



UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2

FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2020

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

Négativation des anticorps antiphospholipides et risque thrombotique au cours du SAPL : à propos d'une cohorte prospective bi-centrique

Présentée et soutenue publiquement le 8 juin 2020 à 18 heures
au Pôle Recherche

Par Sébastien Puigrenier

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Eric Hachulla

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Marc Lambert

Monsieur le Professeur Sylvain Dubucquoi

Monsieur le Docteur Thomas Quéméneur

Directeur de Thèse :

Madame le Docteur Cécile Yelnik

AVERTISSEMENT

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Table of content

Abstract	1
Abbreviations List	5
Introduction (français)	7
Introduction	9
Methods	11
I. Population.....	11
II. Aims of the study.....	11
III. Statistical Analysis.....	12
IV. Ethics.....	12
Results	13
I. Patients baseline characteristics.....	13
II. During the 2-years follow-up.....	16
Discussion	17
I. Comparison with literature.....	17
II. Pathogenesis of thrombosis and aPL disappearance.....	20
III. Strengths, limitations	21
Conclusion	22
Discussion (français)	23
Annexes	29
Bibliography	32

Abstract:

Background: Antiphospholipid syndrome (APS) is a rare autoimmune disease characterized by recurrent thromboses associated with the presence of antiphospholipid antibodies (aPL) that might disappeared over time in some patients. The risk of thrombotic relapse after aPL negativation remains unknown. Our study aims to evaluate the thrombotic risk after aPL disappearance in APS.

Methods: Prospective bi-centric observational study which included APS patients, diagnosed according to international APS criteria, with at least 2 consecutive negative aPL determinations during their follow-up. Anticoagulation treatment management was at physician's discretion.

Results: 27 patients (21 females, mean age of 39 years +/- 15 years) were included, and were prospectively followed between January 2018 and January 2020. Baseline characteristics were: 7 had history of arterial thrombosis, 13 of venous thrombosis, 3 had both history of arterial and venous thromboses, and 4 had history of obstetrical morbidity. At diagnosis, 15 were lupus anticoagulant (LA) positive, 16 had IgG or IgM anticardiolipine (aCL) antibodies, 13 had IgG or IgM anti- β 2-glycoprotein 1 (anti- β 2GP1) antibodies and 4 were triple positive. Before inclusion in our study, 2 patients had a thrombotic recurrence, including 1 before and 1 after aPL disappearance. Median follow-up after APS diagnosis at inclusion was 11 years (2 – 26 years), median disease duration at aPL disappearance was 6 years. The mean number of positive determinations before disappearance was 2.6 (0-10). Before aPL disappearance, 7 patients were under antiplatelet therapy, 17 were under long-term anticoagulation and 3 had both antiplatelet and anticoagulation. After aPL disappearance, anticoagulation was withdrawn in 4 patients and switched to

antiplatelet. None of our 27 patients had a new thrombotic event after aPL disappearance during the 2 years of prospective follow-up.

Conclusion: Our findings suggested that APS patients with aPL disappearance had a lower risk of thrombotic relapses. Nevertheless, most of our patients remained on long-term anticoagulation, further prospective or randomized studies are necessary to conclude on the possibility of anticoagulation withdrawal.

Abstract en français :

Contexte : Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune rare associant des thromboses récurrentes avec la présence d'anticorps anti-phospholipides (aPL) qui peuvent disparaître chez certains patients au cours du suivi. Le risque de récurrence thrombotique après négativation des aPL reste incertain. Notre objectif est d'évaluer le risque thrombotique dans l'APS après négativation des aPL.

Méthodes : Etude prospective bi-centrique observationnelle de patients avec un SAPL diagnostiqué selon les critères internationaux avec au moins 2 dosages d'aPL négatifs consécutifs pendant leur suivi. La gestion de l'anticoagulation était laissée à l'appréciation du clinicien.

Résultats : 27 patients (dont 21 femmes, âge moyen de 39 ans +/- 15 ans) ont été inclus et suivis entre janvier 2018 et janvier 2020. Au diagnostic, 7 patients avaient un antécédent de thrombose artérielle, 13 de thrombose veineuse, 3 mixte artériel et veineux, et 4 patientes des complications obstétricales. Au diagnostic, 10 patients avaient un anticoagulant lupique (LA) positif, 16 un anticardiolipine (aCL) positif, 13 un anti-β2 glycoprotéine 1 (anti-β2-GP1) positif, et 4 étaient triple positifs. Après le diagnostic de SAPL, 2 patients ont présenté une récurrence d'événement thrombotique (1 avant et 1 après négativation des aPL). La durée médiane d'évolution du SAPL à l'inclusion était de 11 ans (2-26 ans), le suivi moyen après négativation des aPL de 6 ans, avec un nombre de dosages positifs des aPL avant négativation de 2.6 (0-10). Avant la négativation des aPL, 17 patients étaient sous anticoagulation au long cours, 7 patients sous anti-agrégation et 3 sous anti-agrégation et anticoagulation. Quatre patients ont eu un switch pour un antiagrégant après négativation. Aucun patient n'a présenté de nouvel événement thrombotique pendant le suivi de l'étude.

Conclusion : Nos résultats suggèrent que le risque de rechute thrombotique chez les patients qui négativent leurs aPL au cours du temps est faible. Néanmoins, la plupart des patients étaient toujours traités par anticoagulation au long cours durant l'étude. D'autres études prospectives, ou essais randomisés, sont nécessaires pour conclure quant à la possibilité d'interrompre les anticoagulants.

ABBREVIATIONS LIST

APS: Antiphospholipid Syndrome

aPL: Antiphospholipid Antibodies

Anti- β 2GP1: Anti- β 2-glycoprotein 1 Antibodies

aCL: Anticardiolipin Antibodies

LA: Lupus Anticoagulant

DVT: Deep Venous Thrombosis

VKA: Vitamin K Antagonist

OA: Oral Anticoagulation

INR: International Normalized Ratio

CAPS: Catastrophic Antiphospholipid Syndrome

SLE: Systemic Lupus Erythematosus

Liste des abréviations (Français)

SAPL : Syndrome des Antiphospholipides

aPL : Anticorps Antiphospholipides

Anti- β 2GP1 : Anticorps anti- β 2-Glycoprotéine 1

aCL : Anticorps Anticardiolipine

LA : Lupus Anticoagulant

TVP : Thrombose Veineuse Profonde

AVK : Anti-Vitamine K

OA : Anticoagulation Orale

INR : International Normalized Ratio

CAPS : Syndrome Catastrophique des Antiphospholipides

LS : Lupus Systémique

INTRODUCTION (français) :

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une maladie vasculaire auto-immune rare définie selon des critères internationaux (SAPPORO 1999 – SYDNEY 2006) (1) associant des manifestations thrombotiques (artérielles et /ou veineuse et/ou obstétricales) avec la détection à au moins 2 reprises consécutivement à 12 semaines d'intervalle d'anticorps antiphospholipides (aPL) [anticoagulant circulante lupique (LA) et/ou anti- β 2-glycoprotéine 1 (Anti- β 2GP1) et/ou anticardiolipine (aCL)]. Il peut être primaire ou associé à une maladie auto-immune, le plus souvent un lupus systémique (LS).

Le SAPL est associé à un risque élevé de rechute thrombotique, ainsi en l'absence de traitement anticoagulant prolongé 55% des patients présentent un nouvel événement thrombotique. L'anticoagulation au long cours a permis d'abaisser ce risque de récurrence à 29% ou 7.5/100 patient années, justifiant son maintien chez ces patients (2,3). Les anti-vitamine K (AVK) sont actuellement le gold standard thérapeutique, mais nécessitent une surveillance biologique répétée pour s'assurer de l'équilibre thérapeutique. Malheureusement, du fait de la marge thérapeutique étroite des AVK, de leurs nombreuses interactions médicamenteuses, cet équilibre est souvent difficile à maintenir de façon prolongée. L'instabilité des INR peut conduire à des complications hémorragiques en cas de surdosage ou des rechutes thrombotiques en cas de sous dosage.

La négativation des aPL peut s'observer au cours de l'évolution du SAPL : dans une cohorte de 62 patients avec SAPL (principalement obstétrical) sur un suivi de 114 mois, les aPL se négativaient dans 57% des cas (4). Yelnik et al. (5) décrivaient un

taux de négativation de 27% sur un échantillon de 98 patients avec un suivi de 13 ans. La signification clinique de la négativation sur le risque thrombotique reste incertaine, et les facteurs associés à la négativation ne sont pas connus.

Il n'existe que 3 études avec de faibles effectifs et un suivi de courte durée publiées dans ce sous-groupe de patients, avec des résultats discordants : 2 études rétrospectives (n=11 et n =6) ne retrouvaient pas de sur-risque thrombotique à l'arrêt de l'anticoagulation, alors que dans une autre étude rétropective (n=24), la récurrence thrombotique survenait chez la moitié des patients malgré une anticoagulation optimale (6-8).

En pratique, l'arrêt de l'anticoagulation peut être discuté chez certains patients, notamment du fait de complications hémorragiques ou par la décision du patient. Des études, avec un nombre plus important de patients, sont nécessaires pour établir le risque thrombotique et permettre des recommandations robustes sur l'anticoagulation chez les patients avec aPL négatifs. En l'état actuel des connaissances médicales, un essai randomisé apparaît non éthique au vu du risque élevé de récurrence.

Notre objectif est d'évaluer le risque thrombotique chez des patients ayant négativé leurs aPL dans une étude prospective bi-centrique observationnelle de patients avec SAPL confirmé.

INTRODUCTION :

Antiphospholipid syndrome (APS) is a rare autoimmune disease characterized by the association of clinical manifestations (arterial and/or venous thrombosis and/or pregnancy events) and the presence of antiphospholipid antibodies (aPL) on at least 2 consecutive determinations 12 weeks apart (lupus anticoagulant (LA) and/or anticardiolipin (aCL) and/or anti- β 2-glycoprotein 1 antibodies (anti β 2GP1)). APS is defined by international criteria: SAPPORO criteria (1999) and revised in 2006 (SYDNEY) (1). APS can be primary or associated with other autoimmune diseases, such as systemic lupus erythematosus (SLE).

APS is associated with a high-risk of thrombotic recurrence: 55% of APS patients experienced a thrombotic relapse after oral anticoagulation (OA) withdrawal. Long-term anticoagulant therapy allowed to decrease this risk to 29%, with an estimated persistent risk of relapse of 7.5/100 patients year in the 5 years after diagnosis (2,3). Long-term Vitamin K antagonist (VKA) therapy is actually the main recommended treatment.

aPL may become negative during the course of APS : in a cohort of 62 young women with APS (mainly obstetrical) with a mean follow-up of 114 months, aPL became negative in 57% cases (4). Yelnik et al (5) described aPL disappearance in 27 % on a 98 patients study in a 13 years follow-up. Its meaning remains unknown (persistence of thrombosis risk is yet to be described). Factors associated with aPL disappearance are not fully understood.

Only three previous articles, with small sample size and short term follow-up (20-21 months), were published in this sub-group of patients with conflicting findings: 2 retrospective studies (n=11 and n=6 APS patients) reported no thrombotic relapses after OA withdrawal whereas another retrospective study (n=24) reported thrombotic relapses in half of patients despite optimal anticoagulation (6-8).

In current practice, anticoagulation withdrawal has to be discussed in some patients because of side effects, such as severe hemorrhagic event, or patients' decision. VKA therapy requires multiple blood samples to control effectiveness with International Normalized Ratio (INR), and direct oral anticoagulants, despite their simplicity of use, seem to be less efficient than VKA to prevent thrombotic relapse in APS.

Larger sample size studies are needed to better evaluate the risk of thrombotic relapses and to guide therapeutic recommendations in particular for OA management. However, due to the high-risk of thrombosis relapse previously reported in APS, it appears unethical to perform a randomized trial with an OA withdrawal arm.

Our study aims to evaluate the thrombotic risk after aPL disappearance in a prospective bi-centric observational study of patients with confirmed APS.

METHODS

Population

All consecutive adult patients followed in Lille and Valenciennes Hospitals, with confirmed APS diagnosis according to the International consensus criteria (1) with persistent positive aPL determination at onset and in which aPL became negative during follow-up were included. APL disappearance was defined by at least 2 consecutive negative aPL determinations over time (all determinations were performed in the same laboratory for each patient). We excluded patients without a confirmed APS and without 2 consecutive negative determinations. Anticoagulation prescription was let at physician's decision.

Primary outcome

Occurrence of new thrombotic event during follow-up, defined as an arterial or venous thrombosis (suspected with clinical features and confirmed with imaging) or pregnancy event (as defined by APS international criteria).

Data collection and follow-up

Prospective data collection was performed using a web database. At inclusion, baseline clinical, biological and demographic characteristics were collected.

Follow-up was performed by the referent physician of the patient in his usual follow-up by physical consultations, where data concerning new onset thrombosis, biological parameters (aPL level when performed) and other classical follow-up data were collected.

Statistical analysis

Statistical analysis were performed in the Methodology, Biostatistics and Data management Unity of the Lille University Hospital of Professor A. Duhamel with the SAS Software.

Quantitative variables were described with median and ranges, minimum and maximum. Distribution normality was evaluated graphically and with Shapiro-Wilk test. Qualitative variables were described with effectives and percentages. For the evaluation criteria, punctual estimations were accompanied with 95% confidence interval.

Because of its observational descriptive nature with incident and prevalent cases, an estimation of the number of subjects required cannot be determined.

Ethics

Data management were realized following the N° 2016-262 deliberation of 21th July 2016. This study used a database validated by the National Commission on Informatics and Liberty (1889582 v 0).

RESULTS

I. Patients baseline characteristics at inclusion

27 patients (24 from Lille University Hospital, 3 from Valenciennes Hospital) were included in our study and were prospectively followed from January 2018 to January 2020, mean follow-up after APS diagnosis was 13 years (2-26 years) at inclusion.

a) Clinical and biological characteristics at APS diagnosis (table 1)

Mean number of thrombotic event before diagnosis was 1.59. Considering patients with arterial phenotype, stroke was the main manifestation [9/10 patients (90%)].

In patients with venous phenotype, 10 patients (62.5%) had a deep venous thrombosis (DVT), 8 (50%) had a pulmonary embolism, and 4 had other thrombosis (2 superficial venous thrombosis, 1 mesenteric thrombosis and 1 adrenal necrosis). 6 patients (37.5%) had a transient triggering risk factor at first event, including oral contraceptive in one patient. 3 patients had both arterial and venous thrombosis before diagnosis.

5 patients had another thrombophilia associated with APS (3 mutated factor V of Leiden, 1 protein S deficiency and 1 JAK-2 mutation) and 1 patient had a May-Thurner syndrome.

Main biological characteristics are detailed in figure 1a and 1b. Mean range of aPL titers at diagnosis were:

- Median drVVT ratio was 1.4 (1.31 – 1.47)
- Median IgG-IgM anti-β2GP1 titers was 40 (29 – 150) UI/ml

- For aCL, median IgM titers was 31.5 (15 – 150) UI/ml, and median IgG titers was 32 (52 – 125) UI/ml.

b) Therapeutical characteristics at diagnosis

Before APS diagnosis (after first event), 4 patients were treated with antiplatelet therapy (3 patients with ASPIRIN / 1 with CLOPIDOGREL), 5 patients with VKA and 2 with direct Xa inhibitors.

At APS diagnosis, 7 patients have been treated with antiplatelet and 17 patients with VKA (of whom 3 had both). The 2 patients whom have been treated by direct Xa inhibitors before diagnosis were switched to VKA.

c) Follow-up after diagnosis before inclusion (retrospective follow-up)

Clinical and biological features

2 patients had a thrombotic event after APS diagnosis (1 before and 1 after aPL disappearance) (with an observed thrombotic recurrence risk of 1.35/100 patient years in the 5 first years after evolution, 0.5/100 patients year when positive aPL and 0.55/100 patients year in aPL negative patients):

- 1 patient had a pulmonary embolism 15 years before aPL disappearance, 4 years after APS diagnosis. The patient was treated by FLUNDIONE with a labile INR and was switched to WARFARIN, without new thrombotic event. The patient had an initial arterial APS phenotype, associated with SLE with a triple aPL positivity at diagnosis. aPL stayed negative after disappearance, without new thrombotic event.

- One patient had 2 thrombotic events after aPL disappearance: a renal vein thrombosis under antiplatelet 1 year after aPL disappearance and 3 years after diagnosis. The patient was switched to VKA, and a DVT and pulmonary embolism 10 years after aPL disappearance under VKA without transient risk factor. Patient had an initial venous APS phenotype at diagnosis, with a double positivity of aPL (aCL and Anti-β2GP1) and also had a May-Thurner syndrome.

The mean number of positive determinations before disappearance was 2.6 (from 0 to 10) with a median duration before aPL disappearance of 5 years. Median duration of aPL disappearance was 5 years (+/- 5.1), median number of negative aPL determinations was 3 (from 2 to 10) (figure 2 and 3).

Therapeutical modifications and complications

Five patients (18.5 %) had a modification of their treatment after APS diagnosis, all of these modifications were made after aPL disappearance:

- 4 patients stopped VKA and were switched to antiplatelet (2 because of aPL disappearance and 2 because of hemorrhage complications)
- 1 patient stopped antiplatelet (who only had pregnancy events).

None of these patients had a thrombotic event after treatment modification.

Therapeutic adherence was globally considered as satisfying for all patients (INR in therapeutic objectives).

Six patients had a hemorrhagic event during APS evolution, including 5 major

bleedings (5 with VKA and 1 with antiplatelet, including 1 cerebral hemorrhage, 2 gynecologic hemorrhages, 1 muscular hematoma and 2 intra-abdominal hematoma) (9). None of the event induced death.

II. During the 2 years of prospective follow-up

None of the patients had a vascular event during the 2-years follow-up. None of the patients had a treatment modification during the 2-years follow-up. None of the patients had hemorrhagic event or died during the 2-years follow-up.

3 patients had a repositivation of their aPL:

- 1 patient had positive moderate titers of Anti- β 2GP1 IgG-IgM (20 UI/ml) (anti- β 2GP1 and aCL positivity at diagnosis) 7 years after disappearance while he was still under VKA.
- 1 patient had positive LA (drVVT: 1.22) (LA and aCL at diagnosis) 14 years after disappearance under VKA.
- 1 patient had positive low titers of aCL (11 UI/ml) (with initial triple positivity and history of CAPS) 5 years after disappearance under VKA and antiplatelet.

None of these patients had a thrombotic event considering the whole APS evolution after diagnosis before and after aPL disappearance.

DISCUSSION

In the present study, none of the 27 patients had a new thrombotic event after aPL disappearance on a 2-years prospective follow-up, in patients who remained mostly under long-term VKA therapy. 3 patients had a repositivation of aPL at low titers. Considering the whole APS evolution after diagnosis, only 2 patients had a venous thrombotic recurrence after diagnosis (1 after disappearance of aPL) whereas 6 patients had hemorrhagic complications under treatment. After aPL disappearance, 4 patients were switched VKA for antiplatelet therapy, and only 1 stopped all the treatments, without new thrombosis.

1- Comparison with literature

Baseline patients' characteristics

Baseline characteristics of our cohort were similar to those previously published (2,10,11). We similarly found a medium age around 40 years with a marked majority of female patients. Similarly, the most common clinical manifestations were represented by stroke for arterial APS and DVT or pulmonary embolism for venous APS with similar frequencies.

On the contrary, primary APS was more represented in our study (around $\frac{3}{4}$ patients against 50 % in cohorts) with a little higher proportion of inherited thrombophilia.

Considering biological features, our cohort had a lower prevalence of high-risk aPL profile at APS onset: triple positivity (14.8 % vs 26 %) and of double positivity or LA positivity alone (66.7 % vs 96 %) compared to Bazzan M. et al. (2). This might be

explained because of lower incidence of aCL in our cohort comparing to other cohorts (10).

Thrombotic recurrence risk

During the 2-years of prospective follow-up, none of the 27 patients had a thrombotic recurrence. Considering the whole APS evolution (retrospective and prospective follow-up), thrombotic recurrence risk was similar before and after aPL disappearance (0.5/100 patient years and 0.55/100 patient years respectively). Recurrence risk appears higher in the 5 first years after diagnosis (1.35/100 patient years). None of the patients who had OA withdrawal had a thrombotic recurrence. Moreover, risk of thrombotic recurrences reported in our APS patients with aPL disappearance was inferior to the risk previously reported in APS (7.5/100 patients-year versus 1.35/100 patients-year) (2). This might be explained by the lower proportion of triple aPL positivity in our cohort at inclusion, which are associated with higher thrombotic recurrence, or related to the aPL disappearance itself (5, 12).

In APS, OA withdrawal has been associated with an increased risk of thrombotic relapse (3). In our study, only 4 patients had OA withdrawal, all of them were switch for antiplatelet therapy without relapse. The 2 thrombotic recurrences reported had occurred under VKA therapy alone or associated with antiplatelet therapy.

Comparison with aPL negative patients studies

Three small previous studies focused on the evolution of APS patients after aPL disappearance, among them, 2 studies (6, 7) reported no thrombotic event after anticoagulation withdrawal:

- Coloma Bazan et al (7) reported no thrombosis in 11 APS patients after 18 months follow-up. All patients had a history of venous thrombosis.

- Criado Garcia et al. (8) suggested in a 10 patients' study with a 21 months follow-up that patients with venous thrombosis and concomitant transient risk factor could discontinued anticoagulation, based on 4/6 patients with negative aPL profile and transient risk factor. The population included in those two previous studies was not representative of the whole APS population and focused on patients with venous phenotype, associated transient risk factors and aPL low-risk profile at diagnosis. Inclusion of this selected low-risk sub-group of APS patients might explain the lack of thrombotic relapses after OA withdrawal. On the opposite, our study was more representative of a "true APS population" because it included patients with all APS manifestations and not only low-risk aPL profile at diagnosis.

We also found a low rate of relapses in our study, with a similar prospective follow-up duration and a shorter retrospective follow-up after aPL disappearance (8 years versus 6.7 years). However, comparison has to be made with caution because most of our patients remained under long-term anticoagulation.

On the contrary, the third previous study published by Medina et al. (6) reported that half of 24 patients had new thrombotic episode despite optimal anticoagulation after a 5 year retrospective follow-up. In this last study, 9 patients with previous arterial thrombosis were included.

Discrepancies between those previous studies might be explained by their small sample sizes, the heterogeneity of the population included across the studies and the difference in follow-up durations, which was significantly longer in the last study.

Similarly to Medina (6), our study included the different clinical phenotypes described in APS: 10 patients (37%) with arterial events, a patient with previous history CAPS, 4 patients with previous obstetrical events that may have a different evolutive profile, and 2 patients with APS nephropathy (10).

Unlike previous studies, which included patients with single aCL positivity at APS diagnosis, we included patients with high-risk aPL profile, such as triple positivity and the presence of LA. Data on thrombotic relapses remained reassuring in those patients after aPL disappearance, but mostly under VKA therapy. In our 4 patients in which OA was withdrawn, we found any thrombotic relapses. Unfortunately, the number of patients was too small to allow statistical comparisons.

II- Pathogenesis of thrombosis and aPL disappearance

Our findings suggested that when aPL had become persistently negative, it remained negative over time. The few positivizing observed in our patients were isolated and at very low titers (just above the threshold of positivity of the assays with the definition of 99 percentile). Pathogenic role of aPL in thrombosis are not fully understood, but implies several pathways including tissue factors and endothelial dysfunction, oxidative stress, toll-like receptors and NETosis (13). A direct pathogenic effect of aPL has been reported in vitro and in animal models after aPL injection (14, 15). Correlation between aPL titers and thrombotic risk has been described, and a risk scale has been proposed based on LA positivity and titers of aPL (16). It might be

hypothesized that after aPL disappearance those pathways are no longer activated and the thrombotic risk return to basal. However, the reversibility of pathogenic mechanisms implied in thrombosis after aPL disappearance is still an open question. It is also unknown if aPL might again be strongly positive after a new vascular aggression (second hit).

III- Strengths, limitations and perspectives

The present study has several limitations:

- Small sample size (even if this study includes the largest number of patients)
- A longer prospective follow-up could be necessary to identify new thrombotic events ,
- Our study did not allow to answer the question on OA withdrawal as most of our patients were under long-term anticoagulation.
- A comparison of the evolution of aPL persistent positive patients could be interesting

Our study has also many strengths:

- Despite its limited sample size, it is the first prospective study following patients with negative aPL from 2 centers.
- Our study includes “true APS patients” with history of both venous and arterial thrombosis and real aPL profile at diagnosis (LA and aPL triple positivity), which allow to extrapolate our findings to standard APS population.
- Data collection was standardized that allowed a low rate of missing data

CONCLUSION

This study suggests that APS patients with persistent negative aPL profile may have a lower thrombotic recurrence risk compared to patients with persistent positive aPL profile. During follow-up we reported more hemorrhagic events than thrombotic recurrences in patients who mostly remained under long-term anticoagulation. Of note, any relapse was observed in the 5 patients after OA withdrawal.

Larger studies with longer prospective follow-up are required to answer the question of the safety of OA withdrawal in stable APS after aPL disappearance.

DISCUSSION/CONCLUSION en français

Aucun des 27 patients de notre cohorte de patients avec SAPL confirmé ayant négativé leurs aPL n'a présenté d'événement thrombotique sur un suivi prospectif de 2 ans, chez des patients majoritairement sous AVK au long cours. Trois patients ont repositivé leurs aPL à un taux faible sans récurrence thrombotique. Deux patients ont présenté une récurrence thrombotique veineuse après diagnostic du SAPL (1 avant et 1 après négativation des aPL), alors que 6 patients ont eu des complications hémorragiques sous traitement. Après négativation des aPL, 4 patients ont bénéficié d'un switch des VKA pour une anti-agrégation, sans récurrence thrombotique.

I-Comparaison avec les données de la littérature

Caractéristiques initiales des patients

Notre cohorte présente certaines caractéristiques similaires à celles de la littérature (2,10,11) : une population avec un âge moyen autour de 40 ans, avec une nette prédominance féminine. Les manifestations cliniques les plus fréquentes étaient les accidents vasculaires cérébraux pour les SAPL artériels, et les thromboses veineuses profondes ou embolies pulmonaires pour les SAPL veineux, avec des fréquences similaires.

Nous avons en revanche une proportion de SAPL primaire plus importante (environ $\frac{3}{4}$ de nos patients, contre 50% dans la littérature), avec un taux un peu plus élevé de thrombophilies héréditaires.

Concernant les aPL, comparativement à Bazzan M. et al. (2) nous avons une proportion moins importante de patients avec des profils aPL à haut risque

thrombotique au diagnostic : triples positifs (14.8% vs 26%), double positifs et/ou positivité du LA seul (66.7% vs 96%). Ceci peut s'expliquer en partie par une proportion plus faible d'aCL dans notre cohorte (10).

Risque de récurrence thrombotique

Aucun des 27 patients de notre cohorte n'a présenté de récurrence thrombotique durant le suivi prospectif de 2 ans. Le risque thrombotique était similaire avant ou après négativation des aPL (0.5/100 patient années et 0.55/100 patient années respectivement). Les récurrences survenaient dans les 5 premières années d'évolution du SAPL (1.35/100 patient années). Aucun patient n'a présenté de récurrence thrombotique à l'arrêt de l'anticoagulation.

Le risque de récurrence thrombotique dans notre cohorte apparaît plus faible que celui décrit chez des patients SAPL (1.35 patient années vs 7.5 patient années). La plus faible proportion de patients triples positifs dans notre étude peut participer à cette constatation, ces patients étant à risque thrombotique plus élevé (5,12).

L'arrêt de l'anticoagulation est associé à un risque de récurrence thrombotique plus important dans le SAPL (3). Dans notre étude, 4 patients ont bénéficié d'un switch de l'anticoagulation pour une anti-agrégation sans récurrence au décours (les 2 récurrences thrombotiques ont eu lieu sous AVK seuls ou associés à une anti-agrégation plaquettaire).

Comparaison avec des études de suivi de patients avec aPL négatifs

Trois études de faible effectif ont étudié l'impact de la négativation des aPL sur le risque thrombotique, dont 2 (7,8) ne retrouvaient pas de récurrence thrombotique à l'arrêt de l'anticoagulation :

-Dans l'étude de Coloma Bazan et al. (7), aucun des 11 patients avec un SAPL veineux n'a présenté de récurrence sur un suivi de 18 mois.

-Criado Garcia et al. (8) ont suivi 10 patients pendant 21 mois (dont 4/6 avec aPL négatifs et facteurs de risque transitoire) sans récurrence thrombotique, et ont suggéré de discuter l'arrêt de l'anticoagulation chez ce profil de patients.

Néanmoins, les populations de ces 2 études ne sont pas représentatives de l'ensemble des patients présentant un SAPL, s'intéressant essentiellement à des patients avec SAPL veineux et présence de facteurs de risque transitoires, donc à risque de rechute thrombotique moindre. L'inclusion de ce type de patients peut expliquer l'absence de récurrence thrombotique, et ce malgré l'arrêt de l'anticoagulation. Notre étude a au contraire inclus des patients avec tous les types de SAPL.

Nous avons par ailleurs retrouvé un taux de rechute moins important dans notre étude, avec un suivi prospectif, et un suivi rétrospectif un peu moins long dans notre étude (8 ans vs 5 ans). Toutefois, la comparaison doit rester prudente du fait du maintien d'une anticoagulation prolongée chez la plupart de nos patients.

-A l'opposé, l'étude de Medina et al. (6) a retrouvé une récurrence thrombotique chez la moitié des 24 patients (dont 9 avec un phénotype thrombotique artériel au diagnostic) sur un suivi de 5 ans, et ce malgré une anticoagulation optimale.

Ces résultats contradictoires peuvent être expliqués par le faible effectif de ces études, par l'hétérogénéité des patients inclus et la différence dans les durées de suivi, qui était plus long dans la dernière étude.

Dans notre étude comme celle de Médina (6), 10 patients (37%) présentaient un SAPL artériel, mais également un patient avec un CAPS au diagnostic, et seulement 4 avec un phénotype obstétrical dont le profil évolutif est peut être différent (10). Nous avons également 2 patients avec une atteinte rénale du SAPL.

Contrairement aux précédentes études, qui incluait des patients avec des aCL simples positifs au diagnostic, notre étude a également inclus des patients avec un profil aPL haut-risque (triple positivité, présence d'un LA). Les données sur le risque thrombotique sont rassurantes chez ces patients après négativation des aPL, mais la plupart des patients étaient sous AVK. Aucun des 4 patients ayant bénéficié d'un arrêt de l'anticoagulation n'a eu de récurrence thrombotique. Malheureusement, l'effectif est trop faible pour permettre une analyse statistique.

II- Physiopathologie de la thrombose dans le SAPL et de la disparition des aPL

Nos résultats suggèrent que lorsque les aPL deviennent négatifs de façon prolongée, ils ne se repositivent pas. Les rares patients ayant repositivé leurs aPL dans notre cohorte avaient des titres d'aPL faibles, à la limite de la significativité en prenant la définition au 99^{ème} percentile. Le rôle physiopathologique des aPL dans la thrombose n'est pas complètement compris, mais implique plusieurs mécanismes dont des dysfonctions endothéliales, le stress oxydatif, la participation de toll-like récepteurs et de NETose (13). Un rôle pathogène direct des aPL a été décrit dans des modèles in vitro et dans des modèles animaux (14,15). La corrélation entre le titre des aPL et le

risque thrombotique a été décrit, et une échelle de risque basée sur la positivité du LA et le titre des aPL a été proposée (16). On peut supposer qu'après la négativation des aPL, les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la thrombose ne sont plus activés et reviennent à un état basal. Cependant, la réversibilité de ces mécanismes à la négativation des aPL n'est pas certaine. La présence d'aPL après une nouvelle agression vasculaire est également inconnue (second hit).

III- Forces et faiblesses

Notre étude présente des limites :

- Le faible effectif de notre cohorte (même s'il s'agit de la plus grande cohorte décrite dans la littérature à ce jour).
- La nécessité d'un suivi prospectif prolongé pour identifier de nouveaux évènements thrombotiques.
- Notre étude ne permet pas de répondre à la question de l'arrêt de l'anticoagulation, puisque la majorité des patients restait anticoagulée
- L'absence de bras contrôle pour comparaison avec des patients avec aPL positifs

Notre étude présente aussi plusieurs forces :

- Le suivi prospectif des patients dans une cohorte bi-centrique de patients avec aPL négatifs n'avait jamais été réalisé

- La présence dans notre cohorte de patients avec des SAPL artériels et veineux, avec des vrais profils aPL au diagnostic (LA et triple positivité) ce qui permet d'extrapoler nos résultats à la population standard.
- Le recueil des données était standardisé, permettant de limiter le nombre de données manquantes.

En conclusion, notre étude suggère que les patients avec un SAPL présentant des aPL négatifs persistants pourraient avoir un risque thrombotique moins élevé que des patients avec aPL positifs persistants.

Durant le suivi, nous avons observé plus de complications hémorragiques que de récurrences thrombotiques dans une cohorte de patients majoritairement sous anticoagulation prolongée. Par ailleurs, aucune récurrence thrombotique n'est survenue chez les patients ayant bénéficié d'un arrêt de l'anticoagulation.

Des études avec un suivi prospectif prolongé sur un effectif plus important sont nécessaires pour répondre à la question de l'arrêt de l'anticoagulation chez les patients SAPL stables après négativation des aPL.

ANNEXES

N. (%)

Age, years mean (SD)

39 years +/- 15

Sex

Male

6 (22.2 %)

Female

21 (77.8 %)

APS characteristics

16 (59.3 %)

History of venous thrombosis

10 (37 %)

History of arterial thrombosis

4 (19 % of women)

History of pregnancy event

1 (3.7 %)

CAPS

2 (7.4 %)

Renal involvement

Associated auto-immunity

7 (25.9 %)

Systemic Lupus Erythematosus

5 (18.5 %)

Other auto-immune disease

2 (7.4%)

Antinuclear antibodies positivity

10 (38.5 %)

Familial history of auto-immune disease

5 (18.5 %)

Cardiovascular risk factors

Tabacco

5 (18.5 %)

Diabetes

1 (3.7 %)

Dyslipidemia

7 (25.9 %)

Obesity

3 (11.1 %)

Arterial Hypertension

7 (25.9 %)

Thrombophilia

5 (18.5 %)

Table 1: Main patients' characteristics at inclusion

Abbreviation list : SD : Standard Deviation, APS : Antiphospholipid Syndrome, CAPS : Catastrophic Antiphospholipid Syndrome

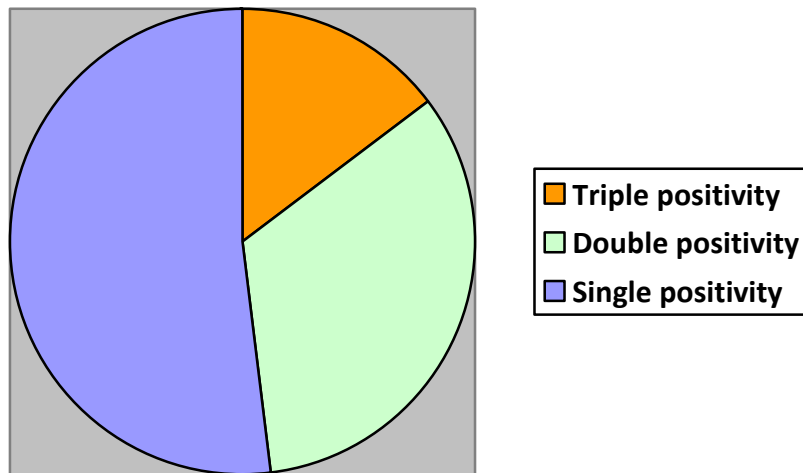
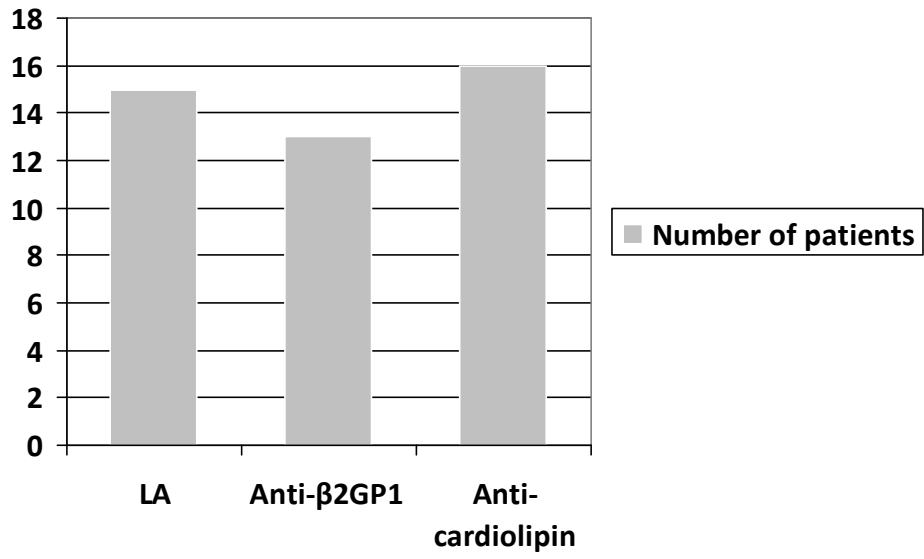


Figure 1a and 1b : Antibodies profile at diagnosis

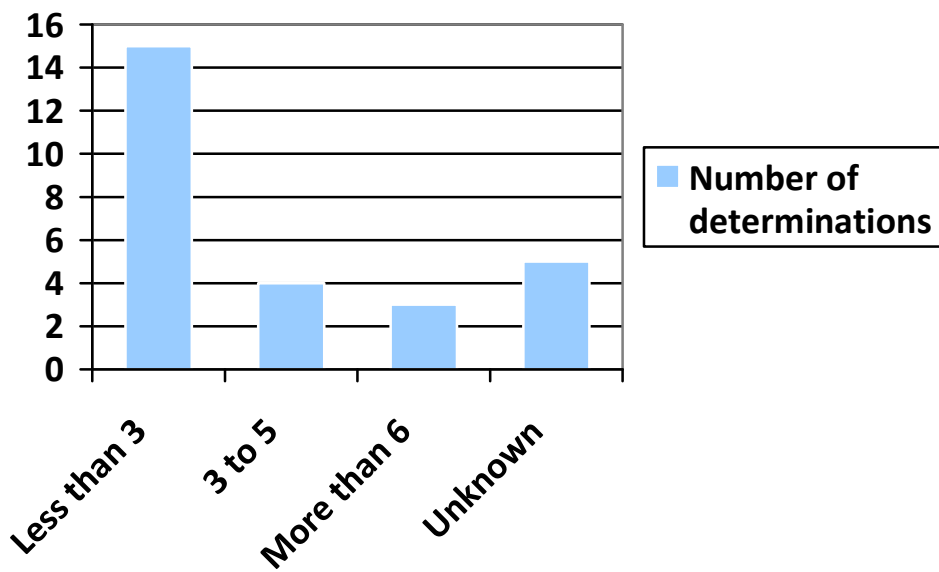
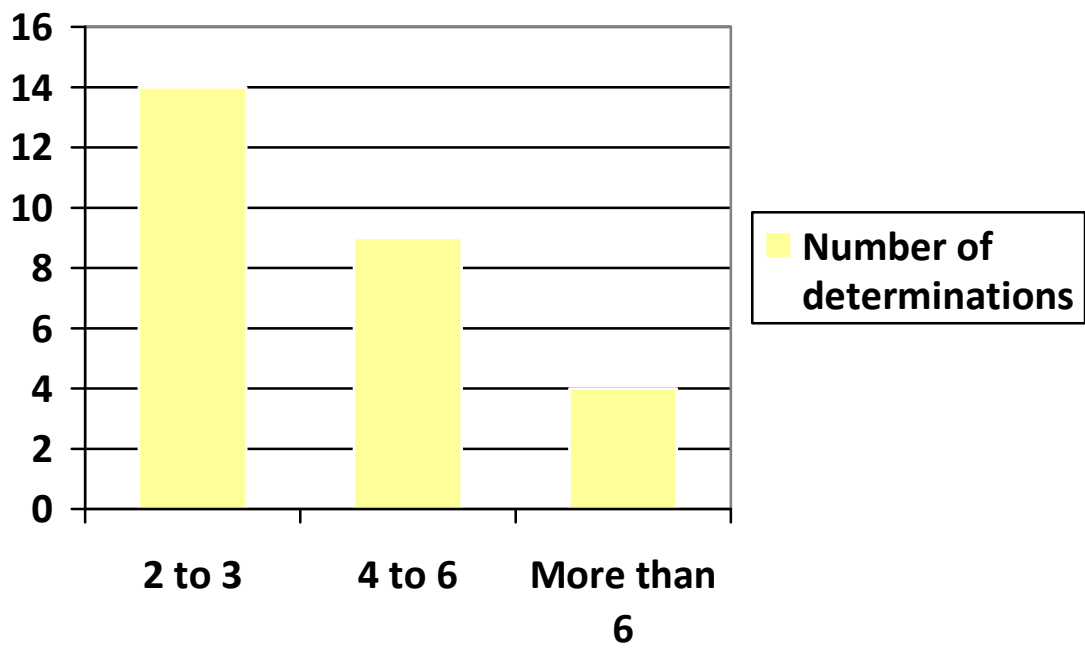


Figure 2 and 3 :

2- Number of negative determinations after aPL disappearance

3- Number of positive determinations before aPL disappearance

BIBLIOGRAPHY

- 1- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006 Feb;4(2):295-306
- 2- Bazzan M, Vaccarino A, Stella S, Sciascia S, Montaruli B, Bertero MT, et al. Patients with antiphospholipid syndrome and thrombotic recurrences: A real world observation (the Piedmont cohort study). *Lupus.* 2016 Apr;25(5):479-85.
- 3- Yelnik CM, Urbanski G, Drumez E, Caron C, Maillard H, Morell-Dubois S, et al. Anticoagulation withdrawal in antiphospholipid syndrome: a retrospective matched-control study. *Lupus.* 2018 Mar;27(3):357-64.
- 4-Riancho-Zarrabeitia L, Daroca G, Muñoz P, López-Hoyos M, Haya A, Martínez-Taboada VM. Serological evolution in women with positive antiphospholipid antibodies. *Semin Arthritis Rheum.* 2017 12;47(3):397-402
- 5- Yelnik CM, Urbanski G, Drumez E, Sobanski V, Maillard H, Lanteri A, et al. Persistent triple antiphospholipid antibody positivity as a strong risk factor of first thrombosis, in a long-term follow-up study of patients without history of thrombosis or obstetrical morbidity. *Lupus.* 2017 Feb;26(2):163-9.
- 6- Medina G, Briones-García E, Cruz-Domínguez MP, Flórez-Durante OI, Jara LJ. Antiphospholipid antibodies disappearance in primary antiphospholipid syndrome: Thrombosis recurrence. *Autoimmunity Reviews.* 2017 Apr;16(4):352-4.
- 7- Coloma Bazán E, Donate López C, Moreno Lozano P, Cervera R, Espinosa G. Discontinuation of anticoagulation or antiaggregation treatment may be safe in

patients with primary antiphospholipid syndrome when antiphospholipid antibodies became persistently negative. *Immunol Res.* 2013 Jul;56(2-3):358-61.

8- Criado-García J, Fernández-Puebla R, López Jiménez L, Velasco F, Santamaría M, Blanco-Molina A. Retirada de la anticoagulación en el síndrome antifosfolípido primario cuando se negativizan los anticuerpos anticardiolipina. *Revista Clínica Española.* 2008 Mar;208(3):135-7.

9- Schulman S, Angerås U, Bergqvist D, Eriksson B, Lassen MR, Fisher W; Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Definition of major bleeding in clinical investigations of antihemostatic medicinal products in non-surgical patients. *J Thromb Haemost.* 2010;8:202-4.

10- Gómez-Puerta JA, Cervera R. Diagnosis and classification of the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun.* 2014 Feb-Mar;48-49:20-5.

11- 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.

12 10-Pengo V, Ruffatti A, Legnani C, Gresele P, Barcellona D, Erba N, et al. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2010 Feb;8(2):237-42

13- Sciascia S, Coloma-Bazán E, Radin M, Bertolaccini M, López-Pedrera C, Espinosa G, et al. Can we withdraw anticoagulation in patients with antiphospholipid syndrome after seroconversion?. *Autoimmunity Reviews.* 2017 Nov;16(11):1109-14.

14- Pierangeli S, Harris E. In Vivo Models of Thrombosis for the Antiphospholipid Syndrome. *Lupus*. 1996 Oct;5(5):451-15.

15- Pierangeli SS, Colden-Stanfield M, Liu X, Barker JH, Anderson GL, Harris EN. Antiphospholipid Antibodies From Antiphospholipid Syndrome Patients Activate Endothelial Cells In Vitro and In Vivo. *Circulation*. 1999 Apr 20;99(15):1997-2002.

16- Sciascia S, Cosseddu D, Montaruli B, Kuzenko A, Bertero MT. Risk Scale for the diagnosis of antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2011 Aug;70(8):1517-8..

AUTEUR : Nom : PUIGRENIER Prénom : Sébastien

Date de Soutenance : 8 JUIN 2020

Titre de la thèse :

Thèse – Médecine – Lille 2020

DES + spécialité : médecine interne

Mots clés : anti-phospholipides , négativation, anticoagulation, récurrence thrombotique

Contexte : Le syndrome des anti-phospholipides (APS) est une maladie auto-immune rare associant des thromboses récurrentes avec la présence d'anticorps anti-phospholipides (aPL) qui peuvent disparaître chez certains patients au cours du suivi. Le risque de récurrence thrombotique après négativation des aPL reste incertain. Notre objectif est d'évaluer le risque thrombotique dans l'APS après négativation des aPL.

Méthodes : Etude prospective bi-centrique observationnelle de patients avec un APS diagnostiqué selon les critères internationaux avec au moins 2 dosages d'aPL négatifs consécutifs pendant leur suivi. La gestion de l'anticoagulation était laissée à l'appréciation du clinicien.

Résultats : 27 patients (dont 21 femmes, âge moyen de 39 ans +/- 15 ans) ont été inclus et suivis entre janvier 2018 et janvier 2020. Au diagnostic, 7 patients avaient un antécédent de thrombose artérielle, 13 de thrombose veineuse, 3 mixte artériel et veineux, et 4 patientes des complications obstétricales. Au diagnostic, 10 patients avaient un anticoagulant lupique (LA) positif, 16 un anti-cardiolipine (aCL) positif, 13 un anti- $\beta 2$ glycoprotéine 1 (anti- $\beta 2$ -GP1) positif, et 4 étaient triple positifs. Après le diagnostic de SAPL, 2 patients ont présenté une récurrence d'événement thrombotique (1 avant et 1 après négativation des aPL). La durée médiane d'évolution du APS à l'inclusion était de 11 ans (2-26 ans), le suivi moyen après négativation des aPL de 6 ans, avec un nombre de dosages positifs des aPL avant négativation de 2.6 (0-10). Avant la négativation des aPL, 17 patients étaient sous anticoagulation au long cours, 7 patients sous anti-agrégation et 3 sous anti-agrégation et anticoagulation. Quatre patients ont eu un switch pour un antiagrégant après négativation. Aucun patient n'a présenté de nouvel événement thrombotique pendant le suivi de l'étude.

Conclusion : Nos résultats suggèrent que le risque de rechute thrombotique chez les patients qui négativent leurs aPL au cours du temps est faible. Néanmoins, la plupart des patients étaient toujours traités par anticoagulation au long cours durant l'étude. D'autres études prospectives, ou essais randomisés, sont nécessaires pour conclure quant à la possibilité d'interrompre les anticoagulants.

Composition du Jury :

Président : Pr HACHULLA

Assesseurs : Pr LAMBERT, Pr DUBUCQUOI, Dr QUEMENEUR, Dr YELNIK