

# **ANNEXES**

## Annexe 1 : Appareillage



Lecteur ELISA (spectrophotomètre) type MRXe  
marque Dinx biosciences



AGITATEUR THERMIQUE



Centrifugeuse Thermo C3I MULTIFUNCTION

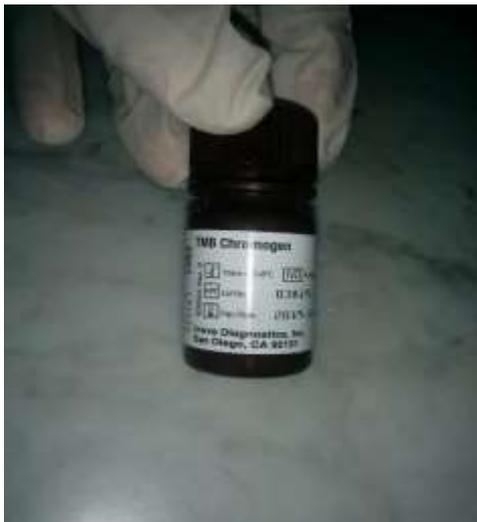
## Annexe 2 : Réactifs utilisés



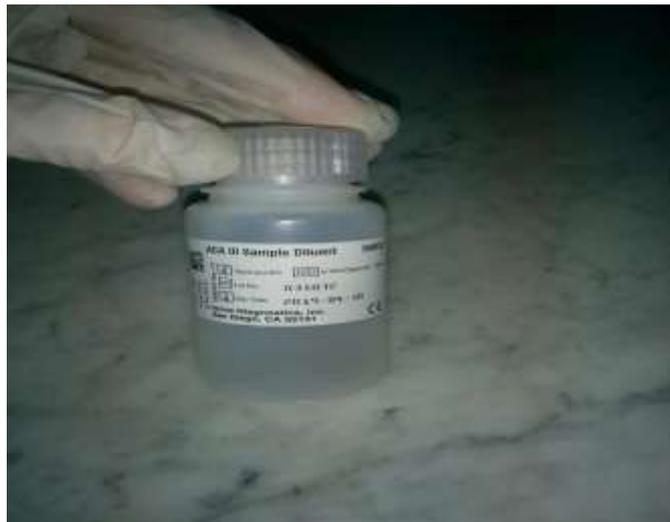
**Kit ELISA ACA Ig**



**KIT ELISA aβ2GPI IgA**



**CHROMOGENE ACAIII IgA**



**DILUANT ACAIII IgA**



**CALIBRANTS ACA III IgA**



**SOLUTION D'ARRET ACA III IgA**

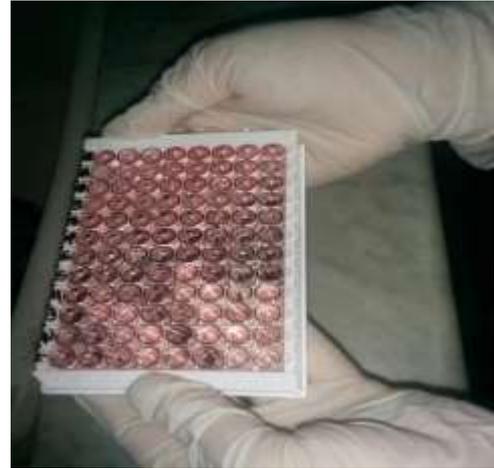
## Annexe 3 : Mode Opérateur

### ➤ Exécution du test :

1. Porter tous les réactifs et les échantillons à température ambiante ( 20-26°C) avant de les utiliser. Placer le nombre nécessaire de micro puits ou de barrettes sur le portoir. Remettre immédiatement les barrettes non utilisées dans la pochette en aluminium avec le dessiccant, fermer hermétiquement pour éviter toute condensation de vapeur d'eau.



2. Distribuer 100 µl des 5 Calibrants, des échantillons de patients dilués, des contrôles négatif et positif dans les puits. NOTE: Les contrôles négatifs et positif sont prédilués et prêts à l'emploi. La valeur et les limites de validité du contrôle positif sont indiqués sur l'étiquette du flacon. Si le contrôle positif n'est pas compris dans ces limites, le test devra être recommencé. Si la valeur du contrôle est toujours hors limites, contactez Le Service Technique d'INOVA. Il est recommandé de tester tous les échantillons en double.
3. Recouvrir les barrettes et laisser incuber pendant 30 minutes à température ambiante. Le temps d'incubation commence après l'ajout du dernier échantillon.
4. Lavage: aspirer le contenu de tous les puits. Ajouter 200-300µl de tampon dilué dans tous les puits et l'aspirer ensuite complètement. Répéter cette opération deux fois supplémentaires pour un total de trois lavages. Après le dernier lavage, retourner la plaque en la tapotant sur du papier absorbant, pour enlever tout liquide de lavage résiduel. Pour l'aspiration, maintenir la même séquence que celle utilisée lors de la distribution des échantillons.



5. Distribuer 100  $\mu$ l de conjugué HRP IgM dans chaque puits. Le conjugué doit être prélevé du flacon dans des conditions aseptiques. Prélever en une seule fois la quantité de conjugué nécessaire à la réalisation de la série. Recouvrir les barrettes et incuber pendant 30 minutes à température ambiante, comme décrit à l'étape 3.
6. Lavage: Répéter la procédure décrite à l'étape 4.
7. Distribuer 100  $\mu$ l de chromogène TMB dans chaque puits et laisser incuber à l'obscurité 30 minutes à température ambiante.



8. Ajouter 100  $\mu$ l de solution d'arrêt HRP dans chaque puits. Maintenir la même séquence et le même timing lors de l'addition de la solution d'arrêt que ceux utilisés lors de la distribution du chromogène TMB. Tapoter délicatement les plaques pour bien mélanger le contenu des puits.

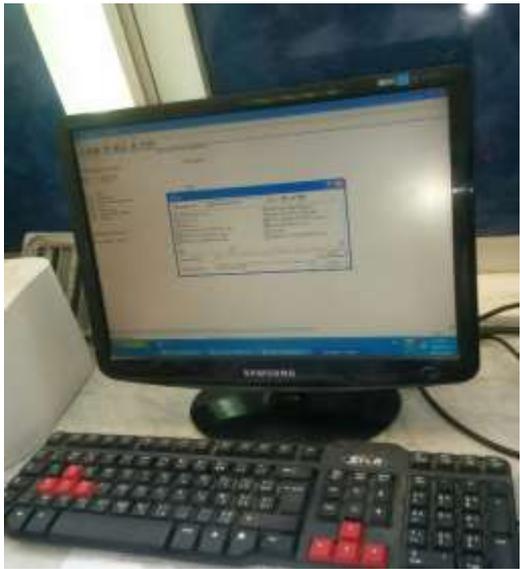
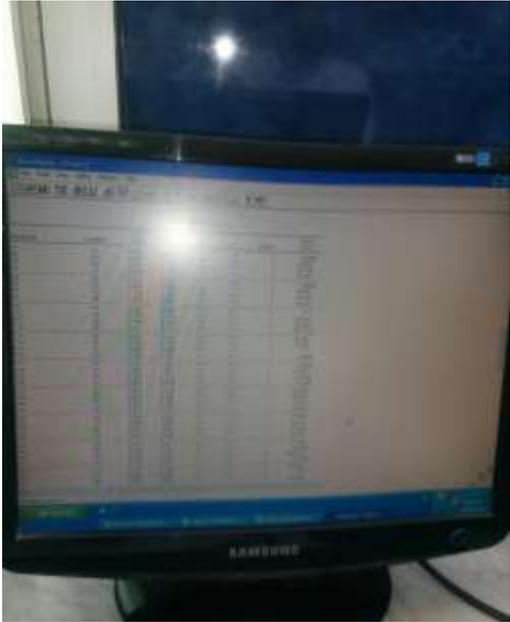


9. Lire la densité optique (DO) de chaque puits à 450nm dans l'heure qui suit l'arrêt de la réaction. Pour une lecture bichromatique, la longueur d'onde de référence peut être 620nm.



➤ **Calcul des résultats:**

- Déterminer la valeur moyenne de toutes les lectures doubles.
- Tracer la courbe de calibration pour l'analyse des anticorps contre le log de leurs concentrations. Utiliser le meilleur tracé de courbe. Alternativement un diagramme en log/log peut être utilisé. Les unités affectées aux calibrateurs sont inscrites sur l'étiquette du flacon.
- Déterminer la concentration inconnue de l'APL à partir de l'axe des « X » en lisant l'absorbance correspondante sur l'axe des « Y ».





# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes très chers parents pour l'éducation qu'ils m'ont prodigués ; pour leurs soutiens et encouragements tout au long de mes études, Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour qu'ils me procurent. Que dieu tout puissant les préserve et leur accorde santé, bonheur et longue vie*

*A mon très cher mari pour l'encouragement, et l'aide précieuse qu'il m'a apportée tout au long de ce projet. Que dieu le bénisse et le protège de tous les maux.*

*A ma précieuse sœur, A mes trois chers frères, Puisse Allah le tout puissant renforcé nos liens de parenté.*

*A mes tres chers amis Fatima/Yasmine, Yanis, Yasmine, FZ et Nassim. Pour leurs soutien inconditionnel.*

*A ma tres chère amie et binôme Souad pour les moments inoubliables qu'on a passé ensemble durant ces six merveilleuses années. Que dieu la protège .*

*Selma*



# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail:*

*A mes très chers parents . Votre compréhension votre patience et votre encouragement sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter. Merci pour votre sincère amour et Que dieu tout puissant vous procure bonne santé et longue vie*

*A mon très cher frère Amara tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite et les mots me manquent pour te témoigner ma reconnaissance. Que dieu te bénisse*

*A mes tres chers sœurs Katia, Amina, Lynda , Tassadit , Rachida et Nawel , Merci pour votre amour et soutien inconditionnel . Que Dieu tout puissant vous protège*

*A ma tres chère amie et binôme Selma pour les moments inoubliables qu'on a passé ensemble durant ces six merveilleuses années. Puisse ALLAH renforcer le lien d'amitié qui nous unit*

*Souad*

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA**  
**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA 1**  
**FACULTE DE MEDECINE**  
**DEPARTEMENT DE PHARMACIE**



**SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES**  
**AUTO-ANTICORPS ET ACTUALITES**

**Thèse d'exercice de fin d'études**

**Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie**

**Session : juillet 2018**

**Présentée par :**

- **GHORAB Salma**
- **HENNEB Souad**

**Encadrée par :**

- **Dr M.L.ZELTNI**

**Devant le jury :**

- |                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| • Président : <b>Pr Y.BOUCHEDOUB</b>  | Maitre de conférence A en Immunologie au CHU BLIDA |
| • Examineur : <b>Dr O.RENDJA</b>      | Maitre-assistant en Immunologie au CHU BLIDA       |
| • Examinatrice : <b>Dr L.OULD ALI</b> | Maitre-assistante en Immunologie au CHU BLIDA      |
| • Promoteur : <b>Dr M.L.ZELTNI</b>    | Assistant en Immunologie au CHU BLIDA              |

## **REMERCIEMENTS**

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour l'élaboration de ce modeste travail*

*Notre grande considération et nos vives reconnaissances vont au professeur **MEGHLAOUI** pour son accueil au sein du service d'immunologie du CHU **BLIDA***

*Nos vifs remerciements s'adressent à notre promoteur Docteur **ZELTNI**, de nous avoir donné l'opportunité de travailler sur un tel sujet, pour son orientation, sa disponibilité et ses instructions précieuses mais aussi pour ses encouragements dans les moments clés de son élaboration.*

*A Monsieur le professeur **BOUCHEDOUB**. Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous avez fait en acceptant la présidence de notre jury de thèse. Veuillez croire à l'expression de notre grande admiration et notre profond respect.*

*Que Docteur **RENDJA** et docteur **OULD ALI** trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant de juger ce travail et d'en être les examinateurs*

*Un remerciement particulier à tout le personnel du laboratoire d'immunologie pour son accueil et pour l'aide qu'il nous a apportée à un moment ou à un autre*

# PARTIE THEORIQUE

---

---

## Table des matières

<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>IV</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>VI</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>VII</b>
<b>GLOSSAIRE.....</b>	<b>X</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
<b>PARTIE THEORIQUE .....</b>	<b>2</b>
I.1 RAPPEL SUR L'AUTO-IMMUNITE.....	3
I.1.1 Définition et classification des maladies auto-immunes.....	3
I.1.2 Epidémiologie.....	3
I.1.3 Tolérance immunitaire .....	3
I.1.4 Mécanismes lésionnels dans les maladies auto immunes.....	4
I.1.5 Rôle des auto-anticorps.....	4
I.1.6 Rôle des lymphocytes T .....	4
I.1.7 Etiologies .....	5
I.1.8 Aspects diagnostiques et traitement.....	5
I.2 SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES.....	6
I.2.1 Définition et classification .....	6
I.2.2 Historique .....	6
I.2.3 Epidémiologie.....	8
I.2.4 Anticorps anti-phospholipides.....	10
I.2.5 Liens entre le syndrome des anti-phospholipides et le lupus.....	15
<b>II. PATHOGENIE DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES :.....</b>	<b>16</b>
II.1 RAPPEL SUR L'HEMOSTASE .....	16
II.1.1 Définition .....	16
II.1.2 Etapes de l'hémostase.....	16
II.2 ORIGINE DES ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES .....	18
II.2.1 Facteurs environnementaux.....	19
II.2.2 Facteurs immunologiques .....	21
II.2.3 Facteurs génétiques .....	21
II.3 PHYSIOPATHOLOGIE DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES .....	22
II.3.1 Physiopathologie du SAPL thrombotique .....	22
II.3.2 Physiopathologie du SAPL obstétrical pur .....	26
<b>III. DIAGNOSTIC DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES .....</b>	<b>28</b>
III.1 SITUATIONS JUSTIFIANTS LA RECHERCHE DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES.....	28
III.2 CRITERES DIAGNOSTIQUES DU SAPL.....	28
III.2.1 critères de Sydney (2006) .....	28
III.2.2 Recommandations du SSC/ISTH de 2009 .....	31
III.2.3 Critères de classification du SCAPL .....	31
III.3 EXPLORATION CLINIQUE.....	32
III.3.1 Manifestations cliniques majeures.....	32
III.3.2 Manifestations cliniques mineures.....	33
III.3.3 Syndrome catastrophique des anti-phospholipides .....	37

# PARTIE THEORIQUE

---

III.4 EXPLORATION BIOLOGIQUE.....	37
III.4.1 Tests de coagulations : Lupus anticoagulant .....	37
III.4.2 Tests immunologiques conventionnels.....	42
III.4.3 tests immunologiques non conventionnels .....	47
III.5 AUTRES INVESTIGATIONS.....	47
III.5.1 Imagerie .....	47
III.5.2 Anatomie-pathologique .....	47
III.6 EVOLUTION DU TITRE DES ANTICORPS .....	48
III.7 PROFIL BIOLOGIQUE PERMET-IL DE PRÉDIRE LE RISQUE CLINIQUE ? .....	48
III.8 NOUVEAUX MARQUEURS PRÉDICTIFS .....	49
III.8.1 Test de génération de thrombine .....	49
III.8.2 Anticorps anti-domaine 1 de la $\beta$ 2GPI.....	49
III.8.3 LA dépendant de la $\beta$ 2GPI .....	49
III.8.4 Résistance à l'annexine V .....	49
III.8.5 Combinaisons de tests incluant les APL non conventionnels.....	49
<b>IV- PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DU SAPL.....</b>	<b>50</b>
IV.1 TRAITEMENT DU SAPL THROMBOTIQUE .....	51
IV.1.1 Prévention primaire du SAPL thrombotique.....	51
IV.1.2 Traitement curatif des thromboses.....	51
IV.1.3 Prévention secondaire du SAPL.....	51
IV.2 TRAITEMENT DU SAPL OBSTETRICAL .....	52
IV.2.1 Prévention primaire du SAPL obstétrical.....	52
IV.2.2 Prévention secondaire du SAPL obstétrical .....	52
IV.3 TRAITEMENT DU SYNDROME CATASTROPHIQUE DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES .....	52
IV.4 AUTRES TRAITEMENTS .....	52
IV.4.1 Statines .....	52
IV.4.2 Hydroxychloroquine .....	53
IV.5 VOIES D'AVENIR POUR LE TRAITEMENT DU SAPL .....	53
IV.5.1 Inhibition du complément .....	53
IV.5.2 Defibrotide .....	53
IV.5.3 Rituximab .....	53
IV.5.4 Vitamine D .....	54
<b>V- TRAVAUX DE RECHERCHES RECENTS SUR LE SAPL.....</b>	<b>54</b>
V.1 ALLIANCE POUR LES ESSAIS CLINIQUES ET LA MISE EN RESEAU DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES (APS ACTION).....	54
V.1.1 Recherche en cours .....	54
V.1.2 Base de données cliniques internationale et référentiel de l'APS ACTION .....	55
V.2 RAPPORT DU 15 <sup>EME</sup> CONGRES INTERNATIONAL SUR LES ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES .....	57
V.2.1 Justification de l'élaboration de nouveaux critères de classification du syndrome des anti-phospholipides.....	57
V.2.2 Méthodes de développement de nouveaux critères de classification du syndrome des anti-phospholipides.....	58
V.2.3 Réalisations de la task force sur les critères de classification du syndrome des anti-phospholipides (2013-2016).....	60
V.2.4 Conclusion du groupe et plans futurs.....	61
<b>PARTIE PRATIQUE .....</b>	<b>63</b>
<b>I- OBJECIFS DE L'ETUDE.....</b>	<b>64</b>

# **PARTIE THEORIQUE**

---

---

<b>II- MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>66</b>
<b>III- RESULTATS.....</b>	<b>70</b>
<b>IV- DISCUSSION .....</b>	<b>97</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>103</b>
<b>REFERENCES .....</b>	<b>106</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>113</b>

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: MAI, synthèse physiopathologie et étiologies .....	5
Figure 2: Représentations structurales de la $\beta$ 2GPI. ....	13
Figure 3: Les 2 voies de la coagulation et les tests in vitro d'exploration de la coagulation plasmatique .....	18
Figure 4: Modèle d'inactivation du système protéine c/protéine s par les anti- $\beta$ 2GPI.....	23
Figure 5: Modèle de sensibilisation des plaquettes à leurs agonistes par les anti- $\beta$ 2GPI.....	24
Figure 6: Modèle d'activation des cellules endothéliales par les anti- $\beta$ 2GPI. ....	25
Figure 7 :Rôle de l'activation du complément dans les pertes fœtales induites par les anticorps anti-phospholipides .....	27
Figure 8: Mécanismes physiopathologiques du SAPL obstétrical .....	27
Figure 9: Artériographie objectivant une occlusion de l'artère rénale gauche .....	35
Figure 10: Nécroses cutanées.....	36
Figure 11: Livedo reticularis.....	36
Figure 12: Algorithme décisionnel pour mettre en évidence un lupus anticoagulant .....	41
Figure 13: Anticorps induisant une activité lupus anticoagulant .....	42
Figure 14: Anticorps détectés par l'ELISA ACA .....	43
Figure 15: La fixation des anticorps anti-phospholipides sur la $\beta$ 2GPI. (domaine I) entraîne sa dimerisation et augmente son affinité pour les phospholipides membranaires .....	44
Figure 16: Anticorps détectés par les l'ELISA a $\beta$ 2GPI.....	45
Figure 17: Répartition des patients explorés selon l'âge.....	71
Figure 18: Répartition des patients explorés selon le sexe .....	71
Figure 19: Répartition des patients explorés selon le sexe et l'âge. ....	72
Figure 20: Répartition des patients explorés selon leurs signes cliniques.....	73
Figure 21: Répartition des patients explorés selon le sexe et les signes cliniques .....	73
Figure 22: Répartition des patients explorés selon la recherche des anticorps anti-nucléaires .....	74
Figure 23: Fréquence des APL au moment du dépistage .....	75
Figure 24: Fréquence des deux types d'APL au moment du dépistage.....	75
Figure 25: Fréquence des APL lors de l'identification avant dosage des IgA APL .....	76
Figure 26: Fréquence des deux types d'APL au moment de l'identification sans dosage des IgA .....	76
Figure 27: Fréquence des APL lors de l'identification après dosage des IgA APL .....	77
Figure 28: Fréquence des deux types d'APL au moment de l'identification après dosage de l'IgA.....	77
Figure 29: Fréquence des APL avant et après l'introduction du test IgA APL.....	78
Figure 30: Fréquence des APL selon l'âge.....	79
Figure 31: Fréquence des APL par rapport aux tranches d'âges.....	80
Figure 32: Fréquence des ACA au moment de l'identification en fonction de la valeur du screen ACA .....	82

Figure 33: Frequence des aβ2GPI au moment de l'identification en fonction de la valeur du Screen aβ2GPI.....	83
Figure 34: Fréquence des APL associés aux Ac anti-nucléaires .....	83
Figure 35: Fréquence des APL en fonction de la positivité des FAN .....	83
Figure 36: Frequence des IgA aβ2GPI isolés et des APL conventionnels en fonction des Ac anti-nucleaire.....	85
Figure 37: Clinique des patients dépistés positifs pour les ACA .....	86
Figure 38: Fréquence des signes cliniques majeurs en fonction de la positivité du Screen ACA .....	86
Figure 39:Fréquence des patients atteints de manifestations cliniques majeurs en fonction des ACA IgG/IgM/IgA .....	87
Figure 40:Clinique des patients dépistés positifs pour les aβ2GPI. ....	88
Figure 41:Fréquence des signes cliniques majeurs en fonction de la positivité du Screen aβ2GPI .....	90
Figure 42: Frequence des manifestations cliniques majeures en fonction de la positivite du test aβ2GPIScreen.....	90
Figure 43: Fréquence des patients atteints de manifestations cliniques majeurs en fonction des aβ2GPI IgG/IgM/IgA.....	91
Figure 44:Fréquence des signes cliniques chez la population positive avant l'introduction du test IgA APL.....	92
Figure 45:Fréquence des signes clinique dans la population positive après l'introduction du test IgA APL.....	93
Figure 46:Fréquence des manifestations cliniques chez les nouveaux patients ayant des aβ2GPI .....	93
Figure 47:Fréquence des complications obstétricales en fonction des trois isotypes des APL .....	96
Figure 48:Fréquence de l'HTA en fonction des trois isotypes des APL .....	96

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1:Maladies auto-immunes .....	3
Tableau 2:Agents infectieux associés a l'anti-β2GPI et au SAPL .....	19
Tableau 3:Critères diagnostiques du SAPL de sydney (2006). .....	30
Tableau 4:Classification des patients selon le type et le nombre d'anticorps anti-phospholipides (APL).....	31
Tableau 5:Critères de classification du SAPL catastrophique.....	32
Tableau 6:Répartition de la positivité des APL sur les trois isotypes .....	78
Tableau 7:Fréquence des APL avant et après l'introduction IgA APL.....	79
Tableau 8:Fréquence des APL par rapport aux tranches d'age.....	80
Tableau 9:Fréquence des APL chez les hommes et les femmes .....	81
Tableau 10:Fréquence des ACA en fonction de la valeur du screen ACA .....	81
Tableau 11:Fréquence des aβ2GPI en fonction de la valeur du screen aβ2GPI.....	82
Tableau 12:Fréquence des APL en fonction de la positivite des FAN.....	84
Tableau 13:Fréquence des IgA aβ2GPI isoles et des APL aβ2GPI conventionnel en fonction des ac anti-nucleaire .....	85
Tableau 14:Fréquence des manifestations cliniques majeures en fonction des ACA Screen.....	88
Tableau 15:Fréquence des manifestations cliniques majeures en fonction de la positivite du test aβ2GPI Screen .....	90
Tableau 16:Assaociation des manifestations cliniques liées au SAPL avec l'isotype IgA des aβ2GPI .....	109

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**ACA:** Anti-cardiolipine

**ADN :** Acide désoxyribonucléique

**AIT :** Accident ischémique transitoire

**APC :** Protéine C activée

**aPE :** anti-phosphatidyl-éthanolamine

**APL:** Anti-phospholipides

**ApoER2' :** Récepteur 2' de l'apolipoprotéine E

**aPS :** anti-protéine S

**APS :** Anti-phospholipid syndrome

**aPT:** anti-prothrombine

**aPTT:** activated partial thromboplastin time

**AVC :** Accident vasculaire cérébrale

**AVK:** Anti-vitamins K

**C4bBP :** C4b binding protein

**DOAC :** Direct oral anti-coagulant

**dRVVT :** dilute Russel's viper-venom time ou temps de venin de vipère Russel dilué

**EPCR :** endothelial protein C receptor

**FAN :** Facteur anti-nucléaire

**FT :** Facteur tissulaire

**FvW :** Facteur de von Willebrand

**GAPSS :** The Global Anti-Phospholipid Syndrome Score

**GLA :** Acide gamma-carboxyglutamique

**GP:** Glycoprotéine

**GPL :** Isotype G PhosphoLipid

**HBPM :** Héparine de bas poids moléculaire

**HELLP:** Hemolysis elevated liver enzymes low platelet count

**ICAM-1 :** Intercellular adhesion molecule-1

**Ig:** Immunoglobuline

**II :** Prothrombine

**INR :** International normalized ratio

**IRM :** Imagerie par résonance magnétique

**ISTH :** International society on Thrombosis and Haemostasis

**IX** : Facteur anti hémophilique B  
**KCT** : Kaolin clotting time  
**KHPM** : Kininogène de haut poids moléculaire  
**LA**: Lupus anticoagulant  
**LEAD** : Lupus érythémateux aigu disséminé  
**MPL** : Isotype M PhosphoLipid  
**MyD88** : Myeloid differentiation factor 88  
**P38MAPK**: P38 mitogen-activated protein kinases  
**PAI** : Plasminogen activator-inhibitor  
**PBS** : Phosphate buffered saline (tampon phosphate salin)  
**PC** : Protéine C  
**PE** : Phosphatidyl-éthanolamine  
**PH** : Potentiel hydrogène  
**PK** : Prékallicroïne  
**PL**: Phospholipides  
**PLA2**: Phospholipase A2  
**PNP** : Plasma normal poolé  
**PRP** : Plasma riche en plaquettes  
**PS/PT**: Phosphatidyl-serine/prothrombine  
**PS**: Protéine S  
**PT**: Prothrombine  
**SA** : Semaines d'aménorrhée  
**SAPL** : Syndrome des anti-phospholipides.  
**SCAPL** : Syndrome catastrophique des anti-phospholipides  
**TA** : Thrombose artérielle  
**TCA** : Temps de céphaline avec activateur  
**TCK** : Temps de céphaline kaolin  
**TFPI** : Tissue factor pathway inhibitor type I  
**TLR** : Toll-like receptor  
**Tm** : Thrombomoduline  
**TNF $\alpha$** : Tumor necrosis factor  $\alpha$   
**tPA** : tissue plasminogen activator  
**TTD** : Temps de thromboplastine dilué  
**TV** : Thrombose veineuse

**A2:** Thromboxane A2

**UI :** Unité internationale

**V :** Proaccéléline

**VCAM-1 :** Vascular-cell adhesion molecule-1

**VDRL:** Veneral disease research laboratory.

**VIH :** Virus de l'immunodéficience humaine

**VIII :** Facteur anti hémophilique A

**X :** Facteur Stuart

**XI :** Facteur Rosenthal

**XII :** Facteur Hageman

## GLOSSAIRE

**AVC (accident vasculaire cérébral)** : perte soudaine et non convulsive des fonctions neurologiques due à un évènement vasculaire intracrânien ischémique ou hémorragique. En général, les AVC sont classés par localisation anatomique, distribution vasculaire, étiologie, âge de l'individu affecté et nature hémorragique ou non hémorragique de l'accident.

**Avortement spontané ou fausse couche précoce** : fausse couche survenant avant la 10<sup>ème</sup> semaine de gestation (soit la 12<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée).

**$\beta$ 2GPI (béta-2 glycoprotéine I)** : aussi appelée apolipoprotéine H, la  $\beta$ 2GPI est une protéine ayant une grande affinité pour les phospholipides chargés négativement ; elle joue un rôle dans la coagulation et dans la réponse immune ; c'est un cofacteur associé à la cardioline contre lesquels sont dirigés des anticorps potentiellement thrombogènes.

**CAPS (catastrophic antiphospholipid syndrome)** : syndrome catastrophique des anti-phospholipides.

**Cardioline** : phospholipide présent à la surface des mitochondries, extrait du cœur de bœuf

**HELLP (Hemolysis, Elevated Liver enzyme, and a Low Platelet count in association with pre-eclampsia)** : syndrome associant une hémolyse, une cytolysé hépatique, une thrombopénie et une pré-éclampsie.

**INR (International Normalized Ratio)** : rapport normalisé international: mode d'expression standardisée du temps de Quick destiné à remédier aux variations dues aux différentes thromboplastines utilisées dans les laboratoires d'analyse .L'INR est égal au rapport du temps de Quick du malade sur le temps de Quick du témoin, ce rapport étant élevé à la puissance ISI (indice de sensibilité international). L'INR normal chez un sujet non traité est égal à 1

**Libman-Sacks (endocardite)** : endocardite non infectieuse observée au cours du syndrome des anti-phospholipides.

**Livedo** : érythrocyanose d'origine vasculaire, dessinant un réseau ; le livedo peut être physiologique (chez la femme jeune, livedo à mailles régulières et fines, non infiltré, siégeant sur les membres, souvent déclive, et variant selon la température extérieure) ; le livedo peut-être pathologique (âge tardif, aspect localisé ou suspendu, atteinte du tronc, caractère infiltré...) et désigné alors sous le terme de livedo reticularis ; le livedo reticularis est observé chez bon

nombre de patients atteints de syndrome des anti-phospholipides ; il existe aussi d'autres causes de livedo pathologique (vascularites, processus emboligènes, , syndromes myéloprolifératifs, s, médicaments...).

**Naissance prématurée** : naissance survenant avant la 34<sup>ème</sup> semaine de gestation (soit la 36<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée).

**Perte fœtale** : fausse couche survenant après la 10<sup>ème</sup> semaine de gestation (soit la 12<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée).

**Pré-éclampsie** : syndrome général qui atteint 5 % de femmes enceintes, classiquement au dernier trimestre de la grossesse, et qui associe une hypertension artérielle, une protéinurie, des œdèmes, une hyperuricémie, une thrombopénie, une augmentation des ASAT et un retard de croissance in utero. Sans traitement l'évolution se fait vers l'éclampsie.

**Eclampsie** : complication survenant en fin de grossesse, se traduisant par des œdèmes, la présence de protéines dans les urines et une hypertension artérielle suivis d'une crise convulsive (phase tonique puis clonique suivie de coma post critique

**Sneddon** : syndrome associant accidents vasculaires cérébraux, livedo reticularis et hypertension artérielle.

**TCA (temps de céphaline activé)** : c'est le temps de coagulation d'un plasma citraté déplaqueté auquel on ajoute un activateur des facteurs contacts, la céphaline, substitut du facteur 3 plaquettaire, puis après incubation à 37°C du CaCl<sub>2</sub> M/40. Le TCA normal varie suivant les activateurs, les céphalines commerciales et les appareils utilisés, de 30 à 40 secondes en général. La limite de la zone de normalité, à déterminer par chaque laboratoire, est située 6 à 10 secondes au-dessus du témoin.

**TPHA (Treponema Pallidum Haemagglutination Assay)** : test d'hémagglutination avec antigène tréponémique utilisé pour le diagnostic sérologique de la syphilis ; ce test se positive en 5 à 7 jours après l'apparition du chancre ; ce test est assez spécifique mais peut parfois être pris en défaut et doit alors être complété par un test FTA.

**VDRL : Venereal Disease Research Laboratory test**: test de dépistage avec antigène non tréponémique (cardiolipine) utilisé pour le diagnostic de la syphilis ; ce test se positive en 5 à 7 jours après l'apparition du chancre ; ce test n'est pas spécifique de la syphilis et se positive en cas d'anticorps anti-cardiolipine.

---

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

---

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une affection auto-immune, caractérisé sur le plan clinique par des événements thrombotiques ou obstétricaux et sur le plan immunologique par la présence d'auto-anticorps qui favorisent la thrombose (90).

Les Auto-anticorps retrouvés au cours du SAPL sont une famille très hétérogène d'anticorps circulants qui reconnaissent comme antigène soit directement les phospholipides (PL), soit des protéines se fixant sur les PL comme la bêta-2-glycoprotéine I ( $\beta$ 2GPI). Ils peuvent être transitoires lors de certaines infections ou persistants au cours du SAPL (42).

Les critères de classification du SAPL établis en 2006 lors de la conférence de Sydney indiquent la nécessité d'objectiver la présence persistante d'au moins un des auto-anticorps parmi les suivants : anticoagulants circulants lupiques ou lupus anticoagulants (LA), anticorps anticardioline (ACA) et anticorps anti-bêta2glycoprotéine I ( $\alpha\beta$ 2GPI), chez un malade donné présentant des manifestations cliniques thrombotiques ou obstétricales (90) (44).

Cependant d'autres manifestations cliniques en rapport avec les APL sont observées chez les patients atteints de SAPL telle que le livedo réticularis et les accidents ischémiques transitoires. D'autre part de nombreux auto-anticorps non conventionnels tel que les anticorps anti-phosphatidyl-éthanolamine ou les anticorps anti-complexes phosphatidylsérine/prothrombine pourraient avoir un intérêt diagnostique en l'absence des anticorps habituellement présents, mais font encore l'objet d'évaluation (42).

Il en est de même pour les isotype IgA des APL (anti cardiolipine et anti  $\beta$ 2GP1) qui font l'objet de controverses sur la possibilité de les introduire dans la démarche diagnostic du SAPL(117). La définition même du SAPL est donc jusqu'à ce jour en perpétuel remaniement vu le grand éventail des marqueurs biologiques et des signes cliniques qui accompagnent cette entité.

Des congrès internationaux sur les anticorps antiphospholipides (APLA) se déroulent tous les 2 ou 3 ans depuis 1984, afin d'actualiser les consensus déjà existants et d'élaborer de nouvelles recommandations, le 15 ème et le dernier d'entre eux s'est déroulé à Chypre du Nord en 2016. Durant ce dernier on a proposé (recommandé) de nouveaux critères factuels afin d'améliorer le diagnostic et la prise en charge du SAPL compte tenue de la mortalité importante liée au SAPL et des limites des critères actuels (32).

Dans cette étude nous faisons le point sur l'hétérogénéité et la pathogénie des APL. La mise au point sur le diagnostic du SAPL est tout autant concerné. On insiste particulièrement sur la compréhension du rôle de l'isotype IgA dans le diagnostic du SAPL, à la lumière des nouvelles recommandations consensuelles internationales.

# **Partie Théorique**

# **PARTIE THEORIQUE**

---

## **I-INTRODUCTION AU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES**

### **I.1 Rappel sur l'auto-immunité**

#### **I.1.1 Définition et classification des maladies auto-immunes**

L'auto-immunité est un phénomène physiologique lié au réarrangement aléatoire des gènes codant les récepteurs des lymphocytes T et B (immunoglobulines) (1). Elle est donc définie comme étant une réponse immunitaire dirigée contre des antigènes du soi (antigènes autologues) dû à une activation des lymphocytes T et B auto réactifs. (2).

On distingue des maladies auto-immunes spécifiques d'organes et des non spécifiques d'organes ou systémiques (Tableau 1) (1).

**Tableau 1:Maladies auto-immunes(1).**

<b>Exemples de maladies auto-immunes spécifiques d'organe</b>	<b>Exemples de maladies auto-immunes systémiques ou non spécifiques d'organe</b>
Diabète de type 1 Thyroïdite auto-immune Hépatopathies auto-immune Myasthénie Maladies bulleuses auto-immune Vitiligo Uvéite auto-immune Rétinite auto-immune Cytopénies auto-immunes	Lupus érythémateux systémique Syndrome de Gougerot-Sjôgren Polyarthrite rhumatoïde Sclérodémie systémique Myopathies auto-immunes Connectivite mixte Vascularite primitive Polychondrite atrophiante Syndrome des anti-phospholipides

#### **I.1.2 Epidémiologie**

Il s'agit de maladies touchant 5 à 10% de la population mondiale. Dans 80% des cas, ce sont des pathologies à prédominance féminine.

La morbidité de ce groupe de maladies, est liée à la pathologie elle-même ou en rapport avec les effets secondaires des traitements spécifiques (3) (4).

Elles représentent la troisième cause de morbidité des pays développés, après les maladies cardiovasculaires et cancéreuses. (5) (6) (7).

#### **I.1.3 Tolérance immunitaire**

La tolérance immunitaire est l'absence de réponse spécifique à un antigène qui est normalement induite par l'exposition des lymphocytes à cet antigène. Tous les individus sont tolérants (c'est-à-dire non répondeurs) envers leurs propres antigènes (soi).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

Elle est induite lorsque les lymphocytes en développement rencontrent ces antigènes dans les organes lymphoïdes primaires (tolérance centrale) ou lorsque les lymphocytes matures rencontrent les antigènes du soi dans les organes lymphoïdes secondaires ou les tissus périphériques (tolérance périphérique) (2).

### **I.1.4 Mécanismes lésionnels dans les maladies auto immunes**

Les modèles animaux ont permis de mettre en évidence deux types de mécanismes physiopathologiques de maladies auto-immunes :

- **Une réponse immunitaire essentiellement humorale** : des auto-anticorps sont alors retrouvés au niveau des lésions tissulaires. Ces maladies peuvent être améliorées par des plasmaphérèses. Elles représentent une minorité des maladies auto-immunes ;
- **Une réponse immunitaire essentiellement cellulaire** : dans ces maladies auto-immunes, des lymphocytes T sont retrouvés au niveau lésionnel et des lymphocytes T auto réactifs peuvent être mis en évidence. Il existe une prédisposition HLA en faveur d'un rôle des lymphocytes T dans la maladie (par exemple : gènes de classe II). (1)

### **I.1.5 Rôle des auto-anticorps**

Les auto-anticorps peuvent avoir un rôle pathogène par différents mécanismes :

- Ils peuvent être cytotoxiques en présence du complément ;
- Ils peuvent aussi opsoniser la cellule ou la structure portant l'auto-antigène, provoquant ainsi sa destruction par les macrophages ;
- Certains auto-anticorps interfèrent avec des récepteurs cellulaires. C'est le cas des auto-anticorps bloquants (anticorps anti-récepteur de l'acétylcholine de la myasthénie) ou des auto-anticorps agonistes (anti-récepteur de la TSH stimulant les thyrocytes dans la maladie de Basedow) ;
- Enfin, certains auto-anticorps interfèrent avec différentes structures cellulaires comme par exemple, les anticorps anti-phospholipides . (1)

### **I.1.6 Rôle des lymphocytes T**

Des lymphocytes T peuvent aussi, de manière conjointe ou isolée, être directement responsables des lésions de certaines maladies auto-immunes en participant à la réaction inflammatoire par la synthèse de cytokines (TCD4) ou en induisant des lésions cellulaires par l'exocytose de molécules cytotoxiques ou l'engagement des récepteurs de la mort conduisant à l'apoptose. (1).

## PARTIE THEORIQUE

### I.1.7 Etiologies

#### I.1.7.1 Facteurs génétiques

Le terrain immunogénétique est fondamental comme le suggère le caractère familial fréquent des maladies auto-immunes. (6).

Différents gènes sont candidats : gènes du système HLA, gènes de la fraction du complément, gènes de cytokines. Par exemple, le système HLA DR4 pour la Polyarthrite Rhumatoïde (figure1).

#### I.1.7.2 Facteurs environnementaux

Voici une liste non exhaustive des facteurs environnement-dépendants (8):

Alimentation(le gluten dans la Maladie cœliaque), tumeurs(le Vitiligo secondaire à un mélanome), Infections (l'hépatite B corrélée à la Périarthérite noueuse) (9), Facteur hormonal, Certains médicaments (le procainamide ou l'hydralazine dans le lupus) (1), dépression, stress. (6) (10) (Figure1).

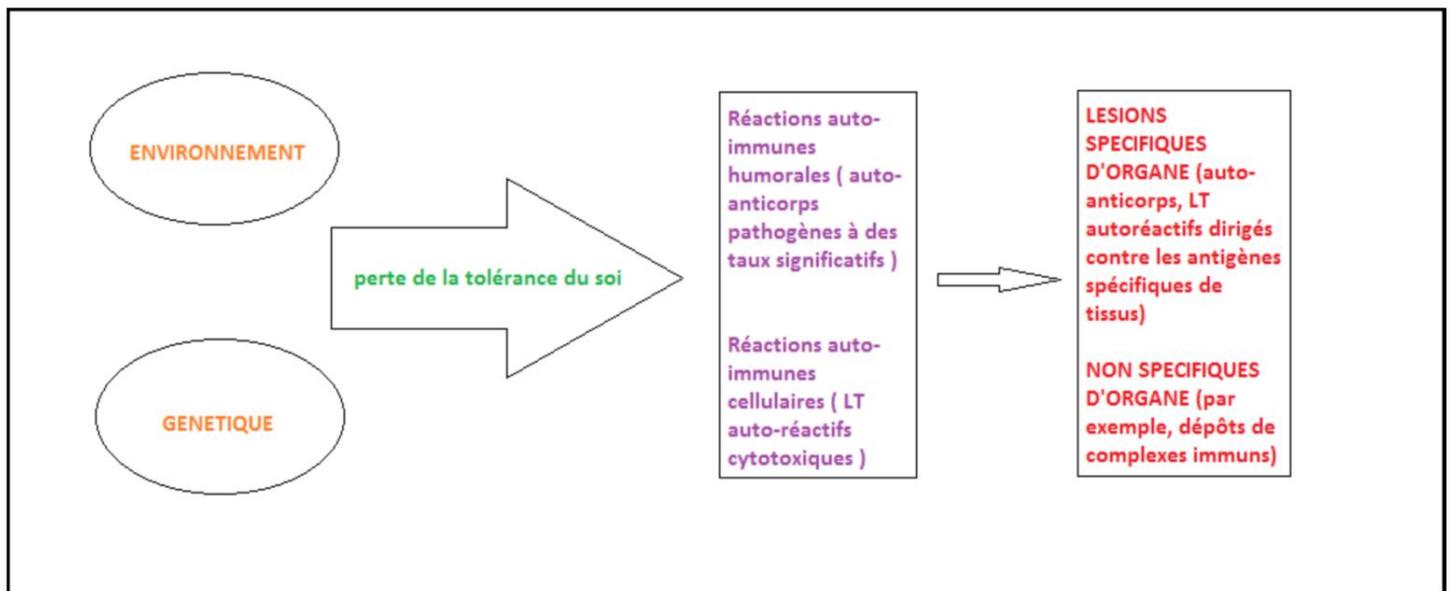


Figure 1: MAI, synthèse physiopathologie et étiologies(1)

#### I.1.8 Aspects diagnostiques et traitement

Le diagnostic repose sur des anomalies **cliniques** (lésions cutanées, des signes articulaires et une atteinte de l'état général), **biologiques** (syndrome inflammatoire, auto-anticorps) , parfois **anatomopathologiques** ou **radiologiques**.

La présence d'auto-anticorps isolés dans le sérum d'un sujet ne signifie pas toujours que le sujet est **atteint d'une maladie** auto immune (1).

Le traitement est discuté au cas par cas. Des corticostéroïdes et d'autres immunosuppresseurs peuvent être nécessaires (1).

### **I.2 Syndrome des anti-phospholipides**

#### **I.2.1 Définition et classification**

Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) est une affection systémique auto-immune définie initialement en 1987 puis les critères diagnostiques ont été affinés en 1999 par Sapporo et révisés en 2005 lors de la conférence de Sydney (11).

Il constitue une entité clinico-biologique caractérisée par des manifestations cliniques dominées par la survenue d'évènements thrombotiques veineux et/ou artériels et/ ou microvasculaires et de complications obstétricales associées à la présence persistante d'au moins un des anticorps anti-phospholipides (aPL) : anti-cardiolipines (ACA), anti- $\beta$ 2 glycoprotéine 1 (a  $\beta$ 2GPI) ou les anticoagulants circulants de type lupique (LA) (12).

Ce syndrome a été initialement décrit au cours du lupus systémique, mais on en distingue à présent deux formes (13) :

- Le SAPL primaire s'il n'est associé à aucune maladie l'accompagnant habituellement en particulier auto-immune.
- le SAPL secondaire, généralement associé au lupus, plus rarement à une autre maladie auto-immune : le plus souvent, alors, à une connectivite.

Plutôt que de parler isolément de SAPL secondaire, Au symposium de Sydney, il a été déconseillé d'utiliser le terme générique de SAPL secondaire mais de préciser à quelle maladie il était associé (14) .

#### **I.2.2 Historique**

- ✚ **En 1906** C'est August Wasserman qui (15), est à l'origine de la découverte des anticorps anti-phospholipides avec un test diagnostique de la syphilis qui utilisait la réaction de fixation du complément développée par Jules Bordet, le fameux test de Bordet-Wasserman (BW). L'antigène utilisé dans le BW initial était un extrait de foies issus de fœtus avec syphilis congénitale appelé « réagine »
- ✚ **En 1941**, Marie Pangborn démontrait que la réagine était un phospholipide anionique dénommé par la suite « cardiolipine » parce qu'il était isolé à partir du muscle cardiaque (16). C'est ainsi que, durant plusieurs décennies, un extrait alcoolique de cœur de bœuf fut utilisé comme antigène dans le test de dépistage de la syphilis connu sous le terme de *Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)*.
- ✚ L'utilisation à grande échelle du VDRL a révélé un nombre important d'individus avec une sérologie de la syphilis dite « faussement positive », car ils ne présentaient aucun

## PARTIE THEORIQUE

---

symptôme clinique de la syphilis et le test d'immobilisation du tréponème était négatif. La plupart d'entre eux étaient des femmes (16).

- ✚ **En 1952**, Moore et Mohr ont été les premiers à décrire une telle « fausse sérologie » (17). Lorsqu'elle était transitoire, elle se retrouvait au cours de maladies infectieuses autres que la syphilis ; et lorsqu'elle était persistante, elle était le plus souvent associée à une maladie auto-immune, essentiellement le lupus érythémateux aigu disséminé (LEAD). C'est ainsi que le « faux BW » était devenu un des critères biologiques de diagnostic du LEAD établis par l'American Rheumatism Association (ARA).
- ✚ Une association entre la présence de LA et des manifestations thrombotiques chez des patients lupiques a été décrite par certains auteurs, dont Soulier et Boffa qui, **dès 1980**, ont rapporté l'association d'avortements répétés et de thromboses avec la présence d'un anticoagulant circulant (18).
- ✚ **En 1983**, Harris et ses collaborateurs, ont mis au point un test radio-immunologique pour la détection des ACA (19), remplacé deux ans plus tard par un test Elisa (20), ce qui a permis d'étudier la signification clinique de ces anticorps chez les patients lupiques.
- ✚ **En 1985** Une incidence élevée de thromboses et de morbidité fœtale chez des patients lupiques positifs pour ces anticorps a été observée, et c'est ainsi qu'une nouvelle entité, à la fois clinique et biologique, a émergé. Elle fut, dans un premier temps, appelée « syndrome des anti-cardiolipine » (21), puis SAPL parce que les anticorps reconnaissaient des phospholipides autres que la cardiolipine (22) .
- ✚ **En 1989**, des travaux menés par le groupe « Hughes » ont permis de dissocier le sapl du lupus ainsi que le sapl primaire du sapl secondaire auquel est associé un lupus ou une autre maladie auto-immune (23) (24).
- ✚ **Depuis 1990**, plusieurs équipes ont montré que les anticorps les plus pathogènes n'étaient pas dirigés uniquement contre les phospholipides anioniques mais contre les protéines plasmatiques liant ces phospholipides appelés cofacteurs protidiques: la bêta-2-glycoprotéine I ( $\beta$ 2GPI) (25) et la prothrombine (26), principalement d'autres cofacteurs protidiques, comme les protéines C et S, l'annexine V et le Kininogène de haut poids moléculaire (KHPM) peuvent être plus rarement impliqués (27).
- ❖ **1996-2016: Critères et collaboration internationale**
- ✚ Des réunions internationales ont eu lieu tous les 2 ou 3 ans depuis 1984, la conférence d'Istanbul (relocalisée à Chypre du Nord en 2016) étant la quinzième. Le forum européen a débuté en 1996 (28); *L'APS Alliance for Clinical Trials and International Networking (APS-ACTION)* est un groupe dédié aux essais cliniques qui a débuté en

## **PARTIE THEORIQUE**

---

2010 (29).

- ✚ Des comités de consensus internationaux ont défini des critères cliniques et biologiques pour la classification du SAPL, d'abord à Sapporo en 1998 (30), avec une révision à Sydney en 2005 (13), et de nouveaux efforts pour développer de nouveaux critères classification sous les auspices du Quinzième Congrès (31).

### ❖ **L'avenir**

De nombreuses questions cliniques importantes ne sont pas encore résolues et nécessitent d'être convenablement traités. La réponse à ces questions pourrait nous faire espérer une meilleure compréhension du SAPL. Ces questions sont les suivantes (32):

- Pour quel raison le SAPL et le LEAD sont-ils liés ?
- Peut-on dissocié le SAPL obstétrical du SAPL thrombotique ?
- Par quels mécanismes se produisent les manifestations chroniques du SAPL (néphropathie, livedo, valvulopathie, dysfonction cognitive)?
- Quelle est la relation entre les apl induits par l'infection et les aPL d'origine auto-immune?
- Qu'est-ce qui explique la nature familiale du SAPL?
- Qu'est-ce qui explique la répartition sexuelle et raciale du SAPL ?
- Les meilleurs agents thérapeutiques ciblent-ils les molécules effectrices, les cellules endothéliales, les plaquettes, les facteurs de coagulation, les molécules immunologiques, ou une combinaison de ces éléments?
- Qu'est-ce qui distingue un profil d'anticorps (positivité simple) d'un autre (double ou triple)?
- Pourquoi les apl persistent malgré le traitement?
- Qu'est ce qui transforme les APL asymptomatique en SAPL ?

### **I.2.3 Epidémiologie**

- ✚ Le nombre d'études épidémiologiques sur le SAPL est limité. Seules quelques grandes cohortes de SAPL sont disponibles pour estimer sa distribution dans différents genres, races et régions géographiques (33) (34).
- ✚ Bien que la prévalence des aPL (à des taux faibles ou élevées) soit de 10% dans une population générale en bonne santé, la persistance de positivité du LA ou des ACA / a $\beta$ 2GPI à des taux modérés à élevées est rare.

## PARTIE THEORIQUE

---

- ✚ D'après une étude, les prévalences de l'a $\beta$ 2GPI et de l'ACA sont respectivement de 3,9% et 1,6% chez les femmes enceintes en bonne santé à 15-18 semaines de gestation (32).
- ✚ Selon une revue de littérature, la fréquence des aPL a été estimée à 6% chez les patients présentant des complications obstétricales, 13,5% chez ceux présentant des AVC, 11% chez les patients présentant un infarctus du myocarde et 9,5% chez les patients atteints de thrombose veineuse profonde (32).
- ✚ Au cours du LEAD, 30-40% des patients ont des aPL; lorsque chaque aPL est étudiée individuellement, les prévalences de positivité du LA et des ACA varient entre 11-30% et 17-40%, respectivement (32).
- ✚ Une autre revue a rapporté la prévalence des aPL chez des patients atteints de LEAD dans différentes régions géographiques: 18-27% en Amérique du Nord, 16-39% en Amérique du Sud, 14-31% en Europe, 13-17% en Afrique et 13-44% en Asie (35).
- ✚ Dans l'étude de l' *'Europhospholipid project' (Euro-APS)*, analysant une cohorte de 1000 patients suivis pour un SAPL dans différents centres européens, l'âge moyen d'apparition des premiers symptômes était de 34 ans et l'âge moyen au diagnostic 42 ans, le sexe ratio était de 5 femmes pour 1 homme, soit un ratio de 7,0 chez les patients avec LEAD et un ratio de 3,5 chez les patients sans LEAD (33). Après l'exclusion du SAPL obstétricale, le ratio était de 1,0 chez les patients sans LEAD (33) (32).
- ✚ Une analyse spécifique de l'APS ACTION a pour sa part montré que sur 638 patients le ratio Femme/Homme était de 4,2, 2,7 et 1,4 chez les patients atteints de SAPL associé au LEAD, SAPL sans LEAD, ou SAPL sans LEAD mais associé à des anomalies obstétricales, respectivement (32).
- ✚ Les présentations cliniques du SAPL chez les hommes et les femmes diffèrent: dans une étude transversale sur les patients atteints de SAPL primaire, les femmes avaient une fréquence plus élevée d'embolie pulmonaire et d'ACA d'isotype IgM (36); une autre étude a montré une prédominance féminine pour les événements cérébro-vasculaires tandis que les Hommes étaient le plus souvent atteints de thromboses gastro-intestinales (37) (32).
- ✚ La distribution raciale du SAPL est inconnue. Les premières études évaluant la prévalence des APL (pour tout isotype ACA) dans le SAPL primaire ou liée au LEAD ont rapporté 44-88% de patients européennes, 11-33% d'Afro-Américains, 7-53% d'Hispaniques et 17-46% d'Asiatiques (38) (32).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

- ✚ Diri et al. (39) ont rapporté une série de huit patients afro-américains atteints de SAPL dans laquelle ils ont déclaré que l'IgA est l'isotype le plus fréquent de l'ACA et de l'a $\beta$ 2GPI; l'isotype IgM accompagnait l'IgA chez trois des quatre patients présentant des manifestations neurologiques. (32)
- ✚ Selon *l'Europospholipid project*, la prévalence des APL augmente avec l'âge et jusqu'à 50% des patients âgés atteints d'une maladie chronique présentaient des APL. Les patients les plus âgés qui étaient atteints de SAPL étaient principalement des hommes et avaient une incidence plus élevée de thrombose artérielle (33).
- ✚ L'âge moyen au décès était de 59 ans et les événements thromboemboliques majeurs en représentaient l'étiologie principale (36,5%). Les autres causes de décès étaient principalement les infections (26,9%), les pathologies néoplasiques (13,9%) et les accidents hémorragiques (10,7%) (32).

### **I.2.4 Anticorps anti-phospholipides**

#### **I.2.4.1 Rappel sur les phospholipides**

##### **I.2.4.1.1 Définition et classification**

Ce sont des molécules complexes contenant, outre C, H et O, du phosphore et éventuellement de l'azote. L'alcool, qui est lié à un ou deux acides gras, est soit le glycérol, soit un alcool aminé à chaîne grasse : la sphingosine. On parle donc, selon le cas, de glycérophospholipide (phosphatidyl-choline, cardiolipine) ou de sphingo-phospholipide (sphingomyéline).

Les phospholipides sont classés selon leur charge nette à pH neutre. On distingue donc :

- Les phospholipides anioniques qui sont la cardiolipine (ou diphosphatidylglycérol), la phosphatidyl-sérine, le phosphatidyl-glycérol et le phosphatidyl-inositol ;
- les phospholipides neutres qui sont la phosphatidyl-éthanolamine, la sphingomyéline et la phosphatidyl-choline.

##### **I.2.4.1.2 Phospholipides impliqués dans le SAPL**

Les phospholipides incriminés dans le SAPL sont des constituants normaux des membranes biologiques, organisés en bicouches et classés selon leur charge nette à pH neutre (40).

On compte parmi ces derniers (40) (41) :

###### **❖ Cardiolipine**

Le terme français est « cardiolipide », elle est absente de la surface cellulaire, elle est un constituant de la membrane interne des mitochondries. Sa présence dans le plasma a été établie, associée à des lipoprotéines et à la surface de cellules apoptotiques.

###### **❖ Phosphatidyl-sérine**

## **PARTIE THEORIQUE**

---

Elle est séquestrée dans le feuillet interne de la membrane plasmique et est exposé à la surface de la cellule et des microparticules qui s'en détachent après stimulation appropriée, phénomène à l'origine de l'assemblage des complexes enzymatiques de la coagulation.

### **❖ Phosphatidyl-éthanolamine**

C'est un phospholipide neutre, composant majeur de la membrane cellulaire dont la présence est indispensable à l'activité anticoagulante de la protéine C activée.

Sa conformation est soit hexagonale, soit, le plus fréquemment, lamellaire en bicouche.

### **I.2.4.2 Auto-anticorps anti-phospholipides**

Le terme « anticorps anti-phospholipides » désigne une large famille d'anticorps très divers quant à leurs spécificités antigéniques et leur signification clinique.

Ces anticorps peuvent reconnaître des phospholipides anioniques ou neutres telles que la cardiolipine ou la phosphatidyl serine, mais aussi certaines protéines plasmatiques associées aux phospholipides, voire même ces protéines seules telles que la  $\beta$ 2glycoprotéine 1 et la prothrombine (42) (32).

Ces anticorps ne sont pas spécifiques du SAPL. Ils peuvent être rencontrés au cours des infections (dont la syphilis, la lèpre, les hépatites virales et l'infection par le VIH ou l'EBV...), certains traitements médicamenteux (chlorpromazine, bêtabloquants, quinidiniques et interférons principalement), des néoplasies (hémopathies malignes et tumeurs solides), voire chez des individus sains. Ces APL sont généralement transitoires et ne prédisposent pas à un risque thrombotique, contrairement à ceux détectés chez les patients avec SAPL (43).

Les APL admis comme critères du SAPL sont appelés « APL conventionnels » par opposition à d'autres anticorps non reconnus comme critères du SAPL mais pour lesquels certaines études ont montré une association avec les anomalies cliniques de ce syndrome (42).

#### **I.2.4.2.1 Anticorps anti-phospholipides conventionnels**

On considère deux groupes d'APL selon le type de méthode utilisée pour les mettre en évidence (42) (32):

- les APL mis en évidence par des réactions immuno-enzymatiques, essentiellement l'Elisa : c'est le cas des ACA et des  $\alpha$   $\beta$ 2GPI d'isotype IgG et IgM.
- les APL mis en évidence par des tests fonctionnels de la coagulation : c'est le cas du LA.

### **❖ Anticorps anti cardiolipine**

Les ACA ont été les premiers APL à la base de la définition du SAPL. Les premiers tests Elisa pour mettre en évidence la présence d'APL utilisaient donc de la cardiolipine Depuis,

## **PARTIE THEORIQUE**

---

toutes les différentes tentatives de standardisation ont été pratiquées à la base de cet antigène (42) (44).

Les ACA sont polyspécifiques : ils sont capables de reconnaître la plupart des phospholipides anioniques avec une intensité variable. Cependant, leur réactivité vis-à-vis de la phosphatidyl-serine et de la cardiolipine est quasi identique (42) (32).

On oppose deux types d'ACA, selon qu'ils soient dépendants ou non de la présence de cofacteurs plasmatiques (42).

Au cours des maladies auto-immunes, dont le SAPL ou le lupus, la cible antigénique des ACA est constituée par un complexe cardiolipine-cofacteur plasmatique.

La beta2-glycoprotéine I ( $\beta$ 2GPI), protéine plasmatique, a été identifiée comme le principal cofacteur des ACA (42).

### **❖ Anticorps anti $\beta$ 2 glycoprotéine 1**

#### **🚦 Rappel sur la $\beta$ 2GPI**

La  $\beta$ 2GPI ou « apolipoprotéine H » est une glycoprotéine présente dans le plasma de sujets normaux avec une concentration moyenne de 200mg/ml. Elle circule dans le plasma sous forme libre (2 tiers) ou sous forme liée à des lipoprotéines (1 tiers) (43).

Elle est principalement synthétisée par le foie, mais aussi par les cellules endothéliales et placentaires, ce qui suggère la possibilité que ces organes puissent être affectés par les  $\alpha\beta$ 2GPI.

Cette protéine est très conservée entre les espèces (homologie de 89 % entre  $\beta$ 2GPI bovine et humaine) ; c'est la raison pour laquelle le sérum de veau fœtal est souvent utilisé pour la détection des ACA dépendants en  $\beta$ 2GPI (42).

Elle est constituée d'une seule chaîne polypeptidique de 326 acides aminés, organisée en cinq domaines « sushi » de 60 acides aminés (42) (44).

Elle existe sous deux états conformationnels, l'un circulaire et circulant dans le plasma et l'autre ouvert et lié aux PL (43) (45).

Elle présente une forte affinité pour les molécules chargées négativement comme l'ADN, l'héparine et les PL anioniques et c'est au niveau du cinquième domaine que se situe le site de liaison à ces dernières constitué de deux résidus, la Lys305 et la Lys317 (43) (figure 2).

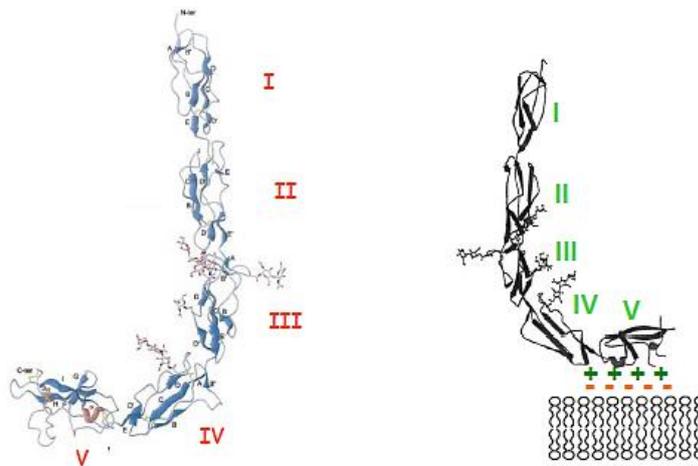
En condition physiologique, la  $\beta$ 2GPI possède une faible affinité pour les phospholipides anioniques comparée aux facteurs de la coagulation (46).

Ses effets physiologiques restent encore, à ce jour, méconnus. Son activité anticoagulante in vivo est probablement modérée, compte tenu de l'absence de manifestations thrombotiques chez les sujets porteurs d'un déficit constitutionnel (43).

## PARTIE THEORIQUE

---

In vitro, la  $\beta$ 2GPI a des effets anticoagulants qui pourraient être la conséquence de sa liaison aux phospholipides anioniques impliqués dans la coagulation (42).



**Figure 2: Représentations structurales de la  $\beta$ 2GPI.**

### ✚ Anticorps anti $\beta$ 2GPI

Les  $\alpha\beta$ 2GPI sont hétérogènes quant à leurs spécificités antigéniques, ce qui a un impact important sur les méthodes utilisées pour leur détection et sur leur valeur prédictive vis à vis du SAPL. Ils reconnaissent divers épitopes qui peuvent être soit des épitopes présents sur la molécule native, soit des épitopes cryptiques révélés après l'interaction de la  $\beta$ 2GPI avec une surface anionique. Ces anticorps de spécificités différentes peuvent être présents dans un même sérum (42).

Les épitopes les plus connus, sont localisés sur les domaines I et II de la molécule.

Parmi les anti- $\beta$ 2GPI, seuls ceux qui sont dirigés contre le domaine I de la protéine sont fortement associés à un risque thrombotique (42) (43) (32) (47).

Les anti- $\beta$ 2GPI pathogènes qui se lient à cette dernière provoquent sa dimérisation, celle-ci est à l'origine d'une plus forte affinité de ce complexe anticorps-antigène pour les surfaces anioniques (42) (43).

Une augmentation d'un facteur 100 à 1000 a été décrite (48).

### ❖ Lupus anticoagulant

Le terme « lupus anticoagulant » (LA) est impropre parce que le LA n'est pas spécifique du LEAD et parce que sa présence est associée à des événements thrombotiques in vivo bien qu'il exerce une action anticoagulante in vitro. Il est détecté sur la base de sa capacité à prolonger certains tests de coagulation dépendant des phospholipides (42) (12).

Sous le terme « LA » sont regroupés des anticorps qui diffèrent par leur dépendance ou non à

## **PARTIE THEORIQUE**

---

la présence de cofacteurs plasmatiques, par la nature de ces cofacteurs ( $\beta$ 2GPI, prothrombine), et par leur implication dans les complications thrombotiques (42).

Plusieurs auteurs, et en particulier Arnoult, ont montré que certains LA étaient en fait l'expression fonctionnelle des  $\alpha$   $\beta$ 2GPI (42) (47).

Parmi les APL, les LA dépendants en  $\beta$ 2GPI sont plus associés à un risque de thrombose et plus impliqués dans la pathogénie thrombotique par rapport aux LA dépendants en prothrombine (42) (47).

La fonction LA de certains  $\alpha$   $\beta$ 2GPI et anticorps anti-prothrombine serait due à la formation de complexes antigène-anticorps bivalents qui se lieraient avec une très haute avidité aux phospholipides de surface (42) (47), ce qui provoque in vitro la compétition avec les facteurs de la coagulation du complexe prothrombinase (44) responsable ainsi de l'allongement des tests de coagulations dépendants des phospholipides.

Enfin, l'activité LA peut être due à des APL dirigés uniquement contre les PL (44).

### **I.2.4.2.2 Anticorps anti-phospholipides non conventionnels**

D'autres anticorps anti-phospholipides ont été décrits, comme les anticorps anti phosphatidyl-éthanolamine, anti-prothrombine, anti-annexine V, anti-protéine S, anti protéine C, etc. Ces différentes spécificités constituent le « puzzle des anti-phospholipides » (42).

Certains de ces anticorps sont anecdotiques alors que d'autres, en particulier les anticorps anti-prothrombine et les  $\alpha$ PE, parce qu'ils sont très associés aux complications cliniques du SAPL, peuvent apporter une aide au diagnostic (42).

Comme dans le cas des APL conventionnels, les deux isotypes doivent être recherchés. (42)

#### **❖ Anticorps anti-prothrombine**

La prothrombine humaine, ou facteur II, fait partie du complexe prothrombinase avec les facteurs Va, Xa et la phosphatidyl-serine en présence de calcium.

Certains auteurs ont rapporté la présence de ces anticorps chez des patients ayant un LA, avec une prévalence d'environ 70 %.

Les anticorps anti-prothrombine sont hétérogènes quant à leur spécificité antigénique et certains reconnaissent des épitopes natifs alors que d'autres reconnaissent des néo-épitopes suite à leurs liaisons à une surface anionique.

C'est ainsi que deux populations d'anticorps anti prothrombine ont été identifiées :

- Anticorps dirigés contre la prothrombine.
- Anticorps dirigés contre le complexe phosphatidyl-serine/prothrombine qui sont étroitement associés avec le SAPL (49) (42) (44).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **❖ Anticorps anti phosphatidyl-éthanolamine**

Les anticorps anti-phosphatidyl-éthanolamine représentent un groupe hétérogène. Ils peuvent réagir soit avec la PE seule, soit avec des complexes PE-protéines plasmatiques (kininogène de haut poids moléculaires, facteur XI) (42).

Les aPE ont été décrits significativement associés à la présence de pertes fœtales récidivantes qu'ils soient dépendants ou non de la présence d'un cofacteur plasmatique et avec l'isotype IgG représentaient un facteur de risque élevé de survenue de thrombose veineuse (42) (44).

L'intérêt de ces anticorps réside dans le fait qu'ils soient détectés, le plus souvent, en l'absence des APL conventionnels (42).

A ce jour, aucune tentative de standardisation de l'Elisa pour la détection des aPE n'a été menée (42) (44).

### **❖ Anticorps anti annexine V**

L'annexine V est une protéine placentaire retrouvée en faible quantité dans le plasma. In vitro, elle exerce une puissante activité anticoagulante, mais ses fonctions physiologiques ne sont pas connues (43).

Quelques études ont décrit la présence d'anticorps anti-annexine V chez des patients présentant des événements cliniques évocateurs d'un SAPL, thromboses et/ou pertes fœtales (32) (50).

Cependant, leur prévalence dans ces contextes cliniques est faible et les études étant peu nombreuses et parfois contradictoires ; leur valeur clinique est loin d'être établie (12).

### **❖ Divers**

#### **✚ Anticorps dirigés contre la protéine C ou la protéine S**

La protéine C et la protéine S sont des inhibiteurs physiologiques de la coagulation.

La protéine C activée et son cofacteur, la protéine S, inhibent les facteurs Va et VIIIa (43).

Des anticorps dirigés contre ces protéines ont été décrits chez des patients ayant un SAPL.

Cependant, ces résultats sont contredits par d'autres études (12).

#### **✚ Autres anticorps**

Ils ont été décrits de façon anecdotique chez des patients ayant des anomalies cliniques du SAPL: l'anti-facteurs X (32) et l'anti-TFPI (inhibiteur de la voie du facteur tissulaire) (43).

### **I.2.5 Liens entre le syndrome des anti-phospholipides et le lupus**

Le Lupus érythémateux aigu disséminé (LEAD) est une maladie auto-immune systémique dont l'aspect clinique est très polymorphe et dont l'origine multigénique laisse la place à des facteurs environnementaux susceptibles de provoquer des poussées évolutives.

## **PARTIE THEORIQUE**

---

Les anomalies immunologiques se traduisent par la présence de nombreux auto-anticorps qui constituent une aide précieuse au diagnostic et contribuent, pour certains, au développement des lésions tissulaires (1).

L'individualisation du SAPL a profondément modifié la prise en charge du lupus en permettant de mieux comprendre la physiopathologie de certaines complications viscérales, notamment neurologiques, cardiovasculaires ou rénales.

Devant une atteinte viscérale chez un patient lupique, il est important de différencier ce qui relève d'un mécanisme thrombotique, satellite du SAPL et dont la base du traitement repose sur les anticoagulants, et ce qui est lié à des complications immunologiques plus spécifiques du lupus et dont le traitement repose sur les corticoïdes ou les immunosuppresseurs tout en sachant que ces deux mécanismes peuvent être associés.

La recherche d'APL fait désormais partie du bilan biologique systématique réalisé au cours du lupus et la positivité des APL est maintenant prise en compte dans les nouveaux critères de classification du lupus.

Des APL sont présents dans 25 % des cas au moment du diagnostic de lupus et dans près de 50 % au cours de l'évolution.

En l'absence de traitement prophylactique, le risque d'accident thrombotique est élevé et il est démontré que l'existence d'un SAPL a une influence péjorative sur l'évolution du lupus, notamment en termes de survie globale (51).

## **II. PATHOGENIE DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES :**

### **II.1 Rappel sur l'hémostase**

#### **II.1.1 Définition**

L'hémostase est un processus physiologique qui permet de limiter les pertes sanguines provoquées par une effraction vasculaire grâce à la formation rapide d'un caillot fait de plaquettes agrégées associées dans un réseau de fibrine et amarrées aux parois de la brèche vasculaire (52).

#### **II.1.2 Etapes de l'hémostase**

L'hémostase se déroule en trois étapes (52):

##### **II.1.2.1 Hémostase primaire**

L'hémostase primaire correspond à l'ensemble des interactions entre la paroi vasculaire, les plaquettes sanguines et des protéines adhésives qui aboutissent à l'obturation de la brèche vasculaire grâce à la formation d'un thrombus blanc essentiellement plaquettaire (52).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

L'enchaînement des réactions suivant une brèche vasculaire est la suivante (52) :

- la contraction musculaire.
- L'adhésion plaquettaire
- L'activation plaquettaire
- L'agrégation plaquettaire

### **II.1.2.2 Coagulation**

La coagulation plasmatique est la seconde phase de l'hémostase. Elle est constituée d'une activation en cascade de protéines circulant sous forme zymogène (facteurs II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII), qui acquièrent une activité enzymatique de type sérine-protéase (facteurs II activés ou IIa, Va, etc...). Cette cascade aboutit à la transformation du fibrinogène (facteur I) soluble en fibrine insoluble. Parmi ces facteurs, certains nécessitent pour être actifs d'être synthétisés en présence de vitamine K (facteurs vitamines K dépendants : II, VII, IX, X) (52).

On distingue deux voies de la coagulation (52):

#### **II.1.2.2.1 Voie extrinsèque**

La coagulation est initiée par le contact entre le facteur tissulaire et le facteur VII, qui s'active en facteur VIIa.

Le facteur tissulaire (FT) est un récepteur exprimé par de nombreuses cellules de l'organisme, mais est absent physiologiquement du secteur vasculaire.

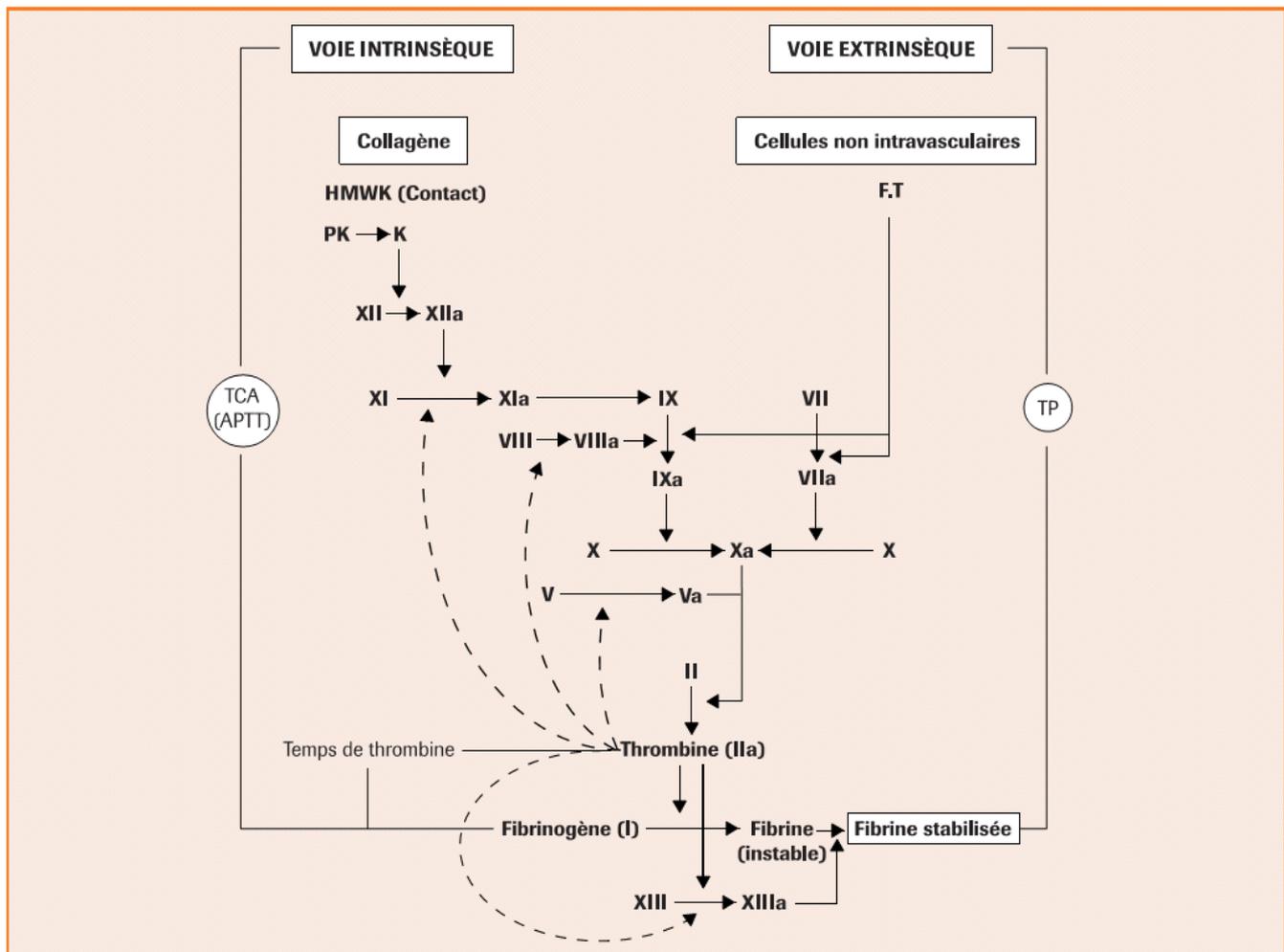
FVIIa-FT active le FX en FXa ; et aussi le FIX en FIXa qui activera ensuite le X. La génération du FXa est fortement accélérée par le VIIIa.

#### **II.1.2.2.2 Voie intrinsèque**

C'est une autre voie d'activation du FIX et du FX, qui fait intervenir les facteurs de la phase contact, c'est-à-dire les FXII et FXI, initiée par contact entre le sang et une surface mouillable ou chargée négativement, en présence de prékallicroïne et Kininogène de haut poids moléculaire (KHPM).

Le FXa généré des 2 voies (intrinsèque et extrinsèque) s'associe aux phospholipides, au FVa et au calcium pour former le complexe prothrombinase qui active la prothrombine (FII) en thrombine FIIa (figure 3).

La thrombine transforme le fibrinogène en monomère de fibrine.



**Figure 3: Les 2 voies de la coagulation et les tests in vitro d'exploration de la coagulation plasmatique (52)**

### II.1.2.3 Fibrinolyse

La fibrinolyse correspond à la solubilisation du thrombus fibrineux par la plasmine normalement générée à partir du plasminogène lié et adsorbé sur la fibrine.

Le plasminogène synthétisé par le foie a une forte affinité pour la fibrine. La plasmine est générée par clivage peptidique, sous l'action d'activateurs du plasminogène.

Le principal activateur est le tissu plasminogène activator (t-PA) ; le deuxième activateur du plasminogène est l'urokinase (l'u-PA) (52).

### II.2 Origine des anticorps anti-phospholipides

Les agents infectieux sont les principaux déclencheurs de la production d' $\alpha_2$ GPI. D'autres déclencheurs potentiels pour la production d'APL incluent le microbiote et la mort cellulaire (32) (53).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

Des individus apparemment sains ont le potentiel de produire des APL, ce qui, peut-être, protecteur en particulier lorsqu'il s'agit de la classe des IgM (54) (55).

Dans un microenvironnement pro-inflammatoire tel que celui déclenché par une infection, une blessure ou des micro-organismes commensaux, et dans un contexte génétique approprié, les APL pathogènes peuvent apparaître (32).

Cette partie décrit les facteurs environnementaux, immunitaires et génétique menant à la production des APL et à l'apparition du SAPL.

### **II.2.1 Facteurs environnementaux**

#### **II.2.1.1 Infections**

##### **II.2.1.1.1 Association entre infections et anticorps anti-phospholipides**

Au cours de la dernière décennie, des bactéries, des virus et des vaccins ont été associés à l'induction du SAPL (53) (56). De nombreuses infections sont accompagnées de l'apparition des APL qui, dans certains cas, sont associées à des manifestations cliniques du SAPL. Les infections cutanées (18%), VIH (17%), la pneumonie (14%), HCV(13%) et les infections des voies urinaires constituent les infections les plus fréquentes.

Récemment, le SAPL catastrophique (SCAPL) a été associée à une infection grippale H1N1 (56).

Les principaux agents infectieux associés au développement de l'a $\beta$ 2GPI et du SAPL sont résumés dans le (tableau 2).

**Tableau 2: Agents infectieux associés a l'anti- $\beta$ 2GPI et au SAPL(32)**

<b>Agents infectieux</b>	<b>Manifestations du SAPL</b>
<b>Staphylococcus aureus</b>	Syndrome catastrophique des anti-phospholipides (SCAPL)
<b>Streptococcus pyogenes</b>	Lésions du système nerveux central , valvulopathie
<b>Escherichia coli</b>	Syndrome catastrophique des anti-phospholipides (SCAPL)
<b>Klesbsiella</b>	Syndrome catastrophique des anti-phospholipides (SCAPL)
<b>Hépatite C</b>	Thromboses, Infarctus cérébral
<b>Epstein-Barr virus</b>	PE, Thromboses
<b>Parvovirus B19</b>	Thromboses
<b>Cytomégalovirus</b>	Thromboses, AVC
<b>VIH</b>	Ulcère nécrotique de la jambe, Thrombose artérielle et veineuse , Livedo réticulaires, Vascularite
<b>HSV</b>	Syndrome catastrophique des anti-phospholipides (SCAPL)

##### **II.2.1.1.2 Théorie du mimétisme moléculaire**

Blank et al. (57) ont émis l'hypothèse que le mimétisme moléculaire entre les pathogènes infectieux et la  $\beta$ 2GPI pourrait être à l'origine de la production des APL et de l'apparition du SAPL. Leur théorie était basée sur deux éléments essentiels : l'association frappante entre le

## **PARTIE THEORIQUE**

---

SAPL et les agents infectieux et une forte similarité des acides aminés entre les peptides dérivés de la  $\beta$ 2GPI et divers pathogènes communs.

Ils ont identifié plusieurs peptides synthétiques, qui présentaient une forte homologie avec les protéines membranaires virales et bactériennes, en tant qu'épitopes cibles pour l' $\alpha$ 2GPI monoclonal dérivé des patients atteints de SAPL. Par exemple, la séquence LKTPRV présentait une homologie avec huit bactéries différentes, telles que *Pseudomonas aeruginosa* (32).

Enfin, la relation entre les pathogènes et la  $\beta$ 2GPI s'étend au-delà de l'homologie de séquence. (58) (59)

Rauch et al ont démontré que les TLR4 sont impliqués dans le dysfonctionnement des mécanismes de tolérance immunitaire et dans la production des anticorps anti phospholipides (50).

Un autre changement dans la  $\beta$ 2GPI qui peut exposer les épitopes cryptiques est l'augmentation du stress oxydatif, qui peut survenir avec l'infection et d'autres pathologies (60).

### **II.2.1.2 Microbiote**

Des données émergentes suggèrent que le microbiote, organisme commensal qui colonise les hôtes humains, contribue probablement à la pathogenèse du SAPL (61).

Le microbiote colonise toutes les niches du corps humain (62) et sa plus grande diversité se trouve au niveau de l'intestin, qui fera l'objet de cette section; d'autres niches peuvent également héberger des déclencheurs d'APL (32).

Le microbiote représente une source potentielle d'auto-réactivité antigénique et stimulante et pourrait jouer un rôle fondamental dans la pathogenèse du SAPL (63) (61).

Il existe de multiples mécanismes par lesquels le microbiote peut provoquer ou perpétuer la production d'APL (64) :

- Il est possible que les microbes commensaux conduisent la production d'APL via une réactivité croisée avec la  $\beta$ 2GPI probablement due à un mimétisme moléculaire.
- Il est également plausible que le microbiote fournisse des facteurs, tels que les phospholipides, qui conduisent à un changement conformationnel de  $\beta$ 2GPI (32).
- Les récepteurs de reconnaissance de type Toll et autres pourraient également être déclenchés de façon chronique par un apport constant de ligands provenant du microbiote. Ces mécanismes peuvent nécessiter une barrière intestinale qui fuit, qui semble être présente chez certains patients atteints de SAPL (65).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **II.2.2 Facteurs immunologiques**

#### **II.2.2.1 Mort cellulaire**

##### **III.2.2.1.1 Apoptose**

La surface cellulaire apoptotique contient des phospholipide anionique (phosphatidyl-sérine) non présent à la surface des cellules viables (32).

Il a été suggéré qu'au cours du SAPL, qu'un défaut de clearance ou un excès de production des cellules apoptotiques favorisait la formation d'anticorps APL dirigés contre la  $\beta$ 2GPI et la prothrombine fixées au niveau de la phosphatidyl-sérine exposée à la surface de ces cellules (66) (32).

Les lymphocytes T auto réactifs sont activés in vitro uniquement par les complexes «PL/ $\beta$ 2GPI» et non par l'un des composants à part, ce qui implique la formation d'un épitope cryptique reconnu par ces lymphocytes (66) (32).

##### **II.2.2.1.2 NETose**

Récemment, une forme de mort cellulaire dénommée NETose a été impliquée dans plusieurs maladies auto-immunes, y compris le SAPL et le LEAD (67). Les pièges extracellulaires neutrophiles (NET) sont responsables de cette mort cellulaire distincte de l'apoptose ou de la nécrose.

Yalavarthi et al. (68) ont rapporté que les neutrophiles fraîchement isolés provenant de patients atteints de SAPL primaire présentaient des niveaux plus élevés de libération spontanée de NET que ceux provenant de sujets témoins en bonne santé. Les pièges extracellulaires neutrophiles (NET) peuvent être immunogènes, car ils présentent des micro-organismes capturés et des auto-antigènes dans un milieu inflammatoire qui stimule une réponse immunitaire (69). Cependant, le rôle de la NETose dans la production d'APL reste incertain (32).

### **II.2.3 Facteurs génétiques**

Les études concernant ce sujet sont divergentes, néanmoins une prédisposition génétique suggérée par certaines études familiales semble exister (32).

Certains allèles HLA de classe II semblent intervenir, des associations entre les Ac APL et de multiples Ag HLA DR ou DQ ont été décrites (HLA DQ\*7 et susceptibilité de production des LA) (32).

Des études génétiques ont déterminées que le génotype vv (valine/ valine) en position 247 du gène de la  $\beta$ 2GPI constituait un facteur de risque génétique pour la production d'Ac anti- $\beta$ 2GPI et la survenue de thrombose au cours du SAPL primaire (66).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **II.3 Physiopathologie du syndrome des anti-phospholipides**

Ces auto anticorps interfèrent avec les voies physiologiques de contrôle de la coagulation par leur réactivité avec la bêta2-glycoprotéine I, la prothrombine, la protéine C, la protéine S, et il est généralement admis que ces auto anticorps dérèglent la balance de l'hémostase dans le sens prothrombotique (43) (70).

#### **II.3.1 Physiopathologie du SAPL thrombotique**

Au cours du SAPL, une théorie dénommé « la théorie des deux évènements » ou « *two hit model* » a été développé afin de mieux cerner la pathogénie de cette maladie.

Le 1er évènement « *first hit* » correspondrait à la présence de l'auto-anticorps, qui induirait un état pro coagulant, sans survenue d'évènements thrombotiques.

La thrombose ne surviendrait qu'en présence d'un 2e évènement « *second hit* » probablement de de nature inflammatoire qui perturberait l'endothélium et déclencherait ainsi une thrombose. (50).

##### **II.3.1.1 Effet procoagulant des auto-anticorps anti-phospholipides au cours du SAPL ou « *first hit* »**

###### **II.3.1.1.1 Diminution de l'activité des inhibiteurs physiologiques de la coagulation**

###### **❖ Inhibition du système protéine C–protéine S**

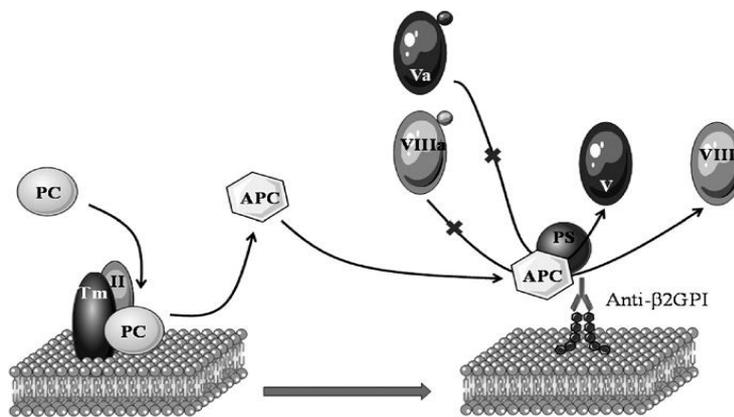
Au cours du processus de coagulation, une fraction de la thrombine générée est capable de se lier à la thrombomoduline à la surface des cellules endothéliales pour activer la protéine C fixée à ce niveau par *l'endothelial protein C receptor (EPCR)* (43).

La protéine C activée (APC) va ainsi interagir avec son cofacteur, la protéine S libre, et exercer son effet anticoagulant en inactivant les facteurs Va et VIIIa par clivage enzymatique.

De nombreuses études ont montré que les APL étaient capables d'interférer avec la voie de la protéine C et plusieurs mécanismes d'inhibition ont été proposés (43).

Les études initiales suggéraient que les APL empêchaient l'activation de la protéine C.

Alors que d'autres études ont ensuite montré que les APL, comme les anti-β2GP1, perturbaient plutôt la formation du complexe entre protéine C activée et facteurs Va et VIIIa en diminuant la fixation de la protéine C sur les PL provoquant ainsi une résistance acquise à la protéine C



**Figure 4:Modèle d'inactivation du système protéine c/protéine s par les aβ2GPI (43)**

Les anti-β2GPI seraient également capables d'induire un déficit fonctionnel en protéine S en empêchant la β2GPI de déplacer la liaison entre la protéine S et son inhibiteur plasmatique, la *C4b-binding protein (C4bBP)*, et en diminuant ainsi le taux de protéine S libre (43).

#### ❖ Inhibition de l'effet anticoagulant de l'annexine A5 :

L'annexine A5 est une protéine capable de venir recouvrir les phosphatidyl-sérines au cours de l'activation plaquettaire pour former un bouclier protecteur qui va diminuer la disponibilité des PL anioniques pour les enzymes de la coagulation et exercer ainsi une action anticoagulante (43) (50).

La dimérisation de la β2GP1 par les anticorps reconnaissant le domaine 1 de la β2GP1 augmente son affinité pour les PL anioniques empêchant ainsi la mise en place du bouclier protecteur d'annexine A5 inhibant alors ses propriétés anticoagulantes. Ce blocage de l'annexine A5 par les APL serait corrélé à des manifestations thrombotiques (71) (72) (43).

#### ❖ Inhibition du tissue factor pathway inhibitor type I

Le *tissue factor pathway inhibitor type I (TFPI)*, synthétisé par les cellules endothéliales, est un inhibiteur de l'activité catalytique du complexe FT-FVIIa et diminue ainsi la génération de thrombine et la formation du caillot de fibrine (43).

De nombreuses études ont rapporté une diminution de l'activité du TFPI due à la présence d'anticorps dirigés directement contre le TFPI ou bien à une activité inhibitrice des anti-β2GPI sur le TFPI (43).

#### II.3.1.1.2 Inhibition de la fibrinolyse

Plusieurs études ont permis de montrer que la présence de certains anticorps chez les patients atteints de SAPL contribuerait à inhiber le système fibrinolytique.

Des anticorps dirigés contre la plasmine ont, par exemple, été décrits même si le rôle précis de ces anticorps dans le risque thrombotique reste encore méconnu (73; 50).

## PARTIE THEORIQUE

De plus, l'annexine A2 est un récepteur endothélial capable de lier la  $\beta$ 2GPI et qui a une activité profibrinolytique en liant également le tPA et en favorisant ainsi la génération de plasmine à la surface des cellules endothéliales (43).

Chez les patients avec SAPL, le complexe  $\beta$ 2GPI/anti- $\beta$ 2GPI se fixe à l'annexine A2 au niveau des cellules endothéliales et empêche ainsi l'activation du plasminogène en plasmine par le tPA (74) (43).

La même équipe a récemment montré que la présence d'anticorps se fixant à l'annexine A2 était significativement corrélée à un risque accru de thromboses veineuses cérébrales (75).

### II.3.1.1.3 Activation cellulaire

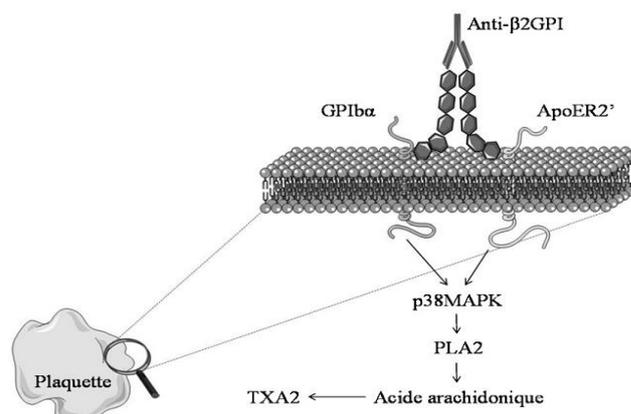
Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI vont activer les cellules endothéliales et les plaquettes en se liant au  $\beta$ 2GPI déjà fixé sur ces cellules (50) (32) (43).

#### ❖ Activation des plaquettes

Au cours du SAPL, l'activation des plaquettes aboutit surtout à un effet prothrombotique principalement dû à l'interaction du complexe  $\beta$ 2GPI/anti- $\beta$ 2GPI avec deux récepteurs présents à la surface des plaquettes, le récepteur 2' de l'apolipoprotéine E (ApoER2') et la glycoprotéine Ib $\alpha$  (GPIb  $\alpha$ ) (76) (77).

Il semble que la stimulation de ces deux récepteurs partagerait des effecteurs intracellulaires communs qui aboutissent à l'activation de la p38MAPK.

Cette kinase est capable de phosphoryler de nombreux substrats dont la phospholipase A2 (PLA2) qui conduit à la libération d'acide arachidonique, puis de la thromboxane A2 (TXA2) (78) (43) (32)(figure5).



**Figure 5:Modèle de sensibilisation des plaquettes à leurs agonistes par les a $\beta$ 2GPI (43)**

Il a d'ailleurs été montré que les patients avec SAPL avaient une excrétion urinaire des métabolites du TXA2 plus importante que celle des individus sains (50).

## PARTIE THEORIQUE

### ❖ Activation des cellules endothéliales

Plusieurs études ont montré que les APL étaient capables d'abolir l'effet anticoagulant des cellules endothéliales en activant ces cellules et en leur conférant un phénotype proadhésif et procoagulant en l'absence de toute brèche vasculaire (43).

Les anti- $\beta$ 2GPI peuvent, en effet, induire une surexpression de FT et de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales.

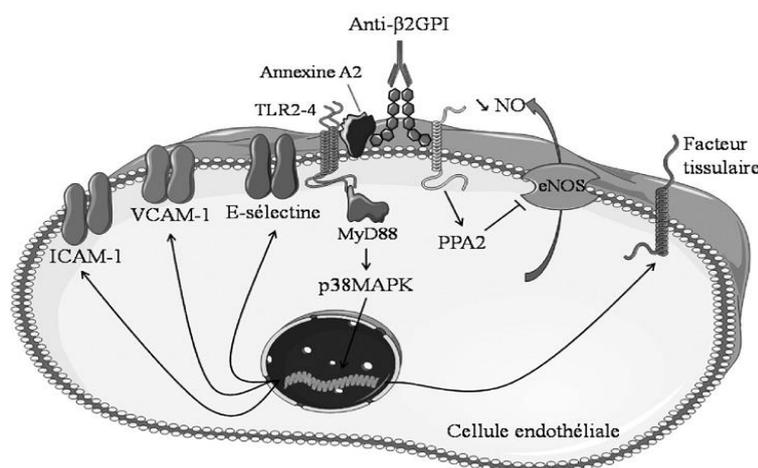
Comme pour les plaquettes, l'ensemble des effecteurs cellulaires en jeu dans l'activation des cellules endothéliales n'est pas identifié.

Il a été montré que le complexe trivalent anti- $\beta$ 2GPI/dimère de  $\beta$ 2GPI interagissait avec l'annexine A2 au niveau de la membrane des cellules endothéliales (79) (43).

D'autres effecteurs semblent également intervenir, à ce niveau, comme les récepteurs TLR2 et TLR4 (80), et *le myeloid differentiation factor 88 (MyD88)* qui est une molécule adaptatrice des TLR (43).

La cascade de signalisation se poursuit par l'activation de la p38MAPK qui va phosphoryler de nombreux substrats aboutissant à l'augmentation de l'expression de FT et de molécules d'adhésion dont *intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)*, *vascular-cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)*, la sélectine E (43)(figure 6).

Les effets vasculaires qui en résultent, et en particulier l'adhésion des leucocytes à l'endothélium, participeraient aux manifestations thrombotiques du SAPL (81).



**Figure 6:Modèle d'activation des cellules endothéliales par les a $\beta$ 2GPI (43).**

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **II.3.1.2 Effet pro-inflammatoire ou « second hit »**

#### **II.3.1.2.1 Activation du complément**

Ce système est impliqué dans le développement de thromboses et des pertes fœtales dans le SAPL.

L'activation du complément par les APL peut générer le médiateur inflammatoire C5a, qui recrute les neutrophiles et les monocytes et induit l'exposition du facteur tissulaire par les cellules endothéliales et les neutrophiles (32) (50).

Plusieurs cas ont montré la réussite d'utilisation de l'eculizumab (anticorps anti-C5a monoclonal humain) chez les patients atteints du syndrome catastrophique des anti-phospholipides (82).

### **II.3.2 Physiopathologie du SAPL obstétrical pur**

#### **II.3.2.1 Mécanismes liés à la coagulation**

Les phénomènes d'insuffisance placentaire d'origine ischémiques, en rapport avec des thromboses et des infarctus placentaires sont liés à :

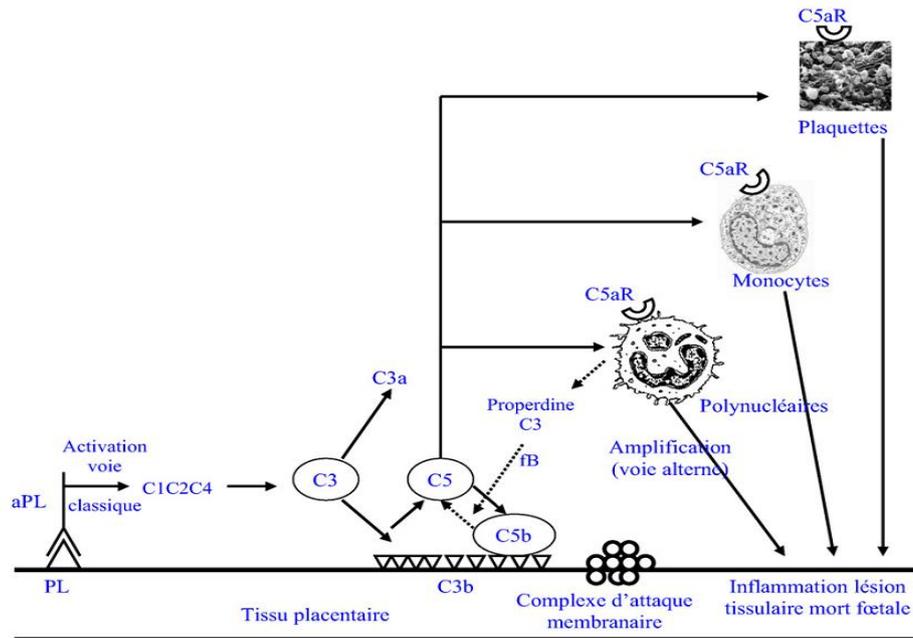
Des anticorps dirigés contre l'annexine V, protéine associée à la membrane cytoplasmique du **syncytiotrophoblaste** et synthétisée par les cellules **trophoblastiques placentaires** (66).

Le déplacement de l'annexine V de ces cellules permet l'exposition des phospholipides anioniques, en provoquant le recrutement des facteurs de coagulation. Ainsi, le déficit en annexine V contribuerait aux thromboses placentaires responsables des avortements spontanés à répétition (ASR) (50).

#### **II.3.2.2 Mécanismes inflammatoires**

Les mécanismes non thrombotiques à l'origine des manifestations obstétricales du SAPL suggèrent l'intervention du complément dans des situations caractérisées par la constitution d'infiltrats inflammatoires au niveau du placenta (32).

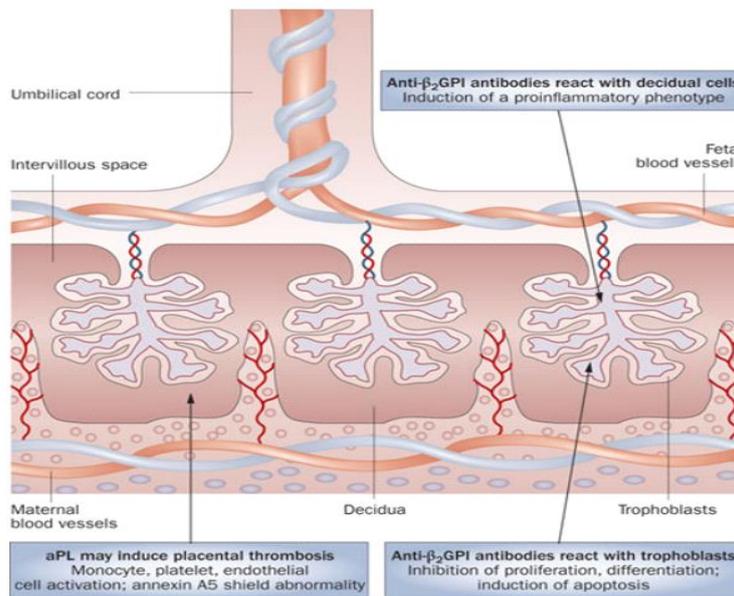
L'expression naturelle du  $\beta$ 2GPI sur le placenta et particulièrement sur les trophoblastes explique le tropisme placentaire des APL. Ces anticorps vont provoquer par un mécanisme inflammatoire les pertes fœtales (83) (32) (84) en activant le complément (selon les deux voies alternes et classiques). Ce dernier induit l'expression du facteur tissulaire à la surface des polynucléaires neutrophiles infiltrant le trophoblaste ce qui est à l'origine des pertes fœtales répétées (PFR) précoces chez les patients atteints du SAPL (83) (84) (50) (figure 7).



**Figure 7: Rôle de l'activation du complément dans les pertes fœtales induites par les anticorps anti-phospholipides (52)**

**II.3.2.3 Autres mécanismes**

Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI vont se fixer sur la  $\beta$ 2GPI exprimée sur les **trophoblastes placentaires** et vont inhiber leur croissance et leur différenciation (32)(figure8). En effet, ces anticorps vont inhiber la sécrétion de la gonadotrophine et vont réduire le pouvoir invasif du trophoblaste ce qui est à l'origine des avortements spontanés à répétitions (ASR) (66).



**Figure 8: Mécanismes physiopathologiques du SAPL obstétrical (32)**

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **III. DIAGNOSTIC DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES**

#### **III.1 Situations justifiant la recherche des anti-phospholipides**

Pour faciliter le travail des cliniciens, des recommandations ont été faites pour déterminer dans quelles circonstances, il peut être justifié d'évoquer ou de rechercher un SAPL.

De même, il faut connaître les difficultés d'interprétation du dosage des anti-phospholipides pour ne pas poser ce diagnostic par excès (85) (44).

En **pratique courante**, les principales indications d'une recherche d'anticorps anti-phospholipides sont (44) :

- une thrombose artérielle ou veineuse (proximale ou distale) ou embolie pulmonaire idiopathique chez un patient de moins de 60 ans ;
- une thrombose de siège inhabituel (veineuses cérébrales, membres supérieurs, digestives);
- une microangiopathie thrombotique (MAT) avec atteintes multi-viscérales dans un délai court des complications obstétricales : accouchement prématuré < 34 semaines de gestation (et non plus  $\leq$  comme dans la classification de Sapporo), 3 fausses couches consécutives < 10 semaines de gestation, mort fœtale in-utéro > 10 semaines de gestation;
- un livedo reticularis ;
- un diagnostic de lupus érythémateux systémique ;
- une endocardite non bactérienne ;
- un allongement inexpliqué du TCA non corrigé par l'ajout de plasma témoin ;
- une dissociation VDRL+/TPHA-.

#### **III.2 Critères diagnostiques du SAPL**

Le SAPL est caractérisé par son hétérogénéité et ses critères diagnostiques évolutifs, aussi bien sur le plan clinique que biologique, ce qui peut parfois compliquer la démarche diagnostique (86).

##### **III.2.1 critères de Sydney (2006)**

Les critères diagnostiques du SAPL dits « de Sapporo » élaborés lors du 8<sup>e</sup> symposium international sur les anticorps anti-phospholipides de 1998 (ISAPA) (87) ont été remplacés par ceux de Sydney (11<sup>e</sup>ISAPA) publiés en 2006 et rappelés dans le (tableau3).

En effet, les critères de Sapporo souffrent de manque de spécificité et de sensibilité vis-à-vis des patients âgés et présentant des facteurs de risques thrombotiques acquis ou constitutionnels (88) (44).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

Si les critères cliniques n'ont subi qu'une modification de détail concernant les complications obstétricales, des modifications importantes ont été apportées sur les critères biologiques. Ces modifications sont d'une part l'ajout des anticorps anti-bêta2-glycoprotéine I (a $\beta$ 2GPI) comme critères biologiques du SAPL avec, l'introduction d'un seuil de positivité fixé >99e percentile et d'autre part l'allongement à 12 semaines du délai de persistance de la détection des anticoagulants circulants de type lupique (LA) et/ou d'anti-cardiolipine (ACA) et/ou d'a $\beta$ 2GPI (86) (44).

La notion de persistance dans le temps des APL a été introduite pour différencier les APL apparaissant lors d'infections qui sont le plus souvent transitoires et non thrombogènes de ceux développés dans le SAPL qui sont d'authentiques auto-anticorps persistants dans le temps et associés à un risque thrombotique (44).

Il faut noter que les APL induits par un traitement médicamenteux disparaissent plutôt 6 à 12 mois après l'arrêt du médicament en cause et dans seulement la moitié des cas. La présence de ces anticorps n'est alors en général pas accompagnée de thrombose et ne correspond donc pas à un diagnostic défini de SAPL (12).

Les patients avec triple positivité des marqueurs du SAPL (LA+, a  $\beta$ 2GPI+, ACA+) ont une plus forte probabilité de persistance des APL à 12 semaines que les patients présentant une simple positivité (98 % versus 40 % respectivement) (89) (44).

L'association d'au moins un critère clinique à au moins un critère biologique persistant à 12 semaines suffit à poser le diagnostic du syndrome des anti-phospholipides s'il n'y a pas plus de 5 ans entre la survenue de l'événement clinique et la mise en évidence d'une biologie anti-phospholipide positive (44) (32) (50) (47).

## PARTIE THEORIQUE

**Tableau 3:critères diagnostiques du sapl de sydney (2006).**

Critères diagnostiques du SAPL redéfinis lors du consensus de Sydney en 2006 : Présence d'un syndrome des anti-phospholipides si association d'au moins un critère clinique et d'un critère biologique suivants :	
<b>Critères cliniques</b>	<p><b>Thrombose</b></p> <p>Un ou plusieurs épisodes symptomatiques de thrombose artérielle, veineuse ou d'un petit vaisseau dans n'importe quel tissu ou organe (thrombose objectivée par une stratégie diagnostique validée, soit confirmée par un examen d'imagerie de référence ou par un examen histologique. Dans cette dernière situation, il doit s'agir d'une thrombose sans inflammation significative de la paroi vasculaire).</p> <p><b>Manifestations obstétricales</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Une ou plusieurs morts fœtales inexplicées, avec fœtus morphologiquement normal, à partir de la 10e semaine de gestation ou au-delà (morphologie normale établie par échographie ou examen direct), ou</li> <li>• Une ou plusieurs naissances prématurées d'un nouveau-né morphologiquement normal avant la 34e semaine de gestation liées à une éclampsie/pré -éclampsie grave ou des signes reconnus d'insuffisance placentaire, ou</li> <li>• Au moins 3 avortements spontanés consécutifs avant la 10e semaine de gestation sans cause anatomique ou hormonale maternelle et sans cause chromosomique parentale reconnue</li> </ul>
<b>Critères biologiques</b>	<p>Présence au minimum à 2 reprises, espacées de 12 semaines d'intervalle d'un</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anticoagulant circulant de type lupique (mise en évidence en suivant les recommandations de l'International Society on Thrombosis and Haemostasis), ou</li> <li>• Anticorps anti-cardiolipines d'isotype IgG et/ou IgM dans le sérum ou le plasma, avec un titre moyen ou élevé (&gt; 40 GPL ou MPL, ou &gt; 99e percentile), avec des mesures par Elisa standardisé, ou</li> <li>• Anticorps anti-β2 glycoprotéine I d'isotype IgG et/ou IgM dans le sérum ou le plasma, avec un titre moyen ou élevé (&gt; 40 UI , ou &gt; 99e percentile), avec des mesures par Elisa</li> </ul>

Une classification du SAPL en 4 sous-types biologiques a été proposée (tableau 4) en fonction du nombre et du type de marqueurs biologiques présent (13) (44) (32).

Ainsi les patients présentant plusieurs auto-anticorps sont classés en catégorie I tandis que ceux avec un LA seul, un ACA seul ou un anti-β2GPI seul sont classés respectivement en catégorie IIa, IIb et IIc (90) (44) (tableau 4).

## PARTIE THEORIQUE

---

**Tableau 4: Classification des patients selon le type et le nombre d'anticorps anti-phospholipides (APL) présents, confirmés au moins deux fois, à 12 semaines ou plus d'intervalle (44).**

*Type I : présence d'au moins deux critères biologiques*

*Type II : présence d'un seul critère biologique*

*Type IIa : présence d'un LA isolé*

*Type IIb : présence d'un aCL isolé*

*Type IIc : présence d'un d'anti- $\beta$ 2GPI isolé*

### II.2.2 Recommandations du SSC/ISTH de 2009

Si elles ont été formulées en 1991, puis précisées en 1995 par le Sous-comité de standardisation de la Société internationale d'hémostase et thrombose (SSC/ISTH), les dernières recommandations de 2009 pour la recherche de lupus anticoagulants (LA) prennent en compte les différentes sources de variabilité tant au niveau pré analytique (sélection des patients, préparation des échantillons...) qu'analytique (ainsi le choix des tests) mais aussi post-analytique (seuils de positivité et interprétation des résultats notamment sont standardisés) (91).

La collaboration clinico-biologique doit être forte puisque la recherche de LA doit être faite en connaissant le contexte clinique et les traitements anticoagulants en cours.

Selon ces recommandations, la recherche du LA proprement dite doit se dérouler en 4 étapes successives (91) (44) (12):

- ✓ Dépistage ;
- ✓ Mise en évidence d'une activité inhibitrice ;
- ✓ Confirmation de la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur ;
- ✓ Exclusion d'une anomalie associée.

### II.2.3 Critères de classification du SCAPL

Les critères de classification du SCAPL établis en 2003 (92) et modifiés en 2010 (93) sont résumés dans le (tableau 5).

Le SCAPL est défini si les 4 critères suivants sont présents (94):

- Atteinte d'au moins 3 organes, systèmes et/ou tissus; se constituant en moins d'une semaine; avec confirmation anatomopathologique d'une occlusion des petits vaisseaux dans au moins un organe ou tissu;
- Présence d'anticorps anti-phospholipides (APL) confirmés après au moins 12 semaines.

Le diagnostic de SCAPL est considéré comme probable lorsqu'il n'y a que 2 atteintes (critère1), ou lorsque le délai d'une semaine n'est pas respecté et que le 3<sup>e</sup> événement clinique survient entre une semaine et un mois après le début du SCAPL en dépit du traitement anticoagulant

## **PARTIE THEORIQUE**

---

(critère2) , ou lorsque la confirmation histologique n'est pas obtenue (critère3), ou enfin en l'absence de confirmation biologique du fait du décès précoce du patient (critère4) (94).

Rappelons que ces critères de classification ont pour objectif de constituer des cohortes homogènes de patients et n'ont pas vocation à porter le diagnostic de SCAPL à l'échelon individuel (94).

**Tableau 5: Critères de classification du SAPL catastrophique (94).**

Critères de classification
Atteinte d'au moins 3 organes, systèmes et/ou tissus
Développement des symptômes simultanément ou en moins d'une semaine
Confirmation anatomopathologique d'une occlusion de petits vaisseaux dans au moins un organe ou tissu
Confirmation biologique de la présence d'anticorps antiphospholipides (présence d'un anticoagulant circulant de type lupique et/ou d'un anticorps anticardiolipine et/ou anti-β2-GP1)
CAPS certain : présence des 4 critères
CAPS probable
Présence des critères 2, 3 et 4 mais atteinte de seulement 2 organes, systèmes ou tissus
Présence des critères 1, 2 et 3, mais absence de confirmation biologique à au moins 12 <sup>1</sup> semaines d'intervalle, due au décès précoce d'un patient jamais testé pour la présence d'anticorps antiphospholipides avant la survenue du CAPS
Présence des critères 1, 2 et 4
Présence des critères 1, 3 et 4, avec développement du 3 <sup>e</sup> événement clinique une semaine à un mois après le début du CAPS, en dépit du traitement anticoagulant

### **III.3 Exploration clinique**

#### **III.3.1 Manifestations cliniques majeures**

Le terme majeur signifie que le critère diagnostique appartient à la définition du SAPL.

Il s'agit en premier lieu des thromboses vasculaires, veineuses et/ ou artérielles. Les complications obstétricales constituent la seconde manifestation clinique majeure du SAPL (66).

##### **III.3.1.1 Thromboses vasculaires**

La survenue de thrombose domine la symptomatologie associée au SAPL et en fait sa gravité. La thrombose veineuse profonde est la manifestation thrombotique la plus souvent rapportée, mais les événements thrombotiques peuvent survenir dans les vaisseaux de tous types, de tous calibres et de toutes localisations (40) (95).

La présence d'au moins un épisode clinique de thrombose artérielle, veineuse ou de petits vaisseaux quel que soit le tissu ou l'organe, à l'exclusion des thromboses veineuses superficielles, est ainsi retenu comme un critère clinique du SAPL (13).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

La thrombose doit être confirmée par des critères objectifs validés : aspect sans équivoque à l'imagerie ou à l'examen histopathologique qui ne doit pas montrer de signes de vascularite (40) (32) (44).

### **III.3.1.2 Complications obstétricales**

Elles font partie des critères diagnostiques du SAPL. Elles peuvent survenir chez une femme n'ayant jamais fait une thrombose (13).

Il y a trois grands types de complications obstétricales et qui sont retenus comme critères cliniques du SAPL (44) (32) (13) :

- au moins **une mort fœtale inexplicquée survenue au-delà de la 10<sup>e</sup> semaine de gestation** et sur un fœtus morphologiquement normal à l'échographie ou à l'examen anatomo-pathologique. Ce critère semble être le critère obstétrical **le plus spécifique** du SAPL ;
- au moins **une naissance prématurée d'un nouveau-né morphologiquement normal né avant la 34<sup>e</sup> semaine de gestation** en raison d'une éclampsie, d'une pré-éclampsie sévère ou d'une insuffisance placentaire. Ce critère est plus complexe à apprécier à cause du manque de définition bien établie de l'insuffisance placentaire et de l'absence de lésion histologique pour la caractériser. Il faut donc prendre en compte plusieurs critères pour évoquer l'insuffisance placentaire comme des anomalies des tests de surveillance fœtale, une anomalie du doppler de l'artère utérine ;
- au moins **3 fausses couches spontanées consécutives survenues avant la 10<sup>e</sup> semaine de gestation**, sans cause maternelle anatomique ou hormonale et sans anomalie caryotypique parentale. Ce troisième critère clinique est **le plus sensible** mais le moins spécifique du SAPL à cause de la très grande fréquence des fausses couches précoces chez des femmes indemnes de tout SAPL. Elles font partie des critères diagnostiques de SAPL.

Des accidents obstétricaux tardifs à type d'éclampsie, d'hématome rétro-placentaire, de HELLP syndrome ou de retard de croissance intra-utérin sont également possibles et bien évidemment, la présence d'anticorps anti-phospholipides majore le risque d'accident thromboembolique veineux chez la mère (40).

### **III.3.2 Manifestations cliniques mineures**

Le terme mineur signifie : que le critère diagnostique n'appartient pas à la définition du SAPL, sans qualification de la gravité clinique. Ces critères sont nombreux, très divers, parfois liés à des accidents thrombotiques dont on ne peut pas faire la preuve (66).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

Les manifestations cliniques dites associées au SAPL doivent être distinguées des véritables critères cliniques du SAPL (66) (32).

Elles sont donc trop peu spécifiques pour être retenues seules comme critère diagnostique mais doivent cependant être connues du clinicien car elles peuvent amener à suspecter ou à conforter le diagnostic de SAPL (66) (32).

### **III.3.2.1 SAPL et système nerveux**

La manifestation neurologique la plus fréquente et pouvant révéler le SAPL est la survenue d'un accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique constitué ou transitoire par thrombose artérielle ou par embolie à point de départ cardiaque (40) (95).

L'association d'un accident neurologique ischémique à un livédo définit le syndrome de Sneddon (40).

Les liens entre APL et sclérose en plaque (SEP) sont discutés et certaines équipes ont rapporté des tableaux neurologiques proches de celui de la SEP chez des patients porteurs d'APL (96).

Il existe néanmoins des nuances sémiologiques cliniques et iconographiques qui permettent habituellement de trancher entre ces deux étiologies. On retiendra principalement un mode de début brutal pour le SAPL, la présence de signes d'appel extra-neurologiques, l'atteinte neurologique correspondant à des territoires artériels ou veineux...

Il existe cependant des formes frontières entre ces deux entités pour lesquelles il est difficile de trancher. Cette discussion n'est pas uniquement académique car cette distinction a des conséquences thérapeutiques importantes (40) (96).

D'autres manifestations neurologiques peuvent être associées au SAPL comme les troubles des fonctions supérieures, la chorée, les myélites transverses et peut-être certaines formes de migraine (40) (95).

### **III.3.2.2 SAPL et cœur**

Les atteintes cardiaques sont fréquentes ce qui justifie leur dépistage systématique par une échographie cardiaque chez tous les patients porteurs d'APL (40).

Les valvulopathies sont fréquentes, souvent asymptomatiques, mais sources de complications emboliques. Elles touchent surtout la valve mitrale avec des lésions à type d'épaississement ou de végétations verruqueuses connus depuis très longtemps sous l'appellation endocardite de Libman-Sacks (40) (32).

Les thromboses coronaires sont possibles et un SAPL doit être recherché devant un infarctus survenant chez un sujet jeune, d'autant plus que la coronarographie montre des lésions

## **PARTIE THEORIQUE**

---

thrombotiques sans lésion athéromateuse sténosante associée et qu'il existe des signes extracardiaques évocateurs de SAPL (40) (95).

### **III.3.2.3 SAPL et poumons**

Les manifestations pulmonaires du SAPL peuvent être en rapport avec des manifestations thrombotiques à type d'embolie pulmonaire (40) (32).

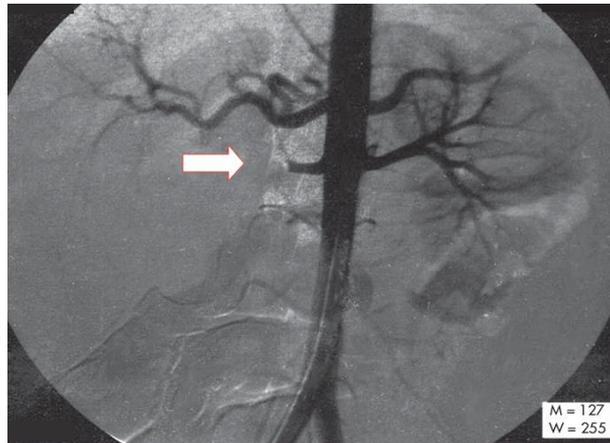
Des atteintes pulmonaires non thrombotiques telles qu'une hémorragie intra-alvéolaire en rapport avec une capillarite pulmonaire peuvent également être observés (40).

Ce dernier tableau mettant en jeu le pronostic vital peut justifier le recours à un traitement immunosuppresseur lourd qui est rarement indiqué dans les autres manifestations du SAPL (40).

### **III.3.2.4 SAPL et rein**

L'atteinte rénale peut se traduire par une hypertension artérielle (HTA) sévère qui dans les formes les plus graves peut prendre l'aspect d'une microangiopathie thrombotique aiguë avec une hémolyse mécanique et la présence de schizocytes pouvant aboutir à une insuffisance rénale sévère (40) (32).

Cette atteinte peut survenir au cours du SAPL primaire mais aussi au cours du lupus, la biopsie rénale étant alors capitale pour faire la distinction entre néphropathie lupique proliférative « immune » et néphropathie thrombotique, les deux types de lésions pouvant d'ailleurs coexister (40).



**Figure 9 : Artériographie objectivant une occlusion de l'artère rénale gauche (40)**

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **III.3.2.5 SAPL et nécrose des surrénales**

Cette complication peut être révélatrice et survient parfois dans le cadre d'un syndrome catastrophique des anti-phospholipides. Elle est liée à une thrombose des veines de drainage des surrénales conduisant à un infarctus hémorragique.

Elle se manifeste par des douleurs abdominales, une hypotension avec déshydratation, de la fièvre et des troubles digestifs (40).

### **III.3.2.6 SAPL, Peau et muqueuses**

Les manifestations cutanées d'origine ischémique peuvent parfois être confondues avec des lésions de vascularite et une biopsie sera réalisée au moindre doute.

On peut observer des manifestations à type de phlébites superficielles, de livédo (figure 11), de nécroses extensives (figure 10), de gangrènes distales et de purpura nécrotique (40) (32).

Une perforation de la cloison nasale visible à l'œil nu peut s'observer dans des formes de SAPL par ailleurs habituellement très sévères (40).



**Figure 10: Nécroses cutanées extensives (40).**



**Figure 11: Livedo réticularis. (40)**

### **III.3.2.7 SAPL ET Thrombopenie**

Une thrombopénie est parfois présente au cours du SAPL et elle est le plus souvent modérée, voisine de (50 à 100 000/ $\mu$ l) et ne s'accompagne pas de complications hémorragiques. Elle est associée plus volontiers à la présence d'anomalie valvulaire cardiaque, de manifestations neurologiques et de signes cutanés à type de livedo (40).

### **III.3.3 Syndrome catastrophique des anti-phospholipides**

Le syndrome catastrophique des anti-phospholipides (SCAPL) a été décrit en 1992 par Asherson (97). Il complique au moins 1 % des syndromes des anti-phospholipides (SAPL), qu'ils soient primaires ou associés à un lupus systémique. Il peut aussi bien être révélateur du SAPL que survenir en cours d'évolution. Il est caractérisé par l'apparition en quelques jours de thromboses multiples atteignant essentiellement la microcirculation en présence d'anticorps anti-phospholipides. Ceci se traduit par l'apparition d'un tableau de défaillance multi-viscérale pouvant associer une atteinte rénale avec hypertension artérielle sévère, pulmonaire, neurologique centrale, cardiaque, digestive et/ou cutanée, ce tableau mettant alors en jeu le pronostic vital. La survenue du SCAPL est volontiers favorisée par une infection, un geste chirurgical et/ou un arrêt transitoire ou une modification de l'anti-coagulation. La mortalité à court terme du SCAPL a diminué et est actuellement inférieure à 30 %. Les principaux diagnostics différentiels sont les autres microangiopathie thrombotiques et la thrombopénie induite par l'héparine (94).

### **III.4 Exploration biologique**

Les APL peuvent être détectés par deux méthodes (32) (44) :

- **Méthodes immunologiques type ELISA** pour les ACA et anti- $\beta$ 2GPI de classe IgG et IgM ;
- **Tests de coagulation** permettant de mettre en évidence les LA.

Certains anticorps APL ne sont pas encore reconnus comme critères du SAPL malgré leur association avec les anomalies cliniques de ce syndrome.

Du fait de l'hétérogénéité de ces anticorps, plusieurs tests de détection ont été proposés avec des sensibilités et des spécificités variables (44) (90) (42).

#### **III.4.1 Tests de coagulations : Lupus anticoagulant**

L'activité LA est supportée par une famille d'anticorps très hétérogènes incluant des anticorps dirigés contre la  $\beta$ 2GPI, contre la prothrombine ou contre divers phospholipides.

Devant cette grande hétérogénéité et les problèmes de standardisation qui en découlent, les recommandations pour la recherche de LA publiées en 1995 par l'ISTH ont été récemment réactualisées (98). Selon ces recommandations, et toujours dans un souci d'améliorer la standardisation, des contraintes pré-analytiques (12) (86) doivent être mises en œuvre avant la recherche du LA proprement dite qui doit se dérouler en 4 étapes successives (*figure*)

- **Dépistage** : allongement de tests de coagulation dépendant des phospholipides ;

## **PARTIE THEORIQUE**

---

- **Mise en évidence d'une activité inhibitrice** : absence de correction des tests de dépistage qui permet d'affirmer la présence d'un inhibiteur de la coagulation ;
- **Confirmation de la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur** : correction de l'allongement du test de dépistage en présence d'un excès de phospholipides saturant l'APL présent ;
- **Exclusion d'une anomalie associée** : absence d'un déficit ou d'un inhibiteur spécifique d'un facteur de la coagulation masqué initialement par la présence de l'APL.

### **III.4.1.1 Contraintes pré-analytiques**

La qualité du prélèvement et des étapes pré-analytiques est déterminante. Le patient doit idéalement être prélevé avant toute mise sous anticoagulant. Certains anticoagulants, comme les anti-vitamines K(AVK) et les héparines, peuvent en effet interférer avec les différents tests.

Le patient doit également être prélevé à distance d'un événement thrombotique afin d'éviter les interférences avec le traitement et avec le facteur VIII qui est parfois augmenté dans ces situations comme c'est également le cas pendant la grossesse (86) (12).

Le sang veineux doit être prélevé sur citrate de sodium. Il faut s'assurer d'avoir éliminé le maximum de plaquettes résiduelles possible du plasma (< 107/ml) qui pourraient apporter des phospholipides et réduire considérablement la sensibilité des tests (12).

### **III.4.1.2 Choix des tests de dépistage**

Aucun test n'est en mesure de détecter la totalité des LA. Il est donc indispensable de réaliser en parallèle deux tests de dépistage sensibles et explorant des segments différents de la cascade de la coagulation. Le dépistage du LA sera considéré comme positif si au moins un des deux tests est allongé (12).

Les tests de dépistage à utiliser sont en priorité le temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT) et un temps de céphaline avec activateur (TCA) utilisant un réactif sensible au LA (44).

#### **III.4.1.2.1 Temps de venin de vipère Russell dilué (dRVVT)**

Le venin de vipère à l'origine de ce test active le facteur X en présence de phospholipides. Il est insensible aux déficits en facteurs VIII et IX ou à la présence d'inhibiteurs de ces mêmes facteurs de la coagulation.

Ce test est donc plus spécifique du LA que le TCA et de nombreux tests commerciaux contiennent un agent neutralisant l'héparine jusqu'à 1 UI/ml (12) (86).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **III.4.1.2.2 Temps de céphaline avec activateur (TCA)**

La sensibilité de ce test varie considérablement en fonction des réactifs employés. D'un fabricant à l'autre la composition et la teneur en phospholipides ainsi que le type d'activateur de la coagulation employé (silice et kaolin par exemple) varient et influent sur la sensibilité du test. Les TCA les plus sensibles ont une faible concentration en phospholipides et utilisent la silice comme activateur (12).

### **III.4.1.2.3 Autres tests de dépistage**

Il existe plusieurs autres tests de dépistage des LA, mais leur utilisation n'est plus recommandée dans cette indication (12):

- Le *kaolin clotting time* ou **KCT** (à ne pas confondre avec le temps de céphaline kaolin ou TCK très peu sensible aux LA) apparaît sensible mais peu reproductible.
- Le **temps de thromboplastine dilué** ou **TTD** manque de spécificité.
- Les tests utilisant des **venins** comme **l'écarine** et **la textarine**, activateurs de la thrombine, n'ont pas été commercialisés en raison de difficultés de production industrielle (12).

Selon les dernières recommandations, il convient d'utiliser comme seuil de positivité de l'allongement des tests de dépistage le 99e percentile établi pour chaque laboratoire et chaque réactif (12).

### **III.4.1.3 Mise en évidence d'une activité inhibitrice**

Devant l'allongement d'au moins un des deux tests de dépistage, la présence d'une activité inhibitrice doit être recherchée par une épreuve de correction.

Le plasma à tester est mélangé à un pool de plasmas normaux strictement déplaquettés par la même procédure que le plasma à tester.

Une absence de correction des tests de dépistage après le mélange signe la présence d'un inhibiteur, également appelé anticoagulant circulant, qui peut être un APL ou un inhibiteur dirigé contre un facteur de la coagulation.

Il est actuellement conseillé de réaliser le test dans les 30 minutes suivant le mélange (12).

### **III.4.1.4 Confirmation de la dépendance en anti-phospholipides**

Pour distinguer les LA des inhibiteurs dirigés contre un facteur de la coagulation, il faut refaire le ou les tests de dépistage allongés en présence d'un excès de phospholipides.

Si l'inhibiteur présent est bien un LA, on observe une correction au moins partielle de l'allongement du test (12).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

Le résultat est exprimé en pourcentage de correction : **[(dépistage – confirmation) dépistage] x 100** ou, plus simplement, en ratio **(dépistage/confirmation)**.

Dans tous les cas la valeur limite du test doit être déterminée localement par le calcul du 99e percentile (12).

### **III.4.1.5 Exclusion d'une coagulopathie associée**

Une fois la présence d'un LA affirmée, il est nécessaire d'éliminer une autre cause d'allongement des tests de dépistage possiblement présente et masquée par le LA.

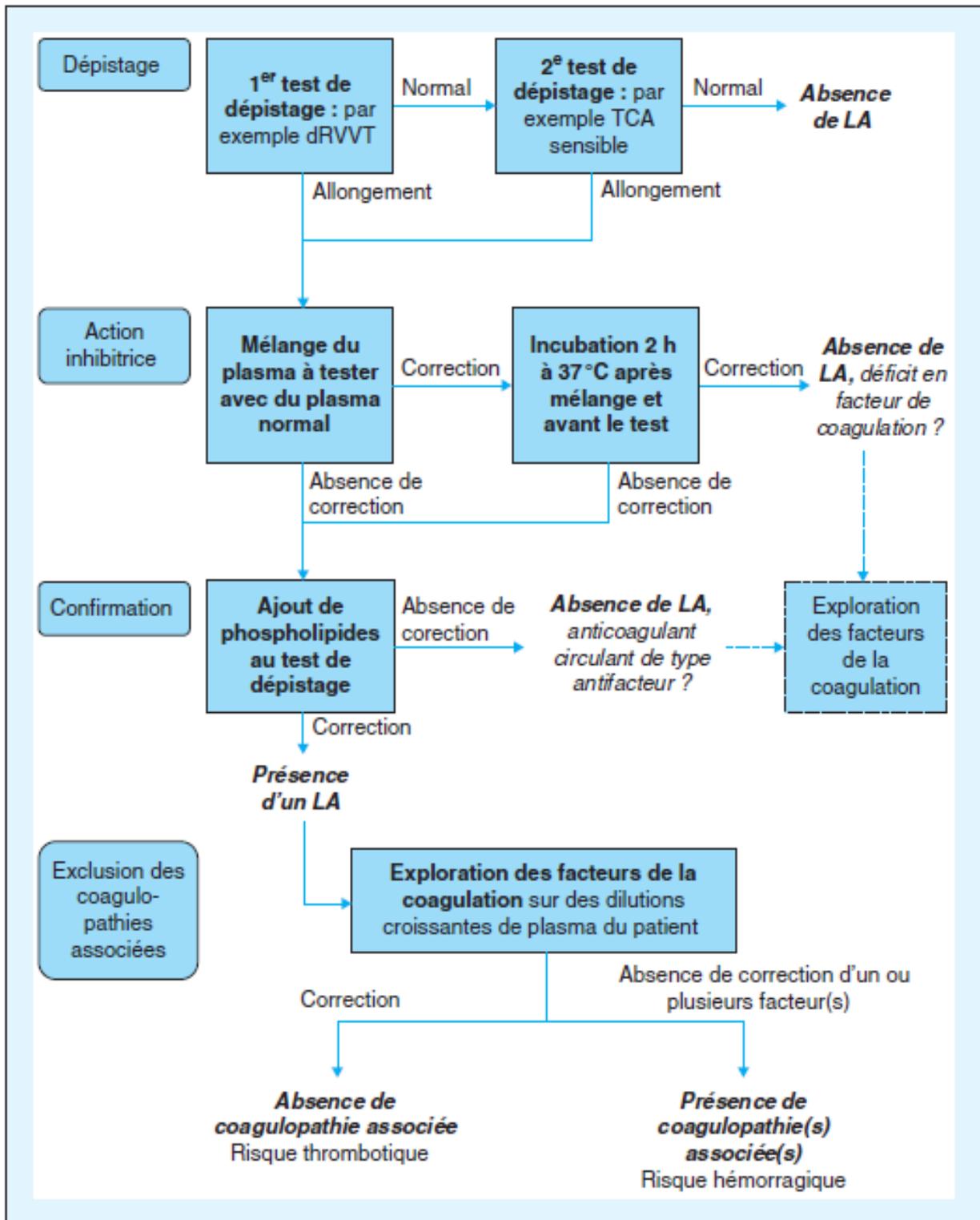
Devant un allongement très marqué du TCA ou du dRVVT il est donc nécessaire d'explorer respectivement les facteurs de la voie endogène (VIII, IX, XI et XII) ou les facteurs du complexe prothrombinique (II, V, VII et X) (12).

La présence d'un LA peut interférer avec les dosages chromométriques des facteurs explorés par le TCA entraînant un déficit apparent en un seul ou, plus fréquemment, en plusieurs facteurs.

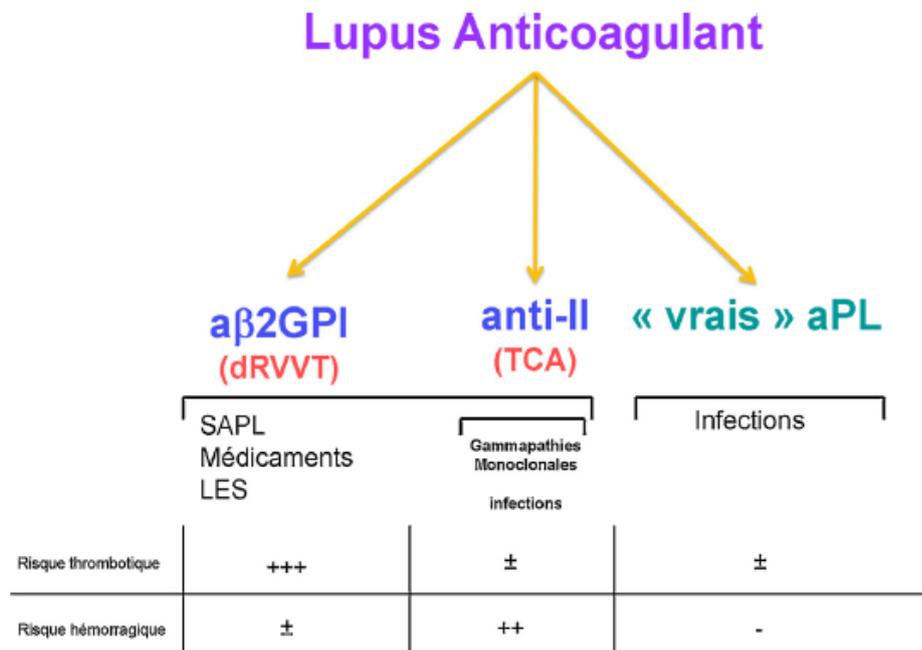
Ceci doit conduire à la réalisation de dosages des facteurs du TCA sur des dilutions croissantes du plasma testé en appliquant au résultat le facteur de correction lié à la dilution.

Si l'abaissement du taux des facteurs est induit par le LA on observe alors une normalisation du taux des facteurs au fur et à mesure des dilutions.

En cas de doute, notamment et surtout pour le dosage du facteur VIII pour lequel cette méthode de dilution ne suffit pas toujours, le recours à des méthodes de dosage chromogéniques non influencées par le LA doit être envisagé (12).



**Figure 12:Algorithme décisionnel pour mettre en évidence un lupus anticoagulant(12)**



**Figure 13: Anticorps induisant une activité lupus anticoagulant (44)**

**III.4.2 Tests immunologiques conventionnels**

En réalité, plusieurs APL reconnaissent non pas des phospholipides mais des complexes phospholipides cofacteurs protéiques voire même les cofacteurs protéiques seuls. Cette diversité, conjointement à la variabilité des réactifs utilisés, explique que les tests Elisa actuellement utilisés présentent de grandes difficultés de standardisation. Les 2 catégories d'APL à rechercher par des tests immunologiques sont les ACA et les anti-β2GPI. Les critères biologiques pour ces derniers anticorps incluent seulement les isotypes IgG et/ou IgM. Un titre élevé et l'isotype IgG (observé isolé ou associé à l'isotype IgM chez environ 90 % des patients avec SAPL) pour ces deux anticorps sont corrélés au risque thrombotique, mais la présence isolée d'anticorps d'isotype IgM peut s'observer dans les formes purement obstétricales du SAPL(12). La présence d'ACA ou d'anti-β2GPI d'isotype IgA s'observe plus fréquemment chez les patients lupiques de race noire et est rarement détectée en l'absence d'ACA ou d'a2βGPI d'isotype IgG et/ou IgM chez les patients avec SAPL et n'a donc pas été retenue comme critère biologique du SAPL (12).

**III.4.2.1 Détection des anticorps anti cardiolipine**

Dans le test Elisa ACA historique, l'essentiel de la β2GPI présente était apportée par le tampon de saturation et de dilution des échantillons contenant du sérum animal. Depuis les années 2000, les fabricants de tests ELISA ajoutent dans leurs kits de la β2GPI humaine afin

## PARTIE THEORIQUE

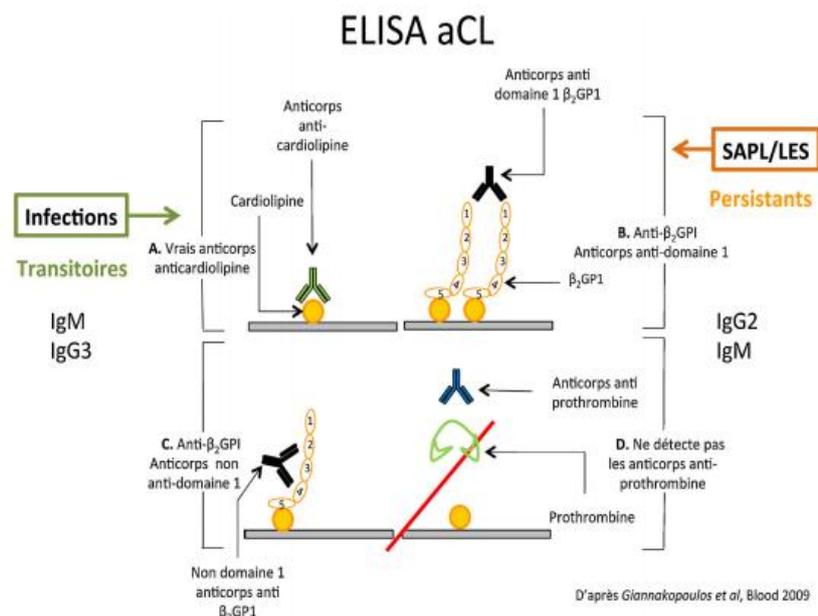
de détecter les anticorps ACA dépendant de la  $\beta$ 2GPI humaine, plus prédictifs du risque thrombotique (44).

Les tests Elisa ACA conventionnels ou les tests immunologiques plus récents (chimiluminescence, billes multiplex), mettent en évidence, sans permettre de les distinguer, au moins trois types d'anticorps (44) (figure14) :

- Ceux qui reconnaissent le domaine 1 de la  $\beta$ 2GPI qui sont les plus pathogènes et se rencontrent dans le syndrome des anti-phospholipides associés ou non au lupus érythémateux systémique (LES). Ces anticorps sont essentiellement d'isotype IgG, de sous classe IgG2, pouvant être associés à la présence d'IgM, et leur présence est durable. La présence isolée d'ACA d'isotype IgM dans le SAPL est une situation peu fréquente ;
- Ceux reconnaissant les autres domaines de la  $\beta$ 2GPI dont la signification pathologique n'est pas établie ;
- Ceux reconnaissant uniquement la cardiolipine de façon indépendante de la  $\beta$ 2GPI (« vrais » ACA) qui sont observés dans les infections. Ils sont d'isotype IgM ou IgG de sous-classe IgG3 et présents de façon transitoire (disparaissent en 8 à 10 semaines).

Certaines infections chroniques (infection par le VIH, lèpre) peuvent s'accompagner d'ACA persistants dans le temps. Des ACA reconnaissant la  $\beta$ 2GPI s'observent dans deux infections : la lèpre et l'infection par le parvovirus B19.

Les tests Elisa ACA ne détectent pas les anticorps dirigés contre la prothrombine qui sont détectés par un Elisa spécifique (44).



**Figure 14: Anticorps détectés par l'ELISA ACA (44)**

## PARTIE THEORIQUE

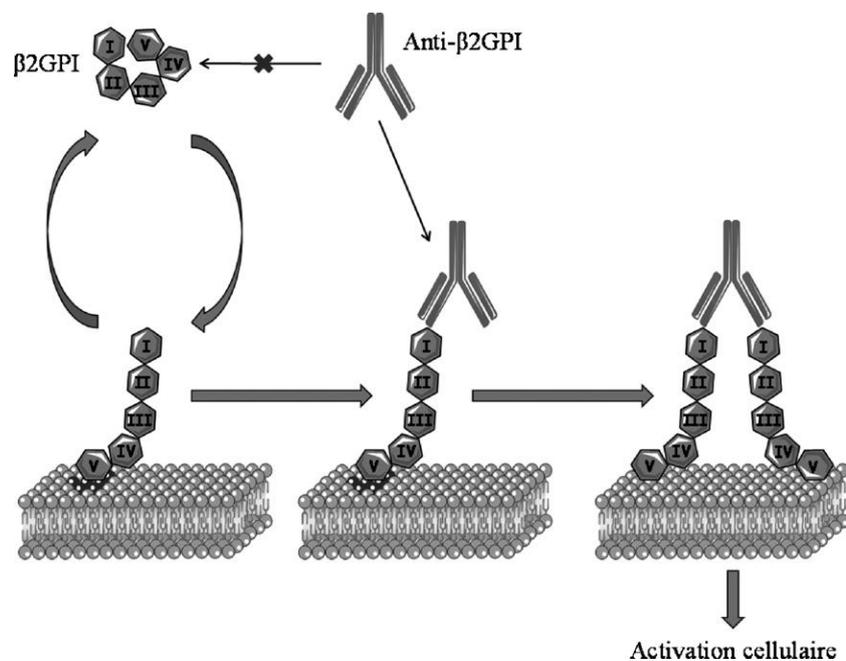
### III.4.2.2 Détection des anti- $\beta$ 2glycoprotéine I

Les anticorps les plus pathogènes reconnaissent une séquence peptidique sur le domaine 1 de la  $\beta$ 2GPI induisant une dimérisation de cette dernière et augmentant son affinité pour les PL anioniques (44) (figure 15).

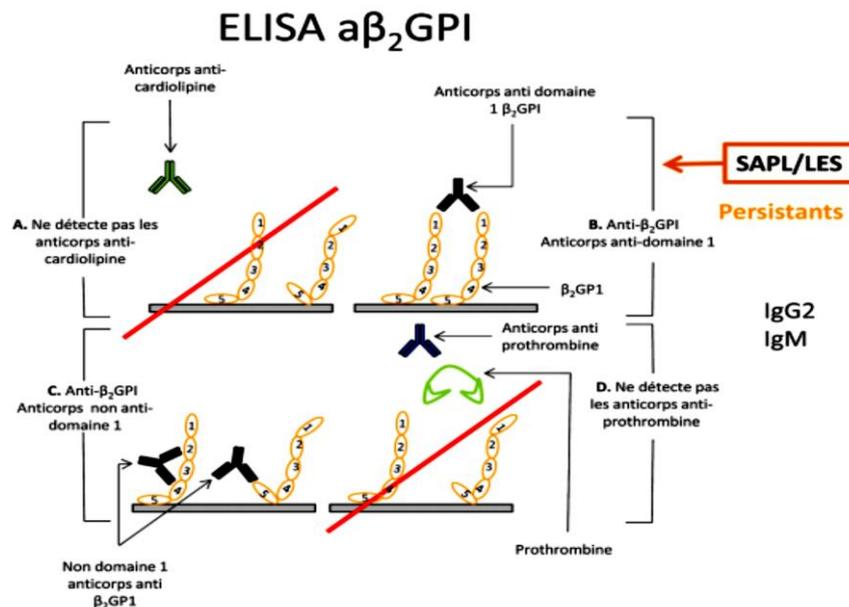
L'antigène utilisé dans ces tests Elisa ou apparentés doit être de la  $\beta$ 2GPI humaine purifiée et non pas recombinante.

La spécificité du test Elisa a $\beta$ 2GPI pour le diagnostic du SAPL est meilleure que l'Elisa ACA car il ne détecte pas les APL présents dans les infections (« vrais » ACA) (figure 16). Cette meilleure spécificité s'accompagne d'une sensibilité plus faible (44).

Pour diminuer la variabilité inter-laboratoire des différents tests Elisa, les experts européens recommandent d'analyser chaque échantillon en double, de déterminer le seuil de positivité pour chaque laboratoire égal au 99e percentile à partir d'au moins 50 échantillons normaux et d'inclure à chaque série un contrôle externe reproductible (12).



**Figure 15: La fixation des anticorps anti-phospholipides sur la  $\beta$ 2GPI (domaine I) entraîne sa dimérisation et augmente son affinité pour les phospholipides membranaires(43)**



**Figure 16: Anticorps détectés par les l'ELISA aβ<sub>2</sub>GPI (44)**

### III.4.2.3 Recommandations pour la détection des aβ<sub>2</sub>GPI et des ACA

Depuis la mise au point des tests Elisa ACA au début des années 1980 pour améliorer la sensibilité et la spécificité de la simple dissociation VDRL+/TPHA- pour détecter la présence d'ACA, de très nombreux travaux collaboratifs ont été conduits pour tenter d'améliorer la standardisation de ces tests Elisa. Les experts du sous-comité anti-phospholipides de la société internationale d'hémostase et thrombose ont publié des recommandations techniques pour ces tests immunologiques en 10 points (44) :

1. sélection des patients à tester pour éviter les faux positifs ;
2. sérum ou plasma dans un tube citraté ;
3. ACA β<sub>2</sub>GPI dépendant, β<sub>2</sub>GPI humaine (non recombinante) ;
4. idéalement : CV < 20 % (voir < 10 %) ;
5. interférences : facteur rhumatoïde pour IgM, hypergammaglobulinémie [11] ;
6. en duplicate pour méthodes manuelles ;
7. standards et calibration ;
8. expression des résultats ;
9. valeurs seuils : 99e percentile calculé en testant 120 plasmas témoins ;
10. résultats et conclusion : interprétation tenant compte des résultats des 3 tests (LA, ACA, aβ<sub>2</sub>GPI), nécessité du contrôle à au moins 12 semaines d'intervalle.

### III.4.2.4 Discordances ACA / aβ<sub>2</sub>GPI :

Si le diagnostic biologique est simple en cas de triple positivité, les situations où les résultats révèlent une positivité dissociée en ACA et a β<sub>2</sub>GPI sont d'interprétation plus complexe et

## **PARTIE THEORIQUE**

---

peuvent être rencontrées dans des situations cliniques variées (44).

➤ **ACA+/aβ2GPI-** :

- ACA β2GPI indépendants : infections, tumeurs ;
- manque de sensibilité de l'Elisa β2GPI ;
- aβ2GPI ne reconnaissant que la β2GPI animale (pour les tests effectués avant 2000)

➤ **ACA-/aβ2GPI+** :

- epitope au niveau du site de liaison aux phospholipides (domaine V) ;
- aβ2GPI ne reconnaissant que la β2GPI humaine (pour les tests effectués avant 2000).

### **III.4.2.5 Quels isotypes rechercher ?**

Les anticorps prédominants chez les patients avec un SAPL sont d'isotype IgG et ils semblent être associés de façon plus importante avec les événements thrombotiques que les IgM (44).

Cependant, certaines patientes présentant un SAPL purement obstétrical, présentent une positivité IgM de façon isolée, illustrant la nécessité de rechercher ces isotypes IgM en cas de forte suspicion clinique de SAPL(44).

D'après des études effectuées sur les IgA traitées lors du 14<sup>ème</sup> congrès international sur les anticorps anti-phospholipides, les conclusions sur la possibilité de leurs intégrations dans les critères biologiques du SAPL ont été les suivantes (99) :

- la positivité des tests IgA ACA et aβ2GPI était généralement associé à la positivité d'autres APL ce qui rend difficile la compréhension du rôle des IgA seuls dans le SAPL ;
- La positivité des tests IgA ACA est rare. Leur utilité pourrait être restreinte aux patients avec une forte suspicion de SAPL avec absence des critères biologiques ;
- le dosage des IgA aβ2GPI pourrait contribuer à l'évaluation du risque thrombotique et des complications obstétricales surtout chez les patients lupiques ;
- la signification des aβ2GPI d'isotype IgA dirigés contre les domaines 4 et 5 de la β2GPI devrait être étudiée plus en détail.

La place des anticorps d'isotype IgA dans le diagnostic du SAPL n'est donc pas encore parfaitement définie. Actuellement, la classification de Sidney ne les intègre pas dans le diagnostic, faute d'argument suffisant (44).

Les aβ2GPI d'isotype IgA semblent être associés de façon plus forte que les ACA d'isotype IgA aux manifestations cliniques du SAPL, mais de manière insuffisante pour qu'ils soient intégrés dans les critères diagnostiques du SAPL(44).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **III.4.3 tests immunologiques non conventionnels**

#### **III.4.3.1 Détection des anti-phosphatidyl-éthanolamine (aPE)**

Il n'y a pas de standardisation des Elisa-aPE et ils n'ont actuellement pas de place dans le diagnostic du SAPL « conventionnel ». Cependant, la recherche d'anticorps anti-PE peut être indiquée chez les patients avec manifestations cliniques très évocatrices du SAPL avec une recherche répétée d'anticorps anti-phospholipides conventionnels négative. En effet, certains patients ayant des aPE positifs isolément (LA<sup>-</sup>, ACA<sup>-</sup>, aβ2GPI<sup>-</sup>) peuvent présenter des signes cliniques de SAPL (44).

#### **III.4.3.2 Détection de l'anti-prothrombine (aPT)**

Ces anticorps ne sont pas détectés par les ACA-Elisa et aβ2GPI-Elisa (Fig. 1 et 2).

Ils peuvent être mis en évidence par un Elisa-anti-prothrombine humaine. La présence de ces anticorps ne semble pas être associée à un risque thrombotique accru. Ils seront à rechercher essentiellement lors de l'association d'un LA avec une hypoprothrombinémie pour en comprendre le mécanisme et suivre la diminution du taux des anticorps habituellement en miroir avec l'élévation du taux de facteur II circulant (44).

#### **III.4.3.3 Détection des anti-PS/PT**

Les tests immunologiques recherchant les anticorps dirigés contre le complexe phosphatidyl-sérine/prothrombine détectent un groupe hétérogène d'anticorps englobant les anticorps dirigés contre la prothrombine seule ou contre le complexe phosphatidyl-sérine/prothrombine (44).

La liaison entre la prothrombine et la phosphatidyl-sérine induit un changement conformationnel de la prothrombine, permettant de dévoiler des épitopes particuliers et la détection des anticorps anti-prothrombine correspondants. Les anticorps dirigés contre le complexe PS/PT sont associés chez les patients avec SAPL à la présence d'un LA [24], ainsi qu'à la survenue d'événements thromboemboliques, avec une meilleure corrélation avec le risque thrombotique que les aPT (44).

### **III.5 Autres investigations**

#### **III.5.1 Imagerie**

Diverses explorations (échographies-Doppler, scanner, IRM, angiographies) peuvent être effectuées pour objectiver les thromboses, en fonction de l'organe atteint. Autant que possible, les examens non agressifs seront préférés (100)

#### **III.5.2 Anatomie-pathologique**

Les lésions observées sont des lésions de **thrombose** et/ou d'infarctus et de nécrose tissulaire,

## **PARTIE THEORIQUE**

---

**sans inflammation associée** ; cependant, dans le syndrome des anti-phospholipides «secondaire», des lésions de vascularite peuvent coexister. L'étude histologique des tissus lésés n'est pas indispensable au diagnostic. En revanche, dans le cas des avortements répétés, l'analyse du produit de fausse couche est utile : elle permet d'écarter une anomalie chromosomique et d'objectiver les infarctus placentaires (100)

### **III.6 Evolution du titre des anticorps**

L'évolution du titre des anticorps est difficilement prévisible et une variation spontanée du titre des anticorps ACA et a $\beta$ 2GPI est observée chez plus d'un quart des patients avec SAPL(44).

Chez ces patients, un traitement par hydroxychloroquine au long cours (au moins 12 mois consécutifs) semble pouvoir permettre une diminution significative du titre des anticorps (IgG ACA et a $\beta$ 2GPI, IgM a $\beta$ 2GPI) (44).

Il a été observé chez certains patients triples positifs, une négativation des a $\beta$ 2GPI au cours du suivi en raison de la baisse du taux d'ACA  $\beta$ 2GPI dépendants et de la plus faible sensibilité de l'Elisa anti-  $\beta$ 2GPI.

L'étude d'une population de patients ayant une biologie anti-phospholipide positive connue a montré que cette biologie anti-phospholipide restait positive et stable pour près de trois quart des patients suivis (44).

### **III.7 profil biologique permet-il de prédire le risque clinique ?**

Une étude italienne rétrospective portant sur plus de 600 patients a montré que la triple positivité (LA+, ACA+, a $\beta$ 2GPI+) est associée à un risque thrombotique majeur (OR = 33,3) comparée à la positivité du LA (OR = 4,4), des a $\beta$ 2GPI IgG et/ou IgM (OR = 2,9) ou ACA IgG et/ou IgM (OR = 1,2 NS) (44).

Sur une population de 189 patients suivis dans le cadre de leur SAPL avec un triple positivité, 34,4 % des patients ont eu un événement thromboembolique majeur sur une période de suivi médiane de 6 ans (44).

Ces données ont été confirmées par une étude multicentrique prospective chez des sujets jusque-là asymptomatiques, avec un risque moyen annuel d'événements thromboemboliques de 5,3 % chez les sujets triples positifs contre 1,36 % chez les sujets avec simple positivité APL (44).

De plus, les patientes avec triple positivité des marqueurs biologiques du SAPL et antécédent thrombotique sont celles pour lesquelles le taux de réussite du traitement conventionnel (aspirine + héparine de bas poids moléculaire) pour prévenir les complications obstétricales

## **PARTIE THEORIQUE**

---

est le plus faible (58,3 %), nécessitant en plus l'administration d'immunoglobulines intraveineuses et/ou la réalisation de plasmaphères pour améliorer considérablement le pronostic obstétrical (44).

### **III.8 Nouveaux marqueurs prédictifs**

#### **III.8.1 Test de génération de thrombine**

Le test de génération de thrombine est un test de coagulation au cours duquel la quantité de thrombine générée est mesurée. Ce test permet la mise en évidence d'une résistance acquise à la protéine C activée chez les patients avec anticoagulant circulant de type lupique (44).

#### **III.8.2 Anticorps anti-domaine 1 de la $\beta$ 2GPI**

Les anticorps anti- $\beta$ 2GPI peuvent être divisés en deux sous-groupes : les  $\alpha\beta$ 2GPI dirigés contre le domaine 1 de la  $\beta$ 2GPI et les  $\alpha\beta$ 2GPI dirigés contre les autres domaines.

Des tests immunologiques (Elisa et chimioluminescence) ont été mis au point pour détecter les anticorps anti-domaine 1 de la  $\beta$ 2GPI qui sont fortement corrélés avec la fréquence de survenue des événements thrombotiques (44).

L'intérêt de la détection spécifique de ces anticorps anti-domaine 1 est intimement lié à la qualité des Elisa  $\alpha\beta$ 2GPI utilisés.

En effet, l'utilisation d'Elisa  $\alpha\beta$ 2GPI avec un domaine 1 accessible, limite l'intérêt d'une détection spécifique de l'anti-domaine 1 (44).

#### **III.8.3 LA dépendant de la $\beta$ 2GPI**

La présence d'un LA dépendant de la  $\beta$ 2GPI mise en évidence par le raccourcissement spécifique de test de coagulation de dépistage après ajout de CL (étape de confirmation de la dépendance aux PL) est associée à un risque supérieur d'événements thrombotiques (OR = 42,3) en comparaison avec les LA non dépendants de la  $\beta$ 2GPI (OR = 1,6) [36]. Dans une récente étude multicentrique visant à évaluer un test commercial permettant de mettre en évidence les LA dépendants de la  $\beta$ 2GPI, un risque thrombotique deux fois plus important a été trouvé en comparaison des tests classiques de détection d'une activité LA (44).

#### **III.8.4 Résistance à l'annexine V**

Un test de coagulation évaluant la résistance à l'annexine V a été mis au point et est un marqueur supplémentaire de risque thrombotique chez les patients ayant des APL [38]. L'hydroxychloroquine semble être une thérapeutique intéressante, permettant de rétablir in vitro l'activité anticoagulante de l'annexine V (44).

#### **III.8.5 Combinaisons de tests incluant les APL non conventionnels**

Devant l'hétérogénéité des APL et la difficulté à caractériser parfaitement la biologie des

## **PARTIE THEORIQUE**

---

patients SAPL, différents scores existent afin d'aider les cliniciens à classer leur patient vis-à-vis de leurs risque thrombotique :

- Le **score APL-S** est un score purement biologique. Il a été établi à partir d'une population de patients avec des pathologies auto-immunes systémiques.

Ce score utilise les tests diagnostiques conventionnels du SAPL :

Différents tests de coagulation pour la recherche du LA, les IgG et IgM ACA, les IgG et IgM a  $\beta$ 2GPI en y ajoutant la recherche d'anti-PS/PT IgG et IgM (44) ;

Le score **APL-S** est calculé par la somme des points attribués à chaque test positif et permettrait de prédire la survenue d'événements thrombotiques avec une augmentation du risque corrélée à l'augmentation du score (44) ;

- Le **score GAPSS** est un score clinico-biologique d'évaluation du risque thrombotique [41].

Ce score varie de 0 à 22 avec des points attribués de la manière suivante :

ACA IgG/IgM+ : 5 points, a $\beta$ 2GPI IgG/IgM+ : 4 points, LA+ : 4 points, aPS/PT IgG/IgM : 3 points, hypertension artérielle : 3 points, dyslipidémie : 3 points.

Le score **GAPSS** a été évalué dans une étude prospective multicentrique.

Un score supérieur à 16 semble être un bon marqueur prédictif d'événements thrombotiques (44).

De nombreuses études se sont intéressées à l'impact des marqueurs ne rentrant pas dans le cadre diagnostique de la classification de Sidney.

En 2014, Sciascia et al, ont étudié une population de patients atteints de LES dans laquelle la triple positivité LA+, a  $\beta$ 2GPI+, aPS/PT+ est à risque majeur de thrombose ou de complications obstétricales (OR = 23,2) et supérieure à la combinaison des critères biologiques de Sidney : LA+, ACA+, a $\beta$ 2GPI+ (OR = 14,9) (44).

### **IV- PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DU SAPL**

De par les différents profils cliniques du SAPL, il n'existe pas de prise en charge thérapeutique standardisée (101).

Dans tous les cas de figure, la durée du traitement anticoagulant sera pondérée par l'évolution du risque hémorragique au cours de la vie en gardant en perspective que l'anticoagulation est indiquée initialement pour une durée indéterminée (101).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **IV.1 Traitement du SAPL thrombotique**

#### **IV.1.1 Prévention primaire du SAPL thrombotique**

En présence d'APL sans manifestations thrombotiques, le bon sens est d'introduire un antiagrégant plaquettaire (Aspirine) (101).

En revanche, face à **une situation prothrombogène** (alitement, chirurgie...), il semble légitime d'instituer une prévention par héparines de bas poids moléculaire (risque élevé) pendant la période à risque, même si les études manquent pour confirmer l'utilisation des héparines de bas poids moléculaire (101).

#### **IV.1.2 Traitement curatif des thromboses**

Le traitement curatif à la phase aiguë d'une thrombose veineuse au cours du SAPL s'impose en toute circonstance et fait appel, sans originalité, aux héparines à dose curative (avec contrôle de l'activité anti-Xa) relayées après cinq à six jours par une anti-vitamine K (AVK) débuté le soir dès le premier jour. L'objectif du traitement par AVK est de maintenir l'INR autour de 3 (83).

#### **IV.1.3 Prévention secondaire du SAPL**

##### **IV.1.3.1 Traitement des manifestations thrombotiques artérielles et veineuses**

En cas de thrombose veineuse simple, une anticoagulation ayant pour objectif un INR entre 2 et 3 est suffisante. Afin d'éviter d'avoir un INR infra thérapeutique, comme cela est bien souvent le cas pour les patients SAPL qui récidivent, il faut insister sur l'indispensable éducation du patient (101).

La lutte contre les autres facteurs de risque thrombotique ne doit pas être oubliée.

La durée d'anticoagulation sera prolongée et « personnalisée » en fonction du titre des APL, des facteurs de risque thrombotiques concomitants, de la gravité de l'événement initial (les patients récidivant en général dans le même territoire) et du risque hémorragique. Elle sera prolongée en cas d'accident artériel grave, de manifestations thrombotiques...(101).

##### **IV.1.3.2 Traitements spécifiques**

###### **IV.1.3.2.1 AVK oraux**

Le traitement utilisé dans l'anticoagulation à long terme pour des patients atteints de SAPL et les patients qui ont une thrombose veineuse est l'AVK et warfarin est le médicament le plus utilisé (102).

###### **IV.1.3.2.2 Héparine et l'héparine de bas poids moléculaire**

Des études sur l'héparine de bas poids moléculaire ont montré l'efficacité de cet agent comme une alternative à la warfarin en raison d'épisodes de récurrences de thrombose malgré l'utilisation des AVK ou l'incapacité de maintenir un INR autour de 3 (102).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **IV.1.3.2.3 les anticoagulants oraux directs**

Sont fréquemment utilisés chez les patients atteints du SAPL car ils ne nécessitent pas de suivi et parcequ'ils ont moins d'interactions drogue-droque et drogue-nourriture. Les plus utilisés sont les inhibiteurs de la thrombine (dabigatran) et les inhibiteurs du facteur Xa (rivaroxaban et apixaban) mais ils sont irréversibles (102).

Les inhibiteurs oraux directs sont utilisés chez les patients atteints du SAPL, seulement quand ils présentent une intolérance aux AVK (102).

### **IV.2 Traitement du SAPL obstétrical**

#### **IV.2.1 Prévention primaire du SAPL obstétrical**

En cas de **SAPL obstétrical pur sans thrombose artérielle ou veineuse préalable**, une prévention des thromboses semble nécessaire étant donné le risque thrombotique en peri-partum et à moyen terme (101).

L'association aspirine-héparine a prouvé son efficacité. L'aspirine est en général arrêtée 10 jours avant la date du terme et l'HBPM, 48heures avant l'accouchement (101).

Les héparines de bas poids moléculaire (HBPM) sont habituellement prescrites en post-partum pour une durée de 6 semaines tandis que l'aspirine est prescrite à dose anti agrégante pour la prévention des événements thrombotiques à moyen terme (101).

#### **IV.2.2 Prévention secondaire du SAPL obstétrical**

Cette situation à haut risque thrombotique et obstétrical justifie une prise en charge pluridisciplinaire médico-obstétricale optimale.

En cas de **SAPL artériel ou veineux** avéré, la poursuite de l'anticoagulation est nécessaire pendant la grossesse en remplaçant les AVK par une HBPM à dose hypocoagulante dès le diagnostic de grossesse est posé (101).

### **IV.3 Traitement du syndrome catastrophique des anti-phospholipides**

Le traitement de cette forme mortelle dans 30 à 50 % des cas doit être optimal et sans délai associant une anticoagulation efficace, les agents immuno-modulateurs comme le cyclophosphamide et les stéroïdes. Les échanges plasmatiques sont fréquemment utilisés dans cette microangiopathie thrombotique et sont à l'origine de l'amélioration du pronostic vital (94)

### **IV.4 Autres traitements**

#### **IV.4.1 Statines**

Ont un effet anti-inflammatoire et inhibent l'activation cellulaire induite par les anticorps anti-phospholipides (102).

Le fluvastatine empêche l'expression des molécules d'adhésion et le facteur tissulaire

## **PARTIE THEORIQUE**

---

Le Simvastatin et pravastatin diminuent les pertes fœtales chez les souris(102).

Mais; en ce moment; les statines ne sont pas recommandés chez les patients atteints du SAPL en absence d'une hyperlipidémie (102).

### **IV.4.2 Hydroxychloroquine**

Il est utilisé pour le traitement du LES en raison de son effet anti-inflammatoire et immuno-modulateur (102).

Il est utilisé chez les patients lupiques grâce à son effet protecteur des thromboses artérielles et veineuses sans ou avec APL.

Cependant, aucune étude n'a confirmé son utilisation chez les patients APL positif sans association avec une autre maladie auto-immune systémique.

Hydroxychloroquine inhibe l'agrégation plaquettaire et la sécrétion de l'acide arachidonique par les plaquettes activées. Il inhibe aussi la fixation des  $\alpha\beta$ 2GPI aux phospholipides membranaires (102).

Récemment de Rand et ses collègues ont montré que l'hydroxychloroquine protège l'annexine A5 et empêche la rupture des syncytiotrophoblastes placentaires induite par les APL (102).

### **IV.5 Voies d'avenir pour le traitement du SAPL**

#### **IV.5.1 Inhibition du complément**

L'utilisation des anticorps anti-C5a monoclonaux et les antagonistes des récepteurs du C5a chez des souris atteintes du SAPL a donné son efficacité pour la prévention des pertes fœtales et la diminution des thromboses (102).

Les études cliniques sur l'inhibition du complément dans le SAPL sont limitées à un seul cas décrivant la réussite d'utilisation de l'eculizumab chez des patients avec un SCAPL réfractaire (102).

#### **IV.5.2 Defibrotide**

Caractérisé par une action anti-thrombotique, profibrinolytique et un effet anti-inflammatoire sur les cellules endothéliales par blocage de l'expression du facteur tissulaire.

Le Defibrotide peut diminuer l'activation des cellules endothéliales dans le SAPL et il est aussi utilisé pour le traitement du SCAPL réfractaire (102).

#### **IV.5.3 Rituximab**

Les lymphocytes B contribuent à la pathogénèse du SAPL par la production des anticorps anti-phospholipides (102).

Le Rituximab (un anticorps monoclonal anti-CD20) induit la déplétion des LB et son utilisation chez les patients présentant un SCAPL réfractaire à bien réussit (102).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **IV.5.4 Vitamine D**

Elle possède un rôle immuno-modulateur très important, un déficit en Vit D est donc relativement lié aux maladies auto-immunes (102).

Des études récentes ont évoqué la possibilité que la Vit D soit un agent anti-thrombotique. En effet, des taux faibles en vit D sont corrélés à des thromboses veineuses et artérielles. Cependant aucune étude récente n'a pu la relier aux complications thrombotiques (102).

## **V- TRAVAUX DE RECHERCHES RECENTS SUR LE SAPL**

### **V.1 Alliance pour les essais cliniques et la mise en réseau du Syndrome des anti-phospholipides (APS ACTION)**

Depuis la description du syndrome des anti-phospholipides (SAPL) (13) au milieu des années 1980, la recherche clinique sur cette maladie a connu une croissance exponentielle.

En 2010, le Comité organisateur du 13<sup>ème</sup> Congrès international sur les anticorps anti-phospholipides (APL), présidé par Dr. Silvia Pierangeli, a créé une équipe de recherche clinique (CRTF) dont les objectifs étaient d'évaluer les limites et d'élaborer des lignes directrices pour la recherche clinique sur le SAPL.

Le CRTF a recommandé la création d'un réseau de collaboration international pour concevoir et mener des essais cliniques prospectifs, multicentriques et à grande échelle chez des patients porteurs d'APL (103).

Un «Sommet CRTF APS» en novembre 2010 a généré des idées pour de futurs essais cliniques collaboratifs et a ainsi lancé un réseau international de recherche clinique sur le SAPL intitulé «Alliance pour les essais cliniques et la mise en réseau du Syndrome des anti-phospholipides» *“Anti-phospholipid Syndrome Alliance for Clinical Trials and International Networking”* (APS ACTION) (104).

Le principe fondateur de l'APS ACTION est la collaboration internationale et le partage de données. Un objectif secondaire est d'affiner et de réactualiser les définitions des manifestations cliniques associées aux APL (104).

#### **V.1.1 Recherche en cours**

Au début de l'année 2012, APS ACTION a lancé deux projets internationaux collaboratifs:

- une base de données cliniques en ligne de patients avec ou sans maladie auto-immune systémique, incluant un référentiel avec une collecte de base et une collecte annuelle d'échantillons pour de futures études mécanistes ;

## **PARTIE THEORIQUE**

---

- un essai contrôlé randomisé de l'hydroxychloroquine dans la prévention de la thrombose primaire chez des patients atteints de thrombose persistante avec ou sans APL, avec ou sans autres maladies auto-immunes systémiques.

Un autre objectif d'APS ACTION est de mener des études épidémiologiques qui enquêtent sur les associations entre les tests APL, les facteurs de risque et les résultats cliniques qui, nous l'espérons, généreront des hypothèses conduisant à de nouvelles recherches fondamentales et transrationnelles ? (32)

### **V.1.2 Base de données cliniques internationale et référentiel de l'APS ACTION**

Une base de données et référentiel clinique international et multicentrique nous permet d'étudier prospectivement l'histoire naturelle des patients APL positifs. Les données sont collectées et gérées à l'aide des outils de capture de données électroniques REDCap hébergés chez *Weill Cornell Medicine* (105), une application Web sécurisée qui prend en charge la saisie de données pour les études de recherche(32).

En novembre 2016, 25 centres ont reçu l'approbation de l'*Institutional Board (IRB)* pour participer au registre APS ACTION, et 668 patients ont été inscrits.

Depuis sa création, plusieurs analyses préliminaires ont été réalisées (y compris celles présentées lors du 15<sup>ème</sup> Congrès International sur les APL) (32).

Ces analyses ont pu démontrer :

- Une association du profil APL triple-positif avec le SAPL catastrophique et avec la valvulopathie, mais pas avec d'autres manifestations liées aux APL (106) ;
- Les risques récidivants d'un an et les premiers risques de thrombose chez les patients ayant une persistance des APL sont respectivement de 1,7% et 0% par an (107); au cours d'un suivi prolongé (720 patients-années, moyenne de  $1,7 \pm 0,65$ ), le risque a augmenté à 2,4% et 1,9%, respectivement. Le risque est associé à la positivité de l'anticoagulant lupique (LA) et / ou à la triple positivité des APL en plus d'autres facteurs de risque de thrombose non-APL (108) ;
- L'analyse par clusters (groupes) a pu distinguer parmi les patients porteurs d'APL, quatre différents phénotypes cliniques: ceux présentant des complications obstétricales, ceux ayant des facteurs de risque cardiovasculaires, ceux ayant un profil APL en faveur d'un SAPL et ceux atteints d'un lupus (32).
- Les facteurs de risque de thrombose à la suite d'une atteinte obstétricale lié à la présence des APL incluent un âge plus précoce au cours du premier épisode, des facteurs de

## **PARTIE THEORIQUE**

---

risque cardiovasculaire, des manifestations cliniques non critères diagnostiques et un test APL positif (109).

- Le score plus élevé (GAPSS) prédit le risque de thrombose à venir après une complication obstétricale liée aux APL (110).
- Les patients atteints de LEAD ont plus souvent des IgA anti- $\beta$ 2-glycoprotéine-I (a $\beta$ 2GPI) que des IgA anti-cardiolipines (ACA); Cependant, Les IgG, IgM, ou IgA ACA / a $\beta$ 2GPI ne distinguent pas entre les patients avec différents événements cliniques liés à la présence des APL ou entre les patients atteints ou non de LEAD (111).
- Une thrombocytopénie persistante et une anémie hémolytique auto-immune surviennent le plus souvent chez les patients atteints de LEAD.
- L'hypertension artérielle et le tabagisme sont plus fréquents chez les patients atteints d'aplasie médullaire associée à un LEAD en comparaison avec l'aplasie médullaire non associé à un LEAD; la fréquence des autres facteurs de risque cardiovasculaires est similaire dans les deux groupes (111).
- Les patients porteurs d'anticorps anti-phospholipides ayant des caractéristiques sérologiques du LEAD sans caractéristiques cliniques sont plus susceptibles de recevoir de l'hydroxychloroquine (HCQ); environ un tiers des patients atteints de SAPL primaire reçoivent le HCQ (112).
- Sur les 428 patients atteints de SAPL thrombotique inclus dans le registre, 19 ont reçu un anticoagulant oral direct (DOAC), principalement du rivaroxaban. Six patients ont développé des événements récurrents au cours du suivi de deux ans; cependant, chez 11/19 des patients, l'utilisation du DOAC n'était pas conforme aux indications préconisées, mis à part le diagnostic Du SAPL, par exemple, utilisé pour la thrombose artérielle récidivante (113).

Ces résultats sont préliminaires et certains sont basés sur des données rétrospectives. Les analyses futures fourniront des conclusions plus définitives.

Au cours des 5 dernières années, APS ACTION, la première collaboration internationale entre cliniciens et investigateurs du SAPL axée sur la conduite d'essais cliniques multicentriques, randomisés et contrôlés, a répondu à un besoin important dans la recherche sur le SAPL.

Les membres continuent d'identifier les lacunes et les limites dans la littérature du SAPL que APS ACTION s'efforce d'améliorer avec des études prospectives à grande échelle qui valorisent le diagnostic précoce, la stratification des risques, la recherche scientifique fondamentale pour élucider les mécanismes et les thérapies améliorées (32).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **V.2 Rapport du 15<sup>ème</sup> Congrès international sur les anticorps anti-phospholipides**

Le syndrome des anti-phospholipides est caractérisé par des thromboses et / ou des complications obstétricales chez les patients présentant des anticorps anti-phospholipides persistants (APL)

Compte tenu de la mortalité importante liée au SAPL et des limites importantes des critères actuels, le 15e Congrès international sur la classification du SAPL a pour objectif d'élaborer de nouveaux critères factuels pour améliorer la recherche clinique sur le SAPL (114).

Une approche multicentrique internationale a été utilisée pour capturer à la fois le large spectre des manifestations cliniques de la maladie et la variabilité dans les tests de laboratoire APL.

Ces critères pourraient permettre d'identifier les patients présentant une forte probabilité de souffrir d'un SAPL et de mieux standardiser les patients pour la recherche clinique sur le SAPL. Cette partie passe en revue la justification et la méthodologie de l'élaboration de nouveaux critères de classification du SAPL (114).

#### **V.2.1 Justification de l'élaboration de nouveaux critères de classification du syndrome des anti-phospholipides**

Les critères de classification de SYDNEY sont sous-optimaux en raison :

- Du manque de représentation de nombreuses manifestations cliniques associées à la présence des APL (114), telles que le livedo réticulais, la thrombocytopénie ou la valvulopathie (32).
- Du manque de Stratification du risque basée sur le diagnostic du lupus érythémateux disséminé (LEAD); Par exemple, alors que les tests APL peuvent être un marqueur diagnostique utile chez les patients atteints de lupus, ils peuvent être moins importants chez les patients sans lupus (114).
- Du manque d'Incorporation des connaissances concernant d'autres facteurs de risque de thrombose; par exemple, au moins 50% des patients atteints de thromboses associés à la présence d'APL ont d'autres facteurs de risque de thromboses en dehors de ces APL (114).
- Du manque de précision dans la définition des critères de complications obstétricales (114); en effet de nouvelles idées associent la présence des APL à des formes de morbidité liée à la grossesse qui ne font pas partie des critères de classification de Sydney , par exemple le retard de croissance fœtale (114).
- Du manque de précision dans la Définition de la positivité des APL et de leur persistance (114).

## **PARTIE THEORIQUE**

---

- Du manque de Représentation du risque de développement de manifestations cliniques liées à la présence des APL. Par exemple, les anticorps anti-cardiolipide IgM (ACA) et anti- $\beta$ 2-glycoprotéine I ( $\alpha\beta$ 2GPI) sont moins souvent associés à des manifestations cliniques, comparativement au lupus anticoagulant (114) (32).
- Du manque de Représentation de nouveaux tests APL potentiellement importants, par exemple, des anticorps dirigés contre le domaine I de la  $\beta$ 2GPI ou des anticorps anti-phosphatidyl-sérine / prothrombine qui pourraient être plus prédictifs du risque thrombotique (114) (32).

Des progrès importants ont été réalisés dans la méthodologie d'élaboration des critères de classification (114). L'*American College of Rheumatology (ACR)* a publié de nouvelles recommandations pour le développement et la validation d'ensembles de critères, basés sur des normes contemporaines de mesure (114).

Bien qu'elles soient largement acceptées, les propriétés de mesure des critères de classification de Sydney, qui n'ont pas été comparées formellement, sont peu susceptibles de satisfaire aux normes de mesure recommandées (114).

Enfin, les présidents des groupes de travail ont conçu une enquête d'évaluation des besoins (114); 92% des participants ont signalé le besoin de nouveaux critères de classification pour le SAPL (32).

### **V.2.2 Méthodes de développement de nouveaux critères de classification du syndrome des anti-phospholipides**

Une approche pour le développement de nouveaux critères de classification pour le SAPL a été développée et approuvée par l'ACR et la Ligue européenne contre le rhumatisme (EULAR). Celle-ci utilise des méthodes basées sur des experts et des données. Pour chaque phase, sont utilisées des stratégies de réduction du biais; des médecins expérimentés dans le SAPL et des données de cohorte des patients sont également inclus (32).

L'approche implique les quatre phases suivantes (114):

#### **➤ Phase I (terminée)**

C'est une phase de Génération d'éléments qui identifie une liste complète de critères candidats en classant les patients en fonction de leur probabilité d'avoir un SAPL.

Les médecins-scientifiques internationaux, ont été invités à énumérer toutes les caractéristiques qui, selon leur expérience, se retrouvent dans le spectre APL / SAPL. De plus, une liste étendue de manifestations potentielles associées à la présence des APL, en particulier celles survenant au moment du diagnostic du SAPL a été généré, sur la base de leurs revue de littérature.

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### ➤ **Phase II (en cours)**

C'est une phase de réduction des éléments en réduisant la liste des critères candidats générés dans la phase I à un nombre gérable, à l'aide des revues systématiques (114) et des méta-analyses.

Les médecins-chercheurs seront invités à classer les critères candidats en fonction du niveau d'adéquation pour la classification des patients présentant une probabilité élevée d'avoir un SAPL

Les éléments ayant une sensibilité ou une spécificité très faible, une fiabilité médiocre ou une faisabilité insuffisante seront supprimés (114).

### ➤ **Phase III**

C'est une phase de Réduction supplémentaire des critères suite à la pondération de ces derniers et l'identification d'un seuil initial dans le but de réduire davantage le nombre de critères candidats (114) (32).

La Détermination du poids relatif de chacun des critères et l'identification du seuil de « probabilité élevée de SAPL » se fait par une analyse de décision multicritère.

Un groupe d'experts du SAPL sera créé à partir des membres sélectionnés du groupe de travail et des médecins-scientifiques de la liste maîtresse.

Les scores les plus élevés devraient être corrélés avec une probabilité plus élevée d'avoir un SAPL.

En utilisant ces résultats, un score seuil initial sera identifié pour déterminer la probabilité d'avoir un SAPL pour les patients présentant des manifestations cliniques et une sérologie APL positive (114) (32).

### ➤ **Phase IV**

Cette phase est une étape de Raffinement et de validation; en utilisant la cohorte de dérivation (cas et contrôles), les caractéristiques de fonctionnement des nouveaux critères de classification seront testées et affinées de manière itérative, pour obtenir le moins de critères (suppression des critères redondants et de basse fréquence) et un système de pondération simplifié avec d'excellentes performances.

Ensuite, la sensibilité, la spécificité et les intervalles de confiance binomiaux exacts des critères de classification du SAPL finaux seront comparés au diagnostic clinique d'expert et aux critères de classification de Sydney (114), en utilisant une nouvelle cohorte de validation comprenant des patients positifs avec ou sans LEAD.

## **PARTIE THEORIQUE**

---

### **V.2.3 Réalisations de la task force sur les critères de classification du syndrome des anti-phospholipides (2013-2016)**

#### **V.2.3.1 Création de la *Task Force***

Le Congrès international sur les APL a lieu tous les 3 ans. En préparation du 14<sup>ème</sup> Congrès international sur les APL (septembre 2013, Rio de Janeiro, Brésil), plusieurs travaux ont examiné et discuté les aspects controversés du SAPL de manière factuelle: diagnostics biologiques et tendances, diagnostic et traitement obstétrical, diagnostics cliniques, tendances de traitement et SAPL catastrophique (32).

En préparation du 15<sup>ème</sup> Congrès international sur les APL (Istanbul, Turquie, relocalisé à Chypre du Nord, septembre 2016), le Comité de planification scientifique a fusionné les trois premières équipes de travail sous la *task force* pour la classification du SAPL.

Les membres du Comité de planification scientifique ayant une expérience pertinente et souhaitant participer à l'équipe spéciale ont également été inclus.

Le Comité permanent d'épidémiologie et de recherche sur les services de santé, participe aussi au *task force*.

#### **V.2.3.2 Enquête d'évaluation des besoins**

Les présidents des groupes de travail ont conçu un questionnaire d'évaluation des besoins qui englobe 14 questions, envoyé par courriel à 13 membres en août 2014. Le taux de réponse à l'enquête était de 100%; les réponses ont été analysées anonymement d'une manière descriptive qui a révélé un consensus concernant la nécessité de nouveaux critères de classification du SAPL(32).

Ainsi, la *task force* a décidé de déployer des efforts pour préparer de nouveaux critères de classification.

#### **V.2.3.3 Méta-analyses sur différentes manifestations cliniques liées aux anticorps anti-phospholipides**

Quatre équipes différentes ont travaillé sur les méta-analyses des manifestations cliniques non-critères diagnostiques du SAPL, à savoir, le livedo reticularis, la thrombocytopénie, l'anémie hémolytique et la néphropathie liée à la présence des APL (32). Ces quatre méta-analyses, avec d'autres (32), guideront les médecins chercheurs lors des nouveaux efforts de développement des critères de classification.

#### **V.2.3.4 Séances spéciales organisées par la task force**

Au cours du 15e Congrès international sur les APL, le groupe de travail (la task force) a organisé une session avec le Comité de planification scientifique du congrès; Les discussions

## **PARTIE THEORIQUE**

---

ont porté sur les aspects historiques, les limites et les points forts des critères de classification de Sydney, la méthodologie d'élaboration des critères de classification, ainsi que les réalisations et les plans futurs du groupe de travail (32).

Achèvement de la génération des critères de la phase I :

Au cours de la phase I, notre objectif était d'identifier les critères candidats pour les nouveaux critères de classification (32). 54 médecins-scientifiques de notre liste principale ont été interrogés sur les trois questions suivantes (32):

- Décrire toutes les caractéristiques (historiques, cliniques, biologiques, radiologiques et pathologiques) qui, selon leurs expériences, font partie du spectre APL / SAPL.» Cette question a permis d'identifier les critères candidats ayant un poids positif potentiel.
- Décrire toutes les caractéristiques (historiques, cliniques, biologiques, radiologiques et pathologiques) ou les maladies concomitantes qui, si elles sont présentes, leurs feraient remettre en question le diagnostic du SAPL même si les tests APL sont positifs.» Cette question a permis d'identifier les critères candidats ayant poids négatif potentiel.
- Lors de l'établissement d'un diagnostic du SAPL, les médecins pensent-ils aux patients atteints de SAPL dans les différentes sous-populations?» Cette question a permis de regrouper les critères.

Les médecins-chercheurs ont été encouragés à considérer leurs propres expériences avec les patients porteurs d'APL, plutôt que de se concentrer sur les critères de classification actuelle du SAPL et suite à cela 152 critères candidats ont été générés (32).

Les critères obstétricaux supplémentaires dont le poids est potentiellement négatif étaient : l'âge maternel avancé, des fausses couches précoces / très précoces (récurrente) ou des causes concomitantes de fausse couche récidivante, telles qu'une anomalie utérine / cervicale, des maladies thyroïdiennes ou des anomalies génétiques (32).

L'étape de génération des critères de la phase I des nouveaux critères de classification du SAPL appuie le concept que les manifestations cliniques de liées à la présence des APL sont hétérogènes et complexes et que la maladie peut être multifactorielle. Cette phase a permis de confirmer que les médecins pensent aux patients porteurs d'APL dans différentes sous-populations (32)

### **V.2.4 Conclusion du groupe et plans futurs**

En se basant sur la méthodologie utilisée pour l'élaboration de critères de classification pour d'autres maladies auto-immunes (32), les nouveaux critères de classification du SAPL devraient avoir une excellente validité apparente, validité de critère, et de la performance. La task force a

## **PARTIE THEORIQUE**

---

terminé l'élaboration des critères de la phase I et procédera à la réduction des critères de la phase II (32).

# **PARTIE PRATIQUE**

# **Objecifs de l'étude**

## **PARTIE THEORIQUE**

---

Ce présent travail a pour objectif :

➤ **Objectif principal :**

- Analyser et évaluer la place des auto-anticorps anti  $\beta$ 2GPI d'isotype IgA isolés dans le diagnostic du syndrome des anti-phospholipides à la lumière des nouvelles recommandations.

➤ **Objectifs secondaires :**

- Evaluer l'importance de l'étape de dépistage semi-quantitative (screening) dans le diagnostic du SAPL

# **Matériel et Méthodes**

## **PARTIE PRATIQUE**

---

### **I. Lieu et type d'étude**

L'étude a été effectuée au niveau du laboratoire de biologie unité d'immunologie, Unité HASSIBA BEN BOUALI du CHU de Blida, durant la période de décembre 2017 à avril 2018. Il s'agit d'une étude rétro-prospective réalisée sur une population de patients d'âges et de sexes différents.

### **II. Matériel**

#### **II.1 Matériel biologique**

##### **II.1.1 Population étudiée**

L'étude a été réalisée sur 837 patients qui se répartissent en 692 sujets de sexe féminin et 145 sujets de sexe masculin avec une moyenne d'âge de 38.66 ans, des extrêmes de 3 jours et de 85 ans et un sexe ratio de 5 femmes pour 1 homme.

Les patients recrutés sont soit des externes dont les prélèvements ont été effectués au niveau de l'unité d'immunologie, ou provenant des différents services : médecine interne, neurologie et cardiologie.

La collecte des données cliniques a été effectuée à partir des fiches de renseignements remplis par le médecin traitant.

Tous ces patients ont bénéficié d'un test Immuno-enzymatique de type ELISA pour la détection des anticorps antiphospholipides dans leurs sérums.

PARAMETRE	PATIENTS
POPULATION	837
SEX MASCULIN	145
SEX FEMININ	692
MOYENNE D'AGE	38.66
SEX RATIO	5F/1H

##### **II.1.2 Critères d'inclusion**

Les patients inclus dans notre étude présentent une clinique en faveur du syndrome des anti-phospholipides le plus souvent des thromboses veineuses et artérielles et/ou des complications obstétricales

## **PARTIE PRATIQUE**

---

### **II.1.3 Echantillon :**

Le sérum est l'échantillon préférentiel pour les différents dosages. Environ 5 ml de sang total ont été prélevés de manière aseptique pour chaque patient sur tube sec.

### **II.2 Matériel non biologique :**

L'ensemble de l'appareillage et des réactifs fournis sont destinés à la réalisation des tests ELISA.

#### **II.2.1 Réactifs utilisés**

##### **II.2.1.1 Kit ELISA pour le dépistage (screening) des anticorps anti-phospholipides (les 3 isotypes IgG / IgM / IgA) :**

- QUANTA Lite<sup>®</sup>  $\beta_2$  GPI Screen GAM pour le dépistage des  $\beta_2$ GPI
- QUANTA Lite<sup>®</sup> ACA Screen III GAM pour le dépistage des Aca

##### **II.2.1.2 Kit ELISA pour l'identification des anticorps anti-phospholipides :**

- QUANTA Lite<sup>®</sup>  $\beta_2$  GPI IgG
- QUANTA Lite<sup>®</sup>  $\beta_2$  GPI IgM
- QUANTA Lite<sup>®</sup>  $\beta_2$  GPI IgA (**Annexe 2**)
- QUANTA Lite<sup>®</sup> ACA IgG III
- QUANTA Lite<sup>®</sup> ACA IgM III
- QUANTA Lite<sup>®</sup> ACA IgA III (**Annexe 2**)

#### **II.2.2 Appareillage**

- Lecteur ELISA (spectrophotomètre) type MRX<sup>e</sup> marque Dinex biosciences (**Annexe 1**)
- Vortex (**Annexe 1**)
- Centrifugeuse (**Annexe 1**)
- Imprimante

## **III Méthode**

### **III.1 Recherche des anticorps anti-phospholipides par technique ELISA**

Cette recherche s'est déroulée en trois temps :

## **PARTIE PRATIQUE**

---

- Une première étape de dépistage semi-quantitatif par des tests ELISA screen ACA et a $\beta$ 2GPI
- Une deuxième étape d'identification des APL conventionnels (ACA et a $\beta$ 2GPI d'isotype IgG et IgM)
- Une dernière étape d'identification des ACA et a $\beta$ 2GPI d'isotype IgA en cas de négativité des APL conventionnels

### **III.1.1 Principe du test**

Le test Quanta Lite ELISA est un test qui permet la détection des anticorps dirigés contre la cardiolipine ou la  $\beta$ 2GPI dans le sérum humain, employant la technique en sandwich d'ELISA. Les antigènes utilisés sont purifiés dans les puits d'une plaque de micro-titration en polystyrène dans des conditions qui préservent son état natif. Les contrôles pré-dilués et les sérums de patients dilués sont ajoutés dans différents puits. Une étape d'incubation permet la liaison entre les anticorps présents dans le sérum et l'antigène immobilisé dans les puits. Les molécules non liées aux antigènes sont éliminées par lavage. Un conjugué enzymatique anti Ig humaine (GAM pour le test de screening et mono spécifique pour l'identification ) est alors ajouté dans chaque puits pour révéler les autoanticorps du patient. Après une étape d'incubation, le conjugué non fixé est éliminé par lavage. L'activité enzymatique résiduelle est quantifiée grâce à l'addition d'un substrat chromogène suivie d'une étape de mesure de l'intensité de la coloration ainsi développée. Les résultats peuvent être évalués par comparaison de la densité optique des échantillons avec celle de la courbe de calibration à 5 points. Les résultats quantitatifs sont en unité standards internationales.

### **III.1.2 Mode opératoire**

#### **III.1.2.1 Préparation du test**

1. Porter tous les réactifs et échantillons à la température ambiante (20-26° C) et bien les mélanger avant de les utiliser.
2. Diluer la totalité de la solution de lavage (50ml) avec 950 ml d'eau distillée (1/20). Si la totalité de la plaque de micro titration n'est pas utilisée en une seule fois, un plus petit volume de tampon sera suffisant, par exemple pour traiter 16 puits, diluer 4ml de tampon concentré dans 76 ml d'eau distillée.
3. Préparer les sérums des patients en les diluant au 1/101 dans le diluant d'échantillon (5 $\mu$ l dans 500 $\mu$ l). Les sérums doivent être utilisés dans les 8 heures qui suivent leur dilution. NE PAS DILUER les Calibrant A à E, le contrôle et le témoin Négatif

## **PARTIE PRATIQUE**

---

4. La détermination de la présence ou de l'absence de l'anticorps nécessite deux puits pour chacun des calibrants et contrôles et un ou deux puits pour chacun des sérums de patients. Il est recommandé de tester les échantillons en double.
5. Préparer la courbe de calibration à 5 points.

### **III.1.2.2 Exécution du test**

(Annexe 3)

### **III.1.3 Calcul des résultats**

(Annexe 3)

### **III.1.4 Interprétation des résultats :**

Le test ELISA est une technique très sensible et peut en conséquence détecter de très faibles différences au sein d'un groupe de patients. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs seuils d'interprétation en fonction de ses techniques, contrôles, équipements et populations de patients.

Un résultat positif indique la présence d'anticorps anti-cardiolipine (IgM, IgG ou IgA) ou d'anticorps anti  $\beta$ 2GPI (IgM, IgG ou IgA) et peut être utilisé conjointement avec d'autres tests sérologiques et résultats cliniques afin d'aider à évaluer le risque de thrombose chez des personnes atteintes de Lupus érythémateux disséminé (LEAD) ou de troubles similaires au lupus.

#### **III.1.4.1 Interprétation des Aca :**

Les résultats doivent être exprimés en unités MPL(IgM), GPL(IgG) ou APL(IgA).. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre plage pour les résultats qu'il considèrera normaux. Même lorsqu'une courbe d'étalonnage est utilisée, les résultats peuvent varier à des niveaux faibles et il arrive souvent que des résultats soient faussement positifs. résultats positifs sont attribués aux échantillons de patient avec des valeurs de plus de 15 . Harris et Pierangeli proposent une autre méthode semi-quantitative pour exprimer les résultats. Il est recommandé de considérer les valeurs de 20 à 80 comme des positifs faibles à moyens et les valeurs au-delà de 80 comme des résultats fortement positifs.

Un résultat négatif indique l'absence d'anticorps anti-cardiolipine ou bien un taux d'anticorps en dessous de la valeur seuil.

## **PARTIE PRATIQUE**

---

Les valeurs d'anti-cardiolipine obtenues avec des tests de différents fabricants ne sont pas interchangeables. Il est donc suggéré que le laboratoire rende les résultats avec la remarque suivante : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le test ELISA INOVA QUANTA Lite® ACA (IgM, IgG ou IgA) III ».

### **III.1.4.1 Interprétation des a $\beta$ 2GPI :**

Les résultats sont exprimés de la façon suivante :

- 0-20 unités UI (USA/USM/USG) : sérums négatifs
- >20 unités UI : sérums positifs

Un résultat négatif indique qu'il n'y a pas d'anticorps a $\beta$ 2GPI ou que le niveau de ces anticorps se trouve en dessous de la limite de détection de ce test.

Les valeurs a $\beta$ 2GPI (IgG, IgM ou IgA) obtenus avec d'autres tests du commerce sur le même sérum ne sont pas équivalents.

## **IV Analyse statistique :**

L'étude a été réalisé par le biais du :

- Logiciel Excel pour la confection des tableaux et des graphes.
- Logiciel graph pad prisme 7 pour l'analyse statistique du khi2

# **RESULTATS**

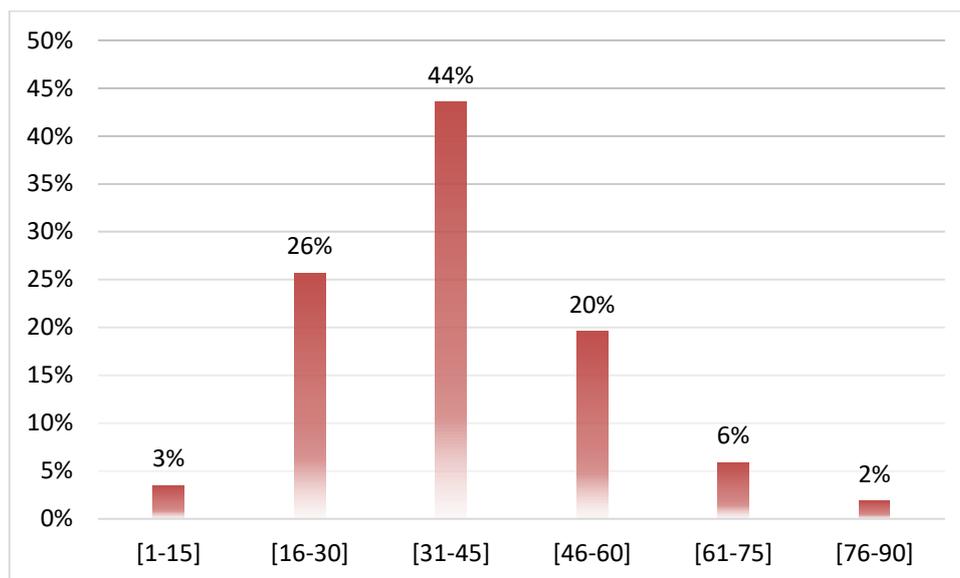
## PARTIE PRATIQUE

### I – Description de la population recrutée pour le dosage des anticorps anti-phospholipides (APL)

#### I.1 Répartition des patients explorés en fonction de l'âge et du sexe :

##### ❖ Selon l'âge

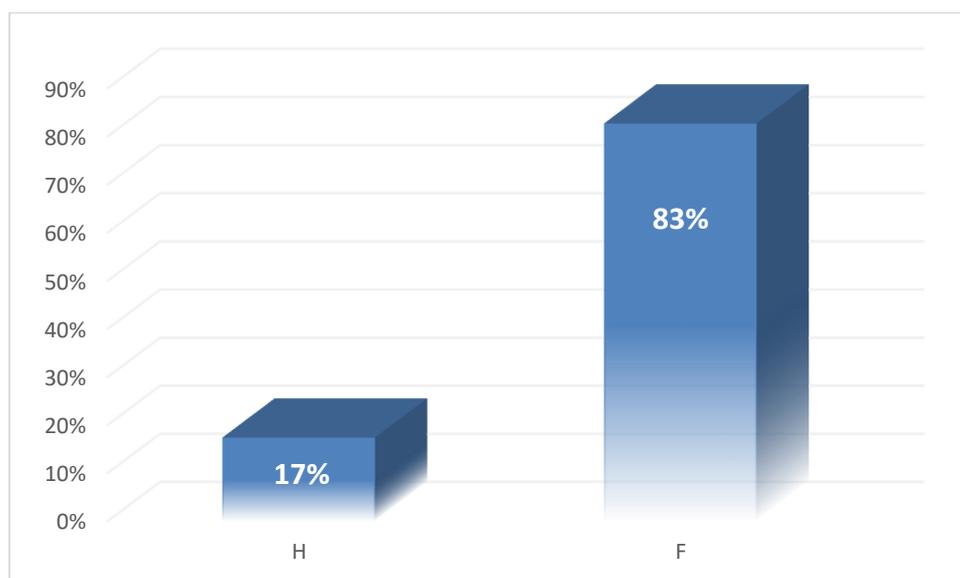
Notre série est constituée de 837 patients. Cependant La répartition des patients explorés en fonction de leurs âges n'a été réalisée que pour 751 patients (N=751) en raison du manque de données concernant les 86 autres patients.



**Figure 17: Répartition des patients explorés selon les tranches d'Age**

Notre population a été répartie en tranches d'âges de 15 ans. On note que 91% des patients adressés pour un bilan des APL ont un âge situé entre 16 et 60 ans. La tranche d'âge la plus concernée par ce bilan se situe entre 31 et 45 ans.

##### • Selon le Sexe N= 837

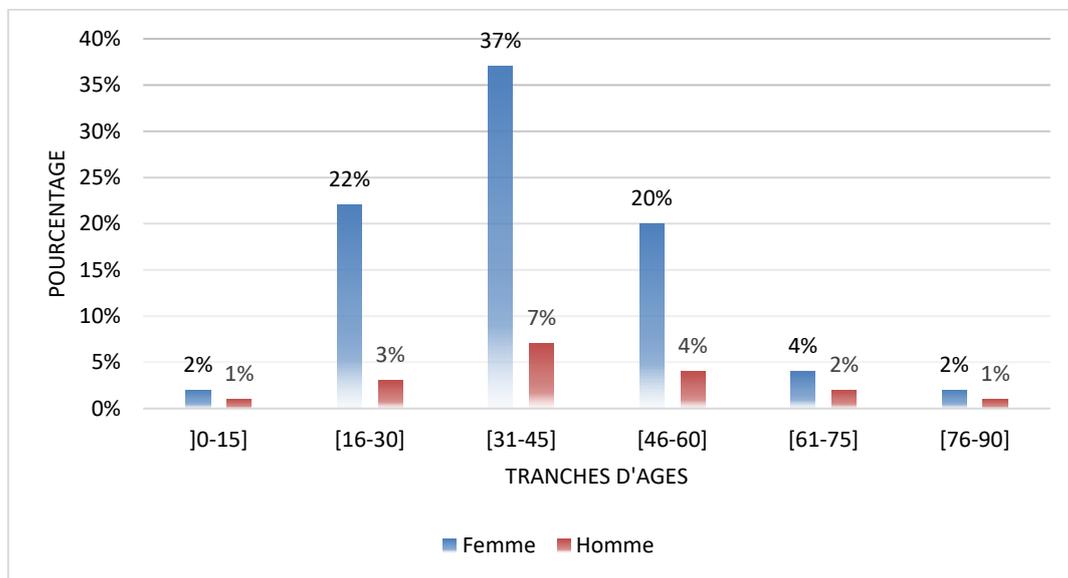


**Figure 18: Répartition des patients explorés selon le sexe**

## PARTIE PRATIQUE

D'après la figure (18) les patients adressés pour un bilan d'APL dans notre série sont en plus grande partie des femmes avec un taux de 83%. En ce qui concerne les hommes le taux est très faible et avoisine les 17%

- **Selon le sexe et l'âge**  
**N=751**

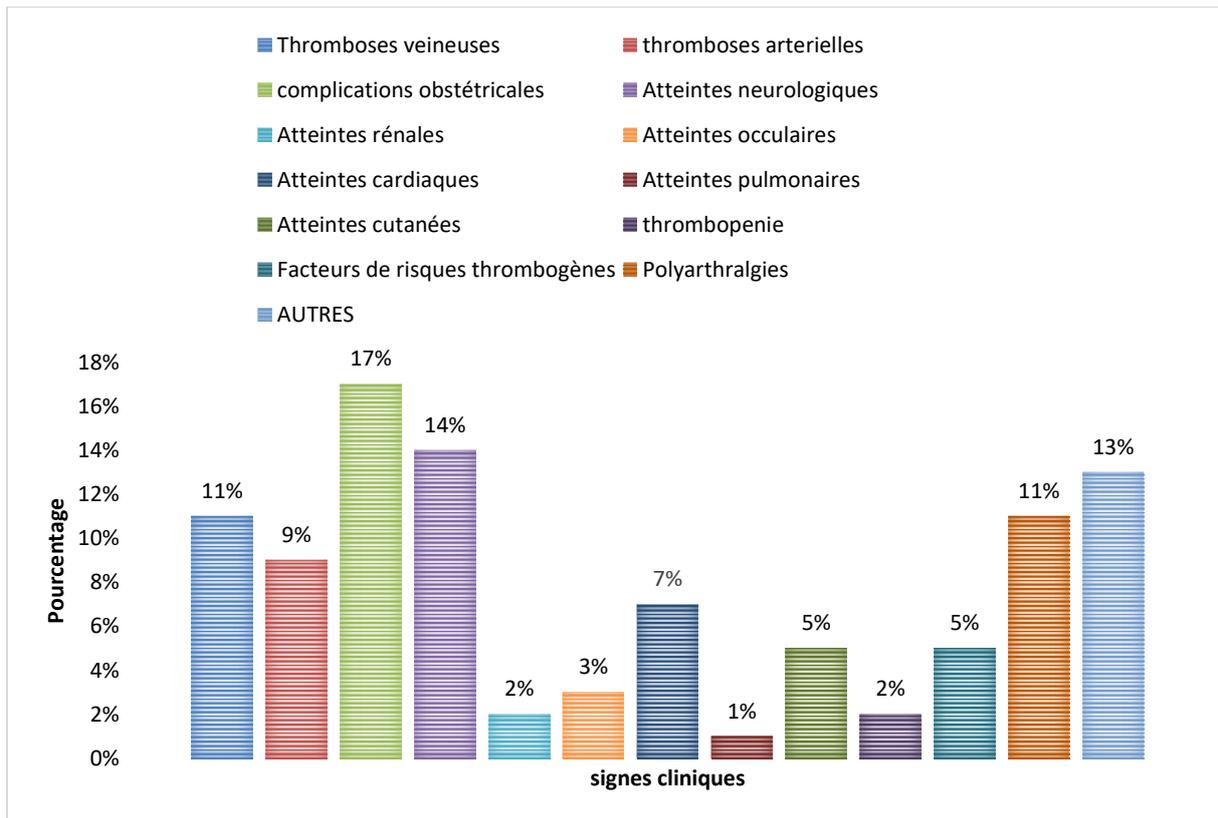


**Figure 19: Répartition des patients explorés selon le sexe et l'âge.**

Comme on l'a noté plus haut le bilan des APL est très fréquent chez les femmes de notre série. C'est en grande partie chez les femmes adultes âgées de **16 à 60 ans** que ces anticorps sont le plus recherchés avec une fréquence de **79%**.

### I.3 Répartition de patients explorés en fonction des signes cliniques

La répartition des patients explorés en fonction de leurs signes cliniques n'a été réalisée que pour 782 patients (**N=782**) en raison du manque de données cliniques concernant les 55 autres patients.



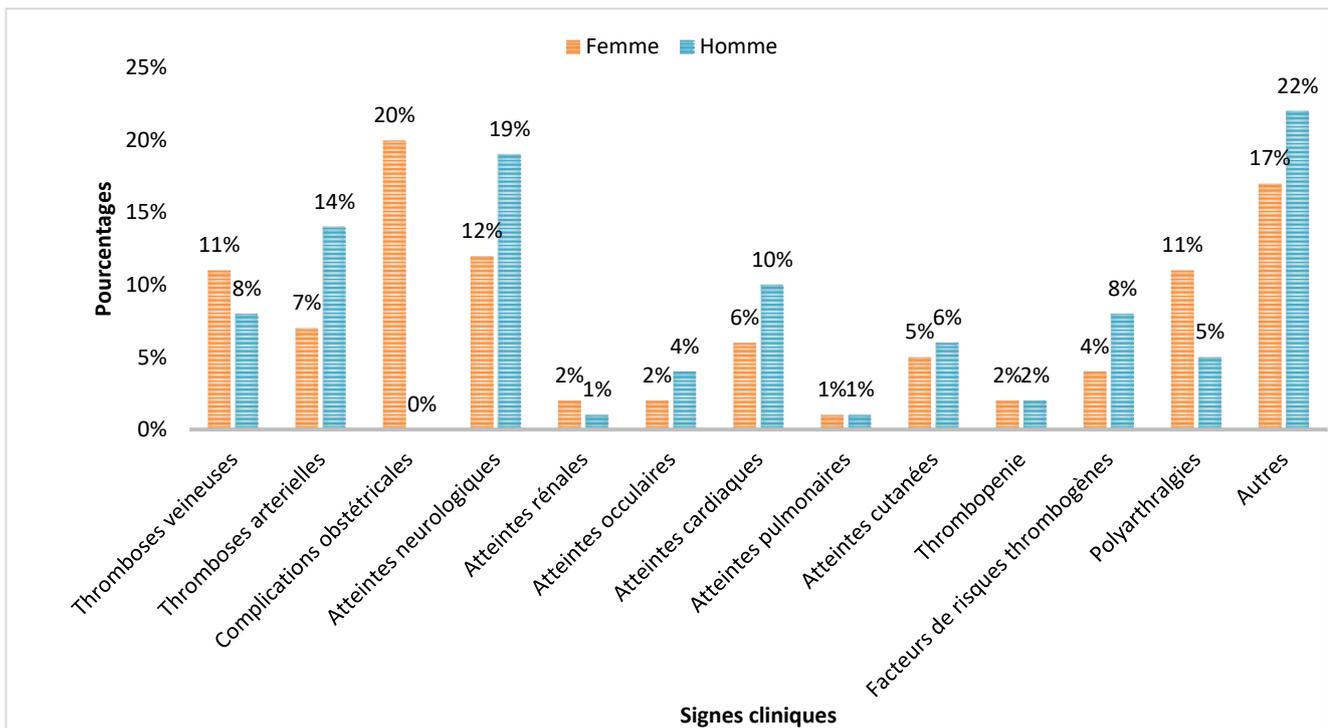
**Figure 20: Répartition des patients explorés selon leurs signes cliniques.**

On note que **76%** des patients explorés pour un bilan d'APL présente des signes cliniques en rapport avec le SAPL. **37%** d'entre eux sont représentés par des manifestations cliniques qui font partie des critères diagnostiques du SAPL, dominés par des thromboses (**20%**) surtout des thromboses veineuses (**11%**). Quant aux **9%** de thromboses artérielles, elles sont dominées par des AVC (**5%**).

Les complications obstétricales sont retrouvées dans **17%** des cas.

Les **39%** restants sont représentés par des manifestations cliniques qui ne font pas partie des critères diagnostiques du SAPL mais en relation étroite avec cette pathologie. Elles sont dominées par des atteintes neurologiques (**14%**). Les autres atteintes mineures sont réparties de façon plus ou moins égale.

On note d'autre part que **24%** de la population étudiée présente des signes cliniques en rapport avec d'autres maladies auto-immunes dominées principalement par des polyarthralgies.



**Figure 21: Répartition des patients explorés selon le sexe et les signes cliniques**

On observe d'après la figure ci-dessus que la majeure partie des **femmes (n=692)** adressées pour un bilan d'APL ont des complications obstétricales (**20%**), des thromboses veineuses (11%), des signes neurologiques (**19%**) ou des signes en rapport avec d'autres maladies auto-immunes telles que les polyarthralgies (**28 %**).

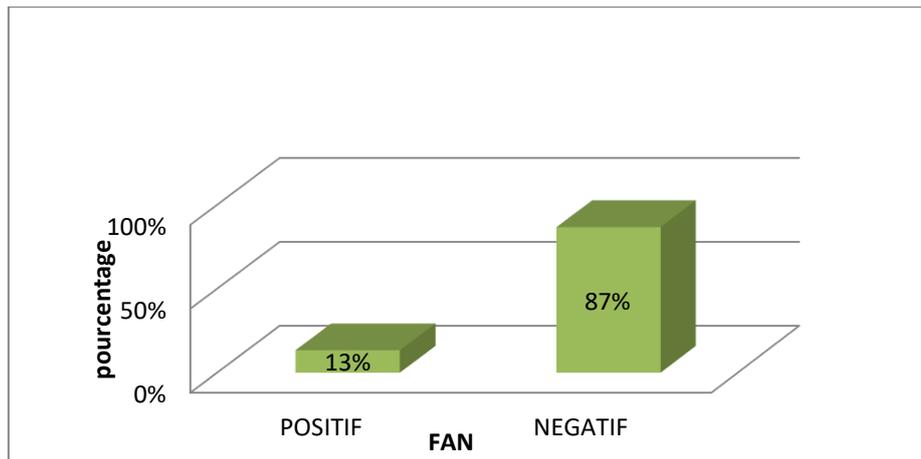
Quant aux **Homme (n = 145)**, la plupart d'entre eux présentent des thromboses artérielles (**14%**), des signes neurologiques (**19%**), des signes cardiaques (**10%**) ou d'autres signes en rapport avec des maladies auto-immunes.

#### **I.4 Répartition des patients explorés en fonction de la recherche des anticorps anti-nucléaires**

La répartition des patients explorés en fonction de la recherche des anticorps anti-nucléaires (FAN) n'a été réalisée que pour 759 patients (**N=759**) car les 78 autres patients n'ont pas été adressés pour un bilan de FAN.

On note que **13%** seulement de cette population a été retrouvé positif pour les FAN alors que **87%** d'entre elle étaient négatifs

**13%** sont donc suspectés d'avoir un SAPL secondaire aux connectivites.

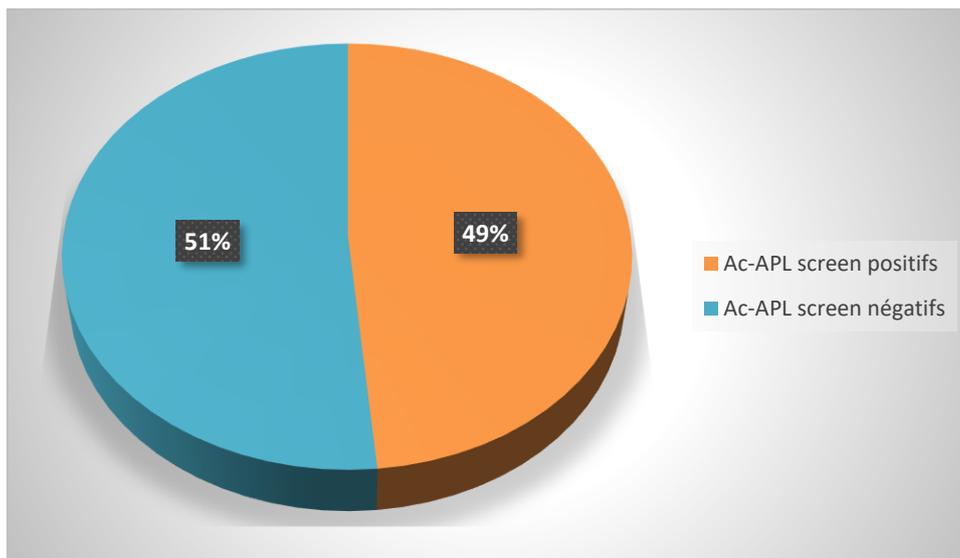


**Figure 22: Répartition des patients explorés selon la recherche des anticorps anti-nucléaires.**

## II. Fréquence des anticorps anti phospholipides dans la population explorée

### II.1. Fréquence des APL lors du dépistage

406 des 837 sérums testés soit 49% de la population étudiée étaient positifs au test de dépistage.



**Figure 23: Fréquence des APL au moment du dépistage.**

Dans la population dépistée positive, 24 % ont des Ac anti-cardiolipine (ACA) alors que 45 % ont des Ac anti-béta2 glycoprotéine I ( $\alpha\beta 2$ GPI). 30% de cette population ont les 2 Ac au même temps.

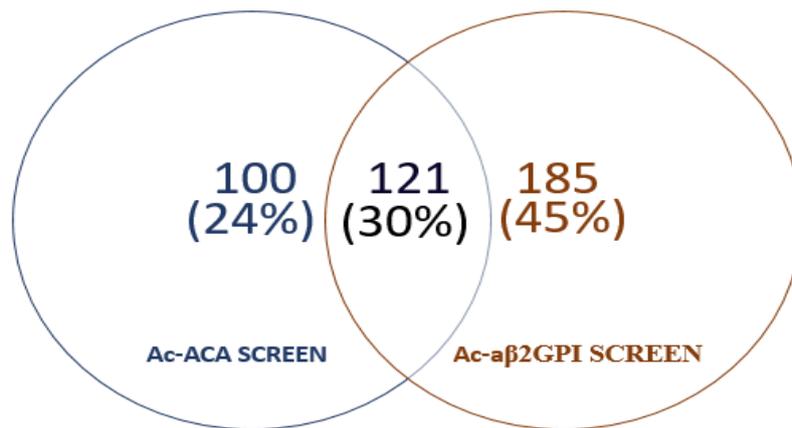


Figure 24:Fréquence des deux types d'APL au moment du dépistage

### II.2 Fréquence des Anticorps APL lors de l'identification sans dosage des IgA APL

En deuxième étape. Nous avons procédé à l'identification des anticorps APL dans les 406 sérums dépistés positifs .

Cette étape a été réalisée pour les aβ2GPI et les ACA conventionnels d'isotypes IgG/IgM **160** des **406** sérums dépistés positifs ont au moins un APL (ACA et/ou aβ2GPI) d'isotype IgG et/ou IgM et répondent aux critères biologiques du SAPL.

Au final la fréquence des APL au moment de l'identification est de **39%** dans la population dépistée positive et de 19% dans l'ensemble de la population explorée.

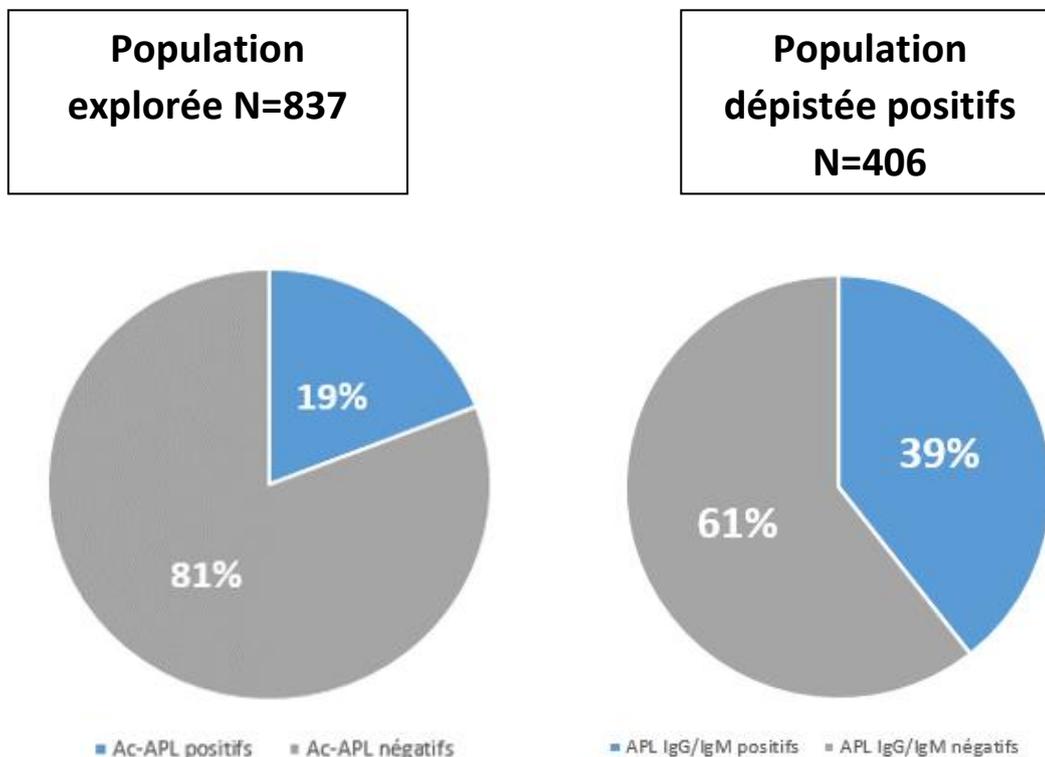


Figure 25:Fréquence des APL lors de l'identification avant dosage des IgA APL

## PARTIE PRATIQUE

Dans la population positive lors de l'identification, **46%** ont des ACA d'isotype IgG et/ou IgM Alors que **36%** ont des a $\beta$ 2GPI d'isotype IgG et/ou IgM. **18%** de cette population positive ont les deux Ac d'isotype IgG et/ou IgM au même temps.

Nous avons donc dans ce cas un taux plus élevé de positivité avec les ACA.

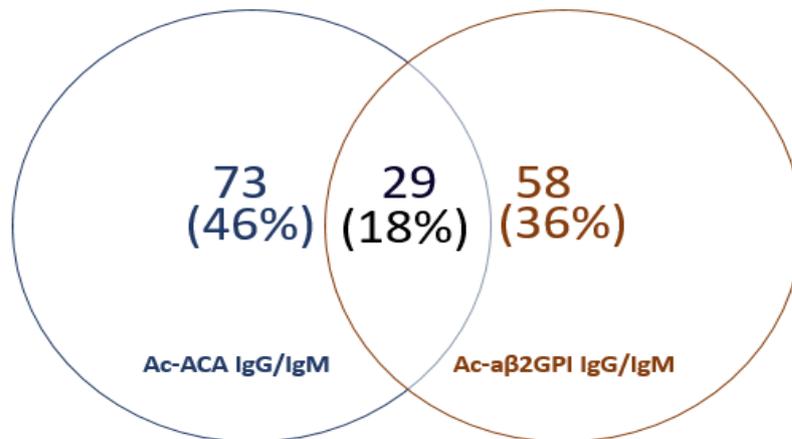


Figure 26:Fréquence des deux types d'APL au moment de l'identification sans dosage des IgA

### II.3 Fréquence des anticorps APL lors de l'identification après dosage des IgA APL

Après avoir introduit le dosage des a $\beta$ 2GPI et ACA d'isotype IgA on a obtenu les résultats suivants :

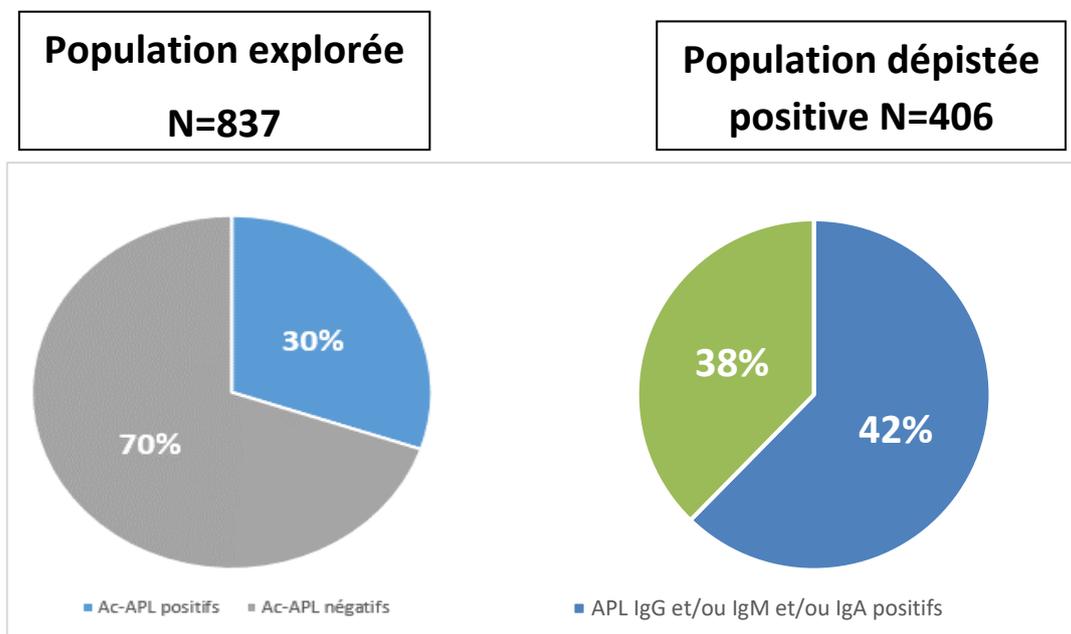
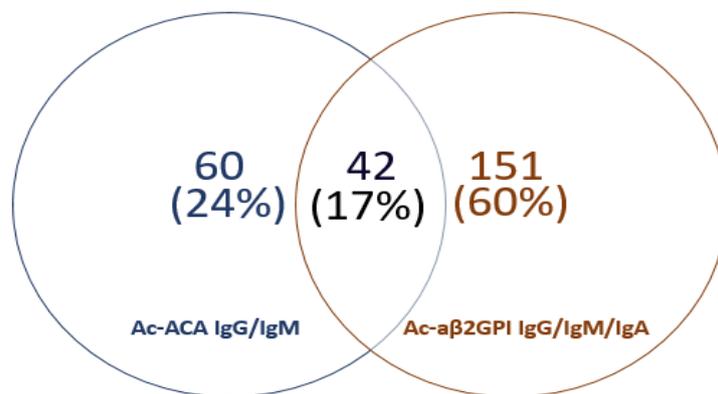


Figure 20:Fréquence des APL lors de l'identification après dosage des IgA APL

## PARTIE PRATIQUE

- **253** des **406** sérums dépistés positifs ont au moins un APL (ACA et/ou a $\beta$ 2GPI) d'isotype IgG et/ou IgM et/ou IgA. **93** nouveaux autres patients ont été identifiés et tous avaient un a $\beta$ 2GPI d'isotype IgA isolé car les ACA d'isotype IgA étaient tous négatifs.
- Au final la fréquence des APL a atteint les **39%** dans la population dépistée après l'introduction du test IgA et les **30 %** dans l'ensemble de la population étudiée.
- Dans la population positive, **24 %** ont des ACA d'isotype IgG et/ou IgM Alors que **60%** ont des a $\beta$ 2GPI d'isotype IgG et/ou IgM et/ou IgA. **17 %** de cette population positive ont les deux Ac d'isotype IgG et/ou IgM et/ou IgA au même temps. La balance a donc basculé vers les a $\beta$ 2GPI après l'introduction de l'isotype IgA.



**Figure 28:Fréquence des deux types d'APL au moment de l'identification après dosage de l'IgA**

Dans le tableau ci-dessous sont représentées les fréquences de positivité des différents isotypes des APL.

**Tableau 6:répartition de la positivité des apl sur les trois isotypes**

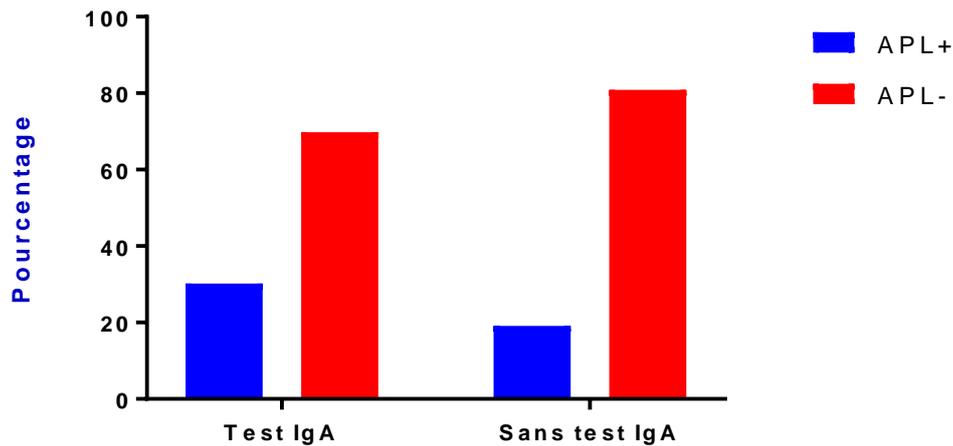
Isotypes Anticorps Positifs	IgG seul	IgM seul	IgA seul	IgG/IgM associés
A $\beta$ 2GPI n=193	17 (9%)	64 (33%)	106 (55%)	6 (3%)
ACA n=102	12 (12%)	85 (83%)	0	5 (5%)

Afin de comparer entre le taux de positivité des APL dans la population étudiée avant et après l'introduction des tests ACA et a $\beta$ 2GPI d'isotype IgA, les données ont été soumises à l'analyse du test de khi-deux (une valeur de  $p < 0.05$  est considérée significative). Le tableau suivant résume les résultats obtenus.

## PARTIE PRATIQUE

**Tableau 7: fréquence des APL avant et après l'introduction IgA APL**

	APL+	APL-	P	O.R	IC
Test IgA	253(30%)	584(70%)	<0.0001	1.833	1.331-1.881
Sans test IgA	160(19%)	677(81%)			

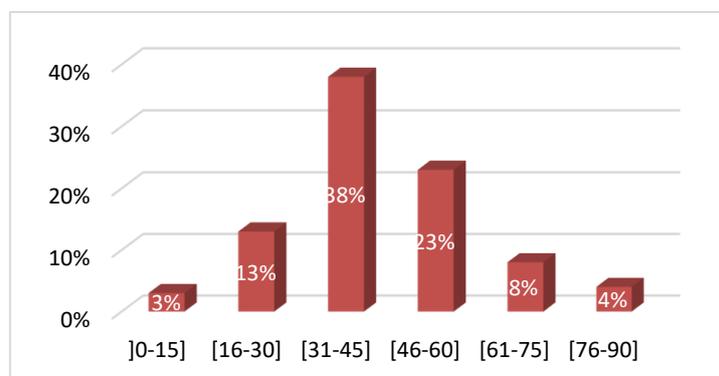


**Figure 29: Fréquence des APL avant et après l'introduction du test IgA APL**

Nous avons établi une association significative entre le test IgA APL et l'augmentation du taux de positivité des APL dans notre population ( $p < 0.0001$  ;  $OD = 1.833$ ). En effet, **93** nouveaux patients positifs pour les APL ont été détectés à la suite de l'introduction de ce test.

### II.2 Influence de l'âge et du sexe sur la positivité des APL

- AGE



**Figure 30: Fréquence des APL selon l'âge.**

## PARTIE PRATIQUE

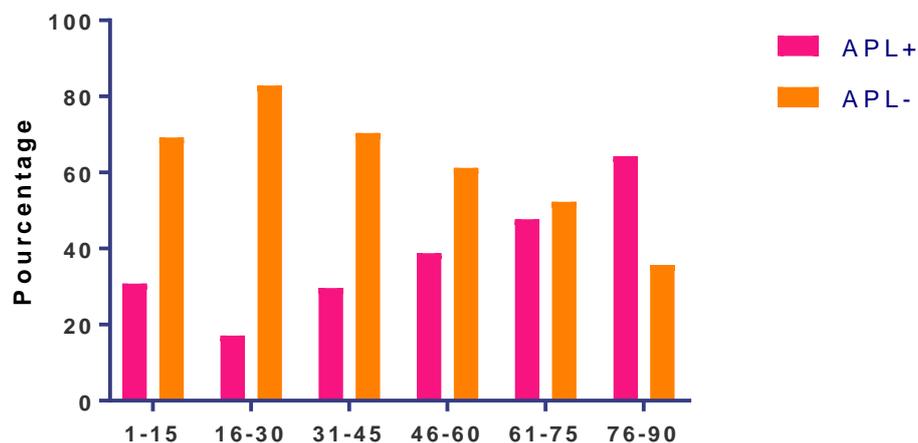
- Dans la population étudiée Les APL sont positifs en plus grande proportion chez les patients âgés de 16 à 60 ans avec un pic de 38% entre 31 et 45 ans. On retrouve très peu de positifs dans les âges extrêmes c'est-à-dire avant 15 ans et après 75 ans.
- Pour mieux comprendre l'impact de l'âge sur la positivité des APL , nous avons décidé de comparer les taux de positivité de ces Ac entre les différentes tranches d'âges en soumettant nos données à l'analyse du test de khi deux. Le tableau suivant résume les résultats obtenus :

**Tableau 8:Fréquence des APL par rapport aux tranches d'age**

APL Tranches d'âges	APL+	APL-	P
1-15 (n=26)	8 (31%)	18 (69%)	<0.0001
16-30 (n=193)	33 (17%)	160 (83%)	
31-45 (n=327)	97 (30%)	230 (70%)	
46-60 (n=147)	57 (39%)	90 (61%)	
61-75 (n=44)	21 (48%)	23 (52%)	
76-90 (n=14)	9 (64%)	5 (35%)	

Nous avons établi une association significative entre l'âge et l'incidence des APL (**p<0.0001**)

En effet, on remarque que plus on augmente dans l'âge, plus le taux des APL Positifs augmente pour enfin atteindre un taux nettement supérieur à celui des APL négatifs dans la dernière tranche d'âge.



**Figure 31:Fréquence des apl par rapport aux tranches d'age**

- **Sexe**

Parmi les **253** patients positifs de notre série, les femmes sont retrouvées en plus grande proportion (**84%**). Le sexe ratio est de 6F/1H.

## PARTIE PRATIQUE

Nous avons essayé de voir s'il existait une différence significative entre les taux de positivité des APL chez les hommes et les femmes. Nos données ont donc été soumises au test du khi2. Les résultats que nous avons obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 9:Fréquence des APL chez les hommes et les femmes**

	APL+	APL-	P
Femme (n=692)	215(31%)	477(69%)	0.2463
Homme (n=145)	38(26%)	107(74%)	

Le tableau ci-dessus indique qu'il n'y a aucune différence statistiquement significative ( $p > 0.05$ ) entre les hommes et les femmes concernant la positivité des APL. Les femmes ne développeraient donc pas ces anticorps plus fréquemment que les hommes.

### II.3 Influence de l'étape de dépistage (screening) sur la positivité des APL

Pour mieux comprendre l'importance de l'étape du dépistage semi-quantitatif dans la recherche des APL Nous avons décidé de comparer les taux de positifs des ACA au moment de l'identification en fonction de la valeur du Screen sachant que ce dernier est semi-quantitatif ou la valeur est comparé à un seuil de positivité (une valeur seuil = 1xNormale, 2 valeurs seuils = 2xNormale ...). Pour ce faire nous avons soumis nos données à l'analyse du test de khi deux. Chaque type d APL a été traité séparément. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux suivants :

- **Importance du test ACA Screen**

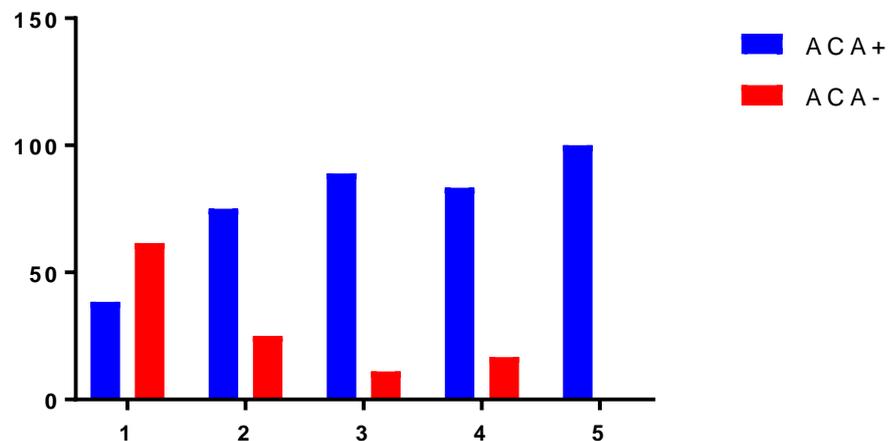
Parmi les 406 patients dépistés positifs 221 avaient un screen ACA positifs (N=221)

**Tableau 10: Fréquence des ACA au moment de l'identification en fonction de la valeur du screen ACA**

		Ac-ACA IgG/IgM/IgA		P
		positifs	négatifs	
Positivité ACA Screen	1xN (n=177)	68(38%)	109(62%)	<0.0001
	2xN (n=28)	21(75%)	7(25%)	
	3xN (n=9)	8(89%)	1(11%)	
	4xN (n=6)	5(83%)	1(17%)	
	5xN (n=1)	1(100%)	0(0%)	

## PARTIE PRATIQUE

Une association statistiquement significative ( $p < 0.0001$ ) a été établie entre la valeur du Screen et les taux de positivité des ACA lors de l'identification. En effet, on remarque que plus la valeur du Screen s'élève plus le taux de positivité des ACA des différents isotypes augmente. Le taux de positivité atteint le sommet (100%) lorsque la valeur du Screen est 5 fois la valeur seuil.



**Figure 32:Fréquence des ACA au moment de l'identification en fonction de la valeur du screen ACA**

- **Importance du test ACA Screen**

Parmi les 406 patients dépistés positifs 306 avaient un screen aβ2GPI positifs (N=306)

**Tableau 11:Fréquence des aβ2GPI au moment de l'identification en fonction de la valeur du screen aβ2GPI**

		Ac-aβ2GPI IgG/IgM/IgA		P
		positifs	négatifs	
Concentration Aβ2GPI Screen	1xN (n=142)	62(44%)	80(56%)	<0.0001
	2xN (n=82)	59(72%)	23(28%)	
	3xN (n=34)	27(79%)	7(21%)	
	4xN (n=35)	35(100%)	0(0%)	
	5xN (n=13)	13(100%)	0(0%)	

Une association statistiquement significative ( $p < 0.0001$ ) a été établie entre la valeur du Screen aβ2GPI et les taux de positivité des aβ2GPI lors de l'identification. En effet, on remarque que

## PARTIE PRATIQUE

plus la valeur du Screen s'élève plus le taux de positivité des a $\beta$ 2GPI des différents isotypes augmente. Le taux de positivité atteint le sommet (100%) lorsque la valeur du Screen est 4-5 fois la valeur seuil.

Ces résultats laissent suggérer que l'étape de dépistage des APL (ACA ou a $\beta$ 2GPI) pourrait prédire fortement la positivité de ces anticorps au moment de l'identification.

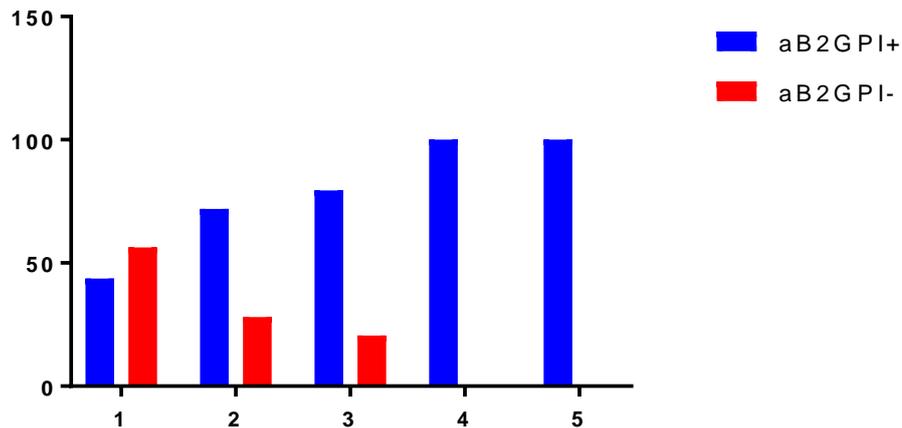


Figure 33: Fréquence des a $\beta$ 2GPI au moment de l'identification en fonction de la valeur du screen a $\beta$ 2GPI

### II.4 Association des anticorps anti nucléaires (FAN) avec les APL

La fréquence des APL dans ce cas a été calculée chez 759 patients ayant été adressé pour un bilan des FAN (N=759) afin de rechercher une association entre ces deux anticorps .

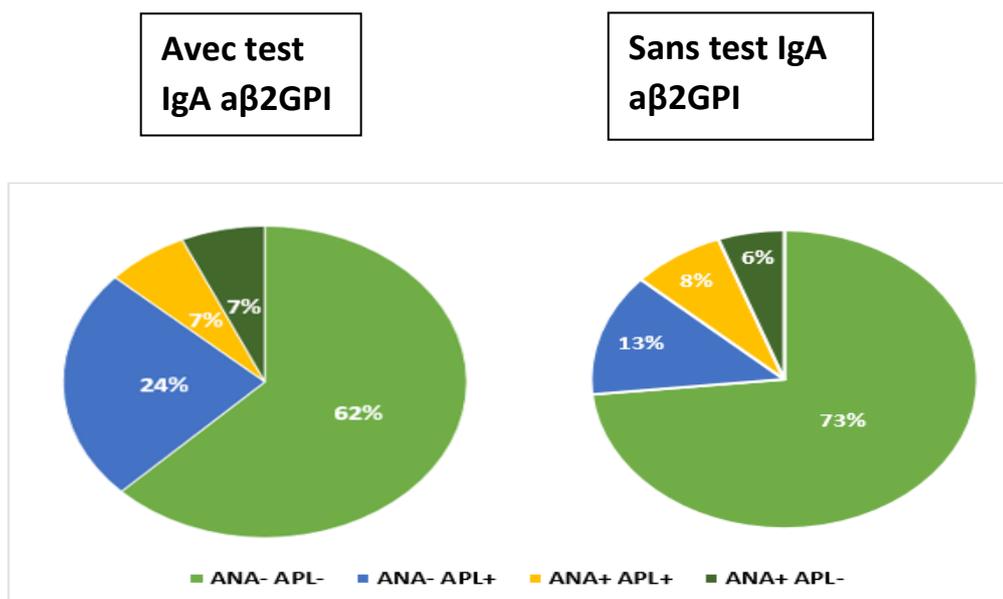


Figure 34: Fréquence des APL associés aux Ac anti-nucléaires

## PARTIE PRATIQUE

---

- Le taux des APL associées aux Ac anti-nucléaires (FAN) est moins fréquent dans notre série par rapport aux taux des APL non associées aux FAN avec une fréquence de **7%** contre **24%**.
- On note qu'avant ou après l'introduction du test IgA  $\alpha 2$ GPI Le taux des APL positifs associées aux FAN n'avait plus ou moins pas changé et était resté aux alentours de **8%**.
- Il a par contre augmenté de **11 %** chez des patients FAN négatifs

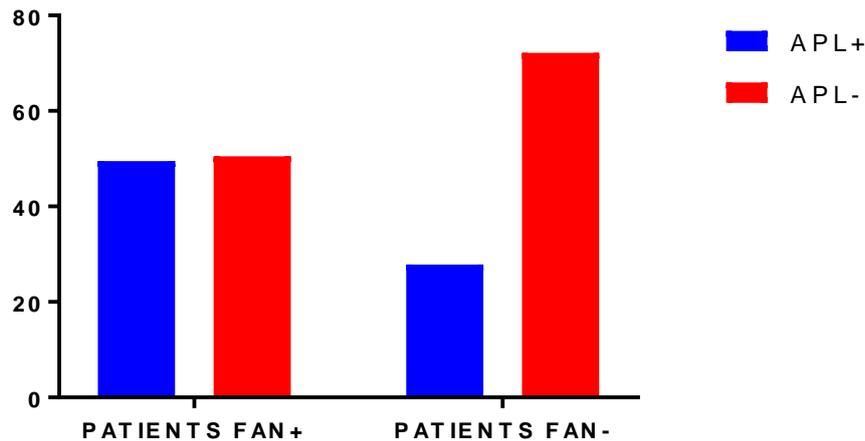
Afin de mieux comprendre s'il existe une association entre la population FAN+ et le développement des Ac APL Nous avons comparé les taux de positivité de ces Ac chez les populations positives et négatives pour les FAN en soumettant nos données à l'analyse du test de khi deux. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 12:Fréquence des APL en fonction de la positivité des fan**

	APL+	APL-	P	O.R	IC
Population FAN+ (n=101)	50 (50%)	51(50%)	<0.0001	2.545	1.394-2.218
Population FAN- (n=658)	183 (28%)	475 (72%)			

Ces résultats ont permis d'établir une relation significative (**p<0.0001, OR=2.545**) entre le développement des APL chez les patients FAN positifs. En effet comme il est observé dans la figure ci-dessous le taux de positivité des APL est nettement plus élevé chez les patients porteurs de FAN en comparaison avec les patients séronégatifs avec des fréquences de **50%** contre **28%** respectivement.

Ces résultats laissent penser que les patients FAN positifs ont un plus grand risque de développer des APL.



**Figure 35:Fréquence des APL en fonction de la positivité des FAN**

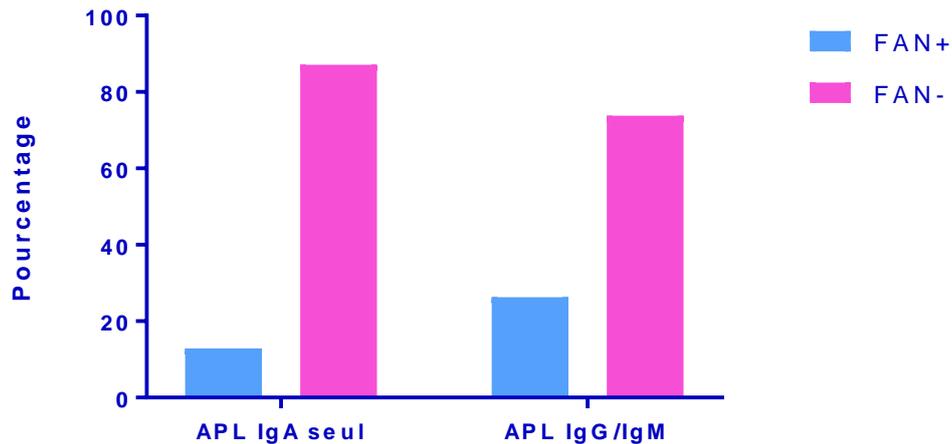
Après avoir confirmé qu’il existait une forte association entre les patients FAN positifs et l’incidence des APL dans notre population. On a voulu comprendre si cette association était plus liée aux isotypes conventionnels des APL Ou aux APL d’isotype IgA isolé. Ceci dans le but de rechercher une éventuelle association de l’isotype IgA avec les connectivites. On a donc effectué une comparaison entre la population uniquement positive pour les IgA et la population qui avait des IgG ou des IgM ou les deux en même temps. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant

**Tableau 13:Fréquence des IgA  $\alpha$ 2GPI isolés et des APL conventionnel en fonction de la positivité des Ac anti-nucléaire**

	FAN +	FAN-	P	O.R	I.C
APL IgG/ IgM (n=160)	42 (26%)	118 (73%)	0.0125	2.403	1.156-3.677
APL IgA seul (n=93)	12 (13%)	81(87%)			

Les résultats que nous avons obtenus sont statistiquement significatifs ( $p=0.0125$ ). Il existe effectivement une différence entre les taux de positivité des FAN chez nos deux populations avec une prédominance pour les patients ayant des APL d’isotype IgG/IgM

Selon nos résultats le risque de retrouver des anticorps anti-nucléaires chez des patients ayant des APL d’isotype IgA isolé est faible en comparaison avec les isotypes conventionnels des APL.

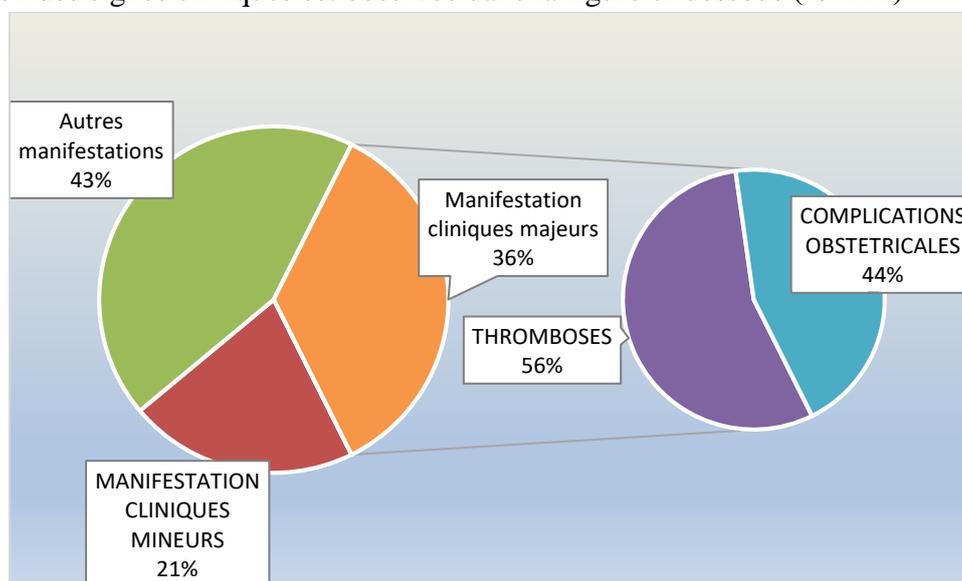


**Figure 36:Fréquence des IgA aβ2GPI isolés et des APL conventionnels en fonction de la positivité des Ac anti-nucleaire**

**II.5 Association des signes cliniques avec la positivité des APL**

**II.5.2 Représentation des patients dépistés positifs pour les ACA en fonction des manifestations cliniques**

**221** patients de notre série ont été dépisté positifs pour les ACA. La répartition de ces patients en fonction des signes cliniques est observée dans la figure ci-dessous (**N=221**)



**Figure 37:Clinique des patients dépistés positifs pour les ACA**

Parmi ces patients : **36%** ont présenté des signes cliniques majeurs du SAPL représentés par **20 %** de thromboses et **16 %** de complications obstétricales.

D'autre part, **21%** ont des signes cliniques mineurs du SAPL telles que les atteintes neurologique, cardiaques, cutanées etc...

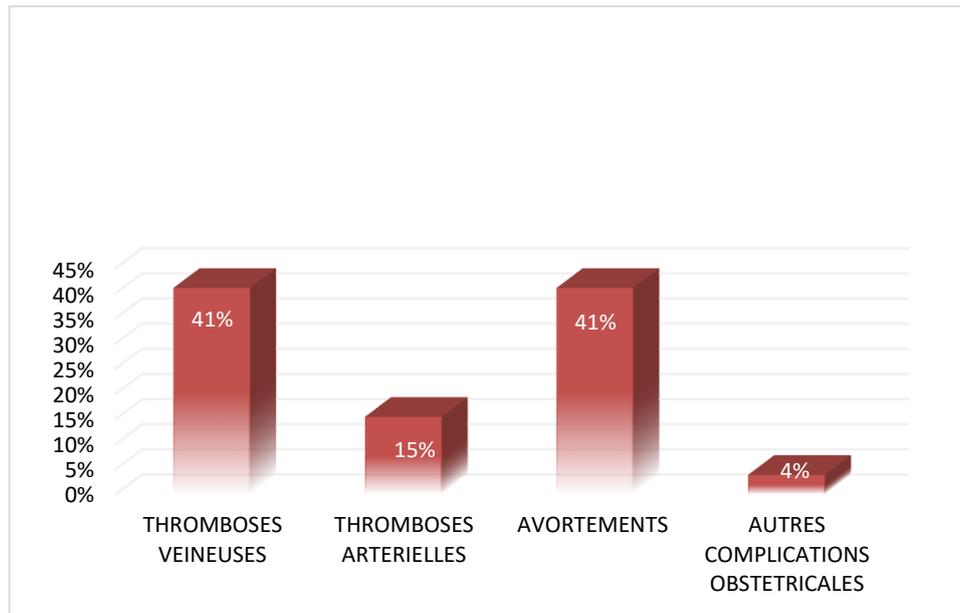
## PARTIE PRATIQUE

---

On note également que **43%** des patients restants ont des manifestations cliniques en rapport avec d'autres maladies auto-immunes telles que les polyarthralgies etc.

- **Répartition des patients atteints de manifestations cliniques majeures en fonction de la positivité des ACA Screen**

On s'est particulièrement intéressé aux 78 (36%) patients présentant des signes cliniques majeurs du SAPL (N=78). La répartition des différentes manifestations chez ces patients est résumée dans la figure ci-dessous.



**Figure 38: Fréquence des signes cliniques majeurs en fonction de la positivité du Screen ACA**

On remarque que le taux des thromboses veineuses et des avortements est le même et est estimé à **41%**.

Les **20%** restants sont partagés entre thromboses artérielles et d'autres complications obstétricales telles que les éclampsies et les pertes fœtales avec une prédominance pour les thromboses artérielles.

Nous avons voulu établir une relation entre la positivité du Screen ACA et les manifestations cliniques majeures du SAPL. On a donc soumis nos données au test du khi2. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux suivants :

## PARTIE PRATIQUE

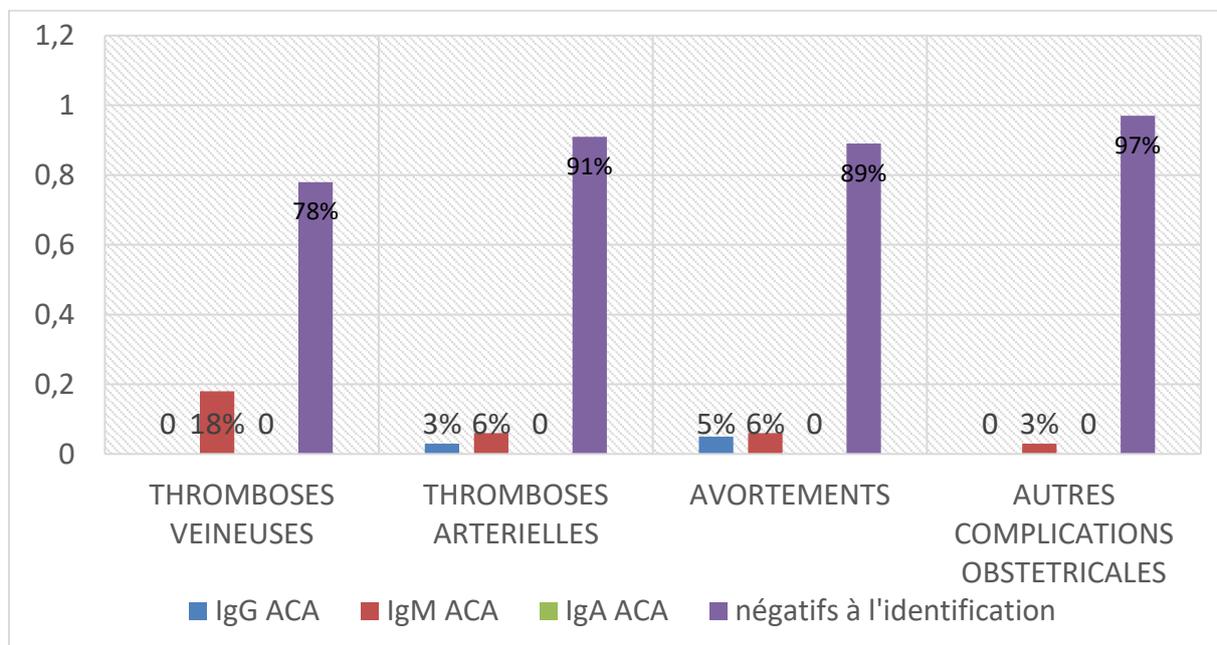
**Tableau 14:Fréquence des manifestations cliniques majeures en fonction des ACA screen**

	Thrombose	Non thrombose	P	Complications Obstétricales	Non complications obstétricales	P
ACA Screen + (n=221)	43(19%)	178(80%)	0.8300	35(16%)	186(84%)	0.7042
ACA Screen - (n=616)	124(20%)	492(80%)		91(15%)	525(85%)	

Les résultats que nous avons obtenus sont statistiquement non significatifs ( $p > 0.05$ ). En effet aucune relation n'a été établie entre le taux de positivité du Screen ACA et l'incidence des thromboses et des complications obstétricales.

Le taux de positivité des ACA Screen est presque identique chez les patients atteints ou non de thromboses dans la population étudiée. Il en est de même pour les patients atteints ou non de manifestations obstétricales inclus dans les critères cliniques du SAPL.

- **Répartition des patients atteints de manifestations cliniques majeures en fonction des ACA IgG/IgM/IgA**



**Figure 39:Fréquence des patients atteints de manifestations cliniques majeurs en fonction des ACA IgG/IgM/IgA**

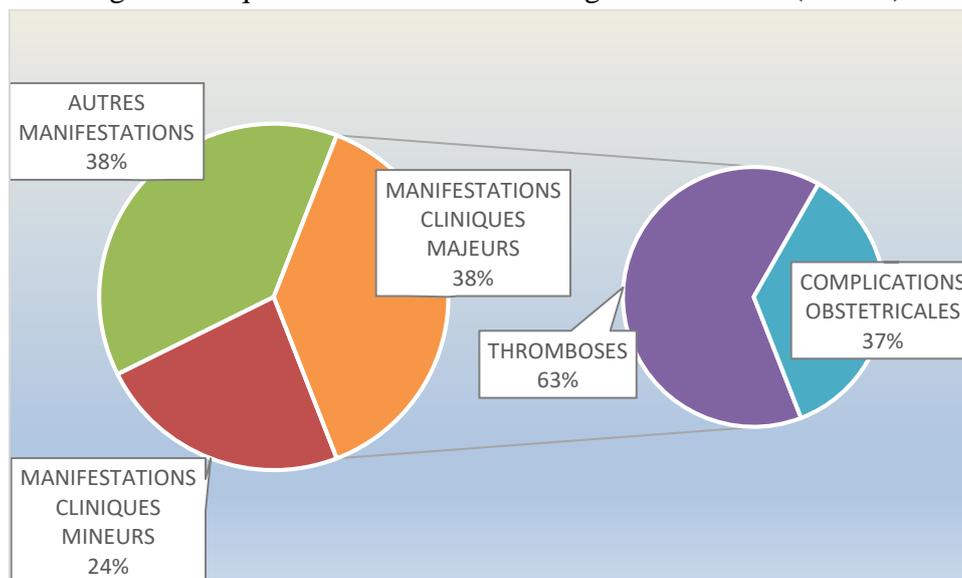
## PARTIE PRATIQUE

L'isotype IgM des ACA est le plus souvent retrouvé chez les patients présentant des thromboses (veineuses ou artérielles) et des complications obstétricales en comparaison avec les deux autres isotypes avec des fréquences respectives de **24%** et de **9%**.

L'isotype IgA des ACA n'est retrouvé chez aucun des patients de notre population.

### II.2.2 Représentation des patients dépistés positifs pour les a $\beta$ 2GPI en fonction des manifestations cliniques:

**306** patients de notre série ont été dépistés positifs pour les a $\beta$ 2GPI. La répartition de ces patients en fonction des signes cliniques est observée dans la figure ci-dessous (**N=306**)



**Figure 40: Clinique des patients dépistés positifs pour les a $\beta$ 2GPI**

**306** patients de la population étudiée ont été dépistés positifs pour les Ac a $\beta$ 2GPI.

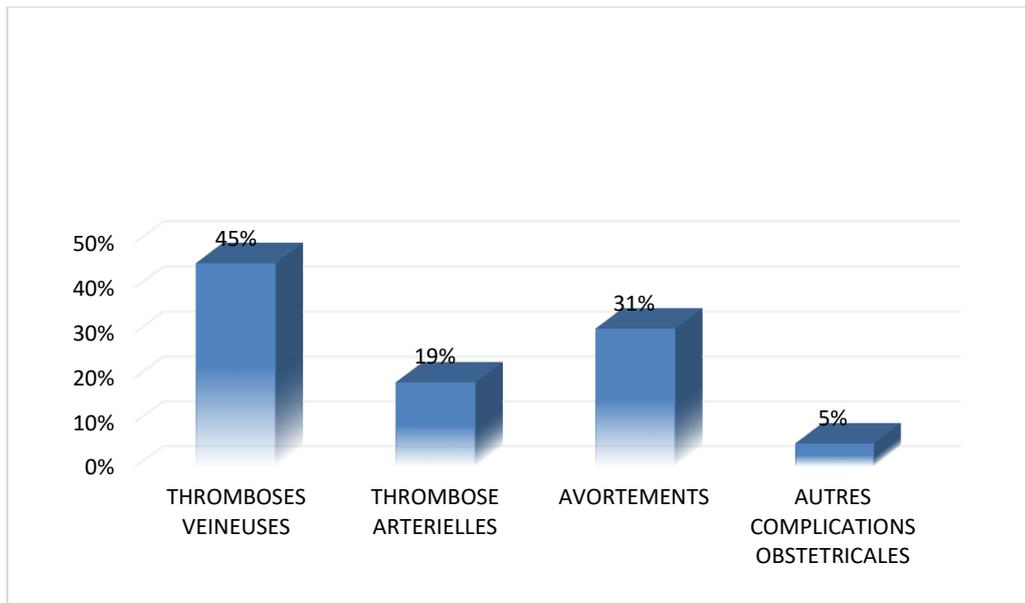
Parmi ces patients : **38 %** présentent des signes cliniques majeurs du SAPL répartis en **24 %** de thromboses et **14 %** de complications obstétricales.

D'autre part, **24%** présentent des signes cliniques mineurs du SAPL telles que les atteintes neurologiques, cardiaques, cutanées etc...

**38%** des patients restants présentent des manifestations cliniques en rapport avec d'autres maladies auto-immunes telles que les polyarthralgies etc.

- **Répartition des patients atteints de manifestations cliniques majeures en fonction de la positivité des a $\beta$ 2GPI Screen**

On s'est particulièrement intéressé aux **38 % (N=117)** des patients présentant des signes cliniques majeurs du SAPL. La fréquence des différentes manifestations est résumée dans la figure ci-dessous.



**Figure 41:Fréquence des signes cliniques majeurs en fonction de la positivité du Screen aβ2GPI**

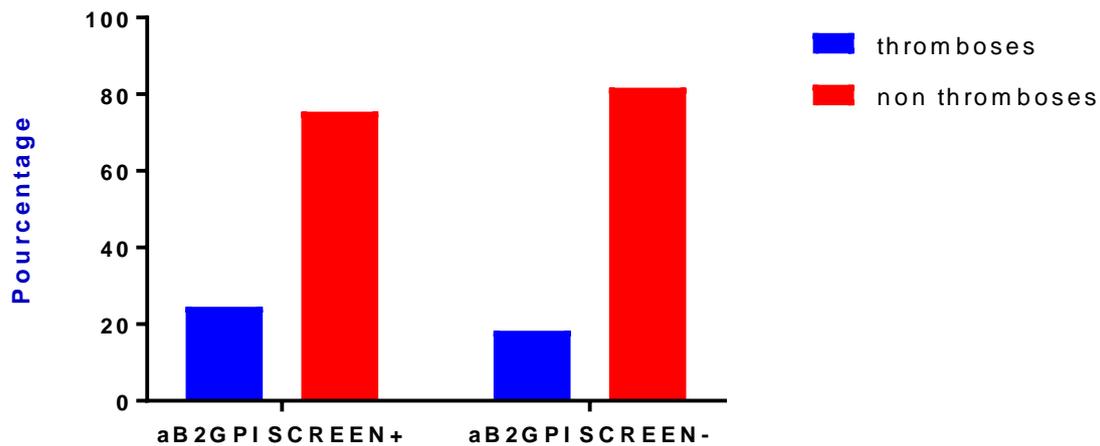
On note que chez les **117** patients Screen aβ2GPI positifs et présentant des signes cliniques majeurs du SAPL les thromboses veineuses prédominent avec un taux de **45%** suivis des avortements avec un taux de **31%**.

Nous avons voulu associer la positivité des aβ2GPI avec les manifestations cliniques majeures du SAPL. On a donc soumis nos données au test du khi2. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 15:Fréquence des manifestations cliniques majeures en fonction de la positivité du test aβ2GPI screen**

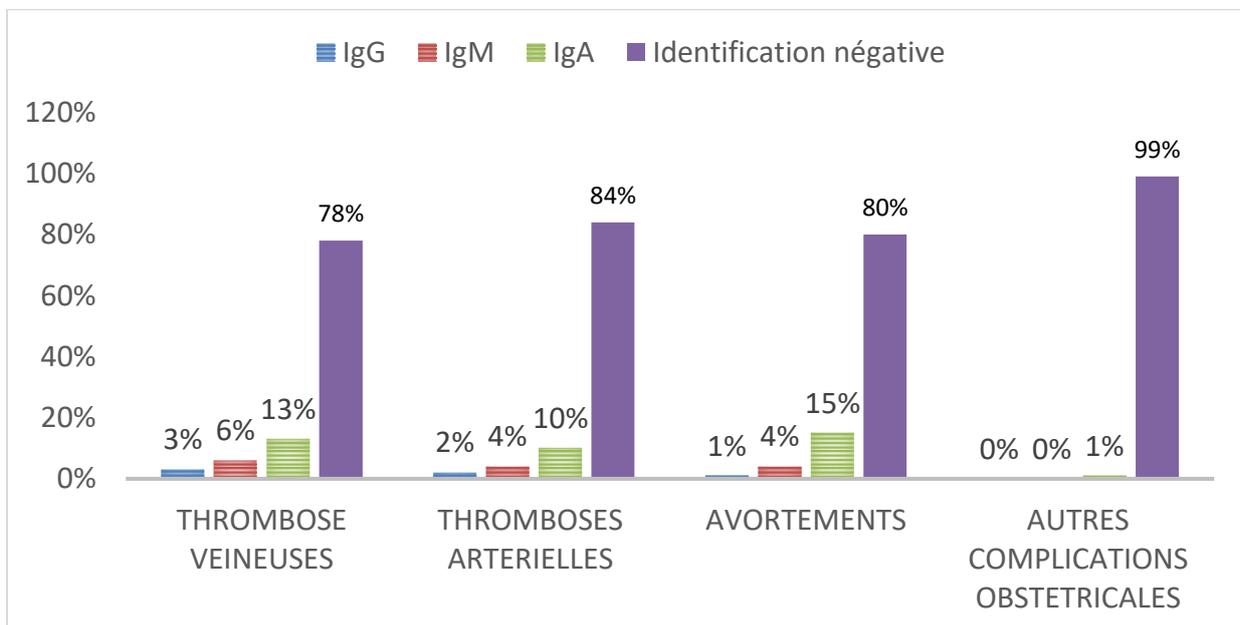
	Thrombose	Non thrombose	P	O.R	IC	Complications obstétricales	Non complications Obstétricales	P
aβ2GPI Screen + (n=306)	75 (25%)	231(75%)	0.0314	1.453	1.027 -1.74 7	42(14%)	264(86%)	0.171
aβ2GPI Screen – (n=531)	97 (18%)	434(82%)				92(17%)	439(83%)	

Une association significative a été établie entre la positivité des aβ2GPI Screen et les thromboses (**P= 0.039, OR= 1.453**). Cependant aucune association n'a été confirmée entre la positivité de ces anticorps et l'incidence des complications obstétricales (**p <0.05**).



**Figure 42:Fréquence des manifestations cliniques majeures en fonction de la positivité du test aβ2GPI screen**

❖ Répartition des patients atteints de manifestations majeurs en fonction des aβ2GPI IgG / IgM / IgA



**Figure 43:Fréquence des patients atteints de manifestations cliniques majeurs en fonction aβ2GPI IgG / IgM / IgA**

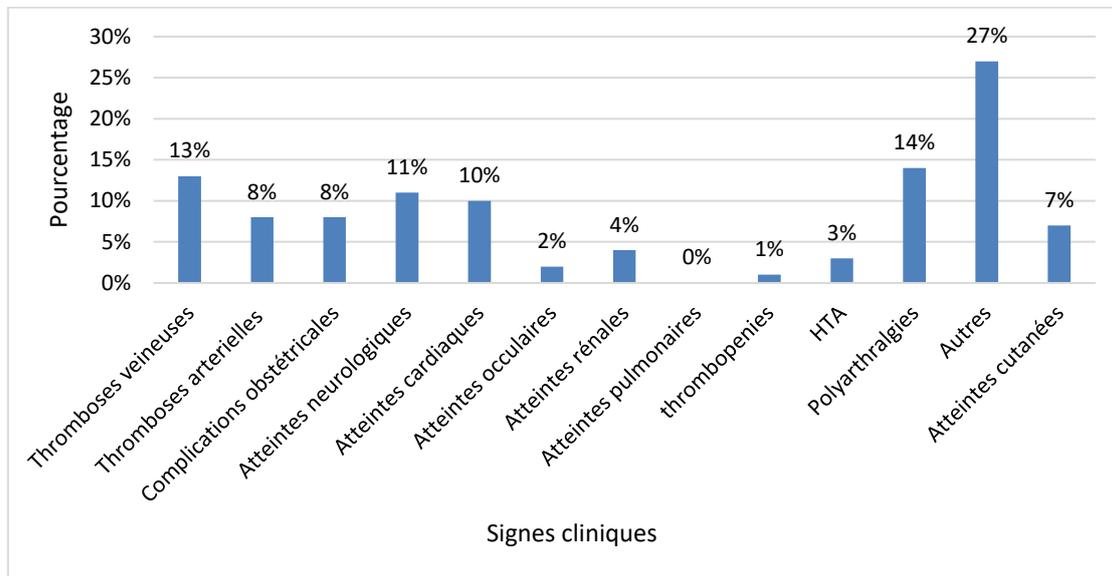
L'isotype IgA des Ac aβ2GPI est retrouvé plus fréquemment chez les patients présentant des thromboses (veineuses ou artérielles) et des complications obstétricales au sein de cette population par rapport aux deux autres isotypes avec des fréquences de 23% et de 16% respectivement.

## PARTIE PRATIQUE

### II.5.1 Répartition des patients positifs lors de l'identification des APL en fonction des manifestations cliniques

#### ❖ Avant l'introduction du test IgA APL

Lors de l'identification des APL 160 patients ont été retrouvés positifs avant l'introduction du test IgA APL donc (N=160)



**Figure 44:Fréquence des signes cliniques chez la population positive avant l'introduction du test IgA APL**

**28%** d'entre nos patients positifs avaient des signes cliniques faisant partie des critères diagnostiques du SAPL à savoir les thromboses (**21%**) et les complications obstétricales (**8%**).

En ce qui concerne les thromboses, les plus dominantes étaient les veineuses avec un taux de **13%**. Les thromboses artérielles étaient moins fréquentes (**8%**) et étaient surtout dominées par des AVC (**5%**).

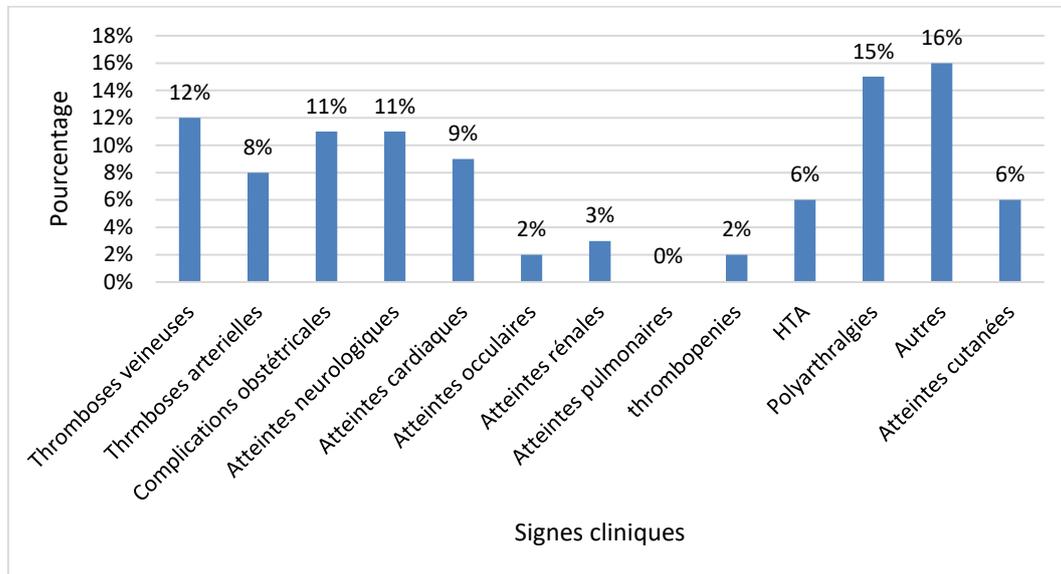
**25%** de ces patients avaient d'autres signes en relation avec le SAPL mais ne faisant pas partis de ses critères diagnostiques à savoir les atteintes neurologiques, cardiaques et cutanéomuqueuses ...

**3%** avaient une hypertension artérielle.

Le reste de la population positive présentait des polyarthralgies et d'autres signes en rapport avec des connectivites.

### ❖ Après l'introduction du test IgA APL

Lors de l'identification des APL 253 patients ont été retrouvés positifs après l'introduction du test IgA APL donc (N=253)

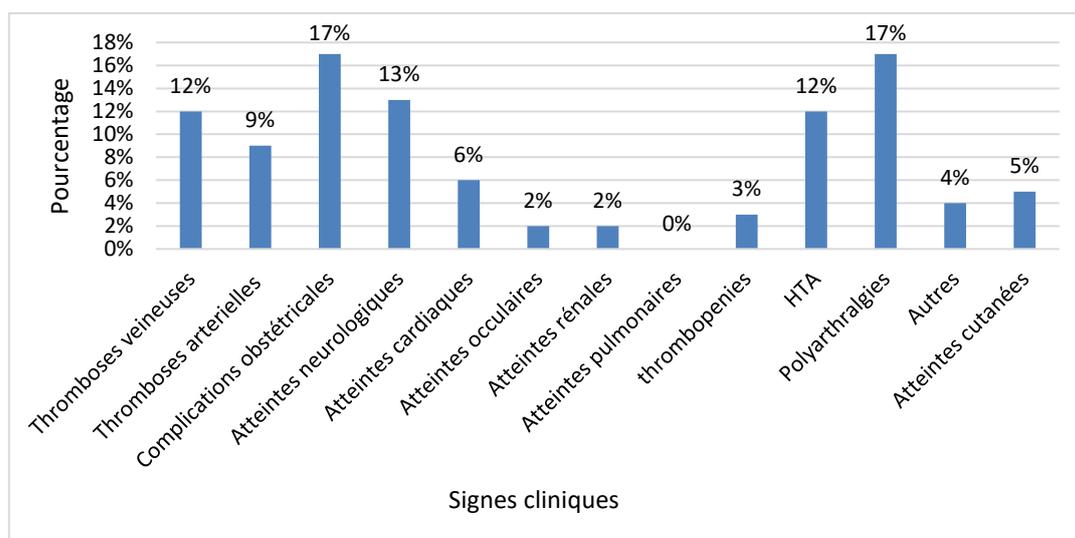


**Figure 45: Fréquence des signes clinique dans la population positive après l'introduction du test IgA APL**

Après l'introduction du test IgA APL, la population positive a atteint les 30%.

De nouveaux patients atteints de manifestation majeurs et mineurs ont été identifié il en est de même pour les polyarthralgies et les facteurs de risques cardiovasculaires.

Pour mieux comprendre de combien ces manifestations avaient augmenté nous les avons représentées uniquement dans la population devenus positive après l'introduction du test IgA à savoir chez **93** patients ayant des IgA  $\alpha\beta 2\text{GPI}$  isolés.



**Figure 46: Fréquence des manifestations cliniques chez les nouveaux patients ayant des  $\alpha\beta 2\text{GPI}$  isolés**

## **PARTIE PRATIQUE**

---

On constate d'après cette figure que certaines manifestations en rapport avec le SAPL ont augmentée considérablement. Il en est de même pour les polyarthralgies

En effet, on a observé **11** nouveaux cas de thromboses veineuses, **8** nouveaux cas de thromboses artérielles dont **4** d'entre eux présentaient des AVC. **16** nouveaux cas de complications obstétricales avaient aussi des IgA  $\alpha$ 2GPI.

On a noté également **12** nouveaux cas d'atteintes neurologiques ainsi que **11** ayant une HTA. Enfin **16** nouveaux cas de polyarthralgies ont été également observés.

Suite aux résultats obtenus ci-dessus, nous avons voulu comprendre si ces différentes manifestations étaient plus associées à l'isotype IgA des APL plutôt qu'aux isotypes conventionnels (IgG / IgM)

Pour cela, nous avons soumis nos données au test statistique du khi2. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau16

## PARTIE PRATIQUE

**Tableau 16: Association des manifestations cliniques liées au sapl avec l'isotype IgA des  $\alpha 2$ GPI**

	Thromboses veineuses	Non thrombose	P	Complications obstétricales	Non complications obstétricales	P	O.R	IC
APL IgA seul (n=93)	11	82	0.8751	16	77	0.0288	2.35	1.078-4.146
APL IgG/IgM (n=160)	20	140		13	147			
	Atteintes neurologiques	Non atteintes neurologiques	P	Atteintes rénales	Non atteintes rénales	P	O.R	IC
APL IgA seul (n=93)	12	81	0.5834	2	91	0.701		
APL IgG/IgM (n=160)	17	143		6	154			
	Atteintes oculaires	Non atteintes oculaires	P	Thromboses artérielles	Non thromboses artérielles	P	O.R	IC
APL IgA seul (n=93)	2	91	0.8793	8	85	0.7541		
APL IgG/IgM (n=160)	3	157		12	148			
	Polyarthralgies	Non polyarthralgies	P	HTA	Non HTA	P	O.R	IC
APL IgA seul (n=93)	16	77	0.5479	11	82	0.0025	5.232	1.637-13.75
APL IgG/IgM (n=160)	23	137		4	156			
	Atteintes cardiaques	Non atteintes cardiaques	P	Atteintes cutanées	Non atteintes cutanées	P	O.R	IC
APL IgA seul (n=93)	6	87	0.3342	5	88	0.9335		
APL IgG/IgM (n=160)	16	144		9	151			

## PARTIE PRATIQUE

---

Ces résultats ont pu démontrer ce qui suit :

- Une différence significative a été établie entre l'isotype IgA des  $\alpha\beta$ 2GPI et les isotype conventionnels (IgG et IgM) vis-à-vis des complications obstétricales ( $p=0.0288$ ,  $OR=2.35$ ) et de l'hypertension artérielle ( $p=0.0025$ ,  $OR=5.232$ ). En effet, il semblerait que ces manifestations cliniques soient plus observées chez les populations porteuses des  $\alpha\beta$ 2GPI d'isotype IgA que chez la population porteuse des APL conventionnels.
- Aucune association significative n'a été établie entre l'isotype IgA des  $\alpha\beta$ 2GPI et les thromboses, les manifestations cliniques mineurs ainsi que les polyarthralgies.

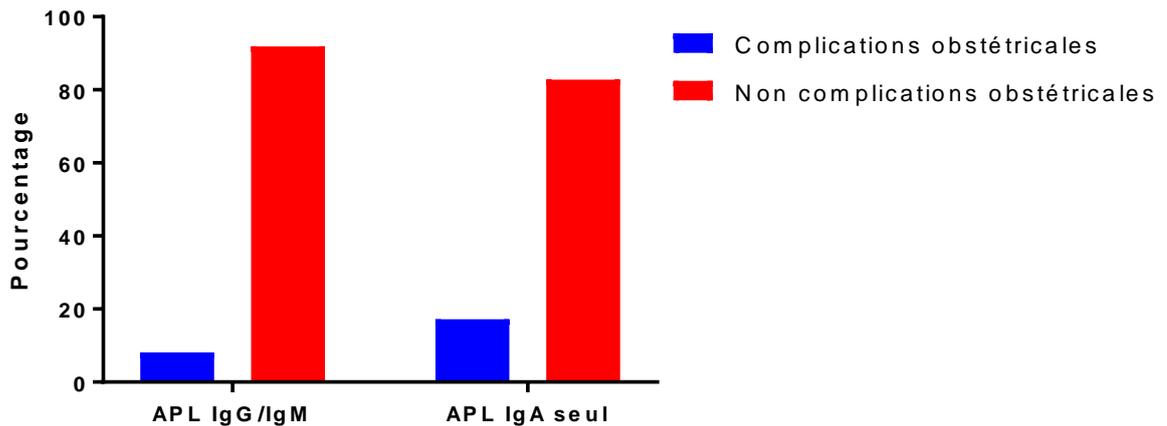


Figure 47: Fréquence des complications obstétricales en fonction des trois isotypes des APL

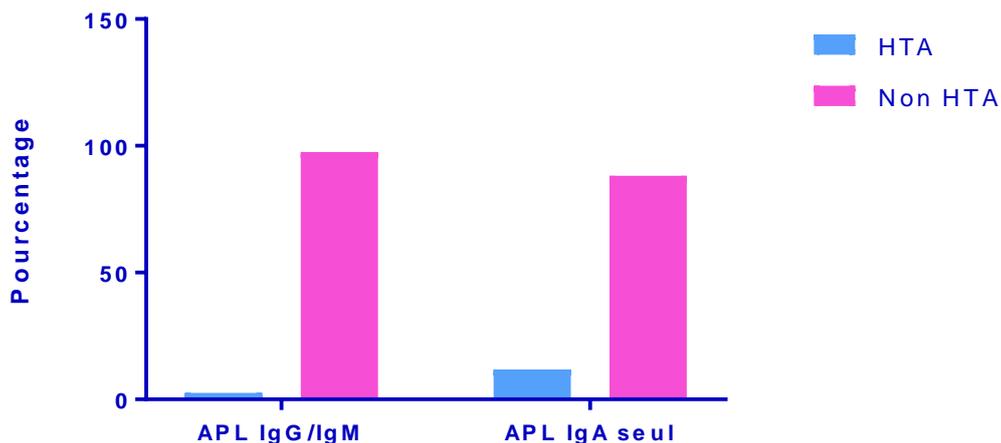


Figure 48: Fréquence de l'HTA en fonction des trois isotypes des APL

# **DISCUSSION**

## **PARTIE PRATIQUE**

---

Dans cette étude, nous avons évalué le rôle des anticorps APL d'isotype IgA dans le diagnostic du syndrome des anti-phospholipides (SAPL) d'un point de vue clinique et biologique.. Nous avons également évalué l'importance de l'étape du screening dans la prédiction du diagnostic du SAPL.

### **I. Bilan des anticorps anti-phospholipides (APL)**

Nous avons fait une étude descriptive sur la demande du bilan des APL dans une population de 837 patients. Les résultats présentés dans les figures (17-23) démontrent que :

- **83%** des patients adressés pour un bilan d'APL sont des femmes dont plus de la moitié sont âgés de **16 ans à 45 ans**. Le sexe ratio est donc de 5H/1H.
- La tranche d'âge **16-45 ans** est plus fréquente et en particulier chez les femmes. Ceci est dû à la prédominance des maladies auto-immunes chez les femmes et préférentiellement en période d'activité ovarienne d'après [Bertrand Amulf et al 2015] (1).
- **76%** des patients adressés pour un bilan d'APL présentent des signes cliniques en rapport avec le SAPL. Ces signes ne font pas nécessairement partie des critères diagnostics de cette pathologie. Les signes cliniques sont en majeure partie des pathologies obstétricales (**17%**), des thromboses veineuses (**11%**) et artérielles (**9%**), ou des atteintes neurologiques (**13%**).
- La fréquence des thromboses artérielles est de **9%**, à comparer avec la valeur rapportée dans la littérature qui elle varie entre **10 et 45%** (11). Elle peut concerner tous les territoires artériels mais le territoire cérébral est le plus fréquemment touché. C'est le cas de notre population où la moitié des thromboses artérielles sont des AVC. Les statistiques montrent que la thrombose veineuse est la plus fréquente, ce qui est en accord avec les résultats reportés par [O. Nahas] (11).
- Les patients de sexe féminins adressés pour un bilan d'APL (**83%**) ont des manifestations obstétricales (**20%**), ou des thromboses veineuses (**11%**). Les patients de sexe masculins ont le plus souvent des thromboses artérielles (**14%**), ou des signes neurologiques (**19%**). Les signes en rapport avec d'autres maladies auto-immunes telles que les polyarthralgies sont le plus souvent rencontrés chez des femmes.
- Un grand nombre de nos patients (**91%**) ont recherché en parallèle des APL, des anticorps anti-nucléaires mais très peu d'entre eux étaient positifs (**13%**).

## **PARTIE PRATIQUE**

---

La recherche des APL dans notre population peut donc être effectuée dans un contexte clinique autre que celui des thromboses et des complications obstétricales. C'est le cas des atteintes mineurs, observés chez beaucoup de patients atteint de SAPL). Elle se fait également lors de la suspicion de connectivites afin de rechercher un éventuelle SAPL secondaire. Ceci est en parfait accord avec ce qu'ont rapporté [Doruk et al 2017] et [D Arnoux et al 2000](32) (118).

### **II- Fréquence des anticorps anti-phospholipides APL**

Une analyse statistique détaillée de la fréquence des APL tel que reporté dans les figures (24-30) et les tableaux (6 et7) démontre que :

- La fréquence des APL au moment du dépistage qualitatif par le test ACA et aB2GPI Screen est de **49%**. Sur l'ensemble de ces APL, **22.5 %** sont des aB2GPI isolés, **11.8%** sont des ACA isolés, et **14.7%** sont des aB2GPI et ACA en même temps.
- Les APL diminuent jusqu'à atteindre les **19%** lors du typage par les tests conventionnels ACA et aB2GPI (IgG/IgM) avec une prédominance pour les ACA. Ceci suggère un nombre important de faux positifs.
- Un nouveau test d'identification des aB2GPI et ACA spécifique pour l'IgA a été introduit afin de détecter une éventuelle positivité chez les patients conventionnellement négatifs. Grace à ce nouveau test **93 (11%)** nouveaux cas positifs ayant des IgA aB2GPI isolés ont été identifiés. Le taux des APL a augmenté significativement de **19% à 30% (p <0.0001)**. La probabilité de trouver des APL est donc 2 fois et demie plus importante lorsqu'on introduit la recherche des IgA AB2GPI.
- La fréquence des IgA aB2GPI isolés qu'on a obtenue est en bonne accord avec plusieurs études [LUMINA cohort] ou on reporte un taux d'IgA de **10%** dans une population de **558 patients** (117).

### **III- Influence de l'âge et du sexe sur la positivité des APL**

Nous avons mené une analyse statistique sur la population afin de comprendre l'influence de l'âge et du sexe sur la positivité des APL (voire figures (31-32) et les tableaux (8-9)). Les données montrent que la plupart des patients positifs ont un âge situé entre **16 et 60 ans** avec un pique de **38%** entre **31 et 45 ans**. L'Age moyen au diagnostic est de **43 ans** et est en accord avec plusieurs études [Olga Nahas 2016] et [Vijaya Murthy 2013], [*l'Europospholipid project* 2009] (11) (117) (33). Nous avons également constaté que le taux des APL positifs augmentait significativement (**p <0.0001**) avec l'âge. Le risque de trouver des APL est donc plus élevé chez les personnes âgées, telle que reporté dans plusieurs travaux [*l'Europospholipid project* 2009]

## **PARTIE PRATIQUE**

---

(33). Bien que le bilan positif des APL soit plus fréquent chez les femmes (**sexe ratio de 6F/1H**), ces dernières ne sont pas particulièrement prédisposées au développement de ces AC par rapport aux hommes selon les résultats qu'on a obtenus (**p=0.2463**). Cette fréquence élevée observée chez les femmes peut être simplement liée au biais de sélection.

### **IV- Influence de l'étape de dépistage semi-quantitative des APL sur La positivité :**

L'analyse des résultats représentés dans les figures (33 et 34) et les tableaux (10 et 11) démontre que lorsqu'on procède au dépistage semi-quantitatif des APL par des tests Screen ACA et  $\alpha 2$ GPI (G/A/M), on peut détecter avec plus de précision et de facilité les APL d'isotype IgG / IgM ou IgA. En effet, nous avons démontré que l'étape de dépistage permettait de prédire significativement (**p<0.0001**) le taux de positivité des APL au moment de leurs identifications en particulier lorsque la valeur du dépistage est **3-5** fois la valeur du seuil normal. Cependant des valeurs faibles de ce test de dépistages semblent être en faveur de la négativité des APL au moment de leurs indentifications. Il semble donc impératif d'utiliser ces tests de Screen afin de ne pas rater une éventuelle positivité non conventionnelle comme c'est le cas pour les  $\alpha 2$ GPI d'isotype IgA isolés. Cette association doit encore être clarifiée car il n'existe aucun rapport pour soutenir cette constatation.

### **V- Association des Ac anti-nucléaires avec les APL conventionnels et l'IgA $\alpha 2$ GPI**

Après l'analyse des résultats représentés dans les figures 35-37 et les tableaux 12-13 nous avons constaté que :

- Le taux des APL est plus élevé chez les patients qui n'ont pas des anticorps anti-nucléaires avant ou après l'introduction du test IgA  $\alpha 2$ GPI. Cependant suite à l'étude du taux de positivité des APL chez les patients ayant des anticorps anti nucléaires, un taux statistiquement significatif a été retrouvé (**p<0.0001**). Le risque de développer ces anticorps était 2 fois et demie plus important chez les patients qui avaient probablement des connectivites. Ce résultat est en accord avec les conclusions de plusieurs recherches [Olga Nahas 2016] (11), qui suggèrent par exemple que la prévalence des APL est plus élevée au cours du LEAD.
- Nous n'avons pas pu établir de relation entre l'isotype IgA des  $\alpha 2$ GPI et les anticorps anti-nucléaires. Au contraire, ces Ac étaient plus associées aux isotypes IgG et IgM des APL (**p< 0.0125**). Le risque de retrouver des anticorps anti-nucléaires chez des patients ayant des APL d'isotype IgG /IgM était 2.5 plus important par rapport à ceux ayant des APL d'isotype IgA isolé. Pourtant l'association entre IgA et anti-nucléaires a été établie

## **PARTIE PRATIQUE**

---

par plusieurs études qui ont montré que les patients atteints de lupus associées au SAPL étaient plus susceptibles d'avoir des APL d'isotype IgA (117). En particulier, des études menées par [Fanopoulos et al 1998] ont montré que dans une cohorte de 48 patients atteints de lupus l'isotype IgA des  $\alpha\beta$ 2GPI était le plus fréquent des APL retrouvés chez ces patients. De plus, *the Systemic Lupus International Collaborating Clinics group* a récemment proposé que les anticorps anti- $\beta$ 2GPI soient inclus comme marqueurs sérologiques du LEAD dans le cadre des critères de classification révisés pour le LEAD, y compris l'isotype IgA (117). Ce désaccord est probablement dû au nombre limité de patients pour lesquels on a dosé les IgA  $\alpha\beta$ 2GPI et nécessite de plus grands échantillons.

### **VI. Association des APL et de l'IgA $\alpha\beta$ 2GPI isolé avec les signes cliniques du SAPL**

Après l'analyse des résultats représentés dans les figures 38-49 et les tableaux 14-16 nous avons constaté que :

Le test  $\alpha\beta$ 2GPI Screen a révélé sur **306** patients positifs, **24%** de cas de thromboses et **14%** de cas présentant des complications obstétricales. Après l'étape d'identification a révélé que l'IgA  $\alpha\beta$ 2GPI était l'isotype le plus fréquent chez les patients présentant des manifestations cliniques majeurs. Le test ACA Screen quant à lui a révélé sur **221** patients positifs, **20%** de cas de thromboses et **14%** de cas présentant des complications obstétricales. L'étape d'identification a révélé que l'IgM ACA était l'isotype le plus fréquent chez les patients présentant des manifestations cliniques majeurs du SAPL.

L'étude statistique sur l'association des APL aux manifestations cliniques majeurs du SAPL a révélé que le risque d'être atteint d'une thrombose est 1 fois et demie plus élevé chez des patients porteurs d' $\alpha\beta$ 2GPI par rapport à une population n'ayant pas développé ces anticorps. Les ACA quant à eux ne sont pas fortement associés aux thromboses. Ce résultat est appuyé par [Shruti Chaturvedi et Keith R McCrae 2015] qui expliquent dans leur revue de littérature que les anticoagulants lupiques dont les effets sont médiés par l'action des  $\alpha\beta$ 2GPI, confèrent un risque plus élevé de thromboses que ceux médiés par l'action de l'anti-cardiolipine ou l'anti-prothrombine. Cependant notre analyse n'a détecté aucune association significative entre l'apparition des pathologies obstétricales et la positivité des APL (50).

Avant l'introduction du test IgA  $\alpha\beta$ 2GPI, la symptomatologie des **160 cas** porteurs d'APL conventionnels était représentée par des thromboses veineuses (**13%**) et artérielles **8%** (surtout l'AVC **5%**), des pathologies obstétricales et surtout des avortements (**8%**) des manifestations

## **PARTIE PRATIQUE**

---

mineures en rapport avec le SAPL (**25%**). Des signes cliniques en rapport avec d'autres maladies auto-immunes étaient également retrouvés.

L'introduction du test IgA  $\alpha\beta$ 2GPI a signalé **93 nouveaux cas** porteurs d'APL considérés comme faux négatifs à la suite de la recherche des isotypes conventionnels (IgG /IgM) des APL. **12%** d'entre eux avaient des thromboses veineuses, **9%** avaient des thromboses artérielles dont **4%** d'entre elles étaient des AVC. **17%** souffraient de pathologies obstétricales. **12%** avaient une hypertension artérielle. D'autres signes en rapport avec des connectivites étaient également retrouvés.

Nous avons trouvé que les IgA  $\alpha\beta$ 2GPI isolés étaient fortement associés aux pathologies obstétricales (**p=0.0288**) en comparaison avec les isotypes conventionnels des  $\alpha\beta$ 2GPI et ACA. Le risque de développer des pathologies obstétricales est 2 fois plus important chez des patients porteurs d'IgA  $\alpha\beta$ 2GPI par rapport aux IgG et IgM des APL. Ce résultat a été démontré par plusieurs chercheurs dont [YAMADA H et al 1999] et [LEE RM et al 2001] qui avaient établis cette association chez des patients atteints de SAPL (117).

Nous avons également constaté que les IgA  $\alpha\beta$ 2GPI isolés étaient retrouvés en plus grande proportion (**p=0.025**) chez des patients souffrant d'hypertension artérielles en comparaison avec les isotypes conventionnels des APL. Ce résultat est appuyé par certains auteurs dont [Ranzolin.A et al 2014] (117) qui ont montré que les  $\alpha\beta$ 2GPI d'isotype IgA étaient des facteurs de risques athérogènes chez les patients non atteints de SAPL.

Cependant nous n'avons pas pu démontrer une association significative entre la positivité des IgA  $\alpha\beta$ 2GPI et l'apparition des thromboses en comparaison avec les APL conventionnels. Même si d'après plusieurs analyses multivariées, il a été démontré que le risque de thromboses était augmenté chez les patients qui avaient des taux élevés d'IgA  $\alpha\beta$ 2GPI (117).

Cette contradiction peut être due au nombre limité des patients qui avaient un taux élevé d'IgA. Aucune relation significative n'a été démontré entre les IgA  $\alpha\beta$ 2GPI et les manifestations cliniques mineurs du SAPL. Il en est de même pour les polyarthralgies.

Même si des études antérieures ont montré une association des IgA anti- $\beta$ 2GPI avec des manifestations cliniques du SAPL, Ces résultats font encore l'objet de controverses (117).

# CONCLUSION

## CONCLUSION

---

L'Hétérogénéité des APL a considérablement élargi le concept classique du SAPL, ce qui rend son diagnostic très délicat. Certains APL ne faisant pas partie des critères diagnostiques du SAPL sont retrouvés chez des patients présentant une clinique fortement évocatrice de cette pathologie. C'est le cas des a $\beta$ 2GPI d'isotype IgA qui ont fait l'objet de notre étude.

Dans ce travail nous avons identifié par la technique ELISA 253 (soit 30%) cas positifs pour les APL, 11% d'entre eux étaient uniquement des Ac a $\beta$ 2GPI d'isotype IgA. Ce résultat confirme l'importance de la recherche de L'AC a $\beta$ 2GPI d'isotype IgA chez les patients séronégatifs dont la clinique est évocatrice d'un SAPL. L'étude de l'association de ces Ac aux manifestations cliniques du SAPL a révélé qu'ils étaient significativement impliqués dans les complications obstétricales. La présence de l'isotype IgA dans le sang semble aussi être un facteur de risque athérogène vu leurs présences significatives chez des patients hypertendus.

Nous avons également démontré l'importance du dépistage semi-quantitatif préalable des APL. En effet on a constaté que cette étape permettait de prédire le taux de positivité des APL lors de l'identification. Un dépistage fortement positif avec un typage conventionnel IgG/IgM négatif justifierait donc la recherche de l'isotype IgA.

Au terme de ce travail et compte tenu des résultats obtenus, nous recommandons de :

- Maintenir en surveillance les patients fortement positifs au test de dépistage qualitatif des APL mais négatifs lors du typage des isotype conventionnels (IgG/IgM) des APL et leurs prescrire la recherche des IgA a $\beta$ 2GPI.
- Prendre en considération la positivité de l'IgA a $\beta$ 2GPI isolée pour le diagnostic et la classification du SAPL en présence des signes cliniques et des symptômes de cette pathologie.
- Augmenter le nombre des études longitudinales sur l'isotype IgA des APL afin de confirmer l'importance relative de ce marqueur de laboratoire dans le diagnostic du SAPL, primaire ou secondaire.

## Références

1. Marie Christine Béné, Jean-Daniel Lelièvre, Jean Sibilia, Association des Collèges des enseignants d'immunologie des universités de langue française. IMMUNOPATHOLOGIE. s.l. : Elsevier Masson, 2015.
2. Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai. Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. 4e. s.l. : Elsevier Masson, 2013.
3. N. OLSCHOWJA. L'auto-immunité. Saint Quentin : s.n., 2005.
4. Martial. KOENIG. ECN 116, Maladies auto-immunes, Aspects épidémiologiques, diagnostiques et principes de traitement. 2009.
5. TALAGAS M. LEDUC J. Module 8, Immunopathologie, Réaction inflammatoire. s.l. : Estem, 2007.
6. Pierre. BLANCO. Médecine interne: les maladies auto-immunes. Anticorps et maladies auto-immunes.canal u, vidéothèque numérique de l'enseignement supérieur. [En ligne] 25 mars 2010.
7. COOPER Glinda S., BYNUM Milele L.K., SOMERS Emily C. Rescent insights in the epidemiology of autoimmune diseases: Improved prevalence estimates and understanding of clustering of diseases.. s.l. : Journal of Autoimmunity33, 2009, pp. 197-207.
8. J.L. PELLEGRIN. Médecine interne: Maladies auto-immunes. Maladies auto-immunes. canal u,vidéothèque numérique de l'enseignement supérieur. [En ligne] 25 mars 2010.
9. S., FUJINAMI Rober. Viruses and autoimmune disease-two sides of the same coin? t. August 2001, Trends in Microbiology., pp. 377-381.
10. STOJANOVICH Ljudmila, MARISAVLJEVICH Dragomir. Stress as a trigger of autoimmune disease.. 2008 ., Autoimmunity Rewiews, pp. 209-213.
11. O. NAHAS et al. SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES.À PROPOS DE 30 CAS. s.l. : Journal Médical Libanais 2016, 2016. pp. 78-83. Vol. 64.
12. Visseaux B, Masliah-Planchon J, Fischer AM, Darnige L. Diagnostic du syndrome des antiphospholipides : actualités. s.l. : Ann Biol Clin, 2011. pp. 411-418. Vol. 69.
13. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS) J Thromb Haemost 2006 ; 4 : 295-306.
14. Manon Dekeyser, Stéphane Zuily, Jacqueline Champigneulle, Valérie Eschwège, Luc Frimat, Christine Perret-Guillaume, Denis Wahl. Le syndrome des antiphospholipides en néphrologie. Atteinte rénale et aspects pratiques de la prise en charge, Néphrologie & Thérapeutique 2014; 10 : 1–9.
15. Wasserman A, Neisser A, Bruck C. Eine serodiagnostische reaktion bei syphilis. Deutsche Med Wochenschr 1906;32:745—6.
16. MC., Pangborn. A new serologically active phospholipid from beef heart. Proc Soc Exp Biol Med 1941;48:484—6.
17. Moore JE, Mohr CF. Biologically false-positive tests for syphilis.JAMA 1952;150:463—73.
18. Soulier JP, Boffa MC. Avortements à répétition, thromboses,anticoagulant circulant. Nouv Presse Med 1980;9:859—65.
19. Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, Patel BM, Mackworth-Young CG, Loizou S. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in SLE. Lancet 1983;2:1211—4.
20. Loizou S, McCrea JD, Rudge AC, Reynolds R, Boyle CC, Harris EN. Measurement of anti-cardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): standardization and quantitation of results. Clin Exp Immunol 1985;62:738—45.

21. GR. Hughes. The anticardiolipin syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 1985;3:285—6.
22. Harris EN, Baguley E, Asherson RA, Hughes GRV. Clinical and serological features of the “antiphospholipid syndrome”. *Br J Rheumatol* 1987;26(Suppl. 2):19.
23. Mackworth-Young CG, Loizou S, Walport MJ. Primary antiphospholipid syndrome: features of patients with raised anticardiolipin antibodies and no other disorder. *Ann Rheum Dis*.1989;48:362—7.
24. Alarcon-Segovia D, Delezé M, Oria CV, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine (Balt)*. 1989;68:353—65.
25. McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation : bêta-2-Glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87 : 4120-4.
26. Bevers EM, Galli M, Barbui T, Comfurius P, Zwaal RF. Lupus anticoagulant IgG's (LA) are not directed to phospholipid only but to a complex of lipid-bound human prothrombin. *Thromb Haemost* 1991; 66 : 929-32.
27. L. Darnige. Anticorps antiphospholipides : aspects analytiques et physiopathologiques. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 2001; 16 (6) : 359-367.
28. Eschwêge V, Darnige L, Piette JC, Boffa MC. European forum on antiphospholipid antibodies:report on the first meeting. 10-11 October 1997, Hôpital Saint-Louis, Paris. *Lupus*.1998;7:439—44.
29. Erkan D, Lockshin M. APS ACTION—AntiPhospholipid syndrome alliance for clinical trials and InternatiOnal networking. *Lupus*. 2012;21:695—8.
30. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. Report of an international workshop. *Arthritis Rheum*. 1999;42:1309—11.
31. Barbhuiya M, Costenbader K, Guillemin F, Naden R, Zuily S Erkan D. Development of new international classification criteria for Antiphospholipid Syndrome (APS): phase I item generation survey part A. *Lupus*. 2016;25(Suppl 1S): 11 (abstract).
32. Lockshin, Doruk Erkan · Michael D. Antiphospholipid Syndrome. Current Research Highlights and Clinical Insights. s.l. : Springer International Publishing, 2017.
33. Cervera R, Boffa MC, Khamashta MA, Hughes GR. The Euro-Phospholipid project: epidemiology of the antiphospholipid syndrome in Europe. *Lupus*. 2009;18:889—93.
34. Peschken CA, Katz SJ, Silverman E, et al. The 1000 Canadian faces of lupus: determinants of disease outcome in a large multiethnic cohort. *J Rheumatol*. 2009;36:1200—8.
35. Biggioggero M, Meroni PL. The geoepidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome *Autoimmun Rev*. 2010;9:299—304.
36. JF, de Carvalho. Influence of gender on the clinical and laboratory spectra of patients with primary antiphospholipid syndrome. *Rheumatol Int*. 2011;31:647—50.
37. Jara LJ, Medina G, Vera-Lastra O, Barile L. The impact of gender on clinical manifestations of primary antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2005;14:607—12.
38. Uthman I, Khamashta M. Ethnic and geographical variation in antiphospholipid (Hughes) syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2005;64:1671—6.
39. Diri E, Cucurull E, Gharavi AE, et al. Antiphospholipid (Hughes') syndrome in African-Americans: IgA aCL and abeta2 glycoprotein-I is the most frequent isotype. *Lupus*.1999;8:263—8.
40. B. Godeau. Syndrome des antiphospholipides. *Hématologie* 2006 ; 12/2 : 101-110.
41. Humbel RL, Sibilía J, San Marco M. Anticorps anti-phospholipides. *GEAI L'Info* 2001 ; No 4 : 1-23.

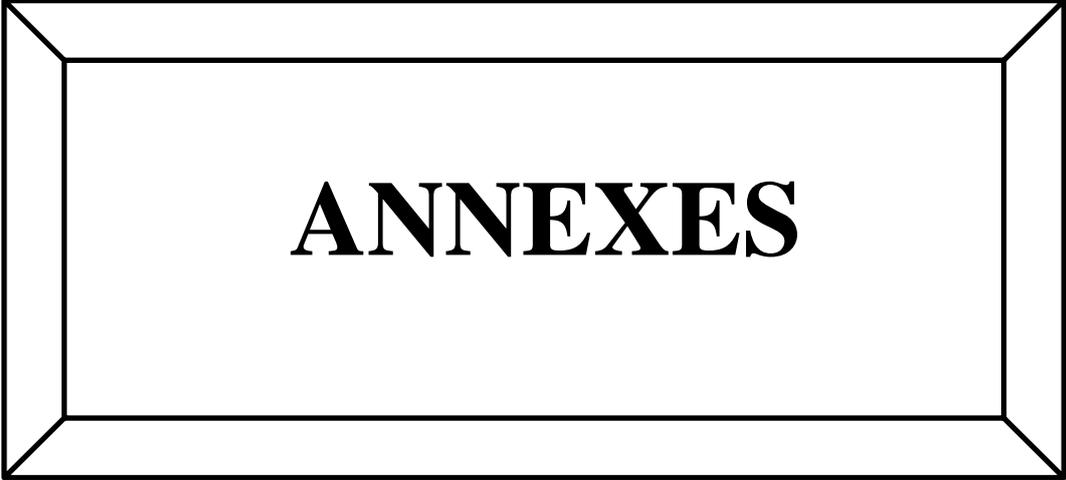
42. M.Sanmarco. Les autoanticorps anti-phospholipides sont devenus bien hétérogènes. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2011; 26 : 47–54.
43. Masliah-Planchon J, Darnige L. Anticorps antiphospholipides et hémostasie. *La Revue de médecine interne* 2012; 33 : 181–188.
44. Joste V, et al. Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides : des critères à la pratique. *Rev Med Interne* (2017).
45. Agar C, van Os GM, Mörgelin M, Sprenger RR, Marquart JA, Urbanus RT, et al. Beta 2-glycoprotein I can exist in two conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2010; 116 : 1336–43.
46. Simmelink MJ, Derksen RH, Arnout J, De Groot PG. A simple method to discriminate between beta2-glycoprotein I- and prothrombin-dependent lupus anticoagulants. *J Thromb Haemost* 2003; 1 : 740-7.
47. McCrae2, Shruti Chaturvedi1 and Keith R. The antiphospholipid syndrome: still an enigma. *American Society of Hematology*. 2015; 53-60.
48. Bevers EM, Janssen MP, Comfurius P, Balasubramanian K, Schroit AJ, Zwaal RF Willems GM. Quantitative determination of the binding of beta2-glycoprotein I and prothrombin to phosphatidylserine-exposing blood platelets. *Biochem J* 2005; 386 : 271-9.
49. Bardin N, Alessi MC, Dignat-George F, Vague IJ, Sampol J, Harlé JR, et al. Does the anti-prothrombin antibodies measurement provide additional information in patients with thrombosis? *Immunobiology* 2007;212:557–65.
50. McCrae, Shruti Chaturvedia and Keith R. Recent advances in the antiphospholipid antibody. *Hemostasis and thrombosis review*2014; 21(5); 371-379.
51. Godeau, B. Lupus et syndrome des antiphospholipides :actualités thérapeutiques. *Réanimation* 15 (2006) 245–252.
52. Olivier Meyer, Brigitte Jude, Dominique Lasne, Sophie Susen, Eric Hachulla, . L'immunopathologie pour le praticien. chap11 : L'HÉMOSTASE ET SES ANOMALIES DANS LES MALADIES.2008.
53. Cruz-Tapias P, Blank M, Anaya JM, Shoenfeld Y. Infections and vaccines in the etiology of antiphospholipid syndrome. *Curr Opin Rheumatol*. 2012;24:389–93.
54. Mehrani T, Petri M. IgM anti-beta2 glycoprotein I is protective against lupus nephritis and renal damage in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2011;38:450–3.
55. De Mast Q, Molhoek JE, van der Ven AJ, et al. Antiphospholipid antibodies and the risk of stroke in urban and rural Tanzania: a community-based case-control study. *Stroke*.2016;47:2589–95.
56. Durkin ML, Marchese D, Robinson MD, Ramgopal M. Catastrophic antiphospholipid syndrome (CAPS) induced by influenza A virus subtype H1N1. *BMJ Case Rep*. 2013;pii: bcr2013200474.
57. Blank M, Shoenfeld Y. Beta-2-glycoprotein-I, infections, antiphospholipid syndrome and therapeutic considerations. *Clin Immunol*. 2004;112:190–9.
58. Ağar Ç, de Groot PG, Marquart JA, Meijers JC. Evolutionary conservation of the lipopolysaccharide binding site of  $\beta$ 2-glycoprotein I. *Thromb Haemost*. 2011;106:1069–75.
59. Laplante P, Amireault P, Subang R, Dieudé M, Levine JS, Rauch J. Interaction of  $\beta$ 2-glycoprotein I with lipopolysaccharide leads to toll-like receptor 4 (TLR4)-dependent activation of macrophages. *J Biol Chem*. 2011;286:42494–503.
60. El-Assaad F, Krilis SA, Giannakopoulos B. Posttranslational forms of beta 2-glycoprotein I in the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Thromb J*. 2016;14 Suppl 1:20.

61. Ruff WE, Vieira SM, Kriegel MA. The role of the gut microbiota in the pathogenesis of antiphospholipid syndrome. *Curr Rheumatol Rep.* 2015;17:472.
62. Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet.* 2012;13:260–70.
63. Ruff WE, Kriegel MA. Autoimmune host-microbiota interactions at barrier sites and beyond. *Trends Mol Med.* 2015;21:233–44.
64. JE, Craft. Follicular helper T cells in immunity and systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8:337–47.
65. Kim W, Ruff W, Yu A, et al. IgA-Seq profiling of the gut microbiota in human antiphospholipid syndrome. Proceedings of the 13th cytokines & inflammation conference, San Diego, United States 2015 [abstract].
66. H.KSOURI, E.MENNOULI, M.BEJAOUI. LE SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES : PHYSIOPATHOLOGIE ET ASPECTS CLINICO-BIOLOGIQUES. *INSTITUT PASTEUR* 2008; 85 ; 1-4.
67. Barnado A, Crofford LJ, Oates JC. At the bedside: neutrophil extracellular traps (NETs) as targets for biomarkers and therapies in autoimmune diseases. *J Leukoc Biol.* 2016;99:265–78.
68. Yalavarthi S, Gould TJ, Rao AN, et al. Release of neutrophil extracellular traps by neutrophils stimulated with antiphospholipid antibodies: a newly identified mechanism of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.* 2015;67:2990–3003.
69. Grayson PC, Kaplan MJ. At the bench: neutrophil extracellular traps (NETs) highlight novel aspects of innate immune system involvement in autoimmune diseases. *J Leukoc Biol.* 2016;99:253–64.
70. Clark CA, Davidovits J, Spitzer KA, Laskin CA. The lupus anticoagulant: results from 2257 patients attending a high-risk pregnancy clinic. *Blood.* 2013;122(3):341-347; quiz 466.
71. de Laat B, Wu XX, van Lummel M, Derksen RH, de Groot PG, Rand JH. Correlation between antiphospholipid antibodies that recognize domain I of beta 2-glycoprotein I and a reduction in the anticoagulant activity of annexin A5. *Blood* 2007;109:1490–4.
72. Szymezak J, Ankri A, Fischer AM, Darnige L. Hydroxychloroquine : une nouvelle approche thérapeutique des manifestations thrombotiques du syndrome des antiphospholipides. *Rev Med Interne* 2010;31:854–7 .
73. Yang CD, Hwang KK, Yan W, Gallagher K, FitzGerald J, Grossman JM, et al. Identification of anti-plasmin antibodies in the antiphospholipid syndrome that inhibit degradation of fibrin. *J Immunol* 2004;172:5765–73.
74. Cesarman-Maus G, Ríos-Luna NP, Deora AB, Huang B, Villa R, Cravioto Mdel C, et al. Autoantibodies against the fibrinolytic receptor, annexin 2, in antiphospholipid syndrome. *Blood* 2006;107:4375–82.
75. Cesarman-Maus G, Cantú-Brito C, Barinagarrementeria F, Villa R, Reyes E, Sanchez-Guerrero J, et al. Autoantibodies against the fibrinolytic receptor, annexin A2, in cerebral venous thrombosis. *Stroke* 2011;42:501–3.
76. Shi T, Giannakopoulos B, Yan X, Yu P, Berndt MC, Andrews RK, et al. Anti-beta 2-glycoprotein I antibodies in complex with beta 2-glycoprotein I can activate platelets in a dysregulated manner via glycoprotein Ib-IX-V. *Arthritis Rheum* 2006;54:2558–67.
77. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al. Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. *Arthritis Rheum* 2002;46:1019–27.
78. Pennings MT, Derksen RH, van Lummel M, Adelmeijer J, VanHoorelbeke K, Urbanus RT, et al. Platelet adhesion to dimeric beta-glycoprotein I under conditions of flow is mediated by at least two receptors: glycoprotein I $\alpha$  and apolipoprotein E receptor 2'. *J Thromb Haemost* 2007;5:369–77.

79. Romay-Penabad Z, Montiel-Manzano MG, Shilagard T, Papalardo E, Vargas G, Deora AB, et al. . Annexin A2 is involved in antiphospholipid antibody-mediated pathogenic effects in vitro and in vivo. *Blood* 2009;114:3074–83.
80. Satta N, Kruithof EK, Fickentscher C, Dunoyer-Geindre S, Boehlen F, Reber G, et al. Toll-like receptor 2 mediates the activation of human monocytes and endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *Blood* 2011;117(20):5523–31.
81. Ramesh S, Morrell CN, Tarango C, Thomas GD, Yuhanna IS, Girardi G, et al. Antiphospholipid antibodies promote leukocyte-endothelial cell adhesion and thrombosis in mice by antagonizing eNOS via 2GPI and apoER2. *J Clin Invest* 2011;121:120–211.
82. Lonze BE, Zachary AA, Magro CM, et al. Eculizumab prevents recurrent antiphospholipid antibody syndrome and enables successful renal transplantation. *Am J Transplant* 2014; 14:459–465.
83. Meyer, Olivier. Physiopathologie du syndrome des antiphospholipides et aspects thérapeutiques. *Revue du Rhumatisme* 74 (2007) 751–758.
84. al., J.-L. Pasquali et. Aspects immunologiques du syndrome des antiphospholipides *La Revue de médecine interne* 33 (2012) 189–193.
85. J.Sibilia. Syndrome des antiphospholipides :pourquoi faut-il y penser et comment faire le diagnostic ?*Revue du rhumatisme* 70 (2003) 228–234.
86. Rym Ellouze, Sami Guermazi. Le syndrome des anti-phospholipides. *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - NOVEMBRE 2011 - N°436;83-88.*
87. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette J-C, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999;42:1309–11.
88. Pelkmans L, Kelchtermans H, de Groot PG, Zuily S, Regnault V, Wahl D, et al. Variability in exposure of epitope G40-R43 of domain I in commercial anti-beta2-glycoprotein I IgG ELISAs. *PloS One* 2013;8:e71402.
89. Pengo V, Ruffatti A, Del Ross T, Tonello M, Cuffaro S, Hoxha A, et al. Confirmation of initial antiphospholipid antibody positivity depends on the antiphospholipid antibody profile. *J Thromb Haemost* 2013;11:1527–31.
90. M. Miyara, M.-C. Diemert, Z. Amoura, L. Musset. Anticorps antiphospholipides en pratique. *La Revue de médecine interne* 33 (2012) 176–180.
91. JEANNE, LUCILE. Anticoagulants lupiques : mise au point. *OptionBio | Lundi 19 décembre 2011 | n° 464;20-21.*
92. Asherson RA, Cervera R, de Groot PG, Erkan D, Boffa MC, Piette JC, et al. Catastrophic antiphospholipid syndrome : international consensus statement on classification criteria and treatment guidelines. *Lupus* 2003;12:530–4.
93. Erkan D, Espinosa G, Cervera R. Catastrophic antiphospholipid syndrome : updated diagnostic algorithms . *AutoimmunRev* 2010;10:74–9.
94. Costedoat-Chalumeau N, et al. Syndrome catastrophique des antiphospholipides (CAPS) : revue 2016 . *Presse Med.* (2016);1-9.
95. Denis Wahl, Leilah Saadi et al. Syndrome des antiphospholipides. *Classification actuelle et indications thérapeutiques*. *mt*, vol. 13, n° 2, mars-avril 2007;111-121.
96. J. Chapman. The interface of multiple sclerosis and antiphospholipid antibodies. *Thromb Res* 2004 ; 114 : 477-81.
97. RA., Asherson. The catastrophic antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 1992;19:508–12.

98. Pengo V, Tripodi A, Reber G et al. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *Int Soc Thromb Haemost*. 2009 jul ;7 (10) : 1737-40.
99. Erkan D et al. 14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force Report on Antiphospholipid Syndrome Treatment Trends. *Autoimmunity Reviews*. (2014).
100. Docteur Françoise SARROT-REYNAULD, Syndrome des antiphospholipides, *Corpus Médical – Faculté de Médecine de Grenoble* 2005.
101. Lambert M, Hatron PY. Le syndrome des anticorps antiphospholipides : pathologie et traitement. *mt* 2011 ; 17 (2) : 124-9.
102. Legault J.K et al. Prevention of Recurrent Thrombosis in Antiphospholipid. *Curr Rheumatol Rep* (2016) 18:26.1-10.
103. Erkan D, Derksen R, Levy R, et al. Antiphospholipid syndrome clinical research task force report. *Lupus*. 2011;20:219–24.
104. Erkan D, Lockshin MD. APS ACTION--AntiPhospholipid syndrome alliance for clinical trials and International networking. *Lupus*. 2012 et 21:695–8.
105. Harris P et al. Research electronic data capture (REDCap) - a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform*. 2009;42:377–81.
106. Erkan D, Andrade D, Tektonidou M, et al. Antiphospholipid syndrom alliance for clinical trials and International networking (APS ACTION) clinical database and repository initial analysis. *Arthritis Rheum*. 2014;66:S1253–4.
107. Erkan D, Zuily S, Banzato A, et al. Antiphospholipid syndrome alliance for clinical trials and international networking clinical database and repository “registry” prospective follow-up analysis: one-year first and recurrent thrombosis risk. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67.
108. Unlu O, Branch W, Fortin P, et al. Antiphospholipid syndrome alliance for clinical trials and international networking (APS ACTION) clinical database and repository analysis: first and recurrent thrombosis risk after 720 patient-years of follow-up. *Lupus*. 2016;25(Suppl 1S):73.
109. Ramires de Jesus G, Sciascia S, Zuily S, Erkan D, Levy R. Antiphospholipid syndrome alliance for clinical trials and international networking (APS ACTION) clinical database and repository analysis: factors associated with first thrombosis in patients presenting with pure obstetric APS. *Lupus*. 2016;25:16.
110. Sciascia S et al. Antiphospholipid syndrome alliance for clinical trials and international networking (APS ACTION) clinical database and repository analysis. *Lupus*. 2016;25:51.
111. Yazici A, Unlu O, Chighizola C, Erkan D, Petri M. Antiphospholipid syndrome alliance for clinical trials and international networking (APS ACTION) clinical database and repository analysis. *Lupus*. 2016;25:27.
112. Rodriguez-Pinto I, Pons-Estel G, Andreoli L, et al. APS ACTION clinical database and repository analysis: “real life” hydroxychloroquine use in primary antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2016;25:90.
113. Unlu O, Cohen H, Cuadrado M, et al. Antiphospholipid syndrome alliance for clinical trials and international networking (APS ACTION) clinical database and repository analysis: direct oral anticoagulant use among antiphospholipid syndrome patients. *Lupus*. 2016;25:93.
114. Erkan D et al. 15th International Congress on Antiphospholipid Antibodies Task Force on Antiphospholipid Syndrome Classification Report. Istanbul, Turkey (Relocated to North Cyprus). *Lupus* (2016) 25, 4–100.
115. Galli M, Borrelli G, Jacobsen EM, Marfisi RM, Finazzi G, Marchioli R, et al. Clinical significance of different antiphospholipid antibodies in the WAPS (warfarin in the antiphospholipid syndrome) study. *Blood*. 2007;110:1178-83.

116. ] Sorice M, Longo A, Capozzi A, Garofalo T, Misasi R, Alessandri C, et al. . Anti-beta 2-glycoprotein I antibodies induce monocyte release of tumor necrosis factor alpha and tissue factor by signal transduction pathways involving lipid rafts. *Arthritis Rheum* 2007;56:2687–97.
117. Vijaya.M et al. Value of Isolated IgA Anti-b2-Glycoprotein I Positivity in the Diagnosis of the Antiphospholipid Syndrome.December 2013.Vol. 65, No.12 pp 3186–3193.
118. D.Arnoix, B.Boutière,M.Sanmarco. Les anticorps "anti-phospholipides":intérêt clinique et diagnostic biologique.*Annales de Biologie clinique*.septembre-octobre 2000.V58,N5.pp557-74.



**ANNEXES**

**-GHORAB Salma**

**-Selma.gett@gmail.com**

**-HENNEB Souad**

**-Souad.henneb@gmail.com**

## Résumé

Les anticorps anti-phospholipides (APL) constituent une famille très hétérogène d'autoanticorps. Les « anti-phospholipides conventionnels » sont reconnus comme critères biologiques du SAPL, nous citons en particulier les Ac anti-cardiolipine(ACA) d'isotype IgG/IgM, Ac anti-beta2- glycoprotéine I (aβ2GPI) d'isotype IgG/IgM et le lupus anticoagulant. D'autres APL Comme les Ac anti complexe prothrombine/phosphatidyl sérine et les aβ2GPI d'isotype IgA ont été décrits chez des patients présentant des anomalies cliniques évocatrices d'un SAPL et méritent une attention particulière vu leur association significative avec les faits cliniques de cette pathologie. L'Objectif de ce travail est d'évaluer l'apport des isotype IgA des Ac aβ2GPI dans le diagnostic du SAPL à la lumière des nouvelles recommandations consensuelles internationales. La recherche des Ac anti-phospholipides a été faite par technique ELISA sandwich sur 837 patients recrutés pour un bilan d'APL au CHU de BLIDA. Nous avons pu détecter 30% d'APL positifs, dont 11% d'entre eux avaient exclusivement des IgA aβ2GPI. La détection de l'isotype IgA a été facilitée par le dépistage semi-quantitatif préalable. Cette étape a permis effectivement de prédire significativement la positivité des APL au moment de l'identification. L'analyse statistique révèle que l'isotype IgA est plus associé aux complications obstétricales en comparaison avec les isotype conventionnels (IgG/IgM). La présence de l'isotype IgA dans le sang semble également être un facteur de risque athérogène, vu son association significative avec l'hypertension artérielle. Ces résultats vont permettre de Prendre en considération la positivité de l'IgA aβ2GPI isolée pour le diagnostic et la classification du syndrome des anti-phospholipides en absence des anticorps conventionnelles et en présence des signes cliniques et des symptômes de cette pathologie.

**Mots clés** : Anticorps anti-phospholipides conventionnels, aβ2GPI d'isotype IgA, dépistage semi-quantitatif, syndrome des anti-phospholipides

## Abstract

Anti-phospholipid antibodies (APL) are a heterogeneous group of circulation autoantibodies. The « conventional APL » are recognized as a laboratory criteria of APS, we cite particularly anticardiolipin (ACA) IgG/IgM, anti-beta2- glycoproteinI (aβ2GPI) IgG/IgM, and lupus anticoagulant. Other APAs such as anti-complex prothrombin/ phosphatidylsérine and aβ2GPI IgA were described in patients having clinical features suggesting of APS, and deserve a particular attention given their significant association with clinical facts of this pathology. The aim of this work is to evaluate the contribution of the isotypes IgA aβ2GPI in the APS diagnosis, as it is recommended by the new international consensuels. The screening of anti-phospholipides was performed using the ELISA sandwich technique on 837 patients hired for an APL test at CHU BLIDA. We have detected 30% positive APL, where 11% of them are exclusively IgA aβ2GPI. The detection of the IgA isotype was made easier by the prior semi-quantitative screening of APL. This phase allowed us effectively to significantly predict the rate of positive APL during the identification step. The statistical analysis has reveal that the IgA isotype is more often associated to pregnancy morbidity compared to the conventional isotypes (IgG/IgM). The presence of IgA isotype in patients' blood seems to be an atherogenic risk factor, given its significant link to high blood pressure. These results will allow us to take into account the positivity of isolated IgA aβ2GPI for the Anti Phospholipid Syndrome diagnosis and classification, in the absence of conventional antibodies and in the presence of clinical signs and symptoms of this pathology.

**Key words** : conventional anti-phospholipid antibodies, isolated IgA aβ2GPI,semi-quantitative screening, anti-phospholipid syndrome