

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2018

THESE N°: 290

RESISTANCE A LA PROTEINE C ACTIVEE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mlle. Sanae AZITOUNE

Née le 01 Août 1992 à Taza

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES : Résistance à la protéine C activée – Facteur V Leiden – Thrombophilie.

JURY

Mme. M. NAZIH

Professeur d'Hématologie Biologique

PRESIDENTE

Mr. A. MASRAR

Professeur d'Hématologie Biologique

RAPPORTEUR

Mme. S. BENKIRANE

Professeur d'Hématologie Biologique

Mr. A. DAMI

Professeur de Biochimie

JUGES



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

رَبِّ أَوْزَعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ الَّتِي
أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَى وَالِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ
صَالِحًا تَرْضَاهُ وَأَصْلِحْ لِي فِي ذُرِّيَّتِي إِنِّي
تُبْتُ إِلَيْكَ وَإِنِّي مِنَ الْمُسْلِمِينَ





UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne – **Clinique Royale**
Anesthésie -Réanimation
pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENSAID Younes

Pathologie Chirurgicale

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. CHAHED OUZZANI Houria
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUY Mohamed

Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed

Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**

Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha

Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**
Chimie thérapeutique **V.D à la pharmacie+Dir du CEDOC**

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie



Radiothérapie
Biophysique

Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbes
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques **Doyen de la FMPA**

Gynécologie Obstétrique
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - **Directeur HMI Med V**
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale



Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen de la FMP Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie
Cardiologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie- *Dir. Hop. Av. Marr.*
Anesthésie-Réanimation *Inspecteur du SSM*
Anesthésie-Réanimation



Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie **Directeur Hop. Chekikh Zaied**
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUECHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne



Pr. MEDARHRI Jalil
 Pr. MIKDAME Mohammed*
 Pr. MOHSINE Raouf
 Pr. NOUINI Yassine
 Pr. SABBAH Farid
 Pr. SEFIANI Yasser
 Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Chirurgie Générale
 Hématologie Clinique
 Chirurgie Générale
 Urologie ***Directeur Hôpital Ibn Sina***
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 Pr. AMEUR Ahmed *
 Pr. AMRI Rachida
 Pr. AOURARH Aziz*
 Pr. BAMOU Youssef *
 Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 Pr. BENZEKRI Laila
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
 Pr. CHOHO Abdelkrim *
 Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 Pr. EL HAOURI Mohamed *
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. IKEN Ali
 Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. LAGHMARI Mina
 Pr. MABROUK Hfid*
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RACHID Khalid *
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 Pr. RHOU Hakima
 Pr. SIAH Samir *
 Pr. THIMOU Amal
 Pr. ZENTAR Aziz*

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
 Pr. AMRANI Mariam
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 Pr. BENKIRANE Ahmed*

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie

Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 Pr. BOULAADAS Malik
 Pr. BOURAZZA Ahmed*
 Pr. CHAGAR Belkacem*
 Pr. CHERRADI Nadia
 Pr. EL FENNI Jamal*
 Pr. EL HANCHI ZAKI
 Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 Pr. HACHI Hafid
 Pr. JABOUIRIK Fatima
 Pr. KHARMAZ Mohamed
 Pr. MOUGHIL Said
 Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
 Pr. TARIB Abdelilah*
 Pr. TIJAMI Fouad
 Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
 Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 Pr. ALLALI Fadoua
 Pr. AMAZOUZI Abdellah
 Pr. AZIZ Nouredine*
 Pr. BAHIRI Rachid
 Pr. BARKAT Amina
 Pr. BENYASS Aatif
 Pr. BERNOUSSI Abdelghani
 Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
 Pr. HAJJI Leila
 Pr. HESSISSEN Leila
 Pr. JIDAL Mohamed*
 Pr. LAAROUSSI Mohamed
 Pr. LYAGOUBI Mohammed
 Pr. NIAMANE Radouane*
 Pr. RAGALA Abdelhak
 Pr. SBIHI Souad
 Pr. ZERAIDI Najia

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie



Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Rhumatologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie (mise en disponibilité)
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Parasitologie
 Rhumatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Gynécologie Obstétrique

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Said*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie



Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation **Directeur ERSM**
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation

Pr. EL OMARI Fatima
 Pr. GHARIB Nouredine
 Pr. HADADI Khalid*
 Pr. ICHOU Mohamed*
 Pr. ISMAILI Nadia
 Pr. KEBDANI Tayeb
 Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
 Pr. LOUZI Lhoussain*
 Pr. MADANI Naoufel
 Pr. MAHI Mohamed*
 Pr. MARC Karima
 Pr. MASRAR Azlarab
 Pr. MRABET Mustapha*
 Pr. MRANI Saad*
 Pr. OUZZIF Ez zohra*
 Pr. RABHI Monsef*
 Pr. RADOUANE Bouchaib*
 Pr. SEFFAR Myriame
 Pr. SEKHSOKH Yessine*
 Pr. SIFAT Hassan*
 Pr. TABERKANET Mustafa*
 Pr. TACHFOUTI Samira
 Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 Pr. TANANE Mansour*
 Pr. TLIGUI Houssain
 Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
 Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
 Pr. AGDR Aomar*
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
 Pr. AKHADDAR Ali*
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. ARKHA Yassir

Psychiatrie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Radiothérapie
 Oncologie médicale
 Dermatologie
 Radiothérapie
 Anesthésie réanimation
 Microbiologie
 Réanimation médicale
 Radiologie
 Pneumo phtisiologie
 Hématologie biologique
 Médecine préventive santé publique et hygiène
 Virologie
 Biochimie-chimie
 Médecine interne
 Radiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Radiothérapie
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Ophtalmologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 Parasitologie
 Cardiologie



Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale

Médecine interne
 Pédiatre
 Chirurgie Générale
 Neurologie
 Neuro-chirurgie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Neuro-chirurgie

Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae*
 Pr. BOUI Mohammed*
 Pr. BOUNAIM Ahmed*
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. CHTATA Hassan Toufik*
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENNASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid*
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. L'KASSIMI Hachemi*
 Pr. LAMSAOURI Jamal*
 Pr. MARMADE Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

PROFESSEURS AGREGES :
Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufik*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat

Anesthésie Réanimation
 Anatomie
 Biochimie-chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie orthopédique
 Hématologie biologique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Microbiologie **Directeur Hôpital My Ismail**
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Hématologie biologique
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-phtisiologie



Anesthésie réanimation
 Médecine interne
 Physiologie
 ORL
 Microbiologie
 Médecine aéronautique
 Biochimie chimie
 Radiologie
 Chirurgie pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Urologie
 Gastro entérologie
 Anatomie pathologique

Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mouna*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie biologique
Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUÏ MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJÏ Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie



Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie biologique
Informatique Pharmaceutique
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie

Pr. EL KHANNOUSSI Basma
 Pr. EL KHLOUFI Samir
 Pr. EL KORAICHI Alae
 Pr. EN-NOUALI Hassane*
 Pr. ERRGUIG Laila
 Pr. FIKRI Meryim
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANE Zineb
 Pr. IRAQI Hind
 Pr. KABBAJ Hakima
 Pr. KADIRI Mohamed*
 Pr. LATIB Rachida
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

Anatomie Pathologie
 Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
 Pr. GHOUNDALE Omar*
 Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

***Enseignants Militaires**



MARS 2014

ACHIR ABDELLAH
BENCHAKROUN MOHAMMED
BOUCHIKH MOHAMMED
EL KABBAJ DRISS
EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA
HARDIZI HOUYAM
HASSANI AMALE
HERRAK LAILA
JANANE ABDELLA TIF
JEAIDI ANASS
KOUACH JAOUAD
LEMNOUER ABDELHAY
MAKRAM SANAA
OULAHYANE RACHID
RHISSASSI MOHAMED JMFAR
SABRY MOHAMED
SEKKACH YOUSSEF
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

***Enseignants Militaires**

DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'
AIT BOUGHIMA FADILA
BEKKALI HICHAM
BENAZZOU SALMA
BOUABDELLAH MOUNYA
BOUCHRIK MOURAD
DERRAJI SOUFIANE
DOBLALI TAOUFIK
EL AYOUBI EL IDRISSE ALI
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM
EL MARJANY MOHAMMED
FEJAL NAWFAL
JAHIDI MOHAMED
LAKHAL ZOUHAIR
OUDGHIRI NEZHA
Rami Mohamed
SABIR MARIA
SBAI IDRISSE KARIM

***Enseignants Militaires**

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Génécologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Cardiologie
Médecine Interne
Génécologie-Obstétrique

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.



AOUT 2015

Meziane meryem
Tahri latifa

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE
EL ASRI FOUAD
ERRAMI NOUREDDINE
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia
Pr. ALAMI OUHABI Naima
Pr. ALAOUI KATIM
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
Pr. ANSAR M'hammed
Pr. BOUHOUCHE Ahmed
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
Pr. BOURJOUANE Mohamed
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
Pr. DAKKA Taoufiq
Pr. DRAOUI Mustapha
Pr. EL GUESSABI Lahcen
Pr. ETTAIB Abdelkader
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
Pr. HAMZAOUI Laila
Pr. HMAMOUCHE Mohamed
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
Pr. REDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed
Pr. ZELLOU Amina

Physiologie
Biochimie – chimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Génétique Humaine
Applications Pharmaceutiques
Microbiologie
Biochimie – chimie
Physiologie
Chimie Analytique
Pharmacognosie
Zootechnie
Pharmacologie
Biophysique
Chimie Organique
Biologie moléculaire
Biologie
Chimie Organique
Chimie
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique



Mise à jour le 14/12/2016 par le

Service des Ressources Humaines



Dédicaces





A ALLAH le tout puissant

يارب.. صرختي الأولى كانت إليك،... دجودي.. بشريتي.. ضعفي.. وفرحي..

كلّما تقودني إليك

. وكلّما اقتربتُ منك ووجدتك أقربَ إلى قلبي وأبعدَ من خيالي !!

يارب.. كنتَ معي في ظلمةِ الرّحم.. في طفولتي وأحلامي.. كنتَ معي في الـخفانِ والتّجمّاع.

. في مواجهةِ الحياة.. في الانطلاقِ والتّهاية..

يارب.. تمنّعتني عينيّنِ ولسانًا وشفتين.. الهدّني أن لا تشغيلَ هذه الجوارحُ بغيرِكَ عنكَ.. واجعلْ ما بيني وبينكَ مسافةً
حبٍّ وقربًا..

يارب أحببتك قبل أن أحنّك.. وكلّما سمعتُ اسمك صيرتُ به أكثرَ قرأً.. وفي كل مرة أذكر فيها اسمك يأتي مُنتالاً بحُبالِ ما
أودعته وأبدعته في خلقك

يارب.. دانّت الجميلَ الذي خلقتني جميلًا.. وأردتَ لي أن أكونَ كما خلقتني: أبقي على فطرتك وامنّني القوّة أن لا تتعثّر
خطائي في مسيري إليك..

يارب.. ما كان هذا العمل إلا بتوفيق منك ابتغيت به رضاك فلك الحمد على كل ما فيه من خيرٍ أستغفركَ على ما طاله
من تقصيرٍ لا حول ولا قوّة إلا بك

يارب.. دانّت الكبيرَ في عليائك وأنا الهباءُ في كونِكَ، فكن أنت الصّاحب في سفرِ الحياة..





A mes chers parents

Khadija Zitoun et Mohamed Azitoun

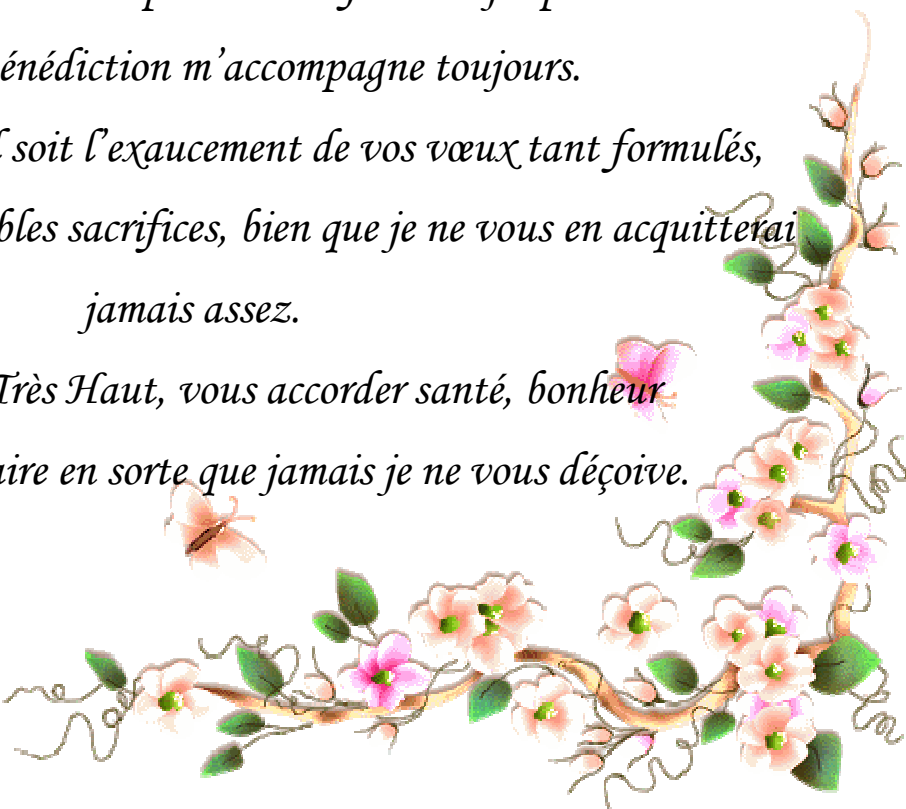
*Vous m'avez tant et tant donné et vous m'avez
accompagné et supporté tout au long de mes études
avec beaucoup de patience et d'amour.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour
éternel et ma considération pour les sacrifices que
vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour
que vous me portez depuis mon enfance et j'espère
que votre bénédiction m'accompagne toujours.*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés,
le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai
jamais assez.*

*Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur
et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*





A mes sœurs Ilham et Fatima

*Rien ne saurait exprimer mon respect
, ma considération et mon grand amour.*

Vos sacrifices, votre courage restent gravé dans ma mémoire.

*Je vous dédie cette thèse, en témoignage de l'affection
dont vous m'avez toujours entourée.*

Que Dieu vous garde et vous accorde santé, bonheur et longue vie.



A mon frère Abdelilah

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon grand
attachement et ma profonde affection.*

*Je prie Dieu tout puissant de t'accorder santé et longue
vie pleine de joie, de bonheur et de réussite.*

A mes grands-pères et mes grand-mères

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez
depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne
toujours.*

*Que ce travail soit l'expression de ma grande affection
et mon profond respect.*

*Puisse Dieu tout puissant vous protège et vous accord
bonheur, santé, et longue vie.*



A mes tantes et mes oncles

*Je vous remercie pour votre soutien et je souhaite
que nos liens restent toujours aussi forts.*

A mes amies Naoual Mourdi et Chaimae Nadim

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments
agréables que nous avons passés ensemble.*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression
de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

A mes amies Nousha Azizi, Chaimae dreif, Chaimae Aoussar

*Je vous dédie ce travail en mémoire des bons moments que nous avons
passé ensemble.*

A toute ma grande famille

En témoignage de mon respect et mon amour.

A tous ceux que j'ai omis de citer

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde sympathie.

J'espère ne jamais les décevoir.

attachement.

*Que Dieu vous garde et vous accorde tout le bonheur
et tout le succès du monde.*





Remerciements





A notre maitre et Président de thèse

Professeur M.NASIH

Professeur d'Hématologie Biologique

Veillez trouver ici notre très grande gratitude.

*Notre grande admiration, et notre profond respect pour l'étendue de vos
connaissances, vos qualités humaines, votre gentillesse
et votre modestie.*

Puisse ce travail ne point vous décevoir.

*Nous voudrions être dignes de la confiance que vous nous avez accordée
et Veillez trouver ici, cher Maître le témoignage de notre haute
considération et profonde reconnaissance.*





A notre maitre et Rapporteur de thèse
Monsieur le professeur AZLARAB MASRAR
Professeur d'Hématologie Biologique

Nous sommes infiniment sensibles à l'insigne honneur que vous nous faites en acceptant de rapporter cette thèse.

Vous nous avez accueillis avec bienveillance et amabilité.

Vous avez guidé à l'élaboration de ce travail par votre rigueur scientifique et vos avis judicieux.

Veuillez trouver ici, l'expression de notre immense gratitude.





A notre maitre et juge de thèse

Madame BENKIRANE SOUAD

Professeur d'Hématologie Biologique

*Vous me faites honneur en acceptant de juger mon travail,
j'ai toujours été marqué par vos qualités humaines, votre
gentillesse, votre sympathie et vos compétences scientifiques.*

*Pour cela, je vous transmets mes sincères remerciements
ainsi que l'expression de mon admiration.*

*Veuillez recevoir l'expression de ma reconnaissance et
de mon respect*





À notre maitre et juge de thèse

Monsieur A. DAMI

Professeur de Biochimie

*Vous avez accepté avec grande amabilité de juger
ce travail en dépit de vos obligations.*

*Cet honneur nous touche infiniment et nous tenons
à vous exprimer, cher maitre, nos sincères remerciements et notre
profonde reconnaissance.*





Liste des abréviations



AA	: Acide aminé
ACCP	: Association canadienne des chefs de police
aPTT	: Activated partial thromboplastin time
ARG	: Arginine
ASP	: Asparagine
ATP	: Activateur tissulaire du plasminogène
BP	: Paire de bases
CLSI	: Clinical and laboratory standards institute
CO	: Contraception oestroprogestative
COC	: Contraceptifs oraux combinés
CVC	: Cathéter veineux central
DRASS	: Direction régionale des affaires sanitaires et sociales
DTI	: Inhibiteur direct de la thrombine
EDTA	: Acide éthylène diamine tétracétique
EGF	: Fragment de type facteur de croissance épidermique
EPCR	: Récepteur endothélial de la protéine C
EPCRs	: Récepteur endothélial de la protéine C soluble
ETE	: Evénement thromboembolique
FIIA	: Thrombine
FII	: Prothrombine
FIX	: Facteur antihémophilique B
FV	: Proaccélélerine
FVa	: Facteur V activé
FVH	: Facteur V hétérozygote
FVi	: Facteur V activé inhibé
FVIIIa	: Facteur antihémophilique A activé
FVL	: Facteur V Leiden
FVIIIi	: Facteur VIII activé inhibé
FX	: Facteur Stuart
FXa	: Facteur X activé
GEHT	: Groupe d'étude sur l'hémostase et la thrombose
GLY	: Glycine
HIS	: Histidine

HTZ	: Hétérozygote
IC	: Intervalle de confiance
IMC	: Indice de masse corporelle
INR	: International normalised ratio
Kb	: Kilobase
KDA	: Kilodalton
MTEV	: Maladie thromboembolique veineuse
Nt	: Nucléotide
OR	: Odds ratio
PC	: Protéine C
PCa	: Protéine C activée
PCI	: Inhibiteur de la protéine C
PCR	: Polymerase chain reaction
PS	: Protéine S
R-PCa	: Résistance à la protéine C activée
RR	: Risqué relatif
SER	: Sérine
SERM	: Selective estrogen receptor modulators
TCA	: Temps de céphaline avec activateur
TEV	: Thromboembolie veineuse
THR	: Thréonine
THS	: Traitement hormonal substitutif
TM	: Thrombomoduline
TP	: Taux de prothrombine



Liste des illustrations



LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structure tridimensionnelle de la protéine C:	8
Figure 2: Structure de la PC et de la PCa	8
Figure 3 : Mode d'activation de la PC en PCa, conséquences sur le contrôle de la coagulation.	10
Figure 4: Activation de la protéine C	11
Figure 5: Représentation schématique de la protéine S.....	13
Figure 6: Représentation schématique de la thrombomoduline.....	14
Figure 7: Structure du facteur V.....	15
Figure 8: Structure du facteur V et du facteur Va.....	17
Figure 9: Le facteur V, structure avant et après activation.....	17
Figure 10: Action régulatrice de la protéine C activée sur les complexes ténase et prothrombinase.....	19
Figure 11: Les voies intriquées de l'activation (par la thrombine) et de l'inactivation (par la PCa) du facteur V.....	21
Figure 12: Fonction anticoagulante du système de la PC.....	22
Figure 13: Les mécanismes anticoagulants du système de la protéine C.....	23
Figure 14: La régulation de la coagulation par le système de la Protéine C :	23
Figure 15: Fonction cytoprotectrice et anti-inflammatoire du système PC/EPCR.....	25
Figure 16: Molécule de FV montrant l'arginine 506 comme un point d'action principal pour l'APC qui est négativement affectée par le FVL.....	29
Figure 17: Mécanismes moléculaires de la résistance à la protéine C activée secondaire au facteur V Leiden	30
Figure 18: Carte de la Méditerranée et de ses pays montrant la prévalence de la FVL chez les populations saines qui y vivent.	40
Figure 19: Distribution mondiale de la résistance à la protéine C activée	38

Figure 20: Événement estimé de thromboembolie veineuse excédentaire (TEV) attribuable à l'utilisation de contraceptifs oraux (CO) chez les femmes préménopausées avec et sans Facteur V Leiden (FVL) et à l'hormonothérapie substitutive (HRT).....	52
Figure 21: Coatest APC-R.....	69
Figure 22: Coatest APC-R V.	70
Figure 23: Hemoclot Quanti FVL.	73
Figure 24 : polymorphisme de longueur de fragments de restriction.....	74
Figure 25: Détection PCR-RFLP du FV R506Q.....	75
Figure 26: Photographie d'un gel d'acrylamide à 6% coloré au bromure d'éthidium démontrant une réaction de polymérisation en chaîne multiplex par polymorphisme de longueur des fragments de restriction(PCR-RFLP) pour analyser la prothrombine G20210A et le facteur V Leiden.	76
Figure 27: Amplification spécifique d'allèle.....	78
Figure 28: Sonde LightCycler.....	79
Figure 29: Sondes Taqman	80
Figure 30: Ligature des oligonucleotides	81
Figure 31: Hybridation spécifique d'allèle.....	82
Figure 32: Extension d'amorces spécifiques d'allèle.....	83
Figure 33: Extension d'amorces avec terminator.....	84
Figure 34: Technologie Nanosphère.	86
Figure35: Représentation schématique du mode d'action des HNF, HBPM et pentasaccharide.	104
Figure 36: Différents types d'approche actuels dans la prise en charge thérapeutique de la maladie thromboembolique veineuse	115

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Comparaison de la fréquence des causes congénitales de l'APCR chez les patients atteints de TVP contre les contrôles.	32
Tableau II: .Prévalence du FVL chez les patients caucasiens atteints de TEV et les sujets normaux vivant dans des pays européens et non européens. Les pays européens sur la mer Méditerranée sont montrés.....	36
Tableau III: Prévalence de FVL chez les patients non-caucasiens atteints de TEV et les sujets normaux dans différentes parties du monde	37
Tableau IV: Prévalence du FVL chez les patients atteints de TEV et les sujets normaux chez les Arabes et les non-Arabes vivant dans différents pays du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord. Les pays de la mer Méditerranée sont montrés.....	38
Tableau V: Prévalence estimée du Facteur V Leiden parmi les patients avec des complications thrombotiques	44
Tableau VI: Risque estimé de complications thrombotiques:Facteur V Leiden hétérozygotes	45
Tableau VII: Risque estimé de complications thrombotiques:Facteur V Leiden homozygotes	45
Tableau VIII: Le pré-analytique en hémostase et les recommandations du Groupe d'études sur l'hémostase et la thrombose (GEHT)	66
Tableau IX: Principaux tests de recherche d'une résistance à la protéine C activée. Caractéristiques des venins utilisés dans les différentes méthodes.....	72
Tableau X: sensibilité (se) et spécificité(sp)du test de résistance à la protéine c activée dans le cadre de la recherche d'une mutation du facteur v leiden	87
Tableau XI: Répartition des techniques utilisées pour la recherche de la mutation V Leiden relevée dans le cadre d'études collaborative ou de contrôle de qualité.....	92

Tableau XII: Validité analytique des tests pour la mutation FVL	93
Tableau XIII: Validité analytique de la détection simultanée (multiplexe) des mutations du FVL et de la Prothrombine G20210A	94
Tableau XIV: HNF indications et posologies dans la prévention et/ou le traitement de la MTEV en médecine (données issues des RCP et des RBP).	102
Tableau XV: HBPM indications et posologies dans la prévention et/ou le traitement de la MTEV en médecine (données issues des RCP et des RBP).	103
Tableau XVI: Anti thrombotiques indications et posologies dans la prévention et/ou le traitement de la MTEV en médecine (données issues des RCP et des RBP)	104
Tableau XVII: Principales caractéristiques des AVK.....	106
Tableau XVIII: AVK indications et posologies dans la prévention et/ou le traitement de la MTEV en médecine (données issues des RCP et des RBP)	106
Tableau XIX: Principales caractéristiques des anticoagulants oraux directs.	109
Tableau XX: Indications des différents AOD dans le traitement ou la prévention de la maladie thromboembolique.....	113

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
HISTORIQUE	3
SYSTEME DE LA PROTEINE C	6
I. LA PROTEINE C	7
1. STRUCTURE.....	7
a. Protéine	7
b. Gène.....	7
2. ACTIVATION	9
3. INHIBITION	11
II. LA PROTEINE S	12
1. PROTEINE.....	12
2. GENE	13
III. LA THROMBOMODULINE	14
IV. FACTEUR V	15
1. STRUCTURE DU FACTEUR V.....	15
2. L'ACTIVATION DU FV EN FVA	16
3. L'INACTIVATION DU FVA	18
4. ROLE DU FACTEUR V DANS LA CASCADE DE LA COAGULATION	18

5. L'EQUILIBRE ENTRE FV PRO-COAGULANT ET ANTI-COAGULANT :.....	20
V. FONCTIONS DU SYSTEME PC :.....	22
1. FONCTION ANTICOAGULANTE :.....	22
2. FONCTION CYTOPROTECTRICE ET ANTI –INFLAMMATOIRE : 24	
3. FONCTION ANTI-APOPTOTIQUE :	26
RESISTANCE A LA PROTEINE C ACTIVEE	27
I. THROMBOPHILIE :	28
II. RESISTANCE A LA PROTEINE C ACTIVEE PAR MUTATION LEYDEN DU FACTEUR V :	28
III. AUTRES MUTATIONS DU FACTEUR V :	31
EPIDEMIOLOGIE	33
I. REPARTITION MONDIALE DU FACTEUR V LEIDEN:.....	34
II. FACTEUR V LEIDEN DANS LA REGION MEDITERRANEENNE:.....	39
MANIFESTATIONS CLINIQUES.....	41
I. INTERET CLINIQUE DE LA RECHERCHE DE RPCA ET OU DU FV LEIDEN :	42
1. THROMBOEMBOLIE VEINEUSE :.....	43
a. Risque pour une première TEV :	44
b. VTE récurrente :	46
2. THROMBOSES ARTERIELLES :	47
3. RPCA, FV Leiden et thromboses au cours de situations particulières : ..	48

a. Cancers :	48
b. La thrombose de cathéters veineux centraux	48
c. RPCA et grossesse :	48
d. Contraceptifs oraux :	49
e. Hormonal substitutif :	51
f. Les modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes :	53
g. Voyage :	53
h. Âge :	53
i. Blessure mineure :	54
j. Obésité :	54
k. Chirurgie :	54
l. Pédiatrie et facteur v leiden :	54
II.INDICATIONS DE LA RECHERCHE DE LA MUTATION DU	
FACTEUR V LEIDEN :	56
DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE	60
I. ASPECTS PREANALYTIQUES :	61
1. POUR LES TESTS DE DEPISTAGE :	61
a. Tube de prélèvement :	61
b. Conditions générales de prélèvement :	62
c. Transport, traitement du prélèvement :	63
d. Préparation du plasma(Centrifugation) :	64
e. Congélation des plasmas :	64
f. Transport de plasmas congelés :	65
g. Décongélation :	65

2. POUR LES TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE :	66
a. Prélèvement, conservation, transport :	66
b. Considérations préliminaires :	67
II. LES TECHNIQUES DE RECHERCHE DE LA MUTATION LEIDEN DU FACTEUR V :	68
1. ÉTUDE DE LA SENSIBILITE A LA PCA : mesure de la « RPCA » : .	68
a. Tests de 1re génération :	68
b. Tests de 2e et 3e génération :	69
c. Test de coagulation permettant l'exploration globale de la voie de la PC :	71
2. LA RECHERCHE DE LA MUTATION LEIDEN DU FACTEUR V PAR BIOLOGIE MOLECULAIRE :	74
a. Techniques sur gel :	74
b. Techniques en temps réel fondées sur le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (Fluorescence resonance energy transfer, FRET) :	78
c. Autres Techniques :	81
III. PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES :	87
1. TEST DE RESISTANCE A LA PROTEINE C ACTIVEE :	87
2. RECHERCHE DE LA MUTATION FACTEUR V LEIDEN :	90
DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL	96
I. TROUBLES HEREDITAIRES :	97
1. La prothrombine 20210G :	97

2. Déficiences héréditaires ou des	97
3. Des taux élevés de lipoprotéine (A) :	97
4. Dysfibrinogénémie héréditaire :	97
5. Une mutation ponctuelle spécifique du gène mthfr (677C > T) :	98
II. TROUBLES ACQUIS :	98
1. RESISTANCE A L'APC:	98
2. LES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES :	98
3. UN TAUX ÉLEVÉ D'HOMOCYSTEINE :	99
4. NIVEAUX DE FACTEUR DE COAGULATION ÉLEVÉS:	99
5. AUTRES :	99
ATTITUDE THÉRAPEUTIQUE	104
I. BUT :	101
II. PRINCIPALES MOYENS THÉRAPEUTIQUES :	101
1. LES HÉPARINES ET LE PENTASACCHARIDE :	101
a. L'héparine non fractionnée (HNF) :	101
b. Les héparines de bas poids moléculaire (HBPM) :	102
c. Le fondaparinux (pentasaccharide) :	103
2. LES ANTIVITAMINES K (AVK) :	105
3. LES ANTICOAGULANTS ORAUX DIRECTS (AOD) : APIXABAN, EDOXABAN, RIVAROXABAN ET DABIGATRAN :	107

III. INDICATIONS :	114
1. PRISE EN CHARGE DES EVENEMENTS THROMBOTIQUES	
PORTEURS SYMPTOMATIQUES:	114
a. Traitement initial :	114
b. Prophylaxie secondaire :	115
c. Thrombose dans des sites inhabituels :	116
d. Gestion du facteur V Leiden dans les cas particuliers :	116
2. PRISE EN CHARGE DES PORTEURS ASYMPTOMATIQUES DU	
FVL :	119
3. GESTION DES MEMBRES DE LA FAMILLE	
ASYMPTOMATIQUES :	119
CONCLUSION	120
RESUMES	122
BIBLIOGRAPHIE	126



Introduction



Les thromboses veineuses sont des affections très fréquentes, leur incidence est estimée dans les pays industrialisés entre 0,5 et 1 sur 1000 habitants. La maladie thromboembolique est multifactorielle, des facteurs génétiques, environnementaux et acquis peuvent être associés chez un même malade[1]. Parmi les anomalies héréditaires prédisposant aux thromboses, les déficits en antithrombine, en protéine C (PC) et en protéine S (PS) sont les plus étudiés et peuvent, dans leur ensemble, expliquer 8 à 15 % des thromboses insolites. Les dosages d'antithrombine, de PC et de PS constituent donc une part essentielle de l'exploration de la thrombose veineuse, les dysfibrinogénémies, les anomalies congénitales de la fibrinolyse ou les déficits en cofacteur II de l'héparine étant des étiologies plus discutées [2].

En février 1993, DAHLBACK et al ont décrit une nouvelle anomalie héréditaire, transmise sur un mode autosomal dominant associée à la thrombophilie : la résistance à la protéine C activée (R-PCa) [2].

Cette anomalie se définit par une activité anticoagulante anormalement faible de la PCa sur les temps de coagulation.

Dans la population ayant des antécédents thromboemboliques veineux, les études épidémiologiques montrent que la R-PCa est fréquente puisque sa prévalence varie entre 15 et 25 % et est donc largement plus élevée que celle de l'ensemble des autres anomalies. Il est important de noter que 2 à 7 % de la population normale ont cette même anomalie.

Initialement, le diagnostic de R-PCa était posé sur le test chromométrique de DAHLBACK, basé sur l'allongement du temps de céphaline avec activateur (TCA) en présence de PCa. Puis, il a été montré que cette anomalie était associée à une anomalie moléculaire du gène codant pour le facteur V (proaccéléline). L'existence d'une même mutation en position 506 chez les patients R-PCa a permis à la biologie moléculaire de devenir un outil supplémentaire important pour le diagnostic et la confirmation de la R-PCa [2].

Le but de notre travail est une mise au point actualisée sur la place de la recherche de la résistance à la protéine C activée dans la thrombophilie, rappelant ses mécanismes physiopathologiques, son épidémiologie, ses principales manifestations cliniques, et nous insistons particulièrement sur les méthodes de dépistage et de diagnostic biologique et en fin l'attitude thérapeutique.



Historique



En 1993, Dahlback et al ont rapporté un patient thrombotique dont le plasma n'a pas montré la prolongation attendue du temps de coagulation (tel que déterminé avec un test basé sur l'aPTT) après l'ajout de PCa purifiée. Ce phénomène in vitro, caractérisée par une faible réponse anticoagulante du plasma à la PCa exogène, a été appelé résistance à la PCa.

Fait intéressant, le patient avait des antécédents familiaux de thrombose veineuse et plusieurs de ses proches ont montré le même phénotype plasmatique, suggérant une base génétique et un modèle autosomique dominant de l'héritage.

Après avoir exclu la carence en protéine S et la présence d'un inhibiteur de la protéine C circulant comme causes possibles de la résistance à la PCa, il a été observé que la réponse anormale à la PCa était plus prononcée dans les tests de coagulation initiés par FIXa que dans les tests de coagulation initiés par FXa, indiquant une inactivation défectueuse du FVIIIa le mécanisme le plus plausible de la résistance à la PCa. Cependant, l'analyse de liaison avec des marqueurs situés sur les gènes des FVIII et facteur von Willebrand exclue l'implication de ces gènes. Parce que l'ajout de plasma normal au plasma résistant à la PCa dose dépendante a corrigé le phénotype anormal, il a été conclu que la résistance à la PCa a été causée par la déficience d'un cofacteur de la PCa précédemment non reconnu.

En 1994 par Dahlback et al: en utilisant des techniques de fractionnement du plasma, le mystérieux cofacteur de la PCa a été purifié du plasma normal et trouvé être physiquement et immunologiquement non distinguable du FV de coagulation. Cette découverte a été confirmée par la capacité du FV normal pour stimuler l'inactivation du FVIIIa catalysée par la PCa dans les systèmes modèles. On ne sait pas encore si le FV stimule aussi l'inactivation du FVa médiée par la PCa.

Ensuite par Dahlback et al: l'activité APC-cofacteur du FV a été montrée plus tard pour résider dans (la partie C-terminale du) domaine B, ce qui est enlevé lors de l'activation du FV. En conséquence, FVa est prouvé inefficace en tant que cofacteur de la PCa. De plus, il a été observé que ce n'est pas FV intact, mais plutôt FV clivé par la PCa, cela stimule l'activité de la PCa. En présence de phospholipides, la PCa clive une seule chaîne du FV à Arg306, Arg506, Arg679 dans la chaîne lourde et à Lys994 dans le domaine B, dans une réaction apparemment non influencée par la protéine S. Bien qu'Arg306 soit le site de clivage cinétiquement préféré au niveau du FV, l'activité PCa cofacteur du FV est seulement exprimée après le clivage à Arg506.

En 1994 par Bertina et al: l'implication du FV dans la résistance à la PCa a également été soutenue par plusieurs sources de données indépendantes: (i) des expériences de reconstitution du plasma montrant que FV purifié à partir du plasma résistant à la PCa était suffisant pour conférer la résistance à la PCa au plasma déficient en FV, alors que le plasma résistant à la PCa appauvri en FV endogène et reconstitué avec un FV normal avait une réponse à la PCa normale ; (ii) l'observation que la résistance plasmatique à la PCa pourrait être corrigée par plasma déficient en tout facteur, à l'exception du plasma déficient en FV ; et (iii) analyse de liaison dans deux familles thrombophiles non apparentées montrant la co-ségrégation du phénotype de résistance à la PCa avec des marqueurs de gènes FV . Cependant, le plasma résistant à la PCa a montré une activité procoagulante du FV normale, suggérant cette résistance a été causée par un défaut qualitatif altérant sélectivement l'activité anticoagulante (PCa-cofacteur) de FV. Cela a finalement été identifié comme la transition G1691A dans exon 10 du FV, prédisant la substitution d'Arg506 par un Gln (FV Leiden, Leiden étant la ville où cette mutation a été découverte).

Cette mutation est présente dans 95% des familles avec la résistance à la PCa, ce qui en fait la principale cause de la résistance héréditaire à la PCa [3].



Système de la protéine C



La protéine C est au centre d'un système physiologique inhibiteur de la coagulation : le système anticoagulant de la protéine C, tout particulièrement au niveau de la microcirculation où la surface endothéliale est très importante [4,5].

I. LA PROTEINE C :

1. STRUCTURE :

a. Protéine :

La protéine C (PC) est une protéine de synthèse hépatique, vitamine K dépendante et zymogène d'une sérine protéase, elle est de 62 kDa et est composée d'une chaîne lourde (250 acides aminés (aa); 41 kDa) et une chaîne légère (155 aa; 21 kDa), maintenues ensemble par un pont disulfure [6 et 7].

La molécule de protéine C a un domaine gamma-carboxyglutamique acide du côté N-terminale (aa 1-45), deux domaines de facteur de croissance épidermique (aa 46-91, 92 - 136), une zone de raccordement (aa 137-184, y compris un peptide d'activation de l'aa 158-169), et un domaine protéase contenant un domaine catalytique de l'aa 185-419 (figure 1 et 2).

Les résidus glutamiques lient le Calcium et sont indispensables pour le bon repliement de la protéine. Son domaine glutamique lie les charges négatives de la membrane phospholipidique et aussi l'EPCR : les deux interactions sont importantes pour les fonctions physiologiques de la protéine C [8].

b. Gène :

Son gène codant est localisé sur le chromosome 2 dans la région q13-14 et est d'environ 11 kb, contenant 9 exons et 8 introns. La majorité des introns séparent des domaines fonctionnels de la protéine d'une manière semblable à d'autres protéines vitamine K dépendantes [6 et 7].

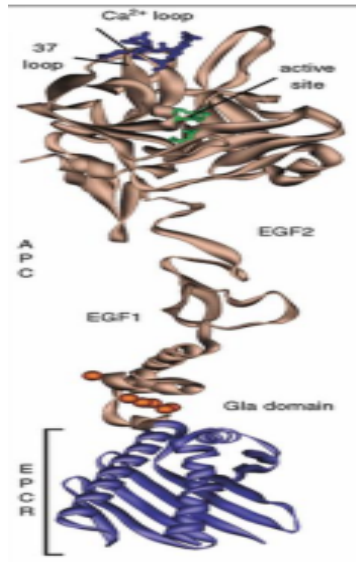


Figure 1: Structure tridimensionnelle de la protéine C:

Le site actif de la protéine est représentée en vert et la boucle de fixation du calcium est en bleue. Le domaine Gla est impliqué dans la fixation aux phospholipides chargés négativement et à l'EPCR. Les domaines EGF 1 et 2 sont impliqués dans l'interaction avec la protéine S [9].

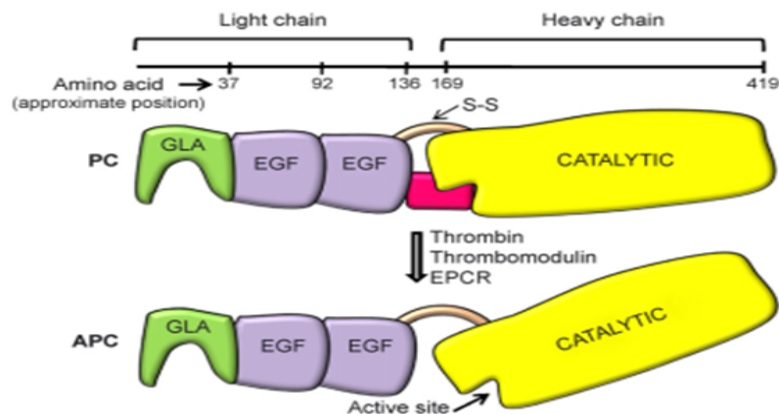


Figure 2: Structure de la PC et de la PCa.

GLA: domaine riche en acide carboxy-glutamique; EGF: fragment de type facteur de croissance épidermique; S-S: liaison disulfure. Le fragment cramoisi en moitié représente le peptide d'activation. La barre montre les nombres séquentiels approximatifs d'acides aminés. [10]

2. ACTIVATION :

La protéine c activée est générée par la thrombine, laquelle réalise le clivage de 12 acides aminés de la PC (figure 3 et 4) [11].

Le Clivage de la thrombine du zymogène à Arg169 supprime le peptide d'activation et génère la protéine c activée, qui est une sérine protéase de type trypsine avec une triade typique du site actif, His211, Asp257 et Ser360, [9].

Cette réaction, très lente, est accélérée d'un facteur 20 000 lorsque la thrombine est préalablement fixée sur un récepteur des cellules endothéliales, la thrombomoduline [11].

La PCa alors formée se fixe aux phospholipides anioniques des membranes cellulaires par l'intermédiaire d'ions Ca^{2+} et forme un complexe équimolaire avec la PS [11].

L'activation de la PC en PCa par le complexe thrombine thrombomoduline est encore accélérée d'un facteur 20 lorsque la PC est fixée sur son récepteur des cellules endothéliales, l'*endothelial cell protein C receptor* (EPCR) [11].

Les répartitions vasculaires des deux récepteurs diffèrent : en effet, la thrombomoduline est représentée dans tous les vaisseaux, alors que l'EPCR est présent principalement dans les vaisseaux de fort calibre. En accélérant la vitesse d'activation de la PC en PCa par le complexe thrombine thrombomoduline, l'EPCR permet de compenser le fait qu'un même volume de sang rencontre des quantités plus faibles de thrombomoduline dans les vaisseaux de fort calibre que dans ceux de petit calibre, et permet donc au système PC/PS d'être efficace quel que soit le calibre du vaisseau [11].

La protéine C circule dans le plasma à 70nM alors que la PCa est présente à des concentrations considérablement plus faibles (40pM ou ~2,3ng/ml) [10].

La demi-vie plasmatique de la PCa est ~20 min, ce qui est considérablement plus long que d'autres sérines protéase, telle que la thrombine [10].

Le domaine C-terminal de la PCa comprend trois sites :

- le site actif sérine-protéase composé de la triade catalytique His211-Asp257-Ser360, responsable de l'activité amidolytique de la PCa ;
- une poche hydrophobe nécessaire à la reconnaissance des facteurs Va et VIIIa, substrats de la PCa ;
- un site d'affinité pour le calcium impliqué dans l'activation de la PC par le complexe thrombine-thrombomoduline [12].

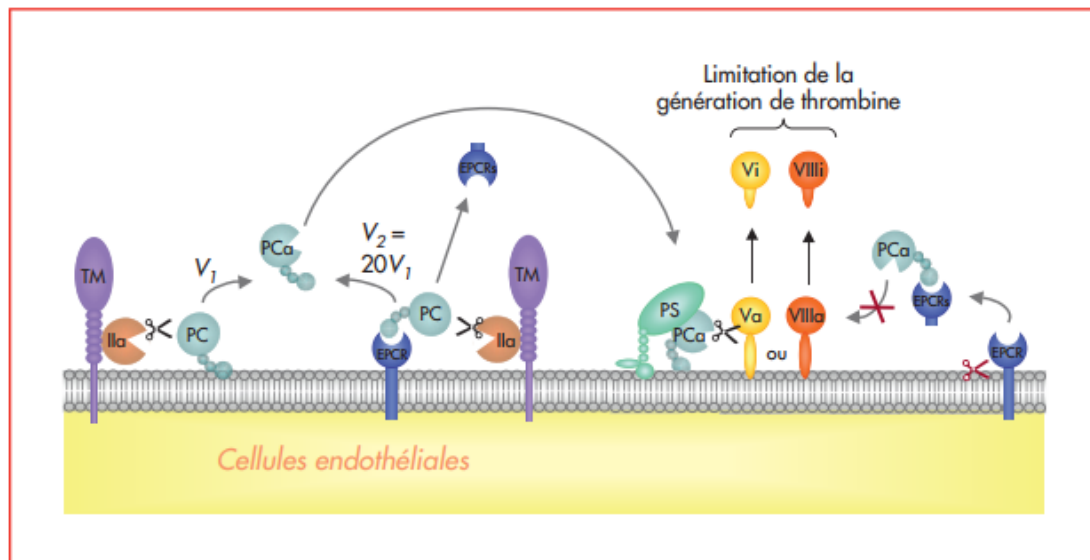


Figure 3 : Mode d'activation de la PC en PCa, conséquences sur le contrôle de la coagulation.

TM : thrombomoduline, PC : protéine C, PCa : protéine C activée, PS : protéine S, EPCR : *endothelial cell activated protein C/protein C receptor*, EPCRs : EPCR soluble, IIa : thrombine, FVa : facteur V activé, FVIIIa : facteur VIII activé, FVi : facteur Va inactivé, FVIIIi : facteur VIIIa inactivé. V1 : vitesse d'activation de la PC en PCa sous l'effet du complexe IIa-TM ; V2 : vitesse d'activation de la PC en PCa une fois la PCa fixée préalablement à l'EPCR. La paire de ciseaux indique les réactions enzymatiques suivies d'un clivage du substrat [11].

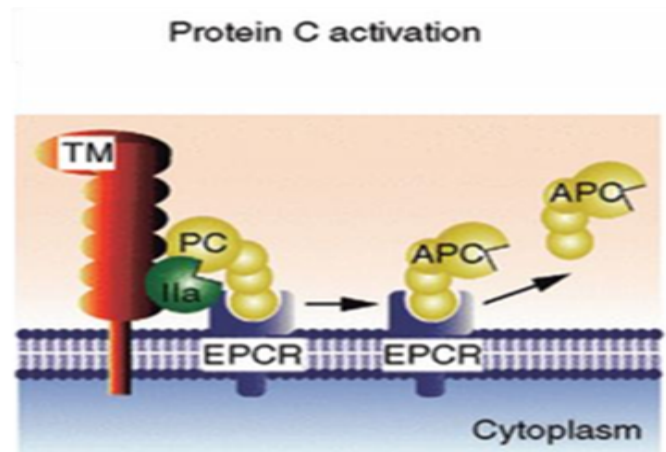


Figure 4: Activation de la protéine C.

(A) Les récepteurs des cellules endothéliales, la thrombomoduline (TM) et la cellule endothéliale le récepteur de la protéine C (EPCR) est requis pour une activation efficace de la protéine C par la thrombine (IIa) [9].

La protéine C est donc activée par le clivage d'un dodécapeptide de la chaîne lourde à Arg169. Et Pour obtenir une activation optimale, la protéine C doit pouvoir lier la thrombine, le récepteur de la protéine C, la thrombomoduline, le Ca^{2+} et le phospholipide, en particulier la phosphatidyléthanolamine. Les caractéristiques moléculaires spécifiques de la protéine C qui favorisent l'activation comprennent la γ -carboxyglutamation des résidus d'acide glutamique dans le domaine Gla (en particulier Gla 7, 20, 25, 26 et 29), la présence des sites de liaison du métal dans le domaine Gla, la présence du résidu d'acide β -hydroxyaspartique, et la présence des domaines hydrophobes N-terminaux [6 et 7].

3. INHIBITION :

L'inactivation de l'APC dans le plasma est stimulée par des inhibiteurs de sérine protéase (SERPIN) dont l'inhibiteur de la protéine C (PCI), l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène 1 (PAI-1), l' α_1 -antitrypsine et, dans une moindre mesure, l' α_2 -macroglobuline et Les α_2 -antiplasmines sont les plus pertinentes pour la PCa. La réaction de la PCa avec SERPIN est relativement lente, entraînant une demi-vie d'environ 20 min de la PCa dans la circulation [13].

II. LA PROTEINE S :

1. PROTEINE :

La protéine S est une protéine vitamine K dépendante de 635 acides aminés, de MM 69 kDa.

Sa synthèse n'est pas exclusivement hépatocytaire ; elle est produite par les cellules endothéliales, les cellules de Leydig et le cerveau.

La partie N-terminale de la protéine mature contient 11 GLA qui lient les ions calcium et lui confèrent une haute affinité pour les PLs membranaires (figure5) [14].

Elle comprend à proximité de son domaine Gla, une région sensible à l'hydrolyse par la thrombine, qui n'existe pas chez les autres facteurs de la coagulation [12].

La PS et la PC possèdent des domaines homologues à l'épidermal growth factor (EGF) qui comprennent un acide bêta hydroxy aspartique, résidu impliqué lui aussi dans l'affinité de ses protéines pour les ions calcium. La liaison du calcium aux domaines Gla et EGF des protéines C et S est responsable de modifications structurales indispensables à l'activité physiologique du système PC PS [12].

La PS est un cofacteur non enzymatique de la PCa dans son action protéolytique sur les facteurs Va et VIIIa. Elle possède également *in vitro* une activité inhibitrice directe sur les facteurs Xa et Va [14].

Sa concentration plasmatique est d'environ 25 mg/L. Dans le plasma, la PS circule principalement sous deux formes, une forme libre (PSL) [40 %] et une forme liée (60 %) à une protéine régulatrice du système du complément, la *C4b-binding protein* (C4b-BP). La PS ne se lie qu'aux isoformes bêta de la C4b-BP (80 % de la C4b-BP circulante). Son affinité pour la chaîne bêta est telle que toute la C4b-BP bêta circulante est liée à la PS chez l'individu sain. Il est classiquement admis que seule la fraction libre de la PS a une activité anticoagulante [14].

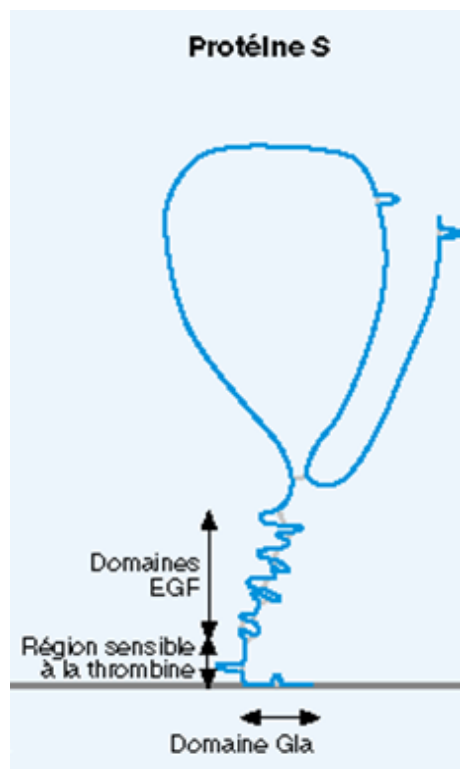


Figure 5: Représentation schématique de la protéine S

Gla: acide gamma-carboxy glutamique; EGF: epidermal growth factor. [12]

2. GENE :

Le gène codant la PS a été localisé sur le chromosome 3 ; il comporte 15 exons s'étendant sur plus de 80 kb [14].

III. LA THROMBOMODULINE

La thrombomoduline est une protéine de 557 acides aminés (75 kDa), retrouvée à la surface des cellules endothéliales. Elle est composée de trois domaines (figure6) : un domaine C-terminal intracytosolique, un domaine transmembranaire et un domaine N-terminal extracellulaire. Ce dernier comprend une partie riche en Ser-Thr, six domaines homologues à l'epidermal growth factor (EGF-like), et une partie N-terminale relativement hydrophobe (figure6).

Une partie de la thrombine formée pendant le processus de coagulation interagit avec la thrombomoduline. Le site appelé *anion binding exosite I* de la thrombine se fixe aux EGF-like 5 et 6 de la thrombomoduline et le complexe thrombine-thrombomoduline formé peut activer la PC plasmatique. Lors de sa liaison avec la thrombomoduline, la thrombine subit une modification conformationnelle. Elle perd ses propriétés procoagulantes et son affinité tant pour les plaquettes que pour le fibrinogène. Toutefois, elle peut toujours être inactivée par l'antithrombine, son principal inhibiteur plasmatique [12].

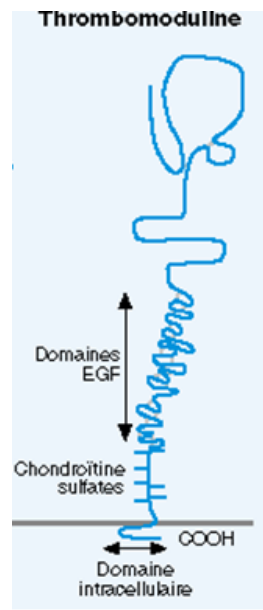


Figure 6: Représentation schématique de la thrombomoduline

Gla : acide gamma-carboxy glutamique ; EGF : epidermal growth factor [12].

IV. FACTEUR V :

1. STRUCTURE DU FACTEUR V :

Le facteur V ou proaccélélerine est une glycoprotéine synthétisée par le foie et libérée dans le plasma sous forme inactive [15].

Le facteur V est une protéine de 330 kD, codée par un gène de plus de 80 kb situé sur le chromosome 1 dans la région 1q 21-25 .Il comprend 25 exons codant pour les différents domaines de la protéine mature qui est formée de 2 196 acides aminés organisés en plusieurs types de domaines répétés (A1 - A2 - B - A3 - C1 - C2) (figure7). Cette structure est très semblable à celle du facteur VIII [14].

Le domaine B, qui comprend 882 acides aminés et 25 des 37 sites potentiels de glycosylation du facteur V, est codé par un seul exon, l'exon 13. Ce domaine, dit de connexion, est libéré lors de l'activation du facteur V après clivage de 3 liaisons peptidiques impliquant l'Arg 709, l'Arg 1018 et l'Arg 1545[16].

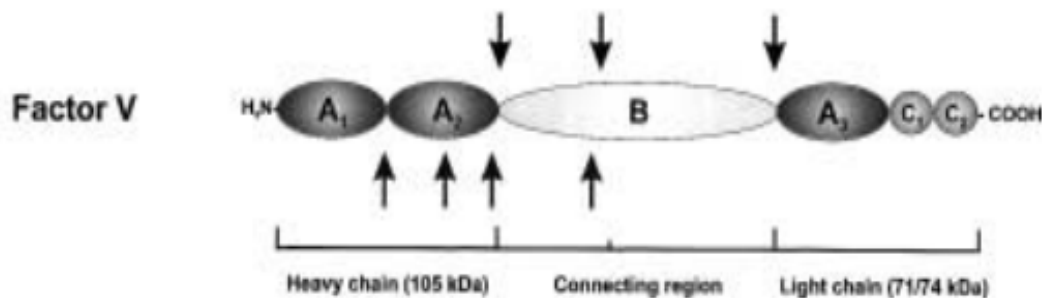


Figure 7: Structure du facteur V [17].

2. L'ACTIVATION DU FV EN FVA :

Le FV ne devient un cofacteur efficace du facteur Xa qu'après avoir subi plusieurs coupures de la zone de connexion (B) entre la chaîne lourde (domaines A1 et A2) et la chaîne légère (A3-C2-C3). Ces coupures sont réalisées par la thrombine ou le facteur Xa, et elles entraînent un réarrangement des domaines : la zone de connexion B est dissociée du cofacteur, et la chaîne lourde s'assemble à la chaîne légère par des liaisons non covalentes (figure 8 et 9) [18].

Le facteur Va est formé d'une chaîne lourde de 105 kD (A1 - A2) reliée par des ions calciques à une chaîne légère (A3 - C1 - C2) polymorphe avec deux isoformes de 71 et 74 kD différant par leur degré de glycosylation (figure 8 et 9).

Le facteur V comporte un certain nombre de tyrosines sulfatées dans le domaine B et la chaîne légère, cette modification post-translationnelle étant indispensable à l'activation du facteur V par la thrombine. La fixation du facteur Va sur les phospholipides membranaires et sa liaison avec le facteur Xa requièrent le domaine C2 de la chaîne légère, ainsi que le domaine A3 qui comporte également un site de fixation pour la PCa. La PCa clive la chaîne lourde du facteur Va humain après l'Arg 506.

L'inactivation totale du facteur Va humain n'est observée qu'après clivage d'un pont Arg-Ser en position 306 [16].

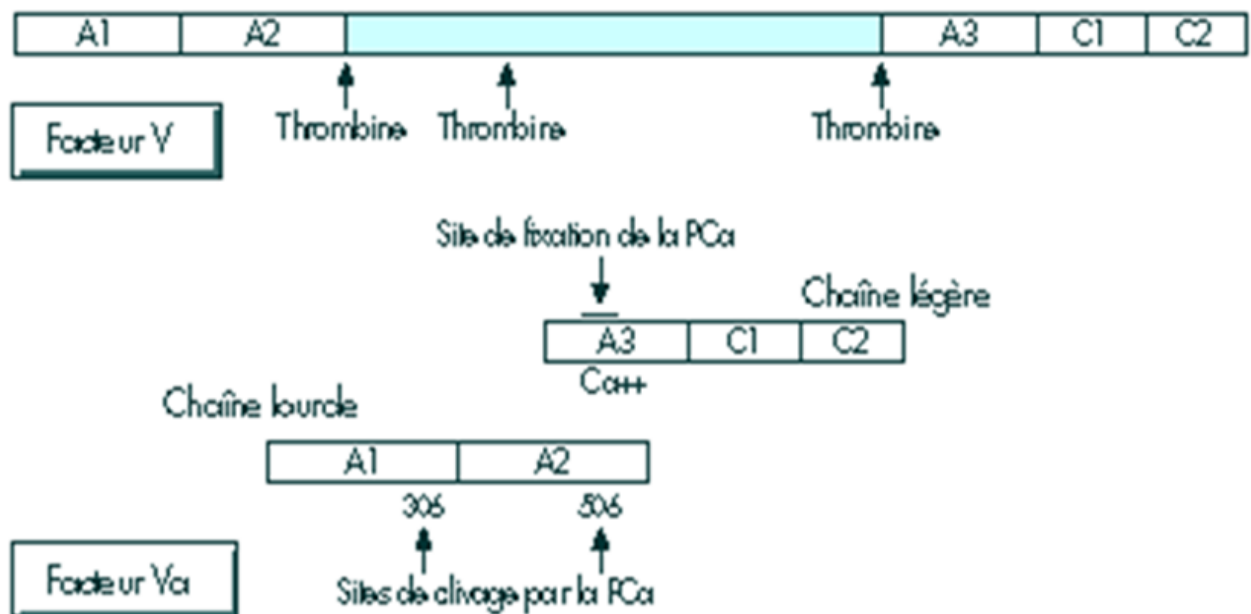


Figure 8: Structure du facteur V et du facteur Va [16].

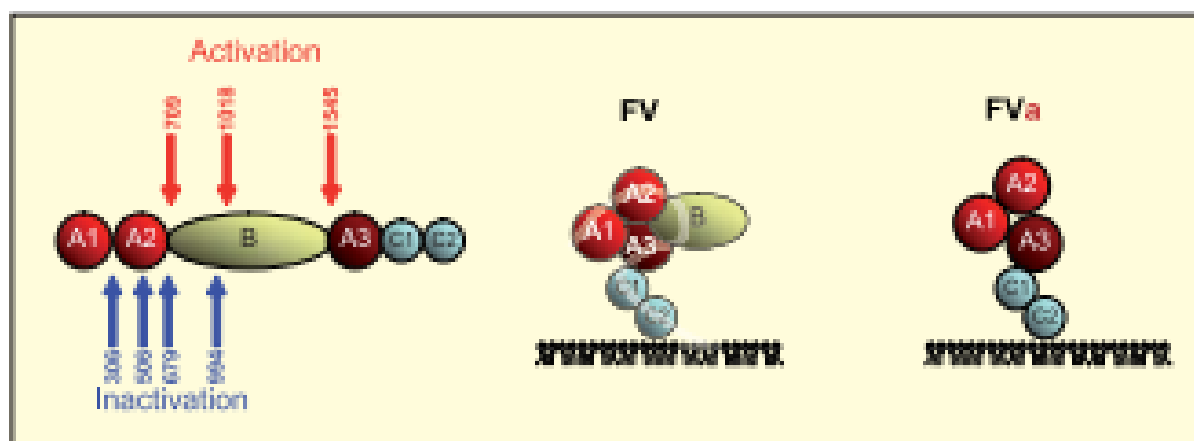


Figure 9:Le facteur V, structure avant et après activation [18].

3. L'INACTIVATION DU FVA :

Elle résulte du clivage par la PCa des arginines 306, 506, 679 et 994. L'arginine 506 est la première à être clivée, et la cible préférentielle en cas de concentrations faibles de FVa et de PCa. Cependant, l'inactivation qui en résulte est partielle. Pour être complète, elle nécessite encore la coupure de l'arginine 306 qui est très dépendante de l'activité cofacteur de la protéine S (figure 9) [18].

4. ROLE DU FACTEUR V DANS LA CASCADE DE LA COAGULATION :

Après activation en FV activé par la thrombine, il constitue, avec le FXa, les phospholipides membranaires et le calcium, le complexe « prothrombinase » (figure10).

Ce complexe, dont l'action est majeure et centrale dans la cascade de la coagulation, permet la transformation de la prothrombine en thrombine active, qui clive le fibrinogène en fibrine. Une petite quantité de FV inactif est activée en FVa par la thrombine. Le FVa joue alors le rôle de cofacteur non enzymatique du facteur Xa, au sein du complexe « prothrombinase », qui clive la prothrombine en thrombine.

La thrombine inhibe également sa propre formation par une boucle de rétrocontrôle négatif. En effet, en présence de thrombomoduline, la thrombine permet l'activation de la protéine C en PCa.

La PCa inactive les FVa et FVIIIa, par clivage protéolytique en positions R506, puis R306 et R679 pour le FVa, et en positions R336 et R562 pour le facteur VIIIa, ce qui aboutit à une génération de thrombine réduite. Le clivage du site R306 (action lente) du FVa entraîne une inactivation complète du FVa, alors que le clivage du site R506 (action rapide) n'entraîne qu'une inactivation partielle du FVa. Le clivage du site R679 est 1000 fois plus lent que celui du site R306, et sa signification physiologique est mal connue. Le récepteur endothélial de la protéine C (endothelial protein C receptor [EPCR]) joue un rôle crucial dans l'action anticoagulante de la protéine C, en favorisant son activation en PCa. La protéine S est un cofacteur non enzymatique de la PCa dans le clivage des FVa et FVIIIa [15].

Le facteur V est une protéine pivot de l'hémostase. Le cofacteur V (FV) est anticoagulant en tant que cofacteur de l'action de la Protéine C activée lors de la dégradation du facteur VIIIa, et le cofacteur Va est procoagulant en tant que cofacteur enzymatique du facteur Xa, qui accélère considérablement l'activation de la prothrombine en thrombine. La protéine C activée empêche ainsi la formation de caillots sanguins [18].

Cette ambivalence fonctionnelle du facteur V a d'ailleurs conduit GA Nicolaes et B.Dahlbäck à qualifier le cofacteur V de protéine Janus [18].

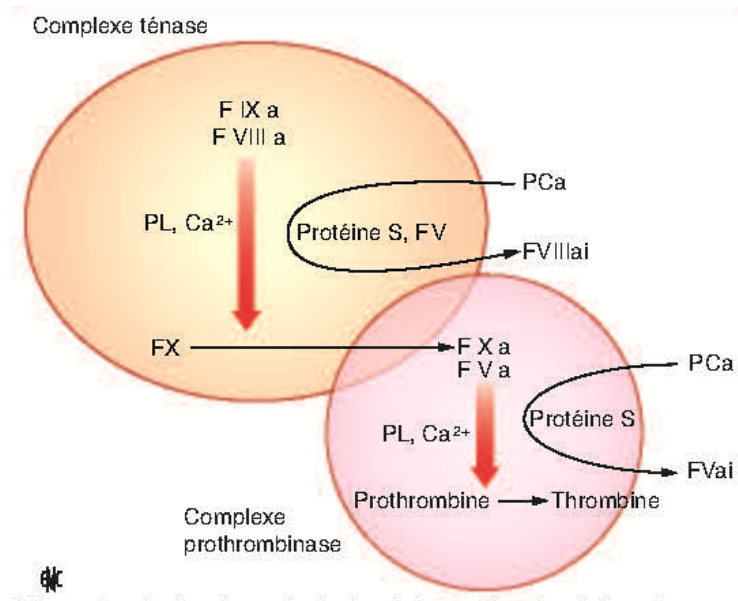


Figure 10: Action régulatrice de la protéine C activée sur les complexes ténase et prothrombinase.

PCa : protéine C activée ; PL : phospholipides ; Ca^{2+} : calcium ; FIX : facteur IX ; FVIII : facteur VIII ; FX : facteur X ; FV : facteur V ; a : activé ; i : inactivé [15].

5. L'EQUILIBRE ENTRE FV PRO-COAGULANT ET ANTI-COAGULANT :

L'activité anticoagulante du FV cofacteur de la PCa pour la dégradation du VIIIa est liée à la partie C terminale du domaine B. Elle nécessite la coupure de l'arginine 506 par la PCA.

Les états du FV ne se limitent donc pas aux formes basales, activée et inactivée, mais comprennent aussi d'autres états intermédiaires de la molécule.

La course de vitesse entre l'action de la PCa et des sérines protéases activatrices (IIa et Xa) peut suivre une autre séquence que le schéma activation/inactivation, et induire l'apparition de molécules partiellement inactivées (Arg506) (figure 11) qui acquièrent une fonction anticoagulante en tant que cofacteur de la PCa dans sa dégradation du VIIIa. Ce FV anticoagulant peut alors soit subir l'action de la PCa et devenir totalement inactivé par clivage de l'arginine 306, soit rejoindre un état partiellement procoagulant par clivage des arginines 709, 1018 et surtout 1545 (Facteur V activé intermédiaire : Vaint) (figure 11).

De même, le FVa (activé par la thrombine ou le facteur Xa sur les arginines 709, 1018 et 1545), peut soit subir une dégradation partielle par la PCa au niveau de l'arginine 506 qui donnera un FV partiellement procoagulant comme précédemment décrit, soit être totalement dégradé dès que la PCa s'attaque à l'arginine 306 (figure 11). C'est donc des concentrations relatives en IIa, Xa et PCa que résulte le devenir de chaque molécule de FV. L'importance du rôle anticoagulant du FVac clivé en 506 est démontrée par le phénotype pseudo-homozygote des patients présentant une double hétérozygotie avec la mutation Leiden sur un allèle et une mutation « null » sur l'autre allèle (absence d'ARN détectable) abolissant complètement l'activité du gène. La perte du FV normal fait perdre la fonction FVac et aboutit à une résistance fonctionnelle de type homozygote. [18]

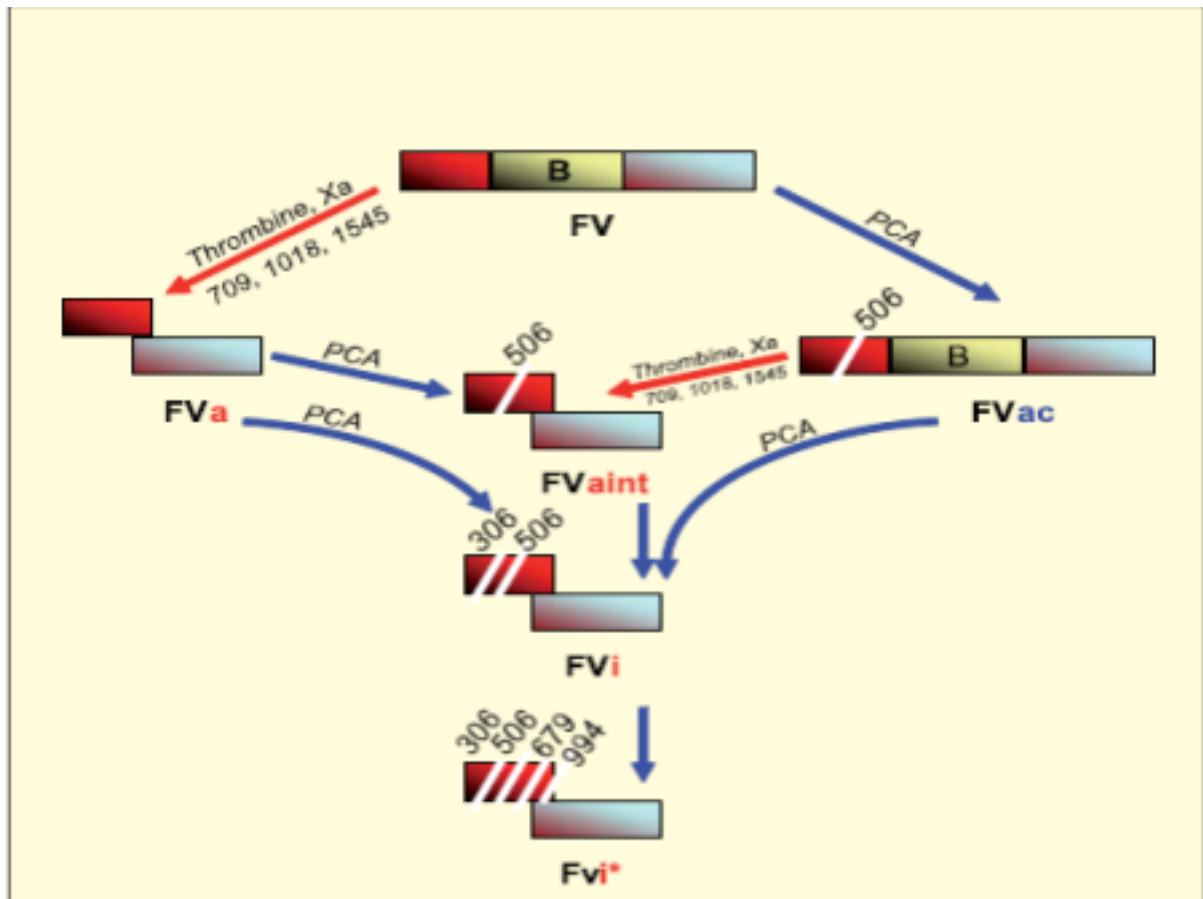


Figure 11: Les voies intriquées de l'activation (par la thrombine) et de l'inactivation (par la PCa) du facteur V [18]

V. FONCTIONS DU SYSTEME PC :

1. FONCTION ANTICOAGULANTE :

Comme nous l'avons décrit précédemment, la fixation de la PC sur son récepteur membranaire, EPCR, entraîne une accélération de la vitesse d'activation de la PC par le couple thrombine-thrombomoduline. Cette accélération est expliquée par une diminution de la K_m (constante de Michaelis) qui passe de 869 nM – quand l'activation de la PC se fait sur une membrane cellulaire exprimant seulement la thrombomoduline (TM) – à 140 nM lorsque les cellules expriment à la fois la TM et l'EPCR[19].

L'activation de la PC est critique pour la régulation négative de la coagulation. En effet, en présence de la protéine S, la PCA inactive les facteurs Va et VIIIa, deux facteurs clé responsables de l'amplification des réactions de coagulation – inhibant ainsi la formation de la thrombine.

En plus de son rôle d'inhibiteur de la fibrinogenèse, la PCa peut également promouvoir la fibrinolyse en inactivant le PAI-1, favorisant ainsi la génération de plasmine [20].

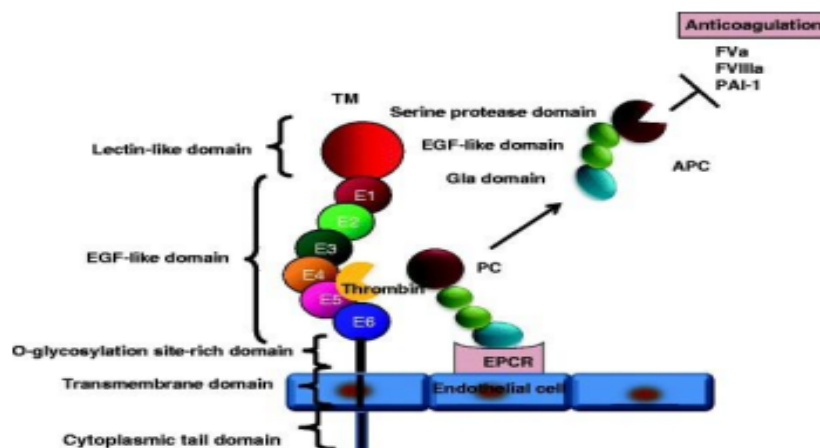


Figure 12: Fonction anticoagulante du système de la PC

TM : thrombomoduline; PC : protéine C; APC : PC active; EPCR : récepteur endothélial de la PC; PAI-1 : plasminogen activator inhibitor-1; EGF : epidermal growth factor; Gla : acide gamma-carboxyglutamique[20].

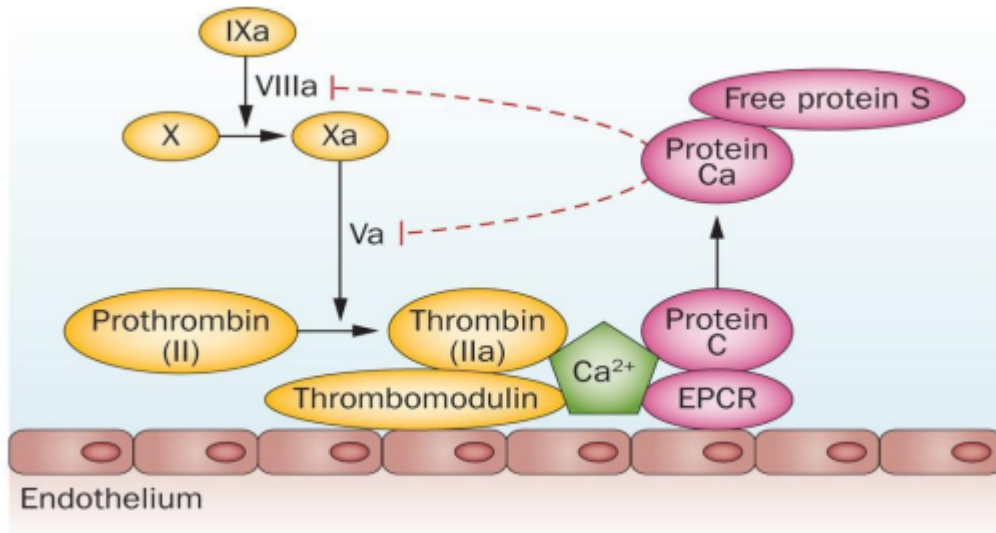


Figure 13: Les mécanismes anticoagulants du système de la protéine C [21].

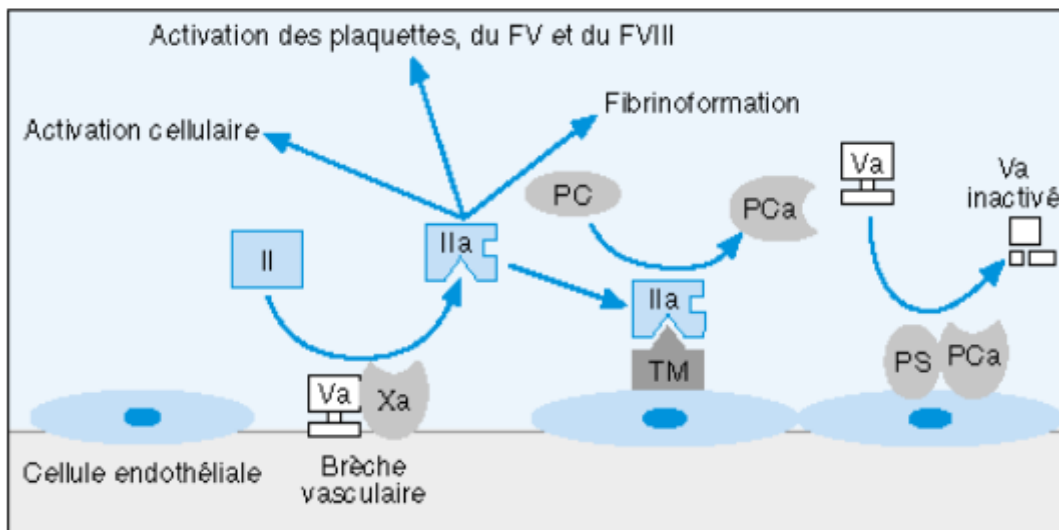


Figure 14: La régulation de la coagulation par le système de la Protéine C :

La prothrombine (II) est transformée en thrombine (IIa) sous l'action du complexe « prothrombinase » formé au niveau d'une brèche vasculaire. La thrombine ainsi produite peut transformer le fibrinogène en fibrine, activer les plaquettes et diverses cellules, amplifier le processus de coagulation, et se lier à la thrombomoduline (TM). Le complexe thrombine-thrombomoduline peut alors activer la protéine C (PC) en PC activée (PCa). La PCa protéolyse le facteur Va en présence de protéine S (PS). L'inactivation du facteur VIIIa est similaire [12].

2. FONCTION CYTOPROTECTRICE ET ANTI -INFLAMMATOIRE :

Depuis quelques années, le statut de la PCa, en tant que facteur impliqué exclusivement dans la coagulation, a changé pour intégrer d'autres fonctions comme la fonction cytoprotectrice et anti-inflammatoire (Figure 15).

Diverses études de recherche et/ou cliniques rapportent des preuves quant à l'implication de la PCA dans l'inflammation. Une étude, *in vivo*, montre que l'inhibition de la fixation de la PC à son récepteur aggrave la réponse aux doses sublétales d'*Escherichia coli* chez les babouins [22]. Une étude chez l'homme montre que l'administration de PCa, dans le cadre d'essais cliniques, réduit la mortalité chez des patients atteints d'un sepsis sévère [23]. Ces résultats mettent, aussi, en évidence le rôle cytoprotecteur que joue le système PC/EPCR. Ce rôle est lié essentiellement à la régulation négative de l'inflammation et de l'apoptose. Il concerne également le maintien de l'intégrité de la barrière membranaire et se traduit particulièrement par la régulation de la signalisation cellulaire et l'altération de gènes impliqués dans ces deux processus [24].

Plusieurs voies de signalisation sont initiées suite à l'activation du récepteur de la thrombine PAR-1 par la PCa. En effet, la PC, liée à son récepteur endothélial, est capable d'activer PAR-1, par protéolyse de son extrémité N-terminale. Le PAR-1 s'autoactive alors par sa nouvelle extrémité, change de conformation et déclenche différentes voies de signalisation. Les effets observés varient, ensuite, en fonction du type cellulaire et du tissu.

Ainsi, PAR-1 peut stimuler d'autres récepteurs, tels que le récepteur au sphingosine-1-phosphate (S1P1), un récepteur à protéine G appartenant à la famille de gènes de différenciation endothéliale. La S1P1 active la phosphoinositide 3-kinase (PI3K) et la mitogen-activated protein kinase (MAPK), dont la kinase ERK (extracellular signalregulated kinase). Une cascade de réaction est enclenchée, aboutit à une meilleure stabilité du cytosquelette intracellulaire et promeut l'angiogenèse [25].

D'autre part, la PCa est aussi capable de modifier le profil d'expression des gènes de protéines d'adhésion et ceux de l'inflammation; et ce, en modulant négativement les gènes pro-inflammatoires et positivement des gènes anti-inflammatoires. Par exemple, la PCa peut

être à l'origine d'une diminution de l'expression du facteur de transcription NFκB. Cela entraîne une diminution de l'expression des gènes qu'il contrôle, et notamment une diminution de la synthèse de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6, l'IL-8 et le TNFα, ainsi qu'une inhibition de la synthèse de molécules d'adhésion telles que ICAM-1, VCAM-1 et la sélectine E [26].

La PCa peut, également, induire des voies de signalisation par liaison directe à d'autres récepteurs tels que les sous-unités β1/β3 des intégrines (effet anti-inflammatoire), le récepteur de l'apolipoprotéine E, ApoER2, (effet cytoprotecteur). En se fixant, au récepteur hétérodimérique des intégrines CD11b/CD18, la PCa enclenche la voie de signalisation PAR-1/S1P₁. Cela résulte en la suppression de la réponse inflammatoire induite par les macrophages activés [20].

Indépendamment de PAR-1, la PCa peut neutraliser les complexes histone-ADN, (appelés NET pour neutrophil extracellular trap), libérés suite à une réponse à une inflammation et/ou une infection. La PCa est capable de contrecarrer ce mécanisme de deux manières : par sa fonction antiapoptotique consécutive à sa fixation à l'EPCR et qui limite la formation de NET ou par protéolyse des histones, limitant par conséquence l'effet cytotoxique au niveau du site inflammatoire [27].

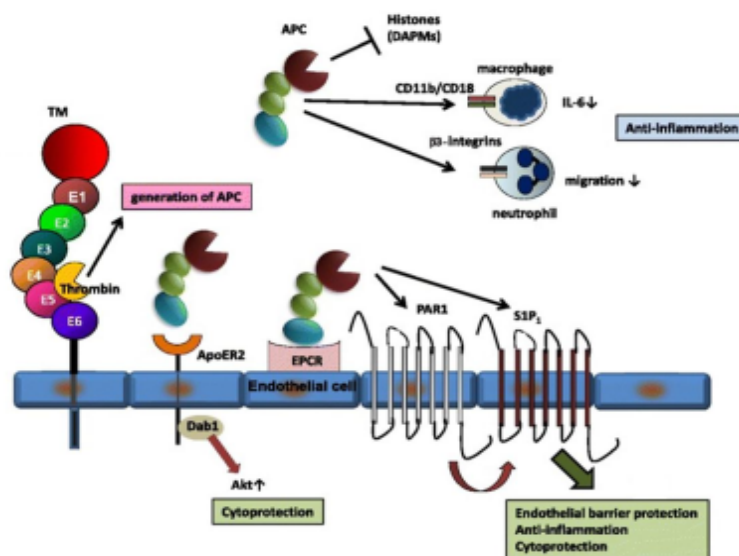


Figure 15: Fonction cytoprotectrice et anti-inflammatoire du système PC/EPCR [20].

3. FONCTION ANTI-APOPTOTIQUE :

La protéolyse de PAR-1 par la PCa peut amorcer trois phénomènes impliqués dans l'apoptose : la diminution de la dégradation de l'ADN, la réduction de l'activation de la caspase 3 et le blocage de la translocation de la phosphatidylsérine vers l'extérieur de la membrane cellulaire. La PCa est, également, capable d'induire des régulations post traductionnelles des gènes de l'apoptose – en modulant positivement le gène anti-apoptotique Bcl-2 et négativement le gène pro-apoptotique Bax et le suppresseur de tumeur p53 [28].



Résistance à la protéine c activée



I. THROMBOPHILIE :

Thrombophilie est le terme donné à une condition de coagulation sanguine anormale conduisant à une tendance accrue à la coagulation (état d'hypercoagulabilité). Les personnes présentant une hypercoagulabilité sont à risque de développer une thrombose, en particulier des troubles thromboemboliques veineux (TEV), y compris la thrombose veineuse profonde (TVP) et l'embolie pulmonaire (EP). De nombreux facteurs de risque génétiques et acquis pour le développement de la TEV ont été identifiés. En fait, le groupe d'experts de l'OMS (1996) a défini la thrombophilie comme une tendance à développer une TEV pouvant être déterminée génétiquement, acquise ou les deux.

Les facteurs génétiques comprennent la résistance à la protéine C activée (APC-R) associée à la mutation Facteur V Leiden (FVL), la mutation Prothrombin G20210A associée à des niveaux élevés de prothrombine, des déficiences génétiques des protéines C, S et antithrombine et autres.

Les facteurs de risque acquis comprennent les anticoagulants lupiques, la grossesse, l'utilisation de contraceptifs, les chirurgies majeures, le cancer, les inflammations et autres [29].

La pathologie thrombotique concernée est essentiellement veineuse (1 à 2 individus sur 1000 chaque année) [30].

Bien que moins clairement délimitée, l'hypercoagulabilité est également soupçonnée de jouer un rôle dans la thrombose artérielle [31].

II. RESISTANCE A LA PROTEINE C ACTIVEE PAR MUTATION LEYDEN DU FACTEUR V :

La résistance à l'action anticoagulante de la PCa (RPCa) a initialement été décrite en 1993 par Dahlbäck et al. Elle est historiquement associée à la mutation FV Leiden, qui repose sur une substitution du nucléotide de base azotée guanine, en position 1691 de l'exon 10, par une adénine, aboutissant à un FV muté (Leiden), ayant une acide aminée glutamine en position 506 à la place d'une arginine (figure16).

Cette mutation du FV favorise la génération de thrombine par deux mécanismes distincts :

D'une part, la mutation Leiden entraîne une diminution marquée de l'activité anticoagulante du FV non actif ; en effet, en l'absence de mutation Leiden du FV, le clivage du FV inactif par la PCa en position 506 potentialise son rôle de cofacteur dans la dégradation des facteurs Va et VIIIa ; la mutation Leiden du FV inactif rend impossible son clivage en R506 : l'inactivation des facteurs Va et VIIIa par la PCa est alors moins efficace.

D'autre part, la mutation Leiden favorise le rôle procoagulant du facteur Va, en limitant son inactivation par la PCa. Un rôle résiduel du FVa comme cofacteur du facteur Xa reste donc possible, permettant la persistance d'une génération de thrombine (figure17) [15].

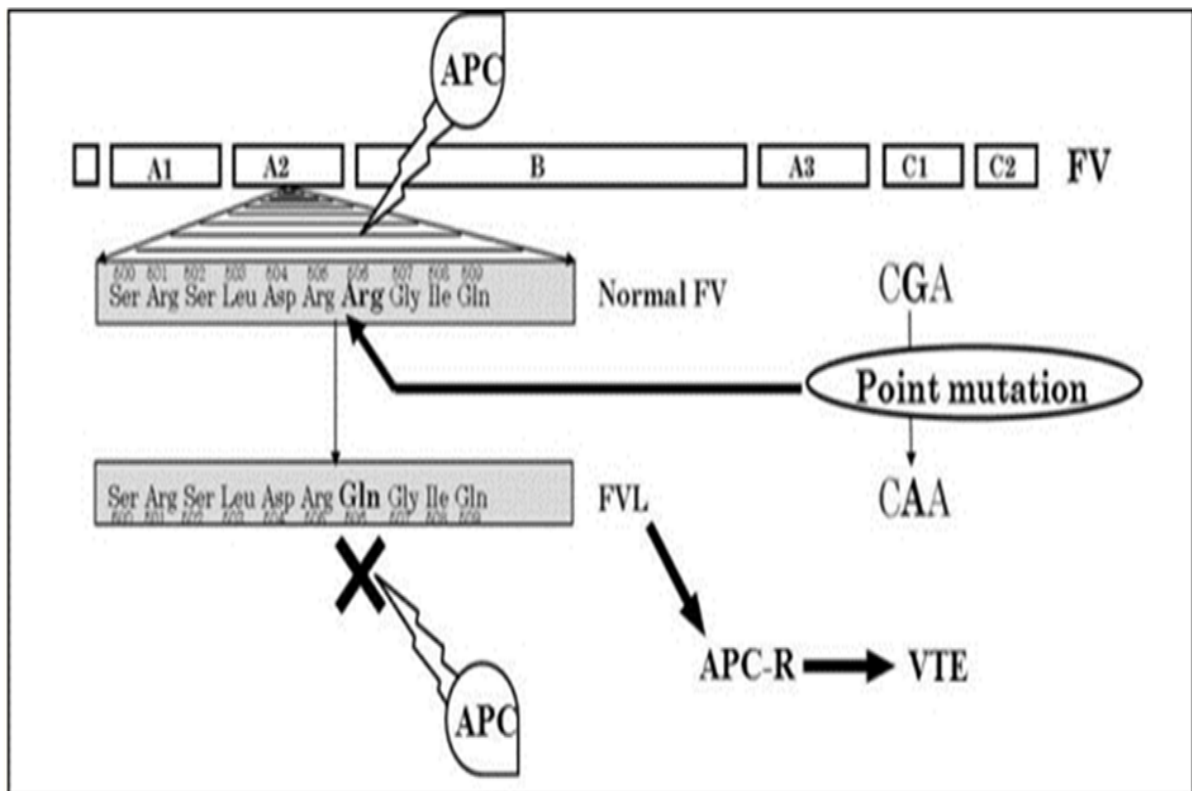


Figure 16: Molécule de FV montrant l'arginine 506 comme un point d'action principal pour l'APC qui est négativement affectée par le FVL [29].

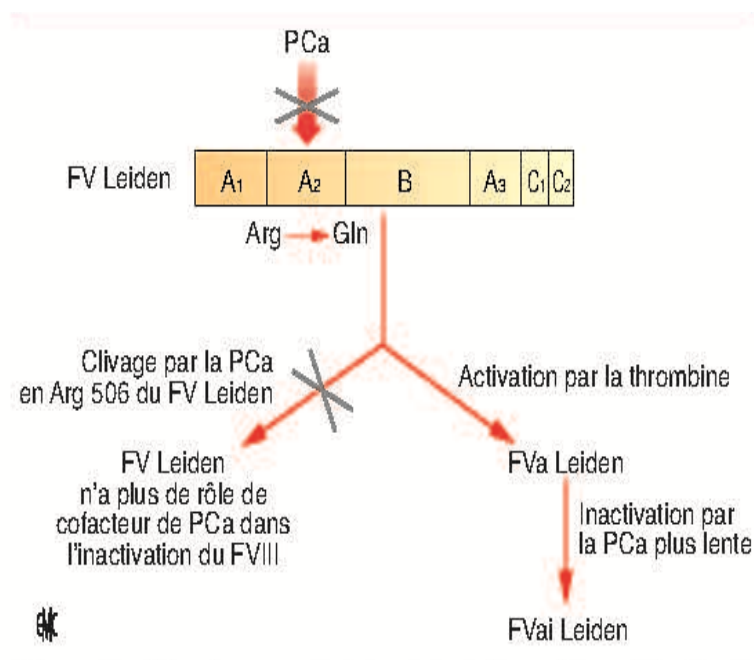


Figure 17: Mécanismes moléculaires de la résistance à la protéine C activée secondaire au facteur V Leiden .

PCa : protéine C activée ; FV Leiden : facteur V Leiden ; FVIIIa : facteur VIII activé ; FVa Leiden : facteur V Leiden activé [15]

Le gène du facteur V est polymorphique avec deux allèles fréquents : HR1 et HR2. La mutation Leiden affecte toujours l'allèle HR1 [32]. La mutation présente une expression semi-dominante, puisque les hétérozygotes comme les homozygotes présentent un risque accru de présenter des ETE. Cependant, le risque relatif est moins élevé chez les hétérozygotes (4 à 7) que chez les homozygotes (30 à 80). La sensibilité clinique correspond à la proportion des individus porteurs de l'anomalie qui présentera durant son existence un ou plusieurs ETE. Elle se situe entre 20 et 50 % [18].

L'hétérozygotie pour le facteur V Leiden et le risque associé de TEV sont hérités d'une manière autosomique dominante et l'homozygotie avec son risque thrombotique associé beaucoup plus élevé d'une manière autosomique récessive. Et en raison de la prévalence élevée du Facteur V Leiden dans la population générale, le statut génétique des deux parents et / ou du partenaire reproducteur d'une personne affectée doit être déterminé avant de pouvoir fournir des informations sur les risques potentiels pour la fratrie ou la progéniture [38].

III. AUTRES MUTATIONS DU FACTEUR V :

Le FV Leiden est la cause de RPCa la plus fréquente, néanmoins il existe d'autres mutations, affectant le taux et/ou la fonction du facteur V, responsables de RPCa. Plusieurs mutations ont été décrites, les principales sont détaillées ci-dessous.

-Certaines mutations ponctuelles affectent le site de clivage en position 306

- le facteur VCambridge (Arg306Thr) associé à une RPCa et à la survenue de thrombose veineuse ;
- le facteur VHong-Kong (Arg306Gly), souvent associé à une RPCa, mais dont l'impact sur le risque thrombotique est incertain.

La caractérisation des mutants Cambridge et Hong-Kong par modélisation a montré que la RPCa associée n'était pas seulement liée à l'inactivation incomplète du FVa, mais également à la diminution d'activité du FV comme cofacteur de la PCa dans l'inactivation du FVIIIa.

-La mutation Ile359Thr du FV (FVLiverpool) a été décrite chez deux patients ayant présenté des manifestations thrombotiques sévères avant l'âge de 20 ans.

-Le facteur VNara (Trp1920Arg) a été rapporté chez un patient japonais âgé de 13 ans, homozygote pour la mutation, présentant des thromboses veineuses récidivantes, associées à une RPCa, alors que la mutation est située à distance des sites de clivage de la protéine.

-La mutation FV Glu666Asp a été décrite dans une famille chinoise avec antécédents thrombotiques ; elle entraîne une RPCa mineure, et a été supposée n'augmenter que faiblement le risque thrombotique.

-Il existe également des polymorphismes du gène du FV, par exemple l'haplotype HR2 qui semble être associé à la mutation du facteur V Leiden à l'état hétérozygote, la RPCa étant dans ce cas moins importante. La plupart des études sur ce haplotype ont montré que l'augmentation du risque thromboembolique lié à ce haplotype était absente ou modeste. [15].

Tableau I : Comparaison de la fréquence des causes congénitales de l'APCR
chez les patients atteints de TVP contre les contrôles.

Variantes FV	patients (n / 50)	Contrôles (n / 50)	P Valeur
FV Leiden	25(50)	0 (0)	<.001
FVL mutant homozygote	2(4)	0	.494
FVL hétérozygote mutant	23 (46)	0	<.001
FV HR2 haplotype	8(16)	5 (10)	.554
FV HR2 homozygote (R1R1)	2 (4)	0	.494
FV HR2 hétérozygote (R1R1)	6 (12)	5 (10)	.749
FV Ala485Lys	13 (26)	7 (14)	.134
FV Hong Kong / Cambridge	-	-	-
FV Liverpool	-	-	-
FV Glu666Asp	-	-	-

Abréviations: APCR, résistance à la protéine C activée; TVP, thrombose veineuse profonde.

La valeur P <0,05 était considérée comme statistiquement significative.

Le khi-deux de Pearson et le test exact de Fisher ont été utilisés pour le calcul de la valeur P.

Étude sur l'incidence et les mécanismes de l'APCR chez les patients indiens atteints de thrombose veineuse profonde (TVP). Trois cent dix patients Doppler éprouvés tvp [33].

-Plus récemment, une nouvelle mutation faux-sens a été caractérisé (Ala512Val- FV Bonn): FV Bonn induit une hypercoagulabilité via une combinaison d'activation accrue / d'activité procoagulante, une sensibilité réduite à l'inactivation médiée par APC, et une légère diminution de l'activité du cofacteur APC [34].

-Enfin, dans un certain nombre de cas, les porteurs de FVL hétérozygotes peuvent présenter une lésion du gène FV hétérozygote concomitante responsable d'un vrai défaut FV. Cela se traduit par la présence de seulement 50% FV dans le plasma des patients qui ont seulement FVL. Ces patients, appelés « Pseudo-homozygote », présentent une résistance sévère aux APC et une forte tendance thrombotique. Des Discordances entre génotype (FVL hétérozygote) et le laboratoire attendu (APC sévère résistance) ou des phénotypes cliniques (manifestations thrombotiques graves) peuvent inciter d'autres investigations à exclure la présence de pseudohomozygose [35].



Epidémiologie



L'épidémiologie du FVL se caractérise par un gradient Nord-Sud. La mutation est très fréquente en Europe du Nord alors qu'elle est rare, voire absente, en Asie et en Afrique. Cette disparité en termes de prévalence semble trouver son origine dans la théorie de « l'Out of Africa ». Ainsi, la prévalence est estimée à 1 à 15 % en Europe, elle est inférieure à 1 % en Asie et en Afrique, et elle est de 0,5 à 5,2 % aux États-Unis, avec des disparités importantes en fonction de l'origine ethnique. Les études épidémiologiques conduites dans des populations spécifiques de patients ayant présenté un épisode de TV retrouvent la mutation à une fréquence très élevée puisqu'elle atteint 20 à 25 %. Le RR de TV associé à la présence de la mutation à l'état HTZ est estimé à 3 à 5. Le FVL est par ailleurs associé à une augmentation d'environ 50 % du risque de récurrence.

De façon intéressante, le risque de TV associé au FVL a été évalué chez les femmes sous contraceptifs oraux combinés (COC). Il existe une interaction entre FVL (RR : 3–5) et COC (RR : 3–6) puisque l'association de ces deux facteurs de risque se traduit par un RR estimé à 30[36].

I.REPARTITION MONDIALE DU FACTEUR V LEIDEN:

Depuis sa découverte, plusieurs études ont été menées pour déterminer la prévalence de la mutation FVL chez les sujets normaux et chez les patients atteints de TEV, ainsi que pour mesurer la valeur de risque de cette mutation dans le développement de la TEV.

Les premiers rapports sont apparus en Europe, et se sont concentrés sur les populations d'origine caucasienne. Ils ont trouvé FVL être présent dans un pourcentage assez élevé de patients atteints de TEV (15-65%) et de sujets en bonne santé (1-15%).

Des résultats similaires ont été obtenus lorsque les Caucasiens ont été étudiés dans des pays non européens comme les USA, l'Australie et Israël. Le tableau II donne des exemples d'études sur le FVL chez des Caucasiens européens et non européens.

Cependant, lorsque les études ont été étendues à d'autres groupes ethniques, FVL a été trouvé étonnamment rare chez les Africains, les Asiatiques du Sud-Est, Chinois, Japonais, Indiens d'Amérique, Groenland Esquimaux et aborigènes d'Australie (tableau III).

Ces résultats suggèrent que FVL aurait pu se produire comme un événement unique dans un passé lointain chez un ancêtre caucasien européen commun, dont la progéniture est actuellement le porteur caucasien de cette mutation vivant en Europe et dans d'autres pays. Cette hypothèse a été ultérieurement renforcée par des études moléculaires qui ont rapporté que le FVL était toujours associé à un haplotype de polymorphismes mononucléotidiques (SNP).

Plus tard, des études ont été menées sur les Arabes et les populations vivant au Moyen-Orient et en Afrique du Nord (région MENA), comme résumé dans le tableau 4. Ces études ont montré une prévalence élevée de FVL dans ces populations, qui ne sont généralement pas classées comme caucasiennes.

Cependant, la région MENA est géographiquement très proche de l'Europe et a été témoin de beaucoup de mouvements humains en provenance et à destination de l'Europe, et Mehrez et Jadaon s'attendent donc à ce que ces populations aient des gènes caucasiens dans leur ADN. Par conséquent, la présence de FVL dans les populations arabes et nord-africaines ne devrait pas être un résultat surprenant.

Tableau II: .Prévalence du FVL chez les patients caucasiens atteints de TEV
et les sujets normaux vivant dans des pays européens et non européens.
Les pays européens sur la mer Méditerranée sont montrés [29].

	<i>Pays</i>	<i>Patients TEV (%)</i>	<i>Population normale (%)</i>
	Royaume-Uni	----	1,74-5,6
	Suède	41.5-50	7.5-11.4
	Pologne	----	5
	Pays-Bas	21	2
	Allemagne	30	7.1-12
<u><i>Caucasiens européens Non-méditerranéens</i></u>	Belgique	22	3,3
	Slovaquie	29.5-37.0	4
	L'Autriche	26	----
	Hongrie	44	6,9
	Serbie	29,9	5,8
	Azerbaïdjan	----	14
	Espagne	9.2-26.3	1,6-5,8
	France	9-18	3,5-5,0
	Basques français / espagnol	----	0-0,7
	Italie	9.0-42.8	2-13.1
<u><i>Européens caucasiens méditerranéens</i></u>	Yougoslavie	15.5	4,0
	Slovénie	12,9	6.3
	Croatie	21.0-28.2	2,4-4,0
	Albanie / Kosovo	----	3,4
	Grèce	16.2-31.9	2,5-7,0
	Etats-Unis	8.6	3.2-6.0
<u><i>Caucasiens non européens</i></u>	Australie	----	4-10.2
	Israël	----	4.3
	Brésil	20	2

Tableau III: Prévalence de FVL chez les patients non-caucasiens atteints de TEV et les sujets normaux dans différentes parties du monde [29].

	<i>Pays / groupes ethniques</i>	<i>Patients TEV (%)</i>	<i>Population normale (%)</i>
<u>Asiatiques</u>	Japon	0	0
	Corée	0	----
	Chine	0	0
	Indonésie	----	0
	Malaisie	0,5	----
	Singapour	5	----
	Inde	3	1,3
	Pakistan	1,25	----
	Etats-Unis	----	0
<u>Africains / Noir</u>	Ethiopie		0
	Etats-Unis	1,4	0,9
	Sous-Sahara	----	0
	Equateur	----	0
	Venezuela	----	4,4
<u>Amérindiens</u>	Equateur	----	0
	Venezuela	----	1,25
	Etats-Unis	----	0
<u>Esquimaux</u>	Groenland	----	0
<u>Australiens autochtones</u>	Australie	----	0

Tableau IV: Prévalence du FVL chez les patients atteints de TEV et les sujets normaux chez les Arabes et les non-Arabes vivant dans différents pays du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord. Les pays de la mer Méditerranée sont montrés [29].

<i>Pays / groupes ethniques</i>	<i>Patients TEV (%)</i>	<i>Population normale (%)</i>
Maroc	----	0
<i>Afrique du Nord Méditerranée</i>		
Algérie	13,8	1,3-2,0
Tunisie	20,3-24,6	3,0-13,6
Egypte	30	2,5-10,2
Palestine (à l'intérieur et à l'extérieur d'Israël)	----	11,7-27,2
<i>Moyen-Orient Méditerranée</i>		
Liban	9,9-70,6	13,6-18,7
Syrie	----	13,6
dinde	21-30,8	4,6-9,8
Chypre	----	13,4
Jordan	23,9-25,7	10,5-27,2
Irak	----	7,0
Koweït	15,8	2-4,5
<i>Moyen-Orient Non-méditerranéen</i>		
Arabie Saoudite	----	0-2,5
Bahreïn	52	3,1-14,7
Oman	0	0
Yémen	----	0
Iran	11,4	2,0-10,6

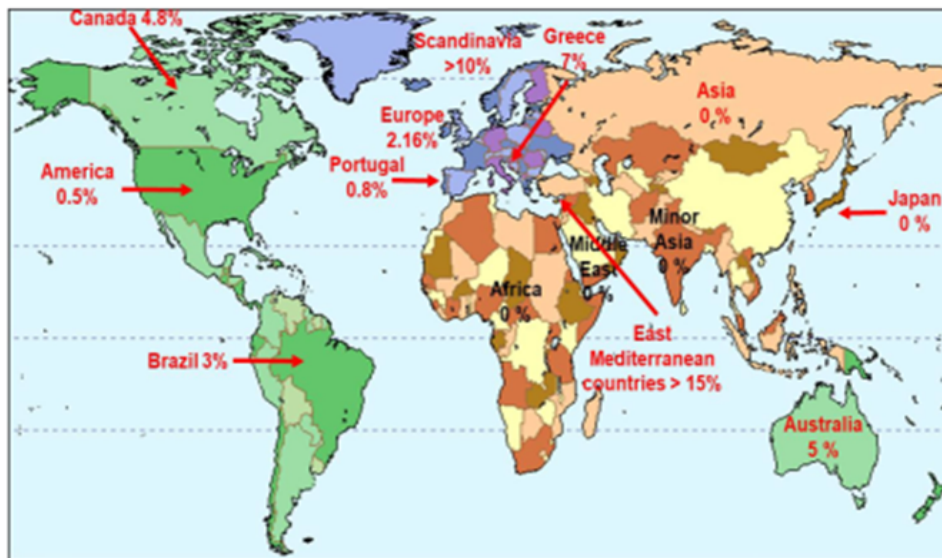


Figure 18: Distribution de la résistance à la protéine C activée dans le monde;
Une incidence concentrée chez les Caucasiens, avec une expression élevée en Scandinavia et Eastern la région Méditerranéen (Egypt, Lebanon, Jordan, Turkey, . . .) [29, 37].

II. FACTEUR V LEIDEN DANS LA REGION MEDITERRANEENNE:

Actuellement, 20 pays ont des côtes maritimes en Méditerranée et sont donc appelés les pays méditerranéens; 5 sont en Afrique du Nord, 4 en Asie de l'Ouest et 11 en Europe du Sud. La figure 18 donne une carte de la mer Méditerranée et de ses pays, montrant la prévalence de la FVL dans ces pays, basée sur les études répertoriées dans les tableaux II et IV.

Aucune donnée n'a pu être extraite de la littérature sur la prévalence de la FVL en Libye, à Malte, en Bosnie ou au Monténégro. Toutefois, une étude a fait état de FVL chez des personnes yougoslaves qui incluaient des patients et des sujets sains de toute l'ex-Yougoslavie, et certains de leurs sujets venaient probablement de Bosnie et du Monténégro. Il n'y a eu aucun rapport de l'Albanie elle-même, mais une étude a été menée au Kosovo, dont les habitants sont considérés comme des Albanais.

Dans le tableau II, la prévalence de la FVL chez les Basques a été établie séparément, bien que n'étant pas un pays distinct, en raison de la rareté unique du FVL chez ces personnes.

En Israël, la population se compose d'un mélange d'Arabes palestiniens et d'autres immigrants de différentes parties du monde, en grande partie d'origine caucasienne européenne. Par conséquent, les résultats ont été répartis entre les tableaux II et IV en fonction de l'origine des populations étudiées.

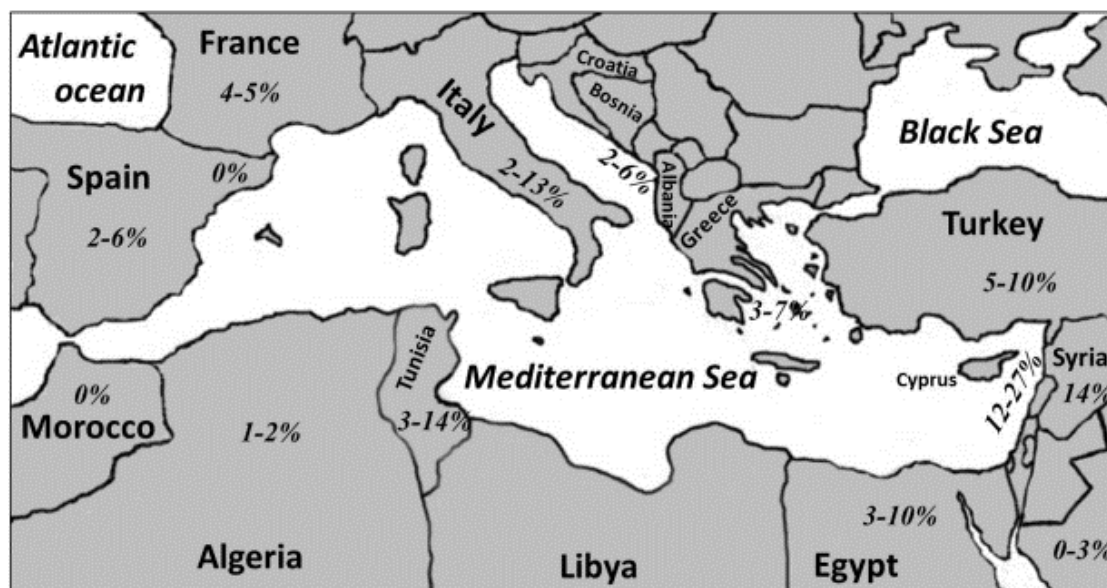


Figure 19: Carte de la Méditerranée et de ses pays montrant la prévalence de la FVL chez les populations saines qui y vivent.

Mehrez et Jadaon remarquent que la prévalence de FVL est présente dans son pic maximum dans cette partie du monde.

En outre, il y a généralement un déclin d'Est-to-West de la prévalence de FVL dans ces pays.

Cette observation a également été relevée par Lucotte et al (2001) qui ont également observé un déclin Sud-Nord de ces valeurs en Europe, uniquement lorsque les populations du sud-ouest étaient exclues.

Ces observations ont soulevé des discussions dans la littérature sur l'endroit exact où le FVL est apparu pour la première fois.

Les études moléculaires et épidémiologiques fournissent des preuves que FVL aurait dû se produire comme un événement unique dans le passé. La région méditerranéenne a la prévalence la plus élevée de FVL dans le monde. Cela suggère qu'il s'agit de la zone où cette mutation est apparue, peut-être il y a 10 000 ans, puis s'est étendue à d'autres parties du monde [29].



Manifestations Cliniques



I. INTERET CLINIQUE DE LA RECHERCHE DE RPCA ET OU DU FV LEIDEN :

Aucune caractéristique clinique n'est spécifique à la thrombophilie du FVL.

Le diagnostic est suspecté chez les personnes ayant des antécédents de TEV manifeste comme la TVP ou l'EP, en particulier chez les femmes atteintes de TEV pendant la grossesse ou en association avec contraception d'œstrogène, et chez les personnes ayant des antécédents familiaux de thrombose récurrente.

L'expression clinique de la thrombophilie par Facteur V Leiden est variable. Beaucoup de personnes ayant un allèle du Factor V Leiden n'ont jamais développé une thrombose. Bien que les personnes les plus touchées ne le soient pas expérience de leur premier événement thrombotique jusqu'à l'âge adulte, certains ont une TEV récurrente avant l'âge de 30 ans. Les homozygotes Facteur V Leiden sont plus susceptibles de développer leur première TEV à un jeune âge. Dans une étude familiale, 40% des homozygotes avaient une TEV à l'âge de 33 ans, contre 20% des hétérozygotes et 8% des individus non affectés.

Les études de population suggèrent que environ 10% des hétérozygotes du Facteur V Leiden développent une VTE au cours de leur vie. Le risque de TEV à vie est plus élevé (25-40%) chez les hétérozygotes issus de familles thrombophiles.

L'hétérozygotie pour le Facteur V Leiden n'est pas associée à l'augmentation de la mortalité ou la réduction de l'espérance de vie normale [38].

1. THROMBOEMBOLIE VEINEUSE :

La manifestation clinique primaire du facteur V Leiden est VTE (surtout TVP et EP). La mutation est retrouvée chez 25% des patients avec une thromboembolie veineuse idiopathique et jusqu'à 40-50% des cas de TEV récurrente ou une thrombose liée aux œstrogènes (Tableau V) [38].

Sa présence est associée à une augmentation du risque de thrombose veineuse d'un facteur 7 à l'état hétérozygote, et d'un facteur 80 à l'état homozygote [15].

TVP se développe généralement plus dans les jambes, mais la thrombose des membres supérieurs se produit également. Certaines preuves suggèrent que l'embolie pulmonaire est moins fréquente que la TVP chez les personnes ayant un allèle facteur V Leiden [38].

Une analyse de données regroupées d'un grand nombre d'études a montré que la prévalence d'un allèle Factor V Leiden Chez les personnes atteintes d'une embolie pulmonaire isolée, était d'environ 50% de la prévalence chez les personnes atteintes de TVP. L'explication d'un effet différentiel du facteur V Leiden sur le risque de thrombose veineuse profonde et d'embolie pulmonaire n'est pas clair [38].

Le facteur V Leiden a été identifié chez 9 à 20% des individus TVP membre supérieur, y compris la TVP, non liée à un cathéter veineux.

La Thrombose dans des endroits inhabituels, y compris veines cérébrales, rétiniennes, hépatiques, ovariennes et rénales peuvent également se produire moins souvent.

Le risque de thrombose veineuse cérébrale est augmenté de 3 à 5 fois chez les hétérozygotes du Facteur V Leiden.

L'allèle du facteur V Leiden est associé à un risque 6 fois plus élevé pour la thrombose veineuse superficielle [38].

Tableau V: Prévalence estimée du Facteur V Leiden parmi les patients
avec des complications thrombotiques [38]

Complication thrombotique	Prévalence (%)
Premier VTE3 idiopathique	25
VTE récurrente	30-50
Thrombose des membres supérieurs	9-20
Thrombose veineuse cérébrale	10-20
VTE associé à la grossesse	20-46
VTE associée à un contraceptif oral	20-60
Perte de grossesse	8-30

TEV, thromboembolie veineuse

a) Risque pour une première TEV :

Le risque relatif de TEV est augmenté de 3 à 8 fois dans le facteur V Leiden hétérozygotes (Tableau VI). Les risques relatifs inférieurs sont rapportés chez les hétérozygotes identifiés dans la population générale de dépistage.

Le risque thrombotique augmente de 10 à 80 fois chez les homozygotes (Tableau VII).

Le risque de thrombose primaire des membres supérieurs (non liée à une tumeur maligne ou à un cathéter veineux) est augmenté de 3 à 6 fois chez les hétérozygotes du Facteur V Leiden [38].

Tableau VI: Risque estimé de complications thrombotiques :
Facteur V Leiden hétérozygotes [38]

Complication thrombotique	Risque estimé (odds ratio) a
Premier VTE	3-8
Thrombose veineuse cérébrale	3-5
Thrombose des membres supérieurs primaires	3-6
Thrombose associée au CVC	2-3
Thrombose veineuse superficielle	6
VTE associés à la grossesse	8-52
VTE récurrente	1,4-1,6
Perte de grossesse	2-4

aRisk par rapport aux individus sans facteur V Leiden.bNon lié à la malignité ou à un cathéter veineux central.TEV, thromboembolie veineuse; CVC, cathéter veineux central.

Tableau VII:Risque estimé de complications thrombotiques:
Facteur V Leiden homozygotes [38]

Complication thrombotique	Risque (odds ratio) a
Premier VTE	10-80
VTE associés à la grossesse	20-40
VTE ⁷⁵ associé à la contraception orale	100
VTE récurrent	2-3
Chirurgie associée VTE	20
Perte fœtale précoce	3
Perte fœtale tardive b	11

a Risque par rapport aux individus sans allèle Factor V Leiden.

Après la 12e semaine de gestation.

TEV, thromboembolie veineuse.

b) VTE récurrente :

Environ 30% des personnes ayant un accident vasculaire cérébral développent une thrombose récidivante au cours des 8 années suivantes. Il existe des données contradictoires sur le risque de récurrence de la TEV associée à l'hétérozygotie du Facteur V Leiden. Les preuves actuelles suggèrent qu'il a au plus un effet modeste sur le risque de récurrence après le traitement initial d'une première TEV [38].

Plusieurs études cohortes prospectives d'individus non sélectionnés avec une première TEV, n'ont pas trouvé un risque accru de récurrence chez les hétérozygotes du Facteur V Leiden.

Un suivi récent des participants à l'étude de Thrombophilie Leiden n'a également constaté aucune augmentation du risque de récurrence.

Une méta-analyse incluant 3104 individus avec une première ETV a conclu qu'une mutation hétérozygote est associée avec un risque significativement accru de TEV récurrente après un premier événement avec un odds ratio de 1,4.

Deux revues systématiques récentes trouvent une augmentation similaire modeste mais significative du risque de récurrence (odds ratio groupé 1,56 et 1,45, respectivement).

Plusieurs études ont montré que la réduction du risque au cours de la l'anticoagulation est similaire chez les individus avec et sans facteur de mutation Leiden.

Le risque de récurrence de la TEV chez les homozygotes du Facteur V Leiden n'est pas bien défini mais présumé être plus élevé que chez les hétérozygotes.

Le Suivi prospectif de l'étude sur la Thrombophilie Leiden rapporte un taux de récurrence cumulatif de 5 ans de 12,5% dans un petit groupe d'homozygotes ne recevant pas d'anticoagulation à long terme. Une revue systématique a révélé un risque accru de 2 à 3 fois pour VTE récurrente chez les homozygotes Factor V Leiden.

Les individus doublement hétérozygotes à la fois pour le Facteur V Leiden et la mutation de la prothrombine 20210GA ont un risque 3 à 9 fois plus de récurrence que ceux qui n'ont aucune de mutation et un risque 3 fois plus élevé que les individus hétérozygotes

pour Factor V Leiden seul. Cependant, toutes les études n'ont pas trouvé de risque élevé de récurrence chez les homozygotes et les hétérozygotes doubles. Dans une étude récente sur les familles thrombophiles, les individus homozygotes pour le facteur V Leiden ou doublement hétérozygote pour le facteur V Leiden et les mutations de la prothrombine 20210GA n'ont pas un risque accru de récurrence, même si l'analyse était restreint à ceux ayant une première TEV idiopathique. Les estimations du risque étaient limitées par le petit nombre d'homozygotes et doubles hétérozygotes inclus dans ces études.

Le risque de thromboembolie veineuse récidivante est 4 à 5 fois plus élevé chez Les hétérozygotes facteurs V Leiden avec hyperhomocystéinémie que chez les individus avec un allèle Factor V Leiden seul. En revanche, facteur V Leiden hétérozygotes avec des niveaux élevés de facteur VIII n'a pas un risque plus élevé de TEV récurrente que les individus sans thrombophilie [38].

L'étude MEGA (Multiple environmental and genetic assessment) a récemment conclu que le dépistage d'une thrombophilie héréditaire ne réduisait pas le risque de récurrence de la MTE veineuse [39].

2. THROMBOSES ARTERIELLES :

Le FV Leiden ne semble pas impliqué dans la survenue d'infarctus du myocarde. Une méta-analyse de très grande taille de Ye et al comprenant 191 études, incluant un total de 66 155 cas et 91 307 témoins a analysé l'influence du polymorphisme de sept gènes différents dans l'infarctus du myocarde. Elle montre un RR faible de maladie coronarienne chez les patients avec FV Leiden (RR : 1,17 avec un IC : 1,08–1,28).

La survenue d'accidents vasculaires cérébraux ischémiques ne semble pas fortement liée à la présence du FV Leiden (OR : 1,33 ; 95 % IC : 1,12–1,58).

Robert-Ebadi et al ne trouvent pas, dans une étude des données de la littérature, une fréquence plus élevée de FV Leiden au cours de l'insuffisance artérielle des membres inférieurs [32].

3. RPCA, FV Leiden et thromboses au cours de situations particulières :

a. Cancers :

La survenue de thromboses chez des patients atteints de cancers est souvent multifactorielle, faisant intervenir l'immobilisation, la chirurgie, la chimiothérapie, une activité pro coagulante des cellules cancéreuses. Si, globalement, le risque de thrombose chez les patients de cancers ou ayant un FV Leiden est multiplié par sept, l'association cancers et FV Leiden multiplierait ce risque par 12 [32].

b. La thrombose de cathéters veineux centraux

Elle peut être favorisée par la rupture de la paroi vasculaire, la nature du dispositif utilisé, et une activation de la coagulation et des plaquettes. Le rôle des thrombophilies biologiques, en particulier le FV Leiden a été très étudié. La méta-analyse de Dentali et al portant sur dix études incluant des patients présentant un cancer et pour lesquels un cathéter veineux central a été mis en place montre un RR de thrombose de 4,6 (IC : 2,6–8,1) en cas de présence du FV Leiden (211 cas) par rapport aux patients non porteurs de la mutation (860 cas) [32].

c. RPCA et grossesse :

L'implication des anticorps dit antiphospholipides (AAP) dans la survenue de thromboses et de pertes fœtales récidivantes a poussé de nombreuses équipes à étudier les autres anomalies de l'hémostase responsables de thrombophilies au cours des pertes fœtales et d'autres complications de la grossesse tels que la prééclampsie et le retard de croissance intra-utérine. En effet, l'association aspirine-héparine qui a fait ses preuves pour prévenir les pertes fœtales liées aux AAP pourrait peut-être trouver une indication si des études démontraient le rôle des autres thrombophilies biologiques au cours des avortements à répétition, d'une part, et l'efficacité d'une thérapeutique anti thrombotique pour mener à terme la grossesse des femmes porteuses de thrombophilies biologiques, d'autre part. Les études portant sur l'association thrombophilies biologiques et pertes fœtales sont très nombreuses, en particulier celles relatives à la RPCA et au FV Leiden du fait de leur fréquence dans la population générale.

Dans la méta-analyse de Rey et al. , le RR pour les pertes fœtales récidivantes antérieures à la 13e semaine est de 2,01 (IC : 1,13–3,58), et de 3,26 (IC : 1,82–5,83) pour les pertes fœtales non récurrentes au-delà de la 19e semaine. Il existe aussi une relation entre la RPCA et les pertes fœtales répétées (RR : 3,48 et IC : 1,58–7,69). Dudding et al, dans une étude portant sur 6755 couple mères–enfants et une méta-analyse ne trouve pas d'association avec le retard de croissance in utero (RR : 1,15 et IC : 0,95–1,39). Le risque de prééclampsie est, en revanche, majoré de 50 % chez les femmes porteuses du FV Leiden (RR : 1,49 et IC à 95 % : 1,13–1,96).

Dans une étude récente de Pasquier et al, aucune association n'est retrouvée entre le FV Leiden et les pertes fœtales précoces ou tardives, y compris en prenant en compte le génotype paternel.

Les RPCA non lié à la présence du FV Leiden n'exposent pas à un risque accru de pertes fœtales du premier trimestre ni de retard de croissance intra utérine. Les pertes fœtales du deuxième trimestre sont, en revanche, plus fréquentes, avec un risque multiplié par environ trois. De toute manière, et pour la pratique quotidienne, il n'y a surtout pas suffisamment de données dans la littérature prouvant l'efficacité des traitements antithrombotiques pour prévenir les avortements récidivants chez les femmes portant la mutation FV Leiden. Lors de la sixième réunion de l'ACCP en 2004, il a été suggéré un traitement par l'aspirine à faible dose plus soit héparine non fractionnée soit HBPM à dose prophylactique pour les femmes ayant une thrombophilie congénitale et des fausses couches répétées, une perte fœtale au deuxième trimestre ou plus tard, une Prééclampsie sévère ou récidivante, ou un hématome retro placentaire. Il s'agit d'une recommandation de niveau 2C du fait du faible niveau de preuve. Il a été également suggéré aussi que des anticoagulants soient administrés dans le postpartum [32].

d. Contraceptifs oraux :

L'utilisation de contraceptifs oraux augmente considérablement le risque de TEV chez les femmes hétérozygotes pour le facteur V Leiden. Une mutation hétérozygote est retrouvée chez 20 à 60% des femmes ayant des antécédents de TEV lors de l'utilisation d'un contraceptif oral.

Dans l'étude sur la Thrombophilie de Leiden, le risque de TEV était multiplié par 4 chez les utilisatrices de contraceptifs oraux et par 7 chez les femmes hétérozygotes pour Facteur V Leiden. Cependant, le risque a été multiplié par 30 chez les femmes hétérozygotes qui utilisaient des contraceptifs oraux, indiquant un effet multiplicatif plutôt qu'additif sur le risque global de thrombose. L'effet supra additif d'un allèle du Facteur V Leiden et des contraceptifs oraux a été confirmé dans d'autres études et une méta-analyse avec des rapports de cotes allant de 11 à 41 pour la combinaison des deux facteurs de risque. Les femmes hétérozygotes qui utilisent des contraceptifs oraux ont un risque 30 fois plus élevé de thrombose veineuse cérébrale que les non-utilisatrices sans la mutation.

Le risque de TEV est multiplié par plus de 100 chez les femmes homozygotes du Facteur V Leiden qui utilisent des contraceptifs oraux.

Le risque est également significativement augmenté chez les utilisatrices de contraceptifs oraux doublement hétérozygotes pour le Facteur V Leiden et la mutation prothrombine

20210GA avec des odds ratios rapportés allant de 17 à 110. Les femmes avec des troubles thrombophiliques héréditaires comme le Facteur V Leiden ont tendance à développer des complications thrombotiques plus tôt, avec un risque beaucoup plus élevé de thrombose au cours de la première année d'utilisation de contraceptifs oraux.

Les contraceptifs oraux contenant du progestagène désogestrel de troisième génération sont associés à un risque deux fois plus élevé de TEV que les préparations de deuxième génération, et le risque est particulièrement élevé chez les hétérozygotes du Facteur V Leiden. Le risque a été multiplié par 50 chez les hétérozygotes du Facteur V Leiden qui utilisaient des préparations de troisième génération, par rapport aux femmes sans mutation qui n'utilisaient pas de contraceptifs oraux. Malgré l'augmentation marquée du risque relatif, l'incidence absolue de TEV peut-être encore faible en raison du faible risque de base chez les jeunes femmes en bonne santé. Par exemple, la combinaison du facteur V Leiden et les contraceptifs oraux est estimé à entraîner 28 événements TEV supplémentaires par 10 000 femmes par année. Dans une étude de cohorte prospective portant sur des femmes asymptomatiques atteintes du facteur V Leiden, le risque de TEV était de 1,8% par an chez les utilisatrices de contraceptif oral. L'utilisation à long terme de contraceptifs oraux sans complications thrombotiques a été rapportée, soulignant l'étiologie multifactorielle de la TEV [38].

e. Traitement Hormonal substitutif :

Le risque relatif de TEV est 2 à 4 fois plus élevé chez les utilisatrices actuelles de THS que chez les non utilisatrices. L'essai randomisé de Women's Health Initiative sur l'hormonothérapie substitutive à base d'œstrogène et de progestérone versus placebo chez les femmes ménopausées a montré que le THS était associé à un risque deux fois plus élevé de TEV. Les femmes avec Facteur V Leiden qui utilisent HRT ont un risque accru de 7 à 15 fois plus de TEV par rapport aux non-utilisatrices sans la mutation. Dans une étude de cohorte prospective portant sur des femmes asymptomatiques atteintes du facteur V Leiden, le risque de TEV était de 2,9% par année d'utilisation du THS. L'augmentation de 2 à 4 fois Le risque thrombotique avec HRT est similaire au risque observé avec les contraceptifs oraux. Cependant, en raison de l'incidence initiale plus élevée de TEV, le risque absolu est beaucoup plus élevé chez les femmes ménopausées âgées avec et sans Facteur V Leiden (Fig. 20). L'incidence absolue estimée de TEV chez les femmes ménopausées avec Facteur V Leiden qui utilisent HRT varie de 8 à 15 événements TEV pour 1000 femmes par an, comparativement à deux événements TEV pour 1000 femmes par an pour les non utilisatrices sans la mutation. Il y a de plus en plus de preuves que l'œstrogène transdermique est associé à un risque thrombotique inférieur à la voie orale chez les femmes ménopausées. Des données préliminaires suggèrent que l'utilisation d'œstrogènes transdermiques pourrait ne pas entraîner de risque thrombotique supplémentaire chez les femmes présentant des mutations thrombophiliques.

Dans une étude de cas-témoins, les femmes ménopausées atteintes de Facteur V Leiden qui utilisaient des œstrogènes par voie orale présentaient un risque 16 fois plus élevé de TEV que les non-utilisatrices, sans la mutation. En revanche, les femmes avec Facteur V Leiden qui ont utilisé un œstrogène transdermique ont un risque thrombotique inférieur à celui des femmes avec la mutation qui n'ont pas utilisé d'œstrogène. Chez les femmes atteintes du facteur V Leiden, l'utilisation d'œstrogènes par voie orale était associée à un risque 4 fois plus élevé de TEV que d'œstrogène transdermique. Cependant, il n'y a pas d'essais prospectifs randomisés confirmant la sécurité de l'HTS transdermique chez les femmes atteintes de thrombophilie [38].

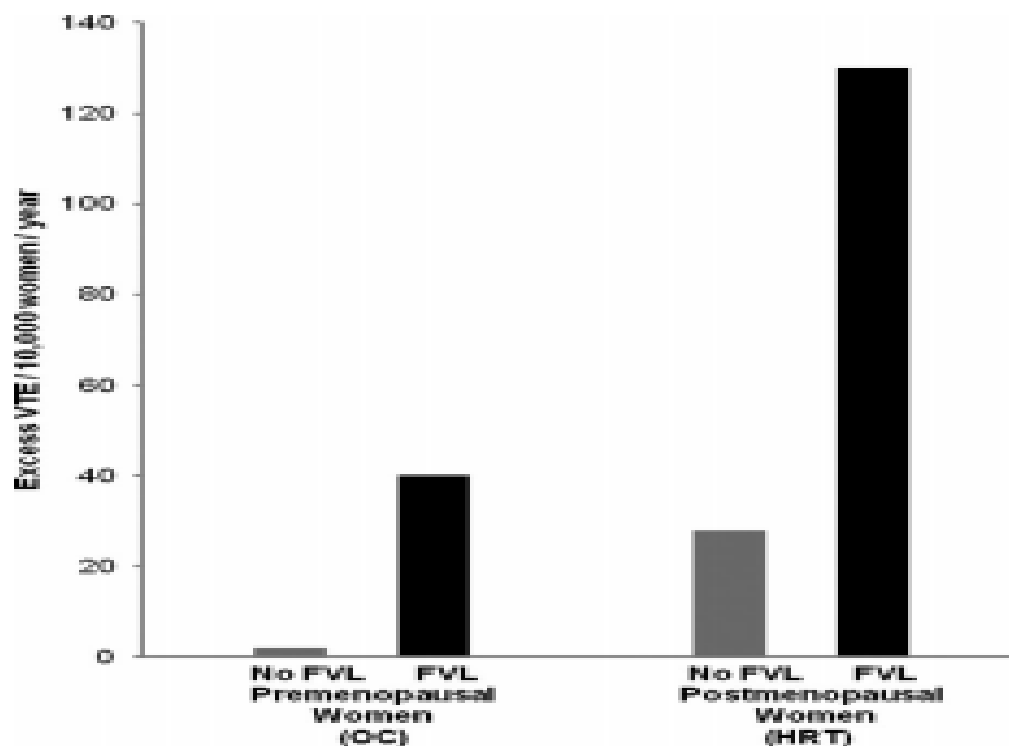


Figure 20: Événements estimés de thromboembolie veineuse excédentaire (TEV) attribuable à l'utilisation de contraceptifs oraux (CO) chez les femmes préménopausées avec et sans Facteur V Leiden (FVL) et à l'hormonothérapie substitutive (HRT) chez les femmes ménopausées avec un coeur coronaire maladie avec et sans FVL.

Estimations de l'excès des événements TEV supposent une incidence de base de 1 TEV / 10 000 femmes / an chez les femmes préménopausées et 23 VTE / 10 000 femmes / an chez les femmes ménopausées sans facteur de risque [38].

f. Les modulateurs sélectifs des récepteurs aux œstrogènes :

Les SERM tels que le tamoxifène et le raloxifène sont associés à un risque accru de TEV de 2 à 3 fois, similaire au risque de THS. Le risque de TEV chez les femmes avec Facteur V Leiden qui utilisent Les SERM n'est pas bien défini mais probablement plus élevés que ceux associés à l'utilisation des SERM seuls, à la lumière de l'interaction de la mutation avec HRT. Le facteur V Leiden n'a eu aucun effet significatif sur le risque de TEV associé au tamoxifène dans deux études cas-témoins de femmes en bonne santé et à risque élevé participant à des fois plus élevé chez les hétérozygotes du Facteur V Leiden que chez les femmes sans mutation recevant le même traitement. Facteur V Leiden hétérozygote a été trouvé dans 19% des femmes ayant développé une thromboembolie contre 5% des femmes sans ces complications [38].

g. Voyage :

Le voyage prolongé est un facteur de risque de TEV, et le risque est plus élevé chez les personnes atteintes du facteur V Leiden. La combinaison du transport aérien et de la thrombophilie (y compris le facteur V Leiden) est associée à un risque accru de TEV de 14 à 16 fois [38].

h. Âge :

Le risque et l'incidence de la TEV augmentent avec l'âge. Le risque augmente plus rapidement avec l'âge chez les personnes ayant une mutation du facteur V Leiden, ce qui suggère que la thrombose implique des facteurs génétiques prédisposés acquis. Dans une étude de santé, la mutation a été retrouvée chez environ un tiers des hommes de plus de 60 ans présentant un événement thrombotique spontané initial. Dans une étude de cohorte basée sur la population, le risque de TEV était significativement augmenté seulement chez les hétérozygotes du Facteur V Leiden âgés de plus de 60 ans (risque relatif 3,6). Une autre étude prospective a révélé que le risque absolu de TEV chez les non sélectionnés les individus avec un facteur V Leiden augmente avec l'âge, l'indice de masse corporelle (IMC), et le tabagisme. Le risque de TEV sur 10 ans chez les hétérozygotes était de 10% chez les fumeurs de plus de 60 ans avec un IMC de 30 kg / m², contre un risque de 1% chez les non-fumeurs de moins de 40 ans. Les risques thrombotiques absolus correspondants à 10 ans pour les homozygotes du facteur V de Leiden avec et sans ces facteurs de risque étaient respectivement de 51% et 3% [38].

i. Blessure mineure :

Une vaste étude de population a révélé que les blessures mineures aux jambes sont associées à un risque cinq fois plus élevé de TEV. Les porteurs du Facteur V Leiden présentant une blessure mineure à la jambe présentaient un risque thrombotique 50 fois plus élevé que les individus sans ces facteurs de risque [38].

j. Obésité :

L'obésité augmente le risque de TEV chez les hétérozygotes du Facteur V Leiden. Dans une étude, l'obésité (IMC 30 kg / m²) était associée à un risque 2,5 fois plus élevé de TEV. Le risque a été multiplié par 8 chez les personnes obèses atteintes de Facteur V Leiden et environ 6 fois chez les personnes présentant un excès de poids (IMC 25 et 30 kg / m²) avec la mutation [38].

k. Chirurgie :

On ne sait toujours pas dans quelle mesure le facteur V Leiden ajoute au risque thrombotique global associé à la chirurgie. Dans une étude sur des familles non sélectionnées avec le facteur V Leiden, la chirurgie était un facteur prédisposant commun à la TEV chez les parents porteurs de la mutation. Plusieurs études ont suggéré la mutation a été associée à un risque 5 fois plus élevée de TEV symptomatique après chirurgie orthopédique et autre chirurgie. Les hétérozygotes du Facteur V de Leiden subissant une chirurgie présentaient un risque environ 13 fois plus élevé de TVP des membres supérieurs que les témoins sans facteur de risque. En revanche, d'autres études n'ont trouvé aucune association significative. Les homozygotes de Facteur V Leiden avaient 20 fois plus de risque de TEV après une intervention chirurgicale, en particulier des procédures urologiques et orthopédiques [38].

l. Pédiatrie et facteur v leiden :

Le dépistage prénatal systématique de la FVL n'est pas justifié, puisqu'il s'agit d'un trouble relativement bénin et la thérapie est disponible pour les individus homozygotes [27]. Bien que la TEV soit moins fréquente chez les enfants que les adultes, les défauts thrombophiles sous-jacents sont trouvés dans une proportion large de cas où cela se produit. En 2008, des méta-analyses par Young et al ont démontré que FVL contribué au

développement d'un premier épisode de TEV chez les enfants (OR 3,56 (IC à 95% 2,57-4,93) mais l'association avec la TEV récurrente n'était pas statistiquement significative (OR = 1,93; 0,91-2,24). Des facteurs de risque cliniques supplémentaires peuvent être présents chez la majorité (70%) des enfants atteints de TEV. Le plus important facteur de risque pédiatrique pour la thrombose est le cathéter veineux central (CVC). Des études pédiatriques portant sur de petits échantillons rapportent des résultats contradictoires sur l'impact de la thrombophilie dans la TEV liée au CVC.

Une méta-analyse très récente de Neshat-Vahid et al incluant 16 études de cohorte (1279 enfants avec CVC, 277 d'entre eux ont une thrombose liée au CVC), a montré que la mutation FVL était associée à une thrombose liée au CVC avec un OR groupé de 2,99 (IC à 95% 1,14-7,83). La population attribuable au risque de thrombose due à FVL était de 6%. L'association entre la thrombophilie et la thrombose liée au CVC a été confirmées seulement chez les patients atteints de malignité et semble plus fort chez les symptomatiques que les patients asymptomatiques. En ce qui concerne la thrombose veineuse cérébrale, une méta-analyse comprenant cinq études de cohorte avec 297 patients ont trouvé une association statistiquement significative entre FVL et une première thrombose de la veine cérébrale apparue chez les nouveau-nés et les enfants (OR 2.74, IC à 95% 1,73-4,34). Cependant, dans une autre méta-analyse, même si l'ampleur de l'effet était conforme aux l'association n'était pas statistiquement significative (OR 2,3, IC 95% 0,8-6,3). Groupes spéciaux de patients pédiatriques ont des risques de TEV sont plus élevés chez les patients atteints de leucémie lymphoblastique aiguë (ALL) qui sont traités avec de la L-asparaginase [35].

II. INDICATIONS DE LA RECHERCHE DE LA MUTATION DU FACTEUR V LEIDEN :

Il existe un consensus général selon lequel les tests Facteur V Leiden peuvent être utiles dans certaines circonstances. Cependant, les directives diffèrent sur les indications spécifiques pour les tests. La décision pour tester les patients sélectionnés devrait être basée sur la probabilité que les résultats sont susceptibles d'influencer le traitement. Il n'y a pas preuve que le dépistage de la thrombophilie réduit le risque d'une ETE récurrente ou améliore les résultats cliniques chez les membres de la famille qui subissent un dépistage. Les recommandations consensuelles récentes diffèrent également sur les résultats défavorables de la grossesse.

Les tests sont appropriés aux personnes sélectionnées avec les éléments suivants:

- Une première TEV non provoquée à tout âge (en particulier l'âge de 50 ans)
- Un historique de VTE récurrente.
- Thrombose veineuse sur des sites inhabituels (par exemple, veines cérébrales, mésentériques, hépatiques et portales).
- TEV pendant la grossesse ou la période puerpérale.
- TEV associée à l'utilisation de la contraception d'œstrogène ou hormonothérapie substitutive (THS).
- Une première TEV chez un membre de la famille premier degré avec VTE avant l'âge de 50 ans.

D'autres circonstances cliniques dans lesquelles les tests peuvent être appropriés sont les suivantes:

- Femmes présentant des pertes de grossesse inexplicables récurrentes au premier trimestre ou une perte fœtale inexplicée après 10 semaines de gestation, ou mortinatalité.

- Certaines femmes ayant une pré-éclampsie sévère inexpliquée, décollement placentaire, ou un fœtus avec retard de croissance intra-utérin sévère.
- Une première TEV liée à l'utilisation du Tamoxifène ou d'autres modulateurs sélectifs des récepteurs des œstrogènes (SERM).
- Les personnes de moins de 50 ans avec un premier VTE provoqué en l'absence de malignité ou dispositif intravasculaire.
- Les membres de la famille adulte asymptomatique des probands mutation connue de Facteur V Leiden, en particulier ceux avec des antécédents familiaux forts de TEV à un jeune âge ou une femme les membres de la famille qui sont enceintes ou qui envisagent d'utiliser un contraceptif œstrogénique ou une grossesse.
- Les fumeuses de moins de 50 ans ayant un infarctus du myocarde ou accident vasculaire cérébral.
- Les nouveau-nés et les enfants atteints de VTE idiopathique ou d'un accident vasculaire cérébral non liés à un cathéter.

Les tests Facteur V Leiden ne sont pas systématiquement recommandés en cas de grossesse ou avant l'utilisation de la contraception d'œstrogène, de traitement hormonal substitutif, ou SERMs. Les Tests prénataux et le dépistage des nouveau-nés asymptomatiques, et les enfants ne sont pas non plus conseillés. Les tests de routine ne sont pas appropriés pour les patients avec des antécédents personnels ou familiaux de thrombose artérielle syndrome coronarien ou accident vasculaire cérébral). Cependant, il peut être considéré chez les personnes de moins de 50 ans présentant une thrombose artérielle inexpliquée.

Le consentement éclairé spécifique n'est généralement pas requis pour les tests génétiques du facteur V Leiden, bien qu'il puisse être nécessaire dans certains états. Cependant, avant les tests, les individus doivent être informés que les résultats des tests génétiques ont des implications en ce qui concerne le risque chez les autres membres de la famille et les questions connexes de confidentialité. Les résultats doivent être interprétés par un médecin expérimenté dans la prise en charge de la thrombophilie et de la thrombose [38].

Ce sont les mêmes recommandations pour le dépistage de toute thrombophilie [40].

❖ Principales recommandations concernant l'exploration des thrombophilies héréditaires.

Recherche recommandée :

- Premier épisode non provoqué de MTEV survenue avant 60 ans
- MTEV provoquée ou non chez une femme en âge de procréer
- Récidive de TVP proximale ou EP si le premier épisode a eu lieu avant 60 ans
- Récidive de TVP distale non provoquée avant 60 ans

Recherche non recommandée systématiquement

- Premier épisode de TVP proximale ou EP chez un homme avant 60 ans si facteur déclenchant et en l'absence d'histoire familiale

Recherche non recommandée

- TVP proximale ou EP après 60 ans
- TV superficielle
- Premier épisode de TVP distale

MTEV : maladie thromboembolique veineuse ; TVP : thrombose veineuse profonde.

❖ Recommandation de l'American College of Medical Genetics (ACMG) en 2001:

Les opinions et les pratiques concernant les tests du facteur V Leiden varient. Certains médecins préconisent le dépistage de tous les patients atteints de thrombose veineuse, sauf en cas de tumeur maligne active. D'autres excluent les tests chez les patients de plus de 60 ans en l'absence d'antécédents familiaux de thrombose ou d'un événement thrombotique antérieur.

Il y a un consensus croissant sur le fait que les tests doivent être effectués dans au moins les circonstances suivantes (ce sont les mêmes recommandations générales pour le dépistage de toute thrombophilie):

- Âge <50 ans, toute thrombose veineuse.

- Thrombose veineuse dans des sites inhabituels (tels que les veines hépatiques, mésentériques et cérébrales).
- Thrombose veineuse récurrente.
- Thrombose veineuse et antécédents familiaux de maladie thrombotique.
- Thrombose veineuse chez les femmes enceintes ou les femmes prenant des contraceptifs oraux.
- Les parents d'individus atteints de thrombose veineuse de moins de 50 ans.
- Infarctus du myocarde chez les femmes de moins de 50 ans.

Des tests peuvent également être envisagés dans les situations suivantes:

- Thrombose veineuse, âge > 50 ans, sauf en cas de tumeur maligne active.
- Les parents d'individus connus pour avoir le facteur V Leiden. La connaissance du facteur V Leiden peut influencer la prise en charge de la grossesse et peut être un facteur dans la prise de décision concernant l'utilisation de contraceptifs oraux.

-Les femmes avec une perte de grossesse récurrente ou prééclampsie sévère inexplicquée, décollement placentaire, retard de croissance fœtale intra-utérine, ou mortinatalité. La connaissance du statut de porteur du facteur V Leiden peut influencer la prise en charge des futures grossesses.

Le dépistage aléatoire de la population générale pour le facteur V Leiden n'est pas recommandé.

Les tests de routine ne sont pas recommandés chez les patients ayant des antécédents personnels ou familiaux de troubles thrombotiques artériels (p. Ex., Syndromes coronariens aigus ou AVC), à l'exception de la situation particulière d'infarctus du myocarde chez les jeunes femmes fumeuses. Les tests peuvent être valables pour les jeunes patients (<50 ans) qui développent une thrombose artérielle aiguë en l'absence d'autres facteurs de risque de maladie artérielle athéroscléreuse occlusive.

Les tests prénataux et le dépistage néonatal systématique ne sont pas recommandés [40].



Diagnostic biologique



La recherche de la mutation FVL repose sur deux types de tests :

- des tests de dépistage phénotypique: ce sont les tests chronométriques représentés par la recherche de la résistance à la protéine C activée RPCa.
- des tests de confirmation : ce sont des tests de biologie moléculaire

I. ASPECTS PREANALYTIQUES :

1. POUR LES TESTS DE DEPISTAGE :

Nombre de protéines de la coagulation sont fragiles .Pour les tests plasmatiques, le prélèvement et son traitement doivent donc être effectués en respectant scrupuleusement les recommandations établies par les sociétés savantes (GEHT, CLSI) pour l'hémostase concernant la nature du tube, les critères de non-conformité (remplissage des tubes, hémolyse), le délai de traitement, les conditions de double centrifugation, de congélation et de décongélation éventuelle des plasmas à étudier. L'aspect ictérique ou lipémique d'un plasma doit être pris en compte dans l'interprétation des résultats [42].

a. Tube de prélèvement :

Les tubes de sang nécessaires à la réalisation des analyses pour les tests de coagulation : tubes citratés ; Les prélèvements d'hémostase doivent être anticoagulés avec du citrate 0,106 M préférentiellement, sinon 0,109 M (3,13-3,2 %) [1 vol pour 9 vol de sang][14]. Le pH du plasma anticoagulé doit être compris entre 7,3 et 7,45. Ces conditions sont valables pour un hématocrite compris entre 30 et 50 % ; en dehors de ces valeurs, le volume d'anticoagulant doit être adapté à l'hématocrite selon la formule : $(\text{volume sang [ml]} \times [100 - \text{hématocrite\%}] / (595 - \text{hématocrite \%})$ [15].

Le sang doit être collecté dans des tubes qui présentent une surface non activatrice de la coagulation. Le polystyrène ne doit donc pas être utilisé [14].

b. Conditions générales de prélèvement :

Les meilleures conditions de prélèvement sont le matin, au repos depuis plus de 5 minutes, en position assise confortable.

Un repas léger sans matière grasse est acceptable. Le tabac, l'exercice physique, la caféine ou tout autre excitant sont à éviter [43]. Dans l'idéal, le bilan de dépistage est à réaliser à distance des épisodes thrombotiques, des périodes aiguës d'inflammation et d'infection, des traitements anticoagulants et des grossesses, tous ces contextes étant susceptibles d'induire des perturbations acquises transitoires[42] . Les tensions physiques et morales doivent être minorées. L'ambiance générale du lieu de prélèvement doit être agréable, feutrée, apte à éveiller la confiance [43]. Les mesures de RPCA sont possibles chez les patients traités par héparine dans la plupart des cas car les réactifs contiennent des inhibiteurs du médicament. L'insensibilité aux AVK est assurée dans la plupart des tests, en particulier lorsqu'ils sont réalisés sur mélange du plasma du patient et d'un plasma commercial déficient en FV. la recherche de facteur de risque [14].

Cependant, les inhibiteurs directs de la thrombine comme le dabigatran, l'argatroban et bivalirudine [44-45]. Ainsi que le rivaroxaban, un inhibiteur du facteur Xa [46], peut causer des divergences avec les résultats de l'ADN FVLeiden en provoquant faussement résultats normaux du test de résistance APC.

L'aiguille choisie doit être d'un diamètre compris entre 19 G (1 mm) et 22 G (0,7 mm). Chez les enfants, les aiguilles de diamètre 23 G sont acceptables [43].

Le site de ponction doit être éloigné de toute perfusion, de toute plaie. Le réseau veineux superficiel de l'avant-bras est le site privilégié [43].

Un remplissage des tubes à plus de 90 % doit être obtenu, la limite de non-conformité ayant été fixée à moins de 80 % [43]. Les tubes prélevés doivent être homogénéisés : de trois à six retournements successifs lents, en fixant un choix (quatre ?), sans induire de formation de mousse [43].

Compte tenu des causes d'anomalies acquises, le biologiste aura besoin d'une évaluation concomitante des paramètres suivants : temps de Quick pour estimer l'état de la fonction hépatique, dosage du fibrinogène dont l'élévation de la concentration plasmatique témoigne d'un syndrome inflammatoire. La connaissance de la concentration du *FVII (ou VII + X)* peut être une aide à l'interprétation des taux de PC, car la pharmacodynamie de la PC est similaire à celle du FVII [14].

c. Transport, traitement du prélèvement :

Les tubes doivent être acheminés en position verticale, pour minimiser le contact avec le bouchon, doivent rester bouchés (sécurité, maintien du pH) [43].

Le transport de l'échantillon du site de prélèvement au laboratoire doit se faire à température ambiante. Les conditions réfrigérées ne sont pas recommandées, car il y a un risque d'activation du FVII, de perte du facteur Willebrand et d'activation plaquettaire. Idéalement, il doit être traité dans les deux heures qui suivent la prise de sang (GEHT). En fait, le délai de traitement acceptable est fonction des paramètres que l'on veut étudier ; il a été montré qu'un délai de quatre heures était acceptable pour le dosage du FVIII, et ce délai a été retenu par le CLSI pour la plupart des autres paramètres de la coagulation, mais en l'absence d'études établissant sa validité [14].

Zürcher et al ont très récemment étudié l'impact des conditions de transport du sang total sur le bilan de thrombose. Les échantillons de sang avaient été obtenus dans des conditions habituelles de prélèvement chez 59 patients. Le sang total citraté (0,106 M) a été conservé puis transporté à température ambiante. Des dosages des différents paramètres du bilan ont été réalisés sans délai puis en moyenne 5, 10, 24 et 48 h après la prise de sang. De façon intéressante, dans cette étude, les activités de l'AT, de la PC (chromogénique et anticoagulante) et le taux de PS libre sont stables pendant 48 heures; les résultats des mesures

de résistance à la PCa et de PS totale sont stables sur une période de 24 heures [135]. Pour la RPCA, ces données sont en accord avec les résultats d'un travail de Freyburger et al qui concernait six sujets sains et huit malades. Si ces résultats devaient être confirmés dans d'autres travaux, ils pourraient étayer une mise à jour des recommandations [14].

d. Préparation du plasma(Centrifugation) :

L'obtention du plasma pauvre en plaquettes (< 10 G/L) nécessite une double centrifugation à 2 000-2 500 g avec des temps de centrifugation qui ne seront pas inférieurs à 15 minutes. Le CLSI précise qu'une double centrifugation comporte une étape intermédiaire de décantation du plasma dans un tube plastique « non-activateur de l'hémostase » (type polypropylène) et que lors de la deuxième décantation, il faut veiller à ne pas prélever les plaquettes résiduelles au fond du tube. Les performances de la centrifugeuse quant à la vitesse doivent être contrôlées tous les six mois. D'après Lippi et al, la température de centrifugation doit être comprise entre 18 et 22 °C [14].

L'élimination des plaquettes par filtration bien qu'efficace n'est pas conseillée compte tenu de son influence sur certaines protéines de la coagulation [14].

e. Congélation des plasmas :

Lorsque les examens ne sont pas effectués dans un délai de deux à quatre heures, les plasmas déplaquetés doivent être congelés selon la procédure suivante : aliquotes de petit volume (pas plus de 1 ml), dans des tubes en matériau non mouillable et dont la capacité est adaptée à l'échantillon (pas de volume mort). La congélation sera la plus rapide possible, si possible en azote liquide, sinon à -70 °C plutôt qu'à -20 °C. La littérature qui concerne

L'influence de la température et du temps de conservation des aliquotes, sous forme congelée sur les résultats des tests, est pauvre. Les résultats d'une étude sur plasma de sujets sains ont montré la stabilité de 15 paramètres (TP,TCA, temps de thrombine, FII, FV, FVII, FX, FVIII, FIX,FXII, activité anticoagulante de la PC et de la PS, activité chromogénique de l'AT, FW antigène, D-dimères) pendant au moins 18 mois à -74 °C; le CLSI a estimé que les données disponibles démontraient la stabilité des facteurs étudiés pour des durées de conservation allant jusqu'à trois mois à température inférieure ou égale à -24 °C et au moins

18 mois à température inférieure ou égale -74°C . Il a cependant souligné que dans cette étude les conditions de prélèvement (plasmaphérèse et citrate 0,129 M) n'étaient pas identiques à celles qui sont utilisées en routine et que l'influence de l'état clinique n'était pas prise en compte [14]. À -20°C , la durée de conservation ne devra pas dépasser deux semaines. Le CLSI a estimé que l'emploi de congélateurs avec cycles de décongélation automatique n'était pas acceptable compte tenu de l'activation possible de certains facteurs dans de telles conditions de stockage [14].

f. Transport de plasmas congelés :

Lorsque le laboratoire n'effectue pas lui-même les dosages, l'envoi de plasmas congelés devra être effectué dans de la carboglace en quantité suffisante pour que la congélation soit maintenue et dans un emballage approprié [14].

g. Décongélation :

La décongélation devra être effectuée rapidement (deux à trois minutes) à une température de 37°C ; les plasmas doivent ensuite être homogénéisés et les tests effectués sans délai. Le CLSI insiste sur l'importance de l'homogénéisation compte tenu du risque de précipitation de certaines protéines induit par la congélation [14].

Tableau VIII:Le pré-analytique en hémostase et les recommandations du Groupe d'études sur l'hémostase et la thrombose (GEHT) [47].

Tableau I. Protocole standard pour les tests courants d'hémostase			
	Recommandé	Acceptable	Non conforme
Tube	Sous vide stérile Verre siliconé ou PET étanche Bouchon inerté Volume résiduel d'air < 20 %		Autres
Anticoagulant	Citrate 0,109 M (3,2 %) CTAD 0,105 M	Citrate 0,129 M (3,8 %)	Autres
pH plasma anticoagulé	7,3 à 7,45		< 7,3 et > 7,45
Hématocrite	0,30 à 0,55	Résultats sous réserve si > 0,55 ou < 0,30	
Taille de l'aiguille	19 à 22 gauge	23 gauge en pédiatrie Tubulure avec volume mort < 150 µl	Autres
Garrot	< 1 min	> 3 min	
Site de ponction	Veineux éloigné de toute perfusion	Artériel Prélèvement sur cathéter après rejet de 5 à 10 mL	Autres
Place du tube	2 ^e tube après tube de purge ou après tube sec sans activateur	1 ^{er} tube	Après tube sec avec activateur ou anticoagulant autre que citrate
Remplissage	> 90 %		< 80 %
Transport	18 à 22 °C Position verticale si possible		< 4 et > 30 °C
Délai	< 2 h < 4 h si CTAD	< 4 h < 6 h pour TP	> 4 h > 6 h pour TP
Centrifugation	2 000 à 2 500 g, 15 min	4 500 à 11 000 g, 2 min	< 1 500 g
Double centrifugation	Pour ACC-LA, RPTa et avant congélation		
Température de centrifugation	Thermostatée 18 à 22 °C		Non thermostatée
Congélation	Rapide à -70 °C	Rapide à -20 °C	
Conservation	-70°C tube non mouillable avec bouchon à vis Capacité adaptée au volume	-20 °C, < 15 j	> -20 °C
Transport congelé	Carboglace		
Décongélation	Rapide à 37 °C	Température ambiante ou > 37 °C	

Source : www.geht.org

2. POUR LES TECHNIQUES DE BIOLOGIE MOLECULAIRE :

a. Prélèvement, conservation, transport :

Tube de prélèvement: tubes citratés ou EDTA [14].

Certaines techniques de recherche de mutations sont réalisables sur sang total ; dans d'autres cas, on travaillera sur l'ADN extrait des globules blancs. L'échantillon d'ADN peut être conservé à 2 à 8 °C ou congelé [14].

Il est conseillé de conserver les ADN de haut poids moléculaire à + 4 °C pour une utilisation immédiate, et à - 20 °C ou à - 80 °C, éventuellement sous forme précipitée, pour une utilisation à long terme[48]. Les échantillons biologiques congelés doivent être transportés

sans rupture de la chaîne du froid, dans un container refroidi et saturé en vapeur d'azote ou dans de la carboglace. Les conditions du respect de la chaîne du froid et de sa traçabilité doivent être fixées par contrat ou par tout autre moyen équivalent. L'utilisation de solutions de préservation des acides nucléiques à température ambiante n'est pas compatible avec une analyse pathologique ultérieure de qualité [48].

Les anticoagulants n'interfèrent pas avec les tests ADN FV Leiden [49].

b. Considérations préliminaires :

❖ Consentement éclairé :

Bien que formellement informé le consentement du patient ne devrait pas être requis pour le test du facteur V Leiden, mais il doit être conscient qu'il s'agit d'un test génétique et que les résultats des tests peuvent avoir des implications sur le risque sur d'autres membres de la famille. Cependant, les laboratoires doivent aussi être conscients que certains états peuvent avoir exigences spécifiques pour un consentement éclairé [50].

❖ Implications des résultats des tests :

C'est important pour les individus testés positifs pour le facteur V Leiden pour comprendre les implications de risque et implications génétiques de leur résultat. Le médecin du patient ou un conseiller en génétique peut communiquer ces risques [50].

❖ Collecte des données cliniques avant le test :

Les laboratoires sont encouragés à avoir un mécanisme pour recueillir des informations cliniques pré-test qui comprend la date de naissance du patient, l'indication pour les tests, et les antécédents familiaux spécifiques de la thrombose veineuse profonde. En routine, les laboratoires collectent également des données sur les races /ethnies Contexte [50].

II. LES TECHNIQUES DE RECHERCHE DE LA MUTATION LEIDEN DU FACTEUR V :

1. ÉTUDE DE LA SENSIBILITE A LA PCA : mesure de la « RPCA » :

Le FV Leiden est la principale cause reconnue de RPCA, facteur de risque de thrombose. La mesure plasmatique peut être réalisée dans la plupart des laboratoires ; le test génétique est réservé à un certain nombre de laboratoires qui disposent d'un agrément délivré par la DRASS. Le test RPCA est donc souvent utilisé en test de dépistage, mais il ne permet pas d'affirmer la présence d'une anomalie génétique ni le statut d'hétérozygotie ou d'homozygotie. De plus, il ne faut pas oublier que les tests plasmatiques peuvent, de par leur principe même, être soumis à des interférences [14].

a. Tests de 1^{re} génération :

Le test initialement mis au point par Dahlbäck repose sur la mesure du TCA(aPTT) et de son allongement en présence de PCa exogène(Coatest-APCR, IL[13])[51].N Le résultat est habituellement exprimé sous forme du ratio (TCA + PCa)/TCA natif. La résistance se mesure par l'absence d'allongement du (TCA + PCa) [51] .

Le rapport d'aPTT dans le plasma du patient et le plasma normal avant et après l'ajout d'APC est calculé. Ce rapport chez les individus normaux est $\geq 2,0$; chez les hétérozygotes FVL, 1,5-2,0; et chez les homozygotes, $<1,5$. Chaque laboratoire devrait déterminer sa propre coupure pour un résultat anormal [52].

Ce test, dit de « première génération », détecte la présence du FV Leiden [51], mais il est influencé par Un facteur VIII élevé, un faible taux de protéine S ($<20\%$) et des causes de TCA de départ prolongé (héparine, warfarine, DTI, AL, dysfonctionnement hépatique / faibles niveaux de facteur) qui peuvent entraîner un rapport APC-R faussement bas [52].

Néanmoins, les études ont montré que le test de 1^{re} génération permet également de détecter une RPCa héréditaire, non liée à la présence du FV Leiden, qui est un facteur de risque de thrombose veineuse, indépendamment des taux de FVIII, de l'âge et du sexe. Ce N risque est environ 2 fois supérieur à celui de la population normale. Les mécanismes génétiques de cette RPCa ne sont pas identifiés [51].

Il peut exister une « zone de doute » dont les limites doivent être également précisées. Un résultat dans cette zone de doute devra systématiquement entraîner une recherche du FV Leiden par test de biologie moléculaire [14].



Figure 21 : Coatest APC-R [53].

b. Tests de 2e et 3e génération :

Des tests dits de « 2e génération » ont rapidement été développés pour améliorer la sensibilité et la spécificité du test vis-à-vis du FV Leiden. Ils utilisent la dilution du plasma à tester dans du plasma déficitaire en facteur V (Coatest APCR-V [13])[51]. (Contenant également un neutralisant d'héparine [52]) et autorisent aussi le dépistage chez les patients traités par AVK. Certains tests possèdent des inhibiteurs d'héparine, rendant également leur utilisation possible chez les patients sous héparine [51]. Ce test est aussi moins affecté par la thrombose active, la chirurgie, l'état inflammatoire, la warfarine [52].



Figure 22:Coatest APC-R V [53].

L'interprétation des résultats reste parfois difficile en cas de déficit en FV ou en présence d'un ACC. Les résultats sont exprimés sous forme d'un ratio, normalisé ou pas, et leur interprétation dépend du test utilisé. Il est recommandé d'établir ses propres valeurs normales en se fondant sur l'étude d'une population normale au laboratoire. Comme les tests de 1^{re} génération, les tests de 2^e génération détectent également une RPCa liée à un risque de thrombose veineuse, indépendamment de la présence de FV Leiden et des taux de FVIII [51].

Il existe un test dit de « 3^e génération ». Dans ce test, c'est le venin de crotale qui active directement le facteur X et déclenche la coagulation en milieu calcique. Après dilution en plasma déficient en FV, on mesure le temps de coagulation en présence de PCa purifiée. Les résultats sont interprétés en fonction d'un seuil, 120 secondes, au-dessus duquel ils sont considérés comme normaux. La seule limite de ce test est le taux de FV du patient, qui doit être supérieur à 50 %. Les tests de 3^e génération (tableau IX) sont très sensibles et très spécifiques : ils ne détectent que la RPCa liée au FV Leiden [51].

Ils diffèrent par :

- le mode de déclenchement de la coagulation : en aval de la ténase ou dans un système de protéines purifiées ;

- l'état de la PC dans le système : certaines techniques sont réalisées en présence ou en l'absence de PCa d'origine exogène ; dans d'autres coffrets, l'ajout de Protac génère la PCa à partir de la PC endogène ;
- la présence ou l'absence d'ajout de plasma normal ou de protéines purifiées susceptibles de compenser les anomalies plasmatiques de l'échantillon testé (anomalies du FV exceptées). Dans l'objectif d'une recherche de RPCA FV Leiden dépendante [4].

c. Test de coagulation permettant l'exploration globale de la voie de la PC :

Plusieurs coffrets commerciaux de dépistage des anomalies de la voie de la PC ont été développés, il y a quelques années déjà, (PROC Global, Siemens, Gradi Throm PCP test, Gradipore, etc.). Ils étudient le degré d'allongement du temps de coagulation (type TCA ou dRVVT) du plasma du patient en l'absence et en présence de PCa par le Protac au sein du mélange. La sensibilité de ces techniques vis-à-vis des anomalies des protéines intervenant dans le test n'a été étudiée que sur des effectifs très faibles. Très bonne vis-à-vis du FV Leiden, elle est imparfaite vis-à-vis des déficits en PC et surtout des déficits en PS. Puisque ces techniques ne permettent pas de s'affranchir du dosage spécifique des inhibiteurs et de la recherche de RPCA et sont fréquemment altérées en dehors de la présence de ces anomalies spécifiques, elles présentent un intérêt limité dans la stratégie de screening des anomalies de la voie de la PC [14].

Elles pourraient, en revanche, se révéler utiles pour quantifier le degré de risque thrombotique individuel [14]. Il en est de même d'autres méthodes d'évaluation globale du potentiel coagulant tel que le CAT (calibrated automated thrombogram) ou l'OHP (overall hemostatic potential) .la recherche des facteurs de risque [14].

Tableau IX: Principaux tests de recherche d'une résistance à la protéine C activée.
Caractéristiques des venins utilisés dans les différentes méthodes

	Fournisseur	Test sensible à ...	Principe	Spécificité
Coatest APC Resistance Test historique	Chromogenic, Instrumentation laboratory (www.ilwww.com) Haemochrom Diagnostica (www.haemochrom.net)	Facteur V-L + VIII, V, PS + AVK et HNF + toutes causes de TCA allongé	TCA silice colloïdale ± PCA colyophilisée avec la céphaline. 2 temps.	-
APC resistance V	Instrumentation laboratory	Facteur V-L 100 % Facteur V R306T	Prédilution en plasma déficient V puis TCA silice colloïdale ± PCA colyophilisée avec la céphaline. 2 temps.	+
Hemodot Factor V-L	HYPHEN BioMed www.hyphe-biomed.com	Facteur V-L + V Insensible à AC lupique, AVK, HNF	Prédilution en [Fg+II+VIIIc+PS] puis X ± PCA, puis IXa+PL+Ca+++. 2 temps.	+
Hemodot Quanti-V-L	HYPHEN BioMed	Facteur V-L	Prédilution en [Fg+II+VIIIc+PS+PCA] puis Xa+PL puis Ca+++. 1 temps et gamme d'étalonnage.	+
Stadot APCR	Diagnostica Stago www.stago.fr	Facteur V-L + V (faux négatifs si diminué) Insensible à AC lupique, AVK, HNF, déficit en PS	Prédilution en plasma déficient V avec activation du X par le venin (4) puis déclenchement par Ca++ + PCA. 1 temps.	+
ProC global	Dade-Behring www.Dade-Behring.com	Facteur V-L 100 % + PC (90 %), PS (60-90 %) + AVK, Fg, V et VIII (peu spécifique des anomalies de la voie de la protéine C	± Activation de la PC endogène par venin de serpent (1) en présence de céphaline puis activation coagulation par Ca+++. 2 temps.	-
ProC Ac R	Dade-Behring	Facteur V-L + Facteur V R306T et R306C + PC Insensible à AC lupique, AVK, HNF	± Activation de la PC endogène par venin de serpent (1), puis activation du X par RVV-X(2)+PL+Ca+++. 2 temps.	+
Gradithromb PCP Test	Life diagnostics www.life-diagnostics.com	Facteur V-L (100 %) + PC (95 %), PS (65 %), mutation du II, OP, grossesse... Insensible à HNF	± Activation de la PC endogène par venin de serpent (1), puis activation du X par RVV(2)+PL+Ca+++. 2 temps.	-
Gradileiden V Cryocheck Clot APCR	Life diagnostics PrecisionBiologic www.precisionbiologic.com	Facteur V-L + PC, AVK Peu sensible à AC lupique, Insensible à VIII, facteurs contact, PC, PS, HNF	± Activation de la PC endogène par venin de serpent (1), puis activation du X par RVV-X+PL+Ca+++(2) à concentration optimisée. 2 temps.	±
APC Resistance kit	Technodone www.technodone.com	Facteur V-L Insensible à AC lupique, VIII, AVK, HNF	Prédilution en « plasma de dilution » puis activation du V par RVV-V(2) ± PCA, puis activation du II par venin (3) dépendant du V résiduel. 2 temps.	+
Pefakit APC-R Factor V Leiden	Pentapharm Ltd www.pentapharm.com	Facteur V-L (100 % ssb, 100 % sp) Insensible à AC lupique (ni Ca+++, ni PL), au VIII (en amont), AVK, HNF, déficit en PS et PC	Prédilution en plasma déficient V puis activation du V par RVV-V ± PCA puis activation du II par venin (3) dépendant du V résiduel. 2 temps.	+

: (1) Agkistrodon contortrix contortrix, ou mocassin à tête cuivrée du sud, activateur de la PC (Protac). – (2) RVV, venin de vipère Russell (Daboia russelli), peut être activateur du facteur X (RVV-X) ou activateur du facteur V (RVV-V) selon les composants isolés à partir du venin complexe. – (3) Noscariine issue du venin de Notechis scutatus scutatus, activateur du facteur II en présence de facteur V. – (4) Venin de Crotalus Viridis helleri, activateur du X [18].

L'introduction d'un dosage quantitatif Hemoclot Quanti FVL permet d'identifier directement presque tous les patients FV-L avec un seul test, et d'autre part la plupart d'entre eux peuvent être classés pour la présentation hétérozygote ou homozygote à travers la quantité d'activité du FV-L mesurée. La zone grise entre les groupes est fortement réduite. Ce test quantitatif donne également un intéressant outil d'évaluation de l'association entre la concentration en FV-L et le risque thrombotique [41].



Figure 23:Hemoclot Quanti FVL [54].

2. LA RECHERCHE DE LA MUTATION LEIDEN DU FACTEUR V PAR BIOLOGIE MOLECULAIRE :

a. Techniques sur gel :

❖ Polymorphisme de longueur de fragments de restriction (Restriction Fragment Length Polymorphism ou RFLP)

La digestion par une enzyme de restriction du matériel amplifié produit différents fragments de tailles variables en fonction de la séquence de l'amplifiât (figure24) [18].

L'analyse de la longueur de ces fragments permet de rechercher des substitutions, des insertions ou des délétions qui modifient le nombre de sites de restriction et donc la longueur des fragments de restriction [18].

La RFLP a constitué la première technique moléculaire de détection de la mutation Leiden V. En effet, celle-ci est à l'origine de la perte d'un site de restriction (MnII) d'où la possibilité de distinguer selon cette approche les homozygotes et les hétérozygotes. Une technique dérivée consiste à introduire un site de restriction artificiel par l'utilisation d'une amorce spécifique de la mutation. De très nombreuses enzymes ont été décrites pour la recherche des mutations R506Q. Il est préférable de choisir des enzymes permettant de visualiser un site de restriction contrôle, toujours présent et localisé à un autre emplacement que la mutation recherchée. De même, il est recommandé d'utiliser des tests qui vont faire apparaître un site de restriction en cas de mutation plutôt que le faire disparaître [18].

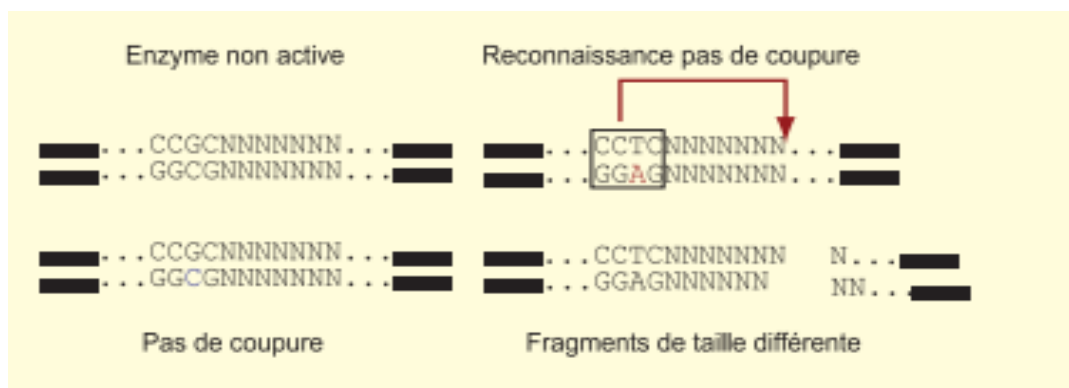


Figure 24 : polymorphisme de longueur de fragments de restriction [18].

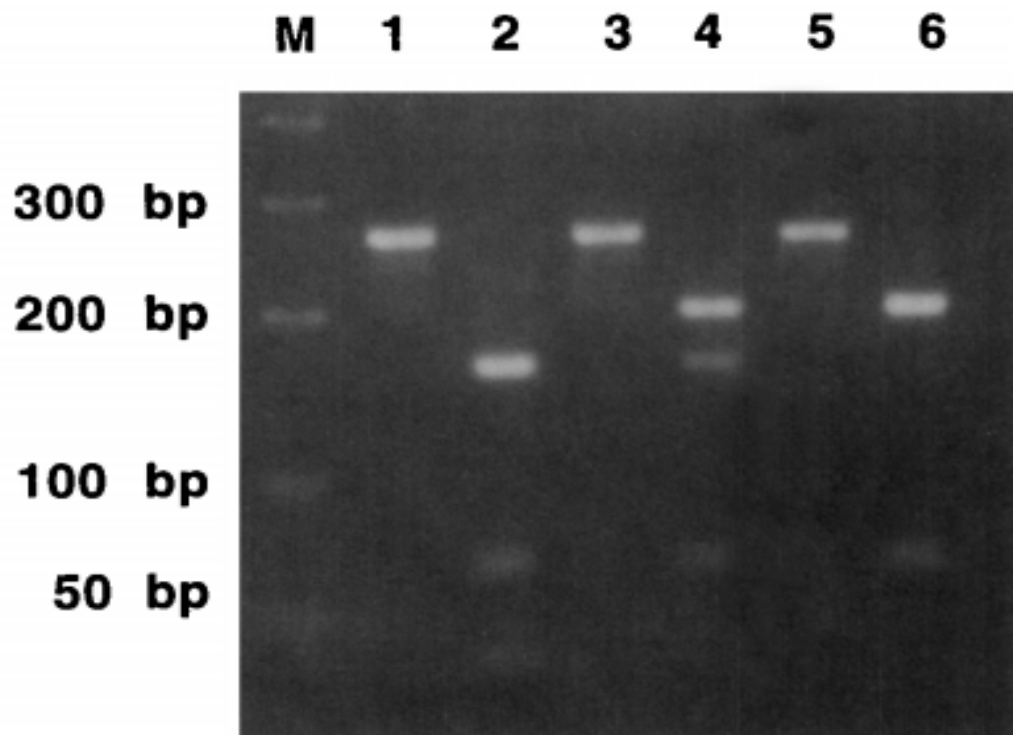


Figure 25: Détection PCR-RFLP du FV R506Q.

Un produit de 267 pb contenant 1,691 Nt de FV a été amplifié. Pour l'analyse RFLP, les fragments non digérés ou digérés par Mnl 1 ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose dans 2,5% de NuSieve 3: 1 dans 1 X TBE suivi d'une coloration au bromure d'éthidium. Les poids moléculaires, en paires de bases (pb), des fragments de marqueurs (M) sont indiqués à gauche de la photographie de gel. Le produit PCR de 267 bp de trois individus distincts est indiqué dans les pistes 1, 3 et 5. Les produits de digestion de Mnl 1 correspondants de ces produits sont montrés dans les pistes 2, 4 et 6, respectivement. La piste 1 représente un individu avec un génotype FV normal avec des fragments de digestion Mnl 1 de 163, 67 et 37 pb (piste 2). La piste 3 représente un individu hétérozygote pour FV R506Q avec Mnl 1 digère les fragments de 200, 163, 67 et 37 pb (piste 4). La piste 5 représente un homozygote individuel pour FV R506Q avec des fragments de digestion de Mnl 1 de 200 et 67 pb (piste 6)[55].

❖ PCR-RFLP multiplex :

Approche pour la détection combinée du facteur V Leiden et de la prothrombine G20210A, permet de fournir des informations génotypiques sur le locus prothrombine sans coût supplémentaire ou de travail sur le génotype du facteur V Leiden par un second PCR RFLP. L'évaluation de la méthode multiplex pour sa capacité à détecter facteur V Leiden et prothrombine G20210A chez un patient de 408 échantillon de base, détermine que la méthode effectuée est précise [56].

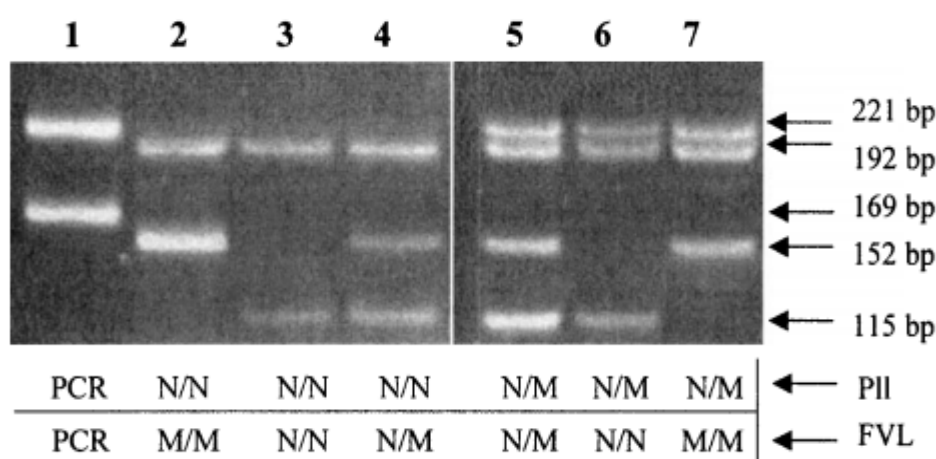


Figure 26: Photographie d'un gel d'acrylamide à 6% coloré au bromure d'éthidium démontrant une réaction de polymérisation en chaîne multiplex par polymorphisme de longueur des fragments de restriction (PCR-RFLP) pour analyser la prothrombine G20210A et le facteur V Leiden.

voie 1: les amplicons de 221 pb de type sauvage (prothrombine) non digéré et de 169 pb (facteur V). Ligne 2: Une prothrombine G20210 de type sauvage / facteur V Leiden homozygote avec des produits de digestion de 192, 152, 29 et 17 pb. Ligne 3: Une prothrombine G20210 / facteur V sauvage avec produits digérés de 192, 115, 37, 29 et 17 pb. Voie 4: Une prothrombine G20210 de type sauvage / facteur V Leiden homozygote avec produits de digestion de 192, 152, 115, 37, 29 et 17 pb. Piste 5: A prothrombine G20210A hétérozygote / facteur V Leiden hétérozygote avec des produits de digestion de 221, 192, 152, 115, 37, 29 et 17 pb. Ligne 6: Une prothrombine G20210A hétérozygote / facteur v type sauvage avec des produits de digestion de 221, 192, 115, 37, 29 et 17 pb. Ligne 7: Une prothrombine G20210 hétérozygote / facteur V type sauvage avec des produits de digestion de 221, 192, 152, 29 et 17 pb. Les produits 37, 29 et 17-bp ne sont pas montrés parce qu'ils ont électrophoré le gel. N désigne l'allèle de type sauvage; M désigne l'allèle mutant [56].

❖ PCR spécifique d'allèle (Allele-specific PCR ou amplification refractory mutation system ou ARMS) :

Cette méthode est fondée sur le fait que la présence d'un mésappariement à l'extrémité 3' d'une amorce ne permet pas l'amplification (figure 27) [18].

Deux amplifications sont réalisées dans deux tubes contenant tous les deux une amorce commune mais différenciées par la présence d'une amorce spécifique de l'allèle sauvage dans le premier et d'une amorce spécifique de l'allèle muté dans le second.

La séquence de l'amorce spécifique de l'allèle muté est conçue de façon à ce que le nucléotide muté corresponde à son extrémité 3'.

Les homozygotes sauvages et mutés ne donneront d'amplification que dans un des deux tubes, les hétérozygotes conduiront à une amplification dans les deux tubes. Dans ce cas, le produit final est un amplicon double brin [18].

Plusieurs variantes de cette technique ont été décrites impliquant notamment l'utilisation d'amorces spécifiques marquées par un fluorophore et l'utilisation de l'électrophorèse capillaire comme technique séparative. L'analyse de conformation de l'ADN simple brin (Single Stranded Conformation polymorphism, SSCP), l'électrophorèse en gradients d'agents dénaturants (Denaturing Gradient Gel electrophoresis, DGGE) et surtout le séquençage peuvent être adaptés au diagnostic des deux mutations Leiden bien que ces techniques soient plutôt dévolues à la recherche de mutations non ciblées [18].

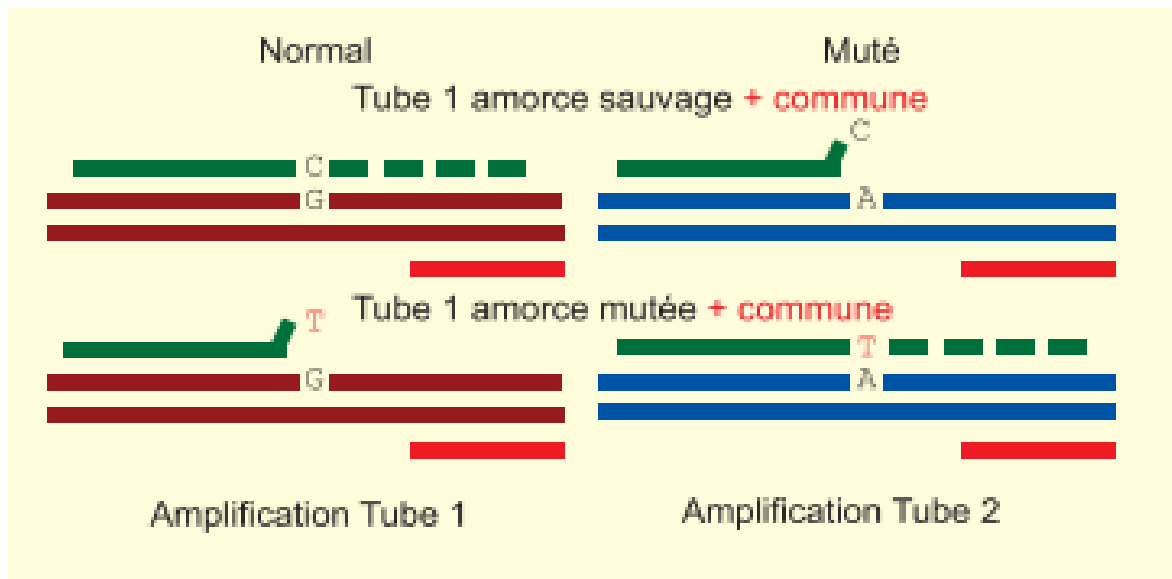


Figure 27: amplification spécifique d'allèle [18].

b. Techniques en temps réel fondées sur le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (Fluorescence resonance energy transfer, FRET) :

Deux techniques associent amplification et fluorimétrie en exploitant le phénomène de FRET : soit grâce à des sondes allèles spécifiques de type LightCycler™ (Roche Diagnostics, Bâle, Suisse), soit grâce à des sondes d'hydrolyse de type « Taqman™ » (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France). Dans les deux cas, un couple d'amorces amplifie la zone jouxtant le polymorphisme recherché [18].

❖ La méthode Lightcycler :

La méthode Lightcycler met en œuvre, deux sondes courtes marquées par deux fluorophores différents, l'une d'entre elles peut s'hybrider sur la zone du polymorphisme et l'autre à proximité (figure 28). Le rapprochement physique de ces sondes sur les amplifiats permet le transfert d'énergie et l'augmentation du signal fluorescent est mesurée en temps réel.

La présence d'une mutation modifie les propriétés de fusion des complexes sonde/produit d'amplification et la réalisation d'une courbe de fusion permet donc d'identifier les différents génotypes [18].

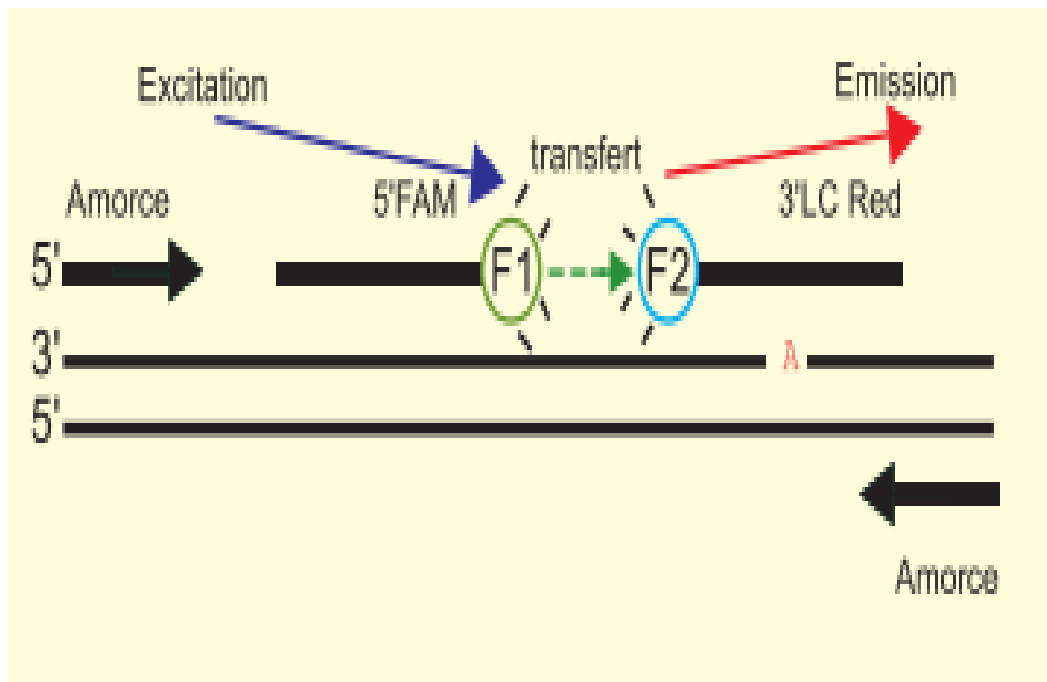


Figure 28:sonde LightCycler [18].

❖ La méthode TaqMan™ :

La méthode TaqMan™ repose sur une sonde unique portant deux fluorophores (en 5' Reporteur FAM, TET, JOE, HEX ou VICTM, en 3' Quencher, habituellement TAMRA). La petite taille de la sonde (25 à 30 nucléotides, soit moins de 55 angströms), fait que l'énergie absorbée par le reporteur excité est transférée par FRET au quencher (figure 29). Le spectre d'excitation du TAMRA ne chevauchant pas le spectre d'émission du reporteur, le quencher absorbe l'énergie sans émettre aucune fluorescence [18].

Le système TaqMan™ utilise l'activité 5'-3' exonucléase de l'ADN polymérase qui hydrolyse la sonde hybridée à sa cible spécifique lors de l'étape d'élongation des amorces [18].

Ainsi au cours des cycles d'amplification le fluorophore reporteur est libéré et l'émission de fluorescence augmente. L'utilisation de sondes TaqMan™ allèle-spécifique permet la détermination des génotypes.

Il existe également une autre méthode fondée sur le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes, la technologie Invader®, commercialisée par la société Tird Wave Technology. Elle peut s'employer avec ou sans PCR préalable du fait de l'amplification considérable du signal fluorescent (6 à 7 log) par rapport au nombre de séquences cibles [18].

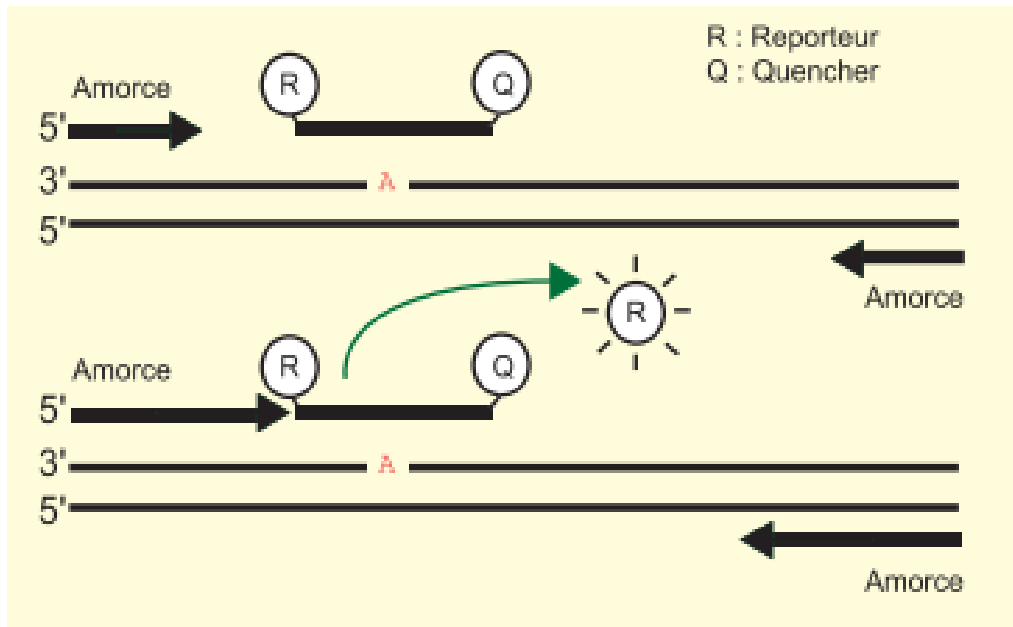


Figure 29: sondes Taqman [18].

c. Autres Techniques :

❖ Ligature des oligonucléotides (Oligonucléotide ligation assays, OLA) :

Son principe est fondé sur une propriété de la ligase : cette enzyme ne lie deux oligonucléotides adjacents que s'ils sont parfaitement appariés à leur séquence cible (figure30). La technique utilise donc, d'une part, un oligonucléotide complémentaire de la séquence d'ADN jouxtant le site du polymorphisme et, d'autre part, une sonde conçue de façon à ce que son extrémité 5' ou 3' soit terminée par un nucléotide spécifique de l'allèle sauvage ou muté. Le résultat de la réaction de ligation, le fait que ces deux oligonucléotides soient effectivement liés ou pas, permet de déterminer le génotype des fragments d'amplification étudiés [18].

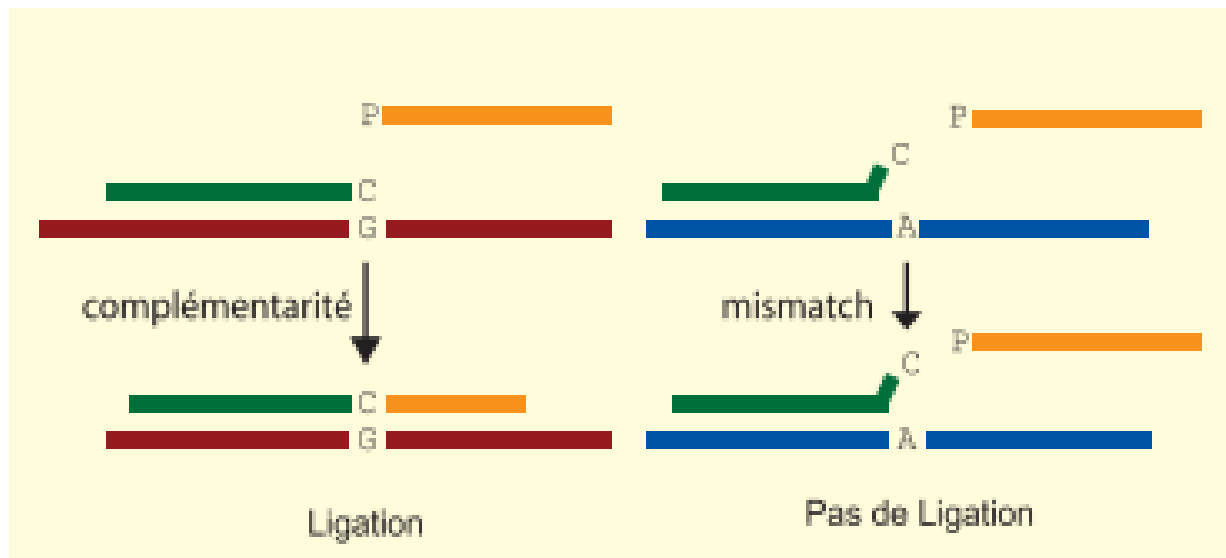


Figure 30: ligature des oligonucleotides [18]

❖ Hybridation spécifique d'allèle (allele-specific hybridization, ASO) :

Fondée sur la spécificité de la réaction d'hybridation cette technique se prête à de multiples variantes selon les techniques de marquages et de détection employées (figure 31).

L'approche « reverse dot-blot » consiste à fixer sur une membrane les sondes oligonucléotidiques. La réaction d'hybridation est réalisée dans des conditions de haute stringence assurant que l'ADN génomique préalablement amplifié et marqué ne s'hybride qu'avec la sonde dont la séquence lui est parfaitement complémentaire [18].

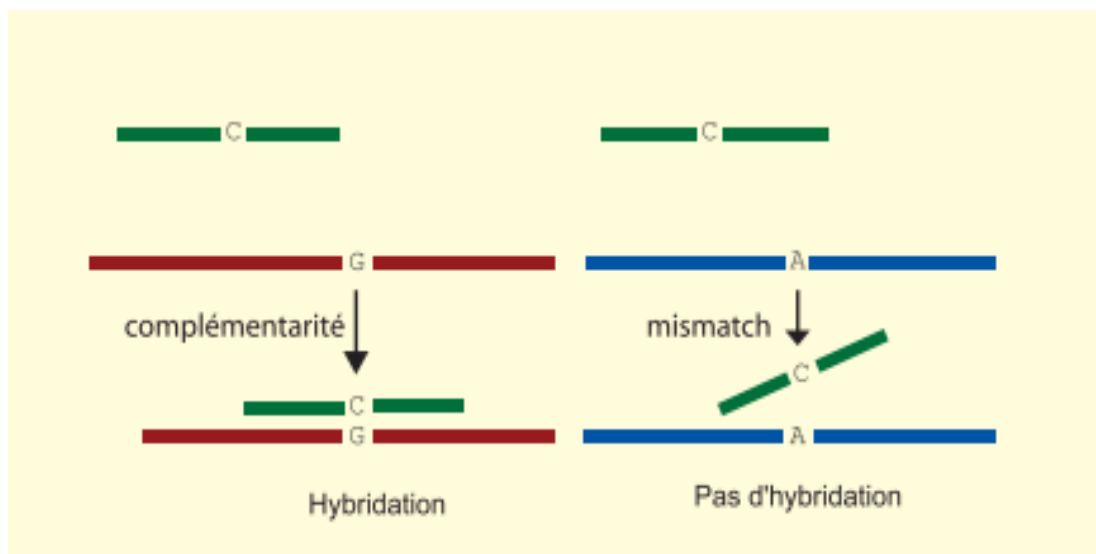


Figure 31:hybridation spécifique d'allèle [18].

❖ Extension d'amorces spécifiques d'allèle (allele-specific primer extension) :

Une amorce est conçue pour s'hybrider une base en amont du site du polymorphisme (figure 32).

Mise en présence de l'ADN cible amplifié, des didésoxynucléotides (ddNTPs, terminators) et d'une enzyme permettant l'incorporation des ddNTPs, l'amorce est étendue d'une seule base (on parle de miniséquénçage).

Il existe de multiples déclinaisons de cette technique différenciées par leur format (réalisation en phase liquide, sur support solide,...) et le type de détection mis en œuvre (fluorescence, chimioluminescence, spectrométrie de masse,...).

Une autre variante consiste à utiliser des amorces spécifiques d'allèle qui seront étendues si leur appariement avec la séquence cible est parfait (figure33).

Une extension peut survenir dans le cas de certains mésappariements. Ce phénomène est toutefois moins rapide que l'extension d'une sonde parfaitement appariée. La technique dite AMASE (apyrase-mediated allele-specific extension) exploite élégamment cette différence de cinétique et résout de la sorte ce problème d'extension de mésappariements [18].

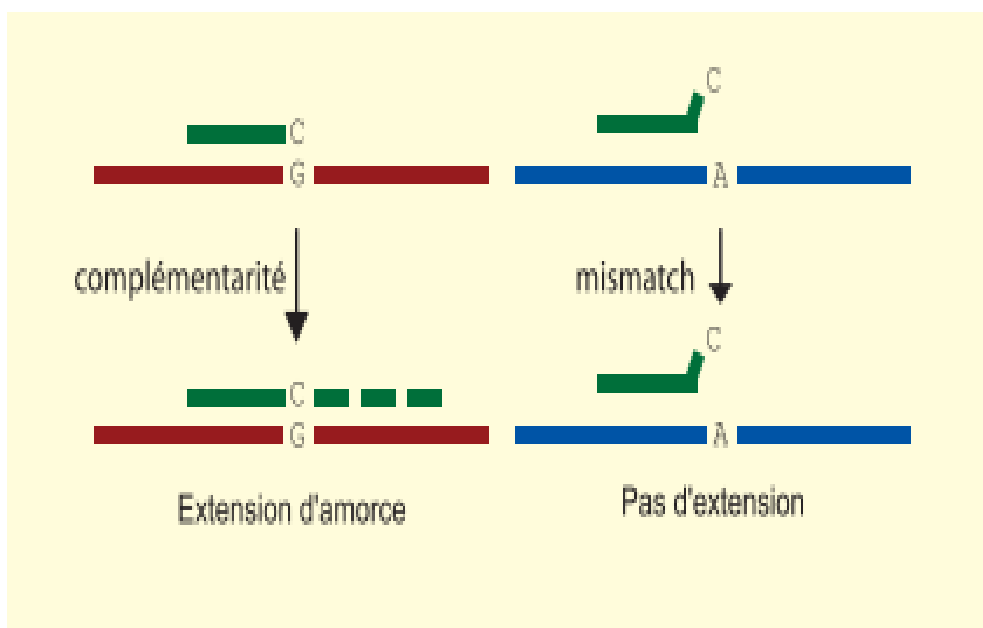


Figure 32:extension d'amorces spécifiques d'allèle [18].

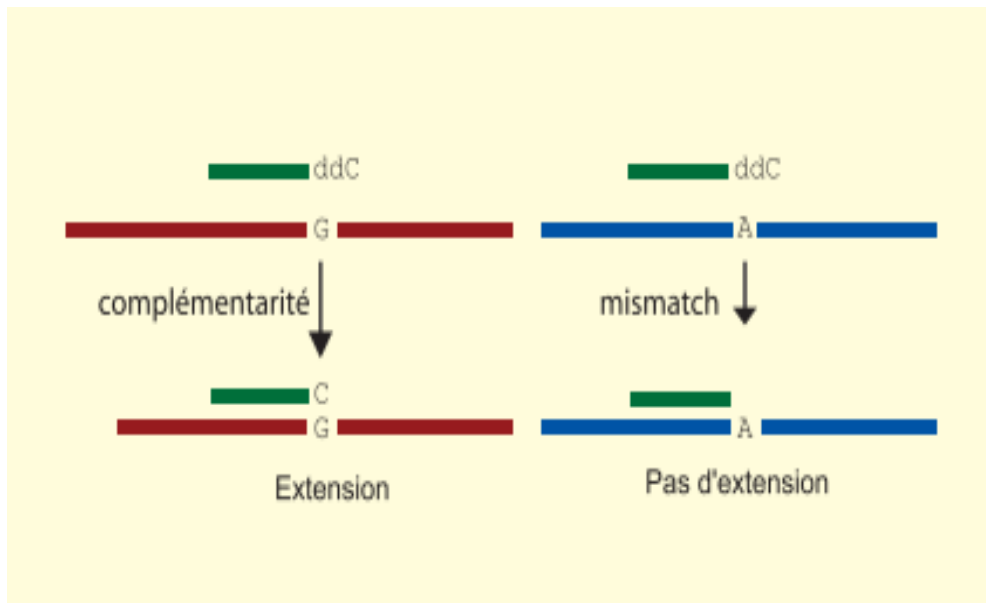


Figure 33:extension d'amorces avec terminators [18].

❖ Technologie xMAP :

Technologie de la société Luminex (Austin, Texas). Des microsphères de polystyrène de 5,6 µm de diamètre sont marquées par des concentrations variables de 2 fluorophores (rouge et infrarouge) permettant de distinguer 100 sous-types de billes.

Des oligonucléotides greffés à la surface des billes permettent la capture de séquences complémentaires dans l'échantillon à tester (chaque type de bille est couplé à un oligonucléotide unique). Une amorce est associée à chaque oligonuléotide spécifique d'un des polymorphismes à étudier. Une première phase d'amplification est suivie d'une deuxième avec l'extension d'une amorce allèle spécifique et en présence de dNTP-biotinylés.

L'identification des billes par cytométrie en flux est réalisée grâce à leur marquage fluorescent, et la streptavidine couplée à de la phycoérythrine permet de quantifier les séquences qui ont été reconnues et amplifiées. Le génotype est défini par la comparaison du signal obtenu sur les billes portant les allèles sauvage et muté.

Les avantages de la méthode sont les très faibles quantités de réactifs et d'échantillons (de l'ordre du microlitre), le fait que 100 cibles puissent être analysées simultanément dans le même échantillon, l'automatisation potentielle de la lecture. Bien qu'aucun produit IVD ne soit encore disponible pour les recherches des mutations V et II de Leiden et que l'utilisation de la méthode requière l'étape de fixation des oligonucléotides d'intérêt sur les billes, L'ACMG retient la technologie xMAP comme une méthode simple et de haut débit. Ce type de solution se décline ensuite en de nombreuses variantes Microarrays et nanotechnologies ? Plusieurs types de microarrays commercialisées ou résultant d'un développement « maison » ont également été mis en œuvre.

A titre d'exemple, le système NanoChipTM proposé par la société Nanogen (San Diego, Etats-Unis) pour lequel les tests de détection des mutations G1691A et G20210A sont disponibles. Cette plateforme automatisée présente l'avantage de permettre la réalisation de nombreux tests en parallèle. La société Nanosphere (Northbrook, Etats-Unis) présente pour sa part une alternative originale.

A la différence des autres techniques moléculaires décrites dans ces pages, cette méthode ne requiert ni amplification du matériel génétique ni utilisation d'enzymes (39). Elle s'appuie sur deux hybridations séquentielles avec, d'une part deux sondes spécifiques de chaque allèle (ou sondes de capture) et, d'autre part, une sonde signal spécifique d'une portion de séquence proche du polymorphisme. Les sondes de capture sont fixées sur une puce et la sonde signal est portée par des nanoparticules d'or d'une quinzaine de nanomètres de diamètre (figure34). L'ADN génomique (0,5 à 5 µg) est fragmenté par des ultrasons (taille des fragments 500 paires de bases) et l'échantillon est mis en contact avec les sondes greffées par la puce puis, après une étape de lavage, avec la sonde signal portée par les nanoparticules. Après élimination des particules non hybridées la réaction est révélée à l'argent et une lecture optique est réalisée. Grâce à l'extrême sensibilité de la détection des billes d'or et à la spécificité apportée par les sondes (capture et signal), qui prennent la cible en sandwich, cette méthode au principe relativement simple s'affranchit des besoins d'amplification et de réduction de la complexité de l'ADN génomique.

Différentes applications ont été développées pour ce système et notamment un test multiplexé pour la détection des mutations V et II Leiden associées à la mutation 677C>T MTHFR. Les conditions d'hybridations sont homogènes (40 °C) et la stringence a été définie pour permettre une bonne discrimination simultanée des 3 polymorphismes. La technique se caractérise par sa sensibilité : 0,5 µg d'ADN génomique (150 000 copies) permet d'obtenir un signal suffisant pour une discrimination efficace [18].

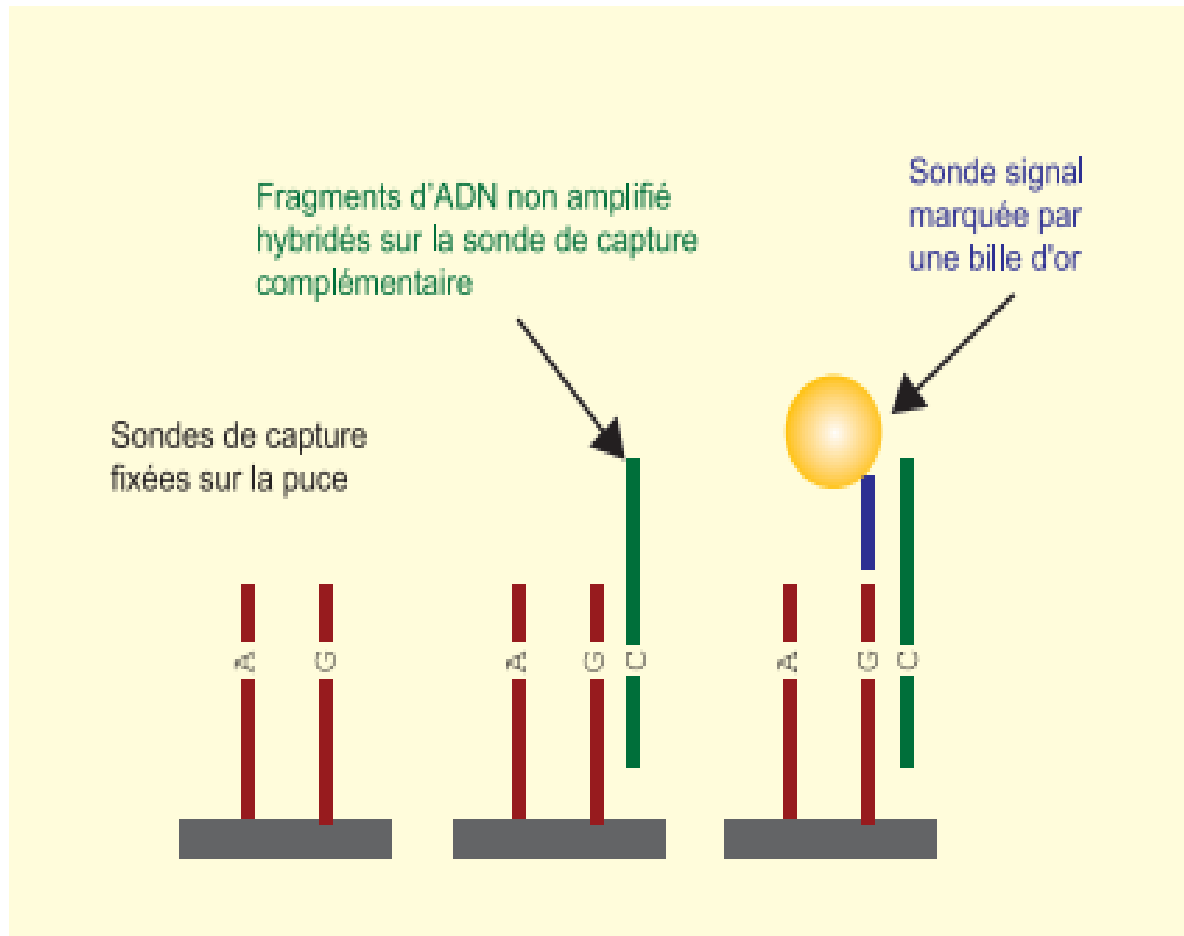


Figure 34:technologie Nanosphère [18].

III. PERFORMANCES DIAGNOSTIQUES :

1. TEST DE RESISTANCE A LA PROTEINE C ACTIVEE :

Ce test repose sur la mise en évidence d'un allongement du temps de coagulation plasmatique en présence de protéine C activée endogène ou exogène. Ce test constitue la technique de référence pour le diagnostic de RPCa, la sensibilité et la spécificité de ce test ne peuvent donc pas être évaluées a priori. Cependant, le test de RPCa est essentiellement utilisé pour dépister la présence d'une mutation du FV Leiden, une analyse de la sensibilité et de la spécificité de ce test dans cette indication peut être réalisée en utilisant la biologie moléculaire comme technique de référence. Cette sensibilité et spécificité du test de la RPCa pour le dépistage de la mutation du facteur V ont été analysées dans 5 études. La sensibilité était de 100 % (5 études dont 3 études avec un seuil défini a posteriori au vu des résultats pour obtenir une sensibilité de 100%) et la spécificité variait de 68 % à 100 % selon les études. Si le test était réalisé avec une dilution préalable du plasma du patient dans un plasma déficient en facteur V, la spécificité du test variait de 98,8 % à 100 % sauf en cas de pathologie hépatique (Sp = 95,5 %) ou de présence d'un anticoagulant lupique (Sp = 68,8) [57] (tableau X). Une étude proposait une nouvelle technique (variante du test de RPCa fondé sur la prothrombine avec dilution du plasma en facteur V) dont les résultats n'étaient pas modifiés en présence d'anticoagulant lupique ou selon la concentration en facteur VIII (sensibilité et spécificité de 100 %).

Tableau X: sensibilité (se) et spécificité (sp)du test de résistance à la protéine c activée dans le cadre de la recherche d'une mutation du facteur v Leiden[57].

Auteur, année de publication	Type d'étude	Test	Échantillon analysé	Seuil	Se et Sp
Wilmer <i>et al.</i> , 2004 (12)	Étude monocentrique prospective	Variante du test de RPCa fondé sur la prothrombine avec dilution du plasma en facteur V; un réactif contenant de la protéine C activée et un activateur spécifique du facteur V est ajouté. Après une période d'incubation, la coagulation est initiée par addition de Noscarine, un activateur de la prothrombine dépendant du facteur V	Analyse du plasma de 686 patients (pas de précision sur l'exhaustivité de l'échantillon) ayant un dépistage de thrombophilie (212 patients porteurs de la mutation FV Leiden dont 192 hétérozygotes) et de 17 patients ayant une mutation FV Leiden homozygote connue	Seuil prédéfini: 2,5 La définition d'un seuil de 1,2 au vu des données permettait de différencier les mutations hétérozygotes et homozygotes	Se = 100 % Sp = 100 % Pas de modification des résultats en présence d'anticoagulant lupique ou selon la concentration en facteur VIII
Quincampoix <i>et al.</i> , 2001 (16)	Étude monocentrique rétrospective	Test: ProC Global modifié (c'est-à-dire réalisé sur du plasma dilué en facteur V) Ce test, dans sa version originale, évalue la cascade anticoagulante de la protéine C. Ce test est basé sur un allongement du TCA provoqué par l'activation de la protéine C par un extrait de venin	Sélection d'un échantillon de plasmas congelés issus de 353 patients ayant des antécédents de thrombose veineuse (critères de sélection non précisés), dont 69 porteurs de la mutation FV Leiden d'après l'analyse de l'ADN (64 hétérozygotes, 5 homozygotes) 87 patients étaient sous traitement anticoagulant (dont 12 porteurs de la mutation)	Seuil défini au vu des résultats: 0,8	Se = 100 % Sp = 100 % En cas de pathologie hépatique: Sp = 95,5 %
Schwarz <i>et al.</i> , 2001 (14)	Étude monocentrique prospective	Test de RPCa, technique fondée sur l'inhibition du facteur VIII (test immunochrome)	Analyse du plasma de 486 patients consécutifs présentant une thrombose veineuse profonde, une atteinte artérielle ou une pathologie autre que vasculaire: 149 patients avaient une RPCa positive dont 58 porteurs de la mutation FV Leiden d'après l'analyse de l'ADN	Seuil prédéfini par le laboratoire: 1,9	Se = 100 % Sp = 78,7 %
Quehenberger <i>et al.</i> , 2000 (15)	Étude monocentrique rétrospective	Test de RPCa basé sur l'activation du facteur X par du venin de serpent <i>Crotalus viridis helleri</i> sur du plasma dilué en facteur V (test STA-Staclot RPCa)	Sélection d'un échantillon de plasmas: - 38 témoins sains - 27 patients porteurs de la mutation FV Leiden (23 hétérozygotes et 4 homozygotes) - 7 patients porteurs d'un déficit en protéine S - 1 patient porteur d'un déficit en protéine C et de la mutation FV Leiden - 6 patients porteurs d'un déficit en protéine S et de la mutation FV Leiden	Seuil du temps de coagulation défini au vu des résultats: - porteur de la mutation FV Leiden: ≤ 106 s - déficit en protéine C ou S: > 136 s	Se = 100 % Sp = 100 % Ce test permettait de distinguer le type de mutation selon le temps de coagulation: - hétérozygotes: 76 – 106,3 s - homozygotes: < 66 s

Auteur, année de publication	Type d'étude	Test	Échantillon analysé	Seuil	Se et Sp
			De plus, analyse d'un échantillon de plasmas issus de 36 patients porteurs d'un anticoagulant lupique dont un porteur d'une mutation hétérozygote du facteur V Leiden	Pas de définition d'un seuil propre aux patients ayant un anticoagulant lupique	En présence d'un anti-coagulant lupique Se = 100 % Sp = 68,6 %
Svensson et al., 1997 (26)	Étude monocentrique prospective	Test: recherche d'une RPCa avec (test modifié) et sans (test original) dilution du plasma en facteur V	220 patients consécutifs externes avec suspicion de thrombose veineuse profonde des membres inférieurs en phase aiguë (adressés aux urgences pour une phlébographie de contraste) et 278 témoins volontaires pour l'étude (sans antécédents de thrombose) Le diagnostic de thrombose était posé par phlébographie de contraste (99 patients avec thrombose confirmée) Le test de référence pour diagnostiquer la mutation était l'analyse de l'ADN Parmi les patients avec thrombose confirmés: 22 mutations hétérozygote et 6 homozygotes Parmi les patients sans thrombose confirmée: 26 hétérozygotes et 1 homozygote Parmi les témoins: 27 hétérozygotes et 2 homozygotes	Test original: seuil à 3,2. Test modifié: seuil à 2,1 Ces seuils ont été définis au vu des données afin d'obtenir une sensibilité de 100 %	Tests original: Se = 100 % Sp global = 68,0 % Sp témoins = 84,7 % Sp suspicion = 42,7 % (avec) Sp patients sans thrombose = 53,8 % Sp patients avec thrombose = 28,2 %) Test modifié: Se = 100 % avec une distinction des hétérozygotes et des homozygotes Sp global = 98,8 %

2. RECHERCHE DE LA MUTATION FACTEUR V LEIDEN :

Il existe aujourd'hui plusieurs dizaines de techniques différentes validées et adaptées au diagnostic de la mutation Leiden des facteurs II et V. La plupart des méthodes actuellement utilisées par les laboratoires restent encore des techniques « maisons ». Leurs réactifs n'ont pas les garanties apportées par les ASRs (Analyte Specific reagents) qui sont des réactifs obéissant aux bonnes pratiques de préparation (GMP, good manufacturing practice).

Les kits de détermination qui possèdent la norme IVD (in vitro diagnostic) restent peu nombreux et plus coûteux que les méthodes « maison ». Le LightCycler® Factor V (II) kit a été le premier kit IVD en 2003. La responsabilité de la validité du résultat repose donc sur chaque laboratoire qui doit tout mettre en place pour assurer les performances de la technique qu'il utilise et garantir les différentes étapes des procédures en s'entourant de contrôles permettant d'évaluer l'efficacité des différentes étapes analytiques (amplification, digestion...).

Les changements de lot de réactifs nécessitent une attention particulière.

L'utilisation de trois contrôles (normal, muté hétérozygote et homozygote) est nécessaire dans chaque série de détermination. Des contrôles commerciaux sont disponibles, mais il est possible d'utiliser la matrice de patients de génotype connu. Par ailleurs, Le NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control) a produit des lignées cellulaires immortalisées issues de patients porteur des trois génotypes (normal, hétérozygote et homozygote pour la mutation V Leiden). Ces lignées constituent une source stable d'ADN et le premier panel de référence pour le facteur V Leiden. Pour les homozygotes Leiden II, très peu nombreux, l'utilisation d'un amplifiât secondaire est possible. Les techniques actuelles sont fondées sur l'étude différentielle, dans un produit d'amplification entourant la mutation à rechercher, de la copie normale et de la copie mutée du gène. Les conditions de l'amplification doivent obéir aux recommandations générales pour les laboratoires de génétique médicale, avec les précautions nécessaires pour éviter les contaminations, l'utilisation de méthodes documentées, publiées et validées au sein du laboratoire réalisant les actes, l'utilisation de contrôles appropriés.

Toutes ces techniques, réalisées de façon rigoureuse en présence d'un blanc réactif et de contrôles tant positifs que négatifs, sont parfaitement sensibles et spécifiques. Du fait de l'importance d'établir un diagnostic fiable à 100 %, il serait souhaitable de réaliser soit deux déterminations indépendantes par la même méthode soit deux déterminations par des méthodes différentes pour vérifier l'absence d'erreur de prélèvement et de manipulation. Cette attitude n'est cependant pas généralisée en pratique.

Les différentes technologies mises en œuvre pour réaliser la détection de la mutation à proprement parler sont trop nombreuses et variées pour être décrites dans cette revue de façon exhaustive et détaillée. Nous privilégierons plutôt la présentation didactique de certaines d'entre elles.

Deux grandes familles dominent actuellement le marché : les méthodes nécessitant une étape de séparation sur gel d'électrophorèse (les premières à avoir été utilisées en 1994 lors de la découverte de la mutation V Leiden) et les techniques en temps réel. De nombreuses autres techniques nécessitant souvent des appareillages spécifiques, peuvent apporter des solutions élégantes aux laboratoires capables de rentabiliser les investissements qu'elles supposent par un débit d'analyse suffisant.

Le tableau XI rassemble des données d'études collaboratives ou de contrôles de qualité externes publiées récemment par des auteurs issus de différentes régions du globe. Elle illustre la part grandissante prise par les techniques en temps réel aux dépens des techniques de type RFLP, ainsi qu'un taux d'erreur diagnostic stable autour de 1 %.

Les erreurs surviennent plus souvent par interversion d'échantillons et erreurs de transcription que par erreurs analytiques [18].

Tableau XI: Répartition des techniques utilisées pour la recherche de la mutation V Leiden relevée dans le cadre d'études collaborative ou de contrôle de qualité.

Référence	Gray et al., 2006 (36)	Hertzberg et al., 2006 (37)		DGKL*, 2007 (38)
Pays organisateur	Royaume-Uni	Australie		Allemagne
Année d'étude	2005	2000	2005	2007
PCR temps réel	42	7	66	42
RFLP	17	69	21	17
ASO	15	14	7	15
OLA	0	3	0	0
ARMS + miniséq	9	0	6	9
Taux d'erreur	0,7 %	1 %		1,54 %

*Société allemande de chimie clinique et de médecine de laboratoire, Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin.V [18].

Tableau XII: Validité analytique des tests pour la mutation FVL

Experimental test	Reference standard	Studies	Total population ^a	Concordance
Flap Endonuclease + FRET (Invader Assay)	AS-PCR or PCR-RFLP	Hessner, 2000 [13] Ledford, 2000 [14] Patnaik, 2004 [37]	1369 + 371 + 368	99.5 – 100%
FRET + Melting Curve Analysis (Light Cycler)	PCR or PCR-RFLP	Schroell-Metzger, 2003 [38] Mammo, 2006 [39] Cooper, 2003 [40]	132 + 2131 + 200 + 110 + 155	100%
Taqman Real-Time PCR Assay	PCR-RFLP	Nauck, 2000 [15] Parks, 2001 [18] Louis, 2004 [32] Benson, 2001 [17] Behrens, 2004 [41]	115 + 100 + 100	100%
Electrochemical Genosensors	PCR-RFLP	Ozkan, 2002 [35] Ozsoz, 2003 [42] Huang, 2002 [43]	90 + 90 + NR	93 – 100%
Temperature Gradient Capillary Electrophoresis	PCR-RFLP	Murphy, 2003 [31]	304	99.3%
MALDI-TOF Mass Spectrometry	PCR-RFLP	Hung, 2002 [20] Humeny, 2001 [25]	27 + 70	100%
PCR-Single Strand Conformation Polymorphism	PCR-RFLP	Simundic, 2003 [44]	150	100%
Simultaneous Allele-Specific Amplification Followed by RFLP	PCR-RFLP	DelRio-LaFreniere, 2001 [34]	49	100%
Fluorogenic Probe-Based Allelic Discrimination PCR Assay	PCR-RFLP	Sanders, 2000 [45]	120	100%
Melting Analysis of Labeled Probes System	PCR-RFLP or Conventional Dual-Hybridization Probe Genotyping	El Housni, 2003 [46] (dual-labeled probes); Vaughn, 2004 [47] Crockett, 2001 [48] (single-labeled fluorophore-based systems)	100 + 100 + 100	100%
Lanthanide-Labeled Probe	PCR-RFLP	Potter, 2001 [19]	379	99–100%
Rolling Circle Amplification Assay Using Open Circle Probes	PCR-RFLP	Alsmadi, 2003 [49]	216	99.4%
High-Resolution Melting Analysis of Small Amplicon	Light Cycler	Liew, 2004 [50]	104	100%
Pyro-sequencing	LightCycler or Direct Sequencing	Verri, 2005 [51]	100	100%
READIT SYSTEM (Pyrophosphorylation)	PCR-RFLP or Not Specified	Tsongalis, 2001 [52] Rhodes, 2001 [29]	280 + 510	99–100%
ELISA	Direct Sequencing or PCR-RFLP	Lopez, 2007 [36] Carmi, 2004 [53]	264 + 284	95–100%
Reverse Allele-Specific Oligonucleotide (ASO) Hybridization Assay	PCR-RFLP	Kowalski, 2000 [28] Leyte, 2000 [54]	256 + 99	100%
First Nucleotide Change Technology	PCR-RFLP	Pecheniuk, 2000 [16]	500	100%
Linked Linear Amplification—ASO Capture	PCR-RFLP & PCR-ASO	Reyes, 2001 [55]	111	100%
Nanochip Electronic Microarray	PCR-RFLP, Light Cycler, Invader Monoplex Assay	Schrijver, 2003 [56] Erali, 2003 [57] Evans, 2002 [58]	197 for the comparison to RFLP and 195 + 224 + 758 for the comparison to LightCycler	98–100%
Photo-Cross-Linking Oligonucleotide Hybridization Assay	PCR-Based Assay	French, 2004 [59]	1054	98.6%
Minor Groove-Binding Non-Fluorescent Quencher (MGB-NFQ) Probes	FRET + Melting Curve Analysis (LightCycler)	Castley, 2005 [60]	151	100%
Single- and Dual-Labeled HyBeacon Probes	RFLP or the Roche FVL Hybridization Probe Kit	French, 2008 [61]	> 500	100%

a L'ordre des comptes correspond à l'ordre des études dans la rangée ci-dessus.

ASO, oligonucléotide allèle-spécifique; AS-PCR, PCR allèle-spécifique; ADN, acide désoxyribonucléique; ELISA, dosage immuno-enzymatique; FRET, transfert d'énergie par résonance de fluorescence; FVL, facteur V Leiden; MALDI-TOF, désorption laser assistée par matrice / ionisation-temps de vol; MGB-NFQ, mineur nonfluorescent de liaison de gorge quencher; NA, non applicable; NR, non rapporté; PCR, amplification en chaîne par polymérase; READIT, test d'interrogation d'ADN sur l'activité enzymatique inversée; RFLP, fragment de restriction polymorphisme de longueur; SDS, système de détection de séquence; TGCE, électrophorèse capillaire à gradient de température; WT, type sauvage[58].

Tableau XIII: Validité analytique de la détection simultanée (multiplexe) des mutations du FVL et de la Prothrombine G20210A L'ordre des comptes correspond à l'ordre des études dans la rangée ci-dessus.

Experimental test	Reference standard	Studies	Total population ^a	Concordance
FRET + melting Curve Analysis (Light Cycler)	PCR-RFLP	van den Bergh, 2000 [65] Hobson-Peters, 2005 [66] Ameziane, 2003 [67]	47 + 43 + 200	100%
Mutagenically Separated PCR Followed by Gel Electrophoresis	PCR-RFLP	Endler, 2001 [26]	153	100%
Multiplex PCR-RFLP	PCR-RFLP or Light Cycler	Baris, 2004 [68] Angelina, 2005 [21] Huber, 2000 [69] Lucotte, 2003 [70] Koksai, 2007 [27]	408 + 72 + 205 + 175 + 104	100%
Multiplex PCR – Reverse Hybridization Line Probe Assay	PCR-RFLP	Leyte, 2000 [54]	99	100%
Multiplex AS-PCR - Ion-Pair Reversed Phase HPLC	PCR-RFLP	Nietzel, 2003 [71]	> 100	100%
Multiplex PCR with ASO Hybridization Using the 5' Nuclease Assay	PCR-RFLP	Ugozzoli, 2004 [72]	52	100%

ASO, oligonucléotide allèle-spécifique; AS-PCR, PCR allèle-spécifique; FRET, transfert d'énergie par résonance de fluorescence; HPLC, chromatographie liquide à haute performance (pression); NA, non applicable; PCR, amplification en chaîne par polymérase; RFLP, polymorphisme de longueur de fragment de restriction [58].

- En ce qui concerne les recherches des polymorphismes thrombogènes FV par technique de biologie moléculaire, le diagnostic étant établi pour la vie entière, il apparaît particulièrement important de prendre toutes les précautions pour éviter les faux diagnostics. Même s'il n'existe, à ce jour, aucune obligation légale et tout, au moins, lorsque le résultat d'une première recherche est positif, le contrôle sur un deuxième prélèvement nous paraît devoir être conseillé (accord professionnel) [14].

- Le Collège de Conférence de consensus des pathologistes américains sur le diagnostic des Problèmes de thrombophilie recommande que les patients doivent être testés pour FVL soit par le test de deuxième génération, de résistance APC modifié ou par des méthodes de détection directe de l'ADN. Le test de résistance à L'APC est rentable, détecte les causes de résistance à la CPA autres que FVL et aussi hautement précis que les tests d'ADN [35].

- Chez les pseudohomozygotes, les tests de résistance à l'APC en laboratoire sont les plus évocateurs de l'homozygotie, mais l'analyse de l'ADN montre le facteur V hétérozygote Leiden. En effet, les patients pseudohomozygous se comportent cliniquement plus comme les individus homozygotes [35].

IV. EVALUATION DES AUTRES THROMBOPHILIES :

Les individus hétérozygotes ou homozygotes du Facteur V Leiden doivent être testés pour d'autres troubles thrombophiliques afin d'évaluer le risque de thrombose. Le facteur V Leiden coexiste souvent avec d'autres troubles héréditaires et / ou acquis.

- Les tests doivent inclure les éléments suivants:
 - Test d'ADN pour la mutation de la prothrombine 20210GA.
 - Des tests sérologiques pour les anticorps anti- cardiolipides et les anticorps anti beta2glycoprotéine 1.
 - Tests de coagulation multiples dépendants des phospholipides pour un inhibiteur du lupus.

L'évaluation des personnes à haut risque (c.-à-d. Celles qui ont des antécédents de TEV récurrente, surtout à un jeune âge, ou celles qui ont de forts antécédents familiaux de TEV à un jeune âge) devrait également inclure les dosages suivants:

- Activité de la protéine C.
- Activité antithrombine.
- L'antigène Protéine S Libre ou l'activité Protéine S. Bien que la mesure de routine des niveaux de facteur VIII ne soit pas recommandée, les tests peuvent être utiles dans certains cas. Il n'est pas encore clair si les taux de facteur de coagulation devraient être inclus dans une évaluation de la thrombophilie. La mesure des taux d'homocystéine n'est plus systématiquement incluse, car l'abaissement des taux d'homocystéine avec une supplémentation en vitamines n'a pas démontré qu'il réduisait le risque de thrombose veineuse ou artérielle récidivante. Il n'y a pas non plus de justification clinique pour les tests ADN pour MTHFR polymorphismes [38].



Diagnostic différentiel



Le diagnostic différentiel de TEV comprend d'autres troubles thrombophiliques héréditaires et acquis. Parce que ces troubles ne sont pas cliniquement distinguables, des tests de laboratoire sont nécessaires pour le diagnostic dans chaque cas.

I. TROUBLES HEREDITAIRES :

1. LA PROTHROMBINE 20210G :

Une mutation dans la région 3 non traduite du gène codant pour la prothrombine est retrouvée chez 2% de la population générale, 6% des individus présentant une première ETV, et jusqu'à 18% des individus ayant une atteinte personnelle et antécédents familiaux de thrombose. La double hétérozygotie pour le facteur V Leiden et la mutation de la prothrombine 20210GA se produit dans environ 1 sur 1000 dans la population générale et 1-5% des individus atteints de TEV.

2. DEFICIENCES HEREDITAIRES OU DES ANOMALIES DES ANTICOAGULANTS NATURELS DES PROTEINES C, LA PROTEINE S, et de l'antithrombine :

Sont environ 10 fois moins fréquentes que le facteur V Leiden, avec une prévalence combinée de 1% de la population. Les carences en protéines anticoagulantes sont retrouvées chez 1 à 3% des individus ayant une première TEV.

3. DES TAUX ELEVES DE LIPOPROTEINE (A) :

Sont associés à une athérosclérose prématurée et peuvent également constituer un facteur de risque de thrombose veineuse.

4. DYSFIBRINOGENEMIE HEREDITAIRE :

Sont rares et provoquent rarement une thrombophilie et une thrombose.

5. UNE MUTATION PONCTUELLE SPECIFIQUE

DU GENE MTHFR (677C > T) :

Codant pour la méthylène-tétrahydrofolate réductase conduit à une variante de l'enzyme thermolabile à activité réduite pour la reméthylation de l'homocystéine. L'homozygotie pour la mutation 677CT se produit dans 10-20% de la population générale et prédispose à une hyperhomocystéinémie légère, habituellement dans le cadre de niveaux de folates sous-optimaux. Cependant, la mutation *MTHFR* 677CT n'est pas associée à un risque accru de TEV indépendant des taux plasmatiques d'homocystéine [38].

II. TROUBLES ACQUIS :

1. RESISTANCE A L'APC:

Bien que le facteur V Leiden représente 95% des cas de résistance à l'APC, 5% des cas surviennent en l'absence d'un allèle du facteur V Leiden. En fonction du test de dépistage utilisé, la résistance acquise aux APC peut être causée par des taux élevés de facteur VIII, la grossesse, l'utilisation de contraceptifs oraux ou la présence d'anticorps antiphospholipides. La résistance à l'APC en l'absence de Facteur V Leiden est également un facteur de risque de TEV. Dans de rares cas, d'autres anomalies génétiques peuvent produire un phénotype résistant à l'APC.

2. LES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES :

Comprennent un groupe hétérogène d'auto-anticorps dirigés contre les protéines liées aux phospholipides. Les critères de diagnostic du syndrome des anticorps antiphospholipides sont les suivants: antécédents d'artériopathie ou de TEV OU un ou plusieurs décès fœtaux inexpliqués (10 semaines de gestation) ou trois avortements spontanés inexpliqués ou plus; Et Anticorps anti-cardiolipides persistants OU anticorps anti- α 2- glycoprotéine 1 OU inhibiteur du lupus à au moins deux reprises à des intervalles de trois mois.

Les inhibiteurs persistants du lupus, les anticorps anti-cardiolipides IgG à titre élevé et les anticorps anti-glycoprotéine 1 anti-beta 2 sont les plus fortement associés à la TEV et artérielle.

3. UN TAUX ELEVE D'HOMOCYSTEINE :

Survient chez 10% des personnes atteintes d'une première ETV et est associé à une augmentation de 2 à 3 fois du risque relatif. Le taux plasmatique d'homocystéine reflète des facteurs génétiques et environnementaux et est plus directement associé au risque thrombotique que le test génétique moléculaire du gène *MTHFR*.

4. NIVEAUX DE FACTEUR DE COAGULATION ELEVES:

Un taux élevé de facteur VIII 150% de la normale est associé à une augmentation de 4 à 5 fois du risque de TEV et augmente également le risque de récurrence. Des niveaux élevés de facteur IX et de facteur XI sont associés à un risque 2 fois plus élevé de TEV. Des taux élevés de facteur VIII et de facteur IX confèrent un risque multiplié par 8 de TEV. Les niveaux élevés de prothrombine niveau de 110-115% de la normale est associée à un risque accru de 2 fois pour la TEV en l'absence de prothrombine 20210GA hétérozygotie.

5. AUTRES :

Bien que d'autres protéines de la coagulation ou fibrinolytiques, y compris PAI-1, inhibiteur de la voie tissulaire, inhibiteur de la fibrinolyse activable par la thrombine et Protéine Z, aient été rapportées chez des patients atteints de thrombose veineuse, aucune association causale n'a été établie [38].



Attitude thérapeutique



I. BUT :

- La prévention d'un accident thromboembolique ;
- le traitement d'un événement constitué (TVP et/ou EP) [59].

II. PRINCIPALES MOYENS THERAPEUTIQUES :

1. LES HÉPARINES ET LE PENTASACCHARIDE :

Les héparines (héparines de bas poids moléculaire, héparine non fractionnée) et le pentasaccharide ont une action anticoagulante indirecte en accélérant par 1000 la vitesse d'inactivation des enzymes de la coagulation par l'AT. Elles se fixent à l'AT par une structure de 5 sucres (pentasaccharide) et modifient sa conformation. Une chaîne d'héparine de plus de 18 monosaccharides possède des activités anti-IIa et anti-Xa comparables via l'AT, alors qu'une chaîne plus courte a une activité anti-Xa préférentielle (figure 35) [60].

a. L'héparine non fractionnée (HNF) :

Est un polysaccharide sulfaté naturel extrait de l'intestin de porc. C'est un mélange de molécules de poids moléculaire variable (4000 à 30000 Da). L'HNF est clivée par une héparinase hépatique et éliminée en partie par les reins, ce qui explique le risque de surdosage en cas d'insuffisance hépatique et rénale sévère (moindre que dans le cas des HBPM). Elle est administrée par voie intraveineuse ou sous-cutanée. Sa $\frac{1}{2}$ vie est de 90 minutes environ en IV. L'HNF a des activités anti-IIa et anti-Xa équivalentes et allonge le TCA [60].

Tableau XIV:HNF indications et posologies dans la prévention et/ou le traitement de la MTEV en médecine (données issues des RCP et des RBP) [61].

HNF	Héparine calcique	<i>Prévention des accidents thrombo-emboliques veineux chez les patients alités, présentant une affection médicale aiguë.</i>	<i>La posologie habituelle est de 5 000 UI toutes les 12 heures par voie SC.</i>
		Traitement curatif des TVP constituées et de l'EP, à la phase aiguë.	La dose initiale est de 500 UI/ kg par 24 heures par voie SC, répartie en 2 ou 3 injections par jour, en fonction du volume à injecter. La dose sera ensuite adaptée en fonction du TCA.
	Héparine sodique	Traitement curatif des TVP constituées et de l'EP, à la phase aiguë.	La dose initiale est de 20 UI/ kg /heure par voie IV. La dose sera ensuite adaptée en fonction du TCA

b. Les héparines de bas poids moléculaire (HBPM) :

Sont obtenues par fragmentation de l'HNF. Elles se lient moins que l'HNF aux protéines plasmatiques d'où une moindre variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique (1 à 2 injections sous-cutanées par jour, sans surveillance biologique sauf cas particulier,). Leur $\frac{1}{2}$ vie est environ deux fois plus longue que celle de l'HNF (2-4h). Elles sont éliminées presque exclusivement par voie rénale, ce qui explique le risque de surdosage en cas d'insuffisance rénale [60].

Tableau XV: Indications et posologies dans la prévention et/ou le traitement de la MTEV en médecine (données issues des RCP et des RBP) [61].

HBPM	Enoxaparine	Traitement prophylactique des TVP chez les patients alités pour une affection médicale aiguë.	4 000 UI anti-Xa/0,4 mL, à raison d'une injection par voie SC par jour.
		Traitement curatif des TVP constituées, avec ou sans EP sans signe de gravité clinique.	2 injections par jour espacées de 12 heures. La dose par injection est de 100 UI anti-Xa/kg par voie SC.
		Cancérologie: relais du traitement initial de la TVP proximale et de l'EP.	150 UI/kg par voie SC, une fois par jour.
	Daltéparine	Traitement prophylactique des TVP chez les patients alités pour une affection médicale aiguë.	5 000 U.I. anti-Xa/0,2 mL, à raison d'une injection par voie SC par jour.
		Traitement curatif des TVP constituées.	2 injections par voie SC par jour, espacées de 12 heures. La dose par injection est de 100 UI anti-Xa/kg.
		Cancérologie: relais du traitement initial de la TVP proximale et de l'EP.	200 UI/kg par voie SC, une fois par jour pendant 1 mois puis 150 UI/kg une fois par jour.
	Tinzaparine	Traitement curatif des TVP constituées et des EP sans signes de gravité.	1 injection SC par jour. La dose par injection est de 175 UI anti-Xa/kg.
		Cancérologie: relais du traitement initial de la TVP proximale et de l'EP.	175 UI/kg par voie SC, une fois par jour.
	Nadroparine	Traitement curatif des TVP constituées.	Fraxiparine®: 2 injections par voie SC par jour par jour espacées de 12 heures; la dose par injection est de 85 UI anti-Xa/kg. Fraxodi®: 1 injection de 171 UI anti-Xa/kg par jour.

c. Le fondaparinux (pentasaccharide) :

Est une molécule de synthèse constituée de l'enchaînement des 5 sucres nécessaires à la liaison de l'héparine à l'AT. Il inhibe sélectivement le facteur Xa. Le pic de concentration plasmatique (C_{max}) est atteint 2 à 3 heures après 1 injection unique sous-cutanée. L'élimination est rénale. Chez l'insuffisant rénal, le sujet âgé et les patients < 50 kg, la ½ vie d'élimination est plus longue [60].

Tableau XVI: anti thrombotiques indications et posologies dans la prévention et/ou le traitement de la MTEV en médecine (données issues des RCP et des RBP)[61].

Anti-thrombotique	Fondaparinux	Prévention des évènements thrombo-emboliques veineux chez le patient, jugé à haut risque d'évènements thrombo-emboliques veineux, alité pour une affection médicale aiguë	La posologie recommandée est de 2,5 mg, une fois par jour, administrée par injection SC.
		Traitement curatif des TVP aiguës et des EP aiguës.	La posologie recommandée est de 7,5 mg, une fois par jour, administrée par injection SC.

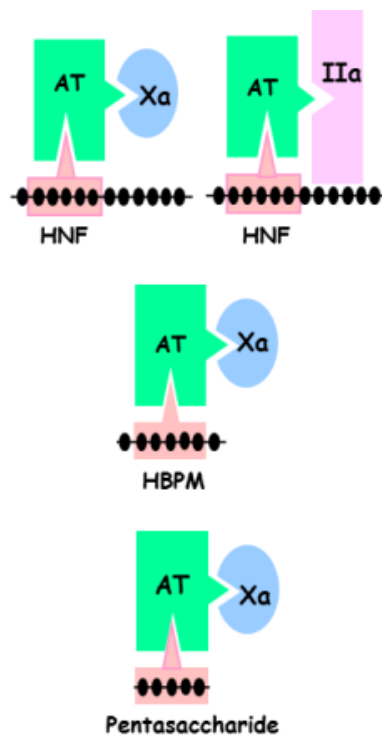


Figure 35:Représentation schématique du mode d'action des HNF, HBPM et pentasaccharide [60].

2. LES ANTIVITAMINES K (AVK) :

Les facteurs vitamine (vit) K-dépendants (FII, VII, X, IX, PC et PS) deviennent actifs dans le foie grâce à l'activité d'une carboxylase, qui, en carboxylant leurs acides glutamiques, les rend actifs sur la coagulation. Cette enzyme a pour cofacteur le vit K réduite. Les AVK empêchent la réduction du vit K. On distingue deux sous-classes d'AVK, les dérivés coumariniques (warfarine=Coumadine®, acénocoumarol=Sintrom®) et les dérivés de l'indanedione (fluindione= Previscan®). Cette distinction n'a d'intérêt en pratique clinique qu'en cas d'allergie ou de résistance à une classe. Sur le plan pharmacocinétique, on distingue les AVK à $\frac{1}{2}$ vie courte, inférieure à 24h (acénocoumarol), et les AVK à $\frac{1}{2}$ vie longue, supérieure à 24 h (warfarine et fluindione). Tous les AVK se prescrivent en une prise quotidienne, les AVK à $\frac{1}{2}$ vie longue permettent d'obtenir un effet anticoagulant plus stable (tableau XVII). Les AVK sont métabolisés par le foie via le cytochrome P450 (CYP2C9). Il existe un déterminisme génétique de la résistance ou de l'hypersensibilité aux AVK, lié à des polymorphismes de ce cytochrome [60].

Tableau XVII: Principales caractéristiques des AVK [60].

AVK ½ vie courte	
Molécule DCI (ND)	Acénocoumarol (Sintrom® Mini-Sintrom®)
Dosage	cp 4 mg cp 1 mg
½ vie élimination	8 h
Délai d'action	18-24h
Dose initiale	4 mg
Posologie moyenne	4-8 mg/j
Durée d'action	48-96 h

AVK ½ vie longue		
Molécule DCI (ND)	Fluindione (Préviscan®)	Warfarine (Coumadine®)
Dosage	cp 20 mg	cp 2 et 5 mg
½ vie élimination	31 h	35 à 45 h
Délai d'action	24-48h	36h
Dose initiale	20 mg	5 mg
Posologie moyenne	20-40 mg/j	4-10 mg/j
Durée d'action	48-72 h	96-120 h

Tableau XVIII:AVK indications et posologies dans la prévention et/ou le traitement de la MTEV en médecine (données issues des RCP et des RBP) [61].

	DCI	INDICATIONS (seules les indications entrant dans le cadre des RBP sont présentées)	POSOLOGIES (pour la rubrique complète, se référer au VIDAL)
AVK	Acénocoumarol Warfarine Fluindione	Traitement des Thromboses Veineuses Profondes (TVP) et de l'Embolie Pulmonaire (EP) et prévention de leurs récurrences, en relais de l'héparine.	En raison d'une importante variabilité interindividuelle, la posologie d'AVK par voie orale est strictement individuelle. Elle est à adapter en fonction de l'INR.

3. LES ANTICOAGULANTS ORAUX DIRECTS (AOD) : APIXABAN, EDOXABAN, RIVAROXABAN ET DABIGATRAN :

La warfarine a été le seul anticoagulant administré par voie orale et donc le pilier de la prise en charge ambulatoire des patients ayant des états hypercoagulables. Bien qu'efficace, la warfarine a de multiples interactions avec les médicaments et la nourriture, ainsi qu'une pharmacogénétique variable qui nécessite une surveillance de routine. Les patients semblent ne passer qu'une fraction de temps dans la gamme thérapeutique, ce qui les expose à un risque de thrombose et de saignement. Récemment, de nouveaux anticoagulants oraux directs ont été introduits, notamment l'inhibiteur direct de la thrombine, le dabigatran, et les inhibiteurs directs du facteur Xa, le rivaroxaban et l'apixaban, qui ont une pharmacodynamique et une pharmacocinétique plus prévisibles que la warfarine. Ils sont également caractérisés par un début rapide d'activité anticoagulante et un dosage fixe avec des concentrations sanguines maximales 2 à 4 heures après l'ingestion. Notamment, aucun n'a actuellement d'antidote ou d'agent d'inversion spécifique.

Bien que la plupart des patients traités par DOAC ne nécessitent pas de surveillance, il existe certains scénarios cliniques dans lesquels la mesure des niveaux de médicament est nécessaire. Il s'agit d'épisodes hémorragiques, d'interventions chirurgicales invasives et de prise en charge périopératoire, d'utilisation concomitante de médicaments ayant des interactions DOAC connues, de surpoids, d'insuffisance rénale, de suspicion de surdose ou de non-observance et d'échec thérapeutique (thrombose). Pour les situations émergentes, en particulier si les antécédents médicamenteux ne sont pas connus, ou aux concentrations maximales de médicaments, un test qualitatif ou semi-quantitatif suffit souvent. Cependant, lorsqu'un ajustement de la dose est nécessaire (p. Ex., En cas d'échec du traitement, d'insuffisance rénale), un test quantitatif est requis.

Bien que les inhibiteurs du dabigatran et du facteur Xa influencent les TP et TCA de routine, les effets sont variables, le dabigatran exerçant une plus grande influence sur les inhibiteurs de l'ATP et du facteur Xa prolongeant la PT. De plus, le degré de prolongation dépend fortement du réactif utilisé pour le test. Ces tests largement disponibles peuvent être utilisés pour détecter les niveaux de médicaments de pointe ou supratherapeutiques, mais ne devraient pas être utilisés pour la quantification. Ils peuvent également sembler normaux pendant les niveaux bas ou creux de drogue. Chaque laboratoire doit être conscient de la manière dont se comportent ses réactifs spécifiques PT et aPTT en présence de ces médicaments. Ceci peut être réalisé en utilisant des calibrateurs disponibles dans le commerce.

En raison de son mécanisme d'action, le temps de thrombine (TT) est extrêmement sensible pour le dabigatran, et un TT normal exclut essentiellement la présence du médicament. L'effet sur TT est linéaire, mais pour un suivi proche de la plage thérapeutique, un dosage dilué est nécessaire. Le temps de coagulation d'ecarin ou les tests anti-IIa peuvent également être utilisés pour quantifier l'effet DTI; Cependant, ces tests ne sont pas largement disponibles [52].

Pour les inhibiteurs anti-Xa, le PT peut être utilisé comme test qualitatif; en outre, le réactif STA Neoplastin Plus (Diagnostica Stago, Asnières, France) pourrait être utilisé pour la mesure quantitative du rivaroxaban. Cependant, le PT est généralement moins sensible à l'apixaban que le rivaroxaban. Les tests anti-Xa, chromogéniques ou à base de caillot, sont largement disponibles car ils sont utilisés dans la surveillance de l'héparine et de médicaments analogues à l'héparine. Ces dosages peuvent être utilisés pour mesurer de manière quantitative et sensible les effets des inhibiteurs du facteur Xa. Bien que la variabilité interlaboratoire ait été signalée dans le passé, des calibrateurs disponibles dans le commerce sont maintenant disponibles pour faciliter la normalisation [52].

Tableau XIX: Principales caractéristiques des anticoagulants oraux directs [60]. □

❖ **Anti-Xa Apixaban (Eliquis®)**

Apixaban(Eliquis®)	
Origine	Synthèse chimique
Mécanisme d'action	Anti-Xa
Administration	Per os
Biodisponibilité	66%
Délai d'action	Court
Tmax	2 h
½ vie	8-15h
Métabolisme	Cytochrome 3A4, P Glycoprotéine
Non recommandé	Transaminases > 2N ou Bilirubine >1,5N
Elimination	27% rénale
Contre-indication	Clairance créatinine < 15mL/min
Association médicamenteuse contre-indiquée	kétoconazole, ciclosporine, itraconazole, tacrolimus
Association médicamenteuse prudente	diltiazem, naproxène, amiodarone, verapamil, quinidine
Antidote spécifique	Oui, non disponible**

❖ **Edoxaban (Lixiana®)**

Edoxaban (Lixiana®)	
Origine	Synthèse chimique
Mécanisme d'action	Anti-Xa
Administration	Per os
Biodisponibilité	62%
Délai d'action	Court
Tmax	1-2 h
½ vie	10-14h
Métabolisme	Cytochrome 3A4, P Glycoprotéine
Non recommandé	Transaminases > 2N ou Bilirubine >1,5N
Elimination	35% rénale
Contre-indication	Clairance créatinine < 15 mL/min
Association médicamenteuse contre-indiquée	kétoconazole, ciclosporine, itraconazole, tacrolimus
Association médicamenteuse prudente	Clarithromycine erythromycine amiodarone, dronedarone verapamil, quinidine
Antidote spécifique	Oui, non disponible**

❖ **Rivaroxaban (Xarelto®)**

Rivaroxaban (Xarelto®)	
Origine	Synthèse chimique
Mécanisme d'action	Anti-Xa
Administration	Per os
Biodisponibilité	80-100%
Délai d'action	Court
Tmax	2-4h
½ vie	7-13h
Métabolisme	Cytochrome 3A4, P Glycoprotéine
Non recommandé	Transaminases > 2N ou Bilirubine >1,5N
Elimination	66% rénale (33% inactif)
Contre-indication	Clairance créatinine < 15mL/min
Association médicamenteuse contre-indiquée	kétoconazole, ciclosporine, itraconazole, tacrolimus
Association médicamenteuse prudente	
Antidote spécifique	Oui, non disponible**

Un antidote non spécifique des anti-Xa, l'andexanet alpha est en cours de développement

❖ **Anti-IIa Dabigatran (Pradaxa®)**

Dabigatran (Pradaxa®)	
Origine	Synthèse chimique
Mécanisme d'action	Anti-IIa
Administration	Per os
Biodisponibilité	6,5%, stable Prodrogue : dabigatran étéxilate → □ dabigatran
Délai d'action	Court
½ vie	12-17h
Métabolisme	P Glycoprotéine
Non recommandé	Transaminases >2N ou Bilirubine > 1,5N
Elimination	80% rénale
Contre-indication	Clairance créatinine < 30mL/min
Association médicamenteuse contre-indiquée	kétoconazole, ciclosporine, itraconazole, tacrolimus
Association médicamenteuse prudente	amiodarone, quinidine, verapamil
Antidote spécifique	Oui*Hémodialyse

*Un antidote du dabigatran, idarucizumab (Praxbind®) est disponible au cas par cas dans le cadre du dispositif post-ATU dans l'attente de l'évaluation par la commission de transparence et son inscription sur la liste des médicaments agréés aux collectivités. Une étude de phase III est en cours, les premiers résultats ayant mis en évidence une efficacité de l'antidote associée néanmoins à une mortalité de 20% (Pollack CV et al 2015). D'autres données seront nécessaires pour confirmer la sécurité de ce produit.

• Les principales indications des AOD sont :

- la prévention des thromboses veineuses après prothèse totale de hanche (PTH) ou de genou (PTG)
- le traitement des thromboses veineuses profondes (TVP) et des embolies pulmonaires (EP), et la prévention de leur récurrence
- la prévention des complications thromboemboliques au cours de la fibrillation auriculaire (FA).
- Le syndrome coronaire aigu en complément du traitement usuel antiplaquettaire (rivaroxaban seulement)

Tableau XX: Indications des différents AOD dans le traitement ou la prévention de la maladie thromboembolique [62].

Indication	Rivaroxaban	Dabigatran éxétilate	Apixaban
Prévention des ETEV chez les patients bénéficiant d'une PTG ou PTH	10 mg x 1/J* Pendant 2 semaines (PTG) ou 3 semaines (PTH)	110 mg x 2/J* Pendant 10 jours (PTG) ou 28 à 35 jours (PTH)	2,5 mg x 2/J* Pendant 10 à 14 jours (PTG) ou 32 à 38 jours (PTH)
Traitement des TVP et prévention des récurrences (TVP et EP)	15 mg x 2/J* pendant 3 semaines puis, 20 mg x 1/J	150 mg x 2/J* après un traitement par un anticoagulant par voie parentérale pendant ≥ 5 jours	10 mg x 2/J* Pendant 7 jours (PTG) puis 5 mg x 2/J**
Prévention des AVC et embolies systémiques chez les patients atteints de FA non valvulaire	20 mg x 1/J*	150 mg x 2/J*	5 mg x 2/J*
Prévention des événements athérothrombotiques suite à SCA avec élévation des biomarqueurs cardiaques	2,5 mg x 2/J	-	-

ETEV : événement thromboembolique veineux ; PTG : prothèse totale de genou ; PTH : prothèse totale de hanche ; TVP : thrombose veineuse profonde ;

EP : embolie pulmonaire ; FA : fibrillation atriale ; AVC : accident vasculaire cérébral ; SCA : syndrome coronaire aigu. *Posologie à adapter chez le patient insuffisant rénal avec une clairance entre 49-30 mL/min. **La durée du traitement global sera personnalisée après évaluation rigoureuse du bénéfice du traitement par rapport au risque d'hémorragie [62].

III. INDICATIONS :

1. PRISE EN CHARGE DES EVENEMENTS THROMBOTIQUES PORTEURS SYMPTOMATIQUES:

a. Traitement initial :

Traitement initial de la TEV aiguë indépendamment du statut FVL se compose d'héparine non fractionnée ou l'héparine de faible poids moléculaire (LMWH), suivie par les antagonistes de la vitamine K selon les directives standard. Un rapport international normalisé cible (INR) de 2,5 (gamme thérapeutique 2,0-3,0) a été prouvé pour fournir une anticoagulation efficace, même chez les individus avec facteur V homozygote V .HBPM et la warfarine doivent être chevauchées pour au moins 5 jours et jusqu'à ce que l'INR se situe dans la plage thérapeutique sur deux mesures consécutives sur 2 jours [38]. De plus, plusieurs études ont montré que la réduction du risque au cours de la l'anticoagulation est similaire chez les individus avec et sans FVL. L'utilisation de l'un des nouveaux anticoagulants oraux directs pourrait être une option possible, en particulier chez les porteurs thrombophilie légère (FVL hétérozygote). Il vaut la peine de mentionner que le dabigatran et l'edoxaban nécessitent une administration parentérale initiale d'un traitement à l'héparine, tandis que l'apixaban et le rivaroxaban n'est pas nécessaire [35].

Il n'est pas nécessaire de modifier la prise en charge aiguë des événements thromboemboliques veineux (longueur ou force d'anticoagulation) chez les patients avec FVL [35].

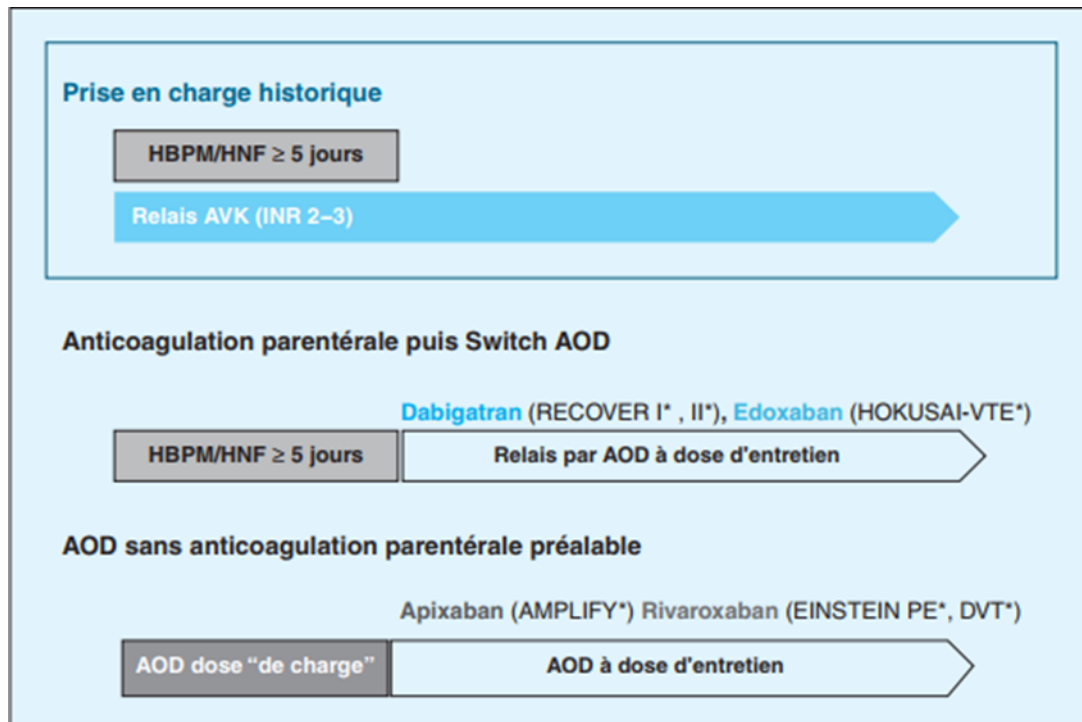


Figure 36: Différents types d'approche actuels dans la prise en charge thérapeutique de la maladie thromboembolique veineuse [62].

* Nom des études de phase III ayant permis l'obtention de l'AMM de ces molécules [62].

b. Prophylaxie secondaire :

Chez les porteurs de FVL, la durée du traitement anticoagulant oral doit être personnalisée en fonction du risque de TEV récurrence et des complications hémorragiques, indépendamment du statut de mutation^{34,-63}. En général, 3-6 mois d'anticoagulation orale est recommandé après un premier TEV chez les porteurs FVL, surtout si événement était associé à un facteur de risque transitoire (c.-à-d. grossesse / puerpéralité, hormonothérapie, immobilisation, traumatisme). Les patients avec un risque plus élevé de récurrence de TEV pourrait alors bénéficier d'une prolongation de la thérapie anticoagulante (c'est-à-dire, personne âgée et obèse, tumeur maligne active ou Parésie des extrémités, TEV idiopathique, anticorps antiphospholipides). Diagnostic de l'homozygotie pour FVL ou la présence de multiples défauts peuvent influencer la durée optimale du traitement anticoagulant et personnalisation rapide de la gestion des événements VTE [35].

c. Thrombose dans des sites inhabituels :

Patients avec une première thrombose dans des sites inhabituels devrait être testé pour le FVL et d'autres thrombophiles héréditaires. La durée standard du traitement anticoagulant pendant environ 6 à 12 mois chez les patients atteints de FVH hétérozygote est recommandée et l'anticoagulation à long terme peut être envisagée en présence de thrombophilie à haut risque (FVL homozygote, double hétérozygotie) [35].

d. Gestion du facteur V Leiden dans les cas particuliers :

❖ Grossesse et facteur V Leiden

Les femmes ayant une première ETV et FVL ne devraient pas être traitées différemment des patients sans FVL et, en général, le dépistage de la thrombophilie est d'une utilité limitée pour la prise en charge de la TEV.

En ce qui concerne la FVL chez les femmes enceintes asymptomatiques, la décision d'utiliser la prophylaxie de la thrombose pendant ou après la grossesse est basée sur l'estimation absolue du risque de développer une TEV liée à la grossesse.

Sur la base de ces estimations du risque, une prophylaxie de la thrombose à la fois antepartum et post-partum est suggérée chez les porteurs FVL homozygotes. Chez les porteurs FVL hétérozygotes la vigilance clinique antepartum et la prophylaxie post-partum sont suggérées en présence d'antécédents familiaux positifs; et vigilance clinique antepartum et post-partum en l'absence d'antécédents familiaux.

Enfin, il est important de mentionner que les femmes ayant subi une césarienne sont exposés à un risque accru de développement de la TEV. La thromboprophylaxie n'est pas recommandée par les lignes directrices de l'ACCP en l'absence de facteurs de risque. Cependant, chez les femmes subissant une césarienne section et portant un FVL homozygote ou hétérozygote, une prophylaxie est recommandée car ils présentent un risque absolu de TEV > 3%, similaire aux patients médicaux. Thromboprophylaxie devrait être poursuivi de préférence jusqu'à la sortie de l'hôpital jusqu'à 6 semaines [35].

Donc la thromboprophylaxie post-partum avec ou sans prophylaxie antépartum devrait être envisagée chez les femmes FVL avec une histoire de VTE et sans histoire de VTE qui ont des facteurs de risque multiples tels que des antécédents familiaux positifs ou accouchement par césarienne ou d'autres situations à risque concomitantes [35].

❖ La morbidité de grossesse et le facteur V Leiden :

La présence de FVL est associée à des complications de la grossesse. Les preuves actuelles indiquent qu'il n'y a pas des preuves claires des avantages du dépistage des complications de la grossesse chez les femmes et des recommandations déconseillent l'utilisation de thromboprophylaxie. La prophylaxie antithrombotique peut être examinée chez des femmes sélectionnées ayant un FVL et une perte de grossesse récidivante ou tardive inexplicée après une discussion éclairée des risques et des données limitées suggérant des avantages. Évaluation du risque thrombotique maternel durant la grossesse devrait être prise en compte dans la décision concernant la prophylaxie. Inversement, il y a actuellement aucune preuve que la thérapie antithrombotique réduit le risque de prééclampsie ou d'autres complications de la grossesse chez les femmes avec thrombophilie incluant FVL [35].

❖ Contraceptifs oraux et facteur V Leiden :

Chez les porteurs de mutation FVL, PTOM combinée devrait être administré avec prudence, en particulier chez les femmes avec d'autres facteurs de risque concomitants de TEV. Les formulations de Faible et moyenne dose à base de progestatif seul semblent être l'alternative la moins thrombogène chez les femmes atteintes de thrombophilie. Un conseil détaillé sur toutes les options contraceptives et les risques de TEV associés plaide pour permettre aux femmes de faire un choix éclairé [35].

L'identification des porteurs avant la décision sur le choix de la contraception hormonale peut être envisagée chez les proches des patients thrombophile connue [35].

❖ **Pédiatrie et facteur V Leiden :**

Le FVL augmente le risque de TEV chez les enfants, en particulier en présence de facteurs de risque de thrombose multiples concomitants. Dans la pratique quotidienne, la présence de FVL ne modifie pas les stratégies de traitement ou de thromboprophylaxie des patients.

Ainsi, les tests de laboratoire ne sont pas conseillés systématiquement chez les enfants avec VTE mais peut être utile dans certains cas pour mieux définir l'étiologie des événements [35].

❖ **Cancer et facteur V Leiden :**

FVL pourrait augmenter le risque de TEV chez les patients atteints de cancer. À l'heure actuelle, il n'y a aucune indication pour le dépistage des patients atteints de cancer pour la présence de thrombophilie. Des études sur la thromboprophylaxie chez les patients cancéreux avec ou sans thrombophilie sont en cours. La prophylaxie primaire de la TEV chez les patients atteints de cancer avec thrombophilie héréditaire n'a pas encore été testée en phase III études. Enfin, la prophylaxie pour les patients atteints de cancer avec CVC n'est pas actuellement recommandée [35].

❖ **Anticoagulants oraux directs et facteur V Leiden :**

DOACs peut éventuellement être une option valable pour le traitement de VTE chez les porteurs de FVL hétérozygotes. Cependant, la prudence est recommandée jusqu'à ce que des preuves supplémentaires deviennent disponibles, en particulier dans la thrombophilie plus grave ou combinée [35].

2. PRISE EN CHARGE DES PORTEURS ASYMPTOMATIQUES DU FVL :

Chez les porteurs de FVL asymptomatiques, une prophylaxie anti thrombotique standard en situation de risque (chirurgie, immobilisation, traumatisme) doit être recommandée. D'autres facteurs de risque coexistant susceptibles d'influencer principalement la durée de la prophylaxie anti thrombotique doivent être pris en compte (âge, antécédents familiaux, surpoids et obésité, immobilisation prolongée) [35].

3. GESTION DES MEMBRES DE LA FAMILLE ASYMPTOMATIQUES :

Le dépistage des membres de la famille des probants avec FVL devrait être effectué sur une base individuelle, considérant que l'âge et la genèse non provoquée de l'événement dans le probant prédisent déjà un phénotype prothrombotique chez les parents. Le dépistage peut être bénéfique chez les femmes qui envisagent une contraception orale ou une grossesse, ou dans des familles ayant de forts antécédents de TEV (récidivante) particulièrement à un jeune âge où un dépistage complet de la thrombophilie doit être effectué pour exclure plusieurs anomalies [35].



Conclusion



La résistance à la protéine c activée est définie par une activité anticoagulante anormalement faible de la PCa sur les temps de la coagulation, souvent associée à une mutation au niveau du gène du facteur v de la coagulation (facteur v Leiden), il s'agit d'une mutation faux sens du nucléotide 1691 transformant le codant CGA codant pour l'arginine 506 en CAA codant pour une glutamine.

Le facteur V Leiden est actuellement la cause la plus connue de thrombophilie constitutionnelle, sa présence est associée à une augmentation du risque de thrombose veineuse d'un facteur 7 à l'état hétérozygote, et d'un facteur 80 à l'état homozygote

La recherche de cette anomalie génétique fait partie du bilan de thrombophilie) et vise à identifier les personnes ayant un risque accru de thrombose et d'instituer ou d'adapter un traitement anticoagulant préventif ou curatif afin de diminuer la morbidité et la mortalité liées à ces thromboses.

Le diagnostic biologique de la résistance à la protéine c activée peut se faire selon 2 modalités : une technique fonctionnelle qui est souvent utilisé en test de dépistage, mais elle ne permet pas d'affirmer la présence d'une anomalie génétique ni le statut d'hétérozygotie ou d'homozygotie. De plus, il ne faut pas oublier que ces tests plasmatiques peuvent, de par leur principe même, être soumis à des interférences, et des techniques de biologie moléculaire qui affirme le diagnostic.

Pour la prise en charge la warfarine a été le seul anticoagulant administré par voie orale et donc le pilier de la prise en charge ambulatoire des patients ayant des états hypercoagulables. Récemment, de nouveaux anticoagulants oraux directs ont été introduits, notamment l'inhibiteur direct de la thrombine, le dabigatran, et les inhibiteurs directs du facteur Xa, le rivaroxaban et l'apixaban, utilisés principalement chez les porteurs de thrombophilie légère FVL hétérozygote.

La durée de la thérapie anticoagulante par voie orale doit être personnalisée en fonction du risque de récurrence de TEV et de complication hémorragique indépendamment du statut de la mutation.



Résumés



RESUME

Titre : Résistance à la protéine c activée.

Rapporteur : Pr. A. Masrar.

Auteur : Sanae Azitoune.

Mots clés : résistance à la protéine C activée, facteur V Leiden, thrombophilie.

La résistance à la protéine C activée est définie par une activité anticoagulante anormalement faible de la protéine C activée, causée le plus souvent par une mutation ponctuelle du facteur V nommée le facteur V Leiden, induisant le remplacement de l'arginine normalement présente en position 506 de la protéine par une glutamine.

Le facteur V Leiden constitue le facteur de risque le plus fréquent de thrombophilie constitutionnelle retrouvé chez les patients présentant une thrombose veineuse et peut être associé à d'autres facteurs de risques majorant le risque de thrombose.

La recherche de cette mutation fait partie du bilan de thrombophilie et se fait par deux méthodes : un test plasmatique de dépistage de la résistance à la protéine c activée facile à réaliser mais qui ne permet pas d'affirmer la présence de l'anomalie moléculaire ni de déterminer le statut génétique, et un test de confirmation de la mutation par la biologie moléculaire.

La prise en charge des événements thrombotiques n'est pas modifier chez les porteur facteur V Leiden et la durée du traitement anticoagulant doit être personnalisée en fonction du risque de récurrence et des complications hémorragiques indépendamment du statut génétique de la mutation.

SUMMARY

Title : Resistance to activated protein c.

Director : Pr. A. Masrar.

Author : Sanae Azitoune.

Keywords : resistance to activated protein C, factor V Leiden, thrombophilia.

Resistance to the activated protein C is defined by an abnormally low anticoagulant activity of activated protein C, caused mostly by a point mutation in the factor V named the factor V Leiden, which induces the replacement of arginine normally present at position 506 of the protein by glutamine.

Factor V Leiden is the most common risk factor for Thrombophilia constitutional found in patients with venous thrombosis and can be associated with other risk factors that increase the risk of thrombosis.

The search for this mutation is part of the thrombophilia assessment and is done by two methods : a plasma test for resistance at the activated protein C easily realized but that does not allow to affirm the presence of the anomaly or to determine molecular genetic status and a mutation confirmatory test by molecular biology.

The management of thrombotic events is not modified in the carrier factor V Leiden and the duration of anticoagulant therapy should be personalized according to the risk of recurrence and hemorrhagic complication regardless of the genetic status of the mutation.

ملخص

العنوان: مقاومة البروتين المنشط س

المقرر: البروفيسور عز العرب مسرار

المؤلف: سناء ازتون

الكلمات الدالة: مقاومة البروتين المنشط س, العامل V ليدين, الخثار.

يتم تعريف مقاومة البروتين المنشط س بواسطة النشاط المضاد للتخثر المنخفض الغير طبيعي للبروتين س, والذي يحدث غالبا بسبب طفرة نقطية في العامل V, تسمى: العامل V ليدين, التي تحفز على استبدال الأرجونين , الموجود عادة في الموضع 506 من البروتين, إلى الغلوتامين.

العامل V ليدين هو عامل الخطر الأكثر ترددا للتخثر البنيوي الموجود عند المرضى اللذين يعانون من تجلط الدم الوريدي , وقد يترافق مع عوامل الخطر الأخرى التي تزيد من خطر الإصابة بالخثار.

ان البحث عن هذه الطفرة هو جزء من اختبارات تقييم التخثر ويتم بطريقتين: اختبار البلازما للكشف عن المقاومة للبروتين المنشط س سهل التنفيذ لكن لا يؤكد وجود الشذوذ الجزيئي ولا يحدد الوضع الوراثي , واختبار تأكيد الطفرة بواسطة البيولوجيا الجزيئية.

التعامل مع الأحداث الختارية لا يكون مختلفا عند حاملي العامل ليدين, ويجب تحديد مدة العلاج بمضاد التخثر وفقا لخطر التكرار والمضاعفات النزفية, بغض النظر عن الوضع الوراثي للطفرة.



Bibliographie



- [1] **Hizem S, Magdoud K, Mahjoub T.** La résistance à la protéine C activée est-elle toujours associée à une mutation Leiden du facteur V au cours des thromboses veineuses profondes ? .Immuno-analyse et biologie spécialisée 2008; 23:389—393
- [2] **trossaert M, Conard J., Horello u M.-H, Elalamy I et Samama M.-M.** Diagnostic biologique de la résistance à la protéine C activée. *Revue française des laboratoires* 1995; N°279:19-23.
- [3] **Castoldi E and Rosing J.** APC resistance: biological basis and acquired influences. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2010;8: 445–453.
- [4] **Alhenc-Gelas M, Aillaud M, Delahousse B, Freyburger G, Le Querrec A et Reber G.** La recherche des facteurs biologiques de risque établis de maladie thromboembolique veineuse : état des connaissances et conséquences pour la pratique en biologie clinique. *Sang Thrombose Vaisseaux* 2009;21: 12-39.
- [5] **Pernod G, Alhenc-Gelas M, Morange P.** thrombophilie génétique. la maladie thrombo-embolique veineuse 2015; chapitre 21:pages189-200
- [6] **Kandice Kottke-Marchant and Philip Comp.** Laboratory Issues in Diagnosing Abnormalities of Protein C, Thrombomodulin, and Endothelial Cell Protein C Receptor. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*: November 2002; Vol. 126(No 11):1337-1348.
- [7] **Greenberg DL, Davie EW.** Blood coagulation factors: their complementary DNAs, genes, and expression. *Hemost Thromb Basic Princ Clin Pract* . 4th Ed Phila PA Lippincott Williams Wilkins 2001; 21–57
- [8] **Dahlbäck B, Villoutreix BO.** Regulation of Blood Coagulation by the Protein C Anticoagulant Pathway Novel Insights Into Structure-Function Relationships and Molecular Recognition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005a; 25:1311–1320.
- [9] **Griffin J.H.,Fernández J.A.,Gale A.J and.Mosnier L.O.** Activated protein C. *J. Thromb. Haemost* 2007; 5 (Suppl 1): 73–80.

- [10] **Christopher J, Jackson, Meilang Xue.** Activated protein C—An anticoagulant that does more than stop clots. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 40 2008; 2692–2697
- [11] **Sophie Gandrille.** Protéine C activée : de la relation structure/activité à la conception de molécules à propriétés thérapeutiques ciblées. *Hématologie* 2012; 18(2):96-108
- [12] **Vincenot A, Gaussem P.** Physiologie et régulation cellulaire du système de la protéine C. *Annales de Biologie Clinique* 1997; Vol 55:17-24.
- [13] **Fabian Stavenuiter, Eveline AM Bouwens et Laurent O. Mosnier.** La régulation à la baisse de la cascade de la coagulation par la voie de la protéine C. *Hématol Educ.*2013; 7 (1): 365-374.
- [14] **Martine Alhenc-Gelas, Marie-Françoise Aillaud, Bénédicte Delahousse, Geneviève Freyburger, Agnès Le Querrec, Guido Reber.** La recherche des facteurs biologiques de risque établis de maladie thromboembolique veineuse : état des connaissances et conséquences pour la pratique en biologie clinique. Chapitre II Sang Thrombose Vaisseaux 2009; 21, n° spécial : 12-39
- [15] **Henneuse A, Frere C.** Polymorphismes génétiques du facteur V et risque thrombotique. *EMC - Biologie médicale* 2016; Volume 11(n°4)
- [16] **Martine Aiach.** Facteur V et risque thrombotique. *Hématologie* 1995; Volume 1(numéro 1)
- [17] **Gerry A.F, Nicolaes Ph.D, and Björn Dahlbäck M.D, Ph.D.** Congenital and Acquired Activated Protein C Resistance. *Seminars in vascular medicine* 2003; volume 3(number 1)
- [18] **Geneviève freyburger, sylvie labrousche.** Facteur V Leiden (VL) et Résistance à la Protéine C activée (PCA), Facteur II Leiden (G20210 G>A), aspects physiopathologiques et stratégies diagnostiques. *Spectra biologie* 2007; n° 162:p60-74

- [19] **Fukudome K, Ye X, Tsuneyoshi N, Tokunaga O, Sugawara K, Mizokami H, and Kimoto M. (1998).** Activation mechanism of anticoagulant protein C in large blood vessels involving the endothelial cell protein C receptor. *J. Exp. Med* 1998; 187(7):1029–1035.
- [20] **Ikezoe T.** Thrombomodulin/activated protein C system in septic disseminated intravascular coagulation. *J Intensive Care* 2015; 3(1):1
- [21] **Martinelli I, De Stefano V et Mannucci PM.** Inherited risk factors for venous thromboembolism. *Nature Reviews Cardiology* 2014; 11: 140–156.
- [22] **Taylor F.B., Stearns-Kurosawa D.J., Kurosawa, S., Ferrell G, Chang A.C, Laszik Z, Kosanke S, Peer G, and Esmon C.T.** The endothelial cell protein C receptor aids in host defense against *Escherichia coli* sepsis. *Blood* 2000; 95(5):1680–1686.
- [23] **Bernard G.R, Vincent J.L, Laterre P.F, LaRosa S.P, Dhainaut J.F,** Lopez-Rodriguez A, Steingrub J.S, Garber G.E, Helterbrand J.D, Ely E.W, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N. Engl. J. Med* 2001; 344(10): 699–709.
- [24] **Joyce D.E, Gelbert L, Ciaccia A, DeHoff B, and Grinnell B.W.** Gene expression profile of antithrombotic protein c defines new mechanisms modulating inflammation and apoptosis. *J. Biol. Chem* 2001; 276(14):11199–11203.
- [25] **Weiler, H.** Multiple receptor-mediated functions of activated protein C. *Hamostaseologie* 2011; 31:185–195.
- [26] **Okajima K.** Prevention of endothelial cell injury by activated protein C: the molecular mechanism(s) and therapeutic implications. *Curr Vasc Pharmacol* 2004; 2: 125–133.
- [27] **Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammollo C.T, Semeraro F, Taylor F.B, Esmon N.L, Lupu F, and Esmon C.T (2009).** Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat. Med* 2009; 15: 1318–1321.

- [28] **Cheng T, Liu D, Griffin J.H, Fernández J.A, Castellino F, Rosen E.D, Fukudome K, and Zlokovic B.V.** Activated protein C blocks p53-mediated apoptosis in ischemic human brain endothelium and is neuroprotective. *Nat. Med* 2003; 9: 338–342.
- [29] **Mehrez M, Jadaon.** Epidemiology of Activated Protein C Resistance and Factor V Leiden Mutation in the Mediterranean Region. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2011; 3 (1): e2011037.
- [30] **Heit JA.** Venous thromboembolism: disease burden, outcomes and risk factors. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005 ; 3(8): 1611–1617.
- [31] **Lowe GDO.** Facteurs de risque communs aux thromboses artérielles et veineuses. *Sang Thrombose Vaisseaux* 2009 ; 21 : 31-8.
- [32] **Guermazi S, Znazen R.** Résistance a` la protéine C activée et facteur V Leiden : intérêt clinique. *Pathologie Biologie* 2011 ; 59 : 281–285
- [33] **Amit Sharma, MSc1, Teena Bhakuni, MSc2, Arijit Biswas, PhD3, Ravi Ranjan, PhD1, Ravi Kumar, MSc1, Kamal Kishore, MSc1, Manoranjan Mahapatra, MD1, Mohamad Aman Jairajpuri, PhD2, and Renu Saxena, MD1.** Prevalence of Factor V Genetic Variants Associated With Indian APCR Contributing to Thrombotic Risk. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 2017; Vol. 23(6): 596-600
- [34] **Pezeshkpoor B, Castoldi E, Mahler A, et al.** Identification and functional characterization of a novel F5 mutation (Ala512Val, FVB onn) associated with activated protein C resistance. *J Thromb Haemost* 2016;14:1353–1363.
- [35] **Elena Campello, Luca Spiezia & Paolo Simioni.** Diagnosis and management of factor V Leiden. *Expert review of hematology* 2016
<http://dx.doi.org/10.1080/17474086.2016.1249364>
- [36] **Suchon P, Ibrahim M, Morange P.-E .** Anomalies constitutionnelles de la coagulation prédisposant à la thrombose veineuse. *EMC - Traité de Médecine Akos* 2017 ; Volume 12 (n°4)

- [37] **Jean Amiral, Anne Marie Vissac, Jerard Seghatchian.** Laboratory assessment of Activated Protein C Resistance/Factor V-Leiden and performance characteristics of a new quantitative assay/ Transfusion and Apheresis Science xxx (2017) xxx–xxx. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2017.11.021>
- [38] **Jody Lynn Kujovich, MD.** Factor V Leiden thrombophilia. Genetics IN Medicine 2011; Volume 13(Number 1)
- [39] **Coppens M, et al.** Testing for inherited thrombophilie does not reduce recurrence of venous thrombosis. J Thromb Haemost 2008; 6:1474-7.
- [40] **Wayne W. Grody, MD, PhD1, John H. Griffin, PhD2, Annette K. Taylor, MS, PhD3, Bruce R. Korf, MD, PhD4, and John A. Heit, MD5** (ACMG Factor V Leiden Working Group). American College of Medical Genetics Consensus Statement on Factor V Leiden Mutation Testing. ACMG statement 2001; Vol. 3 (No. 2)
- [41] **Pernod G, Biron-Andreani C, Morange P-E, Boehlen F, Constans J, Couturaud F, et al.** Recommendations on testing for thrombophilia in venous thromboembolic disease: a French consensus guideline. J Mal Vasc 2009;34:156–203
- [42] **Alhenc-Gelas M, Darnige L.** Thrombophilie : exploration biologique .EMC - Biologie médicale 1 2017; Volume 12 (n°1)
- [43] **Gris J.-C.** Étapes préanalytiques en hémostase. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Biologie Clinique 2011; 90-20-0033
- [44] **Shaikh S, Van Cott EM.** The effect of argatroban on activated protein C resistance. Am J Clin Pathol 2009; 131:828–833.
- [45] **Adcock DM, Gosselin R, Kitchen S, Dwyre DM.** The effect of dabigatran on select specialty coagulation assays. Am J Clin Pathol 2013; 139:102–109

- [46] **Hillarp A, Baghaei F, Fagerberg Blixter I, et al.** Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays. *J Thromb Haemost* 2011; 9:133–139.
- [47] **Rose-Marie Leblanc.** Le pré-analytique en hémostase et les recommandations du groupe d'études sur l'hémostase et la thrombose (GEHT). *OptionBio* 2009; n417
- [48] Recommandations de bonne pratique. Cryopréservation de tissus, cellules et liquides biologiques issus du soin 2009, www.has-sante.fr
- [49] **Elizabeth M. Van Cott, Bernard Khor, and James L. Zehnder.** Factor V Leiden. *American Journal of Hematology* 2016; Vol. 91 (No. 1)
- [50] **Elaine B. Spector, PhD¹⁻⁴, Wayne W. Grody, MD, PhD^{1-3,5}, Carla J. Matteson, PhD^{1,6}, Glenn E. Palomaki^{3,7}, Daniel B. Bellissimo, PhD^{2,3,8}, Dayna J. Wolff, PhD^{3,9}, Linda A. Bradley, PhD^{2,3,10}, Thomas W. Prior, PhD^{2,3,11}, Gerald Feldman, MD, PhD^{2,3,12}, Bradley W. Popovich, PhD^{2,3,13}, Michael S. Watson, PhD^{3,14}, and C. Sue Richards, PhD^{2,3,15}.** Technical standards and guidelines: Venous thromboembolism (Factor V Leiden and prothrombin 20210G>A testing): A disease-specific supplement to the standards and guidelines for clinical genetics laboratories. *Genetics IN Medicine* 2005; Vol. 7 (No. 6)
- [51] **Guerrero F, Arnaud C, Nguyen F, Boneu B, Sié P.** Comparison of three activated protein C resistance tests in the risk assessment of venous thrombosis in non-carriers of the factor V Leiden mutation. *Thromb Haemost* 2006 ; 95 : 728-734.
- [52] **Megan O. Nakashima et Heesun J. Rogers.** Etats hypercoagulables: approche algorithmique des tests de laboratoire et mise à jour de la surveillance des anticoagulants oraux directs. *Blood Research* 2014; 49 (2): 85-94.
- [53] <https://diapharma.com/product/hemostasis/chromogenix-coatest-apc-resistance/>
- [54] **Hemoclot Quanti FVL.** www.aniara.com

- [55] **Karl V. Voelkerding, MD,' Lambert WU, BS, 1 Elliot C. Williams, MD, P H D , 1 2 Suzanne M. Hoffman, MT,1 Linda M. Sabatini, P H D , 1 Wayne R. Borchering, MT,1 And Suzanne Huber, MS,1.** Factor V R506Q Gene Mutation Analysis by PCR-RFLP Optimization, Comparison with Functional Testing for Resistance to Activated Protein C, and Establishment of Cell Line Controls. *Coagulation and transfusion medicine* 1996; Vol. 106 (No. 1)
- [56] **Ibrahim Baris, Vedat Koksai, and Ozdal Etlik.** Multiplex PCR-RFLP Assay for Detection of Factor V Leiden and Prothrombin G20210A. *Genetic testing* 2004; Volume 8(Number 4).
- [57] **Céline Moty-Monnereau,** Service évaluation des actes professionnels .Test de résistance à la protéine C activée.Recherche de la mutation Facteur V Leiden. Recherche de la mutation g.20210G>A de la prothrombine. Haute Autorité de santé mt 2006 ; vol. 13(n° 2) doi : 10.1684/met.2006.0033
- [58] **Ashkan Emadi, Matthew T. Crim, Daniel J. Brotman, Alejandro J. Necochea, Lipika Samal,Lisa M. Wilson, Eric B. Bass, and Jodi B. Segal.** Analytic validity of genetic tests to identify factor V Leiden and prothrombin G20210A. *American Journal of Hematology* 2010; 85:264–270.
- [59] <http://www.stago.fr/l-hemostase/tests-clinique/thrombophilie/quels-sont-les-traitements-adaptes/>
- [60] **Bon usage** des antithrombotiques. Recommandations COMEDIMS AP-HP (Septembre 2016)
- [61] **Mismetti P (Président), Baud Jm, Becker F, Belmahdi F, Blanchard P, Constans J,Couturaud F, Debourdeau P, Drouet L, Dumarcet N, Ferrari E, Galanaud Jp, Girard P, Hay B, Laporte S, Laroche Jp, Leizorovicz A, Liard F, Mahe I, Meyer G, Oger E, Parent F, Quere I, Samama M.** Recommandations de bonne pratique.Prévention et traitementde la maladie thrombo-embolique veineuse en médecine. *AFSSAPS. Mt* 2010 ; vol. 16(n° 1)

- [62] Nicolas Gendron David M. Smadja.** Les anticoagulants oraux directs : quelle est la place de la biologie dans leur suivi et/ou leur utilisation ?. Ann Biol clin 2016 ; 74 (1) : 69-77.
- [63] Perez Botero J, Ormsby WD, Ashrani AA, McBane RD 2nd, Wysokinski WE, Patnaik MM, Lewis BR, Grill DE, Pruthi RK, Heit JA.** Do incident and recurrent venous thromboembolism risks truly differ between heterozygous and homozygous Factor V Leiden carriers? A retrospective cohort study. Eur J Intern Med. 2016; 30:77-81

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

- *Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*
- *Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.*
- *Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*
- *Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.*
- *Les médecins seront mes frères.*
- *Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*
- *Je maintiendrai le respect de la vie humaine dès la conception.*
- *Même sous la menace, je n'userai pas de mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.*
- *Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

قسم أبقراط

بسم الله الرحمان الرحيم

أقسم بالله العظيم

في هذه اللحظة التي يتم فيها قبولي عضوا في المهنة الطبية أتعهد علانية:

- أبأن أكرس حياتي لخدمة الإنسانية .
- وأبأن أأحترم أساتذتي وأأعترف لهم بألجميل الذي يستحقونه .
- وأبأن أأمارس مهنتي بأوانزع من ضميري وأشر في أأعلا صحة مريض هدي في الأول .
- وأبأن لا أفشي الأسرار المعهودة إلي .
- وأبأن أأحافظ بأكل ما لدي من وسائل على الشرف والتقاليد النبيلة لمهنة الطب .
- وأبأن أأعتبر سائر الأطباء إخوة لي .
- وأبأن أأقوم بأواجبي نحو مرضاي بأدون أي اعتبار ديني أو وطني أو عرقي أو سياسي أو اجتماعي .
- وأبأن أأحافظ بأكل حزم على احترام الحياة الإنسانية منذ نشأتها .
- وأبأن لا أستعمل معلوماتي الطبية بأطريق يضر بأحقوق الإنسان مهما لاقيت من تهديد .
- وأبأن أأكل هذا أتعهد عن كامل اختيار ومقسما بأشري في .

والله على ما أقول شهيد .

جامعة محمد الخامس - الرباط
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 290

سنة : 2018

مقاومة البروتين المنشط س

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :

من طرف

الآنسة : سناء أزتون

المزودة في 01 غشت 1992 بتارة

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية: مقاومة البروتين المنشط س - العامل V ليدين - الخثار.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيسة

السيدة: منى نزيه

مشرف

أستاذة في علم الدم البيولوجي

السيد: عز العرب مسرار

أستاذ في علم الدم البيولوجي

السيدة: سعاد بنكيران

أعضاء

أستاذة في علم الدم البيولوجي

السيد: عبد الله دامي

أستاذ في الكيمياء الحيوية