Marion	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72.	Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques
Mme SCARFONE Marianna M0082	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72.	Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques
Mr ZIMMER Alexis	Département d'Histoire de la Médecine / Faculté de Médecine	72.	Epistémologie - Histoire des sciences et des Techniques

C - ENSEIGNANTS ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE**C1 - PROFESSEURS ASSOCIES DES UNIVERSITES DE M. G. (mi-temps)**

Pr Ass. GRIES Jean-Luc	M0084	Médecine générale (01.09.2017)
Pre Ass. GROB-BERTHOU Anne	M0109	Médecine générale (01.09.2015)
Pr Ass. GUILLOU Philippe	M0089	Médecine générale (01.11.2013)
Pr Ass. HILD Philippe	M0090	Médecine générale (01.11.2013)
Pr Ass. ROUGERIE Fabien	M0097	Médecine générale (01.09.2014)

C2 - MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE - TITULAIRE

Dre CHAMBE Juliette	M0108	53.03 Médecine générale (01.09.2015)
Dr LORENZO Mathieu		53.03 Médecine générale

C3 - MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DES UNIVERSITES DE M. G. (mi-temps)

Dre DUMAS Claire		Médecine générale (01.09.2016 au 31.08.2019)
Dre SANSELME Anne-Elisabeth		Médecine générale
Dr SCHMITT Yannick		Médecine générale

D - ENSEIGNANTS DE LANGUES ETRANGERES**D1 - PROFESSEUR AGREGE, PRAG et PRCE DE LANGUES**

Mme ACKER-KESSLER Pia	M0085	Professeure certifiée d'Anglais (depuis 01.09.03)
Mme CANDAS Peggy	M0086	Professeure agrégée d'Anglais (depuis le 01.09.99)
Mme SIEBENBOUR Marie-Noëlle	M0087	Professeure certifiée d'Allemand (depuis 01.09.11)
Mme JUNGER Nicole	M0088	Professeure certifiée d'Anglais (depuis 01.09.09)
Mme MARTEN Susanne	M0098	Professeure certifiée d'Allemand (depuis 01.09.14)

E - PRATICIENS HOSPITALIERS - CHEFS DE SERVICE NON UNIVERSITAIRES

Dr ASTRUC Dominique	• Pôle médico-chirurgical de Pédiatrie - Service de Réanimation pédiatrique spécialisée et de surveillance continue / Hôpital de Hautepierre
Dr DE MARCHI Martin	• Pôle Oncologie médico-chirurgicale et d'Hématologie - Service d'Oncologie Médicale / ICANS
Mme Dre GERARD Bénédicte	• Pôle de Biologie - Laboratoire de Diagnostic Génétique / Nouvel Hôpital Civil
Mme Dre GOURIEUX Bénédicte	• Pôle de Pharmacie-pharmacologie - Service de Pharmacie-Stérilisation / Nouvel Hôpital Civil
Dr KARCHER Patrick	• Pôle de Gériatrie - Service de Soins de suite de Longue Durée et d'hébergement gériatrique / EHPAD / Hôpital de la Robertsau
Mme Dre LALLEMAN Lucie	• Pôle Urgences - SAMU67 - Médecine Intensive et Réanimation - Permanence d'accès aux soins de santé - La Boussole (PASS)
Dr LEFEBVRE Nicolas	• Pôle de Spécialités Médicales - Ophtalmologie - Hygiène (SMO) - Service des Maladies Infectieuses et Tropicales / Nouvel Hôpital Civil
Mme Dre ICHTRI Ali Isabella	• Pôle de Biologie - Laboratoire de biologie de la reproduction / CMCO de Schiltigheim
Mme Dre MARTIN-HUNYADI Catherine	• Pôle de Gériatrie - Secteur Evaluation / Hôpital de la Robertsau
Dr NISAND Gabriel	• Pôle de Santé Publique et Santé au travail - Service de Santé Publique - DIM / Hôpital Civil
Mme Dre PETIT Flore	• Pôle de Spécialités Médicales - Ophtalmologie - Hygiène (SMO) - UCSA
Dr PIRRELLO Olivier	• Pôle de Gynécologie et d'Obstétrique - Service de Gynécologie-Obstétrique / CMCO
Dr REY David	• Pôle Spécialités médicales - Ophtalmologie / SMO - «Le trait d'union» - Centre de soins de l'infection par le VIH / Nouvel Hôpital Civil
Mme Dre RONDE OUSTEAU Cécile	• Pôle Locomax - Service de Chirurgie Séptique / Hôpital de Hautepierre
Mme Dre RONGIERES Catherine	• Pôle de Gynécologie et d'Obstétrique - Centre Clinico Biologique d'AMP / CMC
Dr TCHOMAKOV Dimitar	• Pôle Médico-Chirurgical de Pédiatrie - Service des Urgences Médico-Chirurgicales pédiatriques / Hôpital de Hautepierre
Mme Dre WEISS Anne	• Pôle Urgences - SAMU67 - Médecine Intensive et Réanimation - SAMU

F1 - PROFESSEURS ÉMÉRITES

- o *de droit et à vie (membre de l'Institut)*
CHAMBON Pierre (Biochimie et biologie moléculaire)
MANDEL Jean-Louis (Génétique et biologie moléculaire et cellulaire)
- o *pour trois ans (1er avril 2019 au 31 mars 2022)*
Mme STEIB Annick (Anesthésie, Réanimation chirurgicale)
- o *pour trois ans (1er septembre 2019 au 31 août 2022)*
DUFOUR Patrick (Cancérologie clinique)
NISAND Israël (Gynécologie-obstétrique)
PINGET Michel (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques)
Mme QUOIX Elisabeth (Pneumologie)
- o *pour trois ans (1er septembre 2020 au 31 août 2023)*
BELLOCO Jean-Pierre (Service de Pathologie)
DANION Jean-Marie (Psychiatrie)
KEMPF Jean-François (Chirurgie orthopédique et de la main)
KOPFERSCHMITT Jacques (Urgences médico-chirurgicales Adultes)
- o *pour trois ans (1er septembre 2021 au 31 août 2024)*
DANION Anne (Pédopsychiatrie, addictologie)
DIEMUNSCH Pierre (Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale)
HERBRECHT Raoul (Hématologie)
STEIB Jean-Paul (Chirurgie du rachis)

F2 - PROFESSEUR des UNIVERSITES ASSOCIE (mi-temps)

M. SOLER Luc CNU-31 IRCAD (01.09.2009 - 30.09.2012 / renouvelé 01.10.2012-30.09.2015-30.09.2021)

F3 - PROFESSEURS CONVENTIONNÉS* DE L'UNIVERSITE

Pr CHARRON Dominique	(2019-2020)
Pr KINTZ Pascal	(2019-2020)
Pr LAND Walter G.	(2019-2020)
Pr MAHE Antoine	(2019-2020)
Pr MASTELLI Antoine	(2019-2020)
Pr REIS Jacques	(2019-2020)
Pre RONGIERES Catherine	(2019-2020)

(* 4 années au maximum)

G1 - PROFESSEURS HONORAIRES

ADLOFF Michel (Chirurgie digestive) / 01.09.94	KUNTZMANN Francis (Gériatrie) / 01.09.07
BABIN Serge (Orthopédie et Traumatologie) / 01.09.01	KURTZ Daniel (Neurologie) / 01.09.98
BALDAUF Jean-Jacques (Gynécologie obstétrique) / 01.09.21	LANG Gabriel (Orthopédie et traumatologie) / 01.10.98
BAREISS Pierre (Cardiologie) / 01.09.12	LANGER Bruno (Gynécologie) / 01.11.19
BATZENSCHLAGER André (Anatomie Pathologique) / 01.10.95	LEVY Jean-Marc (Pédiatrie) / 01.10.95
BAUMANN René (Hépatogastro-entérologie) / 01.09.10	LONSDORFER Jean (Physiologie) / 01.09.10
BERGERAT Jean-Pierre (Cancérologie) / 01.01.16	LUTZ Patrick (Pédiatrie) / 01.09.16
BERTHEL Marc (Gériatrie) / 01.09.18	MAILLOT Claude (Anatomie normale) / 01.09.03
BIENTZ Michel (Hygiène Hospitalière) / 01.09.04	MAITRE Michel (Biochimie et biol. moléculaire) / 01.09.13
BLICKLE Jean-Frédéric (Médecine Interne) / 15.10.17	MANDEL Jean-Louis (Génétique) / 01.09.16
BLOCH Pierre (Radiologie) / 01.10.95	MANGIN Patrice (Médecine Légale) / 01.12.14
BOEHM-BURGER Nelly (Histologie) / 01.09.20	MANTZ Jean-Marie (Réanimation médicale) / 01.10.94
BOURJAT Pierre (Radiologie) / 01.09.03	MARESCAUX Christian (Neurologie) / 01.09.19
BOUSQUET Pascal (Pharmacologie) / 01.09.19	MARESCAUX Jacques (Chirurgie digestive) / 01.09.16
BRECHENMACHER Claude (Cardiologie) / 01.07.99	MARK Jean-Joseph (Biochimie et biologie cellulaire) / 01.09.99
BRETTES Jean-Philippe (Gynécologie-Obstétrique) / 01.09.10	MESSER Jean (Pédiatrie) / 01.09.07
BURGHARD Guy (Pneumologie) / 01.10.86	MEYER Christian (Chirurgie générale) / 01.09.13
BURSTZEIN Claude (Pédopsychiatrie) / 01.09.18	MEYER Pierre (Biostatistiques, informatique méd.) / 01.09.10
CANTINEAU Alain (Médecine et Santé au travail) / 01.09.15	MONTEIL Henri (Bactériologie) / 01.09.11
CAZENAVE Jean-Pierre (Hématologie) / 01.09.15	MOSSARD Jean-Marie (Cardiologie) / 01.09.09
CHAMPY Maxime (Stomatologie) / 01.10.95	OUDET Pierre (Biologie cellulaire) / 01.09.13
CHAUVIN Michel (Cardiologie) / 01.09.18	PASQUALI Jean-Louis (Immunologie clinique) / 01.09.15
CHELLY Jameleddine (Diagnostic génétique) / 01.09.20	PATRIS Michel (Psychiatrie) / 01.09.15
CINQUALBRE Jacques (Chirurgie générale) / 01.10.12	Mme PAULI Gabrielle (Pneumologie) / 01.09.11
CLAVERT Jean-Michel (Chirurgie infantile) / 31.10.16	PINGET Michel (Endocrinologie) / 01.09.19
COLLARD Maurice (Neurologie) / 01.09.00	POTTECHER Thierry (Anesthésie-Réanimation) / 01.09.18
CONSTANTINESCO André (Biophysique et médecine nucléaire) / 01.09.11	REYS Philippe (Chirurgie générale) / 01.09.98
DIETEMANN Jean-Louis (Radiologie) / 01.09.17	RITTER Jean (Gynécologie-Obstétrique) / 01.09.02
DOFFOEL Michel (Gastroentérologie) / 01.09.17	RUMPLER Yves (Biol. développement) / 01.09.10
DUCLOS Bernard (Hépatogastro-Hépatologie) / 01.09.19	SANDNER Guy (Physiologie) / 01.09.14
DUPEYRON Jean-Pierre (Anesthésiologie-Réa.Chir.) / 01.09.13	SAUDER Philippe (Réanimation médicale) / 01.09.20
EISENMANN Bernard (Chirurgie cardio-vasculaire) / 01.04.10	SALVAGE Paul (Chirurgie infantile) / 01.09.04
FABRE Michel (Cytologie et histologie) / 01.09.02	SCHLAEDER Guy (Gynécologie-Obstétrique) / 01.09.01
FISCHBACH Michel (Pédiatrie) / 01.10.16	SCHLIENGER Jean-Louis (Médecine Interne) / 01.08.11
FLAMENT Jacques (Ophtalmologie) / 01.09.09	SCHRAUB Simon (Radiothérapie) / 01.09.12
GAY Gérard (Hépatogastro-entérologie) / 01.09.13	SICK Henri (Anatomie Normale) / 01.09.06
GERLINGER Pierre (Biol. de la Reproduction) / 01.09.04	STIERLE Jean-Luc (ORL) / 01.09.10
GRUCKER Daniel (Institut de Physique Biologique) / 01.09.21	STOLL Claude (Génétique) / 01.09.09
GUT Jean-Pierre (Virologie) / 01.09.14	STOLL-KELLER Françoise (Virologie) / 01.09.15
HASSELMANN Michel (Réanimation médicale) / 01.09.18	STORCK Daniel (Médecine interne) / 01.09.03
HAUPTMANN Georges (Hématologie biologique) / 01.09.06	TEMPE Jean-Daniel (Réanimation médicale) / 01.09.06
HEID Ernest (Dermatologie) / 01.09.04	TONGIO Jean (Radiologie) / 01.09.02
IMLER Marc (Médecine interne) / 01.09.98	TREISSER Alain (Gynécologie-Obstétrique) / 24.03.08
JACQMIN Didier (Urologie) / 09.08.17	VAUTRAVERS Philippe (Médecine physique et réadaptation) / 01.09.16
JAECK Daniel (Chirurgie générale) / 01.09.11	VETTER Jean-Marie (Anatomie pathologique) / 01.09.13
JESEL Michel (Médecine physique et réadaptation) / 01.09.04	VINCENDON Guy (Biochimie) / 01.09.08
KAHN Jean-Luc (Anatomie) / 01.09.18	WALTER Paul (Anatomie Pathologique) / 01.09.09
KEHR Pierre (Chirurgie orthopédique) / 01.09.06	WATTIEZ Arnaud (Gynécologie Obstétrique) / 01.09.21
KREMER Michel / 01.05.98	WIHLM Jean-Marie (Chirurgie thoracique) / 01.09.13
KRETZ Jean-Georges (Chirurgie vasculaire) / 01.09.18	WILK Astrid (Chirurgie maxillo-faciale) / 01.09.15
KRIEGER Jean (Neurologie) / 01.01.07	WILLARD Daniel (Pédiatrie) / 01.09.96
KUNTZ Jean-Louis (Rhumatologie) / 01.09.08	WOLFRAM-GABEL Renée (Anatomie) / 01.09.96

Légende des adresses :

FAC : Faculté de Médecine : 4, rue Kirschleger - F - 67085 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.68.85.35.20 - Fax : 03.68.85.35.18 ou 03.68.85.34.67

HOPITAUX UNIVERSITAIRES DE STRASBOURG (HUS) :

- NHC : **Nouvel Hôpital Civil** : 1, place de l'Hôpital - BP 426 - F - 67091 Strasbourg Cedex - Tél. : 03 69 55 07 08
- HC : **Hôpital Civil** : 1, Place de l'Hôpital - B.P. 426 - F - 67091 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.11.67.68
- HP : **Hôpital de Haute pierre** : Avenue Molière - B.P. 49 - F - 67098 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.12.80.00
- **Hôpital de La Robertsau** : 83, rue Himmerich - F - 67015 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.11.55.11
- **Hôpital de l'Elsau** : 15, rue Cranach - 67200 Strasbourg - Tél. : 03.88.11.67.68

CMCO - Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical : 19, rue Louis Pasteur - BP 120 - Schiltigheim - F - 67303 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.62.83.00

C.C.O.M. - Centre de Chirurgie Orthopédique et de la Main : 10, avenue Baumann - B.P. 96 - F - 67403 Illkirch Graffenstaden Cedex - Tél. : 03.88.55.20.00

E.F.S. : Etablissement Français du Sang - Alsace : 10, rue Spielmann - BP N°36 - 67065 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.21.25.25

Centre Régional de Lutte contre le cancer "Paul Strauss" - 3, rue de la Porte de l'Hôpital - F-67085 Strasbourg Cedex - Tél. : 03.88.25.24.24

IURC - Institut Universitaire de Réadaptation Clemenceau - CHU de Strasbourg et UGECAM (Union pour la Gestion des Etablissements des Caisses d'Assurance Maladie) - 45 boulevard Clemenceau - 67082 Strasbourg Cedex

**RESPONSABLE DE LA BIBLIOTHÈQUE DE MÉDECINE ET ODONTOLOGIE ET DU
DÉPARTEMENT SCIENCES, TECHNIQUES ET SANTÉ
DU SERVICE COMMUN DE DOCUMENTATION DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG**

Monsieur Olivier DIVE, Conservateur

**LA FACULTÉ A ARRÊTÉ QUE LES OPINIONS ÉMISES DANS LES DISSERTATIONS
QUI LUI SONT PRÉSENTÉES DOIVENT ÊTRE CONSIDÉRÉES COMME PROPRES
A LEURS AUTEURS ET QU'ELLE N'ENTEND NI LES APPROUVER, NI LES IMPROUVER**

Serment d'Hippocrate

« En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Être Suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admise à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Respectueuse et reconnaissante envers mes Maîtres je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis restée fidèle à mes promesses. Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque. »

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Anne-Sophie Korganow, pour avoir accepté de présider ce travail, mais également pour avoir été présente de façon inconditionnelle et impliquée dans tant d'étapes importantes de mon internat. Ton enseignement a été d'une richesse inespérée dans tous les domaines, que cela soit en clinique, en recherche, ou simplement dans la vie de tous les jours. Je m'en souviendrai.

A Monsieur le Docteur Aurélien Guffroy, pour m'avoir fait confiance en acceptant de me confier ce sujet puis de diriger cette Thèse. Cela a été un honneur et une fierté pour moi que de travailler avec toi, tant au lit des malades ou entre deux consultations où tu m'as tellement appris, que derrière mon écran d'ordinateur par tes remarques toujours pertinentes qui ont permis d'élever la qualité de ce travail. J'en sors grandie.

A Monsieur le Professeur Laurent Arnaud, pour avoir accepté de juger cette Thèse, et d'y apporter ton expertise dont je connais l'importance dans le domaine. J'ai apprécié ton accueil chaleureux au sein du service et le soutien que tu nous as apporté au cours de ce semestre y compris dans des moments parfois difficiles.

A Monsieur le Docteur Raphaël Carapito, pour avoir permis la réalisation de ce travail et avoir accepté d'en être rapporteur, mais aussi pour vos conseils et vos remarques concernant la complexité et les finesses de l'analyse génétique.

A Monsieur le Docteur François Maurier, pour votre gentillesse et pour avoir été d'une si grande disponibilité tout au long de ce travail de Thèse. Je suis très heureuse que vous ayez accepté de faire partie de ce jury.

A tous les médecins qui m'ont guidée pendant de si longues années, qui m'ont assistée, encouragée, corrigée. Qui ont pris de leur temps pour m'offrir tout ce que je sais.

Aux soignants avec qui j'ai eu la chance de travailler. Particulièrement, aux infirmiers du pôle SMO, aux aides-soignants, qui étiez là pour me soutenir, m'épauler. Tant de fois votre humanité m'a rappelé le sens de mon métier.

A mes collègues externes, devenus internes. On a appris ensemble, on a tellement ri, parfois on en a un peu bavé, mais quel bon souvenir je garderai de toutes ces années.

A mes copains de labo, à mes chefs au cours de cette année recherche, qui aura été un vrai dépassement, une ouverture d'esprit. Je vous souhaite à chacun un beau parcours et beaucoup de réussite dans vos domaines respectifs.

A tous mes amis. Tant de moments incroyables, je n'ai pas les mots. Merci du fond du cœur.

A ma famille. Je mesure la chance que j'ai eue de grandir parmi vous.

A mes parents, qui m'avez tout donné, qui n'attendiez rien d'autre que ma réussite. Chaque étape de ma vie a été si facile à vos côtés. Je vous aime du plus profond de mon être.

A Hélène, je suis tellement heureuse de te connaître, pour ta gentillesse, ta vivacité, ta bonne humeur communicative. Ne changeons rien.

A mon frère. Oserai-je dire quelque chose dans ces remerciements ? Gardons ça pour la prochaine bière. Je te souhaite le meilleur du monde.

A Vincent. Merci pour ta grandeur d'esprit, ton intelligence, ton incroyable capacité à m'impressionner dans tant de domaines. Tu m'as offert de grandir tout en cultivant chaque jour ma joie de vivre. Je chéris les moments passés et suis parfois trop impatiente de connaître ceux à venir. Je suis si pleinement et purement heureuse à tes côtés, qu'il m'est souvent difficile d'imaginer que je puisse encore avoir besoin d'autre chose que toi.

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS	25
INTRODUCTION	28
PREFACE	29
OBSERVATIONS CLINIQUES MARQUANTES : ILLUSTRATION DES DIFFICULTES DANS LE DIAGNOSTIC ET LA PRISE EN CHARGE DE PATIENTS AVEC FORMES SEVERES DE SAPL PRIMAIRE	29
I. OBSERVATIONS CLINIQUES	29
a. <i>Famille R. : R.C. (patient 10) et R.J.</i>	29
b. <i>Mme H.C. (patiente 6)</i>	31
c. <i>Mme S.M. (patiente 20)</i>	32
II. DIFFICULTES PERSISTANTES ET QUESTIONS SOULEVEES PAR CES OBSERVATIONS CLINIQUES	33
a. <i>Difficulté diagnostique</i>	33
b. <i>Difficultés dans le traitement et dans le suivi</i>	34
c. <i>SAPL et terrains familiaux de thrombophilie</i>	34
d. <i>Facteurs de risque associés</i>	35
PARTIE 1	37
GENERALITES SUR LE SAPL ET ABORD DU LIEN ENTRE PHYSIOPATHOLOGIE ET FACTEURS GENETIQUES CONNUS	37
I. INTRODUCTION ET GENERALITES SUR LE SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES	38
a. <i>Définitions et critères de classification : une maladie hétérogène par essence</i>	38
b. <i>Épidémiologie : une maladie « fréquente » au pronostic encore sombre</i>	43
c. <i>Traitements et recommandations actuelles</i>	48
1. <i>Porteurs asymptomatiques d'APL</i>	48
2. <i>SAPL thrombotique veineux</i>	48
3. <i>SAPL thrombotique artériel</i>	49
4. <i>SAPL obstétrical</i>	50
5. <i>Prise en charge des CAPS</i>	51
6. <i>Place de l'immunosuppression dans les formes réfractaires</i>	52
II. PHYSIOPATHOLOGIE : « FIRST HIT », « SECOND HIT » ET GENETIQUE	54
a. <i>Les auto-anticorps peuvent induire la thrombose, sous réserve d'un « second hit »</i>	54
1. <i>Un rôle central de l'anti-β2GP1</i>	54
2. <i>Le domaine I de la β2GP1 n'est pas exposé en situation normale : rôle de la balance redox dans la conformation protéique</i>	56
3. <i>Le complexe β2GP1 / anti-β2GP1 interagit avec différentes protéines sur différents types cellulaires pour exercer ses effets pro-thrombogènes</i>	58
4. <i>Implication de nombreuses voies de signalisation intracellulaires et d'une signature interféron de type I</i>	61
5. <i>Un rôle majeur du système du complément</i>	63
6. <i>Le SAPL est associé à des désordres intrinsèques de la coagulation</i>	65
b. <i>A l'origine des auto-anticorps pathogènes, une rupture de tolérance B encore peu comprise</i>	67
1. <i>Anomalies intrinsèques du lymphocyte B</i>	67
2. <i>Le système HLA, acteur de la présentation antigénique dans le dialogue T/B</i>	69
3. <i>Gènes HLA II et potentielle influence du microbiote</i>	71
4. <i>Réponse humorale extra-folliculaire</i>	72
c. <i>Autres données concernant l'aspect génétique et épigénétique du SAPL</i>	73
1. <i>Études d'association à l'échelle du génome « GWAS »</i>	73
2. <i>Rôle de l'épigénétique</i>	73
d. <i>Quelle est la place concrète du déterminisme génétique au cours du SAPL ?</i>	74
III. RATIONNEL ET OBJECTIFS DE L'ETUDE, PRESENTATION DES HYPOTHESES DE TRAVAIL	78
a. <i>Synthèse de la littérature portant sur les facteurs génétiques du SAPL : méthodes utilisées, lacunes persistantes</i>	78
b. <i>Rationnel et objectifs de notre travail</i>	84
c. <i>Hypothèses de travail</i>	86
1. <i>Dans certains cas, le SAPL peut être une maladie monogénique</i>	86
2. <i>Le SAPL est une maladie thrombotique et les patients peuvent présenter un terrain génétique de thrombophilie</i>	86
3. <i>Le SAPL est une maladie multifactorielle, associant des facteurs environnementaux et une origine polygénique, avec des variants communs à d'autres maladies auto-immunes avec ou sans déficit immunitaire</i>	88

PARTIE 2	90
ÉTUDE APL-GENE	90
MATERIEL ET METHODES	91
I. CRITERES DE SELECTION ET RECRUTEMENT DES PATIENTS	91
II. OBTENTION ET ANALYSE DES EXOMES	92
<i>a.</i> <i>Séquençage</i>	92
<i>b.</i> <i>Méthodes d'analyse</i>	93
1. Recherche de variants rares et analyse individuelle par variant (première hypothèse)	93
2. Recherche d'un enrichissement en variants de thrombophilie ou impliqués dans la survenue d'auto-immunité ou de déficits immunitaires (seconde hypothèse)	96
RESULTATS	98
I. DESCRIPTION DE LA COHORTE	98
<i>a.</i> <i>Caractéristiques cliniques et épidémiologiques</i>	99
<i>b.</i> <i>Principales données immunologiques</i>	104
II. ANALYSE GENETIQUE.....	107
<i>a.</i> <i>Test de l'hypothèse polygénique : association aux gènes de thrombophilie recherchés en pratique courante</i>	107
1. Variant G20210A du facteur II	108
2. Facteur V Leiden	108
3. Variant C677T du gène <i>MTHFR</i>	109
<i>b.</i> <i>Test de l'hypothèse monogénique : analyse des variants rares</i>	111
1. Voie de signalisation PI3K / AKT / mTOR	114
2. Récepteurs de l'immunité innée.....	121
3. Récepteurs des cytokines et voies de signalisation JAK / STAT	126
4. Voie NFκB et sa régulation.....	132
5. Mise en place des répertoires T et B et auto-immunité	138
6. Contrôle de l'activation du système immunitaire.....	140
7. Clairance des débris d'ADN extracellulaires	142
8. Autres processus entrant en jeu dans le maintien de la tolérance immunitaire.....	143
9. Gènes d'hémostase	145
10. Système du complément et sa régulation	147
DISCUSSION	150
CONCLUSION	163
ANNEXES	165
BIBLIOGRAPHIE	184

FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 (p.29) : arbre généalogique de la famille R.

Figure 2 (p.40) : critères diagnostiques du SAPL, dits critères de Sydney (= Sapporo modifiés).

Figure 3 (p.44) : courbe de survie de 1000 patients SAPL en fonction du temps.

Figure 4 (p.55) : physiopathologie du SAPL, concept du « first hit » et « second hit ».

Figure 5 (p.57) : conformation de l'espèce protéique majoritaire de la β 2GP1 chez un patient sain et chez un patient SAPL.

Figure 6 (p.76) : arbre généalogique de la famille avec variant p.H167R de *IKZF1*.

Figure 7 (p.98) : diagramme de flux précisant la séquence d'inclusion des patients au sein de la cohorte APL-gène.

Figure 8 (p.110) : comparaison des fréquences des variants FII G20210A, FV Leiden et *MTHFR* C677T entre la population générale, une population de patients avec antécédent de maladie thrombo-embolique veineuse, et notre cohorte de patients SAPL primaires triple positifs.

Figure 9 (p.111) : présentation des étapes ayant permis la sélection de 43 variants d'intérêt pour l'exploration de l'hypothèse monogénique.

Figure 10 (p.115) : voie de signalisation PI3K / AKT / mTOR simplifiée.

Figure 11 (p.122) : signalisation en aval des TLR reconnaissant les PAMPs (lipopolysaccharide (LPS), peptides et flagelline bactériens, génome viral simple et double brin) à la surface de la cellule ou dans les endosomes.

Figure 12 (p.127) : mode d'action des récepteurs aux cytokines (facteurs de croissance, interleukines et interférons de type I et II).

Figure 13 (p.133) : signalisation canonique de NF κ B.

Table 1 (p.41) : ensemble des manifestations cliniques présentées par les patients inclus dans la cohorte Euro-Phospholipid, au cours de l'évolution de la maladie.

Table 2 (p.71) : association des allèles HLA de type II avec la présence d'APLs au cours du lupus et du SAPL primaire.

Table 3 (p.80) : récapitulatif des facteurs de susceptibilité génétique associés à la survenue d'un SAPL dans la littérature.

Table 4 (p.99) : caractéristiques démographiques des patients inclus dans l'étude APL-gène.

Table 5 (p.102) : phénotype clinique des patients inclus dans l'étude APL-gène.

Table 6 (p.103) : antécédents de maladie thrombo-embolique veineuse chez les apparentés au premier degré des patients inclus dans l'étude APL-gène.

Table 7 (p.105) : résultats de la recherche d'auto-anticorps chez les patients inclus dans l'étude APL-gène.

Table 8 (p.106) : résultats de la recherche d'APLs non-classants chez les patients inclus dans l'étude APL-gène.

Table 9 (p.107) : principaux variants de thrombophilie retrouvés au sein de la cohorte APL-gène.

Table 10 (p.113) : récapitulatif et caractérisation des 43 variants rares retenus dans la cohorte APL-gène après les étapes de sélection détaillées dans la figure 7.

ABREVIATIONS

AAN : anticorps anti-nucléaires	CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
ADN : acide désoxyribonucléique	CNIL : commission nationale informatique et liberté
ADNn : ADN natif	CNV : <i>copy number variation</i>
ACC : anticoagulant circulant	CPP : comité de protection des personnes
aCL : anti-cardiolipine	DAMPs : <i>damage-associated molecular patterns</i>
AHAI : anémie hémolytique auto-immune	DI : déficit immunitaire
AIT : accident ischémique transitoire	DICS : déficit immunitaire combiné sévère
ALPS : syndrome lymphoprolifératif avec auto-immunité	DICV : déficit immunitaire commun variable
AOD : anticoagulant oral direct	ELISA : <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
APLs : antiphospholipides	EP : embolie pulmonaire
APOH : apolipoprotéine H	FCS : fausse couche spontanée
ARNm : acide ribonucléique messenger	FII : facteur II
AVC : accident vasculaire cérébral	FV : facteur V
AVK : anti-vitamine K	FT : facteur tissulaire
β2GP1 : bêta 2 glycoprotéine 1	GERP : <i>genomic evolutionary rate profiling</i>
CADD : <i>combined annotation dependant depletion</i>	GPL / MPL : unités d'anti-phospholipides IgG / IgM
CAM : molécule d'adhésion cellulaire	
CAPS : <i>catastrophic antiphospholipid syndrome</i>	
CMC : candidose cutanéomuqueuse	

GWAS : <i>genome wide association study</i>	MTHFR : méthyl-tétrahydrofolate
HBPM : héparine de bas poids moléculaire	réductase
HLA : <i>human leucocyte antigen</i> (CMH)	NADPH : nicotinamide adénine
HNF : héparine non fractionnée	dinucléotide phosphate
HR : <i>hazard ratio</i>	NETs : <i>neutrophil extracellular traps</i>
HTA : hypertension artérielle	NGS : <i>next generation sequencing</i>
IFN : interféron	NK : <i>natural killer</i>
Ig : immunoglobuline	NLR : <i>nod-like receptor</i>
IgIV : immunoglobuline intra-veineuse	OR : odds-ratio
IL : interleukine	OVCR : occlusion de la veine centrale de
INR : <i>international normalized ratio</i>	la rétine
IPEX : <i>immune dysregulation,</i>	PAMPs : <i>pathogen-associated molecular</i>
<i>polyendocrinopathy, enteropathy, lié à l'X</i>	<i>patterns</i>
IRM : imagerie par résonance magnétique	PBMC : <i>peripheral blood mononuclear</i>
LA : lupus anticoagulant	<i>cells</i>
LBBR : <i>Lupus Biobank of the Upper Rhein</i>	PDI : protéine disulfide isomérase
LDL : <i>low density lipoprotein</i>	PE : phosphatidyléthanolamine
LES : lupus érythémateux systémique	PolyPhen : <i>Polymorphism Phenotyping</i>
LTfh : lymphocyte T <i>follicular helper</i>	PRR : <i>pattern recognition receptor</i>
MAF : <i>minor allele frequency</i>	PS : phosphatidylsérine
MFIU : mort fœtale in utéro	PT : prothrombine
miRNA : micro-ARN	PTI : purpura thrombopénique
MTEV : maladie thrombo-embolique	immunologique
veineuse	RCIU : retard de croissance intra-utérin
	RLR : <i>RIG-like receptor</i>

ROS : espèce réactive de l'oxygène

RPCA : résistance à la protéine C activée

SAPL : syndrome des anti-phospholipides

SARS-Cov2 : *severe acute respiratory*

syndrome coronavirus 2

SHUa : syndrome hémolytique et

urémique atypique

SIFT : *sorting Intolerant from Tolerant*

SNP : *single nucleotide polymorphism*

TCA : temps de céphaline activée

TLR : Toll-like récepteur

TPO : thyroperoxidase

Treg : lymphocyte T régulateur

TVP : thrombose veineuse profonde

TVS : thrombose veineuse superficielle

UTR : *untranscribed* (non transcrit)

VUS : *variant of uncertain significance*

VLDL : *very low density lipoprotein*

WES : *whole exome sequencing*

WGS : *whole genome sequencing*

INTRODUCTION

Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune, caractérisée par la survenue de thromboses veineuses, artérielles, ou de complications obstétricales, en lien avec la présence d'auto-anticorps pathogènes. Ceux-ci ont pour cible les phospholipides membranaires ou des molécules apparentées (antiphospholipides). Cette affection présente une hétérogénéité marquante sur les plans clinique et biologique. La prise en charge des patients n'est pas basée sur l'immunosuppression, contrairement à la plupart des autres maladies auto-immunes, mais consiste habituellement en une anticoagulation curative au long cours, exposant à la fois au problème des récurrences sous traitement et à celui d'effets indésirables hémorragiques parfois graves. En outre, le risque thrombotique et obstétrical, ainsi que le risque d'évolution vers une forme sévère nommée syndrome catastrophique des antiphospholipides (CAPS), reste difficile à évaluer de façon individuelle. La triple positivité (anticoagulant circulant, anti- β 2 glycoprotéine 1, anti-cardiolipine) est un facteur de risque reconnu d'évolution vers une forme sévère de la maladie ; cependant, les facteurs déclencheurs peuvent être multiples d'un patient à l'autre (génétiques, médicamenteux, mode de vie et environnement...), et sont encore insuffisamment compris. En particulier, la place de la génétique a longtemps été considérée comme minime au cours de cette maladie. Toutefois, la description récente au sein de notre centre de plusieurs cas familiaux de SAPL, nous a conduit à questionner la possibilité d'un authentique substrat génétique chez les patients les plus graves, en partant du postulat que les allèles responsables d'un phénotype au cours des maladies polygéniques, sont enrichis chez les patients présentant des formes « extrêmes ». Nous avons ainsi sélectionné 21 patients au sein de deux centres, avec SAPL sévère, primaire et triple positif, que nous nous sommes attachés à décrire sur les plans clinique, biologique et génétique, grâce à une technique de séquençage d'exome.

PREFACE

Observations cliniques marquantes : illustration des difficultés dans le diagnostic et la prise en charge de patients avec formes sévères de SAPL primaire

Nous avons choisi de détailler trois observations cliniques marquantes à visée d'illustration, représentatives des patients inclus dans notre cohorte en cela qu'elles correspondent à des phénotypes sévères, avec un cas familial confirmé.

I. Observations cliniques

a. Famille R. : R.C. (patient 10) et R.J.

Cette première description comporte deux individus malades liés au premier degré (père et fils).

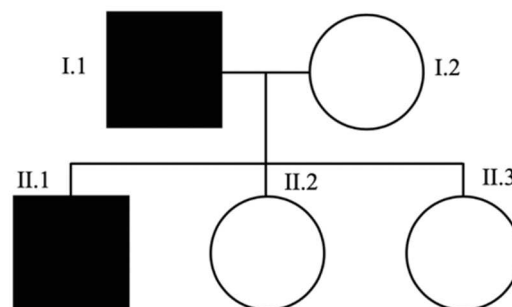


Figure 1 : *arbre généalogique de la famille R.*

Le fils, M. R.C. (II.1), né en 1963, bénéficiait d'un suivi dans notre centre depuis plusieurs années, en raison de lésions d'allure vasculaire à l'IRM cérébrale associées à une épilepsie temporale, et biologiquement, la présence d'un anticoagulant circulant (ACC) associé à des IgG anti-cardiolipine (aCL). Un traitement par aspirine à dose antiagrégante avait été introduit par les neurologues, en complément d'un traitement antiépileptique par lamotrigine. Il n'y avait pas de consommation de toxique et notamment pas de tabagisme.

Dans les suites, le patient présentait en 2017 un infarctus cérébral dans le territoire de l'artère cérébrale moyenne, thrombolysé, suite auquel il gardait une symptomatologie à type d'aphasie d'expression marquée, ainsi qu'au bilan neuropsychologique, un déficit attentionnel. Un traitement par anti-vitamine K (AVK) avait été introduit. Sur le plan biologique, l'ACC persistait, il était toujours observé une positivité des IgG aCL à très fort titre (1700 GPL), mais également l'apparition d'une positivité d'IgG anti- β 2 glycoprotéine 1 (anti- β 2GP1) à titre élevé (jusqu'à 157 GPL au cours du suivi).

Les anticorps anti-nucléaires (AAN) étaient inconstamment positifs à titre non significatif (1/160^{ème} au maximum), associés à des IgG anti-ADN à titre faible (21 UI/mL), dosés une seule fois, mais il n'y avait pas d'argument clinique pour un lupus érythémateux systémique (LES). A noter également une hyperhomocystéinémie retrouvée dans le bilan de thrombophilie (par ailleurs négatif), en lien avec une mutation homozygote C677T du gène *MTHFR*, ainsi qu'une insuffisance rénale chronique modérée de stade IIIB, d'origine vasculaire en lien avec le SAPL (événement thrombotique non daté).

On concluait ainsi à un SAPL de phénotype artériel, primitif, triple positif et l'anticoagulation était poursuivie.

Il signalait, au cours de la consultation, un antécédent familial de thromboses avec SAPL chez son père, M. R.J. (I.1), né en 1934, depuis lors décédé. L'histoire clinique avait débuté par la survenue de plusieurs thromboses veineuses des membres inférieurs, profondes et superficielles, puis par un accident vasculaire cérébral (AVC) cérébelleux ischémique à l'âge de 63 ans. Un bilan de thrombophilie avait été réalisé, objectivant une résistance à la protéine C activée associée à un allongement du TCA, ayant fait découvrir un ACC ainsi qu'une positivité des aCL d'isotype IgG à taux élevé (140 GPL), ainsi que secondairement l'apparition d'IgG anti- β 2GP1 (73 GPL) et anti-phosphatidylsérine (anti-PS, 64 GPL), anti-

phosphatidyléthanolamine (anti-PE, 31 GPL) et anti-annexine (30 GPL). Une anticoagulation curative par AVK était débutée. Le patient présentait une récurrence de multiples thromboses veineuses profondes (TVP) avec deux embolies pulmonaires (EP) malgré l'anticoagulation au long cours. De façon concomitante, il développait une insuffisance rénale organique mais la biopsie rénale n'était pas réalisée en raison de l'anticoagulation curative et de la survenue de thromboses lors de relais AVK – héparine antérieurs. Il présentait également une épilepsie avec au moins deux crises tonico-cloniques motivant un suivi en neurologie et un traitement par lamotrigine (antécédent d'AVC et lésions de la substance blanche d'allure vasculaire à l'IRM cérébrale). Il n'existait aucun argument clinique pour une connectivité associée au SAPL. Enfin, le patient développait un myélome dans les années suivant le début de l'histoire clinique et décédait d'un épisode infectieux pulmonaire compliqué d'hémorragie intra-alvéolaire, d'une décompensation cardiaque globale et d'une insuffisance rénale terminale.

b. Mme H.C. (patiente 6)

Mme H.C., née en 1980, présentait un SAPL primitif se manifestant par une atteinte artérielle microvasculaire, avec notamment des lésions démyélinisantes cérébrales considérées d'origine ischémique probables (au niveau frontal droit et gauche et occipital gauche), une épilepsie focale temporale gauche, un livédo, ainsi qu'une insuffisance rénale modérée avec discrète protéinurie ayant motivé l'introduction d'une anticoagulation curative par AVK (pas de biopsie rénale en raison de l'anticoagulation). Par ailleurs on notait un phénotype obstétrical avec une récurrence de plusieurs fausses couches (une fausse couche précoce à 10 SA en 2008, ainsi que 2 morts fœtales in utero dont la dernière en 2010). Il n'existait aucun argument pour une connectivité associée.

Sur le plan biologique on notait surtout une triple positivité pour les APLs, avec un ACC positif associé surtout à des IgG aCL fortement positifs (1056 GPL), mais également des IgM (15 MPL), ainsi que des anticorps anti-β2GP1 positifs en IgG et IgM également (109 GPL et 52 MPL), et des IgG anti-PS (191 GPL). Les AAN étaient par ailleurs positifs à titre significatif 1/640^{ème} sans spécificité. A noter également, un C4 bas isolé d'origine constitutionnelle possible. Au cours du suivi, et malgré l'anticoagulation, la patiente présentait un quatrième événement obstétrical (fausse couche précoce) en 2017.

c. Mme S.M. (patiente 20)

Mme S.M., née en 1992, présentait comme principal antécédent un phénomène de Raynaud ainsi que des migraines avec auras ophtalmiques depuis environ 7 ans, sans traitement de fond. Elle se présentait aux urgences devant un tableau bruyant d'hémichorée gauche d'installation rapide, sur une semaine. L'IRM cérébrale, réalisée au cours d'une hospitalisation en neurologie, objectivait comme seule anomalie une leucopathie de localisation vasculaire trop marquée pour l'âge. Sur le plan biologique, la crase était perturbée avec un TCA spontanément allongé. Il était par ailleurs mis en évidence une triple positivité pour les APLs : LA, aCL et anti-β2GP1 d'isotype IgG avec des taux élevés (respectivement 354 et 138 GPL), associés à une positivité des IgG anti-PS (84 GPL). Le reste du bilan de thrombophilie était sans particularité. Il était conclu à un SAPL primaire, la patiente ne présentant pas d'AAN ni d'anti-ADN (neuro-lupus éliminé dans ce contexte). Une anticoagulation curative était initiée, permettant l'amélioration de la chorée mais également des migraines, et la patiente ne présentait aucune récurrence de mouvements anormaux depuis sa sortie d'hospitalisation de neurologie.

II. Difficultés persistantes et questions soulevées par ces observations cliniques

Ces trois observations illustrent plusieurs interrogations et écueils récurrents dans la prise en charge des patients avec SAPL primaire.

a. Difficulté diagnostique

En premier lieu, ces malades sont caractérisés par une hétérogénéité clinique marquante. La thrombose, événement principal de la pathogénie du SAPL, peut atteindre des vaisseaux de tout calibre, sur le réseau artériel, veineux, microcirculatoire ou placentaire, au sein de l'ensemble de l'organisme. Certaines formes de SAPL débutent dans l'enfance, d'autres à un âge mûr (après 50 ans). Parfois, la maladie est d'emblée très sévère (CAPS), mais elle peut également le devenir après plusieurs années d'évolution sous traitement, ce qui contribue à sa difficulté diagnostique mais également à celle du suivi des patients.

Par ailleurs, si le SAPL doit être évoqué chez un malade devant toute thrombose avérée inhabituelle dans sa localisation, dans son étendue ou dans sa répétition, certaines manifestations cliniques de la maladie n'entrent pas dans les critères de classification, comme divers signes neurologiques (céphalées, chorées) ou cutanés (livédo) décrits dans les précédentes observations (patiente 6, patiente 20). En outre, certaines atteintes sont difficiles à associer de façon certaine à un mécanisme thrombotique, même en présence d'APLs. Citons l'exemple d'atteintes neurologiques centrales associées à des anomalies de la substance blanche, qui peuvent être secondaires à des microthrombi au cours de SAPL caractérisés mais également à une atteinte inflammatoire au cours de certaines connectivites associées, notamment le LES (question posée au cours de l'histoire clinique de la patiente 20). Enfin, les biopsies profondes sont fréquemment contre-indiquées par la nécessité forte de poursuite d'une

anticoagulation curative au long cours, ce qui limite par exemple la caractérisation des atteintes rénales secondaires au SAPL (patiente 6).

b. Difficultés dans le traitement et dans le suivi

La pierre angulaire du traitement du SAPL repose sur la poursuite d'une anticoagulation au long cours. Celle-ci pose le problème d'effets indésirables fréquents et parfois graves, en premier lieu des accidents hémorragiques. Par ailleurs, certains patients présentent des thromboses ou des pertes fœtales récurrentes malgré un traitement bien conduit et une bonne observance thérapeutique (patiente 6). Ainsi, l'espérance de vie des malades ainsi que la probabilité, pour les femmes, de mener une grossesse à terme sont significativement réduits en rapport avec la population générale, soulignant une marge de progrès incontestable dans la prise en charge des patients SAPL.

c. SAPL et terrains familiaux de thrombophilie

Si d'authentiques formes familiales de SAPL primaire semblent rarissimes dans la littérature, nous avons paradoxalement pu constater plusieurs antécédents de SAPL au premier degré chez des patients avec des formes sévères de SAPL primaire suivis dans notre centre (et notamment des patients dits « triple positifs »). L'hypothèse d'un « poids » plus important de la génétique chez ces patients les plus graves, nous a fait questionner l'existence d'un éventuel substrat génétique associé à la maladie.

d. Facteurs de risque associés

Enfin, la réflexion autour d'une maladie auto-immune prédisposant aux thromboses implique de contrôler les facteurs de risque plus « classiques », comme le tabac, le diabète, la dyslipidémie, ou encore des facteurs génétiques recherchés en pratique courante (variant du facteur V Leiden, variant G20210A du facteur II, variant C677T du gène *MTHFR*). Dans nos observations, les malades ne fumaient pas, mais le patient 10 présentait par exemple un variant homozygote C677T du gène *MTHFR*. Concernant l'hypertension artérielle (HTA), son interprétation (cause ou conséquence) est particulièrement délicate, puisqu'elle peut d'une part, représenter un facteur de risque cardio-vasculaire classique, aggravant le risque thrombotique des patients, mais également être directement secondaire à une atteinte rénale de SAPL.

Nous avons, au cours de ce travail, souhaité établir une description précise de ces patients avec SAPL primaire au phénotype « extrême », laquelle pourra peut-être permettre à terme, l'amélioration de leur prise en charge.

PARTIE 1

**Généralités sur le SAPL et abord du lien entre
physiopathologie et facteurs génétiques connus**

I. Introduction et généralités sur le syndrome des anti-phospholipides

a. Définitions et critères de classification : une maladie hétérogène par essence

Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) est une thrombophilie acquise, médiée par des anticorps. Cette maladie se définit cliniquement par des thromboses vasculaires, artérielles ou veineuses, ou encore de la microcirculation, pouvant atteindre n'importe quel organe. Il existe également une forme obstétricale en lien avec des infarctus placentaires, caractérisée par des fausses couches spontanées (FCS), des pertes fœtales plus tardives ou des pré-éclampsies avec retard de croissance intra-utérin (RCIU).(1)

Il s'y associe biologiquement, la mise en évidence d'auto-anticorps ciblant des phospholipides membranaires ou certains de leurs cofacteurs protéiques, de façon persistante dans le temps (par définition, au moins douze semaines d'intervalle entre deux dosages positifs). Ces auto-anticorps sont nommés anticorps anti-phospholipides (APLs) et jouent un rôle direct dans la physiopathologie du SAPL.(2)

Deux formes de la maladie peuvent être individualisées. Lorsque le SAPL est associé dans son évolution à une autre maladie auto-immune systémique, en premier lieu le LES, mais encore le syndrome de Gougerot-Sjögren ou la sclérodermie systémique, il est appelé « SAPL secondaire ». Lorsqu'il est isolé, on parle de « SAPL primaire ».

L'étude de la cohorte Euro-Phospholipid, formée en 1999, regroupant 1000 patients consécutivement inclus à partir de 20 centres de référence dans 13 pays européens, a permis d'obtenir une vision précise des caractéristiques démographiques des malades SAPL.(3) Ce travail a montré une nette prédominance de patients de sexe féminin (sex-ratio H/F de 1:5), celle-ci paraissant cependant moins flagrante qu'au cours du LES. Par ailleurs, l'âge moyen du

début des symptômes s'élevait à 34 ans, avec 85% des patients ayant un âge compris entre 15 et 50 ans.

Environ la moitié (53%) des patients présentait un SAPL primaire, quand un tiers (36%) présentait un SAPL secondaire à un LES, 5% à un syndrome « lupus-like », et 5,9% à une autre connectivite.

Il existe une forme exceptionnelle de SAPL, nommée syndrome catastrophique des antiphospholipides (CAPS, pour *catastrophic antiphospholipid syndrome*) associant chez un patient, sur une période courte allant jusqu'à une semaine, la défaillance d'au moins trois organes, systèmes ou tissus, liée à une atteinte microcirculatoire. Souvent il existe un facteur déclenchant, comme une infection ou une intervention chirurgicale récente. Le CAPS est de survenue très rare, représentant à peine 1% de l'ensemble des patients avec SAPL. Toutefois, il peut en être la manifestation inaugurale, contribuant à sa difficulté diagnostique et à son taux de mortalité encore très important (44% des malades selon une étude parue en 2009).(4)

Des critères de classification du SAPL ont été établis, actualisés en 2006 (figure 2),(5) utilisés en pratique courante (diagnostic retenu si un critère clinique et un critère biologique au moins sont présents chez un patient).

1. Critères cliniques :

- Episode thrombotique : un ou plusieurs épisode de thrombose veineuse, artérielle ou des petits vaisseaux dans n'importe quel tissu ou organe prouvé par l'imagerie ou par l'histologie. *Les thromboses veineuses superficielles ne permettent pas de satisfaire ce critère.*

- Evènements obstétricaux : une ou plusieurs morts fœtales inexpliquées d'un fœtus morphologiquement normal, avant 10 SA

ou une ou plusieurs naissances prématurées d'un fœtus morphologiquement normal avant 34SA à cause d'une prééclampsie, d'une insuffisance placentaire

ou trois ou plus fausses couches spontanées avant 10SA, non expliqué par une anomalie chromosomique, une anomalie morphologique maternelle ou une cause hormonale.

2. Critères biologiques : présence d'un ou plusieurs anticorps antiphospholipides (aPL) à deux reprises à au moins **12 semaines** d'intervalle.

- IgG et/ou IgM anti-cardiolipine (aCL) à taux modéré ou élevé (>40 unités GPL en ELISA ou titre >99^{ème} percentile)

- IgG et/ou IgM anti-β2GP1 >40 unités GPL en ELISA ou titre >99^{ème} percentile

- Lupus anticoagulant (LA) détecté.

Au moins 1 critère clinique et 1 critère biologique.

Figure 2 : critères diagnostiques du SAPL, dits critères de Sydney (= Sapporo modifiés).

Sur le plan clinique, la symptomatologie est riche et polymorphe (la maladie étant par définition systémique). Toujours au sein de la cohorte Euro-Phospholipid, l'atteinte clinique veineuse la plus fréquente était la présence d'une ou plusieurs TVP (31,7% des patients). Les thromboses veineuses superficielles (TVS) touchaient 9,1% des patients, et les EP 9%. Sur le plan artériel, la première atteinte était représentée par les AVC (13,1% pour les AVC constitués, 7% pour les accidents ischémiques transitoires (AIT) et 2,8% d'amauroses fugaces). Les infarctus du myocarde n'étaient notés que dans 2,8% des cas et les gangrènes distales 1,9%. La survenue de fausses couches ou de pertes fœtales dans le cadre d'un SAPL obstétrical touchait 8,3% du total des patients (cf. table 1 pour l'ensemble des manifestations de la maladie).(6)

<i>Manifestations</i>	<i>No.</i>	<i>(%)</i>	<i>Manifestations</i>	<i>No.</i>	<i>(%)</i>
Peripheral thrombosis			Gastrointestinal manifestations (oesophageal or mesenteric ischemia)	15	(1.5)
Deep vein thrombosis	389	(38.9)	Splenic infarction	11	(1.1)
Superficial thrombophlebitis in legs	117	(11.7)	Pancreatic infarction	5	(.5)
Arterial thrombosis in legs	43	(4.3)	Addison's syndrome	4	(.4)
Venous thrombosis in arms	34	(3.4)	Hepatic manifestations (Budd-Chiari syndrome, small hepatic vein thrombosis)	7	(.7)
Arterial thrombosis in arms	27	(2.7)	Cutaneous manifestations		
Subclavian vein thrombosis	18	(1.8)	Livedo reticularis	241	(24.1)
Jugular vein thrombosis	9	(.9)	Ulcers	55	(5.5)
Neurologic manifestations			Pseudovasculitic lesions	39	(3.9)
Migraine	202	(20.2)	Digital gangrene	33	(3.3)
Stroke	198	(19.8)	Cutaneous necrosis	21	(2.1)
Transient ischemic attack	111	(11.1)	Splinter haemorrhages	7	(.7)
Epilepsy	70	(7)	Osteo-articular manifestations		
Multi-infarct dementia	25	(2.5)	Arthralgia	387	(38.7)
Chorea	13	(1.3)	Arthritis	271	(27.1)
Acute encephalopathy	11	(1.1)	Avascular necrosis of bone	24	(2.4)
Transient amnesia	7	(.7)	Ophthalmologic manifestations		
Cerebral venous thrombosis	7	(.7)	Amaurosis fugax	54	(5.4)
Cerebellar ataxia	7	(.7)	Retinal artery thrombosis	15	(1.5)
Transverse myelopathy	4	(.4)	Retinal vein thrombosis	9	(.9)
Hemiballismus	3	(.3)	Optic neuropathy	10	(1)
Pulmonary manifestations			ENT manifestations		
Pulmonary embolism	141	(14.1)	Nasal septum perforation	8	(.8)
Pulmonary hypertension	22	(2.2)	Haematological manifestations		
Pulmonary microthrombosis	15	(1.5)	Thrombocytopenia (<100,000/ μ L)	296	(29.6)
Fibrosant alveolitis	12	(1.2)	Haemolytic anaemia	97	(9.7)
Other (adult respiratory distress syndrome, pulmonary haemorrhage, pulmonary artery thrombosis)	7	(.7)	Obstetric manifestations (pregnant female = 590)		
Cardiac manifestations			Pre-eclampsia	56	(9.5)
Valve thickening/dysfunction	116	(11.6)	Eclampsia	26	(4.4)
Myocardial infarction	55	(5.5)	Abruptio placentae	12	(2)
Angina	27	(2.7)	Post-partum cardio-pulmonary syndrome	3	(.5)
Myocardiodiopathy	29	(2.9)	Foetal manifestations (pregnancies = 1580)		
Vegetations	27	(2.7)	Early foetal losses (<10 weeks)	560	(35.4)
Coronary by-pass rethrombosis	11	(1.1)	Late foetal losses (\geq 10 weeks)	267	(16.9)
Intracardiac thrombus	4	(.4)	Live births	753	(47.7)
Intra-abdominal manifestations			Prematures	80/753	(10.6)
Renal manifestations (glomerular thrombosis, renal infarction, renal artery thrombosis, renal vein thrombosis)	27	(2.7)			

Table 1 : *ensemble des manifestations cliniques présentées par les patients inclus dans la cohorte Euro-Phospholipid, au cours de l'évolution de la maladie. Table tirée de l'étude de Cervera et al., Lupus, 2009.(6)*

Par ailleurs, certaines atteintes cliniques sont communément associées au SAPL, mais ne sont pas mentionnées dans les critères de Sydney. Il existe à l'heure actuelle un débat sur l'élargissement de cette classification pour ne pas méconnaître des patients présentant une symptomatologie évocatrice en association à une biologie anti-phospholipide caractérisée, et pour qui un traitement anti-thrombotique serait indiqué. C'est le cas pour un certain nombre d'atteintes neurologiques, comme les migraines inexplicées, l'épilepsie, des lésions

dermatologiques comme le livédo, la thrombopénie récurrente, l'endocardite aseptique de Libman-Sachs, ou encore l'atteinte rénale microangiopathique.(7)

Sur le plan biologique, le terme d'APL comprend :

- D'une part, des auto-anticorps mis en évidence par technique ELISA, dirigés contre des phospholipides membranaires (anti-cardiolipine ou aCL, anti-phosphatidylsérine ou anti-PS, anti-phosphatidyléthanolamine ou anti-PE) ou des protéines plasmatiques capables de lier ces phospholipides (cofacteurs), comme la protéine β 2GP1 (apolipoprotéine H ou APOH), la prothrombine (PT), l'annexine V ;
- D'autre part, l'activité lupus anticoagulant (LA), ou anticoagulant circulant (ACC), qui est une capacité portée par certains anticorps anti- β 2GP1 ou anti-prothrombine d'inhiber la coagulation dépendant des phospholipides *in vitro*, et se traduisant par un allongement spontané du TCA.(8)

La classification des APLs est donc hétérogène, impliquant des auto-anticorps de nature différente, ayant une réactivité variable *in vitro*.

La pathogénicité directe de ces auto-anticorps a été démontrée par l'acquisition de phénotypes pro-thrombotiques sévères après leur injection à des souris.(9) Le décryptage de la physiopathologie du SAPL les place en première ligne dans la survenue de la cascade thrombotique.

b. Épidémiologie : une maladie « fréquente » au pronostic encore sombre

La prévalence du SAPL est difficilement évaluable en raison de la disparité clinique précédemment évoquée ainsi qu'un manque de standardisation des techniques de laboratoire pour le dosage des APLs. Selon les études, elle pourrait être comparable à celle du lupus (c'est-à-dire 1/2000 patients), à la limite toute supérieure du seuil de définition de la maladie rare.(10) Le taux d'incidence annuel s'élève à 5 patients pour 100 000.(11) En population générale, 1 à 5% des individus présentent des APLs, mais la plupart ne développent jamais la maladie.(12)

Le SAPL est une affection sévère à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité encore importantes. Une autre étude réalisée à partir de la cohorte Euro-Phospholipid, cette fois après un recul de suivi de 10 ans, permettait d'évaluer les principales complications au cours de l'évolution de la maladie.(13) Il était objectivé une incidence d'événement thrombotique de 16,6% chez l'ensemble des malades au cours des 5 premières années, puis 15,3% au cours de la seconde période de 5 ans. Les manifestations principales au cours des 10 ans de suivi étaient des AVC pour 5,3% des patients, des AIT pour 4,7%, puis des TVP et des EP pour 4,3 et 3,5% des patients, respectivement. Au cours des 10 ans de suivi, 15,5% des femmes avaient présenté une grossesse. 72,9% de ces grossesses seulement avaient donné lieu à un enfant vivant. La complication obstétricale la plus fréquente était la survenue de FCS pour 16,5% des grossesses. 4,8% de pertes fœtales tardives étaient notées. De plus, sur l'ensemble des naissances vivantes, 48,2% étaient prématurées et 26,3% étaient associées à un RCIU. Il faut noter, pour l'ensemble de ces manifestations, qu'il s'agissait de patients connus pour présenter un SAPL, suivis dans des centres de référence, bénéficiant ainsi d'un traitement adapté.

La mortalité était étudiée séparément (figure 3, courbe issue de l'étude de Cervera et al.).(13)
 Un ratio de mortalité standardisé, en comparaison à la population générale en Europe, était estimé à 1,8 (intervalle de confiance 1,5 à 2,1). L'âge moyen au décès était de 59 ans. La probabilité de survie d'un patient au moment de l'inclusion dans la cohorte, sur la période de 10 ans, s'élevait à 91%.

Les principales causes de mortalité étaient directement liées à des complications thrombotiques sévères en lien avec le SAPL : infarctus du myocarde, AVC ou EP pour 36% des décès. Venaient ensuite les infections pour 27% des décès (22% d'infections bactériennes, 5% d'infections autres), puis les hémorragies graves dans 11% des cas (notamment en lien avec des complications liées au traitement anti-thrombotique).

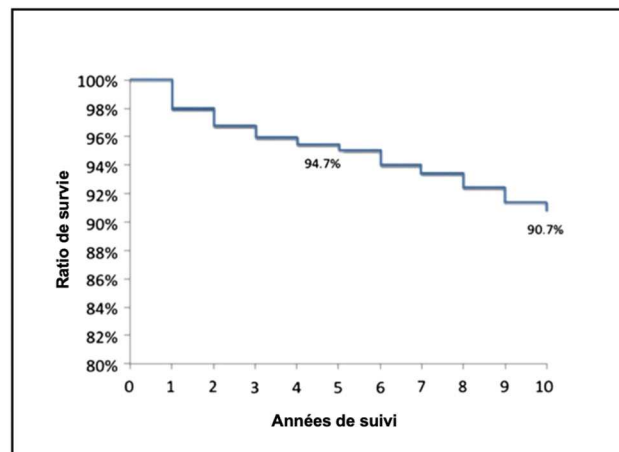


Figure 3 : courbe de survie de 1000 patients SAPL en fonction du temps (cohorte Euro-Phospholipid sur 10 ans, de 1999 à 2009), issue de l'étude de Cervera et al., *Ann Rheum Dis*, 2015.(13)

En réalité, le profil de positivité des APLs est particulièrement important dans l'évaluation pronostique d'un patient. Ainsi, l'existence d'une triple positivité pour les APLs (présence d'auto-anticorps anti- β 2GP1, aCL et ACC) chez un sujet non malade implique une probabilité

très importante de développer une thrombose, évaluée à 5,3% par an (et un risque cumulé de 37,1% à 10 ans).(14) Dans une étude publiée par les mêmes auteurs, évaluant des patients présentant un SAPL caractérisé, les « triple positifs » présentaient dans 44% des cas, une récurrence thrombotique sur une période de suivi de 10 ans.(15)

Les auto-anticorps considérés de façon isolée confèrent également des risques différents. L'activité LA est associée au sur-risque thrombotique le plus important.(16) Celle-ci correspond à la capacité fonctionnelle qu'ont certains APLs d'allonger le temps de coagulation in vitro. En pratique, ces APLs avec activité LA sont habituellement des anti- β 2GP1. L'étude structurale de la β 2GP1 montre une organisation protéique en 5 domaines, qui correspondent à des cibles antigéniques distinctes ; ainsi, certains anti- β 2GP1 sont dirigés contre le domaine I, d'autres contre le domaine IV ou V. Il est actuellement admis que les anti- β 2GP1 pathogènes, responsables d'une activité LA, présentent une réactivité envers le domaine I de la protéine (anti- β 2GP1-DmI).(17) Ce sont ainsi ces anti- β 2GP1-DmI responsables d'une activité LA qui sont les plus corrélés à la survenue de thromboses (leur recherche étant encore peu disponible en pratique clinique courante).(18)

Au cours d'infections, il peut exister une positivité des APLs. Ces auto-anticorps sont en général de faible affinité, cofacteurs-indépendants, présents transitoirement et sans caractère pathogène. De façon anecdotique, des infections à parvovirus B19 ou bactériennes (*Coxiella*, *Mycoplasme*, streptocoques, mycobactéries du complexe *M. tuberculosis*) ont été associées à une persistance de ces APLs et à la survenue de thromboses.(19)

Plus récemment, il a été décrit une survenue particulièrement fréquente de complications thrombotiques en association avec l'infection à SARS-CoV2, avec souvent positivité d'un ACC, mais dont la significativité clinique reste pour l'heure controversée.(20)

Dans les critères de classification, seuls les aCL et anti- β 2GP1 d'isotype IgG et IgM sont considérés, sous réserve qu'ils soient présents à taux modéré ou élevé et contrôlés à 12 semaines. Cependant, d'autres APLs qualifiés de « non-classants » présentent également une significativité clinique. Il a ainsi été montré que les IgG dirigés contre la prothrombine et la phosphatidyl-sérine (anti-PS/PT) exerçaient *in vitro* une activité lupus anticoagulant pathogène.(21) Une revue systématique de la littérature a récemment mis en évidence une corrélation nette entre la présence d'anti-PS/PT, particulièrement d'isotype IgG, et la survenue de manifestations cliniques de SAPL.(22) Chez des patients dits « quadruple positifs », avec LA, aCL, anti- β 2GP1 et anti-PS/PT, l'activité LA était largement associée aux anti-PS/PT. Ces patients semblaient présenter un risque thrombotique majeur et pourraient ainsi constituer le sous-groupe de patients le plus à risque. En fait, les techniques ELISA utilisées pour évaluer la présence d'anti-PT sont hétérogènes et identifient des auto-anticorps à l'implication clinique très différente ; ainsi, il avait été mis en évidence par certaines études une absence de caractère pathogène d'anti-PT retrouvés de façon isolée.(23)

Par ailleurs, d'autres APLs comme les anti-phosphatidyléthanolamine, ou anti-phosphatidylinositol sont retrouvés de façon isolée au cours de SAPL obstétricaux, faisant évoquer leur rôle pathogène propre.(24) Des auto-anticorps dirigés contre l'annexine V ont été identifiés au cours de SAPL obstétricaux par plusieurs études ; ceux-ci ont toutefois une implication incertaine dans la survenue des pertes fœtales.(25) Enfin, les APLs d'isotype IgA, s'ils ne sont pas retenus dans les critères de classification lorsque présents de façon isolée, présentent un rôle thrombogène très probable, notamment chez les patients lupiques.(26)

Cependant, la recherche de ces APLs dits « non-classants » reste mal standardisée actuellement, rendant difficile la généralisation de leur dépistage qui devrait pour l'heure être réservée à

certaines situations particulières de forte présomption clinique avec négativité persistante des APLs conventionnels.

c. Traitements et recommandations actuelles

Une synthèse des recommandations de la prise en charge du SAPL a été publiée par Tektonidou et al. en 2019.(27) Les auteurs séparent les patients en « risque faible », « risque intermédiaire » et « risque élevé ». La catégorie « risque élevé » correspond soit à la présence d'un ACC, soit à l'existence d'une double ou triple positivité pour les APLs, soit à un titre élevé et persistant d'APLs (IgG ou IgM aCL > 40 unités/L, IgG ou IgM anti-β2GP1 > 99° percentile).

1. Porteurs asymptomatiques d'APLs

Chez les porteurs d'APLs n'ayant pas présenté de complication thrombotique, une prophylaxie primaire par antiagrégant plaquettaire (aspirine à dose anti-thrombotique, 75 à 160 mg par jour) est justifiée en cas de profil à risque élevé, qu'ils présentent ou non un LES. En effet, une méta-analyse réalisée sur 460 porteurs asymptomatiques d'APLs a montré qu'une prophylaxie par antiagrégant plaquettaire chez ces patients permettait la réduction du risque de première thrombose de moitié.(28) Chez les patients lupiques présentant un profil d'APLs à risque non élevé, ce traitement peut également être considéré mais les données de la littérature sont moins robustes dans cette indication.

2. SAPL thrombotique veineux

Chez un patient porteur d'APLs ayant présenté une première thrombose veineuse, une anticoagulation curative par anti-vitamine K (AVK) est indiquée, avec une cible d'INR entre 2 et 3. Dans cette indication, une étude n'a pas pu montrer de bénéfice à des chiffres d'INR plus élevés (3-4) dans la prévention de la récurrence thrombotique.(29) Toujours chez des patients

présentant un SAPL avec atteinte veineuse, deux études comparant les AVK et deux anticoagulants oraux directs (AOD, respectivement le Dabigatran et le Rivaroxaban), n'ont pas montré de différence dans la survenue de thromboses.(30) Le niveau de preuve pour la prescription d'AOD chez des patients SAPL tout-venant reste toutefois faible, ces études ayant porté sur un petit nombre de patients avec peu de cas sévères, et une durée de suivi courte.

3. SAPL thrombotique artériel

En cas de positivité des APLs et de première thrombose artérielle, la stratégie thérapeutique n'est pas clairement définie. La récurrence est particulièrement fréquente, davantage que dans le SAPL au phénotype veineux isolé. Le choix d'une anticoagulation par AVK est obligatoire, avec un INR cible entre 2 et 3 ou augmenté entre 3 et 4, selon le risque hémorragique du patient et l'évaluation du clinicien. L'ajout d'un antiagrégant plaquettaire est également possible.(27) Chez les patients présentant des récurrences thrombotiques malgré le traitement de première ligne, l'observance thérapeutique et le suivi des INR doivent d'abord être contrôlés. Ensuite, le choix d'une augmentation de l'INR cible à 3-4, l'ajout d'un antiagrégant plaquettaire ou le relais de l'anticoagulation par une héparine à dose curative doit être considéré (pas de choix privilégié au vu du faible nombre d'études).

Par ailleurs, le recours à un traitement par hydroxychloroquine (au cours du SAPL primaire) ou l'ajout de statines est également possible, mais là encore le niveau de preuve est faible.(31)

S'ils peuvent encore être discutés dans des cas sélectionnés de SAPL veineux en cas de risque non-élevé, les AOD sont formellement contre-indiqués dans la prise en charge du SAPL à haut risque, un travail récent ayant montré un sur-risque significatif de thrombose artérielle au sein

d'un groupe de patients SAPL triple positifs anticoagulés par Rivaroxaban, en rapport avec un groupe similaire traité par AVK (HR 6,7, étude non menée à terme).(32)

4. SAPL obstétrical

Chez les femmes présentant un profil d'APLs à haut risque, hors antécédent thrombotique, une antiagrégation plaquettaire doit être considérée au cours de la grossesse devant un risque élevé de développer un authentique SAPL obstétrical (recommandation d'experts, mais données de la littérature relativement pauvres).(27)

En cas de SAPL obstétrical isolé, une prescription d'antiagrégant plaquettaire est indiquée pour les patientes hors période de grossesse, sur la base de données de sous-groupes issues d'une méta-analyse.(28)

En cas d'antécédent de fausses couches répétées (> 3 fausses couches à un terme inférieur à 12 semaines d'aménorrhée) ou de mort fœtale plus tardive, la prescription d'un antiagrégant plaquettaire en combinaison à une héparine à dose préventive (HNF ou HBPM) est indiquée au cours d'une grossesse ultérieure.

En cas d'antécédent de pré-éclampsie avec naissance prématurée en lien avec une insuffisance placentaire prouvée, une anticoagulation préventive est également recommandée au cours d'une grossesse ultérieure, avec possibilité d'ajout d'une antiagrégation plaquettaire au cas par cas.

Chez une patiente présentant un SAPL obstétrical, l'héparine à dose préventive doit être poursuivie au moins 6 semaines après l'accouchement, et jusqu'à 3 mois, afin de réduire le risque de thrombose maternelle post-terme.

En cas de récurrence de manifestations obstétricales de SAPL malgré une anticoagulation préventive et le recours à une antiagrégation plaquettaire, le passage à une anticoagulation curative ou l'ajout d'hydroxychloroquine ou de faibles doses de corticoïdes au cours du premier trimestre se discute. L'usage d'immunoglobulines intra-veineuses (IgIV) peut également être considéré dans des cas sélectionnés. Cependant, ces propositions reposent sur un faible niveau de preuve (études observationnelles, non randomisées, sur un très faible nombre de patientes).

Enfin, en cas d'antécédent de SAPL thrombotique, le traitement par AVK doit être relayé par une héparinothérapie à dose curative au début de la grossesse (avant la 6^{ème} semaine dans l'idéal, devant le risque de tératogénicité des AVK). Il est important de noter que le suivi de l'anticoagulation est permis dans ce cas par le dosage de l'activité anti-Xa ou l'héparinémie, le TCA étant spontanément allongé chez ces patientes. Une antiagrégation plaquettaire est également recommandée, en association à l'anticoagulation.

5. Prise en charge des CAPS

Au cours des CAPS avérés, le traitement recommandé en urgence est basé sur une « trithérapie », associant l'utilisation empirique d'une anticoagulation curative par héparine, une corticothérapie systémique, souvent associée à des bolus de méthylprednisolone, ainsi que des échanges plasmatiques ou des IgIV. Sa prévention repose sur une prise en charge adaptée de la période péri-opératoire et le traitement rapide des épisodes infectieux chez les malades avec SAPL connu. Toutefois, il est parfois le mode d'entrée dans la maladie ce qui contribue à la difficulté de sa prise en charge.

6. Place de l'immunosuppression dans les formes réfractaires

En raison du caractère pathogène des APLs, des schémas thérapeutiques ciblant le lymphocyte B ont été proposés au cours du SAPL, par analogie à d'autres maladies auto-immunes médiées par des auto-anticorps, comme le LES ou la polyarthrite rhumatoïde. Ceux-ci se sont globalement avérés décevants, comme en témoigne une étude de phase II évaluant l'effet du Rituximab, un anticorps monoclonal anti-CD20, au cours du SAPL primaire, ayant montré une absence d'amélioration du profil de positivité des APLs chez les patients inclus. Un effet modéré était noté uniquement sur des manifestations n'entrant pas dans les critères de classification, comme la thrombopénie ou les ulcères cutanés, mais il n'y avait pas d'effet démontré sur la récurrence des thromboses.(33) A l'inverse, et de façon plus encourageante, une étude rétrospective très récente portant sur l'utilisation du Rituximab au cours de 40 formes réfractaires de SAPL, a montré une réponse favorable chez 32 des patients (80%), incluant des formes thrombotiques sévères.

L'utilisation d'autres immunosuppresseurs ou thérapies anti-plasmocytaires a pu être rapportée dans la littérature chez quelques patients, avec des effets parfois intéressants (belimumab, bortezomib, daratumumab, rapamycine, eculizumab).(34) Le caractère anecdotique de ces cas rapportés ou portant sur de faibles effectifs n'engage pas à l'utilisation de ces traitements en routine actuellement, mais conduisent à imaginer de nouvelles cibles thérapeutiques au cours d'une maladie encore insuffisamment comprise.

Nous avons montré, dans ce premier chapitre, que les malades présentant un SAPL étaient hétérogènes sur les plans clinique, biologique et pronostique. Ces hétérogénéités sont très

importantes à considérer et sont sous-tendues par la multiplicité des acteurs cellulaires et moléculaires engagés dans la physiopathologie de la maladie, que nous allons détailler ci-après.

II. Physiopathologie : « first hit », « second hit » et génétique

Dans ce chapitre, nous décrirons les éléments de physiopathologie du SAPL connus à l'heure actuelle. Nous tenterons d'établir, à chaque étape, un parallèle avec les facteurs génétiques jusqu'à présent identifiés dans la littérature.

- a. Les auto-anticorps peuvent induire la thrombose, sous réserve d'un « second hit »

Le fait que l'ensemble des patients présentant un ou plusieurs APLs ne développe pas de thrombose, même après une période de recul suffisante, montre que la présence d'auto-anticorps est nécessaire mais non suffisante pour expliquer la maladie. Le concept de « first » et « second hit », utilisé pour la première fois par Knudson dans les cancers(35) et repris par Goodnow(36) dans les maladies auto-immunes, s'applique à la physiopathologie du SAPL. L'existence d'APLs peut constituer dans ce modèle le « first hit », asymptomatique en l'absence d'atteinte vasculaire. Une agression endothéliale au sens large du terme constitue le « second hit » menant à la thrombose (chirurgie ou infection par exemple, qui sont des facteurs déclencheurs classiquement retenus dans l'émergence des CAPS).

1. Un rôle central de l'anti- β 2GP1

L'auto-anticorps anti- β 2GP1 a été identifié par un nombre croissant de travaux, comme l'inducteur principal de la cascade thrombotique, et notamment lorsqu'il présente une réactivité pour le domaine I de la protéine (figure 4).(37) Des anti- β 2GP1 ont également été mis en évidence au cours d'infections ou de cancers, pendant lesquels ils peuvent apparaître de façon

transitoire et ne confèrent en général pas de sur-risque thrombotique ; ils présentent dans ce cas d'autres réactivités, par exemple envers les domaines IV ou V.(38)

Toutefois, même en présence d'auto-anticorps anti-domaine I de la $\beta 2\text{GP1}$, une agression de l'endothélium est nécessaire à la fixation des complexes immuns $\beta 2\text{GP1}$ /auto-anticorps sur celui-ci (via le domaine V de la $\beta 2\text{GP1}$), à l'origine de la thrombose (concept du « second hit »).(39)

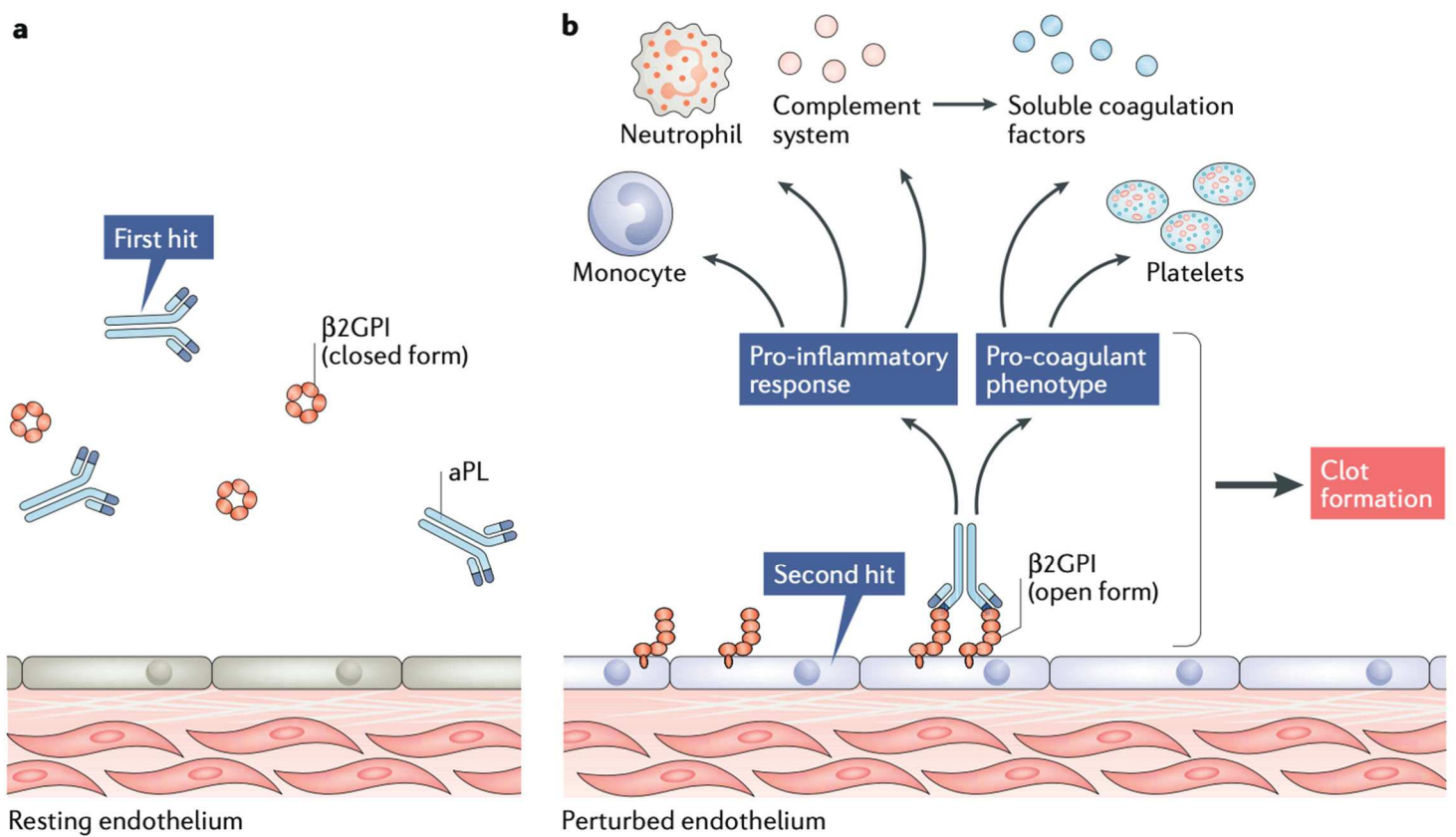


Figure 4 : physiopathologie du SAPL, concept du « first hit » et « second hit ». A gauche, présence d'auto-anticorps anti- $\beta 2\text{GP1}$ circulants : « first hit ». Ces anticorps ne lient pas la forme circulaire de la $\beta 2\text{GP1}$ mais uniquement sa forme ouverte. La $\beta 2\text{GP1}$ circule dans le sérum sous forme circulaire à l'état basal, mais se fixe à l'endothélium en cas d'agression endothéliale, se déroule et permet aux APLs leur liaison via le domaine I. Cette agression endothéliale (chirurgie, infection) représente ainsi le « second hit ».(40)

Quand on considère le rôle central de l'anti- β 2GP1 dans la physiopathologie du SAPL, il est intéressant de noter que c'est un variant du gène de la β 2GP1, le polymorphisme Val247Leu, qui représente à ce jour le marqueur de risque génétique identifié dans le plus d'études comme associé à la maladie.(41),(42) Situé sur le domaine V de la protéine, il pourrait affecter directement la capacité de liaison de la β 2GP1 aux phospholipides, et par ce mécanisme, augmenter la fraction de β 2GP1 ouverte et faciliter la fixation des auto-anticorps sur le domaine I (figure 4). Aucune étude fonctionnelle n'a pour l'instant été réalisée avec ce variant afin de confirmer cette hypothèse. Ces résultats illustrent toutefois l'importance de la connaissance de la physiopathologie du SAPL pour l'étude des facteurs génétiques de la maladie.

2. Le domaine I de la β 2GP1 n'est pas exposé en situation normale : rôle de la balance redox dans la conformation protéique

Dans la physiopathologie du SAPL, la rupture de tolérance vis-à-vis des auto-antigènes et en l'espèce, la β 2GP1, serait favorisée par des facteurs épigénétiques tels que l'état d'oxydation. En situation physiologique, des oxydoréductases (thiorédoxine 1 et protéine disulfide isomérase ou PDI), maintiennent la β 2GP1 en conformation réduite (figure 5).(43) A l'inverse, en milieu oxydant, des ponts disulfures se forment au niveau du domaine V et du domaine I (épitope « B » reconnu par l'anti- β 2GP1), permettant un changement de conformation de la β 2GP1 et l'exposition de cet épitope cryptique. Ainsi, celui-ci serait davantage reconnu par l'auto-anticorps en milieu oxydant, favorisant de fait la rupture de tolérance.(44) De façon intéressante, plusieurs travaux ont montré que les patients atteints de SAPL présentaient davantage de stress oxydant.(45) Une étude a pu confirmer une diminution de liaison in vitro de l'anti- β 2GP1 sur son épitope habituel après traitement de la protéine avec une oxydoréductase, augmentant de fait le ratio de forme réduite.(43)

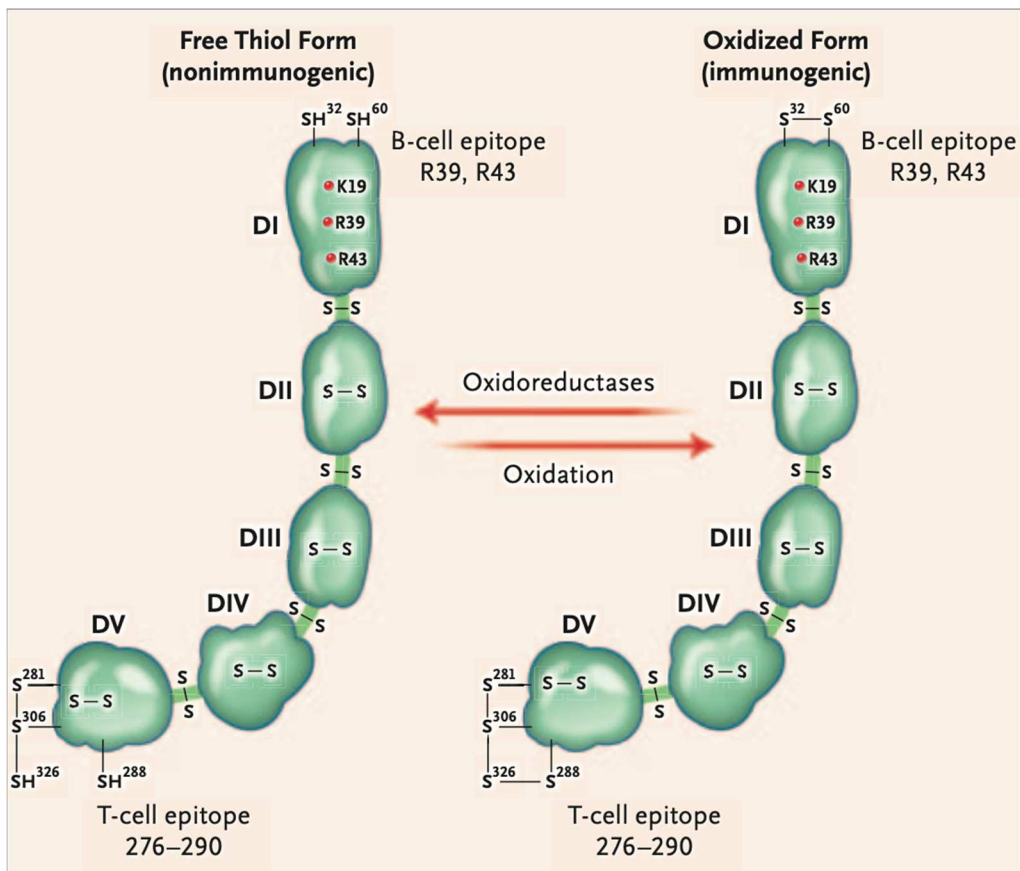


Figure 5 : conformation de l'espèce protéique majoritaire de la $\beta 2\text{GPI}$ chez un patient sain (à gauche) et chez un patient SAPL (à droite). En condition de stress oxydant, des ponts disulfures se forment entre les cystéines 32 – 60 et 326 – 288 (S – S), majorant l'immunogénicité de la protéine. En situation normale, des oxydoréductases (thioredoxin-1 et protéine disulfide isomérase, ou PDI) cassent ces liaisons et permettent à la $\beta 2\text{GPI}$ de circuler dans une conformation « thiol libre ». D, domaine ; K, lysine ; L, arginine ; SH, thiol libre.(37)

En outre, les patients atteints de SAPL présentent une fonction endothéliale altérée, supposée en lien avec un effet inhibiteur direct des anti- $\beta 2\text{GPI}$ sur l'enzyme oxyde nitrique synthase(46),(47),(48). Le rôle thérapeutique des statines évoqué au cours du SAPL pourrait

tenir dans leur potentiel à réguler positivement l'activité de cette enzyme, reversant ainsi l'état pro-thrombogène en lien avec la dysfonction endothéliale.(49)

Il est actuellement considéré que la β 2GP1 est présente dans le plasma humain sous forme circulaire, masquant de fait l'épitope B reconnu au cours de la maladie. Il a été montré que lors de la fixation de la protéine sur un phospholipide membranaire via son domaine V, celle-ci changeait de conformation en adoptant une forme ouverte, permettant la liaison secondaire de l'anti- β 2GP1 sur le domaine I.(50) Une étude publiée par les mêmes auteurs a ainsi mis en évidence qu'une protéine issue de *S. pyogenes* administrée à des souris, en induisant l'ouverture de la β 2GP1, entraînait l'expression d'auto-anticorps anti- β 2GP1.(51)

Le lien entre état d'oxydo-réduction de la protéine et conformation ouverte ou circulaire n'a cependant pas été démontré à ce jour.

Des variants de gènes codant pour des protéines impliquées dans le système NADPH oxydase, dans les voies mitochondriales, ou codant pour des oxydoréductases, impliqués dans d'autres pathologies, n'ont à ce jour jamais été décrits chez des malades atteints de SAPL, mais pourraient constituer une piste intéressante de recherche.

3. Le complexe β 2GP1 / anti- β 2GP1 interagit avec différentes protéines sur différents types cellulaires pour exercer ses effets pro-thrombogènes

Sur les cellules endothéliales, plusieurs acteurs membranaires sont impliqués dans la transmission d'un signal après liaison avec la β 2GP1 ciblée par l'auto-anticorps. En premier lieu, on retient l'annexine A2, liant directement la β 2GP1, ainsi que la protéine TLR-4 (*Toll-like receptor 4*), la calréticuline, la nucléoline.(37) Sur les monocytes, on retient essentiellement

des récepteurs de l'immunité innée, comprenant selon les études, TLR-4, TLR-2, CD14.(37),(52)

Sur les plaquettes, la β 2GP1 interagit avec deux acteurs principaux, le GP1ba (récepteur du facteur Von Willebrand) et l'Apo-ER2, récepteur de l'apoprotéine E appartenant à la superfamille des récepteurs aux lipoprotéines de bas poids moléculaire (*low-density lipoprotein* ou LDL).(53),(48) La fixation du complexe anti- β 2GP1 / β 2GP1 potentialise l'effet de ces récepteurs, majorant l'activation et l'adhésion plaquettaires via le relargage de thromboxane A2. Après activation, le facteur PF4 favorise la dimérisation de la β 2GP1 à l'origine d'une fixation facilitée de l'anti- β 2GP1, menant à la formation de complexes immuns pathogènes à la surface des plaquettes, entraînant leur activation en cascade.(54)

Les neutrophiles peuvent être activés via le récepteur TLR-4. Des études ont montré qu'une activation de TLR-4 par des ligands endogènes (relargués par exemple au cours de dommages cellulaires) entraîne une inflammation systémique et un stress oxydatif, avec à terme une susceptibilité à l'athérosclérose.(55) D'autres études sur les APLs ont montré que ceux-ci sont capables d'activer les neutrophiles et les monocytes, via l'induction de médiateurs d'aval des récepteurs TLR.(56) Dans une étude publiée en 2014, Benhamou et al. démontrent le rôle des récepteurs TLR-2 et TLR-4 dans la physiopathologie du SAPL primaire, et notamment dans l'induction d'une dysfonction endothéliale et d'une susceptibilité à la thrombose.(57) Par ailleurs, le C5a est capable d'activer les neutrophiles via une interaction avec le facteur tissulaire, le complément représentant par cette voie l'un des mécanismes liant immunité innée et système de la coagulation.(58) Enfin, via une stimulation directe par les APLs, les neutrophiles relarguent des NETs (*neutrophil extracellular traps*).(59) Ces NETs sont constitués de matériel intra-cellulaire et notamment de longs fragments d'ADN et de protéines

et ont un rôle démontré dans l'induction de la cascade thrombotique.(60) In vitro, Yalavarthi et al. montrent que la production de NETs par les neutrophiles au cours du SAPL primaire est inhibée par un inhibiteur du TLR-4 ou des inhibiteurs de la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS).(59)

Au cours du SAPL obstétrical, les trophoblastes peuvent également être une cible directe des anti- β 2GP1, et l'agression endothéliale préalable n'est pas systématique, à la différence du « second hit » classiquement nécessaire dans le SAPL thrombotique.(61) La liaison de l'anti- β 2GP1 induit une cytotoxicité directe entraînant l'apoptose des cellules, la réduction de la sécrétion d'hormone de croissance et d'hormone chorionique gonadotrophine humaine, empêchant le développement syncytial.(62) D'autres travaux ont mis en évidence la dérégulation du rôle « barrière » et anti-thrombotique de l'annexine A5, dont la fixation physiologique sur les phospholipides est inhibée de façon compétitive par l'anti- β 2GP1 au cours du SAPL obstétrical.(63) En plus d'un état pro-thrombogène, il existe un état inflammatoire local qui contribue au défaut de formation placentaire et au retard de croissance fœtal. Comme cause, on retient l'activation non contrôlée du complément, le recrutement de neutrophiles via l'action du C5a, et l'hypersécrétion locale de TNF α et d'autres cytokines pro-inflammatoires.(62)

De nombreuses études ont cherché à évaluer, chez des patients atteints de SAPL, l'existence de variants des gènes codant pour ces protéines membranaires directement ciblées par les auto-anticorps ou s'associant à la β 2GP1. Deux travaux ont montré que des polymorphismes de TLR-4 (Asp299Gly et Thr399Ile, associés à une baisse d'expression de la protéine) étaient significativement moins présents chez des patients présentant un SAPL thrombotique, en comparaison à des témoins (variants protecteurs).(56) Jimenez et al., en étudiant le génotype

des récepteurs plaquettaires chez des patients atteints de SAPL thrombotique artériel, ont pu mettre en évidence un lien entre la maladie et l'association de deux polymorphismes des gènes de la GPIa et de la GPIIIa.(64) Une étude turque indépendante a confirmé l'implication de ces variants, ainsi qu'un polymorphisme du gène codant pour la protéine GPIb, chez des malades au phénotype clinique proche.(65)

L'apo-ER2, déjà citée, est capable de lier la β 2GP1 sur les plaquettes, mais également dans une moindre mesure sur d'autres types cellulaires (monocytes, cellules endothéliales, trophoblastes).(48) Des travaux ont pu montrer que la β 2GP1 était capable de lier d'autres récepteurs de la même famille, incluant la mégaline, le récepteur VLDL, ou encore LRP-1.(66) Brièvement, la régulation des niveaux de LDL est assurée par le récepteur au LDL (LDL-R) lui-même dégradé par la protéine PCSK-9 dans le foie. Récemment, une étude a mis en évidence une association positive entre SAPL thrombotique et des variants des gènes *LDLR* et *PCSK-9*, exprimés de façon ubiquitaire dans l'organisme.(67)

L'haplotype H3 du gène codant pour l'annexine A5 (*ANXA5*) semble être associé au SAPL obstétrical. Hiddink et al., dans une étude publiée en 2015, ont objectivé une prévalence deux fois plus élevée de cet haplotype chez des femmes présentant un SAPL obstétrical (primaire et secondaire confondus), en rapport avec des femmes témoins.(68) Le rôle d'autres haplotypes et variants génétiques de cette protéine dans d'autres formes de SAPL reste encore débattu.

4. Implication de nombreuses voies de signalisation intracellulaires et d'une signature interféron de type I

Après fixation de l'APL sur sa cible cellulaire, les voies de signalisation intra-cytoplasmiques engagées sont multiples et impliquent les systèmes p38 / MAPK / NF κ B, MEK / ERK dans les

monocytes et les cellules endothéliales.(69),(70) Elles aboutissent à la modification de l'expression de plusieurs molécules pro-coagulantes à la surface cellulaire, comme le facteur tissulaire (FT), des sélectines et molécules d'adhésion cellulaire (CAM) ; mais également des molécules pro-inflammatoires comme l'IL-8 ainsi que le TNF α .(52)

Un travail publié en 2014 a en outre, permis de montrer une implication de la voie PI3K / AKT menant à l'activation pathologique de mTOR dans les cellules endothéliales de patients présentant une néphropathie associée au SAPL.(71)

L'existence d'une signature interféron de type I (IFN- α) chez des patients présentant un SAPL secondaire à un lupus est bien démontrée.(72) Chez les patients SAPL primaire, il semble que celle-ci soit corrélée positivement à l'existence d'une dysfonction endothéliale et à la présence d'anti- β 2GP1, mais son implication dans la maladie en général est davantage débattue.(73) Cette dérégulation de la signalisation interféron a été associée à l'hyper-expression de récepteurs de l'immunité innée, les TLR 7 et 8, dans le système endosomal des cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC) responsables de la sécrétion d'IFN- α .(74)

Des variants génétiques de protéines impliquées dans les voies intracellulaires sus-citées ont été associés au SAPL. Des polymorphismes de *STAT4* (*signal transducer and activator of transcription - 4*) sont impliqués dans plusieurs maladies auto-immunes, incluant le lupus.(75) Des travaux réalisés par deux équipes distinctes ont confirmé qu'un variant de *STAT4* (rs7574865) était également associé au SAPL primaire.(76),(77) Il est intéressant de noter que ce même variant confère à des patients lupiques une sensibilité accrue à l'IFN- α .(78)

Un variant du gène codant pour IRF-5, une protéine impliquée dans la régulation du signal interféron, a également été associé au SAPL. Cependant, cette association paraît beaucoup moins importante qu'au cours du lupus.(79)

Enfin, un cas unique de SAPL primaire a été rapporté en association avec un variant *de novo* de mTOR.(80) Même s'il s'agit d'une observation réalisée sur une seule patiente, celle-ci est tout à fait intéressante en raison du rôle potentiel précédemment discuté de la voie PI3K / AKT / mTOR dans la physiopathologie du SAPL.

5. Un rôle majeur du système du complément

Le complément est activé au cours du SAPL, via la voie classique et la voie alterne, et peut-être la voie des lectines, avec comme conséquence l'activation du C5 et du C3, d'abord mise en évidence dans des modèles murins.(81) Chez l'homme, des travaux ont montré des niveaux sériques plus élevés de C5b-9, complexe d'attaque membranaire, chez des patients présentant des AVC en lien avec un SAPL, mais également au cours de CAPS.(82) Par ailleurs il a été montré que le C5b-9 co-localisait avec le C3, le C4, le C1q, la β 2GP1 et l'anti- β 2GP1 dans la paroi artérielle thrombosée de malades présentant un SAPL primaire.(83)

Les mécanismes de l'activation du complément au cours du SAPL restent toutefois assez peu connus. L'activation de la voie classique par le C1q a été évoquée dans plusieurs travaux (via la fixation directe de complexes immuns ou encore la présence d'auto-anticorps anti-C1q associés à la maladie, comme dans le lupus).(84),(85) Par ailleurs, la β 2GP1 semble en elle-même avoir un rôle d'inhibiteur direct de la voie alterne, en favorisant la dégradation du facteur

C3 / C3b.(86) La régulation de cette voie pourrait ainsi être impactée au cours du SAPL avec hyper-activation du C3b en conséquence.

Le rôle pro-thrombogène du complément, une fois activé, est mieux décrypté. Le C5a est connu pour lier les neutrophiles et les activer, favorisant les NETs.(87) Par ailleurs, le C5a favorise l'expression de FT par les monocytes et les cellules endothéliales. Le complexe d'attaque membranaire C5b-9, au contact de l'endothélium, induit l'expression du facteur von Willebrand et la sécrétion de P-sélectine, favorisant l'adhésion et l'activation des plaquettes et des leucocytes. En outre, la thrombose en elle-même stimule l'activation du complément et la formation du complexe d'attaque membranaire, amplifiant de fait la réaction.(82)

Au cours du SAPL obstétrical, le complément possède également un rôle pathogène majeur. Des souris déficientes en facteurs du complément ou traitées avec des inhibiteurs pharmacologiques du complément ne développent pas de complication obstétricale, à la différence d'animaux témoins.(88),(89) L'activation de la voie classique ou de la voie alterne du complément génère la sécrétion d'anaphylatoxines C3a et C5a, qui induisent un environnement pro-inflammatoire impactant l'implantation embryonnaire et le développement fœtal.(90)

L'impact du système du complément dans la physiopathologie du SAPL est souligné par le succès d'un traitement par anti-C5, l'eculizumab, dans plusieurs cas de CAPS,(91) ainsi que dans la prévention de microangiopathies thrombotiques associées au SAPL chez des patients en post-greffe rénale.(92)

Chaturvedi et al., dans une étude très récente,(93) ont confirmé que des APLs issus de patients étaient capables d'activer le complément, et que cette réaction était inhibée par un facteur inhibiteur (facteur D) mais également par un anti-C5a. De façon très intéressante, dans le même travail, il a été démontré que la présence de variants génétiques rares au sein du système du complément (fréquence < 0,01% dans la population) était plus fréquente chez les patients atteints de CAPS (62,5%) que de lupus (23,8%), de SAPL vasculaire (22,6%) ou de syndrome hémolytique et urémique atypique (SHUa, 50%).

Bien que non recommandés en routine devant l'absence d'étude contrôlée, les inhibiteurs du complément représentent une option thérapeutique intéressante chez des malades sélectionnés, notamment au cours des CAPS. La caractérisation plus fine des patients sur le plan clinique, mais également génétique, pourrait permettre d'identifier au plus tôt les individus susceptibles de bénéficier d'un tel traitement.

6. Le SAPL est associé à des désordres intrinsèques de la coagulation

En plus d'une hyper-activation des plaquettes et via l'action directe des APLs, des désordres spécifiques de l'hémostase secondaire sont également décrits au cours du SAPL. La voie extrinsèque est activée par le facteur tissulaire. Celui-ci est surexprimé d'une part après l'action spécifique des APLs sur leur cible cellulaire (monocyte, cellule endothéliale, trophoblaste, neutrophile), mais il est également activé par l'agression tissulaire (« *second hit* »). Des travaux ont permis de montrer que la microangiopathie induite par les APLs était améliorée chez des souris n'exprimant pas le facteur tissulaire.(94) Après liaison avec le facteur VIIa, celui-ci active les facteurs IX et X, et ainsi, l'hémostase secondaire.

Par ailleurs, une hyper-activation du facteur XI a été associée par plusieurs études à une majoration du risque thrombotique.(95) Différents travaux ont montré que le facteur XI était davantage activé chez des patients présentant un SAPL. Cette hyper-activation semble être en lien avec une conformation à prédominance réduite de la protéine. Cela illustre, une nouvelle fois, l'importance de l'état local d'oxydo-réduction et possiblement le rôle d'enzymes oxydo-réductases (PDI et TRX-1 précédemment citées) dans la physiopathologie du SAPL.(96)

Des travaux ont cherché à évaluer l'association de la maladie avec des variants de gènes codant pour des protéines intervenant dans la coagulation, mais les résultats sont peu concluants. Ames et al., dans une étude publiée en 2001, n'ont pas mis en évidence d'association entre SAPL et variant G20210A de la prothrombine, ni avec la mutation C677T de la méthyl-tétrahydrofolate réductase (MTHFR).(97) Un travail plus récent incluant 400 patients (100 avec SAPL primaire ou secondaire, 100 présentant une TVP sans SAPL, et 200 sujets sains contrôles) a confirmé que ce même variant G20210A de la prothrombine n'était pas associé au SAPL, de même que le facteur V Leiden.(98) Toutefois, ces études portent sur des cohortes dont l'hétérogénéité clinique et biologique est parfois marquante.

Une autre étude a montré qu'un haplotype du gène *PROCR*, codant pour le récepteur de la protéine C, un anticoagulant naturel, était significativement moins retrouvé chez les patients SAPL ; il s'agirait alors d'un potentiel facteur protecteur.(99)

Pour finir, une étude égyptienne parue en 2018, sur de petits effectifs, semble indiquer un rôle protecteur du polymorphisme G79A de la protéine Z, impliquée dans la régulation négative de l'activation du facteur X.(100)

- b. A l'origine des auto-anticorps pathogènes, une rupture de tolérance B encore peu comprise

1. Anomalies intrinsèques du lymphocyte B

Si le rôle des APLs dans l'induction de la thrombose est de mieux en mieux compris, l'origine de leur production l'est beaucoup moins. La rupture de tolérance menant à l'émergence de lymphocytes B auto-réactifs producteurs d'auto-anticorps représente un champ de recherche important en immunologie. Paul Ehrlich déjà, au tout début du 20^{ème} siècle, érigeait « l'horror autotoxicus » comme un concept fondateur : cette tolérance du soi devant rendre impossible la production « d'auto-toxines », poisons du corps. La dimension théologique était au premier plan, la finalité d'un organisme ne pouvant raisonnablement inclure un mécanisme d'autodestruction. Depuis, des travaux menés par d'autres immunologistes, en premier lieu E. Metchnikoff qui partagea le prix Nobel avec Ehrlich en 1908, et J. Bordet, ayant étayé la théorie de l'immunité cellulaire (« cellule dévoreuse »), sont venus consolider les bases de l'immunologie moderne. Cent ans plus tard, une revue publiée par Meffre et al. fait état des connaissances actuelles sur certains défauts au cours de l'ontogenèse lymphocytaire B induisant cette rupture de tolérance du soi.(101)

Il existe en premier lieu, des altérations centrales des « checkpoints » immunitaires induisant un défaut d'élimination précoce des lymphocytes B auto-réactifs. Celles-ci sont en lien avec des anomalies de transmission de signal du récepteur B (BCR) et des récepteurs TLR (impliqués dans l'immunité innée). En condition physiologique, le réarrangement aléatoire des gènes d'immunoglobulines menant à un BCR fonctionnel va générer un pool de cellules dont certaines sont spontanément auto-réactives. Celles-ci vont être sélectionnées négativement au niveau central en fonction du signal transmis par le BCR (tolérance centrale). Après l'acquisition d'un récepteur fonctionnel, un signal fort transmis par le BCR (émanant d'un antigène du soi), va

entraîner une inactivation du lymphocyte B : soit via une mort cellulaire par apoptose, soit via l'édition du récepteur (poursuite du réarrangement des gènes de la chaîne légère), soit par des mécanismes d'anergie ou d'ignorance lorsque la réactivité est modérée. Des anomalies dans ce processus aboutissent à un défaut de sélection négative, induisant une augmentation de la migration de lymphocytes B au répertoire auto-réactif en périphérie. En effet, il a été montré que des variants du gène *BTK*, codant la protéine Bruton tyrosine kinase impliquée au niveau proximal dans la signalisation du BCR, entraînent des défauts d'acquisition de la tolérance centrale.(102) Dans le cas du SAPL, un variant de *BLK* (lymphocyte kinase B), un gène également impliqué dans le développement lymphocytaire au stade précoce et intervenant dans la cascade de signalisation du BCR, a été associé à la maladie.(76)

La protéine PTPN22, une tyrosine phosphatase, est impliquée dans la régulation du signal du BCR mais également du TCR. Des études sur génome entier (GWAS, ou *genome wide association study*), ont permis d'associer un polymorphisme du gène *PTPN22* à l'existence de nombreuses maladies auto-immunes. Ce variant représente ainsi, hors système HLA, le facteur de risque génétique le plus fréquemment associé au lupus, au diabète de type 1 et à la polyarthrite rhumatoïde.(103) Son implication dans le SAPL fait débat, comme en témoignent plusieurs études discordantes. Il semble être associé au SAPL secondaire au même titre qu'au lupus,(104) mais aucune association au SAPL primaire n'a été mise en évidence au sein d'une cohorte de patients espagnols, sous réserve d'un faible nombre de patients inclus.(105)

Par ailleurs, des variants perte de fonction du gène *IKZF1*, codant pour le facteur de transcription IKAROS, sont associés à des déficits immunitaires humoraux mais également à une auto-immunité chez un quart des malades atteints. IKAROS est connu pour son rôle dans les stades précoces de l'ontogenèse B. Dans notre centre, un SAPL familial a ainsi été décrit

chez une famille présentant un variant hétérozygote perte de fonction d'*IKZF1* (p.H167R) de transmission autosomique dominante.(106) Des études fonctionnelles sont en cours, afin de mettre en évidence un lien éventuel entre la perte de fonction d'IKAROS au sein de cette famille, et une rupture de tolérance B précoce au stade immature ou naïf, avec une spécificité vis-à-vis des phospholipides.

2. Le système HLA, acteur de la présentation antigénique dans le dialogue T/B

Les défauts de sélection centrale discutés dans le paragraphe précédent n'expliquent pas de façon isolée la survenue d'une auto-immunité de signification clinique, l'ensemble des mécanismes de la tolérance périphérique étant capables de « rattraper » la plupart des lymphocytes B auto-réactifs produits dans la moelle osseuse.

En effet, en périphérie, un premier contact entre BCR et antigène peut déjà induire un mécanisme de tolérance, dans le cas d'un défaut de transmission d'un signal activateur au lymphocyte B. Cette situation est notamment observée en cas de stimulation antigénique chronique ou répétée, par exemple dans le cas d'auto-antigènes. Par ailleurs, l'action des lymphocytes T et des T régulateurs (Treg) en particulier est primordiale, et permet en temps normal, le contrôle de nombreux lymphocytes B ayant échappé de façon physiologique à la sélection négative médullaire.(107),(108) L'ensemble des mécanismes par lesquels les lymphocytes T effecteurs et régulateurs régissent la tolérance périphérique des lymphocytes B n'est pas complètement élucidé. Cependant, pour être activé et sécréter des anticorps de forte affinité (réponse T-dépendante), le lymphocyte B a besoin de signaux d'activation au sein des organes lymphoïdes secondaires. Ceux-ci sont permis par le rôle de cellule présentatrice d'antigène du lymphocyte B, passant par la reconnaissance du complexe CMH de classe II

couplé à l'antigène par le TCR de même spécificité antigénique. L'interaction résultante représente le premier signal d'activation. Le second signal correspond à l'activation du récepteur co-activateur CD40 après expression du CD40-ligand (CD40L) par le lymphocyte T. Enfin, ces signaux activateurs sont modulés par l'environnement cytokinique et permettent la prolifération des lymphocytes B, la commutation isotypique, le début d'un processus d'hypermutations somatiques qui visent à la majoration de l'affinité pour l'antigène. Cette interaction T/B permet, en miroir, l'activation et la survie des lymphocytes T. Ainsi, en situation normale, les lymphocytes B auto-réactifs issus de la moelle osseuse entrent rapidement en apoptose en l'absence d'activation par un lymphocyte T lui-même auto-réactif au sein d'un follicule lymphoïde secondaire.

La présentation antigénique est ainsi au centre des mécanismes de la tolérance périphérique. C'est probablement pour cela que les premières études sur le déterminisme génétique des maladies auto-immunes se sont intéressées aux acteurs du système HLA de classe II. Dans le cas du SAPL, c'est particulièrement le cas puisqu'on trouve une littérature ancienne et extrêmement abondante sur l'association de la maladie avec certains allèles HLA spécifiques.(109),(110),(111) Quelques cas familiaux ont également été rapportés.(112)

Dans un travail récent, Sebastiani et al. ont fait la revue de l'état des connaissances du lien entre HLA de classe II et SAPL.(113) Les données sont discordantes et complexes, souvent en lien avec des cohortes de faible taille mais de grande hétérogénéité (clinique, géographique, mélange de SAPL primaires et secondaires). Pour résumer, les données issues d'études sur la prévalence d'APLs au cours du lupus ont mis en évidence leur association avec les allèles HLA-DR4, -DR7, -DRw53 et -DQB1*0302 (table 2, issue de l'étude de Sebastiani et al.).

Disease	aPL	HLA	Frequency ^a	Ethnic origin	Ref.
PAPS	a β ₂ GPI	DRB1*1302-DQA1*0102-DQB1*0604/5/6/7/9	14	British Caucasoid	Caliz, 2001
SLE	a β ₂ GPI	DRB1*0402/3, DQB1*0302	67/56, 50	European	Galeazzi, 2000
PAPS + SLE ^b	a β ₂ GPI	DQB1*0302	32	White American	Arnett, 1999
PAPS + SLE ^b	a β ₂ GPI	DR4-DQB1*0302	64-64	Mexican American	Arnett, 1999
PAPS + SLE ^b	a β ₂ GPI	DRB1*1302-DQB1*0604/5	36-36	Black American	Arnett, 1999
PAPS	aPTS/PT ^c	DRB1*04-DQA1*0301/2-DQB1*0301/4	31-31-35	British Caucasoid	Bertolaccini, 2000
SLE	a β ₂ GPI	DPB1*0301,*1901	28, 67	Caucasian	Sebastiani, 2003
SLE	aPT	DQB1*0301-DQA1*03-DRB1*04	19-31-29	Caucasian	Sebastiani, 2008

^a Frequency of HLA allele/haplotype in aPL-positive patients (%).

^b Forty-eight patients affected by PAPS, 196 patients affected by SLE, 18 patients affected by other connective tissue diseases (of whom 4 with APS).

^c Antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies.

Table 2 : association des allèles HLA de type II avec la présence d'APLs au cours du lupus et du SAPL primaire. (113) PAPS, SAPL primaire ; SLE, lupus érythémateux systémique.

Les lymphocytes B auto-réactifs sont cruciaux dans la pathogénie des maladies auto-immunes médiées par les anticorps, comme le SAPL. Le système HLA de classe II est ainsi au cœur de cette coopération T/B, et ses variations alléliques sont à même de moduler la survie des lymphocytes B auto-réactifs, « l'intensité » d'activation des T via la présentation antigénique et la sécrétion résultante de cytokines pro-inflammatoires permettant le maintien d'un milieu favorisant la rupture de tolérance.

3. Gènes HLA II et potentielle influence du microbiote

La présentation antigénique via le système HLA de classe II est également impliquée dans la cross-réactivité avec des antigènes infectieux. Un nombre croissant d'études objective un rôle important du microbiote dans l'induction de l'auto-immunité, SAPL compris. (114), (115) D'intéressantes études mécanistiques apportent des éléments en faveur d'un rôle du microbiote dans l'activation de lymphocytes B et T au phénotype auto-immun. Ainsi, Ruff et al. ont récemment identifié qu'un commensal appartenant au tube digestif humain, *Roseburia intestinalis*, exprimait des séquences homologues aux épitopes B et T reconnus au cours du SAPL, de fait appelés « mimotopes ». Grâce à une élégante preuve de concept sur un modèle murin, les auteurs confirment l'implication d'une cross-réactivité dans la genèse du

SAPL.(116) Il est tout à fait probable, bien que jamais réellement mis en évidence, que l'une ou plusieurs familles HLA soient liées sur le plan génétique, à une susceptibilité accrue à ces phénomènes de cross-réactivité.

4. Réponse humorale extra-folliculaire

Si la coopération T/B est indispensable à la mise en place des centres germinatifs à l'origine de la réponse folliculaire (production de lymphocytes B mémoire et de plasmocytes sécrétant des anticorps de forte affinité), l'activation du lymphocyte B en périphérie peut également être indépendante des lymphocytes T auxiliaires. Cette réponse extra-folliculaire, encore appelée T-indépendante, concerne des antigènes de nature non protéique qui ne sont ainsi pas présentés par le CMH de type II. Ceux-ci sont capables d'activer directement le BCR menant à la différenciation plasmocytaire et *in fine*, à la sécrétion d'anticorps classiquement de moindre affinité qu'au cours des réponses folliculaires. Cette différenciation est dépendante de l'action de cytokines activatrices comme BAFF ou APRIL, qui vont permettre la commutation isotypique via leur action sur les récepteurs BAFF-R ou TACI présents à la surface du lymphocyte B.(117) Le développement récent du belimumab, anticorps monoclonal IgG1 lambda anti-BAFF, a montré un effet bénéfique au cours du LES y compris récemment au cours de néphrites lupiques.(118) Des travaux ont pointé un rôle possible de BAFF au cours du SAPL primaire, devant une corrélation entre un taux sérique élevé de cette cytokine et la sévérité de la maladie.(119) Des variants de *TNFRSF13B*, codant pour la protéine TACI, ont été associés chez l'homme à des tableaux de DICV. Certaines études rapportent une association positive entre la présence de plusieurs variants de ce gène et l'existence d'un LES, même si ces données restent controversées.(120),(121) Aucune association n'a à ce jour été décrite au cours du SAPL.

c. Autres données concernant l'aspect génétique et épigénétique du SAPL

1. Études d'association à l'échelle du génome « GWAS »

En sus des études précédemment citées, portant principalement sur l'analyse de gènes candidats, quelques travaux d'association à l'échelle du génome ou association pangénomique (GWAS) ont été réalisés chez des malades SAPL. Ceux-ci ont confirmé une association probable du locus comportant le gène codant pour la β 2GP1 avec la présence d'auto-anticorps anti- β 2GP1.(122) Par ailleurs, l'équipe de Müller-Calleja a identifié un deuxième locus hébergeant le gène *MACROD2*, significativement associé aux anti- β 2GP1, mais dont la fonction reste à déterminer.(123) La seule étude GWAS réalisée au cours du SAPL obstétrical a mis en évidence une association entre la maladie et la présence de variants sur les gènes *TSHR* et *CID*, codant pour des protéines impliquées dans la fonction thyroïdienne.(124) Un lien entre SAPL, hypothyroïdie, et anticorps anti-thyroïde a été suggéré par une étude,(125) mais là encore, l'implication exacte de ces variants dans l'émergence de la maladie n'est pas connue.

2. Rôle de l'épigénétique

Celui-ci est peu étudié, et probablement sous-estimé. Une étude récente évaluant la méthylation de l'ADN de neutrophiles chez des patients SAPL a identifié deux loci principaux présentant une déméthylation significative, correspondant aux gènes *PTPN2* et *ETSI*, codant pour deux facteurs de transcription impliqués de façon large dans des fonctions cellulaires variées (croissance, différenciation et apoptose). *PTPN2* a été associé à de nombreuses maladies auto-immunes, tandis que *ETSI* est un facteur génétique connu dans le lupus, mais jamais décrit à ce jour au cours du SAPL. Par ailleurs, les régions hypométhylées comprenaient de façon

significativement plus importante, des gènes impliqués dans la grossesse.(126) Une autre étude récente sur quelques gènes candidats a permis de pointer qu'une hypométhylation du gène de l'IL-8 était associée à la présence d'un SAPL et de complications thrombotiques chez les malades.

Les miRNA, petits fragments d'ARN impliqués dans la régulation post transcriptionnelle d'un gène, ont été impliqués dans plusieurs maladies auto-immunes. Pérez-Sánchez et al. ont confirmé qu'une expression altérée de ces miRNA au cours du lupus et du SAPL était associée aux thromboses, à l'athérosclérose et au stress oxydatif dans les deux pathologies.(127)

Enfin, l'épigénétique comprend également, de façon large, les modifications post-traductionnelles de la β 2GP1 déjà discutées dans des paragraphes précédents (changement de conformation en forme ouverte en milieu oxydant ou de façon concomitante à une infection).

d. Quelle est la place concrète du déterminisme génétique au cours du SAPL ?

Après synthèse de la littérature, le SAPL ne semble pouvoir être habituellement expliqué par une hypothèse monogénique, comme en témoigne la rareté des cas familiaux rapportés. A l'inverse, au cours du LES par exemple, ceux-ci sont bien plus nombreux, de sorte qu'il existe une entité appelée « lupus monogénique », de transmission mendélienne caractérisée. Une étude épidémiologique danoise réalisée entre 1975 et 2013 a identifié un risque relatif égal à 10,3 de développer un lupus pour un apparenté au premier degré d'un lupique connu.(128) Par ailleurs, la concordance de la maladie est observée chez environ 24% des jumeaux homozygotes (contre 2% pour les jumeaux hétérozygotes), plaidant pour un substrat génétique fort.(129) Ces cas de LES dits « monogéniques » sont souvent plus sévères, et débutent volontiers dans

l'enfance à un âge inférieur à 5 ans.(130) La description des gènes impliqués a permis des avancées considérables dans la compréhension de la physiopathologie de la maladie, comme par exemple la mise en évidence du rôle crucial de la signalisation interféron de type I au cours des interféronopathies ou encore le rôle du complément au cours de défauts ciblés de ses composants. Au contraire, les cas de SAPL pédiatriques semblent beaucoup plus rares, et même si leur fréquence est probablement sous-estimée, leur incidence et leur prévalence ne sont pas connus avec précision, de sorte que l'existence d'authentiques cas de SAPL monogéniques pourrait être remise en question.(131)

Toutefois, certaines observations viennent nuancer ce postulat :

- Quelques cas de SAPL familiaux ont bel et bien été décrits, au cours de travaux anciens.(132),(133) A l'époque, l'analyse génétique n'avait porté qu'au cours d'une étude, sur un typage HLA (concordant dans la fratrie).(112) Aucun variant véritablement causal n'avait ainsi pu être mis en évidence. Toutefois, devant la rareté de la maladie, il paraît improbable qu'une telle ségrégation familiale au premier degré soit liée à l'existence de seuls facteurs environnementaux ;
- En 2019, Rodriguez-Garcia et al. présentent le cas d'une jeune enfant avec syndrome polymalformatif et SAPL sévère attribués à une mutation dominante de novo de *MTOR*.(80) La voie de signalisation dépendant de mTOR est décryptée chez la patiente ; il est montré son activation constitutive via AKT menant *in fine* à une perte de coordination entre synthèse protéique cytoplasmique et activité mitochondriale. Cette dysrégulation aboutit en une phosphorylation oxydative déficiente responsable d'un stress oxydant et d'une apoptose cellulaire. Les auteurs émettent la théorie que le SAPL est secondaire à l'expression accrue de cardiolipine à la surface des cellules

apoptotiques, découvrant une cible antigénique reconnue par les APLs et ainsi, la survenue de la maladie (« *second hit* ») ;

- Une famille comportant une fratrie de 2 enfants présentant tous les deux un SAPL sévère associé à un déficit immunitaire à prédominance humorale (DICV), a été prise en charge dans notre service (figure 6).(106) Une analyse génétique a été réalisée devant la rareté du tableau familial et l'atteinte pédiatrique ; une mutation p.H167R perte de fonction d'*IKZF1*, de transmission dominante et agissant par haplo-insuffisance, a été mise en évidence chez les enfants et le père. Des mutations constitutionnelles perte de fonction d'*IKZF1* ont été associées dans la littérature à l'existence d'un déficit immunitaire avec ou sans auto-immunité dont un cas de SAPL secondaire (voir paragraphe II.b).(134),(135),(136)

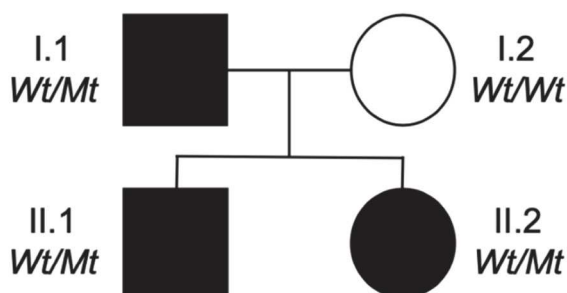


Figure 6 : arbre généalogique de la famille avec variant p.H167R de *IKZF1*. En noir, porteurs du variant p.H167R d'*IKZF1* (père I.1, fils II.1, fille II.2). En blanc, mère (I.2) non porteuse et non malade.

Ainsi, dans de très rares situations et notamment en cas d'antécédents familiaux au premier degré, une origine « monogénique » du SAPL peut être suspectée. Les variants retenus dans les deux derniers exemples (*MTOR* et *IKZF1*) sont décrits pathogènes dans la littérature, avec une hypothèse d'imputabilité forte sur des arguments physiopathologiques et mécanistiques.

Par ailleurs, ces rapports de cas font état d'un début très précoce de la maladie (petite enfance pour la patiente avec variant *MTOR* et à respectivement une dizaine d'années et à l'adolescence pour les patients II.1 et II.2 avec le variant *IKZF1*, figure 6). Ce début précoce semble être associé à une maladie thrombotique sévère (troubles neuro-développementaux profonds en lien avec infarctus cérébraux rapidement progressifs pour la patiente avec variant *MTOR*, CAPS pour le patient II.1), en adéquation avec les tableaux de lupus pédiatriques de présentation plus grave.(137)

Nous avons, sur ces arguments, émis l'hypothèse que les SAPL à début précoce, plus sévères ou présentant une ségrégation familiale nette (maladie chez des apparentés au premier degré) étaient caractérisés par un « poids » plus fort de la génétique, en comparaison à celui des facteurs environnementaux (habituellement moins important chez les sujets jeunes, de même que certaines expositions toxiques ou médicamenteuses). Ce postulat, s'il semble instinctif, est vérifié au cours de multiples autres pathologies, par exemple dans le diabète de type 1.(138)

L'objectif de notre étude a ainsi été, dans un premier temps, de caractériser de façon clinique et biologique une cohorte multicentrique de patients présentant les formes de SAPL les plus sévères (triple positivité pour les APLs, CAPS), incluant éventuellement des formes familiales ainsi que des patients avec SAPL et hypogammaglobulinémie (en raison de la description récente d'une famille avec variant *IKZF1*). Dans un second temps, nous avons tenté d'approcher et de caractériser des facteurs génétiques potentiellement impliqués dans la genèse de ces SAPL « extrêmes ».

III. Rationnel et objectifs de l'étude, présentation des hypothèses de travail

- a. Synthèse de la littérature portant sur les facteurs génétiques du SAPL :
méthodes utilisées, lacunes persistantes

Les données de la littérature portant sur les facteurs génétiques associés au SAPL que nous venons de décrire sont issues de trois types d'études (table 1) :

- D'abord, des travaux réalisés sur l'association entre la maladie et les allèles HLA de classe II. Ces travaux sont en général anciens, portant sur un faible nombre de patients. Les données sont parfois contradictoires et les sous-groupes de malades (SAPL primaire, secondaire, artériel, veineux) mal caractérisés. Sebastiani et al. ont récemment publié une revue résumant les principales conclusions de ces études (cf. paragraphe IIb, table 2) ;(113)
- Puis, de façon à peu près chronologique, viennent des études visant à déterminer l'association de certains gènes ou variants de gènes avec la maladie. Ceux-ci ont été sélectionnés du fait de leur implication supposée dans la physiopathologie du SAPL (gènes dit « candidats ») :
 - En premier lieu, et de façon attendue (le SAPL étant une maladie thrombotique), des études portant sur les principaux variants de thrombophilie recherchés en pratique clinique courante ;
 - En second lieu, des gènes impliqués dans la physiopathologie de la maladie (*APOH* codant pour la β 2GP1 en exemple le plus évident), ou par extension connus pour être associés au lupus ou à d'autres maladies auto-immunes (*BLK*, *PTPN22*, *IRF5*, *STAT4*...). Ceux-ci sont souvent des gènes codant pour des protéines jouant un rôle dans l'immunité innée ou adaptative, majoritairement impliqués dans la réponse B.

- Enfin, les études d'association à l'échelle du génome (GWAS), ont connu au cours de la dernière décennie un essor majeur, avec d'importants apports principalement dans la découverte de variants communs impliqués dans la survenue de maladies fréquentes. Au cours du SAPL, trois études GWAS ont été publiées depuis 2013.(122),(123),(124)

Facteurs de susceptibilité génétique au SAPL

Association non fortuite avec HLA II : **DRw53, DQB1, DR4** à risque ; **DRB1, DQA1** protecteurs.

Sebastiani, *Autoimmunity Reviews*, 2016

Etudes sur gènes candidats

Thrombose / fonction plaquettaire	<i>FV</i> Leiden, <i>FII</i> G20210A, <i>MTHFR</i> C677T	Pas de sur-risque significatif ou sur-risque incertain	Berman, <i>Clin Exp Rheumatol</i> 2013 ; Ames, <i>J Rheumatol</i> , 2001
	<i>GPIIa</i> , <i>GPIIb</i> , <i>GPIIIa</i> , <i>SELP</i> (sélectine P)	OR 3 à 14 pour 3 variants	Jimenez, 2008 ; Yonal, 2012 ; Alpay, 2014
	<i>PROCR</i> (récepteur protéine C)	OR 0,23 pour Haplotype 1	Plasin-Rodriguez, <i>Thromb Res</i> , 2018
Métabolisme lipidique	<i>ANXA5</i> (annexine A5) variant « Kozak »	OR 2,7 dans SAPL obstétrical	De Laet, <i>Ann Rheum Dis</i> , 2006
	<i>PCSK9</i> (métabolisme du cholestérol) <i>LDLR</i> (récepteur LDL)	OR 1,84 OR 2,35	Ochoa, <i>PLoS ONE</i> , 2016
Phospholipides / molécules apparentées	<i>APOH</i> (apolipoprotéine H = β2GPI)	OR 1,31 pour un variant fréquent (37%)	Lee, <i>Lupus</i> , 2012 (méta-analyse)
	<i>PTPN22</i>	Sur-risque incertain	Ostaneck, <i>Mol Biol Res</i> , 2014
Immunité (innée / adaptative)	<i>IRF5</i> (régulation interféron type I)	OR 1,69	Yin, <i>Arthritis Rheum.</i> , 2009
	<i>STAT4</i>	OR 2,1 (intron)	Yin, <i>Arthritis Rheum.</i> , 2009
	<i>TLR4</i>	NA	Pierangeli, <i>Annals of the Rheumatic Diseases</i> , 2007
	<i>BLK</i> (signalisation BCR)	OR 2,06	Yin, <i>Arthritis Rheum.</i> , 2009

Etudes GWAS :

TSHR, *CID*, *NGF*, *SYCP2L*, *GATA3*, *FRMD44*, *PTPRO*, *MACROD2*

Significativité clinique de gènes au rôle parfois inconnu ?

Sugiura, *J Hum Genet*, 2017 ;
Kamboh, *Autoimmune Dis*, 2013 ;
Müller-Calleja, *Thromb Haemost*, 2016

WES :

Une seule étude présentant les résultats d'un WES chez 1 patient (troubles neurodéveloppementaux + SAPL)

→ Variant *MTOR* c.7235A>T

Rodriguez-Garcia, *Eur J Hum Genet*, 2019

Table 3 : récapitulatif des facteurs de susceptibilité génétique associés à la survenue d'un SAPL dans la littérature. Type d'étude correspondant : étude des gènes du système HLA, études sur gène(s) candidat(s), études GWAS et séquençage d'exome (WES, pour Whole Exome Sequencing).

Les études réalisées sur gène candidat (gènes de thrombose ou gènes impliqués dans l'auto-immunité dans le cas du SAPL) permettent une interprétation aisée des sur-risques objectivés, le gène étant choisi *a priori* en raison de son implication dans la physiopathologie de la maladie. L'intensité de l'effet de chaque gène est exprimée en odds-ratio (OR) et peut parfois être assez importante pour ce type d'étude.(139)

Cependant, il existe plusieurs inconvénients, en premier lieu la difficulté de sélection d'une population d'étude homogène, pour des maladies pouvant apparaître à un âge variable et s'exprimer selon des phénotypes plus ou moins sévères, typiquement au cours du SAPL. Par ailleurs, dans ce type de maladie complexe sur le plan physiopathologique, la connaissance des voies de signalisation et des acteurs impliqués est très imparfaite et limite arbitrairement le choix des gènes candidats. Troisièmement, ces maladies complexes (à l'inverse des affections génétiquement « simples » présentant un mode de transmission mendélien) sont la plupart du temps médiées par plusieurs voire de nombreux loci, chacun contribuant avec une intensité de risque faible à modérée à la survenue de la maladie : on parle alors de maladies polygéniques voire omnigéniques.(140)

En raison de ces inconvénients, les études GWAS ont été développées pour l'analyse génétique des maladies complexes, prometteuses car permettant théoriquement l'étude de l'ensemble des variants conférant un sur-risque même minime à l'échelle du génome.

Cependant, elles présentent des limitations évidentes, comme en témoignent les résultats discordants et mal interprétables sur le plan mécanistique présentés par les trois seuls travaux ayant porté sur des malades SAPL. D'abord, le choix de la cohorte est déterminant, au cours de

maladies protéiformes sur les plans clinique et biologique : la mise en évidence d'un sur-risque associé à un variant résulte potentiellement d'un biais de sélection (ethnie, autre facteur confondant non pris en compte...). Par exemple, au cours du SAPL, les trois travaux ont porté sur des populations complètement différentes limitant la reproductibilité des résultats entre les études et sur des cohortes ultérieures. Il faut noter que pour deux études, la sélection d'au moins une partie des patients ne s'est faite que sur la présence ou non d'APLs (sans description clinique et donc potentiellement sans SAPL). Ensuite, l'un des désavantages majeurs des études GWAS tient dans le nombre important de loci identifiés, portant individuellement des intensités d'effet infinitésimales sur le risque d'apparition de la maladie. Même en additionnant ces loci, une grande part de l'héritabilité n'est pas expliquée (concept « d'héritabilité manquante »), faisant discuter l'implication d'encore davantage de loci ne dépassant pas la significativité statistique ou à l'inverse, de variants à l'effet important mais trop rares pour être mis en évidence dans des cohortes au nombre limité de patients. En effet, les données de la littérature indiquent que les variants prédisposant le plus fortement à l'apparition d'une maladie (OR élevé > 2) sont aussi les plus rares (en général < 5% de la population, fréquence minorée par pression de sélection négative).(141) Enfin, l'absence de corrélation clinique est également l'un des problèmes majeurs des études GWAS, au cours desquelles sont identifiés des gènes présentant des sur-risques significatifs mais sans lien apparent avec la physiopathologie connue de la maladie. Ainsi, dans l'étude de Müller-Calleja et al., les auteurs identifient *MACROD2*, un gène au rôle globalement inconnu, comme étant l'un des deux loci significativement associés à la présence d'IgG anti-domaine I de la β 2GP1. L'interprétation de ce résultat est difficile, conférant à l'étude une utilité clinique faible en l'état. L'hypothèse d'une association génétique non fortuite entre plusieurs variants, ou épistasie, à l'origine de la dissimulation d'un ou de quelques variants à l'effet important au milieu de multiples variants à l'effet moindre, est également intéressante et pourrait expliquer les résultats mitigés de ces études GWAS. Ce type

d'interaction génétique est difficile à évaluer et n'est le plus souvent pas pris en compte ou non maîtrisé dans les études actuelles.

Le séquençage d'exome (WES pour *whole exome sequencing*) sur une cohorte de patients sélectionnés est l'une des méthodes d'analyse génétique actuellement utilisée comme outil diagnostique, ou pour l'étude de maladies rares. Contrairement à l'étude de gènes candidats elle permet de s'affranchir du choix *a priori* d'un ou de quelques gènes et explore la totalité des régions codantes du génome, permettant ainsi la mise en évidence de variants ou de gènes jusqu'alors non associés à la maladie. L'inclusion habituelle d'un nombre relativement faible de patients limite la puissance statistique des résultats, mais permet un contrôle beaucoup plus strict des critères de sélection. Ainsi, il est possible de sélectionner scrupuleusement des patients présentant une maladie très rare ou une forme inhabituelle, ou juvénile, ou encore très sévère, d'une maladie plus fréquente. L'étude de l'imputabilité d'un nombre important de loci est possible, permettant l'analyse de l'intégralité des séquences codantes du génome à l'inverse d'études GWAS utilisant encore souvent des techniques de puce à ADN, présentant une mauvaise couverture pour les variants rares (< 5%). Ainsi, la technique de WES permet la mise en évidence au sein de la cohorte d'éventuels variants rares présentant un effet important, ainsi que s'ils existent, des variants de transmission mendélienne notamment dans les cas familiaux.

Dans le cas du SAPL, une maladie complexe et extrêmement variable sur les plans clinique, biologique, et physiopathologique, présentant une origine habituellement polygénique, mais pouvant s'expliquer dans de rares cas par une hypothèse monogénique, le choix d'une analyse en WES apparaît pertinente sur un nombre restreint de patients sélectionnés.

b. Rationnel et objectifs de notre travail

De façon générale, les progrès réalisés dans la compréhension d'une maladie servent à terme, au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Par exemple, l'identification et la caractérisation d'une signature interféron au cours du LES a permis en quelques années d'envisager le développement de bloqueurs spécifiques de cette voie, dont l'anifrolumab, un anticorps monoclonal ciblant la sous-unité 1 du récepteur de l'interféron de type I.(142) Comme autre exemple, citons l'utilisation de l'éculizumab au cours des syndromes hémolytiques et urémiques atypiques, permise par la description du rôle du complément au cours de cette maladie sévère, et ayant complètement révolutionné son pronostic.(143)

Cependant, au cours des dernières décennies, la description de plus en plus précise de la physiopathologie du SAPL n'a pas permis le développement de traitement spécifique au cours de cette maladie. Les essais thérapeutiques explorant l'intérêt de traitements immunosuppresseurs ou de biothérapies se sont avérés décevants, de sorte que les recommandations de traitement actuelles sont encore basées quasi exclusivement, sur une anticoagulation curative plus ou moins associée à une antiagrégation plaquettaire (cf. chapitre I.c).(34)

L'une des hypothèses permettant d'expliquer ce revers tient dans l'hétérogénéité très importante des patients SAPL, marquante et bien décrite sur les plans clinique et biologique. Il est probable que cette hétérogénéité soit également majeure sur le plan physiopathologique, même si moins descriptible à l'échelle individuelle. Par exemple, différents patients pourront présenter une implication prédominante de désordres dans les fonctions plaquettaires ou dans les voies de la coagulation, dans le système du complément, ou encore dans l'immunité innée, allant à l'encontre d'une maladie invariablement liée à des anomalies de la réponse

lymphocytaire B avec production d'auto-anticorps pathogènes. La part d'imputabilité de chaque mécanisme est difficile à évaluer de façon individuelle en pratique clinique courante, les patients étant souvent pris en charge en aigu après la survenue de la thrombose, avec fréquemment des facteurs déclencheurs confondants (infection, chirurgie).

Devant l'accès de plus en plus aisé aux techniques de séquençage, l'apport de la génétique est devenu majeur au cours de la stratégie diagnostique de pathologies de plus en plus nombreuses, comme certaines hémopathies, les déficits immunitaires primitifs ou encore les maladies auto-inflammatoires. Des techniques de séquençage rapide ciblée sur certaines régions d'intérêt du génome (NGS, pour *Next Generation Sequencing*) ont ainsi des applications directes dans le screening de ces maladies.(144),(145)

Chez un patient atteint de SAPL, l'identification d'un ou plusieurs variants pathogènes au sein d'une voie de signalisation (fonctions plaquettaires, coagulation, complément, immunité innée ou adaptative) pourrait permettre d'identifier le mécanisme physiopathologique majoritairement impliqué à l'échelle individuelle. Bien sûr, ce lien entre génotype et physiopathologie est théorique et reste à démontrer et à préciser à l'heure actuelle ; par ailleurs, ces variants pathogènes sont encore mal connus (cf. chapitre III.a), et beaucoup restent probablement à identifier.

L'objectif de notre étude a ainsi été d'identifier et de caractériser des variants impliqués dans la survenue de formes sévères de SAPL primaires, à partir d'une cohorte de patients au phénotype extrême.

c. Hypothèses de travail

1. Dans certains cas, le SAPL peut être une maladie monogénique

En premier lieu, nous explorerons une hypothèse monogénique, c'est-à-dire la possibilité qu'un variant unique puisse expliquer à lui seul, la survenue de la maladie chez un patient. Même si les rapports d'authentiques formes de transmission mendélienne de SAPL semblent extrêmement rares, la sélection de patients sur des éléments de gravité, ou sur la présence d'antécédents familiaux de thrombose voire de SAPL au premier degré, majore les chances de mise en évidence de variants pathogènes et imputables de façon isolée dans la survenue de la maladie.

La démonstration de cette imputabilité est toujours délicate, surtout en cas de présentation sporadique. Cependant, en cas de forme familiale, l'extension de l'analyse génétique aux parents liés au premier degré (si possible, analyse d'exome en trio) permet souvent de confirmer et de préciser la responsabilité des variants dans la survenue de la maladie. En exemple concret, nous rappelons la description récente de la famille présentant le variant *IKZF1* de transmission dominante, présent chez le père atteint et les deux enfants, et absent chez la mère non malade.

2. Le SAPL est une maladie thrombotique et les patients peuvent présenter un terrain génétique de thrombophilie

Si la description d'un SAPL monogénique (tirant son origine d'un variant unique) est possible dans quelques cas rarissimes, la grande majorité des patients atteints semble présenter une maladie d'origine multifactorielle, polygénique mais également issue de facteurs environnementaux.

Le SAPL étant une maladie thrombotique, il est légitime de questionner l'éventuelle présence non fortuite de variants fréquents ou moins fréquents de thrombophilie, qu'ils soient ou non recherchés en pratique courante après un événement thrombotique. Le modèle du « *two-hits* » pourrait également se présenter de la façon suivante :

- Présence d'une mutation de thrombophilie connue pour être associée à un désordre de la coagulation (gain de fonction d'un facteur procoagulant comme le facteur V Leiden, mutation G20210A du facteur II ; perte de fonction d'un anticoagulant, protéine C ou protéine S ; hyperhomocystéinémie par mutation du gène *MTHFR* entraînant une réduction d'activité de la protéine méthyl-tétrahydrofolate réductase). Celle-ci peut dans ce cas être considérée comme le « *first hit* » ;
- Association à une rupture de tolérance immunitaire plus tardive, médiée par un stimulus périphérique infectieux par exemple (infection virale, microbiote), entraînant l'émergence de lymphocytes B sécrétant des APLs directement pathogènes. Ceux-ci sont à l'origine d'une activation des plaquettes, des monocytes, des cellules endothéliales, ou encore du système du complément. Cette activation, associée au désordre primaire de l'hémostase, est à l'origine de la thrombose.

Peut-être la présence de tels variants au sein du système de la coagulation est-elle un pré-requis fréquent au développement d'un SAPL. Plusieurs travaux ont été réalisés afin de répondre à la question de l'association de facteurs de thrombophilie (FV Leiden, variant G20210A du FII, variant C677T du gène *MTHFR*) avec la maladie. Ceux-ci sont discordants, et trouvent des effets faibles voire aucun effet pour ces principaux variants.(97),(98),(146) Mais encore une fois, la sélection des patients est discutable, car éminemment différente entre ces études. Par ailleurs, l'analyse d'un seul variant choisi arbitrairement chez un malade ne permet pas d'exclure totalement un autre facteur génétique à l'origine d'une thrombophilie. C'est

pourquoi, la recherche systématique des 3 principaux variants étudiés en pratique courante (facteur V Leiden, variant G20210A du facteur II, variant C677T du gène *MTHFR* à l'état homozygote) s'avère intéressante.

Même si elle peut paraître secondaire chez un patient présentant un SAPL authentifié, l'identification d'une thrombophilie génétique pourrait en revanche s'avérer extrêmement importante chez des patients porteurs d'APLs, mais n'ayant jamais présenté de thrombose. L'existence de variants de thrombophilie chez ces patients pourrait permettre de moduler le pronostic de voir apparaître un événement clinique (et par la même, modifier le suivi ou un éventuel traitement préventif).

Par ailleurs, sur le plan thérapeutique, il est possible qu'aucune biothérapie ou thérapie immunologique ciblée ne puisse améliorer le risque d'un malade présentant un variant « fort » de thrombophilie, comme une mutation de l'antithrombine III ou une perte de fonction de la protéine C ou la protéine S, ces variants motivant dans tous les cas la poursuite d'une anticoagulation prolongée après un premier épisode clinique.

3. Le SAPL est une maladie multifactorielle, associant des facteurs environnementaux et une origine polygénique, avec des variants communs à d'autres maladies auto-immunes avec ou sans déficit immunitaire

Enfin, nous émettrons l'hypothèse qu'au cours du SAPL, il existe des facteurs génétiques communs à d'autres maladies auto-immunes avec ou sans déficit immunitaire. En effet, le SAPL présente certaines similitudes avec d'autres maladies, incluant bien sûr le LES. Par exemple, la survenue d'une rupture de tolérance indispensable à la production d'auto-anticorps,

bien que ses mécanismes soient encore largement incompris ; ou encore l'implication pathologique du système du complément. En effet, plusieurs variants ont déjà été mis en évidence de façon séparée, au cours des deux maladies (*IRF5*, *STAT4*, *BLK*).⁽¹⁴⁷⁾ La découverte de nouveaux variants communs pourrait permettre de préciser l'implication de certaines voies ou mécanismes physiopathologiques au cours du SAPL, partagées par d'autres maladies auto-immunes ou déficits immunitaires.

La physiopathologie du SAPL fait intervenir de multiples acteurs. En fait, les milliers de variants identifiés après séquençage du génome d'un malade, quels qu'ils soient, sont théoriquement susceptibles de moduler les fonctions cellulaires, en modifiant par exemple la sensibilité d'un récepteur, en activant une voie de signalisation de façon trop importante ou encore en freinant son rétrocontrôle. Une étude publiée en 2017 introduit la notion d'« omnigénisme » au cours de maladies comme la schizophrénie, la maladie de Crohn ou la polyarthrite rhumatoïde. Ce terme renvoie au nombre très important de loci identifiés dans les études GWAS portant sur ces affections complexes (dont fait partie le SAPL). Quelques gènes dits « centraux » sont essentiels dans physiopathologie de ces maladies, mais ne pèsent pas de façon majeure dans l'héritabilité génétique. Celle-ci serait davantage liée aux innombrables variants codant pour des protéines impliquées de façon plus lointaine dans la régulation directe ou indirecte de la transcription de gènes centraux.

PARTIE 2

Étude APL-gène

MATERIEL ET METHODES

I. Critères de sélection et recrutement des patients

Les patients ont été inclus à partir de la base de données RARENET, elle-même issue de la cohorte LBBR (Lupus BioBank of the Upper Rhein), partageant un CPP commun et ayant obtenu une approbation par la CNIL (Commission Nationale Informatique et Liberté). Le projet APL-gène a été approuvé par un comité d'éthique indépendant.

L'ensemble des patients inclus dans RARENET et présentant un SAPL ont été analysés, après obtention d'un consentement éclairé. Les dossiers comprenant des données manquantes (notamment concernant l'association ou non à une connectivité ou le profil de positivité des APLs) ont été exclus. L'inclusion a été réalisée selon les critères suivants :

- SAPL primaire (exclusion de l'ensemble des patients présentant une connectivité associée) ;
- SAPL avec triple positivité pour les APLs (aCL, anti- β 2GP1, ACC) ;
- Ou, en l'absence des critères précédents :
 - Patients ayant présenté un CAPS ;
 - Patients présentant un SAPL et une hypogammaglobulinémie < 5g/L (en raison de la description récente au sein de notre centre, d'une famille présentant un variant *IKZF1* p.H167R avec SAPL et déficit immunitaire).

L'un des patients inclus (SAPL triple positif) présentait un antécédent familial au premier degré de LES avec SAPL secondaire chez son père, ayant été suivi dans notre hôpital mais décédé depuis quelques années (figure 6). Après avis consultatif du comité d'éthique et accord signé

du patient (II.1, figure 1) et de sa mère (I.2), du matériel génétique du père (I.1) a pu être récupéré sur un prélèvement biopsique cutané stocké au laboratoire d'anatomopathologie dermatologique. Ce cas apparenté confirmé permettait d'envisager une analyse familiale de transmission génétique (dite « en trio »).

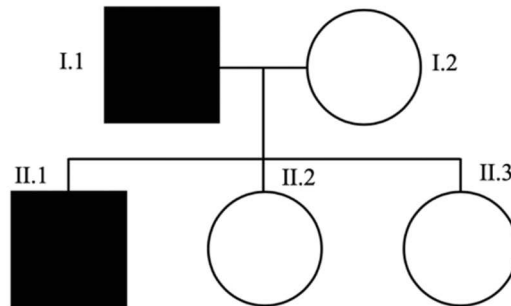


Figure 1 (rappel) : arbre généalogique de la famille R. Le patient I.1 a été suivi dans notre hôpital pour un lupus systémique avec SAPL secondaire, et décédé d'un myélome multiple à l'âge de 74 ans. Le patient II.2 présente un SAPL primaire triple positif, inclus dans notre cohorte. Sa mère (I.2) n'est pas malade.

II. Obtention et analyse des exomes

a. Séquençage

1 µg d'ADN génomique a été obtenu pour chaque patient après extraction à partir d'un prélèvement veineux unique, et a été soumis à un séquençage d'exome selon une méthode établie et décrite dans des publications antérieures, utilisant la plateforme GENOMAX du groupe INSERM U1109.(106)

b. Méthodes d'analyse

1. Recherche de variants rares et analyse individuelle par variant (première hypothèse)

Notre première hypothèse était l'existence possible au sein de notre cohorte de formes de SAPL monogéniques. Formuler l'hypothèse d'une origine monogénique revient à considérer l'imputabilité d'un unique variant dans la survenue de la maladie ; celui-ci doit donc répondre à des critères stricts. Ainsi, la première étape a consisté en un **premier tri** systématique de l'ensemble des variants retrouvés après séquençage des 21 exomes selon plusieurs étapes :

- 1 : seuls les variants très rarement retrouvés en population générale ont été retenus. Un seuil de 1/10000 (10^{-4} , ou fréquence de 0,0001 correspondant à la MAF, pour *Minor Allele Frequency*) a été choisi (d'après la base de données GnomAd), dans l'hypothèse d'une transmission dominante. En effet, un variant présent de façon non exceptionnelle au sein d'une population non malade ne pouvait être considéré comme unique responsable de la survenue d'une forme sévère de SAPL. En cas de variant de transmission récessive ou lié à l'X, une MAF de 10^{-2} a été retenue ;
- 2 : afin de minimiser l'existence de biais techniques, des variants retrouvés au moins une fois au cours du séquençage local de 100 exomes de patients sans maladie auto-immune ont été éliminés. En effet, certains variants qui auraient pu être considérés comme rares car non répertoriés, pouvaient être directement liés à des problèmes de couverture ou des erreurs de lecture systématiques du séquenceur local ;
- 3 : toujours dans le but de minimiser l'existence de biais liés au séquençage, seules les zones de l'exome présentant une couverture supérieure à 40% ont été retenues (en pratique, le fait de « lire » un variant dans moins de 40% des cas rend l'existence d'une hétérozygotie vraie peu probable en comparaison à la répétition d'une simple

erreur de lecture). Pour l'analyse des variants homozygotes, un seuil de 90% a été retenu ;

- 4 : nous avons ensuite sélectionné les variants dits « codants », c'est-à-dire présents sur des segments de génome qui seront transcrits en ARNm. Les variants situés sur des régions d'épissage de l'ARNm (car pouvant entraîner la synthèse de protéines aberrantes) ont également été retenus. Cependant, les variants situés sur des régions identifiées comme introniques, ou présents dans des régions 3' ou 5' non transcrites, ainsi que l'ensemble des variants synonymes, puisqu'ils donnent lieu à la synthèse du même acide aminé sur la protéine d'intérêt, ont été éliminés.

Une fois obtenus, ces variants ont été analysés de façon individuelle. Un **deuxième tri** a été réalisé, et a consisté à identifier et à isoler :

- Variants situés sur des gènes décrits dans la littérature comme étant associés au SAPL (cf. PARTIE 1, table 1) ;
- Variants situés sur des gènes impliqués dans l'immunité innée ou adaptative ou dans l'hémostase, en particulier s'il s'agissait de variants associés à d'autres maladies auto-immunes comme le LES ou à des déficits immunitaires.

Pour chaque variant ont été renseignés son type, sa position génomique et la localisation de la mutation sur la protéine d'intérêt ; le cas échéant, l'existence :

- De scores prédictifs de pathogénicité in silico (SIFT, pour *Sorting Intolerant From Tolerant*, and PolyPhen, pour *Polymorphism Phenotyping*) ;
- De scores renseignant sur le degré de conservation inter-espèce de chaque nucléotide concerné par le variant d'intérêt (GERP, pour *Genomic Evolutionary Rate Profiling*) ;

- D'outils intégratifs (CADD, pour *Combined Annotation Dependent Depletion*) ;
- Des informations cliniques si disponibles.

Des renseignements détaillés concernant les scores sus-cités (SIFT, PolyPhen, GERP, CADD), sont donnés en annexe 2.

Le logiciel Alamut visual (version 2.15) a été utilisé à cette étape, permettant :

- De distinguer les variants *de novo* des variants déjà rapportés (variants notifiés ou rapportés dans des publications) ;
- De confirmer une MAF inférieure à 0,0001 pour les éventuels variants rapportés (contrôle à posteriori du tri initial) ;
- De confirmer le type de mutation (substitution, délétion, addition) et sa conséquence attendue sur la synthèse protéique (décalage du cadre de lecture, faux sens, non-sens, défaut d'épissage) ;
- D'évaluer la conservation inter-espèces de la séquence concernée par le variant d'intérêt.

La base de données GnomAd a été également utilisée, permettant de compléter ou de préciser les informations fournies par le logiciel Alamut, et renseignant également sur la notion de « tolérance à la mutation », une approche du degré de sélection par gène pour chaque type de mutation (synonyme, faux-sens, perte complète de fonction).

La base de données ClinVar a été utilisée dans le cas de variants déjà rapportés, renseignant sur leurs conséquences potentielles par l'apport d'informations cliniques. Le cas échéant, une

bibliographie a été complétée ou constituée pour l'étude de variants déjà connus et décrits au cours du SAPL ou d'autres maladies.

La base de données Ensembl a été utilisée afin de déterminer le score intégratif CADD pour chaque variant, ainsi que le score GERP.

2. Recherche d'un enrichissement en variants de thrombophilie ou impliqués dans la survenue d'auto-immunité ou de déficits immunitaires (seconde hypothèse)

Le SAPL étant une maladie thrombotique, nous avons questionné l'éventuelle présence plus importante de variants de gènes de thrombophilie chez les patients SAPL, en comparaison avec la population générale.

Nous avons, dans un premier temps, évalué les fréquences des variants associés aux thrombophilies au sein de notre cohorte. Ces variants avaient été recherchés systématiquement dans le cadre du bilan diagnostique chez la plupart des malades, conformément aux pratiques en vigueur : variant G20210A du facteur II, facteur V Leiden (soit d'emblée, soit en cas de résistance à la protéine C activée ou RPCA), variant C677T du gène *MTHFR* (soit d'emblée, soit en cas d'hyperhomocystéinémie).(148) Lorsqu'ils n'avaient pas été recherchés par séquençage ciblé au diagnostic, l'information a été récupérée par l'analyse des données d'exomes (facteur V Leiden et variant C677T de *MTHFR*), et par séquençage complémentaire (Sanger) pour le facteur II (variant G20210A localisé dans une région intronique).

En cas d'absence de RPCA ou d'absence d'hyperhomocystéinémie documentées, aucune analyse complémentaire n'a été demandée et nous avons considéré par défaut l'absence de variant thrombogène pour le facteur V et le gène *MTHFR*.(149)

Nous avons, après recherche bibliographique, évalué la fréquence rapportée de ces mêmes variants au sein d'une population la plus représentative possible des patients inclus dans notre cohorte. Les fréquences des variants de thrombophilie chez nos patients SAPL ont ainsi pu être comparées aux fréquences attendues au sein de la population générale, mais également à celles retrouvées chez des patients tout venants avec antécédent de maladie thrombo-embolique veineuse.(148)

Dans un second temps, il est prévu d'élargir cette recherche à des variants plus rares ou présentant un effet moins important sur le risque de MTEV. Certains d'entre eux étant relativement fréquents en population générale (> 5%), leur fréquence au sein de la cohorte sera comparée à celle des 1000 génomes, ainsi qu'à une cohorte locale (contrôle interne) de patients avec maladie auto-immune mais sans SAPL (résultats non présentés dans ce travail).

RESULTATS

I. Description de la cohorte

Au total, sur 61 dossiers, 21 patients ont été inclus sur 2 centres (service d'immunologie clinique, CHU de Strasbourg ; service de médecine interne, Hôpital Belle-Isle à Metz), de 2017 à 2020 (figure 7).

61 patients inclus dans la base de données RARENET « SAPL primaire »



18 exclus pour **données manquantes**
(description clinique ou positivité des APLs)

43 patients



14 exclus pour **absence de triple positivité**

29 patients



3 exclus pour **taux faible d'APLs** (<20Ui)
ou **positivité inconstante**

26 patients



5 exclus pour **connectivité** associée
ou **cancer** (solide ou hémopathie)

21 patients inclus dans la cohorte APL-gène

Figure 7 : diagramme de flux précisant la séquence d'inclusion des patients au sein de la cohorte APL-gène.

a. Caractéristiques cliniques et épidémiologiques

Sur les 21 patients inclus, il y avait davantage de femmes (13/21, 62%) que d'hommes (8/21, 38%), sex-ratio F/H à 1,62 (table 4).

L'âge de début de la maladie se situait en moyenne dans la troisième décennie. Les patients étaient tous majeurs à l'inclusion, et avaient un âge compris entre 26 et 61 ans.

Les 21 patients étaient d'ethnie caucasienne.

Aucun patient ne présentait de connectivite associée (critère d'exclusion), mais l'une des patientes présentait une thyroïdite auto-immune à anticorps anti-TPO positifs. Il n'y avait pas d'auto-immunité d'organe chez les autres patients inclus.

N° patient	Sexe	Décennie à l'inclusion	Décennie au diagnostic	Ethnie	Auto-immunité associée
1	M	5	5	C	
2	F	6	3	C	
3	M	6	4	C	
4	M	4	4	C	
5	F	3	2	C	
6	F	3	2	C	
7	F	5	2	C	
8	F	3	3	C	
9	F	5	5	C	Thyroïdite
10	M	5	5	C	
11	F	3	3	C	
12	M	4	3	C	
13	M	2	2	C	
14	F	3	3	C	
15	F	5	2	C	
16	F	2	1	C	
17	F	6	2	C	
18	F	3	2	C	
19	M	5	5	C	
20	F	2	2	C	
21	M	4	3	C	

Table 4 : caractéristiques démographiques des patients inclus dans l'étude APL-gène. C, ethnie caucasienne ; F, sexe féminin ; M, sexe masculin.

Douze patients présentaient un SAPL veineux (57%, table 5). Dix d'entre eux avaient présenté au moins une TVP, et il y avait également un antécédent d'EP pour 10 patients. Deux des patients avaient présenté une thrombose veineuse profonde sur un autre site (thrombose veineuse surrenalienne et thrombose veineuse cérébrale).

Onze patients présentaient un SAPL artériel (52%). Nous avons exclu de ce compte les patients présentant une atteinte neurologique d'allure vasculaire à type d'hypersignaux de la substance blanche, sans infarctus constitué. Ainsi, parmi ces 11 patients, 9 d'entre eux présentaient un antécédent d'AVC constitué (43% du total des patients). Aucun patient n'avait présenté d'infarctus du myocarde mais 2 patients avaient un antécédent de thrombose artérielle d'un membre (10%), et une patiente avait présenté une thrombose de l'artère centrale de la rétine (mais existence d'un foramen ovale perméable).

Onze patients présentaient une atteinte microvasculaire (52%), caractérisée par une dysfonction d'organe d'origine suspectée vasculaire, sans mise en évidence à l'imagerie d'une thrombose artérielle ou veineuse. Ces atteintes comprenaient des lésions de la substance blanche considérées comme d'origine microvasculaire pour 7 patients (33%), 3 insuffisances rénales suspectes de correspondre à une néphropathie du SAPL (14%), 4 atteintes cutanées à type de livédo (19%) ainsi qu'un cas de cardiopathie avec souffrance myocardique à coronaires saines.

Huit patientes sur 13 (62%) présentaient un SAPL obstétrical ; mais sur les 5 patientes restantes, une seule d'entre elles avait au moment de l'inclusion mené des grossesses à terme. La moitié des patientes (4/8) avec SAPL obstétrical avait présenté des fausses couches spontanées précoces (moyenne de 2,5 fausses couches). Sept d'entre elles (88%) avaient présenté une perte

foetale tardive après la 10^{ème} semaine d'aménorrhée. Une seule patiente avait accouché d'un fœtus prématuré (avant la 34^{ème} SA) avec pré-éclampsie.

Concernant les atteintes rénales, 3 patients (14%) présentaient une atteinte rénale suspecte d'atteinte spécifique microvasculaire du SAPL, sans confirmation toutefois (ponction biopsie rénale non réalisable en l'absence de possibilité d'arrêt des anticoagulants). Aucun cas de thrombose caractérisée veineuse ou artérielle rénale n'avait été recensé.

Deux patients présentaient une atteinte valvulaire cardiaque (endocardite aseptique de Libmann-Sacks).

Sur le plan cutané, un livédo racemosa était noté chez 4 patients (19%). Chez l'une des patientes ayant présenté un CAPS, un purpura nécrotique en lien avec une vasculopathie thrombosante documentée par un examen histologique avait été mis en évidence au cours de celui-ci. Aucun autre type d'atteinte cutanée n'était retrouvé au sein de la cohorte.

Une seule patiente présentait une hypogammaglobulinémie responsable d'infections pulmonaires répétées, sans cause secondaire retrouvée. Une autre patiente présentait une susceptibilité accrue aux candidoses cutanéomuqueuses, mais avec taux d'immunoglobulines normal.

Concernant l'exposition au tabac, l'un des facteurs de risque principaux de thrombose, 4 patients présentaient un tabagisme actif (19%), quand 5 avaient fumé mais arrêté depuis au moins un an (24%). Un patient signalait un alcoolisme quotidien avec une consommation

supérieure à 2 verres par jour. Une patiente enfin signalait une consommation régulière de cannabis ; il n'y avait pas d'exposition connue à d'autres toxiques au sein de la cohorte.

Concernant la présence d'autres facteurs de risque cardio-vasculaires, 5 patients avaient une hypertension artérielle (24%), un seul patient était diabétique (type 2, non insulino-requérant), et 4 patients présentaient une dyslipidémie (19%).

N° patient	Veineux	Artériel	Micro-circulatoire	Obstétrical	CAPS	Hypogammaglobulinémie
1	1	0	1		0	0
2	1	1	0	1	0	1
3	1	1	1		0	0
4	0	0	1		0	0
5	1	0	0	1	0	0
6	0	1	1	1	0	0
7	0	1	0	1	0	0
8	0	1	1	1	0	0
9	0	1	1	0	0	0
10	0	1	1		0	0
11	1	0	0	0	0	0
12	1	1	0		0	0
13	1	0	0		0	0
14	0	1	0	0	0	0
15	1	0	1	1	1	0
16	1	0	0	1	0	0
17	1	0	1	1	0	0
18	1	1	1	0	0	0
19	0	1	0		0	0
20	0	0	1	0	0	0
21	1	0	0		0	0
Total	12	11	11	8/13	1	1

Table 5 : *phénotype clinique des patients inclus dans l'étude APL-gène. Les cases grisées correspondent à un phénotype non évaluable (SAPL obstétrical et sexe masculin). 0, absence du phénotype ; 1, présence du phénotype ; CAPS, syndrome catastrophique des antiphospholipides.*

Neuf patients (43%) présentaient au moins un antécédent familial au premier degré de thrombose veineuse profonde ou de thrombose artérielle (quel que soit le territoire). Deux patientes avec SAPL obstétrical avaient également un antécédent familial au premier degré de SAPL obstétrical (confirmé pour une patiente, fortement suspecté devant des MFIU survenant

chez 3 des 4 sœurs de la deuxième patiente). Les autres antécédents thrombotiques familiaux sont détaillés dans la table 6.

N° patient	Antécédent familial	Nombre d'apparentés	Type
1	0		
2	NC		
3	0		
4	1	1	Cardiopathie ischémique
5	1	1	EP
6	0		
7	1	1	SAPL obstétrical
8	0		
9	1	3	AVC, EP, TVP
10	1	1	LES et SAPL triple positif
11	NC		
12	0		
13	1	1	OVCR
14	1	1	AVC
15	NC		
16	1	1	EP
17	1	3	MFIU et TVP
18	0		
19	0		
20	0		
21	0		
Total	9		

Table 6 : antécédents de maladie thrombo-embolique veineuse chez les apparentés au premier degré des patients inclus dans l'étude APL-gène. En encadré gras, les patients avec cas familial avéré de SAPL thrombotique ou obstétrical. AVC, accident vasculaire cérébral ; EP, embolie pulmonaire ; LES, lupus érythémateux systémique ; MFIU, mort fœtale in utero ; NC, donnée manquante (non connu) ; OVCR, occlusion de la veine centrale de la rétine ; TVP, thrombose veineuse profonde ; SAPL, syndrome des antiphospholipides.

b. Principales données immunologiques

Sur le plan biologique, 19 patients sur les 21 présentaient une triple positivité pour les APLs (90% du total des patients de la cohorte, table 7). Une patiente avait été incluse devant la positivité d'IgM aCL et anti-β2GP1 seules sans ACC, mais l'existence d'une hypogammaglobulinémie responsable d'infections pulmonaires répétées. La dernière patiente présentait un ACC et des IgG aCL (mais pas d'anti-β2GP1), et avait été incluse en raison d'un antécédent de CAPS.

Six patients (29%) présentaient une positivité à la fois d'IgG et d'IgM aCL et / ou anti-β2GP1, lorsque 13 d'entre eux (62%) ne présentaient que des APLs d'isotype IgG et 2 (10%) uniquement des APLs d'isotype IgM.

Concernant les APLs dits « non-classants » (table 8), ils n'étaient pas recherchés de façon systématique (données disponibles pour 14 patients soit 67% de la cohorte). Sur ces 14 patients, seule une patiente (celle ne présentant par ailleurs pas d'anticorps anti-β2GP1), ne présentait aucun auto-anticorps parmi des anti-phosphatidylsérine, -éthanolamine, -annexine V ou -prothrombine.

Douze patients présentaient une positivité des AAN à un titre supérieur ou égal à 1/160^{ème} (57%). Par ailleurs, 4 patients avaient des anti-ADN natifs positifs, pour 2 d'entre eux d'isotype IgM exclusivement, pour un autre d'isotype non spécifié mais à titre faible, pour le quatrième patient d'isotype IgG mais également avec un titre faible (21 UI/L), et retrouvés une seule fois. Aucun patient ne présentait d'anticorps anti-Sm, plus spécifique du lupus (donnée manquante chez 7 patients). Six patients présentaient une consommation du complément, au moins de

façon occasionnelle (donnée manquante chez 3 patients). Trois autres patients avaient une baisse isolée du C4.

N° patient	IgG anti-β2 GP1	IgM anti-β2 GP1	IgG anti-cardiolipine	IgM anti-cardiolipine	Anticoagulant circulant	AAN (titre)	Anti-ADNn
1	121		312		+	1/1280	90, IgM
2		126		114			
3	2020		3253		+		
4	91	171	178	82	+		
5	89		1311	22	+	1/640	
6	109	52	1056	15	+	1/640	52, IgM
7	73		NC		+		
8	233	11	54		+		28
9	120	21	110		+	1/320	
10	157		1693		+	1/160	21, IgG (1 fois)
11	135		180		+	1/640	
12	> 100		> 120		+		
13	35		92		+	1/320	
14	120		129		+	1/160	
15			99		+	1/1280	
16	24		54	27	+	1/160	
17	104		77		+		
18	69		283		+	1/160	
19		93		97	+		
20	138		354		+		
21	133		823		+	1/320	
Total	18	5	18	6	20	12	4

Table 7 : résultats de la recherche d'auto-anticorps chez les patients inclus dans l'étude APL-gène (APLs classants, autres auto-anticorps). Pour chaque positivité d'un auto-anticorps, les titres correspondants sont indiqués en GPL ou MPL, correspondant respectivement aux titres d'IgG / IgM. Les cases vides correspondent à des valeurs nulles. AAN, anticorps anti-nucléaires ; anti-ADNn, anti-ADN natif ; NC, donnée manquante (non connu).

N° patient	Anti-PS	Anti-PE	Anti-prothrombine	Anti-annexine V
1	66	72		
2	NC	NC	NC	NC
3	735	250		
4	65	86		
5	36			
6	191	19	10	
7	NC	NC	NC	NC
8	NC	NC	NC	NC
9	75		14	
10	108	23		
11	99	36		
12	NC	NC	NC	NC
13	23			
14	50	141		
15				
16	15			
17	NC	NC	NC	NC
18	36			
19	NC	NC	NC	NC
20	84			
21	115			

Table 8 : résultats de la recherche d'APLs non-classants chez les patients inclus dans l'étude APL-gène.

Les cases vides correspondent à des valeurs nulles. NC, donnée manquante (non connu) ; PE, phosphatidyl-éthanolamine ; PS, phosphatidyl-sérine.

II. Analyse génétique

a. Test de l'hypothèse polygénique : association aux gènes de thrombophilie recherchés en pratique courante

Les données concernant les bilans de thrombophilie réalisés chez les patients, sont colligées dans la table 9.

N° patient	FII	RPCA	FV Leiden	Hyperhomocystéinémie	MTHFR C677T	FV	MTHFR
	<i>Sanger</i>		<i>Sanger</i>		<i>Sanger</i>	<i>Exome</i>	<i>Exome</i>
1	0	NC	0	non	-	0	0
2	0	NC	0	NC	1	0	1
3	1	non	-	oui	NC	0	1
4	0	oui	1	non	-	1	0
5	0	non	-	non	-	0	0
6	0	oui	0	non	1	0	1
7	1	NC	NC	NC	NC	1	0
8	0	NC	NC	NC	NC	0	1
9	0	NC	0	NC	1	0	1
10	0	non	-	oui	2	0	2
11	0	non	-	non	-	0	0
12	0	NC	NC	NC	NC	0	1
13	0	non	0	oui	0	0	0
14	0	oui	1	non	1	1	1
15	0	NC	1	oui	NC	1	0
16	0	NC	0	oui	0	0	0
17	0	NC	NC	NC	NC	0	0
18	0	NC	0	oui	0	0	0
19	0	NC	NC	NC	NC	0	1
20	0	non	-	non	1	0	2
21	0	NC	0	NC	NC	0	1

Table 9 : principaux variants de thrombophilie retrouvés au sein de la cohorte APL-gène. La valeur 0 correspond à une absence de variant retrouvé. La valeur 1 correspond à la présence d'un variant à l'état hétérozygote (mono-allélique). La valeur 2 correspond à la présence d'un variant à l'état homozygote (bi-allélique). NC signifie l'absence de recherche du caractère mentionné (non connu). La valeur - signifie une absence d'indication de recherche des variants FV Leiden et C677T MTHFR en raison d'une absence de RPCA ou d'hyperhomocystéinémie, respectivement. A noter, pour le facteur II, une absence d'information issue des exomes, le variant G20210A étant intronique et donc non couvert. Encadré en gras, valeurs discordantes entre les données de l'exome indiquant un variant bi-allélique et

la recherche du variant en Sanger chez le même patient indiquant un seul allèle muté. FII, facteur II ; FV, facteur V ; MTHFR, méthyl-tétrahydrofolate réductase.

1. Variant G20210A du facteur II

Après séquençage ciblé, le variant G20210A du facteur II a été mis en évidence chez 2 patients sur les 21, soit 9,5%.

La MAF associée à ce variant a été estimée à 0,01245 (soit 1,245%) au sein de la population européenne (non-Finlandaise) par la base de données GnomAd.

Ainsi, nous avons mis en évidence une fréquence du variant G20210A du facteur II 7,63 fois plus élevée au sein de notre cohorte qu'au sein d'une population de référence.

2. Facteur V Leiden

La recherche de ce variant avait été réalisée chez 11 patients au diagnostic (soit d'emblée, soit après documentation d'une RPCA). Chez 5 autres patients, la présence du variant avait pu être écartée devant une absence de RPCA. Chez les 5 patients restants, chez qui la recherche du variant n'avait pas été réalisée malgré la non-documentation d'une absence de RPCA, l'information a été récupérée par l'analyse du gène *F5* à partir des exomes.

Au sein de notre cohorte, un variant hétérozygote du facteur V Leiden a été mis en évidence chez 4 des 21 patients, soit 19%. Aucun patient n'était homozygote pour ce variant.

Après analyse de la littérature, nous avons identifié une fréquence particulièrement élevée du facteur V Leiden au sein de la population alsacienne, qui s'élève jusqu'à 9%.(150) Cette valeur est nettement supérieure à la fréquence rapportée du même variant au sein de la population caucasienne par la base de données GnomAd et nous l'avons ainsi retenue pour comparaison

afin de minimiser un biais de confusion lié à l'origine majoritairement alsacienne de nos patients.

Ainsi, nous avons mis en évidence une fréquence du facteur V Leiden 2,1 fois plus élevée au sein de notre cohorte qu'au sein d'une population de référence.

3. Variant C677T du gène *MTHFR*

La recherche de ce variant avait été réalisée chez 9 patients au diagnostic (soit d'emblée, soit après documentation d'une hyperhomocystéinémie). Chez 4 autres patients, la présence du variant avait pu être écartée devant une absence d'hyperhomocystéinémie. Chez les 8 patients restants, chez qui la recherche du variant n'avait pas été réalisée malgré la non-documentation d'une absence d'hyperhomocystéinémie, l'information a été récupérée par l'analyse du gène *MTHFR* à partir des exomes.

Au sein de notre cohorte, un variant C677T du gène *MTHFR* a été identifié chez 11 des 21 patients, soit 52%. 10 patients sur les 11 présentaient un variant hétérozygote, quand un seul patient présentait ce même variant à l'état homozygote, soit 5% de la cohorte globale. A noter, une valeur discordante pour un patient entre le résultat du séquençage Sanger objectivant un variant mono-allélique, et les données de l'exome évoquant l'existence d'un variant bi-allélique. Les valeurs du séquençage Sanger (gold standard) ont été considérées dans les calculs finaux.

La MAF pour ce variant a été estimée à 0,338 (soit 33,8%) au sein de la population européenne (non-finlandaise) par la base de données GnomAd ; la fréquence du variant à l'état homozygote semble s'élever autour de 13%, au sein de cette même population.

La fréquence du variant *MTHFR* C677T à l'état homozygote est peu évaluable dans notre cohorte en raison de l'existence d'une valeur discordante entre le séquençage Sanger et les

données de l'exome, mais dans tous les cas celle-ci ne semble pas pouvoir être supérieure à celle de la population générale.

La comparaison de la fréquence de ces trois variants de thrombophilie au sein de notre cohorte, avec celle indiquée par la base de données GnomAd (fréquence estimée chez les patients sains) et celle attribuée à une cohorte de patients avec MTEV, est présentée dans la figure 8.(151)

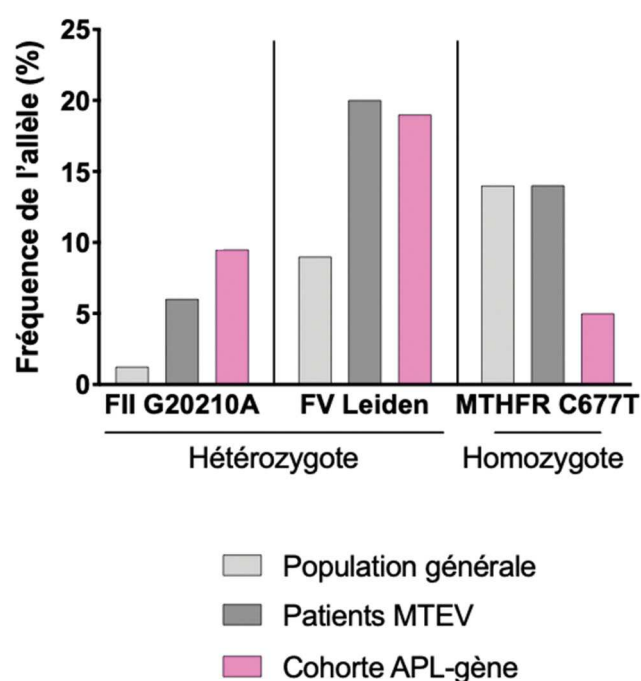


Figure 8 : comparaison des fréquences des variants FII G20210A, FV Leiden et MTHFR C677T entre la population générale (gris clair), une population de patients avec antécédent de maladie thrombo-embolique veineuse (MTEV, gris foncé), et notre cohorte de patients SAPL primaires triple positifs (rose). Les fréquences des variants FV Leiden et FII G20210A à l'état hétérozygote semblent supérieures au sein de notre cohorte à celles observées dans la population générale, mais semblent globalement équivalentes à celles observées dans les cohortes de patients avec antécédent de MTEV.(148) La fréquence du variant C677T à l'état homozygote du gène MTHFR n'est pas supérieure dans notre cohorte à celle des groupes de référence sus-cités.

b. Test de l'hypothèse monogénique : analyse des variants rares

Après séquençage des exomes, un total de 696242 variants a été mis en évidence chez l'ensemble de nos 21 patients, correspondant à une moyenne de 33154 variants par patient.

A l'issue du premier tri, un total de 3383 variants a été obtenu (cf. partie méthodes, I.c.i), soit une moyenne de 161 variants par patient (liste fournie dans l'annexe 3). Il s'agissait de variants considérés comme très rares, situés sur des régions codantes, prédictifs d'une altération de la séquence protéique correspondante.

Parmi ces variants, 43 ont été retenus devant une implication connue ou potentielle du gène correspondant dans la physiopathologie du SAPL ou au cours d'autres maladies auto-immunes ou déficits immunitaires (figure 9).

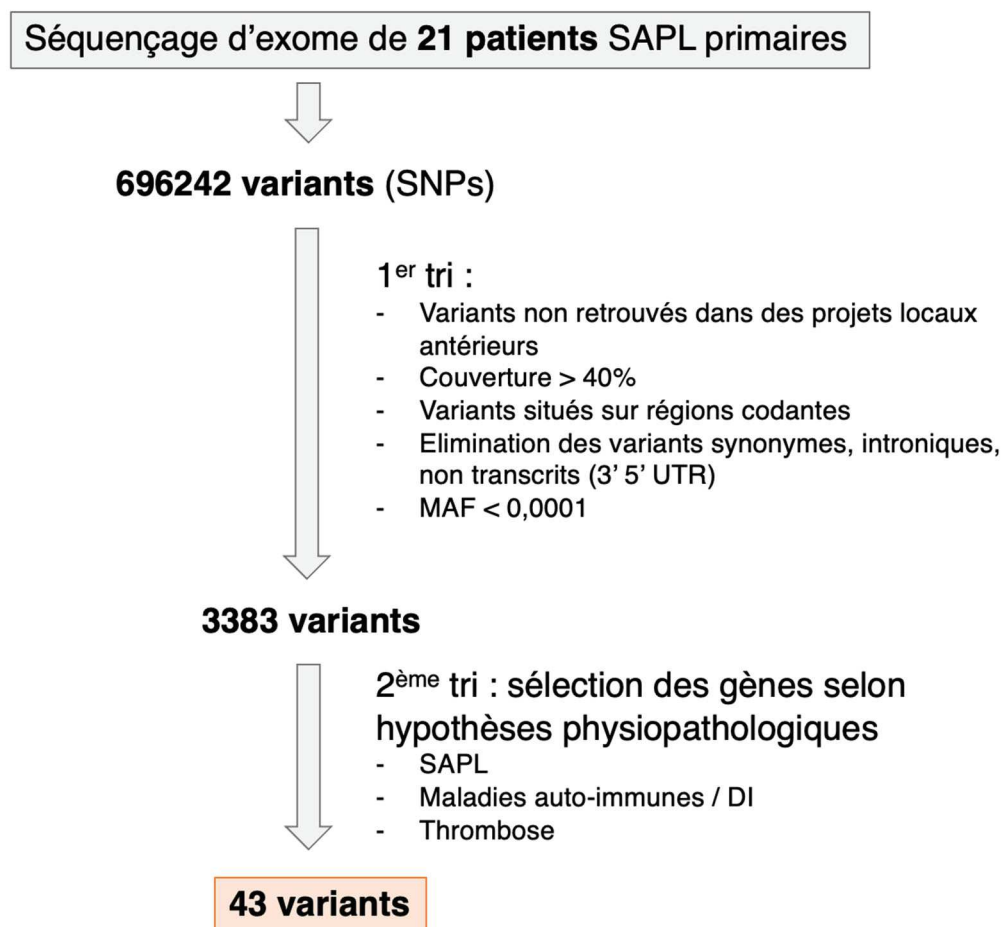


Figure 9 : *présentation des étapes ayant permis la sélection de 43 variants d'intérêt pour l'exploration de l'hypothèse monogénique. DI, déficit immunitaire ; MAF, Minor Allele Frequency (fréquence de l'allèle mineur) ; SNP, Single Nuclotide Polymorphism (polymorphisme nucléotidique) ; UTR, untranscribed (non transcrit).*

Ces variants sont listés dans la table 10 et discutés ci-après.

N° Patient	Gènes retenus	Variants	Type	Localisation protéine	Couverture (%)	Fréquence (european non-finnish Gnomad)	SIFT	PolyPhen	CADD	Région conservée	GERP score	ClinVar	Rôle général	Pathway
5	PIK3CD	NC	Frameshift	p.Tyr68CysfsTer23	50	NC	NC	NC		+++	-	NC	Immunité adaptative	PI3K / AKT / mTOR
94	LTK	rs780209477	Frameshift	393_1394del / p.Pro465	50	0,00E+00	NC	NC	NC	-	0,73	NC	Immunité adaptative	Fonction lymphocytaire
36	TNFRSF13B	rs72553882	Stop gain	p.Tyr164Ter	49	9,30E-05	NC	NC	37	+	0,7	Pathogenic	Immunité adaptative	Fonction lymphocytaire
96	DDRKG1	rs201612923	Stop gain	p.Arg270Ter	49	1,80E-04	NC	NC	5,69	+	-3,34	NC	Immunité innée + adaptative	NFkB
233	CS*	rs1244317545	Missense	c.3154G>A	40	NC	Deleterious	Probably damaging	35	-	1,87	NC	Immunité innée	Complément
233	CS*	rs1477041384	Splice	c.3154+2T>A	40	NC	NC	NC	33	NC	2,65	NC	Immunité innée	Complément
233	CS*	rs1375886541	Splice	c.3154+1G>A	40	NC	NC	NC	33	NC	2,66	NC	Immunité innée	Complément
65	ARPC1B	rs544314676	Missense	p.Ile371Ser	43	1,40E-04	Deleterious	Probably damaging	29,2	+	1,97	NC	Immunité adaptative	Fonction lymphocytaire
187	IKBK	rs148695964	Missense	p.Glu57Lys	100 (XL)	1,30E-03	Tolerated	Possibly damaging	28	+/-	6,85	Conflicting interpretation	Immunité innée + adaptative	NFkB
367	IKBK	NC	Start Loss	p.Met1	100 (homo)	NC	Deleterious	Probably damaging	-	+	-	NC	Immunité innée + adaptative	NFkB
322	IRAK1	NC	Missense	p.Pro530His	100 (XL)	NC	Tolerated	Benign	-	-	-	NC	Immunité innée + adaptative	NFkB
367	NFRKB	NC	Splice	c.-110-13_-110-5dup	100 (homo)	NC	NC	NC	-	-	-	NC	Immunité innée + adaptative	NFkB
224	NCF1	rs201802880	Missense	p.Arg90His	44	5,50E-03	Deleterious	Benign	23,9	+++	NC	NC	Immunité innée	Explosion oxydative
97	CARD11	rs372251654	Missense	p.Val1128Ile	51	8,50E-05	Tolerated	Benign	15,44	+	-1,86	Uncertain Significance	Immunité adaptative	Fonction lymphocytaire
47	CARD11	rs1303029402	Missense	p.Leu72Pro	58	NC	Deleterious	Possibly damaging	23,6	+	2,71	NC	Immunité innée + adaptative	NFkB
109	F5	rs778004101	Stop loss	p.Ter333GlyextTer17	44	2,60E-05	NC	NC	23,3	-	-0,34	NC	Thrombose	Hémostase secondaire
36	F5	rs1219409853	Missense	p.Leu31Val	57	NC	Tolerated	Benign	9,046	-	-0,25	NC	Thrombose	Hémostase secondaire
187	vWf	rs367811486	Missense	p.Gly745Arg	51	4,60E-05	Deleterious	Possibly damaging	22,8	+	1,84	NC	Thrombose	Hémostase primaire
97	RAG2	rs117899975	Missense	p.Val272Leu	44	1,80E-05	Tolerated	Possibly damaging	22,5	+	1,49	NC	Immunité adaptative	Fonction lymphocytaire
369	RAG2	rs147748696	Missense	p.Arg464His	51	6,30E-04	Tolerated	Benign	12,88	+/-	-2,07	Conflicting interpretation	Immunité adaptative	Fonction lymphocytaire
369	IL2RB	rs766261874	Missense	p.Ala444Asp	59	1,00E-05	Deleterious	Possibly damaging	21,1	+	0,38	NC	Immunité adaptative	Fonction lymphocytaire
134	PTEN	rs546504608	Missense	p.Arg3Pro	53	NC	Deleterious	Unknown	20,2	+/-	0,81	NC	Immunité adaptative	PI3K / AKT / mTOR
36	PIK3CG	rs200355499	Missense	p.Glu146Gln	55	1,80E-05	Tolerated	Benign	19,26	+/-	2,73	NC	Immunité adaptative	PI3K / AKT / mTOR
94	NFKB1	rs143882681	Missense	p.Thr944Asn	50	5,90E-04	Tolerated	Benign	17,35	+	2,61	NC	Immunité innée + adaptative	NFkB
187	C2	rs116568722	Missense	p.Ser266Leu	54	2,60E-05	Deleterious	Benign	16,43	-	-1,12	NC	Immunité innée	Complément
65	JAK3	rs1367182709	Missense	p.Val544Ala	62	0,00E+00	Tolerated	Benign	13,97	-	1,9	Uncertain Significance	Immunité adaptative	JAK / STAT
237	F11	rs121965070	Missense	p.Lys218Ile	56	8,40E-04	Tolerated	Benign	11,83	+	-6,34	Conflicting interpretation	Thrombose	Hémostase secondaire
47	IL2RG	rs7885041	Missense	p.Thr44Ala	95 (XL)	5,70E-05	Tolerated	Benign	10,22	-	-1,91	NC	Immunité adaptative	Fonction lymphocytaire
369	TYK2	rs1163828789	Missense	p.Leu283Val	48	9,00E-06	Tolerated	Benign	7,72	NC	0,51	NC	Immunité adaptative	JAK / STAT
5	IFNLR1	rs772933526	Missense	p.Glu378Lys	48	4,70E-05	Tolerated	Benign	5,905	+	-0,61	NC	Immunité innée	IFN
47	STAT5B	rs373321150	Splice	c.681+3G>A	57	6,70E-05	NC	NC	5,826	NC	1,05	NC	Immunité adaptative	JAK / STAT
96	IL9R	rs140065784	Missense	p.Val104Ile	55	2,00E-04	Tolerated	Possibly damaging	5,58	-	-6,71	NC	Immunité innée + adaptative	
36	C3	rs369993135	Splice	c.4350+6G>C	48	8,80E-06	NC	NC	3,727	NC	-0,24	NC	Immunité innée	Complément
237	TLR9	rs200268875	Missense	p.Ala820Thr	41	5,50E-04	Tolerated	Benign	0,73	NC	-1,54	NC	Immunité innée	TLR
97	F2	rs552341778	Missense	p.Ser346Leu	55	1,70E-05	Tolerated	Benign	0,42	-	-5,52	Uncertain Significance	Thrombose	Hémostase secondaire
96	TLR2	rs200483398	Missense	p.Arg650Gln	49	2,00E-04	Tolerated	Benign	0,01	-	-4,44	NC	Immunité innée	TLR
65	IL1R2	NC	Missense	p.His191Tyr	50	NC	Tolerated	Benign	-	-	-	NC	Immunité innée	Inflammation
97	DNASE1	NC	Missense	p.Tyr98Cys	47	NC	Deleterious	Probably damaging	-	+	-	NC	Réparation / apoptose	Apoptose
97	FADD	NC	Splice	c.287-8C>G	46	NC	NC	NC	-	NC	-	NC	Réparation / apoptose	Apoptose
109	TLR5	NC	Missense	p.Gly298Val	50	NC	Deleterious	Probably damaging	-	+	-	NC	Immunité innée	TLR
187	TREX1	NC	Missense	p.Leu107Met	49	NC	Tolerated	Benign	-	+	-	NC	Réparation / apoptose	Apoptose
236	LRBA	NC	Missense	p.Ile1428Thr	52	NC	Deleterious	Possibly damaging	-	+	-	NC	Immunité adaptative	Fonction lymphocytaire
237	MTOR	NC	Splice	c.1786+8A>G	41	NC	NC	NC	-	NC	-	NC	Immunité adaptative	PI3K / AKT / mTOR

Table 10 : récapitulatif et caractérisation des 43 variants rares retenus dans la cohorte APL-gène après les étapes de sélection détaillées dans la figure 9. La fréquence indiquée correspond à la MAF donnée par la base de données GnomAd, correspondant à l'ethnie « européens non-finlandais », pouvant être légèrement discordante avec la MAF retenue pour le tri initial. En gris, variants retrouvés sur un gène commun pour au moins deux patients. En jaune, variants de transmission récessive ou liée à l'X (couverture > 90%). Homo, homozygote ; NC, non connu / non référencé ; XL, lié à l'X.

Malgré l'homogénéité clinique et biologique des malades inclus dans notre cohorte, nous n'avons pas mis en évidence de variant rare présent de façon transversale, chez nos patients avec SAPL primaire et triple positif.

Cependant, certains patients présentaient des variants impliquant des gènes communs, notamment *F5*, *CARD11*, *RAG2* et *IKBKKG* (en gris dans la table 10 ; pour chacun de ces gènes, deux patients sont concernés).

La plupart des variants retenus à l'issue du second tri concernaient des gènes impliqués de façon isolée, chez un seul des patients de la cohorte. Ces gènes intervenant dans des voies de signalisation parfois communes, impliquées dans la réponse immunitaire ou la thrombose, ils ont été regroupés dans l'exposé ci-après par grande fonction et selon la logique de leur implication physiopathologique potentielle.

1. Voie de signalisation PI3K / AKT / mTOR

La voie PI3K / AKT / mTOR est une voie de signalisation intra-cellulaire, impliquée dans de multiples fonctions clé de l'homéostasie cellulaire. Schématiquement, les récepteurs à tyrosine kinase transmembranaires transmettent un signal intra-cellulaire après la fixation de facteurs de

croissance circulants, permettant l'activation du complexe hétéro-dimérique PI3K. Ce complexe, une fois activé, entraîne l'activation en cascade de AKT puis de mTOR, une protéine centrale dans l'homéostasie cellulaire, régulant la croissance et le cycle cellulaire, l'apoptose et l'angiogénèse au sein de cellules immunitaires mais également non-immunitaires. PTEN est le principal facteur inhibiteur, permettant le contrôle de cette voie de signalisation via l'inactivation de PI3K (figure 10).

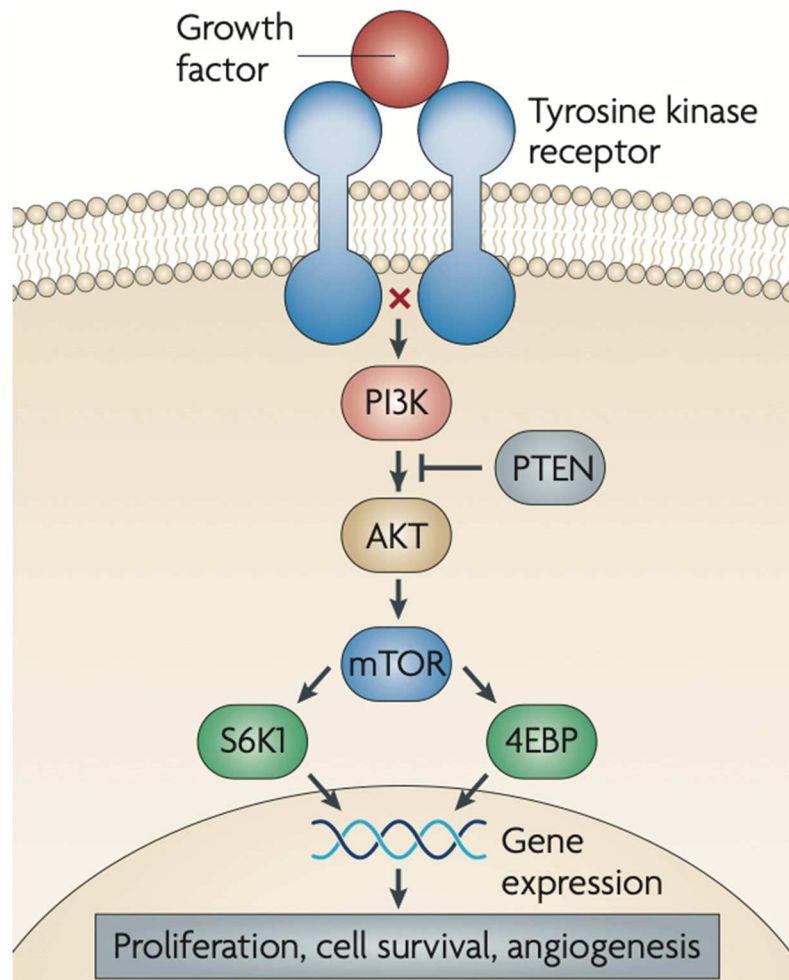


Figure 10 : voie de signalisation PI3K / AKT / mTOR simplifiée.(152) L'activation des récepteurs à tyrosine kinase localisés au niveau membranaire est permise par la fixation des facteurs de croissance. Celle-ci va permettre la phosphorylation de PI3K présent au niveau intra-cellulaire, qui va à son tour induire la phosphorylation de lipides localisés au niveau de la membrane plasmique, induisant la formation d'un second messenger appelé PIP₃ (phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate). AKT, une

sérine / thréonine kinase, est recrutée à la membrane par ancrage avec ces PIP_3 , permettant à son tour son activation. Celle-ci va induire un grand nombre de réponses incluant la survie et la migration cellulaire, la croissance, la prolifération et l'angiogenèse, via plusieurs effecteurs, au premier rang desquels la protéine mTOR.

L'activation non régulée de la voie PI3K / AKT / mTOR via la survenue de mutations somatiques, conférant aux cellules un avantage sélectif et de prolifération, a été associée à la survenue de nombreux cancers (mammaire et colorectal notamment pour *PIK3CA* et *PIK3R1*).⁽¹⁵³⁾ Le gène *PTEN* est ainsi, en termes de fréquence, le second suppresseur de tumeurs à être impliqué dans la survenue de cancers, après *TP53*.

Des tableaux de déficits immunitaires avec manifestations auto-immunes ont plus récemment été décrits chez des patients présentant des variants germinaux impliquant le complexe PI3K ou des facteurs régulateurs.

Ainsi, des variants gain de fonction de *PIK3CD* (isoforme catalytique d'une sous-unité activatrice de PI3K) sont responsables de formes autosomiques dominantes de déficits immunitaires caractérisés par la survenue d'infections à tropisme sino-pulmonaire, d'une atteinte digestive, d'une lymphoprolifération et de fréquentes manifestations auto-immunes.⁽¹⁵⁴⁾

Beaucoup plus rarement, ont été rapportés des tableaux encore plus sévères, mais sans lymphoprolifération, chez des patients issus de famille consanguines, porteurs d'une mutation perte de fonction bi-allélique du même gène (variants autosomiques récessifs de *PIK3CD*).⁽¹⁵⁴⁾

Des variants bi-alléliques de *PIK3CG* (autre isoforme effectrice de PI3K) ont également été associés à la survenue de dysimmunité et notamment un cas de syndrome hémophagocytaire, la protéine *PIK3CG* étant davantage impliquée dans la régulation de l'immunité innée (exprimée en particulier dans les cellules NK) que l'isoforme *PIK3CD*.(155)

Enfin, des variants germinaux monoalléliques perte de fonction de *PTEN* ont été décrits, associés à une augmentation de la fréquence de cancers (sein, thyroïde, endomètre et hamartomes), mais également à des tableaux de déficit immunitaire avec auto-immunité, avec une présentation assez similaire aux patients avec variant hétérozygote gain de fonction de *PIK3CD*.(156)

mTOR est un régulateur central de l'homéostasie cellulaire, présent entre les espèces de façon ubiquitaire et particulièrement conservée, de sorte que la description chez le vivant de variants pathogènes de *MTOR* semble tout à fait exceptionnelle. Cette protéine intervient dans le contrôle des voies métaboliques ainsi que dans l'anabolisme tissulaire, mais également dans la réponse immunitaire au cours des réponses inflammatoires et adaptatives B et T. En pathologie, cette voie de signalisation a un rôle bien connu au cours du syndrome lymphoprolifératif avec auto-immunité (ALPS), associant une lymphoprolifération bénigne liée à un défaut de Fas.(157) Une hyper-activation de mTOR a également été mise en évidence au cours de multiples maladies auto-immunes, incluant le LES, la polyarthrite rhumatoïde, le syndrome de Gougerot-Sjögren, la sclérodémie systémique.(158) Au cours du SAPL, l'activation de mTOR est associée à l'acquisition de lésions vasculaires chez des patients greffés rénaux et également au cours de CAPS.(71) De façon intéressante, un variant gain de fonction de *mTOR* chez une jeune patiente présentant un tableau syndromique avec SAPL triple positif a été récemment rapporté.(80)

Ainsi, des stratégies thérapeutiques basées sur l'utilisation de rapamycine, un inhibiteur naturel de mTOR, ont été développées au cours de ces maladies auto-immunes, et notamment au cours du LES ou des syndromes ALPS, mais également au cours du SAPL dans des formes sévères (CAPS ou chez malades greffés rénaux secondaire à une néphropathie du SAPL).(71),(158)

Nous détaillerons ci-après les variants rares et potentiellement pathogènes impliqués dans cette voie de signalisation PI3K / AKT / mTOR, retrouvés au sein de notre cohorte.

- Variant p.Tyr68CysfsTer23 de *PIK3CD*

Le variant retrouvé dans notre cohorte correspond à une délétion hétérozygote avec décalage du cadre de lecture ; celui-ci n'a jamais été rapporté, mais étant localisé en début de séquence protéique et aboutissant rapidement à un codon STOP, une perte de fonction de la protéine synthétisée est probable (bien que difficile à anticiper, le variant n'étant notamment pas descriptible par les différents scores de pathogénicité *in silico*).

L'implication de ce variant mono-allélique, supposé perte de fonction, est délicate à affirmer dans le cas du phénotype de notre patient (rappelons l'existence de manifestations auto-immunes chez des malades présentant des mutations mono-alléliques responsables d'un gain de fonction de *PIK3CD* uniquement). Les deux articles rapportant les 9 cas de mutations bi-alléliques de *PIK3CD* décrits dans des familles consanguines, ne mentionnent pas l'existence d'auto-immunité chez les apparentés hétérozygotes des sujets malades. Nous pourrions toutefois émettre l'hypothèse, chez notre patient, d'une seconde mutation sur le second allèle du gène *PIK3CD* agissant de façon dominante, et responsable d'un phénotype gain de fonction sur la protéine synthétisée, en raison de la perte de fonction du premier allèle.

L'implication de ce variant pourrait être confirmée grâce à l'étude fonctionnelle de cette voie de signalisation, par exemple par analyse de la phosphorylation de AKT à l'état basal ou après stimulation via PI3K des lymphocytes du patient.

- Variant p.Glu146Gln de *PIK3CG*

La protéine PIK3CG est une autre sous-unité impliquée dans l'activité des PI3K, de description plus récente, davantage impliquée dans l'immunité innée (cellules NK notamment). Le variant mis en évidence au sein de notre cohorte correspond à un faux-sens mono-allélique, donnant lieu au remplacement d'une glutamine en position 146 par une glycine. Celui-ci a été rapporté avec une fréquence de $1,8 \times 10^{-5}$ dans des populations européennes mais n'a jamais été décrit dans la littérature. Un score CADD à 19 est prédictif d'un possible impact délétère sur la protéine résultante.

Des variants de *PIK3CG* de transmission récessive (hétérozygotie composite) ont récemment été rapportés chez deux patients, à l'origine de phénotypes très différents. Pour l'un d'entre eux, il s'agissait d'un syndrome hémophagocytaire survenu dans l'enfance, en lien avec une altération fonctionnelle des T cytotoxiques, des cellules NK et des monocytes – macrophages, avec défaut de mise en place du cytosquelette d'actine après activation des lignées myéloïdes. De façon intéressante, la mère de la patiente, elle-même asymptomatique, présentait sur le plan cellulaire un phénotype intermédiaire entre sujet sain et sujet malade, suggérant un possible effet fonctionnel du variant à l'état hétérozygote.(155)

Des variants impliquant le cytosquelette ont été décrits au cours de déficits immunitaires, fréquemment associés à des manifestations auto-immunes chez les patients. Ainsi, il serait intéressant d'imaginer que ce variant de *PIK3CG* retrouvé chez un patient de notre cohorte, puisse être responsable d'une rupture de tolérance à l'état hétérozygote, à l'origine du SAPL.

- Variant p.Arg3Pro de *PTEN*

Ce variant a été rapporté, mais sa fréquence est inconnue. Correspondant à un faux-sens hétérozygote, il présente un impact prédit comme délétère (CADD à 20,2, score SIFT délétère). Celui-ci a été mis en évidence chez un patient de notre cohorte avec SAPL primaire et triple positif, présentant un antécédent paternel de LES avec SAPL secondaire (voir Préface, I.1.). De façon intéressante, ce variant de *PTEN* est également présent chez le père, ce qui majore l'hypothèse de son imputabilité dans le tableau d'auto-immunité familiale. Des analyses sont encore en cours chez la mère asymptomatique.

PTEN intervient au premier plan dans la régulation de la voie PI3K / AKT / mTOR détaillée ci-dessus. Au-delà d'une propension à la survenue de tumeurs (seins, thyroïde, hamartomes), les patients présentant des variants germinaux de *PTEN* développent fréquemment des manifestations auto-immunes. Il a été montré sur modèle murin, que la rupture de tolérance constatée au cours des défauts de *PTEN* était associée à une prolifération et à une activation accrue du compartiment B responsable d'une hyperplasie folliculaire lymphoïde, mais également à l'existence de biais dans les répertoires B et T.(159) Par ailleurs, une hyperactivation de la voie de signalisation PI3K / AKT / mTOR au sein des lymphocytes B a été mise en évidence au cours de plusieurs maladies médiées par les auto-anticorps, comme le LES et le diabète de type 1, qui impliquent une rupture de tolérance B.(160) En outre, des variants germinaux de *PTEN* ont été associés par plusieurs travaux à la survenue de LES monogéniques.(161),(162) Sur le plan thérapeutique, le blocage pharmacologique de la sous-unité activatrice p110 δ de PI3K (idelalisib) sur un modèle de souris haplo-insuffisante pour *PTEN* a montré une régression de la propension à l'auto-immunité présente chez les mêmes souris non traitées, ce qui suggère plus largement l'intérêt potentiel de ce traitement chez des patients avec dysrégulation immune induite par la sur-activation de la voie PI3K / AKT / mTOR.(160)

- Variant c.1786+8A>G de *mTOR*

Au sein de notre cohorte, nous avons mis en évidence un variant hétérozygote de *mTOR*, jamais décrit et jamais rapporté. Celui-ci correspond à un variant faux-sens, localisé au sein d'une région d'épissage de l'ARNm et ainsi non accessible à des scores prédictifs concernant son caractère délétère ou non pour la protéine traduite.

Si sa pathogénicité et son implication dans le tableau clinique est difficile à évaluer, il est d'un intérêt majeur en raison du rôle connu de la signalisation de mTOR dans l'induction de multiples maladies auto-immunes détaillées dans les paragraphes précédents.(158)

Des analyses complémentaires seraient nécessaires concernant ce variant, notamment concernant ses répercussions en termes de synthèse protéique (variant localisé sur un site d'épissage) et de conséquences effectives sur les multiples cibles d'aval de mTOR. Une première étape pourrait être la réalisation d'un western blot sur les cellules du patient muté.

2. Récepteurs de l'immunité innée

L'immunité innée repose sur la reconnaissance de signaux portés par les agents pathogènes (PAMPs) mais également par le soi modifié (DAMPs). Celle-ci est permise par des récepteurs extrêmement conservés entre les espèces, appelés PRR (pour *pattern recognition receptor*). Il existe des récepteurs localisés aux membranes (surface cellulaires ou endosomes), dont font partie les TLR, mais également des récepteurs cytoplasmiques comme les NOD-like récepteurs (NLR) ou RIG-like récepteurs (RLR). Dans le cas des TLR, leur activation par des signaux de danger induit la voie NFκB et la production de cytokines pro-inflammatoires, en premier lieu les interférons de type 1 impliqués dans les réponses antivirales mais également l'IL-1 et l'IL-18 via l'action de protéines adaptatrices et notamment MyD88, IRAK-1 et IRAK-4. L'IL-1 et

l'IL-18, des cytokines impliquées dans les phases très précoces de l'inflammation, entraînent après fixation sur leurs récepteurs une signalisation redondante et similaire à celle des TLR impliquant MyD88, IRAK, et l'activation de NFκB (figure 11).

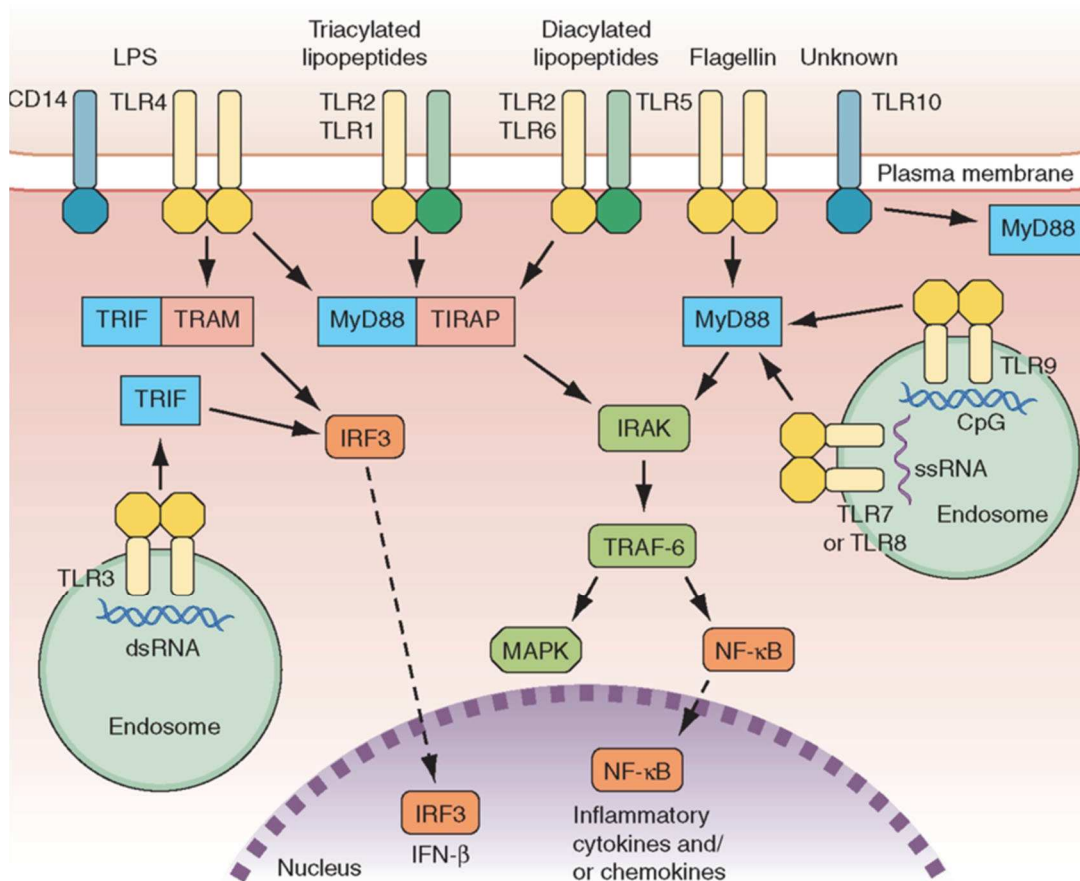


Figure 11 : signalisation en aval des TLR reconnaissant les PAMPs (lipopolysaccharide (LPS), peptides et flagelline bactériens, génome viral simple et double brin) à la surface de la cellule ou dans les endosomes. Cette interaction entraîne l'activation de la protéine adaptatrice MyD88, permettant de recruter et d'activer à son tour le complexe multimérique IRAK (comprenant IRAK1 et IRAK4) puis la voie NFκB via TRAF-6. Celle-ci permet la production de cytokines pro-inflammatoires. Une autre voie engagée dans la réponse antivirale et impliquant notamment TLR3 dans les endosomes, va permettre la sécrétion d'interféron de type 1 comme l'IFNβ via l'activation de TRIF et la migration du facteur de transcription IRF3 dans le noyau.

Plusieurs défauts dans ces voies de signalisation impliquant les PRR ont été associés à l'existence d'une dysimmunité. Il a été montré que TLR9 notamment exerçait un rôle tolérogène au niveau central et périphérique(163),(164). Au cours du LES, il existe des altérations de la réponse lymphocytaire B au TLR9, particulièrement dans le compartiment transitionnel, soulignant un rôle du récepteur dans la rupture de tolérance observée chez ces patients aux stades les plus précoces.(165) Enfin, une étude a pointé que des polymorphismes de TLR9 étaient associés à l'existence d'un LES au sein d'une population japonaise.(166) Par ailleurs, dans la polyarthrite rhumatoïde, la stimulation des TLR 2, 4 et 9 exprimés par les synoviocytes et par les macrophages de type M1 entraîne la sécrétion locale de cytokines pro-inflammatoires, ayant conduit à imaginer dans la dernière décennie des stratégies thérapeutiques visant à moduler ces réponses TLR chez les patients.(167)

En ce qui concerne la signalisation intracellulaire, des variants d'*IRAK1* ont été associés dans la littérature à la survenue de LES au sein d'une grande cohorte regroupant environ 5000 patients et contrôles ; à l'inverse, il était observé une abrogation complète des manifestations auto-immunes chez des modèles murins de lupus après inactivation de *Irak1*.(168)

Nous allons détailler dans les prochaines pages les variants rares retrouvés dans notre cohorte, impliquant ces récepteurs et les voies de signalisation décrites ci-dessus engagées dans les réponses innées.

- Variant p.Arg650Gln de *TLR2*

TLR2 code pour la protéine TLR2, appartenant à la famille des récepteurs Toll-like. Plus spécifiquement, TLR2 est exprimé à la surface des lymphocytes B et T et également des monocytes / macrophages, et reconnaît habituellement des lipoprotéines présentes à la surface

des bactéries à gram positif. Plusieurs travaux ont montré que les APLs pouvaient stimuler directement les récepteurs TLR2 et TLR4 à la surface des monocytes, à l'origine dans les vaisseaux d'un phénotype pro-inflammatoire faisant le lit de la dysfonction endothéliale et de la thrombose au cours du SAPL.(57) Le variant *TLR2* mis en évidence dans notre cohorte correspond à un variant hétérozygote faux-sens, dont la fréquence est évaluée à 1/5000. Si celui-ci présente des scores prédictifs d'un faible impact sur la protéine résultante (CADD 0,01 notamment), il reste toutefois d'intérêt potentiel en raison du rôle de TLR2 dans la physiopathologie du SAPL.

- Variant p.Gly298Val de *TLR5*

Également membre de la famille des récepteurs TLR, la protéine TLR5, codée par le gène *TLR5*, est impliquée dans la reconnaissance de la flagelline, un composant issu des bactéries mobiles invasives. Au sein de notre cohorte, un variant hétérozygote faux-sens de *TLR5* a été mis en évidence, de fréquence inconnue car jamais rapporté, pour lequel les scores SIFT et PolyPhen sont prédictifs d'une altération de fonction de la protéine résultante. Au cours de la polyarthrite rhumatoïde, il a été montré que l'expression de TLR5 à la surface des monocytes était corrélée à l'activité de la maladie et aux taux sériques de TNF α .(169) Si l'implication de ce récepteur n'a pas été décrite dans le SAPL, la mise en évidence d'une hyper-activation in vitro des monocytes du patient en réponse à une stimulation dépendante de TLR5 pourrait permettre d'envisager une responsabilité de ce variant dans le phénotype pro-thrombogène, selon un mécanisme proche de celui décrit par l'étude de Benhamou et al. citée dans le paragraphe précédent.(57)

- Variant p.Ala820Thr de *TLR9*

Un variant hétérozygote faux-sens de *TLR9* a été retrouvé chez l'un de nos patients. Ce variant a été rapporté, sans description clinique à ce jour, avec une fréquence de 1/2000 ; il présente des scores non prédictifs d'une altération de la protéine traduite (CADD 0,73). Toutefois, la découverte d'un variant rare de *TLR9* est d'intérêt notable au cours d'une maladie auto-immune de présentation sévère, notamment quand on connaît l'implication pathologique de défauts de signalisation de TLR9 au cours du LES. Des analyses fonctionnelles in vitro seraient possibles chez ce patient, par exemple afin de déterminer d'éventuelles conséquences de ce variant sur la capacité d'activation des lymphocytes B en réponse à une stimulation via TLR9.(165)

- Variant p.His191Tyr de *IL1R2*

L'IL-1R2 fait partie de la famille des récepteurs transmembranaires aux cytokines, et permet la transduction d'un signal intra-cellulaire après fixation de l'IL-1, cytokine impliquée de façon centrale dans la réponse inflammatoire précoce. Des modèles expérimentaux ont montré qu'une activation aberrante de l'IL-1R était associée à la survenue d'arthrites auto-immunes chez des souris, soulignant le possible impact d'un tel variant dans la genèse de manifestations dysimmunitaires.(170) Le variant de *IL1R2* rapporté au sein de notre cohorte, correspond à un faux-sens hétérozygote, jusqu'alors non rapporté (fréquence inconnue). Les scores d'analyse in silico SIFT et PolyPhen prédisent une absence de conséquence sur la protéine correspondante ; sa pathogénicité reste pour l'heure incertaine.

- Variant p.Pro530His de *IRAK1*

Le gène *IRAK1*, localisé sur le chromosome X, code pour la protéine IRAK1, impliquée dans la voie NFκB en aval du récepteur de l'IL1 et des TLR. Dans notre cohorte, nous avons mis en évidence chez un patient de sexe masculin un variant faux-sens de *IRAK1*, de transmission liée

à l'X. Celui-ci n'a jamais été rapporté et présente une fréquence inconnue en population générale. Les scores SIFT et PolyPhen sont prédictifs d'un faible effet sur la protéine traduite (CADD non calculable). L'implication de ce variant au cours du SAPL semble toutefois difficile à écarter sans analyse complémentaire, compte tenu du rôle démontré d'IRAK1 dans la pathogénie d'autres maladies auto-immunes et notamment du LES (voir paragraphe introductif). La réalisation de tests fonctionnels pourrait être envisagée, mais semble délicate sur le plan expérimental.(168)

3. Récepteurs des cytokines et voies de signalisation JAK / STAT

Les cytokines représentent un ensemble diversifié de protéines sécrétées agissant comme médiateurs et régulateurs du système immunitaire. Celles-ci interviennent dans l'immunité innée aussi bien que dans l'immunité adaptative, et sont classées en différentes familles (interférons, interleukines, chimiokines, grande famille du TNF). Elles ont souvent un effet pléiotrope et une action redondante. Elles transmettent des signaux à l'intérieur de la cellule via des récepteurs transmembranaires, constitués d'une association en hétérodimère ou hétérotrimère de différentes sous-unités communes. La liaison de la cytokine entraîne la dimérisation du récepteur et la transmission d'un signal intra-cellulaire, via une protéine adaptatrice à activité tyrosine kinase de la famille des JAKs. Il existe quatre protéines au sein de cette famille : JAK1, JAK2, JAK3, TYK2. Une fois activées, celles-ci sont impliquées dans l'activation par phosphorylation d'un facteur de transcription STAT présent au niveau cytoplasmique, qui en se dimérisant, va migrer dans le noyau afin d'activer la synthèse de protéines impliquées dans la réponse immunitaire (figure 12).

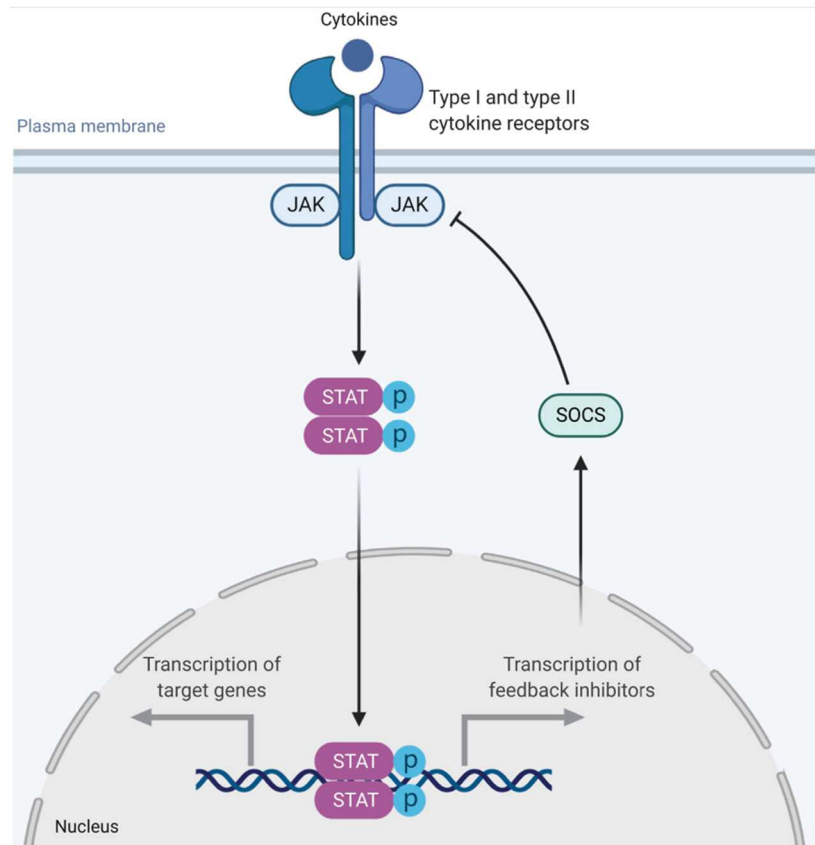


Figure 12 : mode d'action des récepteurs aux cytokines (facteurs de croissance, interleukines et interférons de type I et II). Après liaison aux récepteurs transmembranaires, un changement conformationnel se produit au niveau des sous-unités, permettant le rapprochement et la transphosphorylation des janus kinases (JAKs) associées aux récepteurs, induisant leur activation. Elles pourront ensuite phosphoryler d'autres cibles, notamment des facteurs de transcription STAT qui s'associent et migrent dans le noyau pour stimuler la transcription des gènes cibles, impliqués dans de multiples processus incluant la réponse immunitaire, la croissance ou la survie cellulaire. Il existe plusieurs niveaux de régulation, notamment via l'action des protéines SOCS, stimulées par les STAT activées, exerçant un rétrocontrôle négatif sur les JAKs.(171)

Des variants germinaux au sein de cette voie de signalisation ont été associés à des tableaux de déficit immunitaire parfois accompagnés de manifestations auto-immunes. Par exemple, des variants hétérozygotes gain de fonction de STAT1 sont responsables d'un déficit immunitaire

caractérisé par la survenue accrue d'infections respiratoires, d'une candidose cutanéomuqueuse (CMC) par impaction de l'axe IL17A/F, mais également de manifestations auto-immunes très fréquentes. Ainsi, dans un travail ayant repris 274 patients avec CMC en lien avec un variant gain de fonction de STAT1, 37% d'entre eux présentaient au moins une manifestation auto-immune, notamment endocrinienne (thyroïdite, diabète de type 1), mais également cutanée (LES, vitiligo, psoriasis), hépatique (hépatite auto-immune), ou hématologique (cytopénies auto-immunes).(172) Celles-ci semblent être en lien avec une signalisation accrue de la voie interféron de type I induite par le gain de fonction de STAT1, ce qui explique certaines manifestations communes avec les patients présentant un LES.(173)

Plusieurs variants de gènes impliqués dans la signalisation et la réponse aux cytokines, ont été décrits dans notre cohorte. Nous allons les détailler de façon individuelle ci-après.

- Variant p.Glu378Lys de *IFNLRI*

Le gène *IFNLRI* code pour une sous-unité du récepteur à l'IL-28, impliqué dans le signal interféron de type III (IFN-lambda), et dans la réponse antivirale. Le variant hétérozygote faux-sens retrouvé au sein de notre cohorte présente une fréquence très basse inférieure à 1/20000. Il n'a jamais été caractérisé sur le plan clinique. Les scores d'analyse in silico sont prédictifs d'un faible impact protéique (CADD à 5,9). Moins étudiée que le système IFN de type I, la signalisation IFN de type III a été associée à des manifestations auto-immunes ; il a été décrit une augmentation chronique des niveaux d'IFN de type III au cours du LES ainsi qu'une activation chronique de la voie de signalisation en aval, pouvant de façon plus large faire poser la question d'une implication de cette voie dans le SAPL.(174)

- Variant p.Val104Ile de *IL9R*

Un variant hétérozygote d'*IL9R* a été mis en évidence au sein de notre cohorte ; celui-ci est connu et rapporté, avec une fréquence d'environ 1/5000 dans la population générale, sans description clinique. Même si l'IL-9 présente un rôle important dans l'acquisition de la mémoire immunitaire humorale (LB mémoires), aucun variant du gène *IL9R* n'a été rapporté en pathologie humaine à ce jour.(175) Par ailleurs, un score de contrainte O/E > 1 indique une excellente tolérance du gène à des variants faux-sens, ce qui rend ainsi peu probable l'imputabilité de ce variant dans le phénotype présenté par notre patient.

- Variant p.Ala444Asp de *IL2RB*

Le gène *IL2RB* code pour la sous-unité B du récepteur à l'IL-2. Il intervient dans la transmission des signaux de l'IL-2 et de l'IL-15. Il est ainsi principalement impliqué dans la réponse T, mais intervient également au sein de la lignée B. Le variant de *IL2RB* présenté par l'un des patients de notre cohorte est un faux-sens, exceptionnellement retrouvé en population générale (fréquence à 1/100000), monoallélique, présentant des scores in silico prédictifs d'une altération protéique (CADD à 21). Des défauts homozygotes du gène ont été rapportés chez plusieurs familles consanguines, responsables sur le plan clinique de DICS avec lymphoprolifération.(176) De façon intéressante, il existe des anomalies de la réponse à l'IL-15 chez des patients lupiques, responsables d'une augmentation de la concentration sérique de cette cytokine, participant à la rupture de tolérance périphérique selon des mécanismes incomplètement élucidés.(177) Un défaut similaire de l'axe IL-15 / IL-15R pourrait être mis en évidence chez ce patient avec SAPL, à l'instar de ce qui a été observé au cours du LES.

- Variant p.Thr44Ala de *IL2RG*

Ce gène code pour la sous-unité gamma commune aux récepteurs de plusieurs cytokines : IL-2, -4, -7, -9, -15 et -21. Celui-ci est situé sur le chromosome X, et des variants pathogènes ont été mis en évidence chez des enfants de sexe masculin présentant des formes sévères de DICS.(178) Un variant faux-sens, ayant une fréquence de 1/20000 environ dans la population générale, et présentant une transmission liée à l’X, a été mis en évidence chez l’un des patients de la cohorte ; celui-ci présente des scores in silico prédictifs d’un impact faible sur la protéine résultante. Ce variant a été rapporté dans ClinVar et considéré comme bénin. La mise en évidence d’un variant responsable d’une perte de fonction complète de ce gène semble improbable en l’absence de déficit immunitaire caractérisé, et les quelques cas de variants hypomorphes rapportés correspondent cliniquement à des tableaux de déficit immunitaire de sévérité variable, mais sans propension à l’auto-immunité.(179) Pour autant, une exploration de la voie dépendante de l’IL-2R (par exemple en mesurant les niveaux de phosphorylation de STAT5 après stimulation de PBMC par de l’IL-2 ou -7) serait envisageable chez notre patient, afin d’évoquer l’implication d’un éventuel défaut de signalisation de cet axe dans la rupture de tolérance observée au cours du SAPL.

- Variant p.Leu283Val de *TYK2*

Ce variant hétérozygote, faux-sens, a été notifié dans GnomAd, sans information clinique, avec une fréquence d’environ 1/100000 dans la population générale. La protéine TYK-2 appartient à la famille des JAKs, et entre en jeu dans la voie de signalisation des interférons de type I et III, exerçant ainsi un rôle dans l’immunité antivirale. De façon intéressante, plusieurs polymorphismes de *TYK2* ont été associés à des manifestations auto-immunes, et notamment au LES (certains variants entraînant un sur-risque et d’autres ayant été identifiés comme

protecteurs).(180) Un rôle de ce variant pourrait être évoqué au cours de certaines formes de SAPL associées à une signature interféron de type I, et exploré chez notre patient.

- Variant p.Val544Ala de *JAK3*

JAK-3 est une autre protéine appartenant à la famille des *JAKs*, intervenant en aval de la chaîne gamma commune du récepteur à l'IL-2, -4, -7, -9, -15 et -21. Le variant de *JAK3* retrouvé au sein de notre cohorte a été rapporté dans ClinVar, de signification incertaine. Celui-ci présente une fréquence proche de 0 en population générale. Des variants homozygotes de *JAK3* ont été rapportés chez des patients présentant des tableaux similaires aux DICS de transmission liée à l'X.(181) Récemment, un variant hétérozygote gain de fonction de *JAK3* (Gln507Pro) de transmission dominante a également été décrit au sein d'une famille présentant une lymphoprolifération NK associée à des manifestations auto-immunes (cytopénies auto-immunes, vascularite).(182) Par analogie, nous pourrions évoquer l'implication de notre variant hétérozygote dans la rupture de tolérance observée au cours du SAPL et explorer cette voie IL-2 / *JAK3* / *STAT5* chez notre patient.

- Variant c.681+3G>A de *STAT5B*

Ce variant situé sur une région d'épissage a été rapporté dans les bases de données, mais sans documentation clinique, avec une fréquence évaluée à 1/15000. Il a été mis en évidence à l'état hétérozygote chez un patient au sein de notre cohorte. *STAT5B* est impliqué dans des DICS associés à un défaut de croissance en cas de variant bi-allélique (rôle de *STAT5B* dans la sécrétion d'IGF1 après stimulation par l'hormone de croissance) ; des formes moins sévères associant déficit immunitaire de gravité variable, petite taille et manifestations auto-immunes ont été associées à des variants faux-sens hétérozygotes agissant par effet dominant négatif.(183) Ce variant présent sur une région d'épissage pourrait en outre impliquer un effet

gain de fonction pour la protéine traduite, des mutations somatiques responsables d'un gain de fonction de STAT5B ayant été associées à la survenue d'hémopathies clonales (leucémies et lymphomes) mais également à des manifestations dysimmunitaires avec hyperéosinophilie.(184) Encore une fois, l'exploration de la phosphorylation de STAT5B à l'état basal et après stimulation pourrait être envisagée chez ce patient, afin de mettre en évidence un potentiel défaut de cette voie en association aux manifestations auto-immunes présentées.

4. Voie NFκB et sa régulation

Les facteurs NFκB sont un groupe de protéines exerçant le rôle de facteurs de transcription homo- ou hétéro-dimériques, intervenant dans un large éventail de fonctions cellulaires incluant la réponse au stress, la régulation de l'apoptose, la croissance, et également l'inflammation et la réponse immunitaire (figure 13). Les voies de signalisation induisant l'activation de NFκB sont hautement pléiotropes et redondantes avec certaines autres voies centrales telles que MAPK et p53.

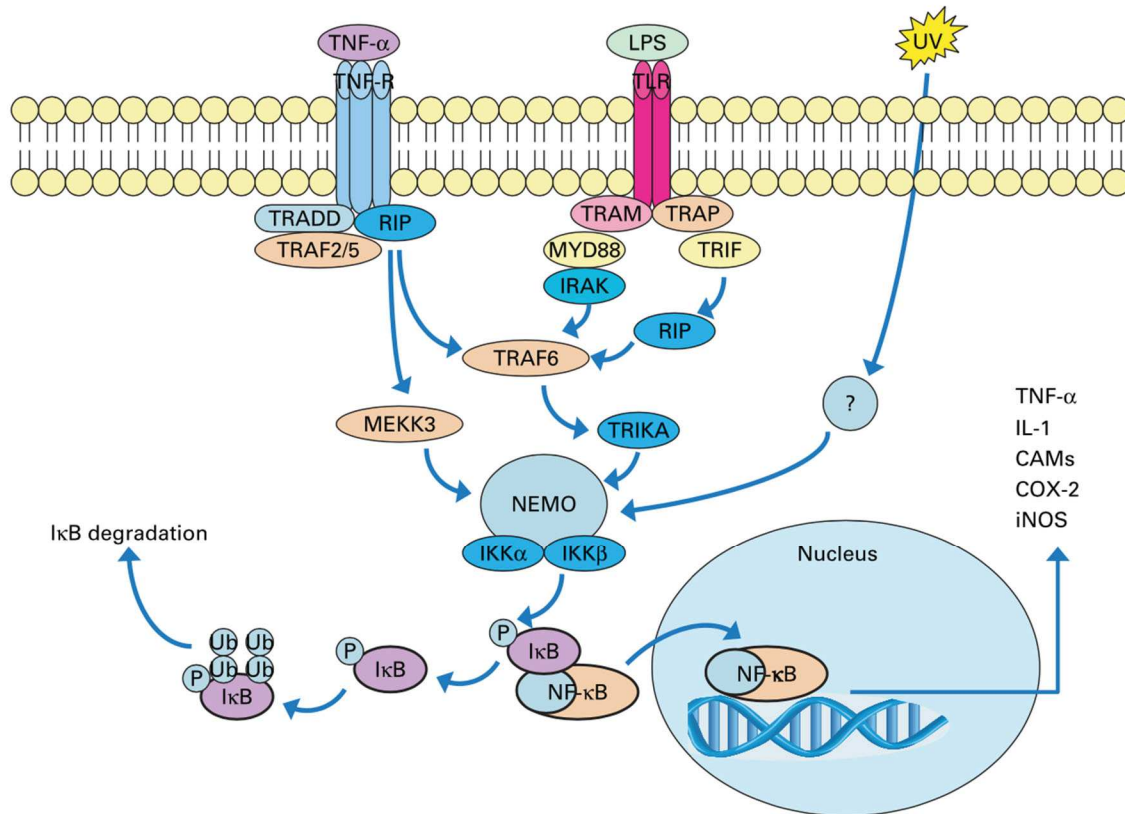


Figure 13 : signalisation canonique de NFκB.(185) A l'état basal, les facteurs NFκB sont maintenus dans le cytoplasme à l'état inactif par le complexe inhibiteur IκB. Après activation de multiples récepteurs cellulaires d'amont (superfamille des récepteurs du TNF, TLRs, IL-1R, TCR et BCR non représentés, récepteurs des facteurs de croissance...) ainsi que des facteurs physico-chimiques comme le stress oxydant ou les UV, la mise en jeu de voies de signalisation dépendantes de TRAF, TRAM / MyD88 / IRAK, vont activer un complexe kinase IKK constitué des kinases IKKα, IKKβ et NEMO (codée par le gène IKBKG). Ce complexe va à son tour phosphoryler IκB, entraînant sa dégradation par le protéasome et induisant la libération de NFκB qui peut alors migrer dans le noyau afin d'induire la transcription des gènes cibles, impliqués notamment dans la régulation de l'apoptose, de la croissance, de l'inflammation, de la réponse immunitaire, et de la réponse au stress.

La voie NFκB est impliquée dans la tolérance lymphocytaire B et T centrale et périphérique, en favorisant l'apoptose des lymphocytes autoréactifs au cours de plusieurs étapes de leur développement.(186)

Ainsi, des défauts des sous-unités du complexe NFκB ont été associés à des tableaux de déficits immunitaires, associant une hypogammaglobulinémie à une lymphoprolifération, une auto-inflammation, mais également des manifestations auto-immunes.

Des variants hétérozygotes de *NFKB1* de transmission dominante, avec pénétrance incomplète et agissant par haplo-insuffisance, sont responsables d'un déficit immunitaire avec lymphoprolifération et splénomégalie, et avec l'âge de la survenue de manifestations auto-immunes. Celles-ci sont présentes chez environ la moitié des patients, et comprennent surtout des cytopénies auto-immunes (AHAI, PTI, syndrome d'Evans), mais également des atteintes d'organe isolées (thyroïdite, vitiligo).(187) Des tableaux similaires avec auto-immunité ont été décrits en association avec des variants de *NFKB2*, une autre sous-unité du complexe NFκB, responsables d'un déficit immunitaire combiné plus profond que celui observé en association aux variants de *NFKB1*.

Des défauts hypomorphes de la protéine NEMO, impliquée dans l'activation de NFκB et codée par le gène *IKBKG* situé sur le chromosome X, ont été associés chez des enfants de sexe masculin à des formes de DICS associés à une dysplasie ectodermale (entité syndromique caractérisée par une atteinte cutanée, des dents et des phanères). Ces patients présentent de fréquentes manifestations inflammatoires, en premier lieu des colites sévères, mais également une auto-immunité avec des cas rapportés d'AHAI et de PTI.(188),(189) Par ailleurs, des variants situés sur des gènes codant pour des complexes régulateurs ont également été associés à des manifestations auto-inflammatoires, comme en témoignent les mutations de *TNFAIP3*, codant pour la protéine régulatrice A20, responsables de tableaux évoquant des maladies de

Behçet de révélation précoce, avec atteinte digestive sévère et transmission autosomique dominante.(186)

Plusieurs variants ont été retrouvés dans notre cohorte, portant sur des gènes impliqués dans cette voie de signalisation NF κ B, et donc potentiellement imputables, à différents niveaux, dans la survenue du SAPL.

- Variants p.Glu57Lys et p.Met1 de *IKBKG*

La protéine NEMO, codée par *IKBKG*, est impliquée dans l'activation du complexe NF κ B (voir paragraphes précédents). Les variants hypomorphes de *IKBKG* sont associés à des phénotypes extrêmement variables associant divers niveaux de déficit immunitaire associé ou non à des manifestations auto-inflammatoires et auto-immunes.(188) Le variant p.Glu57Lys retrouvé dans notre cohorte a fait l'objet d'une publication antérieure, responsable chez le sujet porteur d'une forme moins sévère de déficit immunitaire, sans atteinte ectodermique.(190) Ce variant présente une fréquence relativement élevée d'environ 1/1000, mais a toutefois été considéré dans notre analyse en raison de son mode de transmission lié à l'X, et de son caractère prédit délétère par les scores prédictifs (CADD à 28) et les analyses fonctionnelles réalisées dans l'étude sus-citée. La validation fonctionnelle de ce variant chez notre patient reste toutefois nécessaire, afin de confirmer et si possible, de caractériser son imputabilité dans la survenue du SAPL.

Un autre variant probablement pathogène de *IKBKG* (responsable d'un *start-loss*), jamais décrit dans la littérature et de fréquence inconnue, a été mis en évidence à l'état homozygote chez une patiente de sexe féminin. Pour ce variant, une confirmation par séquençage Sanger serait nécessaire dans un premier temps, devant le caractère surprenant de l'absence de déficit

immunitaire associé à cette perte de fonction complète du gène, habituellement rapportée comme létale in utero.

- Variant p.Thr944Asn de *NFKB1*

Ce variant, mis en évidence chez l'un des patients de la cohorte, a été notifié, avec une fréquence d'environ 1/2000 dans la base de données GnomAd, mais jamais décrit cliniquement. Les scores d'analyse in silico sont prédictifs d'une absence d'altération de la protéine correspondante. Toutefois, devant le rôle démontré du complexe NFκB dans l'acquisition de la tolérance lymphocytaire B centrale et périphérique, une perte de fonction partielle de la protéine en lien avec le variant, avec possible pénétrance incomplète, pourrait être imputable dans l'auto-immunité présentée par notre patient. En effet, d'autres variants hétérozygotes de *NFKB1* ont été associés à des manifestations auto-immunes dans la littérature.(191)

- Variant c.-110-13_-110-5dup de *NFRKB*

Un variant homozygote de *NFRKB* a été mis en évidence chez l'un de nos patients. Celui-ci est localisé au niveau d'un site d'épissage et n'a jamais été décrit dans les bases de données (fréquence inconnue). La protéine résultante (NFRKB) est associée à NFκB et semble intervenir dans la régulation transcriptionnelle après sa migration dans le noyau ; toutefois, son rôle exact est inconnu et aucun variant n'a pour l'heure été décrit en pathologie humaine.

- Variants p.Leu72Pro et p.Val1128Ile de *CARD11*

CARD11 est une protéine impliquée dans l'activation de la voie non canonique de NFκB après reconnaissance antigénique par les récepteurs B et T (BCR et TCR). Des défauts bi-alléliques de *CARD11* ont été impliqués dans des formes de DICS.(192) Des variants somatiques gain de fonction sont observés au cours de lymphomes B non-Hodgkiniens. Des variants hétérozygotes

germinaux sont associés à des phénotypes variables, selon qu'ils correspondent à des gains ou des pertes de fonction de la protéine résultante, et sont associés à différents niveaux d'auto-immunité, avec des cas rapportés de cytopénies auto-immunes (AHAI, PTI, syndrome d'Evans, lupus induit, dysrégulation immunitaire avec polyendocrinopathie proche des tableaux d'IPEX).(193) Deux variants de *CARD11* ont été mis en évidence dans notre cohorte. Le premier, correspondant à un variant hétérozygote faux-sens sur un transcrit secondaire, est inconnu des bases de données avec des analyses *in silico* prédictives d'une altération de la fonction de la protéine résultante (CADD à 28). Le second, également un variant faux-sens, mais cette fois sur le transcrit principal, présentant une fréquence proche de 1/10000, est décrit dans ClinVar comme de signification incertaine.

L'importance de la voie NFκB dans le développement et la fonction lymphocytaires rend la découverte de ces deux variants rares de *CARD11* marquante au sein de notre cohorte. Des études complémentaires avec analyse fonctionnelle seraient nécessaires afin de conforter l'hypothèse de leur implication dans la survenue du SAPL.

- Variant p.Arg270Ter de *DDRGKI*

Le gène *DDRGKI* code pour une protéine appelée Dashurin, impliquée dans régulation du stress du réticulum endoplasmique et dans la régulation de l'activité transcriptionnelle de NFκB. Son rôle a été peu étudié dans la littérature et reste mal connu. Le variant hétérozygote de *DDRGKI* retrouvé au sein de notre cohorte correspond à un codon stop, présentant une fréquence d'environ 1/5000. En raison de son rôle direct dans la régulation de NFκB, son implication dans la genèse de manifestations auto-immunes pourrait être envisagé.(194)

5. Mise en place des répertoires T et B et auto-immunité

La multiplicité des cibles antigéniques présentes dans l'environnement, implique plusieurs mécanismes de diversification des répertoires T et B, à l'origine d'une potentialité de reconnaissance quasi-infinie des pathogènes rencontrés. Cette diversification du répertoire est permise au niveau central, par la recombinaison V-(D)-J, à l'origine des diversités dites « combinatoires » et « jonctionnelles ». Celle-ci est orchestrée par les enzymes RAG1 et RAG2. Dans le cas des lymphocytes B, cet enrichissement est encore accru en périphérie, par des mécanismes de commutation de classe et d'hypermutations somatiques après collaboration avec les LTfh au sein des centres germinatifs, visant à majorer l'affinité pour l'antigène rencontré.

Au cours de ces processus, une proportion importante de lymphocytes produits va présenter de façon naturelle, une propension à réagir envers des antigènes du soi. Des mécanismes de tolérance au niveau central et périphérique permettent le contrôle de ces cellules auto-réactives : apoptose cellulaire, ignorance, anergie, ou édition du récepteur également permis par les enzymes RAG.(195)

Des défauts dans la mise en place de ce répertoire aboutissent à la persistance de lymphocytes auto-réactifs, par exemple en cas de défauts de RAG, limitant les mécanismes d'édition des récepteurs T et B.(196) Par ailleurs, chez des patients avec déficits immunitaires combinés, l'augmentation des concentrations sériques de BAFF secondaire à la lymphopénie, permet la persistance de lymphocytes B auto-réactifs en périphérie.(197) Enfin, des défauts de mise en place des répertoires des T et B régulateurs pourraient aussi être impliqués dans certains aspects de la rupture de tolérance périphérique.

Des variants impliqués dans la mise en place des répertoires T et B, et associés à des manifestations auto-immunes dans la littérature, ont été retrouvés chez des patients de notre cohorte. Ils sont listés ci-après.

- Variants p.Arg464His et p.Val272Leu de *RAG2*

Des défauts homozygotes complets de *RAG2* sont associés chez l'homme à des tableaux de DICS. Des variants hypomorphes sont responsables de formes moins sévères (syndrome d'Omenn, voire déficit immunitaire combiné de révélation tardive), avec manifestations inflammatoires et auto-immunes graves. Celles-ci sont supposées secondaires à un défaut d'édition des récepteurs B et T en lien avec la mutation (voir paragraphe précédent). Nous avons mis en évidence deux variants hétérozygotes rares de *RAG2* au sein de notre cohorte. Le premier, correspondant à un remplacement d'une arginine par une histidine en position 464, a été rapporté avec une fréquence d'environ 1/2000, sans description clinique à ce jour. Les méthodes d'analyse *in silico* prédisent une faible probabilité d'altération de la protéine résultante ; sa significativité clinique est donc incertaine. Le second variant, également un faux-sens mono-allélique chez un autre patient (p.Val272Leu), beaucoup plus rare (1/50000), a également été rapporté, prédit délétère (CADD à 22,5). De façon intéressante, des auteurs ont récemment mis en évidence un variant hétérozygote de *RAG2* chez un patient lupique, associé une altération des mécanismes d'édition du locus IGK (chaîne légère kappa), pouvant expliquer la rupture de tolérance à l'origine des manifestations auto-immunes.(196)

- *LTK* (p.Pro465Ter)

Le variant de *LTK* mis en évidence dans notre cohorte correspond à un décalage du cadre de lecture, présentant une fréquence exceptionnelle, proche de 0 en population générale. La protéine *LTK* correspond à une tyrosine kinase de la superfamille des récepteurs à l'insuline,

particulièrement exprimée à la surface des lymphocytes B. Des variants de *Ltk* ont été mis en évidence chez des modèles murins de lupus (NZB), mais également chez des patients présentant un LES, de façon significativement plus importante qu'au sein d'une population non-malade. Ces variants entraîneraient une activation anormale de la voie PI3K via LTK, favorisant chez les patients, la persistance en périphérie de lymphocytes B au répertoire auto-réactif.(198)

6. Contrôle de l'activation du système immunitaire

En plus des étapes impliquées dans la tolérance centrale, plusieurs niveaux de contrôle interviennent en périphérie, permettant le développement d'une réponse adaptative compétente envers les pathogènes et régulant à l'inverse la persistance des lymphocytes auto-réactifs.

Dans le compartiment B, le récepteur TACI (codé par le gène *TNFRSF13B*) permet de contrôler la prolifération lymphocytaire en réponse aux cytokines BAFF et APRIL, tout en stimulant la différenciation et la survie des plasmocytes (de façon indépendante des T, l'expression membranaire de TACI étant induite par la reconnaissance antigénique via les TLR). Cette régulation est complexe, comme en témoigne la diversité des phénotypes associés aux variants du gène : si des variants mono-alléliques de *TNFRSF13B* sont responsables de DICV et d'une propension claire à l'auto-immunité, les variants homozygotes sont également associés à des déficits immunitaires mais sans manifestation auto-immune.(199) Une autre voie de survie et d'activation pour le lymphocyte B en périphérie repose sur l'activation par les T follicular helper de même spécificité antigénique, au sein des organes lymphoïdes secondaires (réponse T-dépendante).

Le compartiment T présente également des mécanismes de régulation en périphérie. En premier lieu, leur activation va être restreinte au niveau des follicules lymphoïdes secondaires, à la présentation antigénique via le CMH-I pour les CD8+ et via le CMH-II pour les CD4+, ainsi

qu'à plusieurs signaux co-activateurs. CTLA-4 est un récepteur présent à la surface des T, permettant de lier des facteurs co-activateurs, mais responsable d'un signal négatif, jouant ainsi un rôle majeur dans l'activation et la prolifération cellulaire. Des variants hétérozygotes de *CTLA4*, agissant par haplo-insuffisance, ont ainsi été associés à des DICV avec lymphoprolifération et fréquentes manifestations auto-immunes liées à une dysrégulation des T effecteurs et régulateurs.(200) Des défauts homozygotes de *LRBA* ont également été décrits et donnent lieu à des phénotypes proches, ce gène codant pour une protéine impliquée dans le recyclage membranaire de CTLA-4.

Dans notre cohorte, des variants de gènes codant pour certaines des protéines régulatrices décrites ci-dessous ont été mis en évidence ; ceux-ci sont listés ci-après.

- Variant p.Ile1428Thr de *LRBA*

Un nouveau variant de *LRBA* a été mis en évidence dans notre cohorte, à l'état hétérozygote ; celui-ci a été rapporté de façon exceptionnelle (fréquence inconnue) et présente des scores prédictifs d'un impact délétère sur la protéine résultante. Toutefois, un travail a récemment rapporté plusieurs cas familiaux de défauts de *LRBA* (familles consanguines), dans lesquelles les individus hétérozygotes étaient sains, posant la question d'une réelle implication de ce variant dans la survenue du SAPL.(201)

- Variant p.Tyr164Ter de *TNFRSF13B*

Le variant de *TNFRSF13B* (TACI) retrouvé dans notre cohorte correspond à un codon stop en position 164 ; celui-ci a été décrit comme pathogène dans ClinVar et dans la littérature, à compris à l'état hétérozygote, responsable de déficits immunitaires avec hypogammaglobulinémie, mais sans auto-immunité rapportée pour ce variant.(202) Il présente

une fréquence d'environ 1/10000 dans la population générale. Une éventuelle réduction de l'activité du récepteur TACI, avec augmentation des taux sériques circulants de BAFF, à l'instar de ce qui est retrouvé au cours du lupus, pourrait permettre de conforter l'hypothèse d'une implication de ce variant dans le SAPL présenté par notre patient.

7. Clairance des débris d'ADN extracellulaires

Les désoxyribonucléases (I, II, et III, encore appelée TREX1) sont des acteurs de la tolérance du soi, ayant pour rôle la dégradation de l'ADN après la mort cellulaire ou la NETose. Au cours du lupus, des défauts génétiques de ces DNases ont été associés à la production d'auto-anticorps anti-ADN natif et à l'activité de la maladie.(203),(204)

Si la rupture de tolérance envers l'ADN du soi n'est habituellement pas associée au SAPL primaire, nous avons tout de même retrouvé au sein de notre cohorte, des variants de deux des gènes codant pour ces DNases, que nous détaillerons dans les prochains paragraphes.

- Variant p.Tyr98Cys de *DNASE1*

La désoxyribonucléase 1 est une enzyme capable de cliver l'ADN (endonucléase) au niveau de liaisons phosphodiester. Des variants perte de fonction de *DNASE1* ont été associés au LES au cours de formes dites « monogéniques », de transmission dominante.(203) Un variant faux-sens hétérozygote de ce gène a été mis en évidence dans notre cohorte. Celui-ci n'est pas rapporté dans les bases de données et présente une fréquence inconnue ; les analyses *in silico* sont prédictives d'un effet délétère sur la protéine. Connaissant le mode de transmission dominant des formes familiales de lupus associées à des variants monoalléliques du même gène, ce variant pourrait ainsi être d'intérêt notable au cours du SAPL également.

- Variant p.Leu107Met de *TREX1*

TREX1 (ou désoxyribonucléase III), est une exonucléase intra-cellulaire, impliquée dans la dégradation des débris d'ADN endogène, eux-mêmes impliqués dans l'induction d'une réponse interféron de type I en cas d'accumulation anormale dans le cytoplasme. Des variants de *TREX1* ont été associés au syndrome d'Aicardi-Goutières, une interféronopathie présentant un mode de transmission variable (dominant ou récessif selon l'allèle atteint) ; d'autres variants hétérozygotes ont été associés à un sur-risque de lupus.(205) Le variant retrouvé dans notre cohorte à l'état hétérozygote n'a jamais été rapporté dans les bases de données ; par ailleurs, les scores in silico sont prédictifs d'un faible impact du variant sur la protéine traduite. Toutefois, l'implication de celui-ci dans la survenue du SAPL chez notre patient pourrait être discutée, un cas au moins de syndrome d'Aicardi-Goutières associé à un SAPL ayant été décrit dans la littérature.(206)

8. Autres processus entrant en jeu dans le maintien de la tolérance immunitaire

D'autres mécanismes parfois plus complexes et moins bien décrits, ont été associés à la survenue de déficits immunitaires ou de manifestations auto-immunes.

Nous avons mis en évidence des variants sur des gènes intervenant au cours de ces différents processus. Ceux-ci sont listés, et rapidement décrits au cours des paragraphes suivants.

- Variant p.Ile371Ser de *ARPC1B*

Au cours des dernières années, des gènes impliquant la régulation du cytosquelette d'actine ont été associés à des formes monogéniques de déficit immunitaire, avec fréquentes manifestations auto-immunes.(144)

ARPC1B fait partie du complexe protéique ARP2/3, impliqué dans la polymérisation de l'actine. Des défauts bi-alléliques de *ARPC1B* sont associés à des déficits immunitaires combinés associés à une atopie, des anomalies plaquettaires et des manifestations auto-inflammatoires.(207) Nous avons mis en évidence, à l'état hétérozygote, ce variant p.Ile371Ser de *ARPC1B*, présentant une fréquence d'environ 1/10000 en population générale. Celui-ci a été rapporté dans les bases de données, mais sans information clinique disponible. Les analyses in silico sont prédictives d'une altération fonctionnelle de la protéine synthétisée (CADD à 29). Le rôle de ce variant dans le phénotype présenté par notre patient reste toutefois très incertain, celui-ci n'étant présent qu'à l'état hétérozygote.

- Variant p.Arg90His de *NCF1*

Des travaux ont pointé le rôle de la balance redox dans plusieurs maladies auto-immunes, suggérant un rôle de l'état d'oxydo-réduction dans l'inflammation et le maintien de la tolérance immunitaire.

Un variant de *NCF1*, codant pour un composant du système NADPH-oxydase (p47-phox), impliqué dans l'explosion oxydative (production d'espèces réactives de l'oxygène ou ROS), a été associé à une susceptibilité au LES, au syndrome de Sjögren et à la polyarthrite rhumatoïde.(208) Ce même variant a été mis en évidence chez un patient de notre cohorte, à l'état hétérozygote. Celui-ci présente une fréquence relativement élevée en population générale, de l'ordre de 1/200, rendant peu probable son implication isolée dans la survenue dans la rupture de tolérance associée au SAPL.

- Variant c.287-8C>G de *FADD*

Des défauts situés dans les voies métaboliques de l'apoptose ont été associés à des manifestations auto-immunes, notamment au cours du syndrome ALPS (*Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome*).

Le gène *FADD* code pour FADD, protéine adaptatrice transmettant le signal des récepteurs de mort cellulaire (notamment FasR) aux caspases intra-cellulaires impliquées dans l'apoptose. Des variants homozygotes ou hétérozygotes composites de *FADD* ont été associés à des tableaux présentant des similitudes avec le syndrome ALPS, en général de présentation plus sévère.(209) Un variant hétérozygote localisé sur une région d'épissage du gène (non rapporté dans les bases de données, de fréquence inconnue), dont la pathogénicité est non prédictible in silico, a été retrouvé au sein de notre cohorte.

Au cours du SAPL, l'hypothèse d'un défaut d'apoptose entraînant une rupture de tolérance envers certains phospholipides anormalement exprimés à la membrane des cellules pourrait être évoquée.

9. Gènes d'hémostase

Des variants localisés sur des gènes d'hémostase ont également été retrouvés, et discutés ci-après. Ceux-ci sont importants à considérer car potentiellement responsables d'une aggravation du sur-risque thrombotique ou obstétrical, chez un malade présentant par ailleurs une biologie anti-phospholipide.

- Variant p.Ser346Leu de *F2*

Le gène *F2* code pour le facteur II, ou prothrombine, l'un des facteurs clés impliqué dans la cascade de la coagulation puisqu'entrant dans la composition du facteur prothrombinique. Le

variant G20210A est bien connu pour être corrélé à un sur-risque de thrombose, puisque recherché en pratique courante dans les bilans de thrombophilie ; en réalité il existe de nombreux autres variants du gène dits « privés » car très rares, qui confèrent un sur-risque thrombotique beaucoup plus important.(210) Un variant hétérozygote faux-sens, rapporté dans les bases de données mais de signification incertaine d'après ClinVar, a été mis en évidence chez un patient de notre cohorte. Celui-ci présente une fréquence de 1/60000 dans la population générale, mais les scores in silico sont prédictifs d'un faible impact protéique pour ce variant. Son implication réelle dans les manifestations thrombotiques associées au SAPL de notre patient semble peu évaluable en pratique.

- Variants p.Leu31Val et p.Ter333GlyextTer17 de *F5*

Le facteur V est également un acteur clé de la coagulation, sa forme activée agissant comme un cofacteur de la transformation de la prothrombine en thrombine active. Deux variants rares ont été mis en évidence dans notre cohorte. Le premier correspond à un variant faux-sens, non rapporté dans GnomAd, de présence inconnue. Malgré des scores in silico prédisant un faible impact protéique, l'absence de donnée clinique disponible ne permet pas de conclure formellement en son innocuité. Le second variant correspond à une perte de codon stop ; ces variants sont habituellement très rares et d'interprétation difficile. Celui-ci n'est pas rapporté dans les bases de données, mais présente effectivement une fréquence exceptionnelle en population générale (1/40000). De façon intéressante, des variants faux-sens hétérozygotes localisés sur des acides aminés voisins sont responsables de tableaux de thrombophilie (variants dits « Facteur V Hong Kong »).(211)

- Variant p.Lys218Ile de *F11*

Des variants hétérozygotes du gène *F11* ont été associés à d'exceptionnels tableaux d'hémophilie C (syndrome de Rosenthal) mais également pour d'autres, à un sur-risque de thrombose.(212) Le variant hétérozygote du gène *F11* retrouvé chez l'un des patients de notre cohorte ne semble toutefois pathogène qu'à l'état homozygote, avec plusieurs reports dans ClinVar d'interprétation discordante mais semblant davantage associés à des sur-risques hémorragiques. Ainsi, l'implication de celui-ci dans la survenue du SAPL semble difficilement envisageable.

- Variant p.Gly745Arg de *VWF*

Le gène *VWF* code pour le facteur de Willebrand ; celui-ci joue un rôle central au cours de l'hémostase primaire en permettant l'agrégation plaquettaire. Si la plupart des variants pathogènes sont associés à une tendance hémorragique, au moins un variant de ce gène a été associé à un sur-risque de thrombose par une revue récente (avec un OR relativement faible).(213) Le variant retrouvé au sein de notre cohorte a été rapporté avec une fréquence d'environ 1/20000, mais sans description clinique associée. Les analyses in silico sont prédictives d'un effet pathogène sur la protéine produite (CADD à 23), rendant possible une imputabilité de ce variant dans les phénomènes thrombotiques présentés par notre patient. Une analyse fonctionnelle de la coagulation pourrait être intéressante dans un premier temps, afin d'explorer cette hypothèse d'imputabilité.

10. Système du complément et sa régulation

Des anomalies génétiques impliquant le système du complément ont été associées à la survenue de LES, avec fréquente atteinte rénale. En effet, les composants précoces de la voie classique

du complément (C1q, C2, C4) sont impliqués dans la clairance des corps apoptotiques ; des défauts dans ce processus sont à l'origine d'une rupture de tolérance envers les constituants intracellulaires observée au cours du lupus.(214) Dans le cas du SAPL, le complément joue également un rôle central puisque de nombreux travaux ont montré que son activation non régulée était associée aux manifestations thrombotiques. Par ailleurs, dans des modèles in vitro, les anti-β2GPI issus de patients sont capables d'activer directement le complément, en induisant une augmentation des dépôts cellulaires de C5b-9, le complexe d'attaque membranaire.(215) Cette étude récente a également montré que des patients avec des formes très sévères de SAPL et notamment des CAPS, présentaient davantage de variants rares sur les gènes de régulation du complément.(215)

Plusieurs variants rares localisés sur des gènes du complément ont également été mis en évidence dans notre cohorte de patients avec formes sévères de SAPL. Ceux-ci sont discutés dans les paragraphes suivants.

- Variant p.Ser266Leu de *C2*

La fraction C2 du complément correspond à une sérine protéase, surtout impliquée dans la voie classique, mais également dans la voie des lectines. Le variant faux-sens hétérozygote de *C2* retrouvé dans notre cohorte a été rapporté dans les bases de données, avec une fréquence d'environ 1/40000, mais sans description clinique (non rapporté dans ClinVar). L'hypothèse qu'il puisse indirectement être à l'origine de thromboses via une activation inadéquate de la voie classique du complément après un stimulus infectieux ou une intervention chirurgicale (concept du « second hit ») pourrait être discutée.

- Variant c.4350+6G>C de *C3*

Un variant dans le gène *C3* localisé sur une région d'épissage, a été mis en évidence chez un autre patient. Sa fréquence est évaluée à 1/100000 environ dans la population générale. Celui-ci a été rapporté dans ClinVar, notifié comme probablement bénin mais sans information clinique ni validation fonctionnelle. Des valeurs élevées de *C3a* ont été mises en évidence dans le sérum de patients avec SAPL.(82) La fréquence exceptionnellement basse du variant associée au caractère central de *C3* dans l'activation du complément (*C3* convertase à l'interface des 3 voies d'activation) pourrait faire évoquer son implication dans la survenue de la maladie. La mise en évidence d'une augmentation des dépôts de *C5b-9* dans l'endothélium vasculaire, comparé à un autre patient avec SAPL mais sans variant rare impliqué dans le système du complément, pourrait permettre d'égayer l'hypothèse de l'imputabilité de ce variant dans la survenue des manifestations thrombotiques chez ce patient.

- Variants c.3154+2T>A, c.3154+1G>A et c.3154G>A de *C5*

Trois polymorphismes hétérozygotes du gène *C5* localisés sur trois paires de bases contiguës, en limite d'exon, ont été mis en évidence chez un même patient. Ces trois variants ont été rapportés mais sans description clinique associée, et présentent une fréquence inconnue. Le facteur *C5* est impliqué dans la voie finale commune (complexe d'attaque membranaire) mais également via sa fraction *C5a*, dans le recrutement de neutrophiles et d'autres médiateurs de l'inflammation. De la même façon que pour les variants de *C2* et *C3*, une altération fonctionnelle de *C5* pourrait théoriquement contribuer à la rupture de l'homéostasie vasculaire en réponse à un facteur de stress, et constituer un « second hit » induisant la survenue de manifestations thrombotiques graves, chez un patient présentant au préalable une positivité pour les APLs.

DISCUSSION

Les progrès dans la caractérisation du SAPL devront permettre, à terme, d'envisager de nouveaux traitements peut-être plus maniables et surtout plus efficaces qu'une seule anticoagulation au long cours. Cette maladie protéiforme sur les plans clinique et biologique présente des écueils en pratique clinique quotidienne, et reste à l'origine d'une morbi-mortalité importante et de pertes fœtales souvent vécues comme inacceptables au 21^{ème} siècle.

Au cours de cette étude, nous nous sommes attachés à décrire et analyser un sous-groupe de patients présentant les formes les plus sévères de SAPL, associées à une triple positivité pour les auto-anticorps dits « classants ».

La force de notre étude réside dans la relative homogénéité des malades inclus, en termes cliniques (minimum un accident thrombotique, mais souvent thromboses multiples et accidents obstétricaux ; caractère primaire sans connectivite ou cancer associés) et biologique (triple positivité pour les APLs classants, à taux significatif). Ces critères de sélection ont été appliqués de façon stricte afin de restreindre notre analyse à des patients présentant des formes que nous avons qualifiées d'« extrêmes » de SAPL. Par ailleurs, le recrutement a été conduit dans deux centres, ce qui élargit la significativité et la reproductibilité de nos résultats.

Le sex-ratio F:H retrouvé de 1,62 est loin de celui habituellement proposé de 5 dans la littérature, en lien avec une surreprésentation relative de la population masculine au cours des SAPL primaires, en comparaison aux SAPL tout venants comprenant une proportion significative de patientes lupiques.

L'analyse des antécédents thrombotiques des patients de notre cohorte a montré une proportion importante d'accidents veineux et artériels graves. En comparaison avec les 1000 patients de la cohorte Euro-Phospholipid, nos patients ont présenté deux fois plus d'EP et également plus de deux fois plus d'AVC. La survenue d'un CAPS sur 21 patients est également notable quand on connaît la fréquence d'environ 1% habituellement rapportée dans la littérature. Ces chiffres tendent à confirmer une sévérité plus importante de la maladie chez nos patients, en lien avec des critères de sélection stricts et également l'existence d'une triple positivité.

Certains de nos patients présentaient également des facteurs de risque cardio-vasculaires, et notamment une HTA pour cinq d'entre eux. Ce chiffre incluait toutefois les trois patients présentant une atteinte rénale liée au SAPL et donc probablement une HTA secondaire. Les autres patients hypertendus, diabétiques ou dyslipidémiques (6 au total, tous facteurs de risque confondus) présentaient un âge supérieur à 50 ans dans deux tiers des cas, et avaient souvent une durée d'évolution de la maladie de plusieurs décennies, rendant finalement moins probable une imputabilité forte de ces facteurs de risque dans la survenue des accidents thrombotiques graves initiaux.

Pour la sélection des patients à partir des critères biologiques (triple positivité pour les APLs), nous n'avons pas déterminé de titre minimal d'APL mais avons davantage considéré la répétition des dosages positifs et la présence d'une activité ACC à plusieurs reprises, qui a bien été associée au sur-risque thrombotique par de nombreux travaux. En raison de données manquantes au cours de l'analyse, nous n'avons pu évaluer la fréquence des autres APLs dits « non classants », et notamment des anti-PS/-PT qui s'accompagnent également d'une activité ACC et qui à ce titre peuvent présenter une pathogénicité directe. La recherche de la spécificité anti-domaine I des anti- β 2GP1 aurait également été intéressante à déterminer, mais non encore

disponible en routine. Par ailleurs, les APLs d'isotype IgA n'ont pas été recherchés mais leur pathogénicité a surtout été évoquée en association au lupus et moins au cours des SAPL primaires.(26)

Enfin, nous avons choisi arbitrairement de considérer les plus forts titres d'APLs dosés au cours de l'histoire clinique de chaque malade. Sans avoir pu établir d'évolution exacte de ces titres au cours du temps, ceux-ci étaient globalement stables et nous n'avons pas observé de négativation des APLs y compris chez des patients n'ayant pas présenté d'accident thrombotique depuis plusieurs années.

De façon notable, il existait chez 43% des patients de notre cohorte un ou plusieurs antécédents familiaux au premier degré de thrombose (artérielle ou veineuse) ou de manifestations obstétricales. Peu de travaux ont évalué cette donnée chez les patients SAPL mais le travail de Weber et al. en 2002 avait déjà mis en évidence un antécédent familial de thrombose chez 41% des patients interrogés avec SAPL primaire. Toutefois, contrairement à l'étude sus-citée et afin de majorer la significativité des résultats, nous n'avons pris en compte que les antécédents thrombotiques au premier degré, survenant avant 65 ans et sans facteur déclencheur évident (du type contexte néoplasique). La fréquence de ces antécédents familiaux de thrombose chez des apparentés au premier degré de malades avec SAPL pose plusieurs questions, en premier lieu l'existence d'authentiques cas familiaux de SAPL chez les patients avec les formes les plus sévères, en lien avec un terrain génétique commun. Cette propension familiale à la thrombophilie pourrait également s'expliquer par des facteurs plus classiques, comme la transmission d'autres variants de thrombophilie ou encore des facteurs cardio-vasculaires, toxiques ou environnementaux communs. Des analyses complémentaires seraient pour cela nécessaires avec enquêtes familiales approfondies et étude des cas annexes. Toutefois, ces premières constatations devraient inviter les cliniciens à rechercher de façon systématique les

antécédents de thrombose ou de manifestations obstétricales dans l'entourage familial de leurs patients avec SAPL, afin de permettre un diagnostic plus précoce de SAPL apparenté, ou le cas échéant, afin de prendre en charge les comorbidités ou les facteurs environnementaux aggravants.

La puissance de l'étude, et notamment celle de l'analyse génétique, a évidemment été limitée par le faible nombre de patients inclus. Cependant, le caractère homogène et particulièrement sévère des tableaux cliniques maximisait à priori la probabilité de mettre en évidence des variants pathogènes dans l'hypothèse d'une transmission monogénique.

La question de la séparation des patients dans l'analyse selon leur phénotype prédominant sur l'atteinte veineuse ou artérielle aurait également pu être posée, dans une volonté de majorer encore l'homogénéité des malades au sein de la cohorte. En effet, il n'est pas exclu que les voies physiopathologiques ainsi que la susceptibilité génétique sous-jacente soient totalement différentes, de la même manière que les thromboses artérielles et veineuses sont liées à des facteurs de risque bien distincts dans la population générale. Toutefois, ce postulat ne peut expliquer la proportion significative (environ 20%) de patients présentant un phénotype mixte artériel et veineux ; de plus, la séparation encore plus stricte des malades aurait réduit de façon trop importante la puissance de l'étude.

Les analyses en WES sont d'un apport précieux pour l'étude génétique de variants rares et sont de plus en plus couramment utilisées en recherche à l'heure actuelle. Les principaux avantages ont déjà été discutés dans ce travail : analyse de l'ensemble des régions codantes du génome, interprétation plus aisée des résultats car prise en compte de gènes impliqués dans la physiopathologie de la maladie, mise en évidence de variants les plus rares voire de fréquence inconnue, coût bien moindre que l'étude du génome entier (WGS) ou les études GWAS.

Toutefois, cette technique présente encore certains inconvénients, liés à l'absence de couverture des régions non codantes évidemment, mais également de régions codantes notamment dans le cas de réarrangements larges, de variabilité du nombre de copies de la séquence d'intérêt liée à des duplications ou des délétions (CNV, pour *copy number variation*), ou encore de variants localisés sur des séquences riches en GC (guanine / cytosine). Par ailleurs, l'analyse en WES ne permet pas l'étude du génome mitochondrial ni ne renseigne sur d'éventuelles mutations somatiques ou présentant un mosaïcisme. Enfin, la mise en évidence de variants sur certains gènes d'intérêt ne renseigne absolument pas sur l'imputabilité du variant dans le phénotype observé (concept du variant de signification indéterminée, ou VUS pour *variant of uncertain significance*), rendant nécessaire une étude bibliographique soignée pour chaque variant et une confirmation des résultats par des analyses fonctionnelles.

Les variants de thrombophilie « classiques » recherchés en pratique clinique courante (FV Leiden et FII G20210A) semblaient davantage présents au sein de notre cohorte de patients SAPL primaires en comparaison avec la population générale (19% contre 9% ; 9,5% contre 1,25%, respectivement). Toutefois, ces fréquences sont globalement comparables à celles retrouvées au cours d'études portant sur des cohortes de malades avec antécédent de thrombose veineuse. Peu d'études se sont attachées à déterminer une telle association au cours du SAPL et leurs conclusions semblaient jusqu'à présent assez discordantes, possiblement en lien avec la grande hétérogénéité clinique et biologique des malades étudiés.(113) Ces résultats sont importants car ils soulignent l'intérêt de procéder à un bilan de thrombophilie classique chez des patients présentant un SAPL caractérisé, en n'omettant pas la recherche des facteurs de risque habituels qui viennent multiplier le risque d'événement clinique. Ainsi, l'usage de n'importe quelle thérapie immunosuppressive à visée « d'épargne » de l'anticoagulation pourrait se révéler vaine chez un patient avec SAPL présentant par ailleurs une homozygotie

pour le facteur V Leiden, par exemple. Le variant C677T du gène *MTHFR* n'a pas été retrouvé de façon significativement plus fréquente au sein de notre cohorte, de façon concordante avec les données récentes de la littérature qui le considèrent actuellement comme neutre dans le sur-risque thrombotique.

Après tri des variants selon leur type (éviction des variants introniques et synonymes), selon des critères de fréquence, de position dans le génome (région codante) et de couverture satisfaisante, nous avons pu établir une liste de 43 variants potentiellement impliqués dans l'hypothèse d'une transmission monogénique de la maladie.

Alors que notre cohorte présentait une bonne homogénéité sur les plans clinique (SAPL thrombotique primaire) et biologique (triple positivité pour les APLs), nous n'avons pu identifier d'homogénéité nette sur le plan génétique, après recherche de variants rares et codants, localisés sur des gènes impliqués de façon centrale dans l'immunité ou la thrombose. En effet, ces variants étaient localisés sur des gènes retrouvés chez un ou deux patients au maximum et aucun variant « commun » n'a été mis en évidence dans la cohorte.

De façon notable, ces variants étaient situés sur des gènes non encore associés à un sur-risque clair de SAPL par la littérature. Cette discordance apparente peut être expliquée par l'usage d'une méthodologie différente au cours de notre travail, étudiant des « variants candidats » et non des « gènes candidats » jusqu'à présent choisis arbitrairement dans les études. Certes, nous ne sommes pas en mesure de déterminer, pour chaque variant, un excès de risque statistique, en raison de la petite taille de la cohorte et surtout de l'extrême rareté des variants retrouvés. Cependant, la mise en évidence de variants rarissimes sur des gènes directement impliqués dans la physiopathologie du SAPL ou dans d'autres désordres de l'immunité permet de considérer leur imputabilité de façon individuelle dans la survenue de la maladie, à la différence des

variants retrouvés dans d'autres études sur gène candidat, portant des ORs exceptionnellement supérieurs à 10, en général inférieurs à 5. Par ailleurs, la sélection de nos patients a été originale en raison de la gravité des malades inclus et de l'homogénéité des tableaux cliniques et biologiques, pouvant également expliquer les discordances avec les études antérieures. Il n'est toutefois pas exclu que l'absence de mise en évidence dans notre étude de variants déjà associés au SAPL dans la littérature soit en lien avec sa faible puissance.

La majeure partie des variants rares sélectionnés était localisée sur des gènes impliqués dans des désordres de l'immunité, en premier lieu le LES et certains déficits immunitaires. Vingt-quatre d'entre eux (55%) correspondaient à des gènes impliqués dans l'immunité adaptative, faisant évoquer leur rôle dans la rupture de tolérance au cours d'une maladie médiée par des auto-anticorps. Dix-neuf variants (43%, valeurs non mutuellement exclusives) étaient localisés sur des gènes impliqués dans l'immunité innée et concernaient notamment le système du complément, la réponse TLR et la voie NFκB. Une plus petite proportion des gènes retrouvés était impliquée dans l'hémostase (14% seulement).

Plusieurs variants rares et au potentiel pathogène étaient situés sur la voie de signalisation PI3K / AKT / mTOR. En premier lieu, un variant hétérozygote faux-sens de *PTEN* a été mis en évidence chez le patient avec antécédent familial au premier degré de SAPL chez son père ; celui-ci présentait le même variant ce qui renforce l'hypothèse de son imputabilité. Par ailleurs, un variant non-sens de *PIK3CD* a été retrouvé, également à l'état hétérozygote, non rapporté dans la littérature mais à potentiel délétère d'après les scores prédictifs. Il a été montré que des variants perte de fonction de *PTEN* pouvaient être associés à une auto-immunité, au même titre que des variants gain de fonction de *PIK3CD*. Enfin, un variant de *MTOR* localisé sur une

région d'épissage (responsable de conséquences peu prévisibles sur la protéine traduite) et un variant de *PIK3CG* ont également été mis en évidence dans la cohorte.

L'implication de cette voie de signalisation dans le maintien de la tolérance immunitaire est établie, avec des effets sur la tolérance centrale et sur la tolérance périphérique.(216) Ainsi, la rapamycine, inhibiteur direct de mTOR, est couramment utilisée dans la prévention des rejets de greffe d'organe mais également au cours de certaines manifestations auto-immunes, incluant les cytopénies associées aux syndromes ALPS, et son intérêt a été évoqué de façon plus récente au cours du lupus.(217) De façon intéressante, Canaud et al. ont montré que des IgG anti-phospholipides issus de sujets SAPL étaient capables d'activer mTOR via la voie PI3K / AKT, et qu'un traitement par rapamycine permettait de prévenir l'acquisition de lésions vasculaires chez des patients greffés rénaux pour une néphropathie induite par le SAPL. Le mécanisme par lequel l'activation de cette voie de signalisation entraîne la thrombose reste peu clair ; la stimulation des cellules endothéliales par les APLs, via PI3K, pourrait conduire en une prolifération cellulaire entraînant une hypertrophie néo-intimale réduisant le calibre vasculaire, ou encore une activation de ces dernières stimulant la formation du thrombus. Dans le cas rapporté par Rodriguez-Garcia et al., décrivant une jeune fille avec syndrome malformatif grave associé à un variant gain de fonction de *MTOR*, et présentant des lésions vasculaires d'allure ischémique en lien avec un SAPL, il était objectivé de la même façon une activation constitutive et anormale de la voie PI3K / AKT / mTOR.

Ainsi, ces variants rares retrouvés au sein de la cohorte, et notamment ceux affectant *PTEN* (potentiellement responsable d'un SAPL de transmission dominante), *PIK3CD* et *MTOR*, mériteraient des analyses complémentaires, dans un premier temps une validation par séquençage Sanger. Par ailleurs, nous pourrions envisager la réalisation d'analyses fonctionnelles afin de confirmer, chez nos patients, une éventuelle hyper-activation directe des cellules endothéliales après stimulation par des APLs, ou encore une activation ou une

prolifération accrue des lymphocytes B en lien avec une hyper-expression de la voie PI3K / AKT / mTOR. En cas d'argument fort pour l'implication de ces variants dans le phénotype des patients, un traitement par inhibiteur de mTOR pourrait être envisagé dans ces cas sélectionnés.

Plusieurs autres variants ont été mis en évidence sur des gènes impliqués dans la réponse NFκB, incluant en premier lieu deux variants de NEMO (*IKBKG*), mais également des variants de gènes impliqués dans la cascade de signalisation menant à l'expression de NFκB (*DDRGK1*, *IRAK1*, *CARD11*). Cette voie de signalisation est impliquée dans la réponse au stress cellulaire et présente un rôle central au cours de la réponse immunitaire innée et adaptative. Le rôle de NFκB est également bien démontré au cours des processus thrombotiques ; son activation au sein des cellules endothéliales induit l'expression de molécules d'adhésion et l'induction d'un phénotype pro-thrombogène.(218) Plusieurs travaux ont montré la capacité des anti-β2GP1 à activer les cellules endothéliales et induire l'expression du facteur tissulaire pro-thrombogène (impliquant la translocation de NFκB). Un inhibiteur de NFκB, utilisé chez un modèle murin, a montré une efficacité dans la prévention des thromboses induites par la perfusion d'APLs.(219) Une validation fonctionnelle de ces variants serait intéressante sur le plan mécanistique, mais l'hypothèse d'un blocage sélectif de NFκB semble toutefois difficilement envisageable chez l'homme quand on considère son rôle central dans l'immunité.

Deux variants de *RAG2* à l'état hétérozygote ont été mis en évidence dans la cohorte. Les déficits immunitaires combinés associés à des variants de *RAG2* sont associés à des mutations bi-alléliques. Toutefois, une étude récente a évoqué le rôle d'un variant hétérozygote dans la survenue de manifestations auto-immunes, en lien avec un défaut de réarrangement du locus IGK chez le patient atteint. Cette hypothèse est intéressante et pourrait expliquer la rupture de tolérance associée à la survenue du SAPL chez nos patients, chez qui l'étude de l'édition des

récepteurs B pourrait tout à fait être envisagée dans un second temps. Toutefois, une lymphopénie avait été mise en évidence chez le malade lupique de l'étude sus-citée, à l'inverse de nos deux patients qui présentaient une numération lymphocytaire normale.

Le variant non-sens de *TNFRSF13B* rapporté pathogène dans ClinVar doit également être considéré car ce gène a été impliqué dans de nombreux cas de DICV avec auto-immunité en cas de défaut mono-allélique. Ces variants hétérozygotes seraient capables d'induire une rupture de tolérance périphérique en lien avec un excès de BAFF circulant et des anomalies des T régulateurs. L'implication de cette voie n'a pas encore été décrite au cours du SAPL mais pourrait facilement s'envisager par analogie au LES, une maladie impliquant une réponse humorale anormale en lien avec des auto-anticorps directement pathogènes. Dans un premier temps, la recherche d'une augmentation des taux sériques de BAFF pourrait être envisagée chez le malade présentant ce variant avant d'envisager sa validation fonctionnelle.

Enfin, nous avons mis en évidence plusieurs variants rares au sein du système du complément, impliquant C2, C3 et C5 ; ces trois patients de notre cohorte présentant un SAPL artériel. Ces résultats sont concordants avec ceux de Chaturvedi et al., qui ont récemment montré, chez des malades sévères ayant présenté un CAPS, un enrichissement en variants rares portant sur des gènes régulateurs du complément. De façon intéressante, notre patient présentant le variant de C2 présente également une consommation chronique du complément, ce qui pourrait faire évoquer une activation anormale de la voie classique à l'état basal, à l'origine d'un sur-risque thrombotique peut-être en cas de stress additionnel comme un contexte infectieux ou péri-opératoire. L'étude plus précise de l'activation du complément chez ces patients pourrait se révéler intéressante, avec comme possibilité thérapeutique potentielle, l'utilisation d'un bloqueur du complément au moment des épisodes sévères.

La mise en évidence de ces 43 variants rares est intéressante en cela qu'ils sont largement impliqués dans des voies de signalisation centrales dans l'organisation de la réponse immune. La surreprésentation de gènes impliqués dans l'immunité adaptative est en adéquation avec l'hypothèse d'une maladie à médiation humorale, en lien direct avec la production d'auto-anticorps pathogènes. La nécessité d'au moins deux événements, l'un induisant une rupture de tolérance, l'autre précipitant la survenue d'une thrombose en présence d'auto-anticorps pathogènes, est largement admise au cours du SAPL ; ce modèle se réfère à la théorie du « two-hits ». Si celle-ci est applicable à l'échelle individuelle, notre étude évoque l'intervention potentielle de la génétique à des niveaux multiples, et ce de façon non exhaustive :

- Tolérance centrale et édition du BCR (*RAG2*, *PTEN*) ;
- Tolérance B périphérique incluant la réponse T-indépendante via BAFF / TACI et la réponse T-dépendante faisant intervenir la présentation antigénique dépendante du système HLA de type II ;
- Modulation directe de l'activation et de la prolifération du lymphocyte B (PI3K / AKT / mTOR, NFκB) ;
- Modulation des réponses intra-cellulaires (cellules hématopoïétiques ou non-hématopoïétiques) après interaction directe avec les APLs (PI3K / AKT / mTOR, NFκB) ;
- Modulation du système du complément pro-inflammatoire et pro-thrombogène (C2, C3, C4) ;
- Implication de facteurs de risque additionnels de thrombophilie (FII G20210A, FV Leiden).

Toutefois, la caractérisation génétique de cette cohorte est préliminaire. Elle devra être complétée par une validation des variants rares obtenus par séquençage Sanger, qui reste nécessaire malgré les progrès réalisés dans les techniques de séquençage haut débit.

Par ailleurs, l'étude des cas familiaux n'a pour l'instant porté que sur l'un des apparentés malades d'un patient de la cohorte. Cette approche familiale avec une analyse dite « en trio » est requise au cours des maladies suspectes d'une part significative d'héritabilité génétique.

Enfin, des analyses fonctionnelles seront également indispensables afin d'affirmer le caractère pathogène de chaque variant. Celles-ci devront être envisagées de façon individuelle en fonction du niveau de suspicion apporté par les analyses sus-citées (fréquence et type du variant isolé, caractère pathogène, ségrégation familiale, hypothèse physiopathologique).

Une autre approche potentielle pour l'étude des facteurs génétiques de susceptibilité au SAPL réside dans la recherche d'un enrichissement en variants portant sur des gènes d'intérêt au sein de notre cohorte. Cette analyse est en cours, et permettra de répondre à la question d'une éventuelle surreprésentation de ces variants localisés sur des gènes associés à de l'auto-immunité ou à des déficits immunitaires. Pour cela, le panel DIPAI sera utilisé, correspondant à un panel local regroupant environ 400 gènes impliqués dans l'auto-immunité et les déficits immunitaires.

Un dernier niveau d'analyse pourra correspondre à une analyse par « pathway », dont le but sera de mettre en évidence, au sein de notre cohorte, une éventuelle surreprésentation de variants au sein de certaines voies de signalisation d'intérêt.

Il serait intéressant d'imaginer dans un futur proche l'existence d'un panel de variants qu'il soit possible de rechercher de façon systématique chez un patient (par exemple via des techniques de NGS), pouvant dans un second temps orienter le choix d'un éventuel traitement ciblé. La caractérisation toujours plus précise de la maladie à l'échelle d'un ou de quelques malades permettra d'appréhender l'ensemble des variations interindividuelles, trop souvent masquées ou omises dans les études de cohorte. La progression dans la connaissance de l'aspect génétique du SAPL, aussi important soit-il, est un prérequis indispensable au développement d'une médecine centrée sur le patient.

CONCLUSION

Le SAPL reste, à l'heure actuelle, une maladie auto-immune grave associée à une rupture de tolérance responsable de la production d'auto-anticorps pathogènes, pour laquelle il n'existe pas de traitement spécifique. Les rares descriptions de cas familiaux et de formes monogéniques de la maladie font évoquer l'existence d'un déterminisme génétique plus fort dans certaines présentations « extrêmes » de la maladie. L'objectif de notre étude a été d'identifier et de caractériser les variants impliqués dans la survenue de ces formes sévères, à partir d'une cohorte de 21 patients présentant un SAPL thrombotique primaire et triple positif. En plus de confirmer la sévérité des tableaux cliniques et biologiques, nous avons identifié une forte proportion de patients avec des antécédents de thrombose au premier degré, incluant deux cas de SAPL familiaux avérés. Dans l'hypothèse d'une maladie multifactorielle et polygénique, nous avons dans un premier temps déterminé la fréquence des principaux variants de thrombophilie recherchés en pratique courante et avons montré une fréquence plus importante du facteur V Leiden et du variant G20210A du gène *F2* chez nos patients SAPL, en comparaison à la population générale. Ces résultats impliquent, pour le clinicien, l'importance de la réalisation d'un bilan de thrombophilie complet chez les patients avec SAPL. Grâce à un séquençage complet de l'exome de chaque patient, nous avons dans un second temps identifié 43 variants rares pouvant individuellement être en cause dans la survenue de la maladie. Ceux-ci concernent en majorité des gènes impliqués dans la réponse immune adaptative. Si nous n'avons pu identifier de mutations partagées de façon transversale par tous les patients atteints de formes homogènes et sévères de SAPL primaires, nous avons pu mettre en évidence certains variants rares présents de façon ponctuelle dans des voies physiopathologiques d'intérêt. Ainsi, l'identification d'un variant de *PTEN* de transmission autosomique dominante, impliqué dans un cas de SAPL familial objectivé, ainsi que de *PIK3CD*, *MTOR* et *PIK3CG* renforcent la

suspicion de l'implication de la voie de signalisation PI3K / AKT / mTOR dans la maladie, déjà évoquée par plusieurs travaux sur la base d'hypothèses physiopathologiques. D'autres variants potentiellement impliqués ont été mis en évidence sur le gène *NEMO*, régulateur central du facteur de transcription NFκB, sur *RAG2*, impliqué dans la tolérance immunitaire via des mécanismes d'édition du récepteur B, ainsi que sur *TACI*, codant pour le récepteur de la cytokine BAFF, impliquée dans la réponse B extra-folliculaire. Nos résultats devront bien sûr être validés, d'abord par la confirmation des variants obtenus, puis éventuellement par des analyses fonctionnelles. Ainsi, la caractérisation précise des patients sur le plan génétique pourra permettre d'évoquer les mécanismes physiopathologiques impliqués à l'échelle individuelle, afin d'envisager des alternatives thérapeutiques personnalisées.

Vu

Le 08 Avril 2022 à Strasbourg,

Me La Présidente du Jury

Professeure Anne-Sophie KORGANOW
Professeure A.S. KORGANOW
 HOPITAUX UNIVERSITAIRES DE STRASBOURG
 Nouvel Hôpital Civil
 Service d'Immunologie Clinique et Médecine Interne
 Tél. : 03 69 55 05 21 - Fax : 03 69 55 18 35
 Email : anne-sophie.korganow@chru-strasbourg.fr
 N° RPPS : 10002434040

Vu et approuvé

Strasbourg, 14 AVR. 2022

Le Doyen de la Faculté de Médecine, Maïeutique et Sciences de la Santé

Pr Jean SIBILIA



ANNEXES

Annexe 1 : *Description clinique des patients de la cohorte APL-gène (non mentionnés dans la Préface).*

i. Patient 1

Mr. S.S., né en 1961, était adressé en consultation dans notre centre pour une suspicion de SAPL primaire évoqué au décours d'une TVP proximale du membre inférieur gauche compliquée plusieurs semaines plus tard d'une EP, début 2015. Il s'y associait en effet une triple positivité pour les APL avec un ACC positif ainsi qu'une positivité des aCL et des anti- β 2GP1 avec des anticorps d'isotype IgG, à taux élevés respectivement à 312 et 107 GPL sur la dernière période de 3 ans de suivi.

Il existait également des AAN à titre élevé 1/1280^{ème}, associés à des IgM anti-DNA isolés sans traduction clinique, n'offrant pas d'argument pour un LES associé.

Par ailleurs devant des troubles cognitifs et comportementaux marqués et après avis neurologique, il était suspecté une démence lobaire fronto-temporale (rires immotivés, agressivité à l'égard de l'épouse, difficultés de réalisation des tâches imposées par son activité professionnelle).

La scintigraphie cérébrale objectivait une hypoperfusion temporale interne bilatérale. L'IRM cérébrale montrait une atrophie cortico-sous-corticale marquée sans prédominance lobaire. Il n'existait pas d'argument pour une atteinte inflammatoire du SNC, la ponction lombaire étant sans particularité, et les anticorps anti-neurones négatifs. Une implication du SAPL dans la symptomatologie neurologique était fortement suspectée, motivant la décision de ne poursuivre qu'une anticoagulation curative au long cours sans y adjoindre d'immunosuppression.

ii. Patient 2

Mme Ha.C., née en 1958, présentait un SAPL primaire découvert dans les années 1990, à la suite d'un infarctus splénique avec antécédent de deux morts fœtales in utero, associées à la positivité répétée d'IgM aCL et anti- β 2GP1 (114 et 126 MPL au maximum). Il n'y avait pas d'ACC mais on notait une hypogammaglobulinémie symptomatique autour de 5 g/L, avec baisse des IgG et des IgA totales, compliquée d'infections pulmonaires à répétition ayant motivé une substitution en immunoglobulines polyvalentes à partir de 2016. La même année, au cours d'une hospitalisation pour pneumopathie infectieuse, était découverte une EP bilatérale justifiant l'introduction d'un traitement par AVK.

Il n'existait aucun argument pour une connectivite associée, et le reste du bilan auto-immun, notamment les AAN, était négatif.

L'évolution était marquée par une aggravation sur le plan respiratoire, en lien avec une BPCO post-tabagique, une aspergillose broncho-pulmonaire allergique et un asthme hyperéosinophilique pour lequel était débutée une biothérapie anti-IL5 (mépilizumab), poursuivie à l'heure actuelle. Sous anticoagulation curative, il n'était pour l'heure pas noté de récurrence thrombotique.

iii. Patient 3

Mr. S.M., né en 1956, présentait des facteurs de risque cardio-vasculaires classiques, associant hypertension artérielle (HTA), dyslipidémie, diabète de type 2 et surcharge pondérale. Par ailleurs il avait présenté à l'âge adulte de multiples épisodes de TVP ainsi qu'une EP et un syndrome post-phlébitique marqué avec des ulcères veineux des membres inférieurs, qui

associés à une triple positivité pour les APL, et sans argument pour une auto-immunité associée, avait conduit au diagnostic de SAPL primaire et indiqué une anticoagulation curative.

Sur le plan biologique l'ACC était positif, les taux d'IgG aCL et d'IgG anti-B2GP1 étaient très élevés, respectivement 3253 et 2020 GPL, associés à des IgG anti-PS à 734 et anti-PE à 250 GPL. Les AAN étaient titrés au 1/160^{ème}, considérés non significatifs.

En 2017, il était hospitalisé en réanimation pour un choc septique à germes cutanés (ulcères veineux persistants). L'évolution en réanimation puis dans notre service après amélioration sur le plan infectieux était marquée par une récurrence de nouvelles TVP, une élévation de la troponinémie avec dysfonction ventriculaire droite échographique (coronarographie réalisée objectivant des lésions non significatives indiquant un traitement médical seul, signant une atteinte microvasculaire probable du SAPL), une insuffisance surrénalienne aiguë sur atteinte suspectée du SAPL également (malgré une absence de thrombose objectivable, ni d'hémorragie), ainsi qu'une nécrose humide de trois orteils du membre inférieur droit sur anévrisme poplité. Une anti-agrégation plaquettaire était ajoutée au long cours au traitement anticoagulant.

Il présentait une récurrence de choc septique avec une nouvelle hospitalisation en réanimation dans un autre centre, avec part cardiogénique sur une insuffisance cardiaque d'aggravation progressive (dernière évaluation de la fraction d'éjection à 30%). En raison d'une ischémie critique du membre inférieur droit (emboles sur anévrisme poplité), une amputation trans-fémorale était finalement nécessaire.

iv. Patient 4

Mr. B.S., né en 1974, consultait dans notre centre pour la découverte d'une biologie anti-phospholipide avec triple positivité : ACC, IgG et IgM aCL à taux élevés à 178 MPL et 82

GPL, IgM et IgG anti- β 2GP1 à 91 MPL et 171 GPL, IgG anti-PS à 65 GPL, ainsi que IgG anti-PE à 86 GPL. Cliniquement, le patient présentait des céphalées jusqu'à présent sans étiologie retrouvée ainsi qu'un syndrome anxio-dépressif. On notait un C4 bas isolé, mais le reste de l'exploration du complément était normal, et les AAN étaient négatifs. Le bilan de thrombophilie montrait une résistance à la protéine C activée (RCPA) en lien avec une mutation hétérozygote du facteur V Leiden.

Une scintigraphie cérébrale était réalisée, retrouvant une anomalie de perfusion au niveau temporo-insulaire droit. Devant une suspicion de céphalée secondaire à la biologie anti-phospholipide, une anticoagulation était débutée, permettant une franche amélioration des symptômes douloureux en lien direct avec le chiffre d'INR sous AVK.

L'évolution était marquée au cours du suivi par l'apparition de lésions d'allure vasculaire à l'IRM, sous anticoagulation, motivant la majoration de l'INR cible à 3,5.

Par ailleurs le patient présentait en 2018, sur un pet-scanner réalisé en raison d'une altération de l'état général avec perte de poids, des ganglions médiastinaux évocateurs de sarcoïdose, confirmée par une biopsie. Une corticothérapie était initiée, à doses rapidement régressives devant une absence d'amélioration sur le plan général et la persistance d'une symptomatologie neurologique atypique, mal caractérisable, associant des troubles cognitifs, des signes évoquant un trouble obsessionnel compulsif, une anxiété marquée.

Au cours de l'évolution il était également noté l'apparition de troubles urinaires d'origine suspectée neurologique avec un résidu post-mictionnel marqué, sans explication évidente.

v. Patient 5

Mme B.M., née en 1988, était adressée dans notre centre pour avis après un épisode de TVP compliquée d'EP en 2017. Le bilan retrouvait un ACC positif et reconstrôlé à plusieurs reprises,

un taux très élevé d'IgG aCL à 1078 GPL, des IgM aCL à 22 MPL, ainsi que des IgG anti- β 2GP1 à 58 GPL et des anti-PS à 36 GPL au maximum, signant un SAPL primitif avec triple positivité pour les APL, motivant l'introduction d'une anticoagulation curative. A noter une absence d'argument pour une connectivite associée malgré la présence d'AAN à titre significatif au 1/640^{ème} sans spécificité. Le reste du bilan de thrombophilie était réalisé, négatif. En 2019, elle présentait une fausse couche tardive avec perte fœtale à 15 SA malgré le relais de l'anticoagulation curative par HBPM. Le lendemain, alors qu'elle était hospitalisée en gynécologie, survenait une perte brutale d'acuité visuelle faisant diagnostiquer une oblitération de l'artère centrale de la rétine associée à une atteinte veineuse, présumée secondaire à la présence d'un foramen ovale perméable massif (possible TVP mais non retrouvée en échographie).

Après discussion avec les cardiologues, une fermeture du FOP était programmée. Une anti-agrégation plaquettaire était ajoutée à l'anticoagulation (et l'INR cible majoré) à l'issue de l'hospitalisation devant la récurrence de thrombose sous traitement efficace.

vi. Patient 6

Voir préface, Partie I. 2.

vii. Patient 7

Mme M.C., née en 1968, avait présenté en 1990 une perte fœtale tardive (à 6 mois et demi de grossesse) avec à l'examen anatomopathologique du placenta, des stigmates franches d'infarctus. En post-partum immédiat elle avait présenté une thrombose artérielle du membre inférieur gauche traitée par embolectomie à la sonde de Fogarty. Le tableau avait fait découvrir

une positivité pour les APLs, signant un SAPL thrombotique et obstétrical. Une anticoagulation curative avait été poursuivie au long cours, avec relais par héparine au cours de deux grossesses postérieures s'étant déroulées jusqu'au terme, sans complication. La patiente n'avait pas présenté de nouvel accident thrombotique au cours de sa vie, ni d'autre atteinte d'organe clinique ou biologique évoquant une complication du SAPL ou une connectivite associée.

Elle faisait état d'un antécédent de SAPL obstétrical confirmé chez sa sœur, suivie dans le même centre.

viii. Patient 8

Mme C.H., née en 1980, présentait un SAPL primaire diagnostiqué à l'occasion d'un bilan de lésions cutanées évocatrices d'un livédo. A noter, un antécédent de fausse couche et une naissance à terme non compliquée, des migraines cataméniales, une thrombopénie d'allure périphérique et une HTA. La patiente présentait, alors en cours de troisième grossesse (fin de premier trimestre), un AVC constitué de l'artère sylvienne superficielle droite, traité par thrombolyse en urgence. Il s'ensuivait une MFIU en lien avec un retard de croissance intra-utérin sévère et elle gardait par la suite une discrète séquelle motrice (paralysie faciale centrale gauche et déficit moteur résiduel du membre supérieur gauche). L'épisode faisait découvrir un SAPL thrombotique et obstétrical primaire, avec une atteinte rénale spécifique du SAPL diagnostiquée quelques années plus tard (profil compatible mais pas de ponction biopsie rénale réalisée). Par ailleurs, une discrète dystrophie de la valve mitrale faisait suspecter une endocardite de Libman-Sacks associée, en plus du livédo déjà décrit. Biologiquement, elle présentait une triple positivité pour les APL (ACC, IgG aCL à 54 GPL et IgG anti- β 2GP1 élevés à 233 GPL). Il n'existait pas d'argument pour un LES associé, les AAN étaient négatifs de

façon répétée mais il existait biologiquement une cryoglobulinémie de type III, la persistance d'une thrombopénie d'allure auto-immune, une consommation régulière du complément, ainsi qu'un test de Coombs positif de façon inconstante sans anémie.

ix. Patient 9

Mme B.P., née en 1961, présentait depuis l'adolescence une thrombopénie périphérique associée à une thyroïdite auto-immune avec hypothyroïdie supplémentée et des stigmates biologiques d'auto-immunité (AAN positifs avec anticorps anti-TPO). Il existait également un ACC associé à des IgG aCL à fort titre (280 GPL).

En 2016 elle était hospitalisée en unité neuro-vasculaire devant la survenue d'un AVC sylvien droit superficiel et profond, duquel elle gardait des troubles cognitifs invalidants (troubles des fonctions exécutives et trouble attentionnel, syndrome dépressif avec anxiété marquée). Une anticoagulation curative était initiée.

Elle était adressée dans notre centre pour la suite du suivi. Le contexte clinique ainsi que le bilan biologique en cours d'hospitalisation puis au cours des consultations suivantes faisait évoquer un SAPL primaire avec une triple positivité pour les APL (ACC et IgG aCL contrôlés positifs, IgG anti-β2GP1 positifs également à 118 GPL). Il n'existait pas d'argument pour un LES associé. Les AAN étaient positifs au 1/320^{ème}, sans spécificité.

Elle faisait état d'antécédents familiaux multiples de thrombose, avec un AVC ischémique chez la mère (mais survenu à 65 ans), une embolie pulmonaire chez le père et une TVP chez la sœur.

x. Patient 10

Voir préface, Partie I. 1.

xi. Patient 11

Mme K.A., née en 1985, présentait une triple positivité pour les APLs, découverte fortuitement au décours d'un bilan pré-anesthésique devant un TCA spontanément allongé. L'ACC était positif ainsi que des IgG aCL à 180 GPL, des IgG anti-β2GP1 à 135 GPL, et des IgG anti-PS et anti-PE à 99 et 37 GPL. Il existait également une positivité des AAN au 1/640^{ème} avec présence d'anti-SSA à taux faible, mais cliniquement aucun argument pour une connectivité associée, ni LES ni syndrome de Sjögren.

Une anti-agrégation plaquettaire était débutée en raison d'un profil à haut risque de thrombose. Quelques mois plus tard survenait une TVP suro-poplitée droite compliquée d'embolie pulmonaire, après laquelle une anticoagulation par AVK était débutée.

xii. Patient 12

Mr Z.L., né en 1978, présentait une HTA ancienne diagnostiquée à l'âge de 25 ans. A 35 ans il présentait une TVP, récidivant après l'arrêt de l'anticoagulation et compliquée la deuxième fois d'une EP, motivant la poursuite d'un traitement par Xarelto au long cours. Trois ans plus tard, un suivi neurologique était débuté en raison d'un tableau évoquant une épilepsie-absences avec une crise tonico-clonique généralisée motivant l'introduction complémentaire d'un traitement par Keppra. A noter par ailleurs sur le plan clinique, des céphalées intermittentes avec sensations vertigineuses. L'IRM cérébrale objectivait alors une séquelle frontale droite et plusieurs séquelles cérébelleuses gauches d'allure vasculaires. Dans le bilan, une ETT était réalisée et montrait un aspect typique d'endocardite de Libman-Sacks sur la valve mitrale avec une insuffisance mitrale. Finalement, outre un variant C677T du gène *MTHFR*, une triple

positivité pour les APL était découverte (ACC, IgG aCL et anti- β 2GP1 > 120 et > 100 GPL respectivement), signant un SAPL primaire en l'absence d'argument clinico-biologique pour une connectivite associée. A noter également, une discrète thrombopénie d'allure périphérique. L'anticoagulation était relayée par des AVK avec poursuite d'un suivi multidisciplinaire, sans autre complication jusqu'à présent.

xiii. Patient 13

Mr. L.Al., né en 1992, était adressé en consultation d'hémostase en 2014, à l'âge de 22 ans, en raison de l'association de deux épisodes de TVP distale des membres inférieurs (dont une seulement provoquée par une station assise très prolongée), et biologiquement, l'existence d'une positivité de l'ACC associé à des aCL d'isotype IgG, à titre d'abord faible. Il n'existait aucun antécédent notable, et cliniquement aucun argument pour une maladie auto-immune associée.

On notait lors des différents contrôles en consultation une majoration progressive du taux des IgG aCL jusqu'à 90 GPL, ainsi que l'apparition d'IgG anti- β 2GP1, réalisant ainsi une triple positivité pour les APLs. A noter également, l'existence d'IgG anti-PS. Les AAN étaient positifs, sans spécificité, au 1/320^{ème}.

Devant le diagnostic de SAPL primitif dit « triple positif », une anticoagulation curative était débutée permettant une absence de récurrence de thrombose jusqu'alors.

Sa sœur, Mme. L.Au. née en 1988, ne présentait pour sa part aucune symptomatologie et notamment pas d'histoire de thrombose. Toutefois il existait une positivité d'IgG aCL et un anticorps anti-PE, à titre modéré, découverts de façon fortuite. Par ailleurs, on notait une positivité des AAN avec un titre élevé à 1/1280^{ème} sans spécificité, associée à une discrète

thrombopénie autour de 120G/L de façon répétée ainsi que périodiquement, une neutropénie autour de 1,5G/L.

Un suivi clinique simple était proposé sans intervention thérapeutique.

Leur mère, Mme L.C. née en 1960, était adressée en consultation dans notre centre en 2016 au vu du contexte familial, après la survenue d'une thrombose de la veine centrale de la rétine. Il n'existait aucun autre antécédent, notamment pas d'autre thrombose, pas de tabagisme, mais présentait un phénomène de Raynaud. Biologiquement, on ne notait pas d'APL mais des AAN positifs au 1/1280^{ème} sans spécificité. Le bilan de thrombophilie était négatif.

En raison d'une absence d'argument pour un SAPL, une anti-agrégation plaquettaire seule était poursuivie, associée à un suivi clinique simple.

A noter chez la mère et la fille, un C4 isolément bas, pouvant faire évoquer un polymorphisme génétique dans ce contexte.

xiv. Patient 14

Mme M.A., née en 1980, était suivie depuis son adolescence pour un retard staturo-pondéral et pubertaire ayant fait découvrir un syndrome de Turner avec un caryotype 45,XO en mosaïque (70%).

En 2013 elle présentait un AVC ischémique dans le territoire de l'artère cérébrale moyenne gauche ; le traitement consistait en une thrombolyse IV à l'admission permettant une résolution complète des symptômes neurologiques observés à l'admission (paralysie faciale centrale droite et dysarthrie). Le bilan étiologique mettait en évidence un SAPL primaire devant un ACC positif associé à des IgG aCL et anti-β2GP1 à taux élevé, respectivement 128 et 120 GPL au cours du suivi. A noter également la présence d'IgG anti-PS (50 GPL) et anti-PE (137 GPL).

Les AAN étaient positifs à titre non significatif, il n'existait aucun argument pour une connectivité associée.

Une anticoagulation curative était initiée et maintenue permettant une absence de récurrence d'événement thrombotique.

En interrogeant sur les antécédents familiaux, la patiente mentionnait des infarctus du myocarde précoces chez le père, l'oncle et le cousin.

xv. Patient 15

Mme P.I., née en 1961, était suivie dans notre centre pour un SAPL primaire avec double positivité (ACC positif de façon répétée et présence d'aCL d'isotype IgG à 99 GPL et IgM à 16 MPL), compliqué d'une atteinte sévère obstétricale (trois fausses couches précoces et deux MFIU à 25 et 29 SA, une pré-éclampsie nécessitant une césarienne à 31 SA) et veineuse (antécédent de TVP compliquée d'EP). Les AAN étaient positifs à 1/1280^{ème} sans spécificité, et sans traduction clinique (pas d'argument pour un LES).

Elle présentait en août 2018 un syndrome catastrophique des anti-phospholipides (CAPS) avec atteinte cutanée (purpura sur vasculopathie thrombosante), surrénalienne (nécrose hémorragique des surrénales sur thrombose veineuse bilatérale des veines surrénaliennes) et myocardique par atteinte microvasculaire (élévation de la troponinémie au cours de l'épisode, avec coronarographie normale réalisée quelques semaines plus tard). L'évolution clinique était finalement favorable et la patiente rentrait à domicile.

L'anticoagulation était poursuivie mais la patiente décédait quelques années plus tard, dans des circonstances indéterminées.

xvi. Patient 16

Mme A.S., née en 1991, présentait une obésité morbide associée à des antécédents de TVP de la jambe gauche compliquée d'une EP à l'âge de 17 ans, dans un contexte d'introduction d'une contraception oestro-progestative, avec récurrence de TVP controlatérale à l'arrêt de l'anticoagulation. On notait également un antécédent d'EP chez son frère. Le bilan étiologique objectivait un ACC associé à la positivité d'IgG aCL et d'IgG anti- β 2GP1 (54 et 22 GPL respectivement) ainsi que des IgM aCL (27 MPL) et une positivité d'un IgG anti-PS, réalisant un SAPL primaire triple positif. Le reste du bilan de thrombophilie était négatif. Les AAN étaient négatifs, il n'existait aucun argument pour une connectivité associée.

Une chirurgie bariatrique était réalisée en 2013, avec survenue d'une thrombopénie post-opératoire ayant fait suspecter une thrombopénie induite par l'héparine, non confirmée (recherche d'anticorps anti-PF4 négative).

Par la suite et malgré la poursuite d'une anticoagulation curative par AVK avec relais par Orgaran au cours de deux grossesses successives, associée à une perte de poids significative après le by-pass gastrique, elle présentait deux épisodes de fausse couche spontanée précoce évoquant un SAPL primaire avec phénotype mixte veineux et obstétrical.

xvii. Patient 17

Mme V.M-C., née en 1957, avait présenté successivement deux morts fœtales in utero (MFIU) au cours de sa vingtaine, respectivement à 5 et 9 mois de grossesse. Quelques jours après la deuxième perte fœtale, elle avait présenté une thrombose veineuse cérébrale compliquée d'hémiplégie droite dont elle n'avait gardé aucune séquelle. Devant la positivité d'un ACC de type anti-prothrombinase, il était conclu à un SAPL primaire obstétrical. Au cours du suivi, on

notait la positivité d'IgG aCL et anti- β 2GP1 à 77 et 104 GPL, respectivement. Il n'existait aucun argument pour une connectivite associée, les AAN étaient positifs à titre non significatif (1/160^{ème}). La patiente ne présentait pas de récurrence de thrombose sous anticoagulation curative au long cours.

De façon intéressante, elle signalait au cours du suivi des antécédents familiaux thrombotiques et obstétricaux chargés puisque 3 de ses 4 sœurs avaient également présenté des MFIU ainsi que pour certaines, des TVP spontanées (leur statut vis-à-vis d'une éventuelle positivité des APLs n'était toutefois pas connu).

xviii. Patient 18

Mme D.E., née en 1987, avait comme principal antécédent une EP consécutive à une TVP survenue en 2007. Elle présentait également un syndrome de Raynaud ainsi qu'un tabagisme actif et une consommation régulière de cannabis. L'examen clinique notait un livédo racemosa ainsi que des lésions cutanées livédoïdes au niveau des deux jambes. En 2017, elle était adressée en neurologie devant des malaises stéréotypés répétés ; le bilan permettant de conclure à une épilepsie focale temporale gauche avec crises secondairement généralisées.

Les anticorps anti-neuronaux étaient négatifs mais il existait une biologie APL avec un ACC positif, des IgG aCL et anti- β 2GP1 positifs à 283 et 69 GPL respectivement, ainsi que des IgG anti-PS (36 GPL). Par ailleurs, on notait une hypocomplémentémie répétée portant sur le C3 et le C4 ainsi que des AAN à titre non significatif, sans spécificité. Une anticoagulation était débutée.

L'IRM cérébrale était initialement normale mais montrait par la suite de nombreux hypersignaux de la substance blanche d'origine suspectée vasculaire (apparus sous anticoagulation), le PET-scanner cérébral objectivait un hypométabolisme temporal interne

gauche. Devant une suspicion d'encéphalite dysimmunitaire et la répétition de la symptomatologie épileptique, un traitement par IgIV était débuté, avec un total de 6 cures réalisées.

Il existait par ailleurs un SAPL triple positif caractérisé avec atteinte veineuse certaine et également artérielle probable (lésions cérébrales d'allure vasculaire), motivant la poursuite de l'anticoagulation curative. Grâce à ce traitement, la patiente ne présentait pour l'instant pas de récurrence épileptique, ni de récurrence de thrombose.

xix. Patient 19

Mr B.O., né en 1966, présentait comme antécédents principaux des algies vasculaires de la face, des céphalées étiquetées migraines, ainsi qu'un syndrome d'apnées obstructives du sommeil. Il présentait récemment, à l'âge de 52 ans, un accident ischémique transitoire se manifestant par une aphasie de Broca de résolution spontanée. Le bilan biologique objectivait une triple positivité pour les APL, avec un ACC, des IgM aCL et anti- β 2GP1 respectivement à 97 et 93 MPL. L'IRM cérébrale était normale, le reste du bilan de thrombophilie également et il n'existait aucun élément clinico-biologique pour une connectivite (AAN négatifs). Une anticoagulation curative était initiée permettant l'absence de récurrence thrombotique à ce jour ainsi que de façon notable, une très nette amélioration des céphalées.

xx. Patient 20

Voir Préface, Partie I. 3.

xxi. Patient 21

Mr. B.T., né en 1979, était adressé en consultation d'hémostase devant un épisode de TVP en 2017, avec récurrence de TVP compliquée cette fois d'EP en 2018 deux mois après l'arrêt du traitement par Eliquis, ayant motivé une reprise d'un traitement par Xarelto au long cours. Le bilan de thrombophilie objectivait de façon isolée une triple positivité pour les APLs, à taux très élevés (LA, IgG aCL à 805 GPL, IgG anti-β2GP1 à 115 GPL, IgG anti-PS à 116 GPL), signant un SAPL primaire en l'absence d'argument clinique ou biologique pour une connectivité (AAN positifs à 1/320^{ème}, anti-ADN négatifs). L'anticoagulation était modifiée par des AVK et le patient ne présentait pas de récurrence de thrombose sous traitement au long cours.

Annexe 2 : Définition des scores utilisés pour l'interprétation des variants rares, ou outils de prédiction « *in silico* ».

SIFT score (*Sorting Intolerant from Tolerant*)

Ce score attribue à un variant (SNV, délétion, insertion) une probabilité d'impact de la substitution de l'acide aminé correspondant sur la fonction protéique, selon l'homologie de séquence et des paramètres physiques et chimiques. Situé entre 0 et 1, un score proche de 0 ($< 0,05$) est prédictif d'un caractère délétère de la substitution.

PolyPhen

Score prédisant également l'impact du variant, via l'impact substitution de l'acide aminé sur la fonction protéique. Ce score est basé sur des données de structure et d'évolution comparative de la protéine concernée. Le résultat est exprimé entre 0 et 1, un score proche de 1 représentant un impact important (1 = *probably damaging*).

CADD (*Combined Annotation Dependant Depletion*)

Score intégratif utilisant plusieurs outils de prédiction *in silico*, développé de façon plus récente. Il permet d'évaluer le caractère pathogène de variants (SNV ou petites insertions ou délétions), un score élevé étant prédictif d'un variant délétère (un variant avec score > 20 est parmi les 1% les plus délétères).

GERP (*Genomic Evolutionary Rate Profiling*)

Score de conservation de chaque nucléotide, selon des données d'alignement multi-espèces. Il varie de -12,3 à 6,17 (qui représente le variant le plus conservé).

Annexe 3 : liste des 43 variants rares retenus (en jaune) parmi les 3383 initiaux chez les 21 patients de la cohorte APL-gène. Pour les variants connus, leur référencement est indiqué dans la colonne de droite (rs pour référence SNP, ou single nucleotide polymorphism).

Table with 12 columns (Patient 1 to Patient 12) and multiple rows of alphanumeric data. Each cell contains a unique alphanumeric code, likely representing a patient's medical record or a specific data point. The codes are organized in a grid format across the entire page.

Table with 12 columns (Patient 12 to Patient 21) and multiple rows of alphanumeric data. The table contains a dense grid of text, likely representing a dataset or a list of identifiers for various patients.

BIBLIOGRAPHIE

1. Boey, Colaco, Gharavi, Elkon, Loizou, Hugues. Thrombosis in systemic lupus erythematosus: striking association with the presence of circulating lupus anticoagulant. *BMJ*. 1983;287.
2. Dieudonné Y, Guffroy A, Poindron V, Sprauel PS, Martin T, Korganow AS, et al. B cells in primary antiphospholipid syndrome: Review and remaining challenges. *Autoimmun Rev*. 2021 May;20(5):102798.
3. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum*. 2002 Apr;46(4):1019–27.
4. Cervera R, Bucciarelli S, Plasín MA, Gómez-Puerta JA, Plaza J, Pons-Estel G, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS): Descriptive analysis of a series of 280 patients from the “CAPS Registry.” *J Autoimmun*. 2009 May;32(3–4):240–5.
5. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*. 2006 Feb;4(2):295–306.
6. Cervera R, Boffa MC, Khamashta MA, Hughes GRV. The Euro-Phospholipid project: epidemiology of the antiphospholipid syndrome in Europe. *Lupus*. 2009 Sep;18(10):889–93.
7. Abreu MM, Danowski A, Wahl DG, Amigo MC, Tektonidou M, Pacheco MS, et al. The relevance of “non-criteria” clinical manifestations of antiphospholipid syndrome: 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Technical Task Force Report on Antiphospholipid Syndrome Clinical Features. *Autoimmun Rev*. 2015 May;14(5):401–14.
8. Devreese KMJ, Ortel TL, Pengo V, Laat B, the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibodies. Laboratory criteria for antiphospholipid syndrome: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2018 Apr;16(4):809–13.
9. Pericleous C, Ruiz-Limon P, Romay-Penabad Z, Marin AC, Garza-Garcia A, Murfitt L, et al. Proof-of-concept study demonstrating the pathogenicity of affinity-purified IgG antibodies directed to domain I of 2-glycoprotein I in a mouse model of anti-phospholipid antibody-induced thrombosis. *Rheumatology*. 2015 Apr 1;54(4):722–7.
10. Duarte-García A, Pham MM, Crowson CS, Amin S, Moder KG, Pruthi RK, et al. The Epidemiology of Antiphospholipid Syndrome: A Population-Based Study. *Arthritis Rheumatol*. 2019 Sep;71(9):1545–52.
11. Durcan L, Petri M. Epidemiology of the Antiphospholipid Syndrome. In: *Handbook of Systemic Autoimmune Diseases* [Internet]. Elsevier; 2017 [cited 2020 May 15]. p. 17–30. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444636553000028>
12. Gómez-Puerta JA, Cervera R. Diagnosis and classification of the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun*. 2014 Feb;48–49:20–5.
13. Cervera R, Serrano R, Pons-Estel GJ, Ceberio-Hualde L, Shoenfeld Y, de Ramón E, et al. Morbidity and mortality in the antiphospholipid syndrome during a 10-year period: a multicentre prospective study of 1000 patients. *Ann Rheum Dis*. 2015 Jun;74(6):1011–8.
14. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Testa S, Fierro T, Marongiu F, et al. Incidence of a first thromboembolic event in asymptomatic carriers of high-risk antiphospholipid antibody profile: a multicenter prospective study. *Blood*. 2011 Oct 27;118(17):4714–8.
15. Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Gresele P, Barcellona D, Erba N, et al. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*. 2010 Feb;8(2):237–42.

16. Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood*. 2003 Mar 1;101(5):1827–32.
17. de Laat B, Derksen RHW, Urbanus RT, de Groot PG. IgG antibodies that recognize epitope Gly40-Arg43 in domain I of β 2-glycoprotein I cause LAC, and their presence correlates strongly with thrombosis. *Blood*. 2005 Feb 15;105(4):1540–5.
18. de Laat HB, Derksen RHW, Urbanus RT, Roest M, de Groot PG. β 2-glycoprotein I-dependent lupus anticoagulant highly correlates with thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2004 Dec 1;104(12):3598–602.
19. Mendoza-Pinto C, García-Carrasco M, Cervera R. Role of Infectious Diseases in the Antiphospholipid Syndrome (Including Its Catastrophic Variant). *Curr Rheumatol Rep*. 2018 Oct;20(10):62.
20. Vollmer O, Tacquard C, Dieudonné Y, Nespola B, Sattler L, Grunebaum L, et al. Follow-up of COVID-19 patients: LA is transient but other aPLs are persistent. *Autoimmun Rev*. 2021 Jun;20(6):102822.
21. Galli M, Borrelli G, Jacobsen EM, Marfisi RM, Finazzi G, Marchioli R, et al. Clinical significance of different antiphospholipid antibodies in the WAPS (warfarin in the antiphospholipid syndrome) study. *Blood*. 2007 Aug 15;110(4):1178–83.
22. Radin M, Foddai SG, Cecchi I, Rubini E, Schreiber K, Roccatello D, et al. Antiphosphatidylserine/Prothrombin Antibodies: An Update on Their Association with Clinical Manifestations of Antiphospholipid Syndrome. *Thromb Haemost*. 2020 Apr;120(04):592–8.
23. Sciascia S, Sanna G, Murru V, Roccatello D, Khamashta MA, Bertolaccini ML. Anti-prothrombin (aPT) and anti-phosphatidylserine/prothrombin (aPS/PT) antibodies and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome: A systematic review. *Thromb Haemost*. 2014;111(02):354–64.
24. Nayfe R, Uthman I, Aoun J, Saad Aldin E, Merashli M, Khamashta MA. Seronegative antiphospholipid syndrome. *Rheumatology*. 2013 Aug 1;52(8):1358–67.
25. Esposito G, Tamby MC, Chanseaud Y, Servettaz A, Guillevin L, Mouthon L. Anti-annexin V antibodies: are they prothrombotic? *Autoimmun Rev*. 2005 Jan;4(1):55–60.
26. Mehrani T, Petri M. Association of IgA Anti- β 2 Glycoprotein I with Clinical and Laboratory Manifestations of Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol*. 2011 Jan;38(1):64–8.
27. 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 May 15;annrheumdis-2019-215213.
28. 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*. 2014 Mar;13(3):281–91.
29. Crowther MA, Denburg J, Fortin P, Clarke A, Costantini L, Yacura W, et al. A Comparison of Two Intensities of Warfarin for the Prevention of Recurrent Thrombosis in Patients with the Antiphospholipid Antibody Syndrome. *N Engl J Med*. 2003;6.
30. Cohen H, Doré CJ, Clawson S, Hunt BJ, Isenberg D, Khamashta M, et al. Rivaroxaban in antiphospholipid syndrome (RAPS) protocol: a prospective, randomized controlled phase II/III clinical trial of rivaroxaban versus warfarin in patients with thrombotic antiphospholipid syndrome, with or without SLE. *Lupus*. 2015 Sep;24(10):1087–94.
31. Andrade D, Tektonidou M. Emerging Therapies in Antiphospholipid Syndrome. *Curr Rheumatol Rep*. 2016 Apr;18(4):22.
32. Pengo V, Denas G, Zoppellaro G, Jose SP, Hoxha A, Ruffatti A, et al. Rivaroxaban vs warfarin in high-risk patients with antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2018 Sep 27;132(13):1365–71.

33. Erkan D, Vega J, Ramón G, Kozora E, Lockshin MD. A pilot open-label phase II trial of rituximab for non-criteria manifestations of antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.* 2013 Feb;65(2):464–71.
34. Sevim E, Willis R, Erkan D. Is there a role for immunosuppression in antiphospholipid syndrome? *Hematology.* 2019 Dec 6;2019(1):426–32.
35. Knudson AG. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci.* 1971 Apr 1;68(4):820–3.
36. Goodnow CC. Multistep Pathogenesis of Autoimmune Disease. *Cell.* 2007 Jul;130(1):25–35.
37. Giannakopoulos B. The Pathogenesis of the Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med.* 2013;12.
38. de Groot PG, Urbanus RT. The significance of autoantibodies against 2-glycoprotein I. *Blood.* 2012 Jul 12;120(2):266–74.
39. Fischetti F, Durigutto P, Pellis V, Debeus A, Macor P, Bulla R, et al. Thrombus formation induced by antibodies to β 2-glycoprotein I is complement dependent and requires a priming factor. *Blood.* 2005 Oct 1;106(7):2340–6.
40. Meroni PL, Borghi MO, Grossi C, Chighizola CB, Durigutto P, Tedesco F. Obstetric and vascular antiphospholipid syndrome: same antibodies but different diseases? *Nat Rev Rheumatol.* 2018 Jul;14(7):433–40.
41. Lee Y, Choi S, Ji J, Song G. Association between the valine/leucine²⁴⁷ polymorphism of β 2-glycoprotein I and susceptibility to anti-phospholipid syndrome: a meta-analysis. *Lupus.* 2012 Jul;21(8):865–71.
42. Chamorro AJ, Marcos M, Mirón-Canelo JA, Cervera R, Espinosa G. Val247Leu beta2-glycoprotein-I allelic variant is associated with antiphospholipid syndrome: Systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev.* 2012 Aug;11(10):705–12.
43. Passam FH, Rahgozar S, Qi M, Raftery MJ, Wong JWH, Tanaka K, et al. Beta 2 glycoprotein I is a substrate of thiol oxidoreductases. *Blood.* 2010 Sep 16;116(11):1995–7.
44. Ioannou Y, Zhang JY, Qi M, Gao L, Qi JC, Yu DM, et al. Novel assays of thrombogenic pathogenicity in the antiphospholipid syndrome based on the detection of molecular oxidative modification of the major autoantigen β 2-glycoprotein I. *Arthritis Rheum.* 2011 Sep;63(9):2774–82.
45. Ames PR. Oxidative stress in primary antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost.* 1998;
46. Ames PRJ, Batuca JR, Ciampa A, Iannaccone L, Delgado Alves J. Clinical Relevance of Nitric Oxide Metabolites and Nitrate Stress in Thrombotic Primary Antiphospholipid Syndrome. *J Rheumatol.* 2010 Dec;37(12):2523–30.
47. Ramesh S, Morrell CN, Tarango C, Thomas GD, Yuhanna IS, Girardi G, et al. Antiphospholipid antibodies promote leukocyte–endothelial cell adhesion and thrombosis in mice by antagonizing eNOS via β 2GPI and apoER2. *J Clin Invest.* 2011 Jan 4;121(1):120–31.
48. Sacharidou A, Shaul P, Mineo C. New Insights in the Pathophysiology of Antiphospholipid Syndrome. *Semin Thromb Hemost.* 2018 Jul;44(05):475–82.
49. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase by HMG CoA Reductase Inhibitors. *Circulation.* 1998 Mar 31;97(12):1129–35.
50. Açar Ç, van Os GMA, Mörgelin M, Sprenger RR, Marquart JA, Urbanus RT, et al. β 2-Glycoprotein I can exist in 2 conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood.* 2010 Aug 26;116(8):1336–43.
51. Van Os GMA, Meijers JCM, Agar Ç, Seron MV, Marquart JA, Åkesson P, et al. Induction of anti- β 2-glycoprotein I autoantibodies in mice by protein H of *Streptococcus pyogenes*: Induction of anti- β 2-GPI autoantibodies. *J Thromb Haemost.* 2011 Dec;9(12):2447–56.

52. Sorice M, Longo A, Capozzi A, Garofalo T, Misasi R, Alessandri C, et al. Anti- β 2-glycoprotein I antibodies induce monocyte release of tumor necrosis factor α and tissue factor by signal transduction pathways involving lipid rafts. *Arthritis Rheum.* 2007 Aug;56(8):2687–97.
53. Urbanus RT, Pennings MTT, Derksen RHW, De Groot PG. Platelet activation by dimeric β 2-glycoprotein I requires signaling via both glycoprotein Ib and apolipoprotein E receptor 2. *J Thromb Haemost.* 2008 Aug;6(8):1405–12.
54. Sikara MP, Routsias JG, Samiotaki M, Panayotou G, Moutsopoulos HM, Vlachoyiannopoulos PG. β 2 Glycoprotein I (β 2GPI) binds platelet factor 4 (PF4): implications for the pathogenesis of antiphospholipid syndrome. *Blood.* 2010 Jan 21;115(3):713–23.
55. Yang K, Liu X, Liu Y, Wang X, Cao L, Zhang X, et al. DC-SIGN and Toll-like receptor 4 mediate oxidized low-density lipoprotein-induced inflammatory responses in macrophages. *Sci Rep.* 2017 Dec;7(1):3296.
56. Pierangeli SS, Vega-Ostertag ME, Raschi E, Liu X, Romay-Penabad Z, De Micheli V, et al. Toll-like receptor and antiphospholipid mediated thrombosis: in vivo studies. *Ann Rheum Dis.* 2007 Oct 1;66(10):1327–33.
57. Benhamou Y, Bellien J, Armengol G, Brakenhielm E, Adriouch S, Iacob M, et al. Role of Toll-like receptors 2 and 4 in mediating endothelial dysfunction and arterial remodeling in primary arterial antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* 2014 Nov;66(11):3210–20.
58. Redecha P, Tilley R, Tencati M, Salmon JE, Kirchhofer D, Mackman N, et al. Tissue factor: a link between C5a and neutrophil activation in antiphospholipid antibody-induced fetal injury. *Blood.* 2007 Oct 1;110(7):2423–31.
59. Yalavarthi S, Gould TJ, Rao AN, Mazza LF, Morris AE, Núñez-Álvarez C, et al. Release of Neutrophil Extracellular Traps by Neutrophils Stimulated With Antiphospholipid Antibodies: A Newly Identified Mechanism of Thrombosis in the Antiphospholipid Syndrome: RELEASE OF NETs BY NEUTROPHILS STIMULATED WITH aPL. *Arthritis Rheumatol.* 2015 Nov;67(11):2990–3003.
60. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, Schatzberg D, Monestier M, Myers DD, et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci.* 2010 Sep 7;107(36):15880–5.
61. Salmon JE. Mechanisms of Antiphospholipid Antibody-Mediated Pregnancy Morbidity. In: *Antiphospholipid syndrome.* Springer International Publishing AG. New-York; 2017. p. 77–116.
62. Pierangeli S, Chen P, Raschi E, Scurati S, Grossi C, Borghi M, et al. Antiphospholipid Antibodies and the Antiphospholipid Syndrome: Pathogenic Mechanisms. *Semin Thromb Hemost.* 2008 Apr;34(03):236–50.
63. Rand J, Wu XX, Quinn A, Taatjes D. The annexin A5-mediated pathogenic mechanism in the antiphospholipid syndrome: role in pregnancy losses and thrombosis. *Lupus.* 2010 Apr;19(4):460–9.
64. Jimenez S, Tassies D, Espinosa G, Garcia-Criado A, Plaza J, Monteagudo J, et al. Double heterozygosity polymorphisms for platelet glycoproteins Ia/IIa and IIb/IIIa increases arterial thrombosis and arteriosclerosis in patients with the antiphospholipid syndrome or with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2008 Jan 21;67(6):835–40.
65. Yonal I, Hindilerden F, Hancer VS, Artim-Esen B, Daglar A, Akadam B, et al. The impact of platelet membrane glycoprotein Ib alpha and Ia/IIa polymorphisms on the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Thromb Res.* 2012 Apr;129(4):486–91.
66. de Groot PG, van Lummel M, Pennings M, Urbanus R, Bas de Laat H, Lenting PJ, et al. β 2-Glycoprotein I and LDL-receptor family members. *Thromb Res.* 2004 Jan;114(5–6):455–9.

67. Ochoa E, Iriando M, Manzano C, Fullaondo A, Villar I, Ruiz-Irastorza G, et al. LDLR and PCSK9 Are Associated with the Presence of Antiphospholipid Antibodies and the Development of Thrombosis in aPLA Carriers. Gándara E, editor. PLOS ONE. 2016 Jan 28;11(1):e0146990.
68. Hiddink L, de Laat B, Derksen RHW, de Groot PG, van Heerde WL. Annexin A5 haplotypes in the antiphospholipid syndrome. *Thromb Res.* 2015 Feb;135(2):417–9.
69. Raschi E, Testoni C, Bosisio D, Borghi MO, Koike T, Mantovani A, et al. Role of the MyD88 transduction signaling pathway in endothelial activation by antiphospholipid antibodies. *Blood.* 2003 May 1;101(9):3495–500.
70. López-Pedreira C, Buendía P, José Cuadrado M, Siendones E, Angeles Aguirre M, Barbarroja N, et al. Antiphospholipid antibodies from patients with the antiphospholipid syndrome induce monocyte tissue factor expression through the simultaneous activation of NF- κ B/Rel proteins via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway, and of the MEK-1/ERK pathway. *Arthritis Rheum.* 2006 Jan;54(1):301–11.
71. Canaud. Inhibition of the mTORC Pathway in the Antiphospholipid Syndrome. *N Engl J Med.* 2014;3.
72. Xourgia E, Tektonidou MG. Type I interferon gene expression in antiphospholipid syndrome: Pathogenetic, clinical and therapeutic implications. *J Autoimmun.* 2019 Nov;104:102311.
73. Palli E, Kravvariti E, Tektonidou MG. Type I Interferon Signature in Primary Antiphospholipid Syndrome: Clinical and Laboratory Associations. *Front Immunol.* 2019 Mar 15;10:487.
74. Prinz N, Clemens N, Strand D, Pütz I, Lorenz M, Daiber A, et al. Antiphospholipid antibodies induce translocation of TLR7 and TLR8 to the endosome in human monocytes and plasmacytoid dendritic cells. *Blood.* 2011 Aug 25;118(8):2322–32.
75. Remmers EF, Graham RR. STAT4 and the Risk of Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med.* 2007;10.
76. Yin H, Borghi MO, Delgado-Vega AM, Tincani A, Meroni PL, Alarcón-Riquelme ME. Association of *STAT4* and *BLK* , but not *BANK1* or *IRF5* , with primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.* 2009 Aug;60(8):2468–71.
77. Horita T, Atsumi T, Yoshida N, Nakagawa H, Kataoka H, Yasuda S, et al. STAT4 single nucleotide polymorphism, rs7574865 G/T, as a risk for antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2009 Aug 1;68(8):1366–7.
78. Kariuki SN, Kirou KA, MacDermott EJ, Barillas-Arias L, Crow MK, Niewold TB. Cutting Edge: Autoimmune Disease Risk Variant of STAT4 Confers Increased Sensitivity to IFN- γ in Lupus Patients In Vivo. *J Immunol.* :5.
79. Fredi M, Tincani A, Yin H, Delgado-Vega AM, Borghi MO, Meroni PL, et al. IRF5 is associated with primary antiphospholipid syndrome, but is not a major risk factor. *Arthritis Rheum.* 2010 Apr;62(4):1201–2.
80. Rodríguez-García ME, Cotrina-Vinagre FJ, Bellusci M, Martínez de Aragón A, Hernández-Sánchez L, Carnicero-Rodríguez P, et al. A novel de novo MTOR gain-of-function variant in a patient with Smith-Kingsmore syndrome and Antiphospholipid syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2019 Sep;27(9):1369–78.
81. Pierangeli SS, Girardi G, Vega-Ostertag M, Liu X, Espinola RG, Salmon J. Requirement of activation of complement C3 and C5 for antiphospholipid antibody-mediated thrombophilia. *Arthritis Rheum.* 2005 Jul;52(7):2120–4.
82. Chaturvedi S, Brodsky RA, McCrae KR. Complement in the Pathophysiology of the Antiphospholipid Syndrome. *Front Immunol.* 2019 Mar 14;10:449.
83. Meroni PL, Macor P, Durigutto P, De Maso L, Gerosa M, Ferrareso M, et al. Complement activation in antiphospholipid syndrome and its inhibition to prevent rethrombosis

after arterial surgery. *Blood*. 2016 Jan 21;127(3):365–7.

84. Arfors L, Lefvert AK. Enrichment of antibodies against phospholipids in circulating immune complexes (CIC) in the anti-phospholipid syndrome (APLS). *Clin Exp Immunol*. 1997 Apr;108(1):47–51.

85. Oku K, Nakamura H, Kono M, Ohmura K, Kato M, Bohgaki T, et al. Complement and thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev*. 2016 Oct;15(10):1001–4.

86. Gropp K, Weber N, Reuter M, Micklisch S, Kopka I, Hallström T, et al. β 2-glycoprotein I, the major target in antiphospholipid syndrome, is a special human complement regulator. *Blood*. 2011 Sep 8;118(10):2774–83.

87. Ritis K, Dumas M, Mastellos D, Micheli A, Giaglis S, Magotti P, et al. A Novel C5a Receptor-Tissue Factor Cross-Talk in Neutrophils Links Innate Immunity to Coagulation Pathways. *J Immunol*. 2006 Oct 1;177(7):4794–802.

88. Holers VM, Girardi G, Mo L, Guthridge JM, Molina H, Pierangeli SS, et al. Complement C3 Activation Is Required for Antiphospholipid Antibody-induced Fetal Loss. *J Exp Med*. 2002 Jan 21;195(2):211–20.

89. Girardi G, Berman J, Redecha P, Spruce L, Thurman JM, Kraus D, et al. Complement C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome. *J Clin Invest*. 2003 Dec 1;112(11):1644–54.

90. Shamonki JM, Salmon JE, Hyjek E, Baergen RN. Excessive complement activation is associated with placental injury in patients with antiphospholipid antibodies. *Am J Obstet Gynecol*. 2007 Feb;196(2):167.e1-167.e5.

91. Shapira I, Andrade D, Allen SL, Salmon JE. Brief Report: Induction of sustained remission in recurrent catastrophic antiphospholipid syndrome via inhibition of terminal complement with eculizumab. *Arthritis Rheum*. 2012 Aug;64(8):2719–23.

92. Lonze BE, Zachary AA, Magro CM, Desai NM, Orandi BJ, Dagher NN, et al. Eculizumab Prevents Recurrent Antiphospholipid Antibody Syndrome and Enables Successful Renal Transplantation: Eculizumab and Renal Transplantation in APS. *Am J Transplant*. 2014 Feb;14(2):459–65.

93. Chaturvedi S. Rare Germline Mutations in Complement Regulatory Genes Make the Antiphospholipid Syndrome Catastrophic.

94. Seshan SV, Franzke CW, Redecha P, Monestier M, Mackman N, Girardi G. Role of tissue factor in a mouse model of thrombotic microangiopathy induced by antiphospholipid antibodies. *Blood*. 2009 Aug 20;114(8):1675–83.

95. Meijers JCM, Rosendaal FR. High Levels of Coagulation Factor XI as a Risk Factor for Venous Thrombosis. *N Engl J Med*. 2000;6.

96. Giannakopoulos B, Gao L, Qi M, Wong JW, Yu DM, Vlachoyiannopoulos PG, et al. Factor XI is a substrate for oxidoreductases: Enhanced activation of reduced FXI and its role in antiphospholipid syndrome thrombosis. *J Autoimmun*. 2012 Sep;39(3):121–9.

97. Ames PR, Margaglione M, Tommasino C, Bossone A, Iannaccone L, Brancaccio V. Impact of plasma homocysteine and prothrombin G20210 A on primary antiphospholipid syndrome. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb*. 2001 Dec;12(8):699–704.

98. Berman H, Ugarte-Gil MF, Espinosa G, Tàssies D, Monteagudo J, Reverter JC, et al. Can inherited thrombophilia modulate the clinical phenotype of patients with antiphospholipid syndrome? *Cardiovasc Risk Factors*. :7.

99. Plasín-Rodríguez MA, Rodríguez-Pintó I, Patricio P, Monteagudo J, Cervera R, Reverter JC, et al. The H1 haplotype of the endothelial protein C receptor protects against arterial thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome. *Thromb Res*. 2018 Sep;169:128–34.

100. Eissa YK, Ellithy HN, Yousry SM, Ismail Z. The relation between protein Z polymorphism and the risk of thrombosis in Egyptian patients with antiphospholipid syndrome.

Hematol Oncol Stem Cell Ther. 2018 Dec;11(4):219–24.

101. Meffre E, O'Connor KC. Impaired B-cell tolerance checkpoints promote the development of autoimmune diseases and pathogenic autoantibodies. *Immunol Rev.* 2019 Nov 12;imr.12821.

102. Ng YS, Wardemann H, Chelnis J, Cunningham-Rundles C, Meffre E. Bruton's Tyrosine Kinase Is Essential for Human B Cell Tolerance. *J Exp Med.* 2004 Oct 4;200(7):927–34.

103. Cho JH, Gregersen PK. Genomics and the Multifactorial Nature of Human Autoimmune Disease. Feero WG, Guttmacher AE, editors. *N Engl J Med.* 2011 Oct 27;365(17):1612–23.

104. Ostanek L, Ostanek-Pańska M, Bobrowska-Snarska D, Bińczak-Kuleta A, Fischer K, Kaczmarczyk M, et al. PTPN22 1858C>T gene polymorphism in patients with SLE: association with serological and clinical results. *Mol Biol Rep.* 2014 Sep;41(9):6195–200.

105. Castro-Marrero J, Balada E, Vilardell-Tarrés M, Ordi-Ros J. The PTPN22*R620W polymorphism does not confer genetic susceptibility to antiphospholipid syndrome in the Spanish population: PTPN22*R620W gene polymorphism in the APS. *Int J Immunogenet.* 2011 Dec;38(6):529–31.

106. Dieudonné Y, Guffroy A, Vollmer O, Carapito R, Korganow AS. *J Clin Immunol.* 2019 May;39(4):353–7.

107. Goodnow CC. Balancing immunity and tolerance: deleting and tuning lymphocyte repertoires. *Proc Natl Acad Sci.* 1996 Mar 19;93(6):2264–71.

108. Meffre E, Wardemann H. B-cell tolerance checkpoints in health and autoimmunity. *Curr Opin Immunol.* 2008 Dec;20(6):632–8.

109. Asherson RA, Doherty DG, Vergani D, Khamashta MA, Hughes GR. Major histocompatibility complex associations with primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.* 1992 Jan;35(1):124–5.

110. Caliz R, Atsumi T, Kondeatis E, Amengual O, Khamashta MA, Vaughan RW, et al. HLA class II gene polymorphisms in antiphospholipid syndrome: haplotype analysis in 83 Caucasoid patients. *Rheumatol Oxf Engl.* 2001 Jan;40(1):31–6.

111. Domenico Sebastiani G, Minisola G, Galeazzi M. HLA class II alleles and genetic predisposition to the antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev.* 2003 Oct;2(6):387–94.

112. Hudson N, Busque L, Rauch J, Kassis J, Fortin PR. Familial antiphospholipid syndrome and HLA–DRB gene associations. *Arthritis Rheum.* 1997 Oct;40(10):1907–8.

113. Sebastiani GD, Iuliano A, Cantarini L, Galeazzi M. Genetic aspects of the antiphospholipid syndrome: An update. *Autoimmun Rev.* 2016 May;15(5):433–9.

114. Manfredo Vieira S, Hiltensperger M, Kumar V, Zegarra-Ruiz D, Dehner C, Khan N, et al. Translocation of a gut pathobiont drives autoimmunity in mice and humans. *Science.* 2018 Mar 9;359(6380):1156–61.

115. Ruff WE, Vieira SM, Kriegel MA. The Role of the Gut Microbiota in the Pathogenesis of Antiphospholipid Syndrome. *Curr Rheumatol Rep.* 2015 Jan;17(1):472.

116. Ruff WE, Dehner C, Kim WJ, Pagovich O, Aguiar CL, Yu AT, et al. Pathogenic Autoreactive T and B Cells Cross-React with Mimotopes Expressed by a Common Human Gut Commensal to Trigger Autoimmunity. *Cell Host Microbe.* 2019 Jul;26(1):100–113.e8.

117. Shulga-Morskaya S, Dobles M, Walsh ME, Ng LG, MacKay F, Rao SP, et al. B Cell-Activating Factor Belonging to the TNF Family Acts through Separate Receptors to Support B Cell Survival and T Cell-Independent Antibody Formation. *J Immunol.* 2004 Aug 15;173(4):2331–41.

118. Furie R, Rovin BH, Houssiau F, Malvar A, Teng YKO, Contreras G, et al. Two-Year, Randomized, Controlled Trial of Belimumab in Lupus Nephritis. *N Engl J Med.* 2020 Sep 17;383(12):1117–28.

119. van den Hoogen LL, Palla G, Bekker CPJ, Fritsch-Stork RDE, Radstake TRDJ, van Roon JAG. Increased B-cell activating factor (BAFF)/B-lymphocyte stimulator (BLyS) in

primary antiphospholipid syndrome is associated with higher adjusted global antiphospholipid syndrome scores. *RMD Open*. 2018 Jul;4(2):e000693.

120. Salzer U, Birmelin J, Bacchelli C, Witte T, Buchegger-Podbielski U, Buckridge S, et al. Sequence Analysis of TNFRSF13b, Encoding TACI, in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Clin Immunol*. 2007 Jun 11;27(4):372–7.

121. Mercan S GP. TNFRSF13B Variants in SLE and Immunodeficiency. *J Clin Cell Immunol* [Internet]. 2014 [cited 2021 Sep 15];05(04). Available from: <https://www.omicsonline.org/open-access/tnfrsfb-variants-in-sle-and-immunodeficiency-2155-9899.1000233.php?aid=28015>

122. Kamboh MI, Wang X, Kao AH, Barmada MM, Clarke A, Ramsey-Goldman R, et al. Genome-wide association study of antiphospholipid antibodies. *Autoimmune Dis*. 2013;2013:761046.

123. Müller-Calleja N, Rossmann H, Müller C, Wild P, Blankenberg S, Pfeiffer N, et al. Antiphospholipid antibodies in a large population-based cohort: genome-wide associations and effects on monocyte gene expression. *Thromb Haemost*. 2016 Jan;116(07):115–23.

124. Sugiura-Ogasawara M, Omae Y, Kawashima M, Toyoko-Oka L, Khor SS, Sawai H, et al. The first genome-wide association study identifying new susceptibility loci for obstetric antiphospholipid syndrome. *J Hum Genet*. 2017 Sep;62(9):831–8.

125. Versini M. Thyroid Autoimmunity and Antiphospholipid Syndrome: Not Such a Trivial Association. *Front Endocrinol*. 2017 Jul 21;8:175.

126. Weeding E, Coit P, Yalavarthi S, Kaplan MJ, Knight JS, Sawalha AH. Genome-wide DNA methylation analysis in primary antiphospholipid syndrome neutrophils. *Clin Immunol*. 2018 Nov;196:110–6.

127. Pérez-Sánchez C, Aguirre MA, Ruiz-Limón P, Barbarroja N, Jiménez-Gómez Y, de la Rosa IA, et al. ‘Atherothrombosis-associated microRNAs in Antiphospholipid syndrome and Systemic Lupus Erythematosus patients.’ *Sci Rep*. 2016 Nov;6(1):31375.

128. Ulf-Møller CJ, Svendsen AJ, Viemose LN, Jacobsen S. Concordance of autoimmune disease in a nationwide Danish systemic lupus erythematosus twin cohort. *Semin Arthritis Rheum*. 2018 Feb;47(4):538–44.

129. Deafen 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*. 1992 Mar;35(3):311–8.

130. Alperin JM, Ortiz-Fernández L, Sawalha AH. Monogenic Lupus: A Developing Paradigm of Disease. *Front Immunol*. 2018 Oct 30;9:2496.

131. Division of Pediatric Rheumatology, Department of Pediatrics, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA, Madison JA, Zuo Y, Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA, Knight JS, Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA. Pediatric antiphospholipid syndrome. *Eur J Rheumatol*. 2020 Feb 3;7(1):3–12.

132. Exner T, Barber S, Kronenberg H, Rickard KA. Familial Association of the Lupus Anticoagulant. *Br J Haematol*. 1980 May;45(1):89–96.

133. Matthey F, Walshe K, Mackie IJ, Machin SJ. Familial occurrence of the antiphospholipid syndrome. *J Clin Pathol*. 1989 May 1;42(5):495–7.

134. Van Nieuwenhove E, Garcia-Perez JE, Helsen C, Rodriguez PD, van Schouwenburg PA, Dooley J, et al. A kindred with mutant IKAROS and autoimmunity. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Aug;142(2):699-702.e12.

135. Bogaert DJ, Kuehn HS, Bonroy C, Calvo KR, Dehoorne J, Vanlander AV, et al. A novel IKAROS haploinsufficiency kindred with unexpectedly late and variable B-cell maturation defects. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Jan;141(1):432-435.e7.

136. Kuehn HS, Boisson B, Cunningham-Rundles C, Reichenbach J, Stray-Pedersen A, Gelfand EW, et al. Loss of B Cells in Patients with Heterozygous Mutations in IKAROS. *N Engl J Med*. 2016 Mar 17;374(11):1032–43.
137. Brunner HI, Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MD, Silverman ED. Difference in disease features between childhood-onset and adult-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2008 Feb;58(2):556–62.
138. Redondo MJ, Concannon P. Genetics of Type 1 Diabetes Comes of Age. *Diabetes Care*. 2020 Jan;43(1):16–8.
139. Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nat Rev Genet*. 2002 May;3(5):391–7.
140. Boyle EA, Li YI, Pritchard JK. An Expanded View of Complex Traits: From Polygenic to Omnigenic. *Cell*. 2017 Jun;169(7):1177–86.
141. Zuk O, Schaffner SF, Samocha K, Do R, Hechter E, Kathiresan S, et al. Searching for missing heritability: Designing rare variant association studies. *Proc Natl Acad Sci*. 2014 Jan 28;111(4):E455–64.
142. Morand EF, Furie R, Tanaka Y, Bruce IN, Askanase AD, Richez C, et al. Trial of Anifrolumab in Active Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med*. 2020 Jan 16;382(3):211–21.
143. Legendre CM, Licht C, Muus P, Greenbaum LA, Babu S, Bedrosian C, et al. Terminal Complement Inhibitor Eculizumab in Atypical Hemolytic–Uremic Syndrome. *N Engl J Med*. 2013 Jun 6;368(23):2169–81.
144. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Chatila T, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*. 2020 Jan;40(1):24–64.
145. Rusmini M, Federici S, Caroli F, Grossi A, Baldi M, Obici L, et al. Next-generation sequencing and its initial applications for molecular diagnosis of systemic auto-inflammatory diseases. *Ann Rheum Dis*. 2016 Aug;75(8):1550–7.
146. Schütt M, Klüter H, Hagedorn-Greiwe M, Fehm HL, Wiedemann GJ. Familial coexistence of primary antiphospholipid syndrome and factor VLeiden. *Lupus*. 1998;7(3):176–82.
147. Gregersen PK, Olsson LM. Recent Advances in the Genetics of Autoimmune Disease. *Annu Rev Immunol*. 2009 Apr;27(1):363–91.
148. Zöller B, Svensson PJ, Dahlbäck B, Lind-Hallden C, Hallden C, Elf J. Genetic risk factors for venous thromboembolism. *Expert Rev Hematol*. 2020 Sep 1;13(9):971–81.
149. Moll S, Varga EA. Homocysteine and MTHFR Mutations. :4.
150. Stephan D. Mutation du facteur V : Europe, Suède, Alsace. *JMV-J Médecine Vasc*. 2019 Mar;44(2):124.
151. Zöller B. Genetics of venous thromboembolism revised. *Blood*. 2019 Nov 7;134(19):1568–70.
152. Holmes D. PI3K pathway inhibitors approach junction. *Nat Rev Drug Discov*. 2011 Aug;10(8):563–4.
153. Hoxhaj G, Manning BD. The PI3K–AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism. *Nat Rev Cancer*. 2020 Feb;20(2):74–88.
154. Nunes-Santos CJ, Uzel G, Rosenzweig SD. PI3K pathway defects leading to immunodeficiency and immune dysregulation. *J Allergy Clin Immunol*. 2019 May;143(5):1676–87.
155. Marini Thian, Birgit Hoeger, Anton Kamnev, Fiona Poyer, Sevgi Köstel Bal, Michael Caldera, et al. Germline biallelic PIK3CG mutations in a multifaceted immunodeficiency with immune dysregulation. *Haematologica*. 2020 Jan 30;105(10):e488.
156. Chen HH, Händel N, Ngeow J, Muller J, Hühn M, Yang HT, et al. Immune

- dysregulation in patients with PTEN hamartoma tumor syndrome: Analysis of FOXP3 regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Feb;139(2):607-620.e15.
157. Völkl S, Rensing-Ehl A, Allgäuer A, Schreiner E, Lorenz MR, Rohr J, et al. Hyperactive mTOR pathway promotes lymphoproliferation and abnormal differentiation in autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Blood*. 2016 Jul 14;128(2):227–38.
158. Suto T, Karonitsch T. The immunobiology of mTOR in autoimmunity. *J Autoimmun*. 2020 Jun;110:102373.
159. Jaini R, Loya MG, King AT, Thacker S, Sarn NB, Yu Q, et al. Germline PTEN mutations are associated with a skewed peripheral immune repertoire in humans and mice. *Hum Mol Genet*. 2020 Aug 11;29(14):2353–64.
160. Franks SE, Getahun A, Cambier JC. A Precision B Cell–Targeted Therapeutic Approach to Autoimmunity Caused by Phosphatidylinositol 3-Kinase Pathway Dysregulation. *J Immunol*. 2019 Jun 15;202(12):3381–93.
161. Tirosch I, Spielman S, Barel O, Ram R, Stauber T, Paret G, et al. Whole exome sequencing in childhood-onset lupus frequently detects single gene etiologies. *Pediatr Rheumatol*. 2019 Dec;17(1):52.
162. Al-Mayouf SM, Altassan RS, AlOwain MA. Systemic lupus erythematosus in a girl with PTEN variant and transaldolase deficiency: a novel phenotype. *Clin Rheumatol*. 2020 Nov;39(11):3511–5.
163. Kuraoka M, Snowden PB, Nojima T, Verkoczy L, Haynes BF, Kitamura D, et al. BCR and Endosomal TLR Signals Synergize to Increase AID Expression and Establish Central B Cell Tolerance. *Cell Rep*. 2017 Feb;18(7):1627–35.
164. Sindhava VJ, Oropallo MA, Moody K, Naradikian M, Higdon LE, Zhou L, et al. A TLR9-dependent checkpoint governs B cell responses to DNA-containing antigens. *J Clin Invest*. 2017 Mar 27;127(5):1651–63.
165. Gies V, Schickel JN, Jung S, Joubin A, Glauzy S, Knapp AM, et al. Impaired TLR9 responses in B cells from patients with systemic lupus erythematosus. *JCI Insight*. 2018 Mar 8;3(5):e96795.
166. Tao K, Fujii M, Tsukumo S i., Maekawa Y, Kishihara K, Kimoto Y, et al. Genetic variations of Toll-like receptor 9 predispose to systemic lupus erythematosus in Japanese population. *Ann Rheum Dis*. 2007 Feb 2;66(7):905–9.
167. Elshabrawy HA, Essani AE, Szekecz Z, Fox DA, Shahrara S. TLRs, future potential therapeutic targets for RA. *Autoimmun Rev*. 2017 Feb;16(2):103–13.
168. Jacob CO, Zhu J, Armstrong DL, Yan M, Han J, Zhou XJ, et al. Identification of IRAK1 as a risk gene with critical role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci*. 2009 Apr 14;106(15):6256–61.
169. Chamberlain ND, Vila OM, Volin MV, Volkov S, Pope RM, Swedler W, et al. TLR5, a Novel and Unidentified Inflammatory Mediator in Rheumatoid Arthritis that Correlates with Disease Activity Score and Joint TNF- α Levels. *J Immunol*. 2012 Jul 1;189(1):475–83.
170. Akitsu A, Ishigame H, Kakuta S, Chung S hyun, Ikeda S, Shimizu K, et al. IL-1 receptor antagonist-deficient mice develop autoimmune arthritis due to intrinsic activation of IL-17-producing CCR2+V γ 6+ γ δ T cells. *Nat Commun*. 2015 Nov;6(1):7464.
171. Luo W, Li YX, Jiang LJ, Chen Q, Wang T, Ye DW. Targeting JAK-STAT Signaling to Control Cytokine Release Syndrome in COVID-19. *Trends Pharmacol Sci*. 2020 Aug;41(8):531–43.
172. Toubiana J, Okada S, Hiller J, Oleastro M, Lagos Gomez M, Aldave Becerra JC, et al. Heterozygous STAT1 gain-of-function mutations underlie an unexpectedly broad clinical phenotype. *Blood*. 2016 Jun 23;127(25):3154–64.
173. Scott O, Lindsay K, Erwood S, Mollica A, Roifman CM, Cohn RD, et al. STAT1 gain-of-function heterozygous cell models reveal diverse interferon-signature gene transcriptional

- responses. *Npj Genomic Med.* 2021 Dec;6(1):34.
174. Goel RR, Kotenko SV, Kaplan MJ. Interferon lambda in inflammation and autoimmune rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2021 Jun;17(6):349–62.
175. Takatsuka S, Yamada H, Haniuda K, Saruwatari H, Ichihashi M, Renauld JC, et al. IL-9 receptor signaling in memory B cells regulates humoral recall responses. *Nat Immunol.* 2018 Sep;19(9):1025–34.
176. Campbell TM, Bryceson YT. IL2RB maintains immune harmony. *J Exp Med.* 2019 Jun 3;216(6):1231–3.
177. Baranda L, de la Fuente H, Layseca-Espinosa E, Portales-Pérez D, Niño-Moreno P, Valencia-Pacheco G, et al. IL-15 and IL-15R in leucocytes from patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology.* 2005 Dec 1;44(12):1507–13.
178. Kalman L, Lindegren ML, Kobrynski L, Vogt R, Hannon H, Howard JT, et al. Mutations in genes required for T-cell development:IL7R, CD45, IL2RG, JAK3, RAG1, RAG2, ARTEMIS, and ADA and severe combined immunodeficiency: HuGE review. *Genet Med.* 2004 Jan;6(1):16–26.
179. Lim CK, Abolhassani H, Appelberg SK, Sundin M, Hammarström L. IL2RG hypomorphic mutation: identification of a novel pathogenic mutation in exon 8 and a review of the literature. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2019 Dec;15(1):2.
180. Pellenz FM, Dieter C, Lemos NE, Bauer AC, Souza BM de, Crispim D. Association of TYK2 polymorphisms with autoimmune diseases: A comprehensive and updated systematic review with meta-analysis. *Genet Mol Biol.* 2021;44(2):e20200425.
181. Macchi P, O’Shea JJ. Mutations of Jak-3 gene in patients with autosomal severe combined immune deficiency (SCID). *Nature*; 1995.
182. Lesmana H, Popescu M, Lewis S, Sahoo SS, Goodings-Harris C, Onciu M, et al. Germline Gain-of-Function *JAK3* Mutation in Familial Chronic Lymphoproliferative Disorder of NK Cells. *Blood.* 2020 Nov 5;136(Supplement 1):9–10.
183. Klammt J. Dominant-negative STAT5B mutations cause growth hormone insensitivity with short stature and mild immune dysregulation. *Nat Commun.* 2018;10.
184. Ma CA, Xi L, Cauff B, DeZure A, Freeman AF, Hambleton S, et al. Somatic STAT5b gain-of-function mutations in early onset nonclonal eosinophilia, urticaria, dermatitis, and diarrhea. *Blood.* 2017 Feb 2;129(5):650–3.
185. Calder PC, Albers R, Antoine JM, Blum S, Bourdet-Sicard R, Ferns GA, et al. Inflammatory Disease Processes and Interactions with Nutrition. *Br J Nutr.* 2009 May;101(S1):1–45.
186. Barnabei L, Laplantine E, Mbongo W, Rieux-Laucat F, Weil R. NF-κB: At the Borders of Autoimmunity and Inflammation. *Front Immunol.* 2021 Aug 9;12:716469.
187. Tuijnenburg P, Lango Allen H, Burns SO, Greene D, Jansen MH, Staples E, et al. Loss-of-function nuclear factor κB subunit 1 (NFKB1) variants are the most common monogenic cause of common variable immunodeficiency in Europeans. *J Allergy Clin Immunol.* 2018 Oct;142(4):1285–96.
188. Hanson EP, Monaco-Shawver L, Solt LA, Madge LA, Banerjee PP, May MJ, et al. Hypomorphic nuclear factor-κB essential modulator mutation database and reconstitution system identifies phenotypic and immunologic diversity. *J Allergy Clin Immunol.* 2008 Dec;122(6):1169-1177.e16.
189. Ramirez-Alejo N, Alcántara-Montiel JC, Yamazaki-Nakashimada M, Duran-McKinster C, Valenzuela-León P, Rivas-Larrauri F, et al. Novel hypomorphic mutation in *IKBKG* impairs NEMO-ubiquitylation causing ectodermal dysplasia, immunodeficiency, incontinentia pigmenti, and immune thrombocytopenic purpura. *Clin Immunol.* 2015 Oct;160(2):163–71.
190. Frans G, van der Werff Ten Bosch J, Moens L, Gijsbers R, Changi-Ashtiani M, Rokni-Zadeh H, et al. Functional Evaluation of an *IKBKG* Variant Suspected to Cause

- Immunodeficiency Without Ectodermal Dysplasia. *J Clin Immunol*. 2017 Nov;37(8):801–10.
191. Kaustio M, Haapaniemi E, Göös H, Hautala T, Park G, Syrjänen J, et al. Damaging heterozygous mutations in NFKB1 lead to diverse immunologic phenotypes. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Sep;140(3):782–96.
 192. Turvey SE, Durandy A, Fischer A, Fung SY, Geha RS, Gewies A, et al. The CARD11-BCL10-MALT1 (CBM) signalosome complex: Stepping into the limelight of human primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 Aug;134(2):276–84.
 193. Dorjbal B, Stinson JR, Ma CA, Weinreich MA, Miraghazadeh B, Hartberger JM, et al. Hypomorphic caspase activation and recruitment domain 11 (CARD11) mutations associated with diverse immunologic phenotypes with or without atopic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2019 Apr;143(4):1482–95.
 194. Xi P, Ding D. DDRGK1 Regulates NF- κ B Activity by Modulating I κ B α Stability. *PLoS One*;
 195. Bashford-Rogers RJM, Smith KGC, Thomas DC. Antibody repertoire analysis in polygenic autoimmune diseases. *Immunology*. 2018 Sep;155(1):3–17.
 196. Walter JE, Lo MS, Kis-Toth K, Tirosh I, Frugoni F, Lee YN, et al. Impaired receptor editing and heterozygous RAG2 mutation in a patient with systemic lupus erythematosus and erosive arthritis. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Jan;135(1):272–3.
 197. Stohl W, Scholz JL, Cancro MP. Targeting BLYS in rheumatic disease: the sometimes-bumpy road from bench to bedside. *Curr Opin Rheumatol*. 2011 May;23(3):305–10.
 198. Li N. Gain-of-function polymorphism in mouse and human Ltk: implications for the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Hum Mol Genet*. 2003 Nov 25;13(2):171–9.
 199. Zhang Y, Li J, Zhang YM, Zhang XM, Tao J. Effect of TACI Signaling on Humoral Immunity and Autoimmune Diseases. *J Immunol Res*. 2015;2015:1–12.
 200. Schubert D, Bode C, Kenefeck R, Hou TZ, Wing JB, Kennedy A, et al. Autosomal dominant immune dysregulation syndrome in humans with CTLA4 mutations. *Nat Med*. 2014 Dec;20(12):1410–6.
 201. Lopez-Herrera G, Tampella G, Pan-Hammarström Q, Herholz P, Trujillo-Vargas CM, Phadwal K, et al. Deleterious Mutations in LRBA Are Associated with a Syndrome of Immune Deficiency and Autoimmunity. *Am J Hum Genet*. 2012 Jun;90(6):986–1001.
 202. Pulvirenti F, Zuntini R, Milito C, Specchia F, Spadaro G, Danieli MG, et al. Clinical Associations of Biallelic and Monoallelic *TNFRSF13B* Variants in Italian Primary Antibody Deficiency Syndromes. *J Immunol Res*. 2016;2016:1–14.
 203. Yasutomo K, Horiuchi T, Kagami S, Tsukamoto H, Hashimura C, Urushihara M, et al. Mutation of DNASE1 in people with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet*. 2001 Aug;28(4):313–4.
 204. Napirei M, Karsunky H, Zevnik B, Stephan H, Mannherz HG, Möröy T. Features of systemic lupus erythematosus in Dnase1-deficient mice. *Nat Genet*. 2000 Jun;25(2):177–81.
 205. Lee-Kirsch MA, Gong M, Chowdhury D, Senenko L, Engel K, Lee YA, et al. Mutations in the gene encoding the 3'-5' DNA exonuclease TREX1 are associated with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet*. 2007 Sep;39(9):1065–7.
 206. Olivieri I, Cattalini M, Tonduti D, Piana RL, Uggetti C, Galli J, et al. Dysregulation of the immune system in Aicardi-Goutières syndrome: another example in a TREX1-mutated patient. *Lupus*. 2013 Sep;22(10):1064–9.
 207. Kahr WHA, Pluthero FG, Elkadri A, Warner N, Drobac M, Chen CH, et al. Loss of the Arp2/3 complex component ARPC1B causes platelet abnormalities and predisposes to inflammatory disease. *Nat Commun*. 2017 Apr;8(1):14816.
 208. Zhao J, Ma J, Deng Y, Kelly JA, Kim K, Bang SY, et al. A missense variant in NCF1 is associated with susceptibility to multiple autoimmune diseases. *Nat Genet*. 2017 Mar;49(3):433–7.

209. Kohn LA, Long JD, Trope EC, Kuo CY. Novel Compound Heterozygote Variations in FADD Identified to Cause FAS-Associated Protein with Death Domain Deficiency. *J Clin Immunol.* 2020 May;40(4):658–61.
210. Trégouët DA, Morange PE. What is currently known about the genetics of venous thromboembolism at the dawn of next generation sequencing technologies. *Br J Haematol.* 2018 Feb;180(3):335–45.
211. Nicolaes GAF, Dahlbäck B. Factor V and Thrombotic Disease: Description of a Janus-Faced Protein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Apr;22(4):530–8.
212. Li Y, Bezemer ID, Rowland CM, Tong CH, Arellano AR, Catanese JJ, et al. Genetic variants associated with deep vein thrombosis: the *F11* locus. *J Thromb Haemost.* 2009 Nov;7(11):1802–8.
213. Morange PE, Suchon P, Trégouët DA. Genetics of Venous Thrombosis: update in 2015. *Thromb Haemost.* 2015;114(11):910–9.
214. Truedsson L, Bengtsson AA, Sturfelt G. Complement deficiencies and systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity.* 2007 Jan;40(8):560–6.
215. Chaturvedi S, Braunstein EM, Yuan X, Yu J, Alexander A, Chen H, et al. Complement activity and complement regulatory gene mutations are associated with thrombosis in APS and CAPS. *Blood.* 2020 Jan 23;135(4):239–51.
216. Chi H. Regulation and function of mTOR signalling in T cell fate decisions. *Nat Rev Immunol.* 2012 May;12(5):325–38.
217. Eriksson P, Wallin P, Sjöwall C. Clinical Experience of Sirolimus Regarding Efficacy and Safety in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Pharmacol.* 2019 Feb 6;10:82.
218. Mussbacher M, Salzmann M, Brostjan C, Hoesel B, Schoergenhofer C, Datler H, et al. Cell Type-Specific Roles of NF- κ B Linking Inflammation and Thrombosis. *Front Immunol.* 2019 Feb 4;10:85.
219. Montiel-Manzano G, Romay-Penabad Z, Papalardo De Martinez E, Meillon-Garcia LA, Garcia-Latorre E, Reyes-Maldonado E, et al. In Vivo Effects of an Inhibitor of Nuclear Factor-Kappa B on Thrombogenic Properties of Antiphospholipid Antibodies. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Jun 1;1108(1):540–53.

DÉCLARATION SUR L'HONNEUR



Document avec signature originale devant être joint :

- à votre mémoire de D.E.S.
- à votre dossier de demande de soutenance de thèse

Nom : JACQUEL Prénom : Léa

Ayant été informé(e) qu'en m'appropriant tout ou partie d'une œuvre pour l'intégrer dans mon propre mémoire de spécialité ou dans mon mémoire de thèse de docteur en médecine, je me rendrais coupable d'un délit de contrefaçon au sens de l'article L335-1 et suivants du code de la propriété intellectuelle et que ce délit était constitutif d'une fraude pouvant donner lieu à des poursuites pénales conformément à la loi du 23 décembre 1901 dite de répression des fraudes dans les examens et concours publics,

Ayant été avisé(e) que le président de l'université sera informé de cette tentative de fraude ou de plagiat, afin qu'il saisisse la juridiction disciplinaire compétente,

Ayant été informé(e) qu'en cas de plagiat, la soutenance du mémoire de spécialité et/ou de la thèse de médecine sera alors automatiquement annulée, dans l'attente de la décision que prendra la juridiction disciplinaire de l'université

J'atteste sur l'honneur

Ne pas avoir reproduit dans mes documents tout ou partie d'œuvre(s) déjà existante(s), à l'exception de quelques brèves citations dans le texte, mises entre guillemets et référencées dans la bibliographie de mon mémoire.

A écrire à la main : « J'atteste sur l'honneur avoir connaissance des suites disciplinaires ou pénales que j'encours en cas de déclaration erronée ou incomplète ».

Signature originale :

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized, cursive 'S' shape.

À ..Strasbourg..... , le15/05/2022.....

Photocopie de cette déclaration devant être annexée en dernière page de votre mémoire de D.E.S. ou de Thèse.