Hôpitaux Universitaires Est Parisien
SAINT-ANTOINE

Hydroxychloroquine dans les fausses couches précoces inexpliquées

Arsène Mekinian
Saint Antoine, Paris
Arsene.mekinian@aphp.fr
0615456720

i2B INFLAMMATION IMMUNOPATHOLOGIE BIOTHÉRAPIE

ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE PARIS

Femme de 36 ans

8 fausses couches précoces inexpliquées

Même procréateur

- 8 FCS dont 4 malgré par aspirine/ HBPM/ Duphaston +/- Utrogestan

- Bilan habituel négatif
- Bilan auto-immun négatif
- Analyse chromosomique produit FCS: 46XX pas d'anomalies

➢ **Fausses couches précoces inexpliquées**

- Proposition de don d'ovocytes ?
- Traitement immunomodulateur ?

DEFINITIONS

- Fausse couche précoce = expulsion spontanée < 14 SA

- Grossesse arrêtée précoce = arrêt de développement < 14 SA (stagnation sac, LCC, activité cardiaque)

- Grossesse biochimique = perte de grossesse précoce avec BHCG positif puis négatif sans localisation échographique de la grossesse

  - ✓ 10 à 15% des femmes enceintes font une FC entre 5 et 8 SA

- Fausses couches à répétition: ≥ 3 FCS consécutives au sein du couple

  - ✓ 1 à 5 % des femmes en âge de procréer

FAUSSES COUCHES A REPETITION : ETIOLOGIES

- Anomalies chromosomiques (analyse perte fœtal peu disponible)
- Anomalies utérines acquises ou congénitales
- SAPL / SLE
- IMC>30
- Pathologies endocriniennes
- Insuffisance ovarienne
- ADN spermatique fragmenté >30%
- Carences vitaminiques
- Stress, tabac, facteurs psychologiques

- ✓ **Caryotypes parentaux**
- ✓ **Hystéroscopie**
- ✓ **Echographie utérine**+ /- paroi -volume endométrial
- ✓ **Anticorps anti-TPO TG/ APL**+/-TransGlutaminases
- ✓ **B12 / folates / homocystéine**
- ✓ **FSH/LH/Ostradiol J3 / TSH / glycémie à jeun /prolactine**
- ✓ **AMH** +/- CFA
- ✓ Spermogramme avec ADN fragmenté
- ✓ Bilan de réceptivité utérine (uNK)

Huchon Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2016

FAUSSES COUCHES A REPETITION : ETIOLOGIES

Frequencies of abnormal results for evidence-based diagnostic tests from 1020 RPL patients compared to frequencies from other studies.

Test	This study (n = 1020)	Stephenson (8) (n = 197)	Stray-Pedersen and Stray-Pedersen (37) (n = 195)	Clifford et al. (38) (n = 500)	Harger et al. (39) (n = 155)	Others
Parental genetics	4.4	3.5	2.6	3.6	7.7	–
Uterine anatomy	18.1	15.7	15.4	1.8	27.0	–
Lupus anticoagulant (LAC)	3.6	–	–	9	–	–
Anticardiolipin (ACA)	15.1	–	–	6	–	17.3[a]
LAC and/or ACA	16.8	20.3	–	14	–	–
Factor V Leiden	6.8	–	–	–	–	7.8[b]
TSH	7.2	3.0	2.1	–	1.7	–
Blood glucose	0.3	–	–	–	–	–

Plus de 50% de FCS répétés précoces restent inexpliquées

2 acteurs clé de l'implantation

Comment expliquer l'absence de rejet maternel du fœtus

= Absence d'allo-immunité ?

ou un exemple de greffe syngénique tolérée

Figure 14-48 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Induction de la tolérance maternelle envers les Ag paternels

Sperme :

- ❑ Présence certains alloantigènes
- ❑ HLA-G
- ❑ TGFb / Prostaglandines

L' induction de tolérance (= génération Treg spécifiques) débute au moment de l'exposition au liquide séminal

Robertson ***Am J Reprod Immunol*** 2013

Capacité induction tolérance par le père (qualité sperme / présentation Ag)

Rupture de tolérance allo-immune maternelle

Anticorps bloquants insuffisants

Capacité génération / fonction / migration Treg par la mère

Dysrégulation immunologique des lymphocytes T maternelles

- **Augmentation cellules cytotoxiques IL17**
- **Diminution cellules T régulatrices tolérogènes**

- **Déséquilibre Th1/Th2**
- **Augmentation cytokines pro-inflammatoires (TNFα / IL1 /IL6)**

Lee SK ***Human Reprod*** 2011
Kwak-Kim ***Human Reprod*** 2003

Dysrégulation immunologique maternelle

- Rapport TH1/TH2
- NK cytotoxiques
- Th17
- Défaut T régulateurs

- **Profil inflammatoire / Cellules cytotoxiques**
- **Défaut tolérance**
- **Origine conflit immunitaire ?**

Réponse allo-immune et rejet
= Fausses couches précoces

Réponse auto-immune
= Fausses couches précoces

Traitement FCS inexpliquées : aspirine /Héparine

Table II Aspirin, LMWH and Combination Regimen in Patients With Unexplained Recurrent Miscarriages

Author/Years	Inclusion criteria	Time beginning	LMWH Live birth	Aspirin (75–100 mg/day) Live birth	Aspirin +LMWH Live birth	Placebo/controls Live birth
Fawzy 2008[95]	≥3FL ≤24 weeks	<7 weeks	46 (81)	–	–	24 (48)*
Rai 2000[85]	≥3FL ≤13 weeks >1FL ≥13 weeks	<5 weeks	–	251 (68.4)	–	278 (63.5)
Clark 2010[162]	≥2FL ≤24 weeks	<7 weeks	–	–	32 (22)	29 (21)
Kandorp 2010[88]	≥2FL ≤20 weeks	<6 weeks	–	61 (62)	67 (69)	69 (67)
Dolitzky 2006[163]	≥3FL first trimester ≥2FL second trimester	6–12 weeks	54 (82)	50 (84)	–	–
Visser 2011[164]	≥3FL ≤13 weeks ≥2FL 13–24 weeks ≥1FL ≥24 weeks and 1 ≤ 13 weeks	<7 weeks	51 (68)	57 (69)	48[66]	–
Giancotti 2012[165]	≥2FL abortions	<7 weeks	22 (85)	19 (70)	28 (100)	–
Pasquier 2015[87]	≥2FL ≤15 weeks	<6 weeks	92 (67)	–	–	86 (73)
Schleussner 2015[86]	≥2FL <12 weeks ≥1FL ≥12 weeks	<7 weeks	185 (86)	–	–	183 (86.7) (controls)
Clark 2015	≥2FL ≤24 weeks	–	–	–	143 (77)	140 (79)

Study or Subgroup	Aspirin and/or LMWH Events	Aspirin and/or LMWH Total	Placebo/Control Events	Placebo/Control Total	Weight	Odds Ratio M-H, Fixed, 95% CI
CLARK 2010	32	145	29	138	10.7%	1.06 [0.60, 1.88]
CLARK 2015	143	182	140	177	14.1%	0.97 [0.58, 1.61]
FAWZY 2008	46	57	24	50	2.3%	4.53 [1.92, 10.71]
KANDORP 2010	67	97	69	103	9.6%	1.10 [0.61, 2.00]
PASQUIER 2015	92	137	86	118	14.1%	0.76 [0.44, 1.31]
RAI 2000	251	367	278	438	37.2%	1.25 [0.93, 1.67]
SCHLEUSSNER 2015	185	215	183	210	12.0%	0.91 [0.52, 1.59]
Total (95% CI)		**1200**		**1234**	**100.0%**	**1.14 [0.95, 1.37]**
Total events	816		809			

Heterogeneity: Chi² = 13.47, df = 6 (P = 0.04); I² = 55%
Test for overall effect: Z = 1.40 (P = 0.16)

Mekinian Am J Reprod Immunol 2016

Quelle thérapeutique immunomodulatrice maternelle ?

Dysrégulation immunitaire
- Rapport TH1/TH2
- NK cytotoxiques
- Exces Th17
- Défaut Tregulateurs
- Défaut LB-regulateurs

→ Profil inflammatoire
Défaut tolérance

Diminuer l'inflammation
- Taux cytokines pro-inflammatoires
- Cellules cytotoxiques (Th1 / Th17 / NK)

- Progestérone
- Corticoïdes
- Immunoglobulines
- Biothérapies

Induire la tolérance
= augmenter Treg

- G-CSF
- IL2 low dose

Corticoïdes

Table III Steroids in Patients with Unexplained Recurrent Miscarriages

Author/Years	Inclusion criteria	Time beginning	Prednisolone Live birth	Associated drugs	Placebo/controls Live birth
Gomaa 2014[94]	≥2FL ≤20 weeks Primary Unexplained FL	<7 weeks	52 (70.3) (5 mg/day at delivery)	Aspirin/heparin 5000 UI/12 hr	7 (9.2)* (Aspirin/heparin)
Fawzy 2008[95]	≥3FL ≤27 weeks Primary (*n* = 75) and secondary (*n* = 32) Unexplained FL	<7 weeks	45 (85) (20 mg/day <12 weeks)	Aspirin +progesterone	24 (48)*
Tempfer 2006[96]	≥3FL ≤15 weeks Primary (*n* = 69) and secondary (*n* = 35) Unexplained FL	<7 weeks	40 (77) (20 mg/day <12 weeks)	Aspirin +progesterone	18 (35)* (controls)
Tang 2013[98]	≥3FL ≤14 weeks and uNK≥5% Une	<7 weeks	12 (60) (5 mg/day at delivery)	Aspirin (*n* = 9)	8 (40)

Study or Subgroup	Prednisolone Events	Prednisolone Total	Placebo/Control Events	Placebo/Control Total	Weight	Odds Ratio M-H, Fixed, 95% CI
FAWZY 2008	45	53	24	50	28.4%	6.09 [2.39, 15.51]
GOMAA 2014	52	74	7	80	15.2%	24.65 [9.80, 61.97]
TANG 2013	12	20	8	20	24.4%	2.25 [0.63, 7.97]
TEMPFER 2006	40	52	18	51	32.0%	6.11 [2.58, 14.50]
Total (95% CI)		**199**		**201**	**100.0%**	**7.99 [5.01, 12.73]**
Total events	149		57			

Heterogeneity: Chi² = 10.28, df = 3 (P = 0.02); I² = 71%
Test for overall effect: Z = 8.74 (P < 0.00001)

Diminuer l'inflammation
- Taux cytokines pro-inflammatoires
- Cellules cytotoxiques (Th1 / Th17 / NK)

Boomsma CM ***Cochrane*** 2012
Mekinian A Am J Reprod 2016

Immunoglobulines intraveineuses

- Diminution Th1/Th2 dans 72% cas après IgIV
- Diminution cytotoxicité NK

Study or subgroup	IVIG n/N	Placebo n/N	Peto Odds Ratio Peto,Fixed,95% CI	Weight	Peto Odds Ratio Peto,Fixed,95% CI
Cauchi 1991	0/1	0/1			Not estimable
Christiansen 1995	8/14	2/8		7.8 %	3.45 [0.63, 18.95]
Christiansen 2002	13/29	13/29		21.6 %	1.00 [0.36, 2.79]
Coulam 1995	10/21	7/19		14.8 %	1.54 [0.45, 5.31]
German RSA/IVIG 1994	20/33	21/31		22.1 %	0.74 [0.27, 2.03]
Jablonowska 1999	17/22	15/19		10.6 %	0.91 [0.21, 3.93]
Perino 1997	16/22	20/24		11.8 %	0.54 [0.14, 2.18]
Stephenson 1998	8/17	7/13		11.3 %	0.77 [0.19, 3.18]
Total (95% CI)	**159**	**144**		**100.0 %**	**0.98 [0.61, 1.58]**

Total events: 92 (IVIG), 85 (Placebo)
Heterogeneity: $Chi^2 = 3.72$, df = 6 (P = 0.71); $I^2 = 0.0\%$
Test for overall effect: Z = 0.08 (P = 0.94)
Test for subgroup differences: Not applicable

0.01 0.1 1 10 100
Favours placebo Favours IVIG

Diminuer l'inflammation
- Taux cytokines pro-inflammatoires
- Cellules cytotoxiques (Th1 / Th17 / NK)

Sélection sous groupes

Yamada **Am J Reprod Immunol** 2003
Porter TF **Cochrane** 2014

Perfusions d'intralipides

- Modulation activité NK et inhibition de cytokines pro-inflammatoires

Diminuer l'inflammation
- Taux cytokines pro-inflammatoires
- Cellules cytotoxiques (Th1 / Th17 / NK)

Coulam ***Am J Reprod Immunol*** 2012
Roussev ***Am J Reprod Immunol*** 2008
Mekinian A Am J Reprod 2016

Biothérapies : antagonistes TNFa

- Adalimumab 40 mg/14jours SC préconception à 6SA
- Etanercept 25 mg*2/semaine SC préconception à 6SA

Fig. 4 Live birth rates for treatment groups with RSA: group I: Hep 19% (4/21); group II: Hep + IVIG: 54% (20/37) $P = 0.0127$; group III: Hep + IVIG + Humira 71% (12/17) $P = 0.0026$.

Diminuer l'inflammation
- Taux cytokines pro-inflammatoires

Winger ***Am J Reprod Immunol*** 2008

G-CSF

- G-CSF produit par cellules déciduales et Récepteur présent sur trophoblastes
- Effet anti-abortif (modèles animaux)
- Pas de tératogénicité connue

G-CSF 1µg/kg/jour jusqu'à 9SA

	G-CSF	Placebo	P-value
Number of live births (%)	29 (82.8)	16 (48.5)	0.0061
Number of miscarriages (%)	6 (17.2)	17 (51.5)	0.0061
Gestational week of miscarriage (mean ± SD)	6.0 ± 1.1	6.2 ± 1.0	0.6989
Newborn weight (g, mean ± SD)	3050 ± 220	3125 ± 240	0.3098
Side effects			
Skin rash	1	0	0.5147
Leukocytosis	2	0	0.2617
Pregnancy complication*	0	1	0.3535

Induire la tolérance = augmenter Treg

Scarpellini ***Human Reprod*** 2009
Santjohanser ***Arch immunol Ther*** 2013

IL-2 low dose

Induire la tolérance = augmenter Treg

Induction des lymphocytes T régulateur par l'interleukine 2 à faible dose chez des femmes ayant des fausses couches spontanées précoces « à répétition » inexpliquées.

« FCRIL2 » Mekinian / Klatzmann

Inclusion 2019

Hydroxychloroquine ?

- **Anti-thrombotique (SAPL, TVP post-opératoires)**
  - ✓ Diminution taille thrombus avec HCQ (souris)
  - ✓ Addition HCQ 0% récidive thrombose vs 30% AVK seuls

- **Activité anti-inflammatoire / immunomodulatrice**

Pathogenic mechanisms related to antiphospholipid antibodies.

Thrombotic
Inhibition of protein C activity (acquired protein C resistance)
Inhibition of protein S cofactor activity/inhibition of antithrombin III activity
Tissue factor up regulation in monocytes and endothelial cells
Inhibition of tissue factor inhibitor/inhibition of t-PA activity
Lowering of endothelial cell prostacyclin synthesis
Increase von Willebrant synthesis
Induction of platelet activation and aggregation
Interference of a protecting annexin A5 shield (annexin A5 resistance)
Inhibition of β_2-glycoprotein I activity
Decrease of thrombomodulin levels
Increased microparticle formation and delivery
Proinflammatory cytokine synthesis
Non-thrombotic lesional mechanisms (trophoblast injury)
Impairment of trophoblast invasiveness
Increasing of the trophoblast cell apoptosis and reduced levels of β-HCG
Increasing TNFα, IL-6 and IL-1b; lowering IL-3 levels
In situ classical and alternative complement activation
Increase of the Fc and C4-dependent protein
In situ generation of anaphylotoxins, mainly C3a/C5a-induced neutrophil/monocyte activation as well as TF over expression
Peripheral low levels of C4 and C3 complement proteins
Higher concentration of inflammatory cells, particularly macrophages, neutrophils and probably decidual NK cells

Mekinian Autoimmun Rev 2014 /Schmidt-Tanguy 2013

Hydroxychloroquine et APL

HCQ directly affect the formation of apl-β2GPI complexes on phospholipide bilayers

Rand Blood 2008

HCQ reduces APL binding to syncytiotrophoblasts and restores annexin A5 expression

Wu XX 2011 Am J Obstet Gynecol

APL affect trophoblast fusion and differenciation by increasing TLR-4 expression

HCQ reverse APL effects by reducing TLR-4 expression and restoring trphoblast fusion

Marchetti T J Thromb Haemost 2011

Hydroxychloroquine et FCS inexpliquées ?

- Aucune donnée clinique disponible FCSR

- Saint Antoine (169 FCS inexpliquées = 1064 grossesses)

  - ✓ Gestité 6 (2-22)
  - ✓ Parité 0 (0-4)
  - ✓ N FCS 4 (3-21)

  - ✓ 45 patientes ayant reçu HCQ en préconception
  - ✓ 13 (29%) grossesses évolutives > 14 SA à terme
  - ✓ Traitements associés = 32 cas (aspirine/ cortancyl)
  - ✓ 4 GIU avec enfant vivant sans corticoïdes (33%)

- Cas contrôles en cours

Prévention des Fausses Couches Spontanées Répétées par Hydroxychloroquine.
Essai thérapeutique multicentrique, randomisé, en double insu, contre placebo.
Etude BBQ
Pr Elisabeth Pasquier

L'objectif principal de cette étude est de déterminer si l'administration orale journalière de 400 mg d'hydroxychloroquine, **débutée avant la conception et poursuivie jusqu'à 10 SA**, augmente le taux **de naissances vivantes et viables d'au moins 15%**, chez les femmes souffrant de FCSR inexpliquées

Série rétrospective HCQ pour FCS inexpliquées en cours:
arsene.mekinian@aphp.fr

Merci pour votre attention

Endomètre préconception : uNK / profil Th1 / défaut Treg

SOUS-ACTIVATION ENDOMÉTRIALE

Insuffisance de sécrétion cytokinique
Migration insuffisante des cellules uNK
Immaturité des cellules uNK

PROBLÈME LORS DE L'ADHÉSION

SURACTIVATION ENDOMÉTRIALE

Migration excessive uNK
Excès de cytokines
Défaut d'immunorégulation locale

PROBLÈME LORS DE L'INVASION
REJET-APOPTOSE

Personnalisation de la prise en charge

Immune Endometrial Evaluation

OVER-IMMUNE ACTIVATION

IL-18/TWEAK > 0.12	→ Th-1 in exces
± IL-15/Fn-14 > 3	→ cytotoxic uNK cells
± CD56+ cells > 100	→ hyper mobilization of uNK cells

OVER-IMMUNE ACTIVATION

IL-18/TWEAK > 0.12	→ Th-1 in exces
IL-15/Fn-14 <0. 3	→ immature uNK cells

LOW-IMMUNE ACTIVATION

IL-15/Fn-14 <0. 3	→ immature uNK cells
± CD56+ cells < 10	→ low recruitment of uNK cells
± IL-18/TWEAK < 0.02	→ Th-2 low

Ledée ***Medecine Reproduction*** 2014