



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2022

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Groupes sanguins et sclérodermie systémique : influence sur les
caractéristiques cliniques et les paramètres d'activation
endothéliale**

Présentée et soutenue publiquement le 17/06/2022 à 18h
au Pôle Recherche
par **Aurore COLLET**

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Eric HACHULLA

Assesseurs :

Monsieur le Professeur Sylvain DUBUCQUOI

Monsieur le Docteur Christophe ZAWADZKI

Directeur de thèse :

Monsieur le Professeur David LAUNAY

Avertissement

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

Sommaire

Avertissement	2
Remerciements	Erreur ! Le signet n'est pas défini.
Sommaire	3
Abréviations françaises	5
Abréviations anglaises	6
Résumé (français)	7
Introduction (français)	7
1. Les groupes sanguins ABO	8
a. Généralités	8
b. Associations pathologiques	9
2. La sclérodermie systémique	10
a. Généralités	10
b. Atteinte vasculaire et activation endothéliale.....	11
c. Lien avec les groupes sanguins	12
3. Objectifs de l'étude	12
Abstract	14
Introduction (anglais)	15
Methods	17
1. Patients and eligibility criteria	17
2. Data collection	17
a. Characteristics of the disease	17

b. Phenotypical evaluation of blood groups	17
c. Genotyping of blood groups.....	17
d. Hemostasis and endothelial activation parameters	18
3. Ethical aspects	19
4. Funding	19
5. Statistical analysis	19
Results	21
1. Participants characteristics.....	21
2. Blood group repartition into the SSc population and comparison with the general population	24
a. Phenotypical study	24
b. Genotyping study.....	25
3. Association between phenotypical ABO blood group and SSc characteristics	28
4. Association between haemostasis and endothelial activation parameters and SSc characteristics	33
Discussion	40
Conclusion.....	45
Discussion et conclusion (français).....	Erreur ! Le signet n'est pas défini.
Bibliographie.....	52
Annexes	58

Abréviations françaises

CRS	Crise rénale sclérodermique
CVF	Capacité vitale forcée
dcScS	Sclérodermie systémique cutanée diffuse
GWAS	<i>Genome wide association studies</i>
HTAP	Hypertension artérielle pulmonaire
lcScS	Sclérodermie systémique cutanée limitée
ScS	Sclérodermie systémique
TA	Thrombose artérielle
TV	Thrombose veineuse
VEMS	Volume expiratoire maximal par seconde
VWF	Facteur Willebrand

Abréviations anglaises

6MWT	6-minutes walking test
AAb	Auto-antibody
ACA	Anti-centromere antibodies
AT	Arterial thrombosis
CRP	C-reactive protein
dcSSC	Diffuse cutaneous systemic sclerosis
DLCO	Diffusion capacity of the lung for carbon monoxide
EUSTAR	European Scleroderma Trials and Research Group
FVC	Forced vital capacity
FVIII	Factor VIII
GWAS	Genome wide association study
ILD	Interstitial lung disease
lcSSC	Limited cutaneous systemic sclerosis
FEV	Forced expiratory volume
mRSS	Modified Rodnan Skin Score
NYHA	New-York Heart Association
PAH	Pulmonary arterial hypertension
SNPs	Single Nucleotid Polymorphisms
SSc	Systemic sclerosis
VT	Venous thrombosis
VWF	Willebrand factor
VWF:Act	Willebrand factor activity
VWF:Ag	Antigenic Willebrand factor

Résumé (français)

Introduction : Les groupes sanguins A, B et AB confèrent un sur-risque de thrombose, de pathologies fibrosantes et de maladies auto-immunes. La sclérodermie systémique (ScS) associant activation endothéliale, fibrose et auto-immunité, l'objectif de notre travail était d'évaluer la répartition des groupes ABO chez les patients ScS et leur association avec les manifestations de la maladie.

Matériel et méthodes : Nous avons inclus les patients suivis pour une ScS en médecine interne au CHU de Lille. Le groupe sanguin phénotypique des patients était recueilli *via* le logiciel de l'EFS, après appel téléphonique des patients ou lors de leur venue en hospitalisation. Le génotypage des groupes sanguins était réalisé par recherche de polymorphismes du gène *ABO* par méthode Taqman. Des dosages de facteur Willebrand (VWF:Ag et VWF:Act) et de facteur VIII (FVIII) étaient également réalisés.

Résultats : Nous avons inclus 504 patients pour l'étude phénotypique, et 131 pour l'étude génotypique. La répartition phénotypique des groupes sanguins ABO des patients ScS était comparable à celle de la population générale ($p = 0,06$). Il n'y avait pas non plus de différence en termes de diplotype ($p = 0,31$). En revanche, les haplotypes O1 et B étaient plus fréquents chez les patients ScS que dans la population générale (respectivement, 65,6% vs. 61,6%, et 8,8% vs. 5,8%, $p = 0,01$). La fréquence de l'atteinte interstitielle pulmonaire, de l'hypertension artérielle pulmonaire, des calcinoses, des ulcères digitaux, de l'atteinte digestive, d'un antécédent de thrombose veineuse, et le score de Medsger était plus élevés chez les patients des groupes non-O, bien que n'atteignant pas le seuil de significativité. Les patients de groupes sanguins non-O avaient des taux de FVIII plus élevés que les patients de groupe O ($206,5 \pm 53,0\%$ vs. $168,1 \pm 45,6\%$, $p < 0,001$). On retrouvait des résultats similaires pour les taux de VWF:Ag ($196,2 \pm 73,5\%$ vs. $160,4 \pm 68,6\%$, $p < 0,001$) et de VWF:Act ($181,4 \pm 74,3\%$ vs. $141,1 \pm 54,1\%$, $p < 0,001$). Les taux de VWF:Ag, VWF:Act et de FVIII étaient élevés par rapport à la norme, et corrélés à la sévérité de la ScS et aux atteintes d'organe.

Conclusion : La répartition des groupes sanguins ABO des patients ScS ne diffère pas significativement de celle de la population générale. En revanche, les groupes sanguins non-O pourraient être associés à une fréquence plus importante des complications pulmonaires et vasculaires, ainsi qu'à un sur-risque thrombotique au cours de la ScS.

Introduction (français)

1. Les groupes sanguins ABO

a. Généralités

Les antigènes des groupes sanguins ABO sont déterminés par des enzymes qui catalysent la fixation de sucres sur une structure de base, le déterminant H. Ces enzymes produisent les structures terminales de déterminants oligosaccharidiques complexes (N-acétylgalactosamine pour le groupe A, galactose pour le groupe B, déterminant H seul sans oligosaccharide supplémentaire pour le groupe O). Le gène *ABO* est situé sur le bras long du chromosome 9 et comporte 7 exons. L'enzyme α -(1,3)N-acétylgalactosaminyltransférase codée par l'allèle A du gène *ABO* catalyse la synthèse de l'antigène A par fixation d'une N-acétylgalactosamine sur le déterminant H. L'allèle B diffère de l'allèle A par la substitution de 7 nucléotides, et catalyse la fixation d'un galactose permettant la formation de l'antigène B. L'allèle O ne diffère de l'allèle A que par la délétion d'un seul nucléotide, qui entraîne un décalage du cadre de lecture, l'apparition d'un codon stop prématuré et la production d'une protéine tronquée. Le polymorphisme du gène *ABO* est plus complexe encore que ce polymorphisme sérologique. En effet, l'allèle A est lui-même divisé en allèles A1 et A2, ce dernier différant du premier par un décalage du cadre de lecture entraînant une extension de 21 acides aminés sur la protéine. Enfin, il existe également plusieurs allèles O, notamment les allèles O1 et O2 (1).

Les antigènes du système ABO sont exprimés sur les globules rouges mais aussi sur de nombreux autres organes comme le tractus digestif, l'endothélium vasculaire ou encore les plaquettes (1). Cela explique que les groupes sanguins, en plus de jouer

un rôle dans le cadre des transfusions, sont également associés à de nombreuses pathologies (2).

b. Associations pathologiques

Le lien entre groupes sanguins et risque de **maladie thrombo-embolique** est étudié depuis de nombreuses années. Il a été montré que le groupe O conférait une protection vis-à-vis de la maladie thrombo-embolique veineuse (3). Le génotypage *ABO* avec étude des allèles A1, A2, B, O1 et O2 serait plus précis que l'étude du phénotype O/non-O pour estimer le risque thrombotique des patients. En effet, l'équipe de Goumidi a pu montrer que l'haplotype A2 était associé à un sur-risque modéré de thrombose veineuse (TV) par rapport à l'haplotype O1 (odds ratio = 1,2), alors que les haplotypes A1 et B étaient associés à un sur-risque plus important (odds ratio = 1,8), et l'haplotype O2 à une diminution du risque (odds ratio = 0,8) (4). Les groupes sanguins pourraient également jouer un rôle dans le mécanisme de la thrombose artérielle (TA) (5). Ce lien groupe sanguin-thrombose repose sur l'association du groupe sanguin O avec des taux de VWF plus faibles de 25% (6). En effet, chez les patients du groupe O, les déterminants oligosaccharidiques des groupes sanguins *ABO* situés à la surface du facteur Willebrand (VWF) sont plus courts que chez les patients de groupe non-O ; la clairance plasmatique par les macrophages et le clivage du VWF par la protéine ADAMTS13 sont alors plus importants (3). Un taux plus faible de VWF chez les patients du groupe O entraîne une moindre activité du FVIII et donc un risque moindre de thrombose.

Par ailleurs, plusieurs études ont montré que les groupes sanguins étaient associés à certaines **pathologies fibrosantes**. Au cours de l'infection par le virus de l'hépatite C, les groupes sanguins non-O sont un facteur de risque indépendant de progression

vers la fibrose hépatique et donc vers la cirrhose (7). Il a également été montré que les groupes sanguins non-O étaient des facteurs de risque de développement de blocs atrio-ventriculaires, liés à l'apparition d'une fibrose intra-cardiaque (8). Le groupe sanguin A est considéré comme étant un facteur de risque de développement de cicatrices chéloïdes (9). Le lien physiopathologique expliquant l'impact des groupes sanguins sur le développement de la fibrose pourrait passer par leur influence sur le risque thrombo-embolique. En effet, la présence de microthromboses dans les tissus pourrait amplifier le processus fibrosant (7). Dans un modèle murin porteur d'une mutation pro-thrombotique du facteur V (facteur V Leiden), l'apparition de la fibrose hépatique était ralentie par une anticoagulation par Warfarine (10).

Enfin, les groupes sanguins sont également associés épidémiologiquement à de nombreuses **maladies auto-immunes** (11,12). Par exemple, il a pu être montré qu'il existait une sur-représentation des groupes sanguins A et B chez les patients souffrant de diabète de type I (13), une sous-représentation du groupe O chez les patients suivis pour une sclérose en plaques (14), ou encore une sur-représentation du groupe B chez les patients présentant une polyarthrite rhumatoïde (11). Le mécanisme expliquant ce déséquilibre de répartition des groupes sanguins au sein des patients atteints de pathologies auto-immunes est, à l'heure actuelle, encore mal compris.

2. La sclérodémie systémique

a. Généralités

Parmi les maladies auto-immunes, la sclérodémie systémique (ScS) est une pathologie complexe d'étiologie inconnue. Il s'agit d'une maladie rare, dont l'incidence est de 10 à 20 cas par million d'habitants par an (15). Elle se caractérise par la

survenue d'une fibrose progressive de la peau et des organes internes, et par une vasculopathie dans un contexte dysimmunitaire (16). On en distingue 2 formes principales en fonction de l'extension de l'atteinte cutanée : la forme cutanée limitée (lcScS), où l'atteinte cutanée ne dépasse pas les coudes ni les genoux ; et la forme cutanée diffuse (dcScS), où l'atteinte cutanée est plus étendue, pouvant atteindre le tronc et la partie proximale des membres. Il existe également une forme sans atteinte cutanée : la ScS *sine scleroderma*. On retrouve des stigmates d'auto-immunité avec la présence d'auto-anticorps (anti-centromères, anti-Scl70, anti-ARN polymérase III) dans le sérum des patients. Il s'agit de la plus sévère des maladies auto-immunes, avec une survie à 10 ans de 62,5%. La mortalité est principalement liée à l'atteinte fibrosante pulmonaire et au risque d'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) (15).

b. Atteinte vasculaire et activation endothéliale

L'atteinte vasculaire touche à la fois la micro- et la macro-circulation. Les atteintes de la microcirculation sont les plus fréquentes et se manifestent principalement par la survenue d'un phénomène de Raynaud (présent chez 95% des patients ScS) et peuvent se compliquer de la survenue d'ulcères digitaux et de calcinose sous-cutanée. L'atteinte micro-circulatoire peut également entraîner une hypertension artérielle pulmonaire ou encore des atteintes rénales (crise rénale sclérodermique, CRS) (16). Il existe également une atteinte macro-circulatoire, avec notamment une fréquence élevée des thromboses de l'artère ulnaire (17), pouvant toucher jusque 25% de patients (18).

De nombreuses données de la littérature mettent en évidence une dérégulation de la coagulation et de la fibrinolyse dans la ScS à l'origine de thromboses de la microcirculation avec des dépôts de fibrine (16). Les lésions tissulaires présentes dans la ScS entraînent une exposition du facteur tissulaire, à l'origine de l'initiation de la

cascade de la coagulation (19). Certaines études se sont intéressées aux marqueurs d'activation endothéliale au cours de la ScS : il a été montré que les patients sclérodermiques présentaient des concentrations plasmatiques de VWF (20) et de E-sélectine (21) plus élevées que les témoins. Les taux de E-sélectine étaient corrélés à la présence d'une atteinte fibrosante pulmonaire.

c. Lien avec les groupes sanguins

Ainsi, sur le plan physiopathologique, la ScS associe :

- (i) une atteinte vasculaire avec activation des cellules endothéliales,
- (ii) une activation des cellules de l'immunité innée et adaptative avec production d'auto-anticorps,
- (iii) et une synthèse excessive de matrice extracellulaire par les fibroblastes conduisant à la fibrose (22).

Les groupes sanguins pourraient donc jouer un rôle sur ces 3 grandes composantes physiopathologiques. A l'heure actuelle, seule une étude s'est intéressée à la répartition des groupes sanguins dans une petite cohorte suédoise de 150 patients ScS. La répartition des groupes sanguins chez les patients ScS ne semblait pas différer de celle de la population générale (23). Cependant, cette étude n'a pas recherché d'association avec les différentes atteintes cliniques de la SSc, et les groupes sanguins ont été étudiés uniquement sur le plan phénotypique et non sur le plan génotypique.

Nous nous sommes intéressés à l'impact des groupes sanguins A, B et O sur la ScS et ses caractéristiques clinico-biologiques.

3. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de ce travail était de décrire la répartition des groupes sanguins ABO à la fois sur le plan phénotypique et génotypique dans une cohorte de patients suivis pour une ScS.

Les objectifs secondaires étaient :

- (i) De comparer la répartition des groupes sanguins ABO entre les patients suivis pour une ScS et la population générale,
- (ii) D'évaluer l'association entre les groupes sanguins ABO et les caractéristiques clinico-biologiques de la ScS d'une part ; et les marqueurs d'activation endothéliale d'autre part.
- (iii) D'évaluer l'association entre les marqueurs d'activation endothéliale et les caractéristiques clinico-biologiques de la ScS.

Abstract

Introduction: Blood groups A, B and AB confer an increased risk of thrombosis, fibrosis and autoimmune diseases. As systemic sclerosis (SSc) is associated with endothelial activation, fibrosis and autoimmunity, the aim of our work was to evaluate the distribution of ABO groups in SSc patients and their association with disease manifestations.

Material and methods: We included patients followed for SSc in internal medicine at the University Hospital of Lille. Phenotypic blood group of patients was collected *via* the EFS software, after a phone call to the patients or during their hospitalization. Blood group genotyping was performed by searching for ABO gene polymorphisms using the Taqman method. Willebrand factor (VWF:Ag and VWF:Act) and factor VIII (FVIII) assays were also performed.

Results: We included 504 patients for the phenotypic study, and 131 for the genotypic study. The phenotypic distribution of ABO blood groups in SSc patients was comparable to that of the general population ($p = 0.06$). There was also no difference in diplotype repartition ($p = 0.31$). However, haplotypes O1 and B were found more frequently in SSc patients than in the general population (65.6% vs. 61.6%, and 8.8% vs. 5.8%, respectively, $p = 0.01$). The incidence of pulmonary interstitial disease, pulmonary hypertension, calcinosis, digital ulcers, digestive disease, venous thrombosis, and Medsger score were higher in patients in the non-O groups, although it did not reach statistical significance. Non-O patients had higher FVIII levels than O patients ($206.5 \pm 53.0\%$ vs. $168.1 \pm 45.6\%$, $p < 0.001$). Similar results were found for VWF:Ag ($196.2 \pm 73.5\%$ vs. $160.4 \pm 68.6\%$, $p < 0.001$) and VWF:Act levels ($181.4 \pm 74.3\%$ vs. $141.1 \pm 54.1\%$, $p < 0.001$). VWF:Ag, VWF:Act and FVIII levels were elevated relative to the norm, and correlated with SSc severity and organ damage.

Conclusion: The ABO blood group distribution of SSc patients did not differ significantly from that of the general population. However, non-O blood groups may be associated with a higher frequency of pulmonary and vascular complications, as well as with an increased risk of venous thrombosis in SSc.

Introduction (anglais)

The ABO(H) blood group antigens are determined by enzymes, encoded by the *ABO* gene, which catalyse the binding of sugars to a basic structure, the H determinant. They are expressed on red blood cells but also on many other cells in organs such as digestive tract, vascular endothelium and platelets. They can therefore play a role not only in blood transfusion but also in diseases (1). O blood group has been shown to confer protection against venous thromboembolic disease (3) and arterial thrombosis (5). Several studies have also shown that non-O blood groups are associated with fibrosing diseases (liver fibrosis in hepatitis C virus infection (7), keloid scars (9), development of atrio-ventricular blocks linked to the development of intra-cardiac fibrosis (8)). Finally, blood groups are also epidemiologically associated with many autoimmune diseases (11,12), without a clear explanation.

Among autoimmune diseases, systemic sclerosis (SSc) is a condition characterized by the development of progressive fibrosis of the skin and internal organs, and by vasculopathy, in a context of dysimmunity (16). There is vascular involvement in both the micro- (16) and macro-circulation (17). The pathophysiology of SSc combines (i) vascular damage with activation of endothelial cells, (ii) activation of innate and adaptive immune cells with production of autoantibodies, (iii) excessive synthesis of extracellular matrix by fibroblasts leading to fibrosis (22).

Blood groups may play a role in these three major pathophysiological components. To the best of our knowledge, the repartition of phenotypic blood groups in SSc has been described only in a limited cohort of 150 SSc patients, showing that it was not different

from that of the Swedish general population (23). Yet, there is no data on the association between blood groups and clinical characteristics of SSc, nor on genotypic blood groups repartition in SSc in the literature. We aimed to fill this gap by assessing phenotypic and genotypic blood groups in SSc and their association with the characteristics of the disease.

Methods

1. Patients and eligibility criteria

Prevalent and incident cases of SSc followed in the internal medicine department of the Lille University Hospital were included between January 2019 and January 2022.

Eligibility criteria were:

- Be over 18 years of age,
- Meet the 2013 ACR/EULAR SSc classification criteria (24).

2. Data collection

a. Characteristics of the disease

Patient demographics data and clinical characteristics of SSc were collected in the Lille University Hospital scleroderma patient database. This database is systematically maintained on an annual basis for all patients followed for SSc at the Lille University Hospital.

b. Phenotypical evaluation of blood groups

The patients' ABO blood groups were first collected *via* the *Etablissement français du sang* (EFS) software. If the data was not available in this software, patients were contacted by phone to ask for the blood group registered on their blood group card. Finally, for patients who were newly diagnosed with SSc during the study (incident cases), phenotypical blood group typing was performed during the hospitalization for the initial work-up of the disease.

c. Genotyping of blood groups

ABO genotype of patients was studied by searching for 6 different Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in the ABO gene (**Table 1**), by Taqman method. ABO patient

diplotype (A1O1, O1O1, A1B ...) was then defined by combining the 2 alleles carried by the patient.

Table 1: list of the SNPs permitting to define the ABO genotype
SNP:Single Nucleotid Polymorphims

Allele	SNP
O1	RS8176719
A1/O2	RS579459
B	RS8176749
A1	RS2519093
A2	RS1053878
O2	RS41302905

d. Hemostasis and endothelial activation parameters

To evaluate the endothelial activation and haemostasis parameters, the following biological data were collected when patients were admitted to hospital for annual reassessment of the SSc:

- Factor VIII (chromogenic assay, Trinoclot aPTT HS, Stago)
- VWF antigen (VWF:Ag) (immuniturbidimetry, LIAPHEN vWF:Ag, Hyphen Biomed),
- VWF activity (VWF:Act) (platelet binding activity, GPIbM, Innovance vWF:Act, Siemens),
- D-dimers (immuniturbidimetry, Liatest D-DI PLUS, Stago)
- Fibrinogen (liquid Fib, Stago).

3. Ethical aspects

Our study complies with institutional ethical standards and those of the national research committee, the database and biobanking fulfill the ethical requirement (RCB 2019-A01083-54), and patients signed an informed consent.

All collected data were anonymized in compliance with French Regulation. Data collection and archiving were realized in accordance with the *Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés* (CNIL) guidelines.

For biomolecular analyses, a consent form for participation in RIPH research was signed by the patients.

4. Funding

This study received €25,000 in funding from the OCTAPHARMA laboratory to finance the genotyping of ABO blood groups, the data management and maintenance of the biobank. Octapharma had no role in analyzing the data nor in the writing of the manuscript.

5. Statistical analysis

Qualitative variables were described in terms of frequencies and percentages. Quantitative variables were described by their mean and standard deviation, or by their median and interquartile range in case of a non-Gaussian distribution. The normality of the distributions was checked graphically and using the Shapiro-Wilk test.

The Chi-square test was used to compare the distribution of phenotypic blood groups to that of the general French population (1), to compare the distribution of diplotypes and simplified diplotypes to that of a representative sample of the general German population (25) and haplotype distribution to that of a sample of the general French population (26).

Patient and disease characteristics were compared between patients of O and non-O groups using the Chi-square test (or Fisher's exact test if theoretical size <5) for categorical variables and Student's t-test (or Mann-Whitney U test if non-Gaussian distribution) for quantitative variables.

The association of VWF and FVIII levels with patient and disease characteristics was assessed using Student's t-test or analysis of variance (ANOVA) for categorical variables, and Pearson's or Spearman's correlation coefficient if non-Gaussian distribution for quantitative variables.

The significance level was set at 5%. Statistical analyses were performed using SAS software (SAS Institute version 9.4).

Results

1. Patients characteristics

Five hundred and seventy-two patients were identified as meeting the eligibility criteria. After exclusion of 68 patients for whom we were unable to retrieve the blood group, or who refused to participate to the study, 504 patients were included in the study. Material was available for the genotyping study for 131 patients. (**Figure 1**).

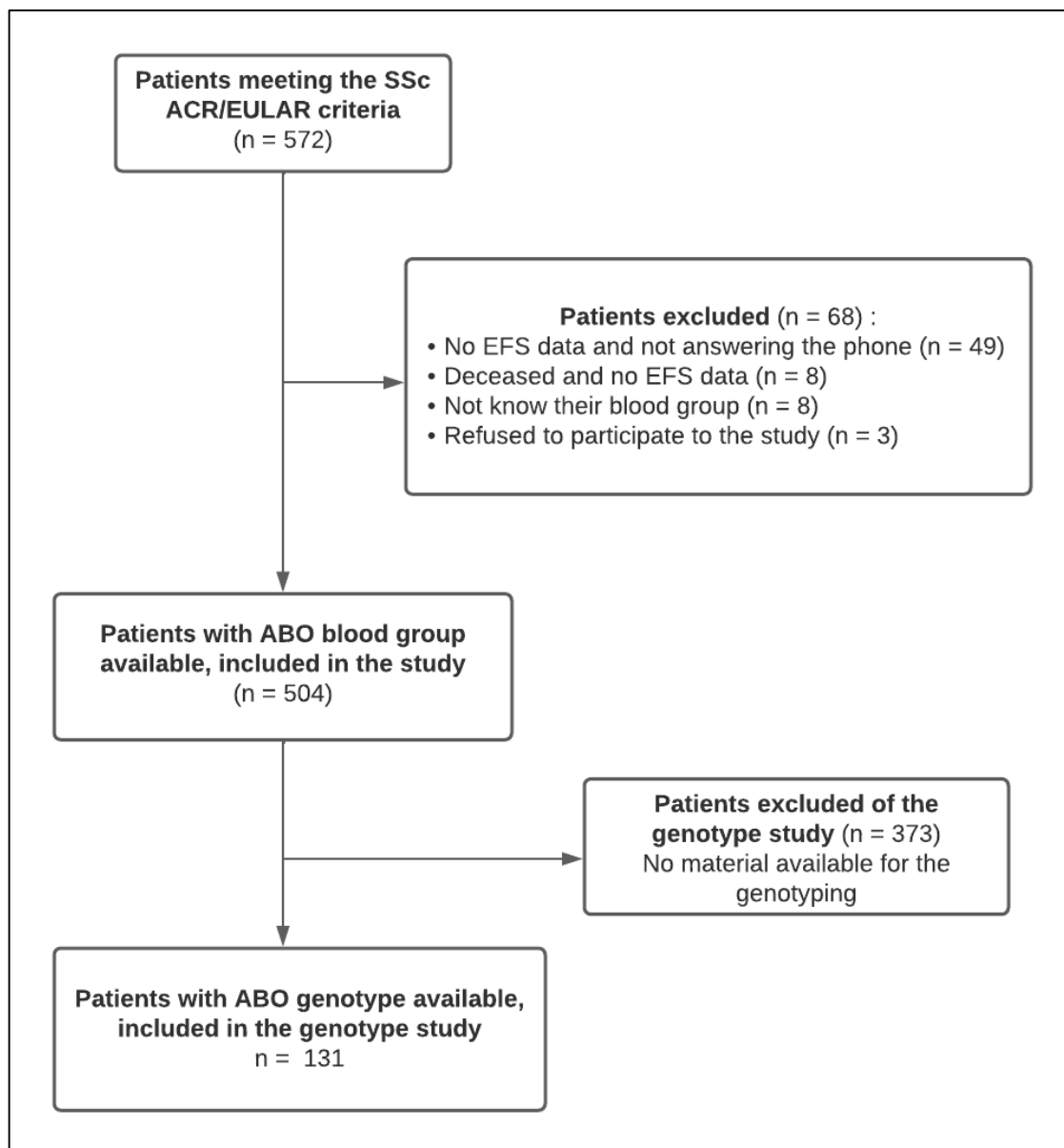


Figure 1: Participants flow chart
EFS: Etablissement français du sang

Demographic, clinical and biological characteristics of the population are detailed in **Table 2**. Median age at diagnosis was 64 (range: 53 - 73), with a predominance of female sex (82.1%). Three hundred thirty-six (66.7%) patients presented lcSSc, while 110 (21.8%) presented dcSSc and 58 (11.5%) SSc *sine scleroderma*. Seventy-three (14.5%) of patients had a history of venous thrombosis (VT) and 57 (11.3%) a history of arterial thrombosis (AT). Interstitial lung disease (ILD) was present in 41.8% of cases, and pulmonary arterial hypertension (PAH) in 12.3%. Median modified Rodnan skin score (mRSS) was 3.0 (range: 1.0 – 8.0). Anti-centromere antibodies (ACA) was the most represented auto-antibody (53.4%).

Endothelial activation and haemostasis parameters were high compared to the norm: $191.8 \pm 54.5\%$ of the norm for mean FVIII, $182.4 \pm 73.6\%$ of the norm for mean VWF:Ag, and $165.3 \pm 69.7\%$ of the norm for mean FVIII:Act. Median D-dimers were at 360.0 ng/mL (range 270.0 – 590.0 ng/mL, norm < 500 ng/mL), and mean fibrinogen at 3.6 ± 0.9 g/L (norm = 2-4 g/L).

Table 2: Participants characteristics

Demographic parameters	
Age – Median (Q1;Q3), year	64 (53;73)
Women – n (%)	414 (82.1)
SSc clinical characteristics	
<i>SSc subtype</i>	
dcSSc – n (%)	110 (21.8)
lcSSc – n (%)	336 (66.7)
SSc <i>sine scleroderma</i> – n (%)	58 (11.5)
Delay since SSc diagnosis – Median (Q1;Q3), year	10 (6;19)
VT history – n (%)	73 (14.5)
AT history – n (%)	57 (11.3)
ILD – n (%)	204 (41.8)

<i>ILD extension</i>	
Limited – n (% among ILD)	140 (68.6)
Extensive – n (% among ILD)	52 (25.5)
PAH – n (%)	62 (12.3)
Digital ulcer, past or present – n (%)	245 (49.1)
Calcinosis – n (%)	88 (17.8)
Digestive tract involvement – n (%)	60 (11.9)
Renal crisis – n (%)	7 (1.4)
mRSS – median (Q1 ; Q3)	3.0 (1.0 ; 8.0)
Telangiectasias – n (%)	378 (75.8)
<i>NYHA score</i>	
I – n (%)	232 (46.4)
II – n (%)	135 (27.0)
III – n (%)	92 (18.4)
IV – n (%)	41 (8.2)
Biological parameters	
CRP – median (Q1 ; Q3), mg/L	0.0 (0.0 ; 5.0)
NT-pro-BNP – median (Q1 ; Q3), pg/mL	107.0 (52.0 ; 252.0)
<i>ANA specificity</i>	
ACA – n (%)	234 (53.4)
Scl70 – n (%)	85 (19.4)
RNAP3 – n (%)	13 (3.0)
RNP – n (%)	9 (2.1)
Hemostasis and endothelial activation parameters	
FVIII – mean \pm sd (% of norm)	191.8 \pm 54.5
VWF:Ag – mean \pm sd (% of norm)	182.4 \pm 73.6
VWF:Act – mean \pm sd (% of norm)	165.3 \pm 69.7
D dimers – median (Q1 ; Q3), ng/mL	360.0 (270.0 ; 590.0)
Fibrinogen – mean \pm sd (g/L)	3.6 \pm 0.9
Cardiopulmonary involvement evaluation	
Tricuspid leak – mean \pm sd (m/s)	2.6 \pm 0.6
FVC – mean \pm sd (% of predicted value)	100.3 \pm 22.1
FEV/FVC – mean \pm sd	77.5 \pm 8.1
DLCO – mean \pm sd (% of predicted value)	67.6 \pm 19.7
Distance at 6MWT – mean \pm sd (% of predicted value)	75.5 \pm 19.0
Severity of the disease	
EUSTAR 2011 score – median (Q1 ; Q3)	1.0 (0.5 ; 2.0)
EUSTAR 2016 score – median (Q1 ; Q3)	1.2 (0.2 ; 1.9)
Medsger score – median (Q1 ; Q3)	0.0 (0.0 ; 1.0)
Death – n (%)	7 (1.4)

VT: venous thrombosis – AT:arterial thrombosis – ILD: interstitial lung disease – PAH:pulmonary arterial hypertension – mRSS: modified Rodnan skin score – NYHA: New-York Heart Association – CRP: C-reactive protein – ACA: anti-centromere antibody – FVIII: factor VIII – VWF:Ag: antigenic Willebrand factor – VWF:Act : Willebrand factor activity – FVC: forced vital capacity – FEV: forced expiratory volume – DLCO: diffusion capacity of the lung for carbon monoxide – 6MWT: 6 minutes walking test – EUSTAR: European Scleroderma Trials and Research Group

2. Blood group repartition in the SSc population and comparison with the general population

a. Phenotypical study

The percentage of SSc patients with O blood group was 41.6%, those with A blood group was 41.3%, those with B blood group was 11.7%, and those with AB blood group was 5.3%. The detailed number of patients of each blood type is given in **table S1**.

Figure 2 show a comparison of ABO blood groups repartition between SSc patients and the French general population. There was no significant difference between patients with SSc and the general population in terms of distribution of phenotypical ABO blood groups ($p = 0.06$).

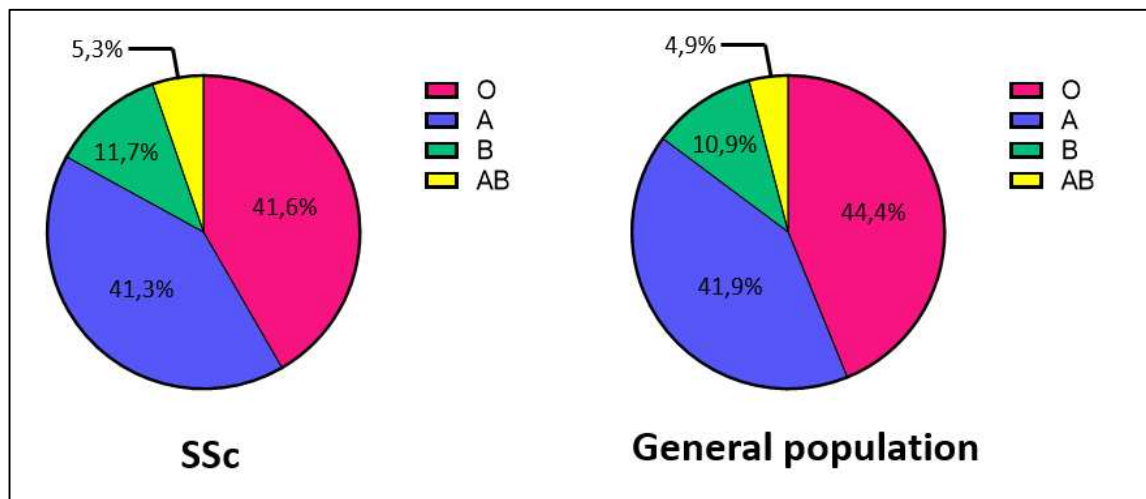


Figure 2: ABO blood group repartition in the SSc cohort and in the French general population
 SSc: systemic sclerosis

As previous studies have shown a difference in thrombotic and fibrotic risk between O and non-O groups (3,5,8,9), we were then interested in the distribution of O and non-O blood groups in our cohort of SSc patients. The percentage of SSc patients with O blood group was 41.6%, and those with non-O blood group was 58.3%. The detailed number of patients of each blood type is given in **table S2**. **Figure 3** show a comparison of O *versus* non-O blood groups repartition between SSc patients and the French general population. There was no significant difference between patients with SSc and the general population in terms of the distribution of phenotypical O *versus* non-O blood groups ($p = 0.18$).

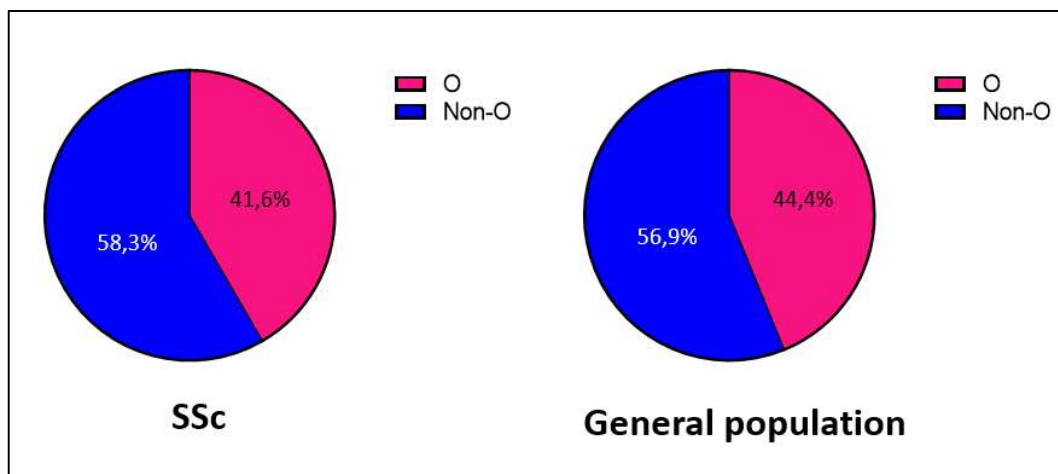


Figure 3: O *versus* non-O blood group repartition in the SSc cohort and in the French general population

SSc: systemic sclerosis

b. Genotyping study

ABO genotype study permits to have a more accurate view of the “non-O charge” of each group, and therefore of thromboembolic risk, than phenotypical ABO study. It was also shown that the A1 allele was associated with a risk of thrombosis higher than the A2 allele (4). That is why we have chosen to compare the ABO genotype repartition between SSc patients and the general population.

Genotyping was available for 131 SSc patients. Unfortunately, the small number of patients did not allow statistical comparison between each genotype group. We therefore grouped the rare genotypes (< 9 patients) in an "other" group. The detailed number of patients of each genotype or haplotype is shown in **table S3, table S4 and table S5**.

When we analyzed the data as “simplified diplotype” (analyzing only ABO alleles, without distinction between A1/A2 and O1/O2 alleles) (**Figure 4, Table S3**), we did not find any difference between SSc patients and general population repartition ($p = 0.36$).

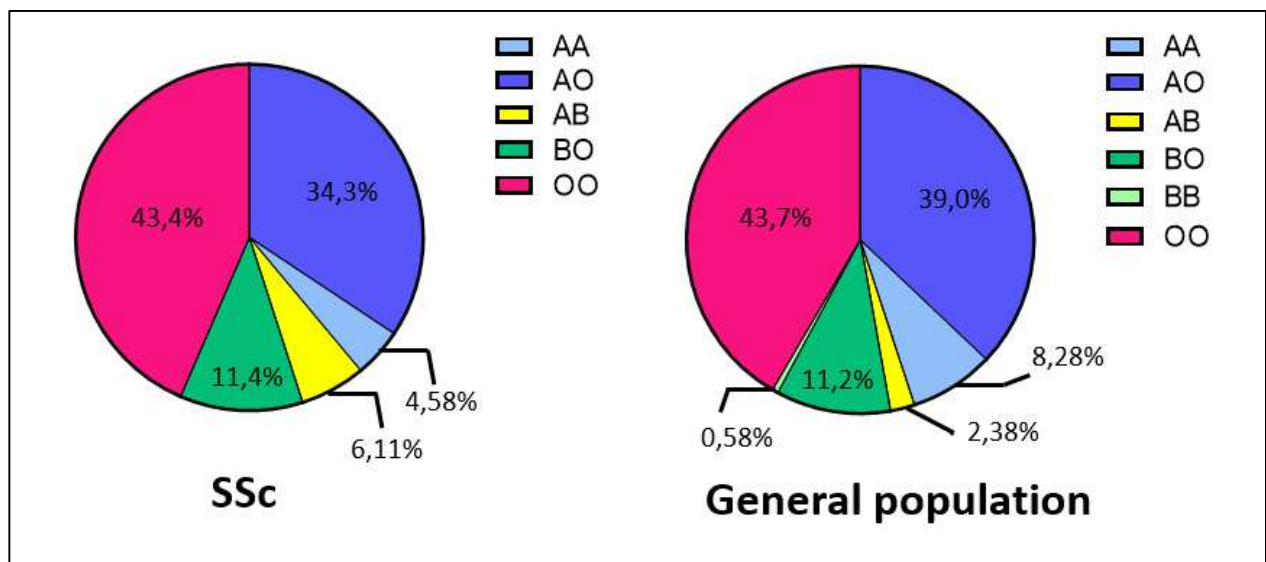


Figure 4: “Simplified diplotype” blood group repartition in the SSc cohort and in the general population
SSc: systemic sclerosis

We then analyzed a more precise diplotype (**Figure 5, Table S4**), with distinction between A1/A2 and O1/O2 alleles. We were also unable to find any difference between SSc patients and general population repartition ($p = 0.31$).

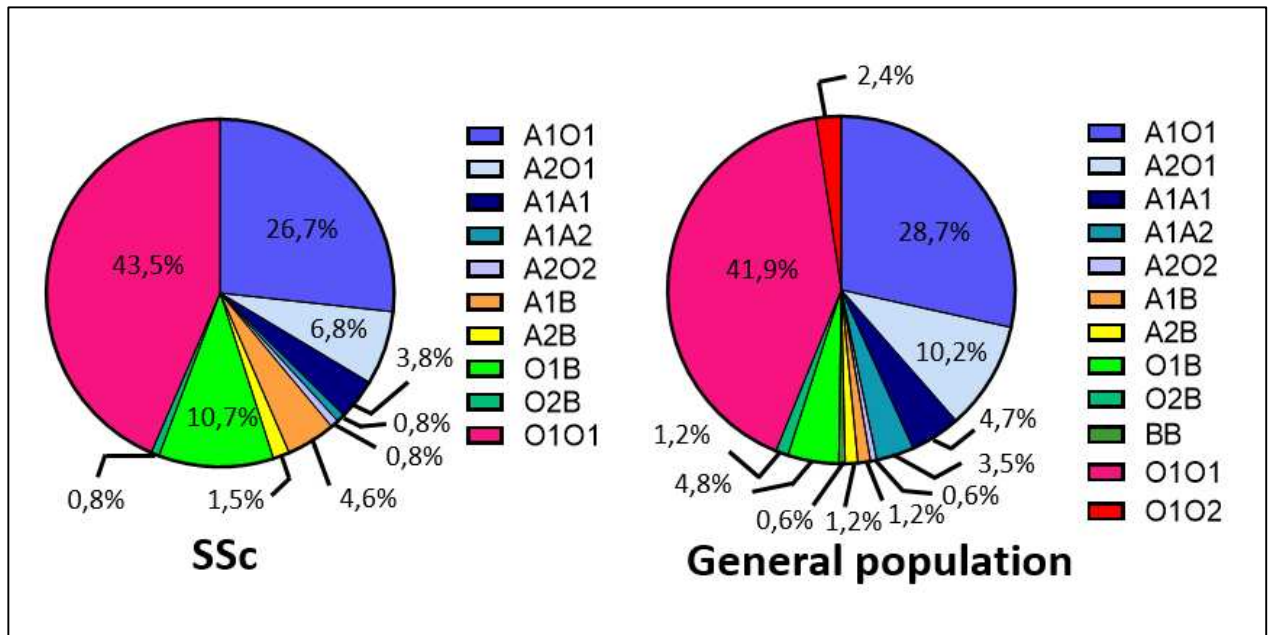


Figure 5: Diplotype blood group repartition in the SSc cohort and in the general population

SSc: systemic sclerosis

Finally, we analyzed genotype repartition in term of haplotype (n = 262) (**Figure 6, Table S5**). Repartition was different between SSc patients and the general population (p = 0.01). Groups O1 and B frequencies were higher in the SSc population than in the general population (65.6% vs. 61.6%, and 8.8% vs. 5.8% respectively), and groups A1 and A2 frequencies were lower in the SSc population than in the general population (19.8% vs. 22.5%, and 6.1% vs. 4.9% respectively).

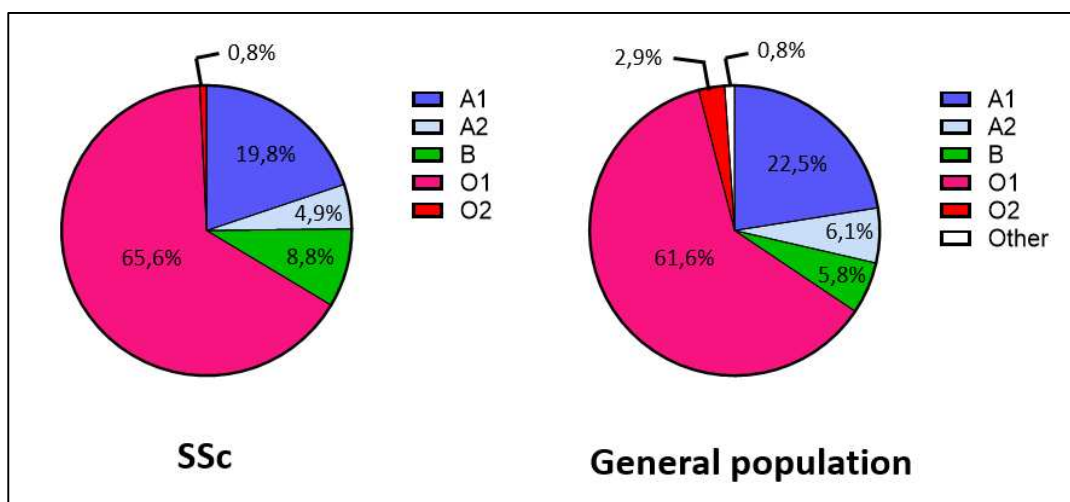


Figure 6: Haplotype blood group repartition in the SSc cohort and in the general population

SSc: systemic sclerosis

3. Association between phenotypical ABO blood group and SSc characteristics

Even if blood group repartition in the SSc population did not differ from that of the general population, we assessed whether it could be associated with some clinico-biological characteristics of the disease. As pro-fibrosing risk associated with blood group may be associated with their influence on the higher risk of microthrombosis in the non-O blood group, we choose to compare SSc characteristics between non-O and O blood group SSc patients.

Blood groups were not associated with patients' age and sex (**Figure 7, Table S6**).

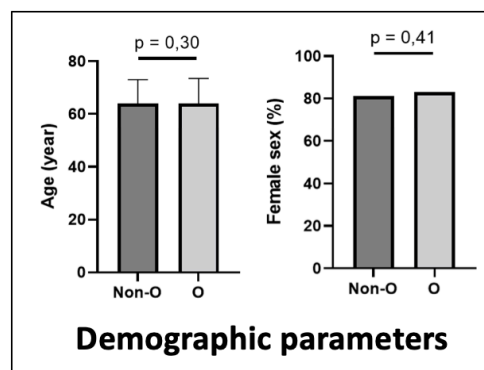


Figure 7: Association between blood groups and patients demographic parameters.

Concerning **clinical characteristics** of the SSc, blood groups were not associated with any SSc subtype nor with the duration of the disease. Even if presence of ILD, PAH, digital ulcer history, calcinosis and digestive tract involvement seemed to be more frequent in the non-O blood type group, the difference was not statistically significant. Number of renal crisis were comparable in the O blood group (n = 3) and in the non-O blood group (n = 4) (**Figure 8, Table S6**).

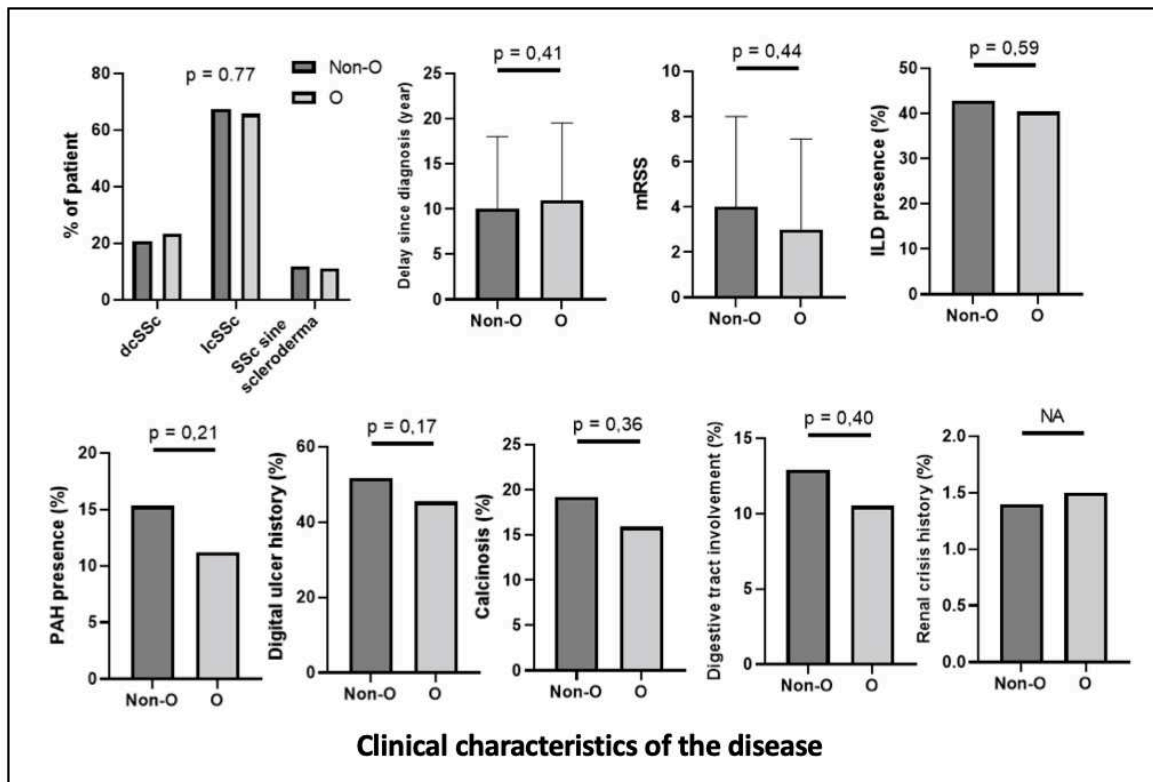


Figure 8: Association between blood groups and clinical characteristics of the SSc.

Regarding **thrombotic risk**, VT were more frequent in the non-O blood group (16.3% vs. 11.9% in the O blood group), but this was not statistically significant ($p = 0.16$). The percentage of AT history was comparable in the 2 groups of patients (10.9% vs. 11.9%, $p = 0.72$). For **haemostasis and endothelial activation parameters**, non-O blood group was associated with higher FVIII levels ($206.5 \pm 53.0\%$ vs. $168.1 \pm 45.6\%$, $p < 0.001$), higher VWF:Ag ($196.2 \pm 73.5\%$ vs. $160.4 \pm 68.6\%$, $p < 0.001$) and VWF:Act ($181.4 \pm 74.3\%$ vs. $141.1 \pm 54.1\%$, $p < 0.001$). D-dimers and fibrinogen levels did not differ between the two groups (respectively $p = 0.28$ and $p = 0.93$) (**Figure 9, Table S6**).

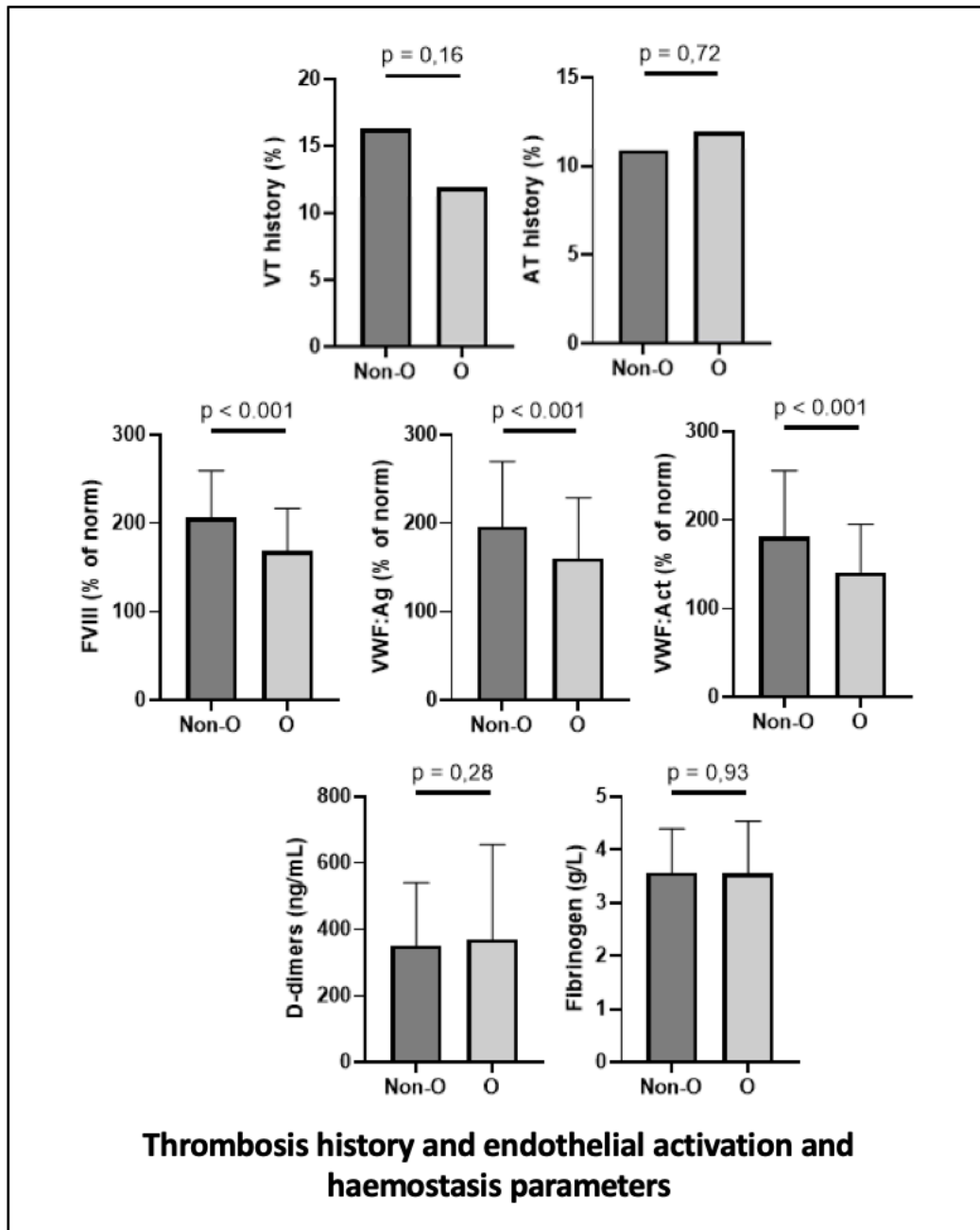


Figure 9: Association between blood groups, thrombosis history, endothelial activation and haemostasis parameters.

Concerning **inflammation**, non-O blood groups were associated with a slightly higher CRP (4.2 ± 8.8 mg/L vs. 3.5 ± 8.2 mg/L, $p = 0.021$) (**Figure 10, Table S6**).

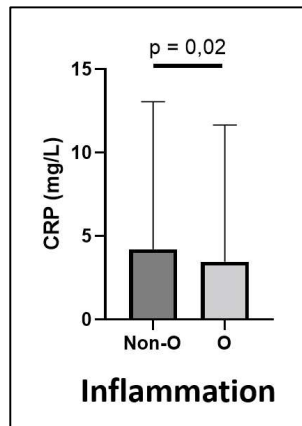


Figure 10: Association between blood groups and inflammation.

Concerning **ANA specificities**, blood groups were not associated with ACA nor with anti Scl70 auto-antibodies (AAb) ($p = 0.52$ and 0.51 respectively). Percentage of anti-RNAP3 positive patient was lower in the non-O blood group patients (1.6 vs. 4.9%, $p = 0.04$). Percentage of anti-RNP positive patient was also lower in the non-O blood group patients (1.2 vs. 3.3%) but the difference was not statistically significant ($p = 0.18$) (**Figure 11, Table S6**).

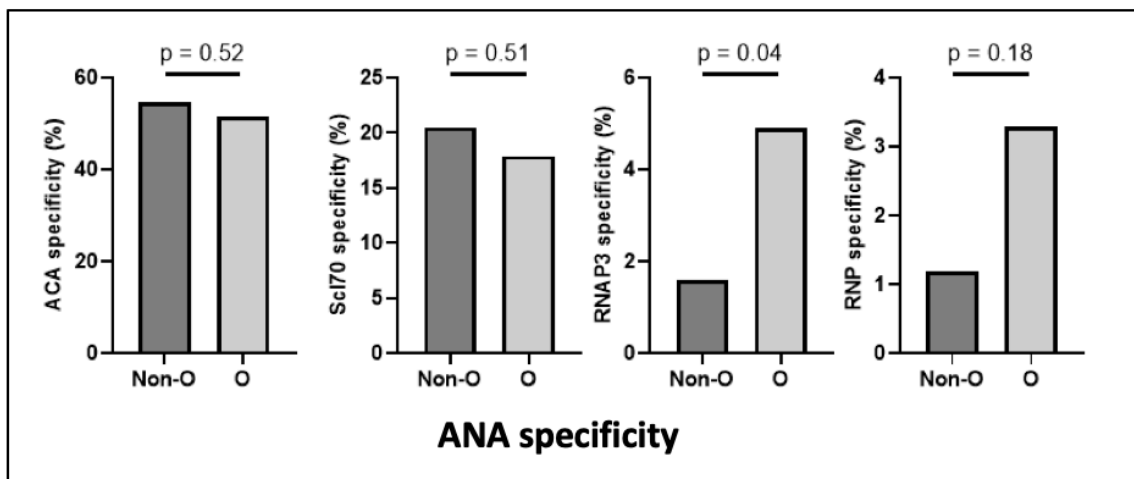


Figure 11: Association between blood groups and ANA specificity.

Blood groups were not associated with the **severity of cardiopulmonary involvement** of SSc. Indeed, ILD extension at CT-scan, FVC, DLCO, NYHA dyspnea

stade, distance at the six-minutes walking test (6MWT), tricuspid leak and NT-pro-BNP were comparable between non-O and O blood group patients. Still, FEV/FVC was lower in the non-O blood than in the O blood group (76.9 ± 7.8 vs 78.5 ± 8.6 , $p = 0.039$) (Figure 12, Table S6).

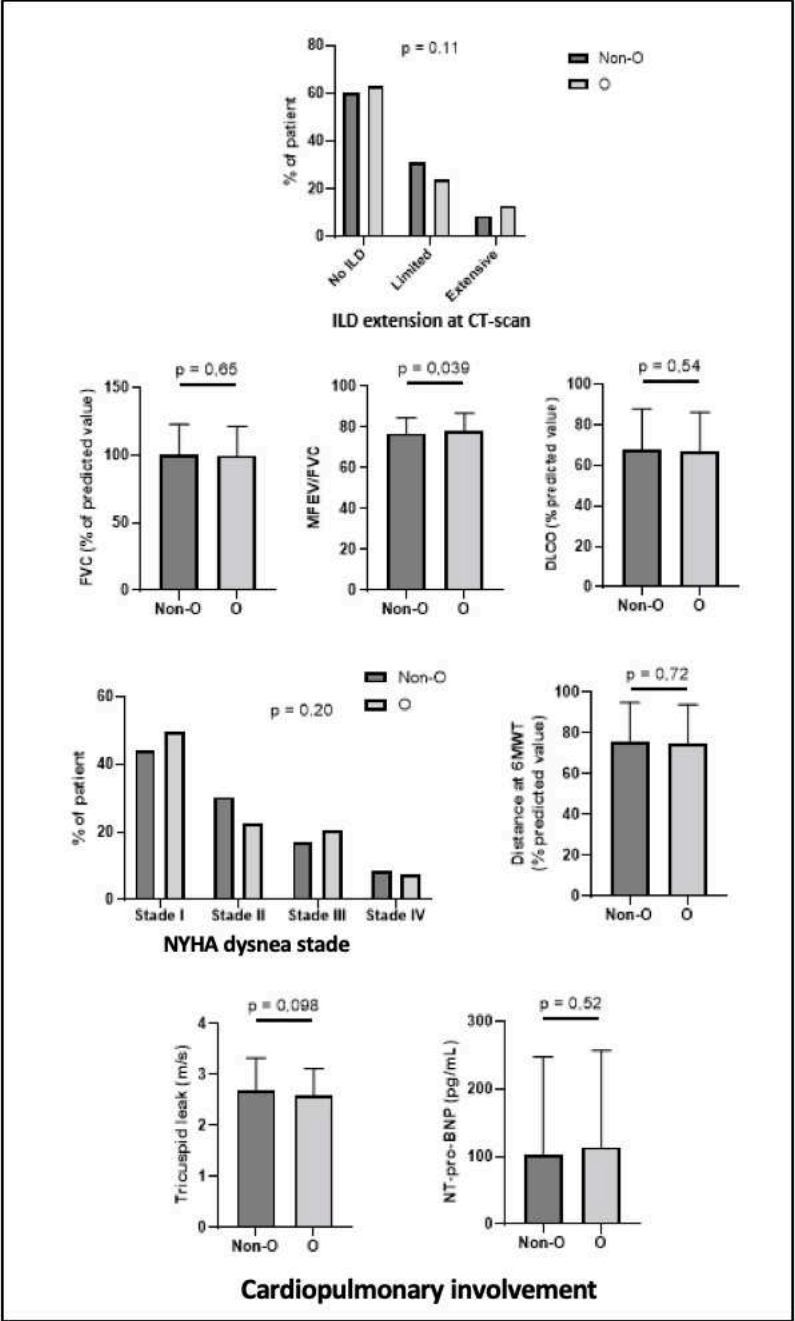


Figure 12: Association between blood groups and cardiopulmonary involvement.

Finally, **severity scores of the disease** (EUSTAR 2011 and EUSTAR 2016) did not differ between non-O and O blood group patients, even if Medsger score almost reach statistical significance (slightly more elevated in the non-O blood group, 0.8 ± 1.8 vs. 0.5 ± 1.5 , $p = 0.051$) (**Figure 13, Table S6**).

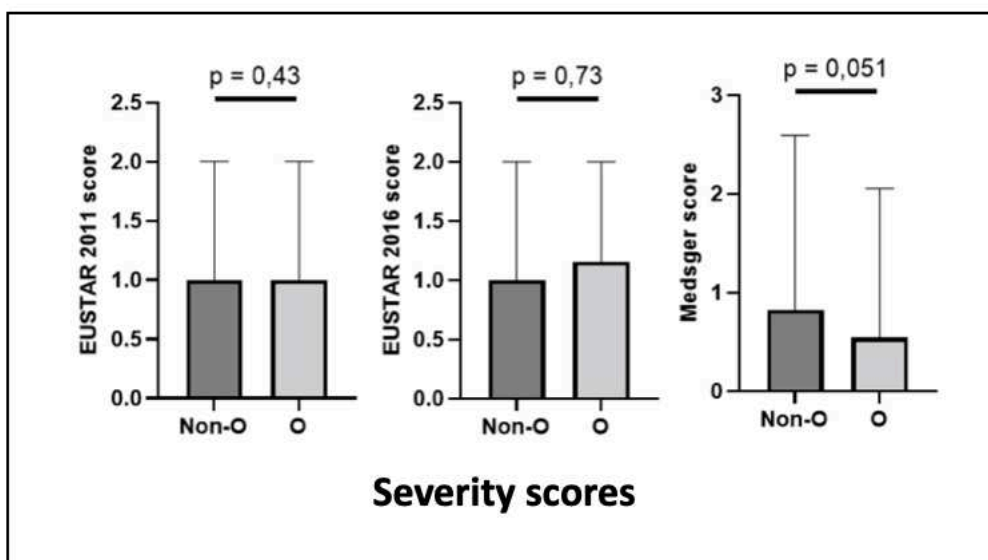


Figure 13: Association between blood groups and SSc severity scores.

4. Association between haemostasis and endothelial activation parameters and SSc characteristics

Finally, we wanted to know if there was an association between haemostasis and endothelial activation parameters, and SSc characteristics.

First, VWF:Act was more elevated in men than in women ($186.0 \pm 65.8\%$ vs. $159.7 \pm 69.8\%$, $p = 0.04$). There was no difference between female and male sex for VWF:Ag and FVIII (**Figure 14, Table S7**). Levels of VWF:Ag, VWF:Act and FVIII were positively correlated with age ($p = 0.006$, $p = 0.02$ and $p < 0.0001$ respectively) (**Table 2**).

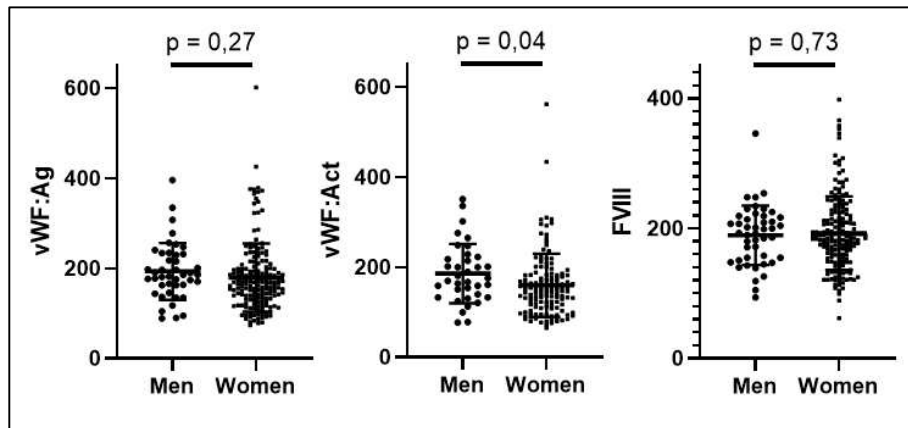
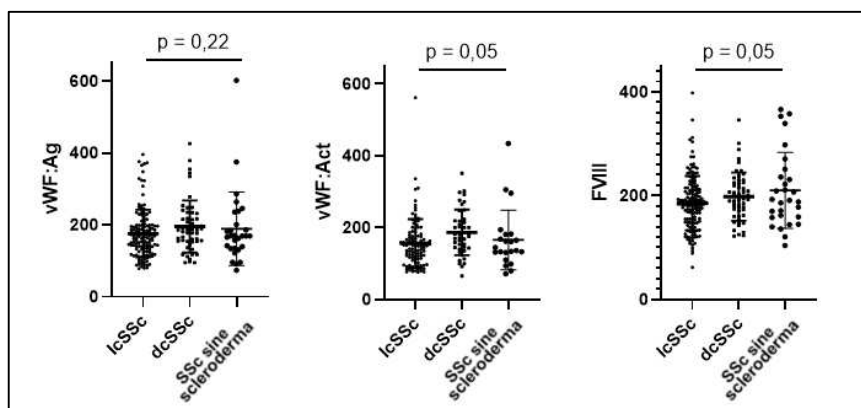


Figure 14: Association between endothelial activation parameters and sex.

Concerning **clinical parameters** of the disease, VWF:Ag, VWF:Act and FVIII were not associated with SSc subtype ($p = 0.22$, $p = 0.05$ and $p = 0.05$ respectively). In patients with ILD, VWF:Ag, VWF:Act and FVIII were slightly higher than in patients without ILD (193.4 ± 78.2 vs. 176.1 ± 69.3 , $p = 0.08$; 177.6 ± 79.2 vs. 156.4 ± 59.5 , $p = 0.05$; 199.0 ± 54.8 vs. 187.7 ± 53.1 , $p = 0.12$ respectively), but the difference was not statistically significant. VWF:Ag and VWF:Act were slightly more elevated in patients with PAH than in patient without PAH (195.0 ± 61.8 vs. 182.8 ± 76.0 , $p = 0.48$; 188.6 ± 63.8 vs. 163.2 ± 71.6 , $p = 0.17$ respectively) but it was also not statistically significant. FVIII was comparable between patient with and without PAH ($p = 0.86$). There was no difference in levels of VWF:Ag, VWF:Act and FVIII between patients with or without digital ulcer, nor between patients with and without telangiectasias (**Figure 15, Table S7**). VWF:Ag and VWF:Act were positively correlated with mRSS ($p = 0.02$ and $p = 0.003$ respectively) (**Table 2**).



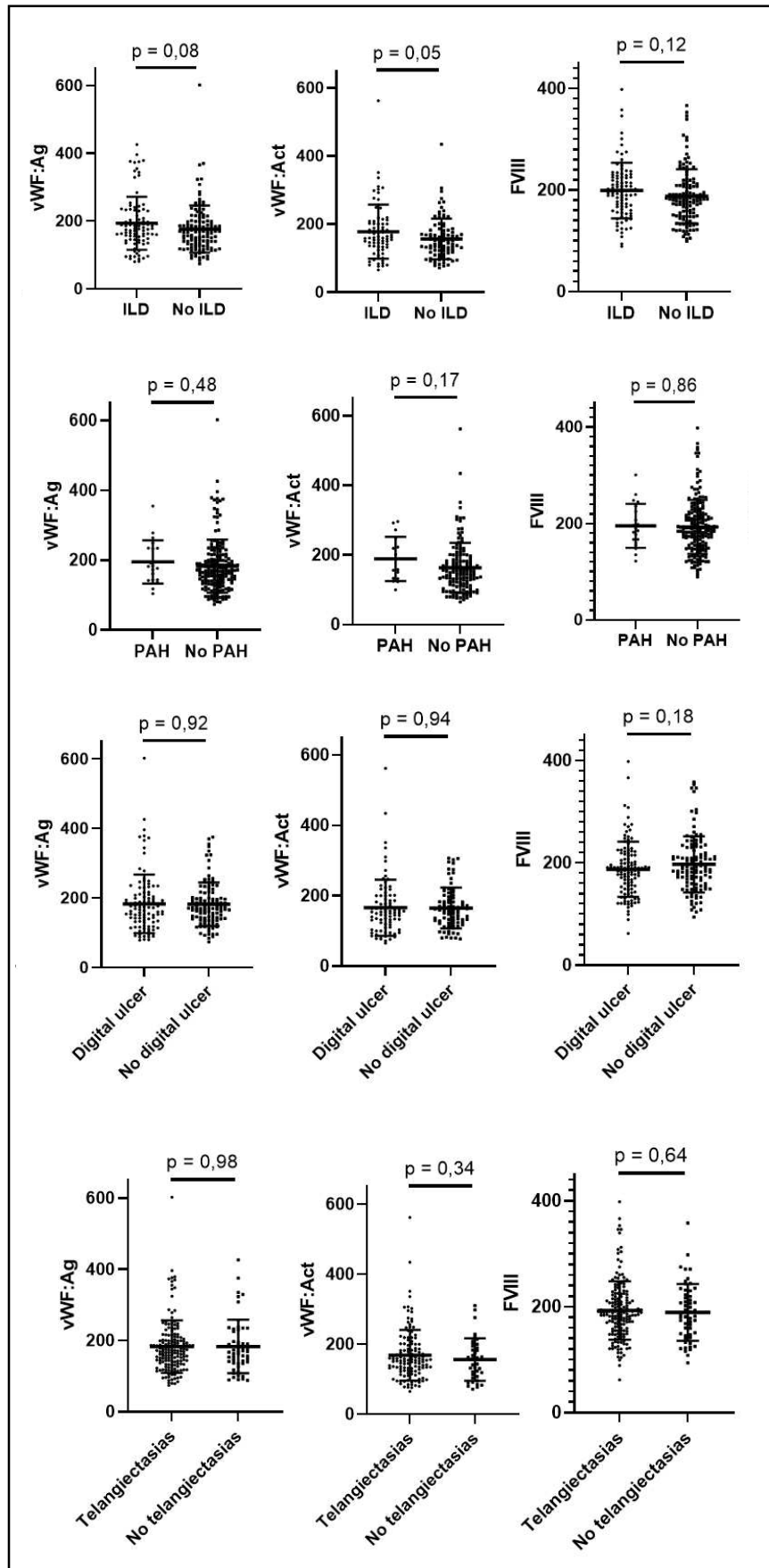


Figure 15: Association between endothelial activation parameters and clinical characteristics of the SSc.

Concerning **thrombotic risk**, VWF:Ag, VWF:Act and FVIII were higher in the group of patient with an history of VT ($197.0 \pm 96.0\%$ vs. $180.3\% \pm 69.9$, $p = 0.38$; $190.2 \pm 79.3\%$ vs. $161.5 \pm 67.6\%$, $p = 0.07$; $201.3 \pm 59.1\%$ vs. $190.5 \pm 53.9\%$, $p = 0.33$ respectively). This difference was not statistically significant. For patients with history of AT, VWF:Ag and FVIII were significantly higher than in patients without history of AT ($244.0 \pm 120.2\%$ vs. $176.5 \pm 64.9\%$, $p = 0.02$; $239.2 \pm 81.7\%$ vs. $187.4 \pm 49.4\%$, $p = 0.01$ respectively). VWF:Act was also more elevated in patient with AT history ($213.3 \pm 143.2\%$ vs. $161.3 \pm 58.9\%$, $p = 0.21$) but the difference was no statistically significant ($p = 0.21$) (**Figure 16, Table S7**).

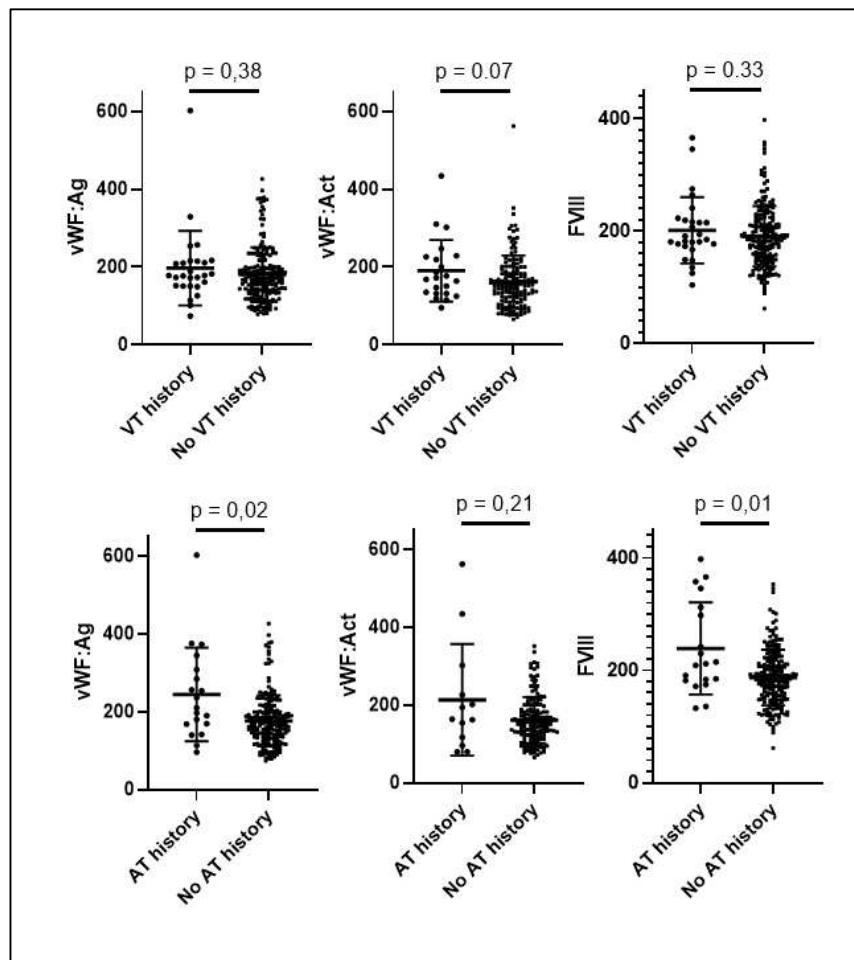


Figure 16: Association between endothelial activation parameters and thrombosis

Concerning **inflammation**, CRP was positively correlated with VWF:Ag ($p = 0.0004$), VWF:Act ($p = 0.01$) and FVIII ($p = 0.0004$) (**Table 2**).

Concerning **ANA specificities**, there was no difference in VWF:Ag, VWF:Act and FVIII levels between ACA+ and ACA- patients, nor between Sci70+ and Sci70- patients (**Figure 17, Table S7**).

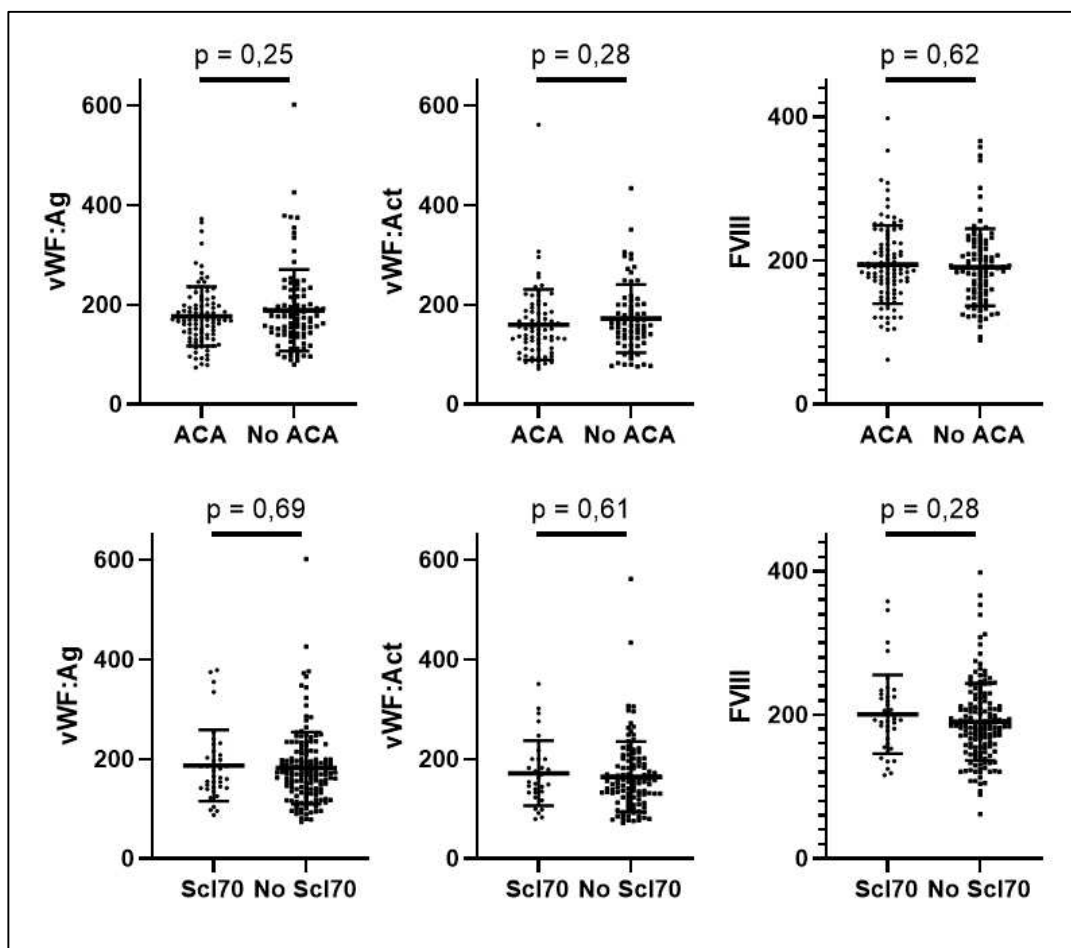


Figure 17: Association between endothelial activation parameters and ANA specificities

Regarding **severity of cardiopulmonary involvement** of SSc, VWF:Ag was positively correlated with tricuspid leak ($p = 0.04$) and NT-pro-BNP ($p = 0.0008$). VWF:Act was also positively correlated with NT-pro-BNP ($p = 0.01$) and almost significantly with tricuspid leak ($p = 0.05$). VWF:Ag and VWF:Act were negatively correlated with DLCO ($p = 0.005$ and $p = 0.01$ respectively). Only VWF:Ag was significantly and negatively correlated with FVC ($p = 0.02$) (**Table 2**).

Finally, concerning **severity score of the disease**, Mesdger score was not correlated with endothelial activation parameters. EUSTAR 2011 score was positively correlated with VWF:Act ($p = 0.03$) and EUSTAR 2016 score was positively correlated with VWF:Ag ($p = 0.01$) and with VWF:Act ($p = 0.003$) (**Table 2**).

Table 2: Correlation between hemostasis and endothelial activation parameters, and SSc characteristics

	VWF:Ag	VWF:Act	FVIII
Age			
Pearson correlation coefficient	0.18	0.17	0.30
p	0.006	0.02	<0.0001
Tricuspid leak			
Pearson correlation coefficient	0.16	0.17	0.15
p	0.04	0,05	0.05
FVC			
Pearson correlation coefficient	-0.16	-0.12	-0.08
p	0.02	0.12	0.22
DLCO			
Pearson correlation coefficient	-0.19	-0.19	-0.12
p	0.005	0.01	0.08
Medsgger score			
Pearson correlation coefficient	0.06	0.02	0.09
p	0.40	0.80	0.22
EUSTAR 2011 score			
Pearson correlation coefficient	0.09	0.18	-0.04
p	0.19	0.03	0.52
EUSTAR 2016 score			
Pearson correlation coefficient	0.20	0.26	0.11
p	0.01	0.003	0.14

mRSS			
Pearson correlation coefficient	0.16	0.23	0.10
ρ	0.02	0.003	0.13
CRP			
Pearson correlation coefficient	0.24	0.19	0.24
ρ	0.0004	0.01	0.0004
NT-proBNP			
Pearson correlation coefficient	0.23	0.19	0.12
ρ	0.0008	0.01	0.08

VWF:Ag: antigenic Willebrand factor – VWF:Act : Willebrand factor activity - FVC: forced vital capacity – DLCO: diffusion capacity of the lung for carbon monoxide

Discussion

The first objective of our study was to describe the phenotypic and genotypic distribution of ABO blood groups in a cohort of French SSc patients, and to compare it to the general population. We could not identify any difference in the distribution of blood groups between our cohort of SSc patients and the general population, either in terms of ABO phenotypic distribution, O versus non-O phenotype, nor in terms of diplotype, despite a large number of patients ($n = 501$). When studying the haplotype distribution, we found a higher frequency of O1 and B alleles in the SSc cohort than in the general population. However, this difference remained modest (65.6% vs. 61.6%, and 8.8% vs. 5.8% respectively). These results are in line with the Swedish study by Zsuzanna and Annica (23). As in this study, we did not find a protective role for group O in SSc, although this has been suggested in various other autoimmune (11–14) and fibrosing diseases (7–9). We cannot exclude the possibility that our results, derived from the French population, are not extrapolable to other populations. Indeed, it is known that the distribution of blood groups differs according to ethnicity (27), a criterion that we were unable to take into account in our work. It is also important to note that for the diplotype study, we compared our cohort of SSc patients to a German blood donor population (25), which was the closest population to the French population for which we could find a description of the *ABO* diplotype distribution in the literature. It is possible that this population is not entirely similar to the general French population. Moreover, for the genotyping study, our number of patients for whom material was available was smaller ($n = 131$) and therefore we cannot exclude that there is a lack of statistical power.

Our study is the first to investigate the association of blood groups with the clinical and biological characteristics of SSc. ILD, PAH, calcinosis and digestive involvement were more frequent in non-O patients, although the difference was not statistically significant. This may suggest that, although blood groups do not play a major role in the development of SSc, they may participate to some of the organ involvement in the disease. In the literature, it has been shown that non-O blood groups are more frequently found in patients with post-embolic pulmonary hypertension (28,29), but not in patients with idiopathic PAH (30). In contrast, in our study, blood groups did not appear to be associated with the severity of cardiopulmonary involvement in SSc. Indeed, the extent of ILD on chest CT, dyspnea score, walking test distance, tricuspid leak and NT-pro-BNP levels were comparable between the O and non-O groups. Among the pulmonary function tests, only FEV/FVC was significantly lower in the non-O group, with a difference that does not appear to be clinically relevant (76.9% vs 78.5%). Disease severity scores (EUSTAR 2011, EUSTAR 2016) were comparable between patients in the O and non-O groups. The Medsger score was very slightly higher in patients in the non-O groups (0.8 vs. 0.5, $p = 0.051$), which may be in line with the higher frequency of organ involvement in this group of patients.

We did not find any particular association between blood types and the presence of ACA or anti-Scl70 antibodies, but we did find that the frequency of patients with anti-RNAP3 antibodies was slightly but significantly lower in non-O patients than in O patients (1.6 vs. 4.9%, $p = 0.04$). These antibodies are associated with diffuse form of SSc, a risk of renal crisis and an excess risk of cancer (31). This difference in the frequency of anti-RNAP3 antibodies between the two blood group categories does not seem to have any clinical repercussions since we did not find any difference in the

frequency of diffuse form of SSc or in the number of renal crisis between group O and non-O patients. However, we did not study the presence of cancer associated with SSc.

We also found a significantly higher CRP level in non-O SSc patients than in O patients. This is in line with previous studies showing that higher CRP levels in non-O patients are also found in other conditions, such as ischemic heart disease (32). A variant (rs8176704) in the *ABO* gene has been shown to be associated with higher CRP levels (33). GWAS studies have also found associations between different *ABO* gene variants and levels of certain pro-inflammatory cytokines, such as IL6 and TNF (33,34). It might therefore be interesting to complete our study with an inflammatory cytokine assay in the SSc patient cohort.

In our cohort of SSc patients, the presence of a history of VT was more frequent in the non-O group, although this was not significant. The association between an increased risk of VT in the non-O group has been recognized for many years in the literature (35), with an odds ratio of 2.44 compared to the O group in a meta-analysis (5). In the literature, it is reported that venous thromboembolic risk is modulated not only by the ABO blood group determined at the phenotypic level, but also by the genotyping of the ABO gene. Indeed, the A1 and B alleles confer a greater thrombotic excess risk than the A2 allele, which is itself greater than the O1 allele. The O2 allele have a protective role against VT compared to the O1 allele (4) . Unfortunately, in our cohort, we were unable to study the association of each allele with a history of thrombosis due to a lack of effective.

Some studies also suggest an increased risk of AT associated with non-O blood group (2,5). However, in our study, the percentage of patients with a history of AT was comparable between group O and non-O patients.

The excess of thrombotic risk described in the literature in non-O patients is explained by higher levels of FVIII and VWF in this population. Indeed, in non-O patients, VWF is less degraded due to the longer oligosaccharide chains on its surface, which protect it from proteolysis (3). We find this phenomenon in our cohort of SSc patients, with higher levels of VWF:Ag, VWF:Act and FVIII in non-O patients than in O patients. This could explain the higher VT rate in our non-O patients. Genome wide association studies (GWAS) have shown that there are associations between ABO gene variants and levels of some other endothelial activation markers (E-selectin, P-selectin, ICAM1) (36–39). One of the perspectives of this work could be to study the levels of these markers in our cohort of SSc patients.

Finally, we looked at VWF and FVIII levels in SSc and at their association with disease characteristics. We found that these markers of endothelial activation were elevated relative to the norm (on average, VWF:Ag was 182.4% of the norm, VWF:Act 165.3% of the norm and FVIII 191.8% of the norm). Numerous studies have reported an increase in VWF (40,41) and FVIII (42) during SSc. Moreover, the levels of these endothelial activation markers seemed to be associated with organ involvement and with greater severity. Indeed, we found higher levels of VWF in patients with ILD. These levels were negatively correlated with DLCO and FVC, and thus positively with the severity of the pulmonary involvement. This association is known in the literature (43,44). Higher levels of endothelial activation markers were also found in patients with PAH and correlated with its severity (tricuspid leak and NT-pro-BNP). In one study, serum VWF levels predicted future pulmonary arterial pressure elevation using a logistic regression method (45). In our work, VWF levels were also positively correlated with mRSS, an association that to our knowledge is not currently described in the

literature. Finally, endothelial activation parameters were positively correlated with EUSTAR 2011 and 2016 severity scores, which is consistent with an association with the severity of skin involvement, and with pulmonary and cardiac complications. This association of VWF levels with the severity of SSc has also been described (46). In contrast, levels of endothelial activation markers did not appear to be associated with any particular form of SSc, with the presence of ACA or anti-Scl70 antibodies, nor with the presence of digital ulcers or telangiectasias. Finally, VWF and FVIII appeared to be higher in patients with a history of VT and AT, although this was not statistically significant for each marker. The association of elevated VWF and FVIII with excessive thrombotic risk is well known in the general population (3,5), and has also been described in SSc for VT (20). However, to our knowledge, our study is the first to report elevated VWF and FVIII levels in SSc patients with a history of AT.

Conclusion

In conclusion, our work has shown that, in a large cohort of SSc patients, there was no major differences in the distribution of ABO blood groups compared to the general population, either in phenotypic or genotypic terms. On the other hand, non-O blood groups appeared to be associated with a higher frequency of cardiopulmonary involvement, but not with a greater severity of these complications. A history of VT was also found more frequently in non-O patients, as well as higher VWF and FVIII levels. Finally, in our cohort of SSc patients, we found high levels of endothelial activation markers (VWF and FVIII), which correlated with the presence of organ damage and disease severity.

Discussion et conclusion (français)

Le premier objectif de notre étude était de décrire la répartition des groupes sanguins ABO sur les plans phénotypique et génotypique dans une cohorte de patients ScS français, et de la comparer à celle de la population générale. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence de répartition des groupes sanguins entre notre cohorte de patients ScS et la population générale, que ce soit en termes de répartition phénotypique ABO, O *versus* non-O ou en termes de diplotype, malgré un effectif de patients important (n = 501). En étudiant la répartition en terme d'haplotype, nous avons retrouvé une fréquence plus élevée des allèles O1 et B dans la cohorte de patients ScS que dans la population générale. Cependant, cette différence restait modeste (65.6% vs. 61.6%, and 8.8% vs. 5.8% respectivement). Nous retrouvons donc les mêmes résultats que dans l'étude de Zsuzanna et Annica portant sur 150 patients ScS suédois (23). Comme dans cette étude, nous ne retrouvons pas de rôle protecteur de groupe O vis-à-vis de la ScS, alors que cela est suggéré dans diverses autres maladies auto-immunes (11–14) et fibrosantes (7–9). Nous ne pouvons pas exclure que nos résultats, issus de la population française, ne soient pas extrapolables à d'autres populations. En effet, il est connu que la répartition des groupes sanguins diffère en fonction de l'ethnie (27), critère que nous n'avons pas pu prendre en compte dans notre travail. Il est également important de souligner que pour l'étude en termes de diplotype, nous avons comparé notre cohorte de patients ScS à une population de donneurs de sang allemands (25), qui était la population la plus proche de la population française pour laquelle nous avons pu trouver une description de la répartition des diplotypes ABO dans la littérature. Il est possible que cette population ne soit pas tout à fait similaire à celle de la population générale française. De plus,

pour l'étude génotypique, notre effectif de patients pour lesquels du matériel était disponible était plus faible (n = 131) et nous ne pouvons donc pas exclure qu'il y ait un manque de puissance statistique.

Notre étude est la première à s'être intéressée à l'implication des groupes sanguins dans les différentes atteintes cliniques et biologiques de la ScS. L'atteinte interstitielle pulmonaire, la présence d'une HTAP, de calcinoses et d'une atteinte digestive étaient plus fréquentes chez les patients des groupes non-O, même si la différence n'était pas statistiquement significative. Cela pourrait suggérer que, même si les groupes sanguins ne jouent pas de rôle majeur de l'apparition de la ScS, ils pourraient participer à certaines atteintes d'organe de la maladie. Dans la littérature, il a pu être mis en évidence que les groupes sanguins non-O étaient plus fréquemment retrouvés chez les patients souffrant d'hypertension pulmonaire post-embolique (28,29), mais pas chez les patients souffrant d'HTAP idiopathique (30). En revanche, dans notre étude, les groupes sanguins ne semblaient pas associés à la sévérité de l'atteinte cardiopulmonaire liée à la ScS. En effet, l'extension de l'atteinte interstitielle au scanner thoracique, le score de dyspnée, la distance parcourue au test de marche, la vitesse de fuite tricuspide et les taux de NT-pro-BNP étaient comparables entre les patients des groupes O et non-O. Parmi les paramètres des explorations fonctionnelles respiratoires, seul le VEMS/CVF était significativement plus faible chez les patients du groupe non-O, avec une différence qui ne paraît pas cliniquement pertinente (76.9% vs 78.5%). Les scores de sévérité de la maladie (EUSTAR 2011, EUSTAR 2016) étaient comparables entre les patients des groupes O et non-O. Le score de Medsger était très légèrement plus élevé chez les patients des groupes non O (0.8 vs. 0.5, p =

0.051), ce qui pourrait être en accord avec la plus grande fréquence d'atteinte d'organe dans ce groupe de patients.

Nous n'avons pas retrouvé d'association particulière entre les groupes sanguins et la présence d'ACA ou d'anticorps anti-Sc170. En revanche, nous avons mis en évidence que la fréquence des patients avec des anticorps anti-RNAP3 était légèrement mais significativement plus faible chez les patients de groupe non-O que chez les patients du groupe O (1.6 vs. 4.9%, $p = 0.04$). Ces anticorps sont associés à une forme de ScS cutanée diffuse, à un risque de CRS et à un sur-risque de cancer (31). Cette différence de fréquence des anticorps anti-RNAP3 entre les 2 catégories de groupe sanguin ne semble pas avoir de retentissement clinique puisque nous ne retrouvons pas de différence dans la fréquence des formes diffuses de ScS ni dans le nombre de CRS entre les patients de groupe O et de groupe non-O. Nous n'avons en revanche pas étudié la présence d'un cancer associé à la ScS.

Nous retrouvons également un taux de CRP significativement plus élevé chez nos patients ScS de groupe non-O que chez nos patients de groupe O. Cela est cohérent avec les résultats d'autres études, retrouvant des taux de CRP plus élevés chez les patients des groupes non-O dans d'autres pathologies, comme la cardiopathie ischémique (32). Il a été montré qu'un variant (rs8176704) dans le gène *ABO* était associé à des taux de CRP plus élevés (33). Des études de GWAS ont aussi retrouvé des associations entre différents variants du gène *ABO* et les taux de certaines cytokines pro-inflammatoires, comme l'IL6 et le $TNF\alpha$ (33,34). Il pourrait donc être intéressant de compléter notre étude par des dosages de cytokines inflammatoires dans la cohorte de patients ScS.

Dans notre cohorte de patients ScS, la présence d'un antécédent de TV était plus fréquente chez les patients du groupe non-O, même si cela n'était pas significatif. L'association entre un sur-risque de TV et les groupes sanguins non-O est reconnue depuis de nombreuses années dans la littérature (35), avec un odds-ratio à 2,44 par rapport aux personnes de groupe O d'après une méta-analyse (5). Dans la littérature, il est rapporté que le risque thrombo-embolique veineux est modulé non seulement par le groupe sanguin ABO déterminé au niveau phénotypique, mais également par le génotypage du gène ABO. En effet, les allèles A1 et B confèrent un sur-risque thrombotique plus important que l'allèle A2, lui-même plus important que l'allèle O1. L'allèle O2 aurait quant à lui un rôle protecteur vis-à-vis de la TV par rapport à l'allèle O1 (4). Dans notre cohorte, nous n'avons malheureusement pas pu étudier l'association de chaque allèle avec les antécédents de thrombose en raison d'un manque d'effectif.

Certaines études suggèrent également un sur-risque de TA associé aux groupes sanguins non-O (2,5). Cependant, dans notre étude, le pourcentage de patients ayant un antécédent de TA était comparable entre les patients de groupe O et de groupe non-O.

Le sur-risque thrombotique décrit dans la littérature chez les patients non-O est lié à des taux plus importants de FVIII et de VWF dans cette population. En effet, chez les patients non-O, le VWF est moins dégradé en raison de la longueur plus importante des chaînes oligosaccharidiques à sa surface, ce qui le protège de la protéolyse (3). Nous retrouvons ce phénomène dans notre cohorte de patients ScS, avec des taux plus élevés de VWF:Ag, de VWF:Act et de FVIII chez les patients des groupes non-O que chez les patients du groupe O. Cela pourrait expliquer le taux de TV plus important

chez nos patients des groupes non-O. Des études d'association pan-génomiques (*genome wide association studies*, GWAS) ont montré qu'il existait des associations entre des variants du gène *ABO* et les taux de certains autres marqueurs d'activation endothéliale (E-sélectine, P-sélectine, ICAM1) (36–39). Une des perspectives de ce travail serait d'étudier les taux de ces marqueurs dans notre cohorte de patients ScS.

Pour finir, nous nous sommes intéressés aux taux de VWF et de FVIII au cours de la ScS, et à leur association avec les caractéristiques de la maladie. Nous avons mis en évidence que ces marqueurs d'activation endothéliale étaient élevés par rapport à la norme (en moyenne, VWF:Ag à 182.4% de la norme, VWF:Act à 165.3% de la norme et FVIII à 191.8% de la norme). De nombreuses études rapportent une élévation du VWF (40,41) et du FVIII (42) au cours de la ScS. De plus, les taux de ces marqueurs d'activation endothéliale semblaient associés à certaines atteintes de la maladie, et à une sévérité plus importante. En effet, nous retrouvons des taux plus élevés de VWF chez les patients ayant une atteinte interstitielle pulmonaire de la ScS. Ces taux étaient corrélés négativement à la DLCO et à la CVF, et donc positivement à la gravité de l'atteinte pulmonaire. Cette association est connue dans la littérature (43,44). Des taux plus élevés de marqueurs d'activation endothéliale étaient également retrouvés chez les patients ayant une HTAP, et ils étaient corrélés à sa sévérité (vitesse de fuite tricuspide et NT-pro-BNP). Dans une étude, les taux sériques de VWF permettaient de prédire la future élévation des pressions artérielles pulmonaires par une méthode de régression logistique (45). Dans notre travail, les taux de VWF étaient également corrélés positivement au mRSS, association qui à notre connaissance n'est pas décrite dans la littérature à l'heure actuelle. Enfin, les paramètres d'activation endothéliale étaient corrélés positivement aux scores de

sévérité EUSTAR 2011 et 2016, ce qui est cohérent avec une association avec la sévérité de l'atteinte cutanée, et avec les complications pulmonaires et cardiaques. Cette association des taux de VWF avec la sévérité de la ScS est également décrite dans la littérature (46). En revanche, les taux de marqueurs d'activation endothéliale ne semblaient pas associés à une forme de ScS en particulier, à la présence d'ACA ou d'anticorps anti Scl70, ni à la présence d'ulcère digitaux ou de télangiectasies. Enfin, le VWF et le FVIII semblaient plus élevés chez les patients ayant des antécédents de TV et de TA, même si cela n'était pas statistiquement significatif pour chaque marqueur. L'association de VWF et de FVIII élevés avec un sur-risque thrombotique est bien connue dans la littérature en population générale (3,5), et a également déjà été décrite au cours de la ScS pour la TV (20). En revanche, à notre connaissance, notre étude est la première à rapporter une élévation des taux de VWF et de FVIII chez les patients ScS ayant des antécédents de TA.

Pour conclure, notre travail a permis de montrer sur une large cohorte de patients ScS qu'il n'existait pas de différence majeure de répartition des groupes sanguins ABO par rapport à la population générale, que ce soit en termes phénotypique ou génotypique. En revanche, les groupes sanguins non-O semblaient associés à une plus grande fréquence des atteintes cardiopulmonaires, sans toutefois être corrélés à une plus grande sévérité de ces complications. Des antécédents de TV étaient également retrouvés plus fréquemment chez les patients des groupes non-O, ainsi que des taux de VWF et de FVIII plus élevés. Enfin, nous retrouvons dans notre cohorte de patients ScS des taux de marqueurs d'activation endothéliale (VWF et FVIII) élevés, et corrélés à la présence d'atteintes d'organe et à la sévérité de la maladie.

Bibliographie

1. Bailly P, Chiaroni J, Roubinet F, Etablissement français du sang. Les groupes sanguins érythrocytaires. Montrouge; [La Plaine Saint-Denis: J. Libbey ; Établissement Français du Sang; 2015.
2. Liumbruno GM, Franchini M. Beyond immunohaematology: the role of the ABO blood group in human diseases. *Blood Transfus [Internet]*. 2013 [cité 24 avr 2020]; Disponible sur: <http://doi.org/10.2450/2013.0152-13>
3. Franchini M, Mannucci PM. ABO blood group and thrombotic vascular disease. *Thromb Haemost*. 2014;112(12):1103-9.
4. Goumidi L, Thibord F, Wiggins KL, Li-Gao R, Brown MR, van Hylckama Vlieg A, et al. Association between ABO haplotypes and the risk of venous thrombosis: impact on disease risk estimation. *Blood*. 29 avr 2021;137(17):2394-402.
5. Wu O, Bayoumi N, Vickers MA, Clark P. ABO(H) blood groups and vascular disease: a systematic review and meta-analysis: ABO groups and thrombosis. *J Thromb Haemost*. 25 oct 2007;6(1):62-9.
6. O'Donnell J, Laffan MA. The relationship between ABO histo-blood group, factor VIII and von Willebrand factor. *Transfus Med Oxf Engl*. août 2001;11(4):343-51.
7. Poujol-Robert A, Boëlle PY, Wendum D, Poupon R, Robert A. Association Between ABO Blood Group and Fibrosis Severity in Chronic Hepatitis C Infection. *Dig Dis Sci*. sept 2006;51(9):1633-6.
8. Acar E, İzci S, Inanir M, Yılmaz M, Kılıçgedik A, Güler Y, et al. Non-O-blood types associated with higher risk of high-grade atrioventricular block. *Arch Med Sci - Atheroscler Dis*. 2019;4(1):243-7.
9. Shaheen A, Khaddam J, Kesh F. Risk factors of keloids in Syrians. *BMC*

Dermatol. déc 2016;16(1):13.

10. Anstee QM, Goldin RD, Wright M, Martinelli A, Cox R, Thursz MR. Coagulation status modulates murine hepatic fibrogenesis: implications for the development of novel therapies. *J Thromb Haemost JTH.* août 2008;6(8):1336-43.
11. Cildag S, Kara Y, Senturk T. ABO blood groups and rheumatic diseases. *Eur J Rheumatol.* 19 déc 2017;4(4):250-3.
12. Karadağ A. Comparison of distribution of blood groups in inflammatory rheumatic diseases and healthy subjects. *Cumhur Med J [Internet].* 30 sept 2019 [cité 24 avr 2020]; Disponible sur: <https://dergipark.org.tr/tr/doi/10.7197/cmj.vi.588232>
13. Macafee AL. Blood groups and diabetes mellitus. *J Clin Pathol.* 1 janv 1964;17(1):39-41.
14. Lopetegi I, Muñoz-Lopetegi A, Arruti M, Prada A, Urcelay S, Olascoaga J, et al. ABO blood group distributions in multiple sclerosis patients from Basque Country; O⁻ as a protective factor. *Mult Scler J - Exp Transl Clin.* oct 2019;5(4):205521731988895.
15. Ingegnoli F, Ughi N, Mihai C. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic sclerosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* avr 2018;32(2):223-40.
16. Kavian N, Batteux F. Macro- and microvascular disease in systemic sclerosis. *Vascul Pharmacol.* août 2015;71:16-23.
17. Stafford L, Englert H, Gover J, Bertouch J. Distribution of macrovascular disease in scleroderma. *Ann Rheum Dis.* 1 août 1998;57(8):476-9.
18. Frerix M, Stegbauer J, Dragun D, Kreuter A, Weiner SM. Ulnar artery occlusion is predictive of digital ulcers in SSc: a duplex sonography study. *Rheumatol Oxf Engl.* avr 2012;51(4):735-42.
19. Ludwicka-Bradley A, Silver RM, Bogatkevich GS. Coagulation and

Autoimmunity in Scleroderma Interstitial Lung Disease. *Semin Arthritis Rheum.* oct 2011;41(2):212-22.

20. Habe K, Wada H, Higashiyama A, Akeda T, Tsuda K, Mori R, et al. The Plasma Levels of ADAMTS-13, von Willebrand Factor, VWFpp, and Fibrin-Related Markers in Patients With Systemic Sclerosis Having Thrombosis. *Clin Appl Thromb.* sept 2018;24(6):920-7.

21. Kuryliszyn-Moskal A, Klimiuk PA, Sierakowski S. Soluble adhesion molecules (sVCAM-1, sE-selectin), vascular endothelial growth factor (VEGF) and endothelin-1 in patients with systemic sclerosis: relationship to organ systemic involvement. *Clin Rheumatol.* avr 2005;24(2):111-6.

22. Dumoitier N, Lofek S, Mouthon L. Pathophysiology of systemic sclerosis: State of the art in 2014. *Presse Médicale.* oct 2014;43(10):e267-78.

23. Zsuzsanna Fabianne, Annica Nordin. SSc and the Significance of Blood Group Antigens. Poster présenté à: 2016 ACR/ARHP Annual Meeting; 2016 sept 28.

24. van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* nov 2013;72(11):1747-55.

25. Nishimukai H, Okiura T, Shinomiya T, Fukumori Y, Ohnoki S, Shibata H, et al. Genotyping of the ABO blood group system: analysis of nucleotide position 802 by PCR-RFLP and the distribution of ABO genotypes in a German population. *Int J Legal Med.* oct 1996;109(2):90-3.

26. Germain M, Chasman DI, de Haan H, Tang W, Lindström S, Weng LC, et al. Meta-analysis of 65,734 Individuals Identifies TSPAN15 and SLC44A2 as Two Susceptibility Loci for Venous Thromboembolism. *Am J Hum Genet.* avr

2015;96(4):532-42.

27. Garratty G, Glynn SA, McEntire R, Retrovirus Epidemiology Donor Study. ABO and Rh(D) phenotype frequencies of different racial/ ethnic groups in the United States: ABO/Rh PHENOTYPES IN THE UNITED STATES. *Transfusion (Paris)*. mai 2004;44(5):703-6.

28. Simonneau G, Torbicki A, Dorfmüller P, Kim N. The pathophysiology of chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir Rev*. 31 mars 2017;26(143):160112.

29. Bonderman D, Wilkens H, Wakounig S, Schafers HJ, Jansa P, Lindner J, et al. Risk factors for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. 17 sept 2008;33(2):325-31.

30. Bonderman D, Turecek P, Jakowitsch J, Weltermann A, Adlbrecht C, Schneider B, et al. High prevalence of elevated clotting factor VIII in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Thromb Haemost*. 2003;90(09):372-6.

31. Sobanski V, Dauchet L, Lefèvre G, Lambert M, Morell-Dubois S, Sy T, et al. Associations cliniques des anticorps anti-ARN polymérase de type III dans la sclérodémie systémique : données d'une cohorte française complétées d'une revue systématique avec méta-analyse. *Rev Médecine Interne*. déc 2014;35:A49-50.

32. Gong P, Li S, Luo SH, Zhang Y, Li XL, Guo YL, et al. High-sensitivity C-reactive protein mediates in part the impact of ABO blood group on coronary artery disease. *Int J Cardiol*. déc 2014;177(2):641-3.

33. Shah T, Zabaneh D, Gaunt T, Swerdlow DI, Shah S, Talmud PJ, et al. Gene-centric analysis identifies variants associated with interleukin-6 levels and shared pathways with other inflammation markers. *Circ Cardiovasc Genet*. avr 2013;6(2):163-70.

34. Melzer D, Perry JRB, Hernandez D, Corsi AM, Stevens K, Rafferty I, et al. A Genome-Wide Association Study Identifies Protein Quantitative Trait Loci (pQTLs). Cheung VG, éditeur. PLoS Genet. 9 mai 2008;4(5):e1000072.
35. Jick H, Slone D, Westerholm B, Inman WHW, Vessey MP, Shapiro S, et al. VENOUS THROMBOEMBOLIC DISEASE AND ABO BLOOD TYPE. A COOPERATIVE STUDY: *Obstet Gynecol Surv.* sept 1969;24(9):1154-7.
36. Kiechl S, Paré G, Barbalic M, Qi L, Dupuis J, Dehghan A, et al. Association of variation at the ABO locus with circulating levels of soluble intercellular adhesion molecule-1, soluble P-selectin, and soluble E-selectin: a meta-analysis. *Circ Cardiovasc Genet.* déc 2011;4(6):681-6.
37. Karakas M, Baumert J, Kleber ME, Thorand B, Dallmeier D, Silbernagel G, et al. A variant in the ABO gene explains the variation in soluble E-selectin levels-results from dense genotyping in two independent populations. *PloS One.* 2012;7(12):e51441.
38. Chen Y, Zhuo X, Lin Y, Huang W, Xiao J, Zeng J, et al. Association of ABO blood group with P-selectin levels in Chinese Han healthy volunteers: ABO BLOOD GROUPS AND P-SELECTIN LEVELS. *Transfusion (Paris).* nov 2015;55(11):2759-65.
39. Paré G, Chasman DI, Kellogg M, Zee RYL, Rifai N, Badola S, et al. Novel association of ABO histo-blood group antigen with soluble ICAM-1: results of a genome-wide association study of 6,578 women. *PLoS Genet.* 4 juill 2008;4(7):e1000118.
40. Kahaleh MB. Increased Factor VIII/von Willebrand Factor Antigen and von Willebrand Factor Activity in Scleroderma and in Raynaud's Phenomenon. *Ann Intern Med.* 1 avr 1981;94(4_Part_1):482.
41. Hasegawa M. Biomarkers in systemic sclerosis: Their potential to predict clinical courses. *J Dermatol.* janv 2016;43(1):29-38.

42. James JP, Stevens TRJ, Hall ND, Maddison PJ, Goulding NJ, Silman A, et al. FACTOR VIII RELATED ANTIGEN IN CONNECTIVE TISSUE DISEASE PATIENTS AND RELATIVES. *Rheumatology*. 1990;29(1):6-9.
43. Scheja A, Akesson A, Geborek P, Wildt M, Wollheim CB, Wollheim FA, et al. Von Willebrand factor propeptide as a marker of disease activity in systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Res*. 2001;3(3):178-82.
44. Kumánovics G, Minier T, Radics J, Pálinkás L, Berki T, Czirják L. Comprehensive investigation of novel serum markers of pulmonary fibrosis associated with systemic sclerosis and dermatopolymyositis. *Clin Exp Rheumatol*. juin 2008;26(3):414-20.
45. Barnes T, Gliddon A, Doré CJ, Maddison P, Moots RJ, the QUINs Trial Study Group. Baseline vWF factor predicts the development of elevated pulmonary artery pressure in systemic sclerosis. *Rheumatology*. 1 sept 2012;51(9):1606-9.
46. Utsunomiya A, Oyama N, Hasegawa M. Potential Biomarkers in Systemic Sclerosis: A Literature Review and Update. *J Clin Med*. 22 oct 2020;9(11):3388.

Annexes

Table S1: French general population and SSc population phenotypical ABO blood group repartition

	SSc population - n (%) N = 504	French general population - % (1)	p
O	210 (41.6)	44.4	0.06
A	208 (41.3)	41.9	
B	59 (11.7)	10.9	
AB	27 (5.3)	4.1	

SSc: systemic sclerosis

Table S2: French general population and SSc population O / non-O blood group repartition

	SSc population - n (%) N = 504	French general population - % (1)	p
O	210 (41.6)	44.4	0.18
Non-O	294 (58.3)	56.9	

SSc: systemic sclerosis

Table S3: General population and SSc population simplified diplotype blood group repartition

	SSc population - n (%) N = 131 diplotypes	General population - % (25)	p
AO	45 (34.35)	39.05	0.36
BO	15 (11.45)	11.24	
OO	57 (43.51)	43.79	
Other	14 (10.69)	11.24	
AA	6 (4.58)	8.28	
AB	8 (6.11)	2.38	
BB	0 (0.00)	0.58	

SSc: systemic sclerosis

Table S4: General population and SSc population diplotype blood group repartition

	SSc population - n (%) N = 131 diplotypes	General population - % (25)	p
A1O1	35 (26.72)	28.74	0.31
A2O1	9 (6.87)	10.18	
O1B	14 (10.69)	4.79	
O1O1	57 (43.51)	41.92	
Other	16 (12.21)	14.37	
A1A1	5 (3.82)	4.73	
A1A2	1 (0.76)	3.55	
A1O2	0 (0.00)	0.00	
A2O2	1 (0.76)	0.59	
A1B	6 (4.58)	1.18	
A2B	2 (1.53)	1.18	
O2B	1 (0.76)	1.18	
BB	0 (0.00)	0.59	
O1O2	0 (0.00)	2.37	

SSc: systemic sclerosis

Table S5: General population and SSc population haplotype blood group repartition

	SSc population - n (%) N = 262 haplotypes	General population - % (26)	p
A1	52 (19.85)	22.50	0.01
B	23 (8.78)	5.80	
O1	172 (65.65)	61.60	
Other	15 (5.73)	10.10	
A2	13 (4.96)	6.1	
O2	2 (0.76)	2.9	
Other	0 (0.00)	1.1	

SSc: systemic sclerosis

Table S6: Association between ABO blood groups and SSc characteristics

	Non-O blood group (n = 294)	O blood group (n = 210)	p
Demographic parameters			
Age – Median (IQR), year	64 (53-73)	64 (54-74)	0.30
Women – n (%)	238 (81)	176 (83)	0.41
SSc clinical characteristics			
<i>SSc subtype</i>			0.77
dcSSc – n (%)	61 (20.7)	49 (23.3)	
lcSSc – n (%)	198 (67.3)	138 (65.7)	
SSc sine scleroderma – n (%)	35 (11.9)	23 (11.0)	
Delay since SSc diagnosis – Median (Q1;Q3), year	10.0 (6.0 ; 18.0)	11.0 (6.0 ; 19.0)	0.41
VT history – n (%)	48 (16.3)	25 (11.9)	0.16
AT history – n (%)	32 (10.9)	25 (11.9)	0.72
ILD – n (%)	122 (42.8)	82 (40.4)	0.59
<i>ILD extension</i>			
Limited - n (% among ILD)	90 (31.1)	50 (24.0)	0.11
Extensive - n (% among ILD)	25 (8.7)	27 (13.0)	
PAH – n (%)	41 (15.3)	21 (11.2)	0.21
Digital ulcer – n (%)	151 (51.7)	84 (45.4)	0.17
Calcinosis – n (%)	55 (19.2)	33 (15.9)	0.36
Digestive tract involvement – n (%)	38 (12.9)	22 (10.5)	0.40
Renal crisis – n (%)	4 (1.4)	3 (1.5)	NA
mRSS – median (Q1 ; Q3)	4.0 (2.0 ; 8.0)	3.0 (0.0 ; 7.0)	0.44
Telangiectasias – n (%)	224 (77.2)	154 (73.7)	0.36
<i>NYHA score</i>			
I – n (%)	128 (44.1)	104 (49.5)	0.20
II – n (%)	88 (30.3)	47 (22.4)	
III – n (%)	49 (16.9)	43 (20.5)	
IV – n (%)	25 (8.6)	16 (7.6)	
Biological parameters			
CRP – median (Q1 ; Q3), mg/L	0.0 (0.0 ; 5.0)	0.0 (0.0 ; 4.0)	0.021
NT-pro-BNP – median (Q1 ; Q3), pg/mL	103.0 (51.0 ; 248.0)	115.0 (58.0 ; 259.0)	0.52
<i>ANA specificity</i>			
ACA – n (%)	139 (54.7)	95 (51.6)	0.52
Scl70 – n (%)	52 (20.5)	33 (17.9)	0.51
RNAP3 – n (%)	4 (1.6)	9 (4.9)	0.04
RNP – n (%)	3 (1.2)	6 (3.3)	0.18

Hemostasis and endothelial activation parameters			
FVIII – mean ± sd (% of norm)	206.5 ± 53.0	168.1 ± 48.6	< 0.001
VWF:Ag – mean ± sd (% of norm)	196.2 ± 73.5	160.4 ± 68.6	< 0.001
VWF:Act – mean ± sd (% of norm)	181.4 ± 74.3	141.1 ± 54.1	< 0.001
D dimers – median (Q1 ; Q3), ng/mL	350 (270.0 ; 540.0)	370.0 (270.0 ; 620.0)	0.28
Fibrinogen – mean ± sd (g/L)	3.6 ± 0.8	3.6 ± 1.0	0.93
Cardiopulmonary involvement evaluation			
Tricuspid leak – mean ± sd (m/s)	2.7 ± 0.6	2.6 ± 0.5	0.098
FVC – mean ± sd (% of predicted value)	100.7 ± 22.3	99.8 ± 21.7	0.65
FEV/FVC – mean ± sd	76.9 ± 7.8	78.5 ± 8.6	0.039
DLCO – mean ± sd (% of predicted value)	68.1 ± 20.0	67.0 ± 19.3	0.54
Distance at 6MWT – mean ± sd (% of predicted value)	75.8 ± 19.2	75.1 ± 18.9	0.72
Severity of the disease			
EUSTAR 2011 score – median (Q1 ; Q3)	1.0 (0.5 ; 2.0)	1.0 (0.5 ; 2.0)	0.43
EUSTAR 2016 score – median (Q1 ; Q3)	1.2 (0.3 ; 1.9)	1.2 (0.2 ; 2.0)	0.73
Medsgger score			
0 – n (%)	186 (70.7)	142 (78.5)	
1 – n (%)	27 (10.3)	17 (9.4)	
2 – n (%)	17 (6.5)	10 (5.5)	
3 – n (%)	16 (6.1)	3 (1.7)	
4 – n (%)	5 (1.5)	4 (2.2)	
5 – n (%)	2 (0.8)	1 (0.6)	0.051
6 – n (%)	3 (1.1)	2 (1.1)	
7 – n (%)	4 (1.5)	1 (0.6)	
8 – n (%)	1 (0.4)	0 (0.0)	
9 – n (%)	1 (0.4)	0 (0.0)	
10 – n (%)	2 (0.8)	0 (0.0)	
13 – n (%)	0 (0.0)	1 (0.6)	

VT: venous thrombosis – AT:arterial thrombosis – ILD: interstitial lung disease – PAH:pulmonary arterial hypertension – mRSS: modified Rodnan skin score – NYHA: New-York Heart Association – CRP: C-reactive protein – ACA: anti-centromere antibody – FVIII: factor VIII – VWF:Ag: antigenic Willebrand factor – VWF:Act : Willebrand factor activity – FVC: forced vital capacity – FEV: forced expiratory volume – DLCO: diffusion capacity of the lung for carbon monoxide – 6MWT: 6 minutes walking test – EUSTAR: European Scleroderma Trials and Research Group

Table S7: Association between hemostasis and endothelial activation parameters, and SSc characteristics

	Women (n = 414)	Men (n = 90)	p
VWF:Ag ± sd (% of norm)	179.7 ± 75.8	193.4 ± 63.0	0.27
VWF:Act ± sd (% of norm)	159.7 ± 69.8	186.0 ± 65.8	0.04
FVIII ± sd (% of norm)	192.4 ± 56.6	189.4 ± 45.7	0.73

	lcSSc (n = 336)	dcSSc (n = 110)	SSc sine scleroderma (n = 58)	p
VWF:Ag ± sd (% of norm)	175.9 ± 66.5	195.6 ± 72.3	189.5 ± 101.9	0.22
VWF:Act ± sd (% of norm)	156.3 ± 67.67	186.7 ± 63.6	165.8 ± 83.3	0.05
FVIII ± sd (% of norm)	185.6 ± 52.19	198.3 ± 46.4	210.27 ± 73.03	0.05

	TV history (n = 73)	No TV history (n = 431)	p
VWF:Ag ± sd (% of norm)	197.0 ± 96.0	180.3 ± 69.9	0.38
VWF:Act ± sd (% of norm)	190.2 ± 79.3	161.5 ± 67.6	0.07
FVIII ± sd (% of norm)	201.3 ± 59.1	190.5 ± 53.9	0.33

	TA history (n = 13)	No TA history (n = 447)	p
VWF:Ag ± sd (% of norm)	244.0 ± 120.2	176.5 ± 64.9	0.02
VWF:Act ± sd (% of norm)	213.3 ± 143.2	161.3 ± 58.9	0.21
FVIII ± sd (% of norm)	239.2 ± 81.7	187.4 ± 49.4	0.01

	ILD (n = 204)	No ILD (n = 284)	p
VWF:Ag ± sd (% of norm)	193.4 ± 78.2	176.1 ± 69.3	0.08
VWF:Act ± sd (% of norm)	177.6 ± 79.2	156.4 ± 59.5	0.05
FVIII ± sd (% of norm)	199.0 ± 54.8	187.7 ± 53.1	0.12

	PAH (n = 62)	No PAH (n = 394)	p
VWF:Ag ± sd (% of norm)	195.0 ± 61.8	182.8 ± 76.0	0.48
VWF:Act ± sd (% of norm)	188.6 ± 63.8	163.2 ± 71.6	0.17
VVIII ± sd (% of norm)	195.2 ± 45.7	192.9 ± 55.8	0.86

	Digital ulcer (n = 245)	No digital ulcer (n = 254)	p
VWF:Ag ± sd (% of norm)	183.0 ± 84.1	182.0 ± 62.6	0.92
VWF:Act ± sd (% of norm)	165.8 ± 80.0	165.0 ± 57.8	0.94
FVIII ± sd (% of norm)	187.2 ± 54.0	196.9 ± 54.9	0.18

	Telangiectasias (n = 378)	No telangiectasias (n = 121)	p
VWF:Ag ± sd (% of norm)	182.7 ± 73.6	183.0 ± 75.1	0.98
VWF:Act ± sd (% of norm)	168.6 ± 72.4	156.3 ± 60.8	0.34
FVIII ± sd (% of norm)	193.1 ± 55.2	189.1 ± 53.6	0.64

	ACA specificity (n = 234)	No specificity (n = 204)	ACA p
VWF:Ag ± sd (% of norm)	177.0 ± 59.7	189.0 ± 82.3	0.25
VWF:Act ± sd (% of norm)	159.8 ± 70.4	172.3 ± 68.7	0.28
FVIII ± sd (% of norm)	194.5 ± 54.3	190.7 ± 53.6	0.62

	Scl70 specificity (n = 40)	No Scl 70 specificity (n = 353)	p
VWF:Ag ± sd (% of norm)	187.1 ± 71.7	182.0 ± 72.2	0.69
VWF:Act ± sd (% of norm)	171.6 ± 65.1	164.4 ± 71.0	0.61
FVIII ± sd (% of norm)	200.8 ± 54.7	190.4 ± 53.6	0.28

VT: venous thrombosis – AT:arterial thrombosis - ILD: interstitial lung disease – PAH:pulmonary arterial hypertension - FVIII: factor VIII – ACA: anti-centromere antibody - VWF:Ag: antigenic Willebrand factor – VWF:Act : Willebrand factor activity

AUTEUR(E) : Nom : COLLET

Prénom : Aurore

Date de soutenance : 17/06/2022

Titre de la thèse : Groupes sanguins et sclérodémie systémique : influence sur les caractéristiques cliniques et les paramètres d'activation endothéliale

Thèse - Médecine - Lille 2022

Cadre de classement : Médecine interne

DES + spécialité : Médecine interne

Mots-clés : Groupes sanguins – Sclérodémie systémique – Facteur Willebrand

Résumé :

Introduction : Les groupes sanguins A, B et AB confèrent un sur-risque de thrombose, de pathologies fibrosantes et de maladies auto-immunes. La sclérodémie systémique (ScS) associant activation endothéliale, fibrose et auto-immunité, l'objectif de notre travail était d'évaluer la répartition des groupes ABO chez les patients ScS et leur association avec les manifestations de la maladie.

Matériel et méthodes : Nous avons inclus les patients suivis pour une ScS en médecine interne au CHU de Lille. Le groupe sanguin phénotypique des patients était recueilli *via* le logiciel de l'EFS, après appel téléphonique des patients ou lors de leur venue en hospitalisation. Le génotypage des groupes sanguins était réalisé par recherche de polymorphismes du gène *ABO* par méthode Taqman. Des dosages de facteur Willebrand (VWF:Ag et VWF:Act) et de facteur VIII (FVIII) étaient également réalisés.

Résultats : Nous avons inclus 504 patients pour l'étude phénotypique, et 131 pour l'étude génotypique. La répartition phénotypique des groupes sanguins ABO des patients ScS était comparable à celle de la population générale ($p = 0,06$). Il n'y avait pas non plus de différence en termes de diplotype ($p = 0,31$). En revanche, les haplotypes O1 et B étaient plus fréquents chez les patients ScS que dans la population générale (respectivement, 65,6% vs. 61,6%, et 8,8% vs. 5,8%, $p = 0,01$). La fréquence de l'atteinte interstitielle pulmonaire, de l'hypertension artérielle pulmonaire, des calcinoses, des ulcères digitaux, de l'atteinte digestive, d'un antécédent de thrombose veineuse, et le score de Medsger était plus élevés chez les patients des groupes non-O, bien que n'atteignant pas le seuil de significativité. Les patients de groupes sanguins non-O avaient des taux de FVIII plus élevés que les patients de groupe O ($206,5 \pm 53,0\%$ vs. $168,1 \pm 45,6\%$, $p < 0,001$). On retrouvait des résultats similaires pour les taux de VWF:Ag ($196,2 \pm 73,5\%$ vs. $160,4 \pm 68,6\%$, $p < 0,001$) et de VWF:Act ($181,4 \pm 74,3\%$ vs. $141,1 \pm 54,1\%$, $p < 0,001$). Les taux de VWF:Ag, VWF:Act et de FVIII étaient élevés par rapport à la norme, et corrélés à la sévérité de la ScS et aux atteintes d'organe.

Conclusion : La répartition des groupes sanguins ABO des patients ScS ne diffère pas significativement de celle de la population générale. En revanche, les groupes sanguins non-O pourraient être associés à une fréquence plus importante des complications pulmonaires et vasculaires, ainsi qu'à un sur-risque thrombotique au cours de la ScS.

Composition du Jury :

Président : Professeur Eric HACHULLA

Assesseurs : Professeur Sylvain DUBUQUOI. Docteur Christophe ZAWADZKI

Directeur de thèse : Professeur David LAUNAY