



**HAL**  
open science

## Porteurs asymptomatiques d'un profil d'anticorps anti-phospholipides à haut risque

Pauline Buffet Delmas d'Autane Marzolla

► **To cite this version:**

Pauline Buffet Delmas d'Autane Marzolla. Porteurs asymptomatiques d'un profil d'anticorps anti-phospholipides à haut risque. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01508507

**HAL Id: dumas-01508507**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01508507>**

Submitted on 14 Apr 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES  
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Soutenu le mercredi 5 avril 2017

Par Madame Pauline BUFFET DELMAS d'AUTANE Epouse MARZOLLA  
Née le 15 janvier 1988 à Aix en Provence.

Conformément aux dispositions du décret n°2003-76  
du 23 janvier 2003, tenant lieu de

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

----oOo----

**TITRE :**

Asymptomatic carriers presenting a high-risk  
antiphospholipid antibody profile.

----oOo----

**JURY :**

Président : Pr Laurence CAMOIN  
Directeur de thèse : Pr Nathalie BARDIN  
Membres : Pr Pierre-Emmanuel MORANGE  
Dr Véronique VEIT



MÉMOIRE  
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES  
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Soutenu le mercredi 5 avril 2017

Par Madame Pauline BUFFET DELMAS d'AUTANE Epouse MARZOLLA  
Née le 15 janvier 1988 à Aix en Provence.

Conformément aux dispositions du décret n°2003-76  
du 23 janvier 2003, tenant lieu de

THÈSE  
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

----oOo----

**TITRE :**

Asymptomatic carriers presenting a high-risk  
antiphospholipid antibody profile.

----oOo----

**JURY :**

Président : Pr Laurence CAMOIN  
Directeur de thèse : Pr Nathalie BARDIN  
Membres : Pr Pierre-Emmanuel MORANGE  
Dr Véronique VEIT



27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05  
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

**ADMINISTRATION :**

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. Philippe CHARPIOT, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	M. David BERGE-LEFRANC, M. François DEVRED, Mme Caroline DUCROS, Mme Pascale BARBIER
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Jean-Pierre REYNIER
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Jacques BARBE, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI,
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Sandrine NOURIAN
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Myriam TORRE

**DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

**PROFESSEURS**

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE	M. Philippe PICCERELLE

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI  
Mme Odile RIMET-GASPARINI  
Mme Pascale BARBIER  
M. François DEVRED  
Mme Manon CARRE  
M. Gilles BREUZARD  
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA  
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE  
M. Emmanuel CAUTURE  
Mme Véronique ANDRIEU  
Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

## A.H.U.

CULTURE ET THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

## ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Caroline MONTET

## DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

## PROFESSEURS

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE  
Mme Laurence CAMOIN  
Mme Florence SABATIER-MALATERRE

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN  
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET  
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI  
M. Thierry AUGIER  
M. Edouard LAMY  
Mme Alexandrine BERTAUD  
Mme Claire CERINI  
Mme Edwige TELLIER  
M. Stéphane POITEVIN

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Nathalie BARDIN  
Mme Dominique ARNOUX  
Mme Aurélie LEROYER  
M. Romaric LACROIX

MICROBIOLOGIE

Mme Michèle LAGET  
M. Michel DE MEO  
Mme Anne DAVIN-REGLI  
Mme Véronique ROUX  
M. Fadi BITTAR  
Mme Isabelle PAGNIER  
Mme Sophie EDOUARD

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO  
M. Aurélien DUMETRE  
Mme Magali CASANOVA  
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

## A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Sylvie COINTE

## DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

## PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

M. Henri PORTUGAL  
Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Philippe GALLICE

CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE –  
CHIMIE THERAPEUTIQUE

M. Pascal RATHELOT  
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE  
M. Thierry TERME

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

Mme Evelyne OLLIVIER

**PROFESSEURS ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (P.A.S.T.)**GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE  
ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE

M. Jean-Pierre CALISSI

**MAITRES DE CONFERENCES**

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne FAVEL  
Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Elisabeth SCHREIBER-DETURMENY  
Mme Catherine DEFOORT  
M. Alain NICOLAY  
Mme Estelle WOLFF  
Mme Elise LOMBARDCHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUESM. David BERGE-LEFRANC  
M. Pierre REBOUILLON

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Mme Catherine DIANA  
Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT  
Mme Caroline DUCROS  
M. Marc MONTANACHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE  
HYDROLOGIEM. Armand GELLIS  
M. Christophe CURTI  
Mme Julie BROGGI  
M. Nicolas PRIMAS  
M. Cédric SPITZ  
M. Sébastien REDON

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE

M. Riad ELIAS  
Mme Valérie MAHIOU-LEDDER  
Mme Sok Siya BUN  
Mme Béatrice BAGHDIKIAN**MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Anne-Marie PENET-LOREC

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. Thierry ATHUYT

DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE

M. Marc LAMBERT

DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE  
ET GESTION DE LA PHARMAFAC

M. Philippe BESSON

**AHU**

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

Mme Manon ROCHE

**ATER**

CHIMIE ANALYTIQUE

Mme Camille DESGROUAS

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

**PROFESSEURS**

PHARMACIE CLINIQUE	Mme Diane BRAGUER
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Athanassios ILIADIS
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Bruno LACARELLE
TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT	Mme Frédérique GRIMALDI

**MAITRES DE CONFERENCES**

PHARMACODYNAMIE	Mme Suzanne MOUTERDE-MONJANEL
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Hot BUN M. Joseph CICCOLINI Mme Raphaëlle FANCIULLINO
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD M. Stéphane HONORÉ Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

**A.H.U.**

PHARMACODYNAMIE	M. Philippe GARRIGUE
-----------------	----------------------

**ATER**

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlel BOUHLEL
-----------------	---

## **CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE**

Mme Nathalie AUSIAS, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Gérard CARLES, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Nicole FRANCOIS, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier  
Mme Christine PENOT-RAGON, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire  
M. Alain RAGON, Pharmacien-Praticien hospitalier  
M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

Mise à jour le 1<sup>er</sup> décembre 2015

# *Remerciements*

*A Madame le Professeur Laurence CAMOIN, Chevalier de l'ordre de la Légion d'Honneur,*

Avant même d'avoir un sujet, je tenais à effectuer ce travail de thèse avec vous. Merci de m'avoir fait l'honneur d'accepter. Vous savez toute l'admiration que je vous porte. Avec votre vision très médicale de notre métier, vous m'avez donné envie de passer l'internat, et vous m'avez donné les moyens et les ressources pour y arriver. Merci pour tous ces bons moments, où nous échangeons et partageons, sur l'hémostase, comme sur la qualité de la neige. Merci pour votre soutien, pour vos précieux commentaires, et le temps que vous m'avez consacré. Merci pour votre disponibilité, quels que soient l'heure, le jour, le sujet.

*A Madame le Professeur Nathalie BARDIN,*

Merci pour ce semestre d'immuno, qui a été décisif. Merci pour votre confiance en me proposant ce sujet qui, en alliant hémostase et auto-immunité, m'a beaucoup appris, et fort intéressée. Merci pour votre immense disponibilité, pour votre accompagnement, pour vos précieux conseils, et pour tout le temps, y compris le week-end, que vous y avez passé. Et pardon, pour mon anglais, entre autre. C'est un immense honneur d'avoir été votre élève, votre interne, et votre thésarde.

*A Monsieur le Professeur Pierre-Emmanuel MORANGE,*

Merci de me faire l'honneur de siéger dans ce jury, ainsi que pour ces trois semestres tellement enrichissants passés dans votre service. Soyez assuré de mon profond respect, et de ma gratitude.

*A Madame le Docteur Véronique VEIT,*

Vous me faites l'honneur de juger ce travail. Il était important à mes yeux de pouvoir le présenter à un clinicien. Veuillez trouver ici, chère Maître, l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance.

## *JE DÉDIE CETTE THÈSE À*

**MAMAN, PAPA**, voilà... J'ai fini ! Et vous aussi. Nous les clôturons ensemble, ces longues années d'étude. Papa, merci pour toutes ces heures où tu m'aidais à faire mes devoirs d'histoire-géo, et celles où tu m'apprenais à rédiger un courrier, avec les formules de politesse. Maman, c'est toi qui m'a donné le goût de la biologie, tu m'as même appris à dessiner un anticorps ! Vous m'avez réconfortée, boostée, rassurée, à chaque période de révision (et il y en a eu... un peu plus que la normale... !), vous m'avez toujours laissé faire mes propres choix, et vous m'y avez accompagnée. J'ai toujours voulu vous rendre fiers, et j'ai encore essayé avec cette thèse, qui est pour vous. Vous êtes incroyables. Vous savez tout faire, et vous faites n'importe quoi pour nous, mais ce que vous avez le mieux réussi, c'est de nous maintenir unis, tous les cinq. Merci pour le bel exemple que vous êtes. Merci d'être des Mamilène et Papou parfaits. Merci d'être fiers de nous. Je suis follement fière de vous. Et vous savez que lui aussi.

**MA BÉBOUNETTE**, merci d'avoir cru en moi. Merci de m'avoir suivie à chaque étape, toi qui trouvais que la réponse ne faisait que rallonger, quand tu me demandais si je finissais bientôt. Merci pour tous tes bons petits plats qui m'ont bien souvent permis de tenir le coup. Merci de m'avoir appris les bienfaits d'une partie de carte en famille, de m'avoir transmis l'amour de la nature, de m'avoir rempli la tête de doux souvenirs avec mes cousins. Merci d'avoir accepté d'être mon témoin. Merci d'avoir fait qui je suis. Merci de partager avec lui tout ce que tu as partagé avec moi.

Merci mes **JOLIS PARENTS**, de m'avoir accueillie dans votre douce famille. « On est une bande de jeunes... » Merci pour votre soutien sans faille, merci de votre disponibilité, de répondre présents quel que soit l'évènement. Merci pour tous ces moments en famille, où je me sens bien. Merci de l'avoir fait comme il est. Merci Mamonna et Papipêche d'être là pour lui, de lui donner tout votre amour.

**MES SORS** ; Ma Mouche, mon Minouchon ; mon ingénieur crémière, mon agrégée, je suis tellement fière de vous, de qui vous êtes, de ce que vous faites. Merci pour notre complicité, merci de m'avoir fait tant rire (je m'esclaffe !), de m'avoir calmée, de m'avoir laissé gagner, parfois (pas assez à mon goût...) Merci de m'avoir soutenue, poussée, motivée. Merci d'avoir partagé vos chambres, ou la mienne, si souvent. Merci d'avoir mis Poppie sur notre chemin. Et merci d'être là, ce soir, et chaque fois que j'ai besoin de vous. Merci d'être des tatas gagas trop cool, de le couvrir de cadeaux (d'ailleurs ça suffit... prenez plutôt du 38, en taille « adulte »). Merci d'être sa Ninie, une marraine qui lui et nous fait du bien.

Merci **POPPIE**, car sans toi je n'aurais jamais pu commencer ce travail !! Je ne peux pas l'oublier. Tu es pleine de ressources, et c'est avec beaucoup de bonheur, et parfois même beaucoup d'émotion, que nous les découvrons... Merci de prendre soin d'elle. J'avoue être assez fière d'avoir une descendante Laennec ce soir ! Merci de faire partie des tatas gagas.

Merci **MA JOLIE CHLOË**, pour ta douceur, ta gentillesse, ta générosité, ta force. Tu es un exemple pour moi. Cette thèse est aussi pour toi... Tu le sais, j'aimerais tellement en faire plus... Merci d'avoir pris soin de lui. Et bravo, pour l'avoir supporté à l'adolescence !! Merci d'être la Tatie Nanie dont il raffole.



ARTHUR, merci pour ta constante bonne humeur, d'être toujours au top (une bêêêêête) car tu me pousses à donner le meilleur de moi. Ça ne se voit pas toujours, je sais ! Merci quand même. Merci pour ton humour, qui parfois me déstabilise, quand je l'ai trop cherché... Merci de le gâter, et d'être le « pawain » que nous espérions.

Merci MARTINE&HENRI, TONTON, MANÉE&MICHMICH, NANETTE&DIDOU, FLO&KIKI, MON PARRAIN d'être des oncles et tantes parfaits, de faire partie de mon cocon, et de le rendre encore plus doux.

MES COUSINS, merci d'avoir été mes premiers amis, et de l'être encore. Jé, Camillou, Nanette, nous avons tellement de bons souvenirs en commun, je ne pouvais pas imaginer passer ce cap sans vous avoir à mes côtés. Merci d'être là.

Merci ma nouvelle MÉMÉ, de m'accueillir chez vous comme si j'avais toujours été là. Merci de me faire goûter les plats dont il raffole, de me les transmettre. Merci pour tous ces moments passés à vos côtés, aussi agréables les uns que les autres.

LAKHDAR, qui mieux que toi pour faire la transition entre la famille et les amis, puisque toi seul pourrais prendre n'importe quelle place dans ces remerciements (enfin... presque). Tu sais toute l'admiration que j'ai pour toi, au boulot, sur un snow, autour d'une table... Merci de m'accorder ton amitié, si importante. Merci pour ton aide, dans les révisions, les choix, les gardes, la thèse, de m'avoir appris quasiment toute la cyto que je connais ; et pour ta présence à chacun de nos moments importants, ou juste pour partager des fajitas devant The Voice. Merci à JÉJÉ, de te rendre encore meilleur, et de prendre soin de toi. T'as intérêt de faire pareil !

Ma CLÉ, mon Idole, ma marieuse future mariée, je te dois tellement ; Ma COCO, la classe et la gentillesse incarnée ; Ma HORT, la jeune maman parfaite super canon qui fait rêver ; Ma LOUL, ma confidente et coach, la maman du groupe ; Ma MANOU, mon xanax rigolo mangeuse de légumes ; Ma MOMOW, la joie joyeuse voyageuse qui ne se plaint jamais ; Ma PLUME ultra résistante, au rire communicatif, qui ne recule devant rien ; Ma ROSA, mon référentiel terrestre à moi, ma bulle d'air ; vous êtes mes modèles depuis 10ans, merci pour ces années de fac qui sont passées aussi vite qu'une bonne soirée raclette.

AURE, MARINE et vos minis vous ANNA & THIBAUT merci d'être la famille cool et saine que nous voyons toujours avec tellement de plaisir, mais pas assez souvent.

FLO, MARION&MATHIEU sa bande à lui mais rapidement devenue la mienne aussi, merci pour ces soirées autrefois délirantes, autour d'un Cranium, devenue bien plus sérieuses, mais toujours aussi agréables.

VALÉRIE, nous partageons beaucoup de points communs : des bancs sur lesquels nous avons rencontré nos chers époux, au prénom de nos fils, en passant par la date de mariage... Il n'y a que quelques années qui nous séparent, paraît-il. Merci cher maître, pour ce semestre parfait, qui m'a presque fait hésiter à y rester. Merci d'être là ce soir, j'en suis très honorée.

Mes copains d'internat,

ANNE-K, (je vais zapper les autres surnoms), ma binôme d'internat. Qu'est-ce qu'on a ri. Pour des bêtises, comme d'hab, faut dire on a tellement dites et faites. On a travaillé aussi. Si, rappelle-toi, la fois où... D'ailleurs, nous avons fait ensemble la première présentation sur le SAPL !! Merci pour ton soutien, pour ton amitié, pour ta tolérance envers presque toutes mes blagues, que parfois toi seule comprends, pour ta classe, et d'avoir ensoleillé mon internat !

PIERRE, (je vais zapper l'autre surnom, une fois suffit 😊), notre rencontre a été une des premières, et des plus belles de cet internat. Avec toi on rit (cf. courses de chaises en bioch), on court (cf. leur raclée au tennis)(quoi, c'est ma thèse, j'ai le droit d'embellir la réalité), on discute, on pleure (cf... non pas ici), on bosse... Bref, merci pour tout, pour la coag, pour ton aide, de me pousser à aller plus loin et à en faire plus, pour ton amitié... Promis, cet été je me mets à Kaamelott.

ANNESO&MAT, ça y est AnneSo, on est arrivé à bosser ensemble ! Merci à tous les deux, pour votre gentillesse, votre calme, votre bonne humeur. C'est un régal de vous connaître, et de vous voir avancer ensemble.

SAFOUNE, merci pour ta bonne humeur contagieuse, pour ton amitié, pour nous faire rire... parfois tu fais même exprès, c'est beau !

FLOGOL, qui ne rêve pas d'être une Flogol au moins un jour dans sa vie... en plus je pourrais tester le magimix !!

GREG, lapin, merci pour ce semestre où nous étions co-interne, mais en fait tu étais déjà assistant, tu m'as appris tout ce que tu as pu en bactério (mais c'est pas ta faute si je ne savais pas faire la différence entre un cocci et un bacille) et on a surtout ri. Pardon de t'avoir fait tomber de ta chaise. Jme suis bien marrée.

Merci à tous mes autres co-internes, qui m'ont tant appris, mais qui ont surtout rendu cet internat aussi agréable : ALEXIA, BÉA, CLÉA, CLÉMENT, ESTELLE, GUIDU, ILHEM, LUCILE, MANAL, MARINE MON CHÂTON, OMAR, P-A, RAQUEL, SOPHIE, SHISHI, THOMAS, TRACY. Et bon courage à ceux qui n'ont pas fini, surtout pour la « bouffe » de la Timone...

Merci à mes chers chefs, JULIEN, CHARLOTTE, VANESSA, MARIE, pour votre courage, votre patience, de bien vouloir me supporter, et partager vos connaissances avec moi. Et merci, pour tous ces bons moments.

Merci NOÉMIE, pour toute votre aide, et pour votre patience. Je reste épatée de voir à quelle vitesse vous manipulez les tableaux et la programmation de calculs si savants !

Mon ROMAIN, *mon ami, mon amour,*

Merci pour ton inépuisable gentillesse. Depuis toujours tu me donnes les moyens de finir ce que j'entreprends, d'obtenir ce dont je rêve... Et plus encore, tu me ferais presque croire que j'y suis arrivée seule. Mais pas cette fois...

Mon avenir se lit dans ta main. Tu es mon essentiel, la coronaire de mon cœur. Merci d'être présent, et de rentrer chez nous, chaque soir.

Merci pour tout le reste,

Merci pour lui,

Merci de lui mettre des étoiles dans les yeux, dès qu'il t'aperçoit.

Mon LOUIS, petit ange,

Tu as été ma motivation première pour finir ce travail.

1000 pardons pour ces nombreux instants volés.

Et merci, car chacun de tes éclats de rire m'a poussée à l'avancer... pour enfin profiter de toi.

Tu es un vrai bonheur. Grandis, découvre, vis, profite, aime, et surtout garde ton sourire si pétillant, « mon petit cœur d'amour que j'aime grand comme ça ».

MAMICHOV, PÉPOU, GRAND-PÈRE, vous me manquez... Surtout ce soir.

*« L'université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs »*

## Table des matières

Introduction.....	6
Partie I – Le Syndrome des Anti-phospholipides .....	7
I. Définitions.....	7
A. De l’organisme.....	7
B. ... au SAPL.....	7
II. Physiopathologie .....	8
A. Les Phospholipides .....	8
B. Les anti-phospholipides .....	9
C. Pathogénicité des aPL dans le SAPL.....	11
1. Le rôle de la bêta-2-glycoprotéine 1.....	11
2. Les évènements thrombotiques .....	12
3. Les évènements obstétricaux .....	15
4. Autres évènements cliniques.....	16
III. Epidémiologie .....	17
IV. Diagnostic .....	17
A. Clinique .....	17
1. Evènements thrombotiques .....	17
2. Evènements obstétricaux .....	18
3. Syndrome catastrophique des anti-phospholipides .....	18
B. Biologique .....	19
1. Indications de la recherche des aPL.....	19
2. Anticoagulant circulant (ACC) de type lupique.....	20
3. Anti-bêta-2-Glycoprotéine 1.....	24
4. Anti-cardiolipines.....	27
5. Anticorps non conventionnels .....	28
V. Traitement.....	29
A. Les molécules disponibles .....	29
1. Héparine et AVK.....	29
2. Les anticoagulants oraux directs (AOD).....	29
3. Les alternatives .....	31
B. Prévention primaire.....	33
C. Prévention secondaire .....	35

VI. Problématique .....	38
Partie II – Travail personnel .....	42
Asymptomatic carriers presenting a high-risk antiphospholipid antibody profile. ....	42
I. Introduction .....	42
II. Material and methods .....	43
1. Patients and study design .....	43
2. Data collection .....	44
3. Laboratory tests .....	44
4. Statistical analysis .....	45
III. Results .....	45
IV. Discussion .....	50
Bibliographie .....	54

## Table des illustrations

Figure 1 Actualisation des critères cliniques et biologiques du diagnostic du SAPL (6) .....	8
Figure 2 Schéma d'une membrane phospholipidique .....	9
Figure 3 Différentes cibles antigéniques des aPL .....	11
Figure 4 Différentes conformations de la B2GPI (14) .....	11
Figure 5 Cibles cellulaires de l'action des aPL (26) .....	13
Figure 6 Théorie du "Second hit" (22) .....	14
Figure 7 Différents mécanismes physiopathologiques du SAP (73) .....	15
Figure 8 Implication des aPL dans les complications obstétricales .....	16
Figure 9 Odds Ratio des aPL dans la thrombose (31) .....	20
Figure 10 Principe du test ELISA indirect .....	25
Figure 11 ELISA anti-domaine 1 vs ELISA anti-B2GPI (14).....	27
Figure 12 Différents anticorps détectés les tests ELISA-CL (37) .....	28
Figure 13 Profils d'aPL à haut et faible risques (62).....	34
Figure 14 Recommandations de prophylaxie primaire chez des patients avec aPL (62).....	35
Figure 15 Incidence cumulée d'évènements thromboemboliques chez des patients à haut risque (61) .....	35
Figure 16 Incidence cumulée d'évènement thromboembolique chez des patients triple positifs en fonction de la clinique au diagnostic (61).....	36
Figure 17 Incidence cumulée des récurrences en présence et en absence de prophylaxie secondaire par AVK (61) .....	36
Figure 18 Recommandations de prophylaxie secondaire dans le cadre du SAPL (62) .....	37
Figure 19 Comparaison des taux d'IgG et d'IgM aB2GPI chez les triples positifs vs doubles positifs (LA négatifs) (64).....	39
Figure 20 A : persistance des aPL en fonction des profils biologiques ; B : Taux de présence de critères cliniques diagnostiques du SAPL en fonction des profils biologiques (65).....	39
Figure 21 Incidence cumulée de survenue d'un 1er évènement thromboembolique chez des patients triples positifs sains (66) .....	40
Figure 22 Le Global Antiphospholipid Syndrome Score (70) .....	41

## Liste des abréviations

aB2GPI :	Anti-béta-2-glycoprotéine-1
ACC :	Anticoagulants circulants de type lupique
aCL :	Anti-cardiolipines
AOD :	Anticoagulants Oraux Directs
aPE :	Anti-phosphatidyléthanolamine
aPL :	Anticorps anti-phospholipides
AVC :	Accident Vasculaire Cérébral
AVK :	Anti-Vitamine K
B2GPI :	Béta-2-glycoprotéine-1
CAPS :	Syndrome Catastrophique des Anti-Phospholipides
CD :	Cluster of Differentiation
CL :	Cardiolipine
COC :	Contraceptifs Oraux Combinés
DO :	Densité Optique
dRVVT :	Diluted Russel Viper Venon Time
ELISA :	Enzyme Linked Immuosorbent Assay
ETEV :	Evènement Thrombo-Embolique Veineux
FdR CV :	Facteur de Risque Cardio-Vasculaire
GAPSS :	Global Antiphospholipid Syndrome Score
GEHT :	Groupe d'Etude en Hémostase et Thrombose
GPL :	IgG PhosphoLipid unit
HBPM :	Héparine de Bas Poids Moléculaire
HNF :	Héparine Non Fractionnée
HTA :	HyperTension Artérielle
IDM :	Infarctus du Mycarde
IgA :	Immunoglobuline de type A
IgE :	Immunoglobuline de type E



IgG : Immunoglobuline de type G

IgM : Immunoglobuline de type M

II : Thrombine

Ila : Thrombine activée

INR : International Normalized Ratio

IR : Indice de Rosner

ISTH : International Society of Thrombosis and Hemostasis

KHPM : Kininogène de Haut Poids Moléculaire

LAC : Lupus Anticoagulant

LED : Lupus Erythémateux Disséminé

MAI : Maladie auto-immune

MFIU : Mort fœtale *In Utero*

MPL : IgM PhosphoLipid unit

MTEV : Maladie Thrombo-Embolique Veineuse

OP : Œstro-progestatifs

OR : Odds-Ratio

PAPS : Primary AntiPhospholipid Syndrome

PCa : Protéine C activée

PK : prékallicrine

PL : Phospholipides

PTT-LA : Partial Thromboplastin Time-Lupus Anticoagulant

RAPS : Etude de l'utilisation du Rivaroxaban dans le Syndrome des Antiphospholipides

RITAPS : Etude de l'utilisation du Rituximab dans le Syndrome des Antiphospholipides

RN : Ratio Normalisé

SAPL : Syndrome des Anti-Phospholipides

TCA : Temps de Céphaline avec activateur

TCK : Temps de Céphaline avec Kaolin comme activateur

TVP : Thrombose Veineuse Profonde

## Introduction

Le Syndrome des Anti-Phospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune (MAI) systémique touchant principalement les jeunes femmes adultes. Il se présente sous forme primaire, ou secondaire c'est à dire associé à d'autres MAI : le Lupus Erythémateux Disséminé (LED ou LES) typiquement. Diverses manifestations cliniques lui sont associées : classiquement à type de thromboses et de complications obstétricales, mais nous verrons qu'elles peuvent être bien plus variées, et que la gravité, la fréquence, et la récurrence de ces manifestations font de cette MAI une entité finalement peu homogène. Enfin, son diagnostic est complexe, car il doit répondre à des critères clinico-biologiques bien précis. Ainsi émettre une hypothèse d'un SAPL repose sur un faisceau d'arguments cliniques et de résultats biologiques hautement spécialisés.

Dans le cadre de ce travail, nous présenterons dans un premier temps le SAPL, de la physiopathologie au traitement, en détaillant le diagnostic. Cette mise au point nous permettra d'aboutir à des interrogations plus actuelles. Notamment, quels critères biologiques seraient susceptibles d'aider à stratifier le risque de survenue d'évènements cliniques ? Est-il possible de personnaliser la prise en charge de chaque patient en fonction du profil biologique ? C'est pour répondre à ces problématiques que nous avons choisi d'étudier une population précise de patients à haut risque clinique et dits « triples positifs », c'est-à-dire présentant les trois auto-anticorps conventionnels incriminés dans cette pathologie. L'intégralité de ce travail sera décrite dans une seconde partie, avec les résultats obtenus, et les conclusions que nous avons pu poser. Une discussion globale clôturera ce mémoire, et dévoilera les axes de recherche à développer.

## Partie I – Le Syndrome des Anti-phospholipides

### I. Définitions

#### A. De l'organisme...

Un organisme humain peut classiquement être représenté en une organisation plus ou moins hiérarchisée de différents « systèmes » : le système nerveux, le système respiratoire, le système cardiaque, le système digestif, le système immunitaire, et bien d'autres... Un être humain en bonne santé possède donc un organisme dont tous les systèmes sont en homéostasie, et se coordonnent pour accomplir leurs fonctions.

Le système immunitaire, peut-être un des systèmes les plus complexes, a pour but initial de défendre l'organisme : le « soi ». Par exemple, lors d'agressions par des molécules du « non-soi » (bactéries, virus, substances étrangères, etc...), il fait intervenir différents éléments de l'immunité innée (macrophages, cytokines, complément...) et de l'immunité adaptative (lymphocytes T, lymphocytes B, anticorps...) afin d'éliminer la menace, et de garder en mémoire les moyens qu'il a déployés. Une des défaillances du système immunitaire que l'on peut observer est la synthèse d'anticorps dirigés contre des molécules du « soi », alors qu'ils sont habituellement dirigés contre des épitopes d'antigènes du « non-soi ». C'est classiquement ce que l'on observe dans les « maladies auto-immunes » (MAI).

Le Syndrome des Anti-Phospholipides (SAPL) est une maladie auto-immune. Il est donc lié à la présence d'auto-anticorps : les anticorps anti-phospholipides (aPL), dirigés contre des protéines du « soi » : les phospholipides (PL), constituants majeurs des membranes cellulaires.

#### B. ... au SAPL

C'est dans la fin des années 1980 qu'Harris et al. utilisent pour première fois le terme de « Syndrome des Anti-phospholipides » (1) alors que déjà en 1954 Beaumont décrivait chez une femme ayant fait 7 fausses couches précoces la présence d'un anticoagulant circulant (2), et qu'en 1963 Bowie et al. initiaient le versant thrombotique (3). C'est en 1980 que deux français M. Soulier et M. Boffa expliquaient quant à eux une probable *association* entre des anticorps de type anticoagulant circulant et des fausses couches à répétition (4).

C'est cette association de critères cliniques et de critères biologiques qui est à la base de la définition du syndrome des anti-phospholipides. Proposés pour la première fois à la suite

de la conférence de Sapporo en 1998 «The International Symposium on Antiphospholipid Antibodies » (5), ces critères ont été réactualisés en 2006 suite à la conférence de Sydney (6) (Figure 1). Ils demeurent toujours d'actualité et sont de notoriété internationale. Nous considérons aujourd'hui que le SAPL est un des plus importants facteurs de risque de maladie thrombo-embolique veineuse acquise (11).

C'est donc la présence d'au moins un critère clinique : thrombose artérielle et/ou veineuse ou évènement obstétrical bien défini; et la persistance de la positivité d'au moins un test biologique à 12 semaines d'intervalle qui permet de poser le diagnostic de SAPL.

**Table 2** Revised classification criteria for the antiphospholipid syndrome

Antiphospholipid antibody syndrome (APS) is present if at least one of the clinical criteria and one of the laboratory criteria that follow are met\*

Clinical criteria

1. Vascular thrombosis<sup>†</sup>

One or more clinical episodes<sup>‡</sup> of arterial, venous, or small vessel thrombosis<sup>§</sup>, in any tissue or organ. Thrombosis must be confirmed by objective validated criteria (i.e. unequivocal findings of appropriate imaging studies or histopathology). For histopathologic confirmation, thrombosis should be present without significant evidence of inflammation in the vessel wall.

2. Pregnancy morbidity

(a) One or more unexplained deaths of a morphologically normal fetus at or beyond the 10th week of gestation, with normal fetal morphology documented by ultrasound or by direct examination of the fetus, or

(b) One or more premature births of a morphologically normal neonate before the 34th week of gestation because of: (i) eclampsia or severe pre-eclampsia defined according to standard definitions [11], or (ii) recognized features of placental insufficiency<sup>¶</sup>, or

(c) Three or more unexplained consecutive spontaneous abortions before the 10th week of gestation, with maternal anatomic or hormonal abnormalities and paternal and maternal chromosomal causes excluded.

In studies of populations of patients who have more than one type of pregnancy morbidity, investigators are strongly encouraged to stratify groups of subjects according to a, b, or c above.

Laboratory criteria\*\*

1. Lupus anticoagulant (LA) present in plasma, on two or more occasions at least 12 weeks apart, detected according to the guidelines of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (Scientific Subcommittee on LAs/phospholipid-dependent antibodies) [82,83].

2. Anticardiolipin (aCL) antibody of IgG and/or IgM isotype in serum or plasma, present in medium or high titer (i.e. > 40 GPL or MPL, or > the 99th percentile), on two or more occasions, at least 12 weeks apart, measured by a standardized ELISA [100,129,130].

3. Anti-β<sub>2</sub> glycoprotein-I antibody of IgG and/or IgM isotype in serum or plasma (in titer > the 99th percentile), present on two or more occasions, at least 12 weeks apart, measured by a standardized ELISA, according to recommended procedures [112].

*Figure 1 Actualisation des critères cliniques et biologiques du diagnostic du SAPL (6)*

Le critère biologique concerne les aPL dits « conventionnels » : les anti-cardiolipines (aCL) d'isotype IgG ou IgM, les anti-béata-2-glycoprotéine-1 (aB2GPI) d'isotype IgG ou IgM, et les anticoagulants circulants de type lupique (ACC). Nous verrons que le dépistage des anticorps « non conventionnels » peut être intéressant pour aider au diagnostic.

## II. Physiopathologie

### A. Les Phospholipides

Les phospholipides sont les constituants majeurs des membranes plasmiques. Composés d'une partie hydrophile, la tête, et d'une partie hydrophobe, la queue, ils forment une bi-couche lipidique (figure 2) où viennent s'ancrer protéines et cholestérol, assurant protection, transduction de signaux, communication avec le milieu extra-cellulaire, tout en limitant la perméabilité de la cellule.

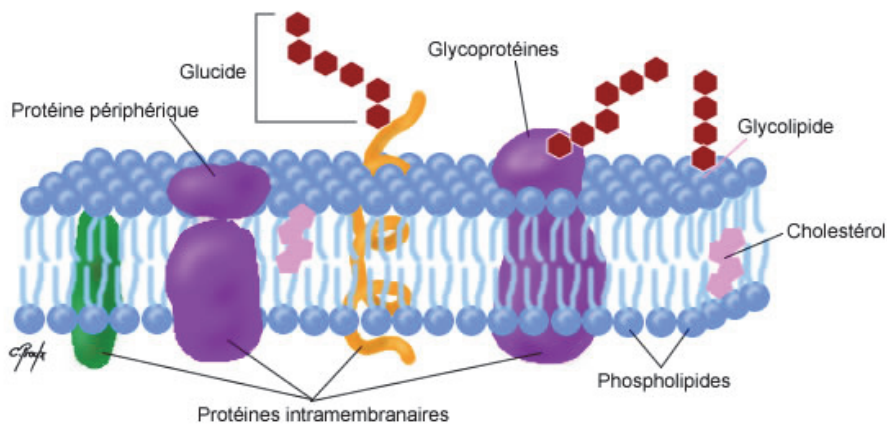


Figure 2 Schéma d'une membrane phospholipidique

Les principaux phospholipides des cellules humaines sont :

- Phosphatidylcholine
- Phosphatidylsérine
- Phosphatidyléthanolamine
- Sphingomyéline
- Cardiolipine (qui se trouve principalement dans les membranes mitochondriales).

Les phospholipides jouent aussi un rôle majeur dans la cascade de la coagulation, car ils constituent une surface catalytique pour l'activation enzymatique des facteurs de la coagulation. Ils sont exposés par les cellules endothéliales lésées par des brèches vasculaires, ou par les plaquettes lors de leurs changements conformationnels. De plus, au cours de l'hémostase primaire, lors de l'activation plaquettaire, c'est à partir des phospholipides de la membrane plaquettaire qu'est synthétisé le thromboxane-A<sub>2</sub>, puissant inducteur de l'agrégation plaquettaire.

### B. Les anti-phospholipides

Les anti-phospholipides, comme leur nom l'indique, sont des anticorps dirigés contre les phospholipides. Mais plus précisément, ils peuvent être dirigés contre le phospholipide lui-même ou contre un cofacteur liant le phospholipide (7-10) (Figure 3). Ces cofacteurs sont en réalité des protéines agissant à la surface de la membrane phospholipidique, via cette interaction avec les PL. Nous pouvons citer la B2GPI, la prothrombine, l'annexine V, la protéine C, la protéine S, etc... (11).

D'autre part, il est classiquement distingué dans le SAPL les anticorps « conventionnels » des anticorps « non-conventionnels » (Tableau 1).

aPL conventionnels	aPL non conventionnels
<ul style="list-style-type: none"> <li>- aCL d'isotype IgG ou IgM</li> <li>- aB2GPI d'isotype IgG ou IgM</li> <li>- ACC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- aCL d'isotype IgA</li> <li>- aB2GPI d'isotype IgA</li> <li>- anti-phosphatidyléthanolamine (aPE) d'isotype IgG, IgM ou IgA               <ul style="list-style-type: none"> <li>- anti-prothrombine</li> <li>- anti-annexine V</li> </ul> </li> <li>- anti-complexe phosphatidylsérine-prothrombine (6)</li> </ul>

Tableau 1 Les anticorps conventionnels et non conventionnels du SAPL

Les anticorps non conventionnels ne sont pas retenus comme critère biologique, et ne permettent donc pas à eux seuls de poser le diagnostic de SAPL (même en présence d'un critère clinique). Toutefois, certaines études ont montré une association entre leur présence et la survenue d'évènements cliniques pouvant être rattachés au SAPL (6). Il est d'ailleurs maintenant recommandé de rechercher ces aPL non conventionnels lorsque les aPL conventionnels sont négatifs, devant un tableau clinique fortement évocateur d'un SAPL.

Les aPL n'ont pas qu'un intérêt diagnostique mais ils ont aussi un effet pathogène sur l'organisme, à l'origine du SAPL. Leur mécanisme d'action est longtemps resté vague, mais nous possédons aujourd'hui des éléments nous permettant d'expliquer en grande partie leur rôle dans cette pathologie.

*In vitro*, les aPL ont une action qui pourrait être considérée comme anti-coagulante, car ils induisent un allongement des tests de coagulation, alors qu'*in vivo*, les anti-phospholipides ont une action pro-thrombotique.

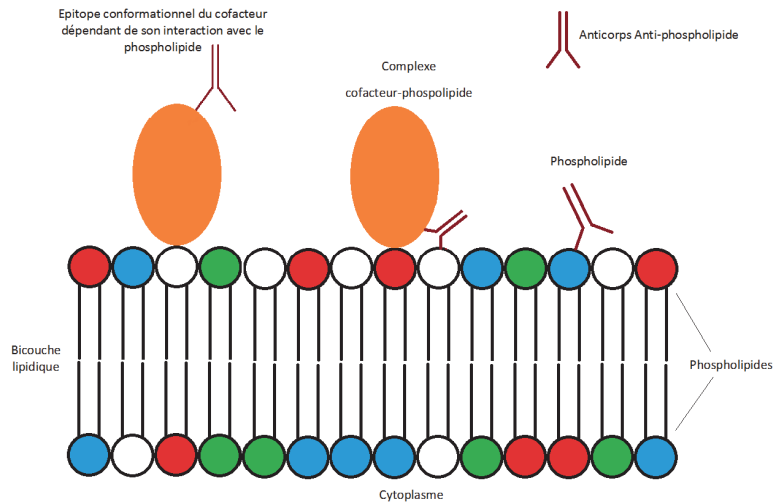


Figure 3 Différentes cibles antigéniques des aPL

### C. Pathogénicité des aPL dans le SAPL

#### 1. Le rôle de la bêta-2-glycoprotéine 1

Parmi les aPL, ceux ayant pour cible antigénique la B2GPI auraient la plus importante signification clinique, surtout s'ils ont une activité lupus anticoagulante (12).

La B2GPI (anciennement appelée apolipoprotéine H) est une protéine sérique constituée de 326 acides-aminés organisés en cinq domaines (Figure 4). Lorsqu'elle est circulante, la B2GPI formerait une boucle, où domaine I et domaine V seraient liés. Puis à proximité des membranes plasmiques et plus précisément des phospholipides anioniques, le domaine V, chargé positivement, irait alors se lier à ces PL, ce qui expose le domaine I, très antigénique, à ses différents épitopes (13).

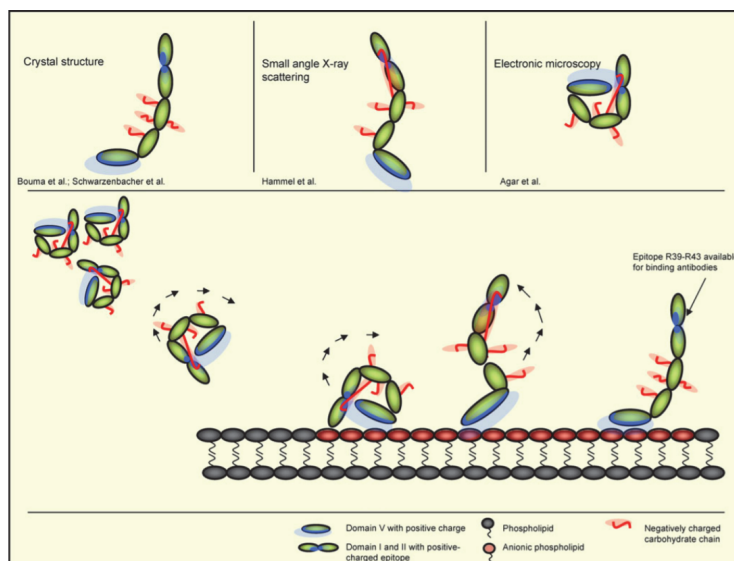


Figure 4 Différentes conformations de la B2GPI (14)

Physiologiquement, la B2GPI jouerait un rôle dans la régulation de la coagulation par plusieurs mécanismes :

- Elle inhiberait la libération de sérotonine par les plaquettes lors de l'agrégation plaquettaire, au cours de l'hémostase primaire (16).
- Elle inhiberait le système contact de la voie intrinsèque de la coagulation (17), et plus précisément, elle inhiberait l'auto-activation du facteur XII de la coagulation (18).
- Elle régulerait la génération de thrombine (facteur IIa) en masquant les sites de fixation du complexe prothrombinase (facteur Xa, facteur Va, Ca<sup>2+</sup>, PL) sur les PL des membranes plaquettaires, et ce, lorsque la IIa est en quantité physiologique (19).
- Elle inhiberait la génération de facteur X de la coagulation en présence de plaquettes (20).
- Elle inhiberait la Protéine C activée (PCa) ainsi que son activation. La PCa est un inhibiteur vitamine K dépendant de la coagulation, qui dégrade le facteur Va et le facteur VIIIa (21).

Ainsi nous pouvons comprendre que cette protéine se place au centre de la physiologie du SAPL.

## 2. Les évènements thrombotiques

De très nombreux travaux eurent pour objectif d'expliquer la physiopathologie du SAPL, et ce sont principalement des études *in vivo* qui ont permis de confirmer le rôle pathogénique de ces aPL, en observant la survenue de thromboses artérielles et/ou veineuses chez des souris ou hamsters, après leur avoir injecté des IgG aPL (22).

Les aPL peuvent par de nombreux moyens expliquer les manifestations cliniques retrouvées chez les patients. Comme nous l'avons vu, les PL sont au centre de la physiologie de l'hémostase, utiles à chaque étape, de l'hémostase primaire à la cascade de coagulation. Nous pouvons donc facilement comprendre que la présence d'aPL conduise à une pathologie thrombophile, d'autant que comme nous l'avons déjà détaillé, les cibles des aPL sont le plus souvent des complexes formés de PL et d'un de leurs cofacteurs. Les cofacteurs les plus cités sont la B2GPI, la prothrombine, la protéine C, la protéine S, l'annexine V, qui ont toutes un rôle physiologique de régulation de la coagulation. Ainsi :

- Les aPL ayant pour cible la B2GPI inhibent ses actions anticoagulantes déjà détaillées,



- Les aPL ayant pour cible la prothrombine peuvent lier la molécule libre ou complexée aux PL (exemple des aPL anti-phosphatidylsérine/prothrombine), ce sont ces derniers qui seraient davantage corrélés à la clinique thrombotique du SAPL,
- les aPL ayant pour cible la protéine C, ou la protéine S bloquent leurs rôles d'inhibiteurs de la coagulation,
- Les aPL ayant pour cible l'annexine V (agent anticoagulant) déplacent cette molécule.

Parallèlement, un rôle tout aussi primordial des aPL est qu'ils peuvent stimuler certaines cellules (figure 5) : les plaquettes; les cellules endothéliales et les monocytes (23-25). En effet, ils altèrent l'expression et la sécrétion de molécules variées :

- Au niveau des monocytes, ils favorisent l'expression du facteur tissulaire, qui initie la voie extrinsèque de la cascade de la coagulation.
- Au niveau des cellules endothéliales, ils augmentent l'activité procoagulante (de même ils augmentent l'expression du facteur tissulaire, et celle de molécules d'adhésion), diminuent la fibrinolyse et dérèglent les eicosanoïdes (en diminuant la production endothéliale de prostaglandine-12).
- Au niveau plaquettaire, ils augmentent la production de thromboxane A2 et l'expression de la GP-IIb-IIIa.

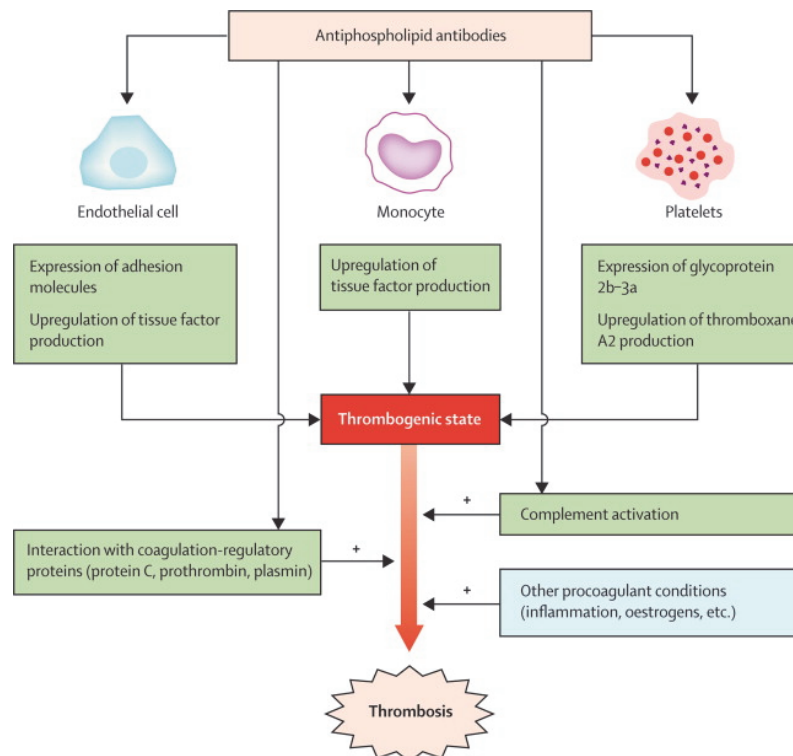


Figure 5 Cibles cellulaires de l'action des aPL (26)

Il est important de noter que les aPL activent le complément (26), et qu'il s'agit d'une étape cruciale dans la pathogénèse (Figure 5, Figure 6, Figure 7).

D'autre part, le rôle de modifications post-transcriptionnelles de la B2GPI, principalement son oxydation, augmenterait la fixation des aB2GPI à leur cible. Ceci a été suspecté lorsque des taux plus élevés de B2GPI oxydée ont été trouvés chez des patients présentant un SAPL thrombotique (73).

Mais une interrogation persiste : pourquoi certains individus possédant ces aPL ne présentent jamais d'évènement clinique ? C'est alors que la théorie du « second hit » (Figure 6), émise par Meroni et al. (22) devient pertinente. C'est d'ailleurs la théorie actuellement retenue pour expliquer les phénomènes thrombotiques.

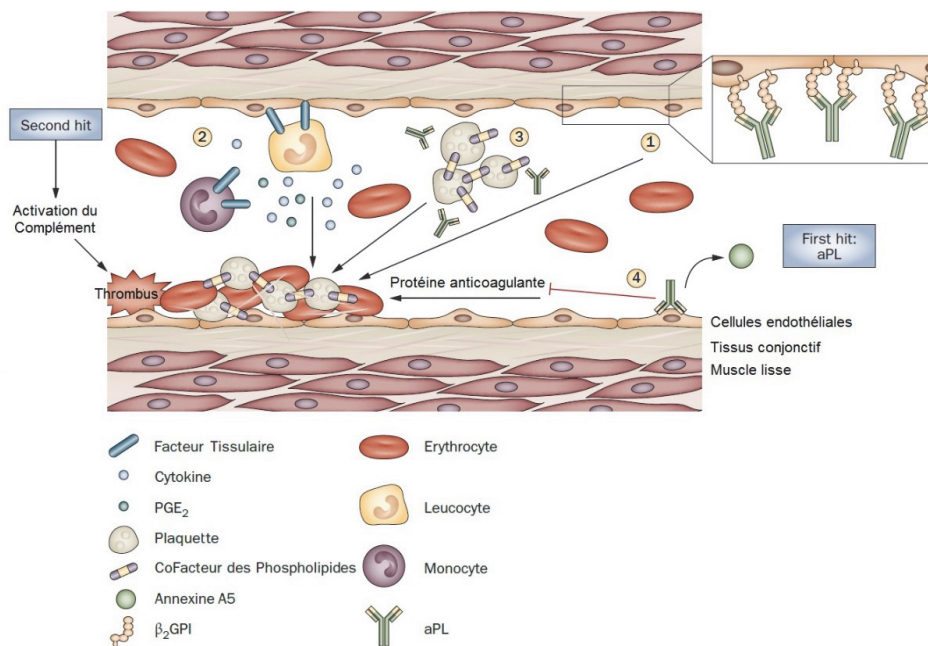


Figure 6 Théorie du "Second hit" (22)

La présence des aPL constitue la première étape, conduisant à un état prothrombotique, et la formation du thrombus dépend quant à elle d'un autre évènement, le « second hit », comme par exemple un processus infectieux ou inflammatoire. Cet évènement déclencheur augmenterait l'expression des cibles des aPL, ou ferait exprimer leurs épitopes habituellement « cachés ». Il a été suggéré que chez certains sujets, le « second hit » n'ait jamais lieu, ou que leur spécificité antigénique soit différente. Par exemple, des aB2GPI ayant pour cible antigénique un autre domaine que le domaine I.

Ainsi les aPL sont hétérogènes mais leurs actions sont aussi variées, car les mêmes anticorps peuvent avoir des conséquences cliniques différentes chez des patients différents.

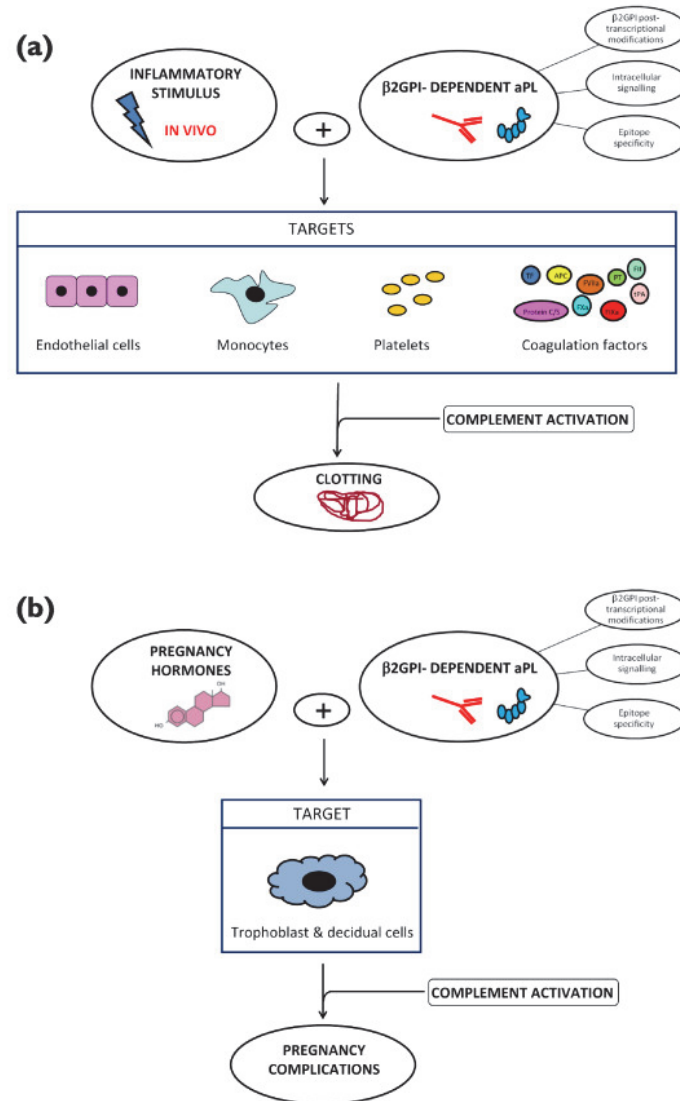


Figure 7 Différents mécanismes physiopathologiques du SAP (73)

### 3. Les évènements obstétricaux

La théorie du « second hit » ne coïnciderait pas à priori avec les évènements obstétricaux car la simple administration d'aPL, dans des modèles animaux, induirait des pertes fœtales, sans autre évènement déclencheur. Il est cependant possible de considérer que la grossesse constituerait en elle-même le « second hit ». En effet, il est déjà admis que les perturbations hormonales et vasculaires en période de gestation font de cet état un facteur de risque d'évènements thromboemboliques important. D'autre part, il a été démontré que physiologiquement, la B2GPI est en quantité très importante au niveau placentaire (22).

Les pertes fœtales, précoces ou tardives, ainsi que les accouchements prématurés, qui constituent les critères cliniques diagnostiques du SAPL seraient expliqués par plusieurs mécanismes faisant intervenir les aPL. Notamment nous pouvons citer (Figure 8) :

- L'existence de thromboses placentaires (cf. évènements thrombotiques)
- Au niveau fœtal : une modification des fonctions cellulaires des trophoblastes avec diminution de leur prolifération, donc de la croissance fœtale, et potentiellement un défaut d'implantation.
- Au niveau maternel : une interaction avec les cellules de la décidua (partie maternelle du placenta formée à partir de l'endomètre) induisant un état pro-inflammatoire, lui-même conduisant aussi à un défaut d'implantation du fœtus.

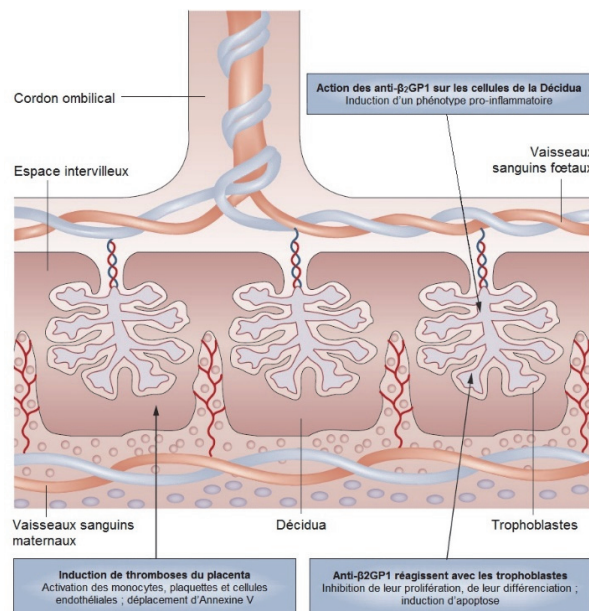


Figure 8 Implication des aPL dans les complications obstétricales

#### 4. Autres évènements cliniques

D'autres symptômes peuvent être observés au cours de la pathologie anti-phospholipidique : néphropathie des aPL ; des troubles du système nerveux central (SNC) à type d'épilepsie, de chorée, de troubles mnésiques ; atteintes cutanées (livedo reticularis par exemple) ; lésions valvulaires cardiaques (épaississement de valve) ; hémorragies surrénaliennes bilatérales ; etc...

Les mécanismes thrombotiques ne permettraient pas d'expliquer en totalité ces évènements. Une action directe des aPL sur les cellules de la microcirculation glomérulaire ou sur les cellules du SNC a été suggérée (22).

### III. Epidémiologie

La prévalence du SAPL est difficile à établir, elle serait de l'ordre de 0,5% de la population générale. En revanche, il est estimé que 1 à 5% des femmes présenteraient des aPL. Le SAPL est le plus souvent primaire, et lorsqu'il est secondaire, il est le plus souvent associé à un lupus érythémateux disséminé (LED). On estime que 20 à 40% des patients présentant un LED sont susceptibles de développer un SAPL. Le sexe ratio est très en défaveur des femmes, qui sont 5 fois plus touchées que les hommes (74).

Dans une étude cas-témoin dont le but était d'évaluer la prévalence des facteurs de risque acquis ou génétiques de présenter un premier évènement thrombotique chez des patients âgés de moins de 70 ans (sans pathologie néoplasique connue), il a été montré que les aPL étaient présents dans 3 % des cas (versus 0.9 % pour les témoins, OR = 3.6) (27). Il s'agirait du facteur de risque acquis le plus important de Maladie Thrombo-embolique Veineuse (MTEV). De même, dans une autre étude, 17% des femmes présentant un Accident Vasculaire Cérébral (AVC) avant l'âge de 50 ans auraient des aPL positifs (versus 0.7% des témoins ; OR=43). Ce risque augmente davantage lorsque l'on associe une prise de pilule œstroprogestative (OR=201) ou une consommation de tabac (OR=87). (28)

D'autre part, concernant le versant obstétrique, il a été montré que 10 à 15% des femmes présentant des échecs dans leurs tentatives de grossesse présenteraient des aPL (26).

### IV. Diagnostic

#### A. Clinique

Les critères cliniques ont été redéfinis à l'occasion du 11<sup>ème</sup> Congrès International des Anti-Phospholipides en 2006 à Sydney, Australie (6).

##### 1. Evènements thrombotiques

Concernant les évènements thrombotiques, il faut que le ou la patient(e) ai présenté au moins une thrombose artérielle, et/ou veineuse et/ou des petits vaisseaux, et que ce diagnostic soit étayé par de l'imagerie ou de l'histopathologie (sans image d'inflammation de la paroi vasculaire). Ainsi les thromboses superficielles sont exclues des critères cliniques.

## 2. Evènements obstétricaux

Les critères obstétricaux retenus sont précisément :

- Au moins 3 fausses couches spontanées et successives au cours des 10 premières semaines de grossesse, en excluant une cause hormonale ou anatomique maternelles, ou chromosomique maternelle et paternelle,

Et/ou

- Une mort fœtale *in utero* (MFIU) après 10 semaines de gestation sans anomalie morphologique diagnostiquée au cours de l'analyse directe du fœtus, ou au cours de son analyse par ultrason,

Et/ou

- Une naissance prématurée avant la 34<sup>ième</sup> semaine de gestation d'un enfant sans anomalie morphologique, liée à une pré-éclampsie, ou une éclampsie sévère, ou une insuffisance placentaire.

*NB : A savoir que dans le terme « d'insuffisance placentaire » il est possible de considérer toute anomalie des tests de surveillance fœtale orientant vers une hypoxie fœtale, un échodoppler orientant également vers une hypoxie fœtale, un oligohydramnios, ou enfin un poids de naissance inférieur au 10<sup>ième</sup> percentile pour le même âge gestationnel (6).*

## 3. Syndrome catastrophique des anti-phospholipides

Le Syndrome Catastrophique des Anti-Phospholipides (CAPS) est défini par une forme accélérée de SAPL avec des thromboses simultanées (ou dans un délai très rapproché) de la microcirculation d'au moins trois organes ou tissus, entraînant une défaillance multiviscérale. Les atteintes initiales les plus fréquentes sont neurologiques (20%), pulmonaires (14%), rénales (13%). Le plus souvent, la prise en charge du patient relève de l'urgence et ce, en unité de soins intensifs, car il entraîne un décès dans 39% des cas. Sa prévalence est de moins de 1% des patients porteurs d'aPL, il peut être inaugural (50% des cas), ou observé chez des patients dont le diagnostic de SAPL est déjà établi. Il touche les femmes dans 69% des cas.

Il existe un registre international depuis 2000, le « CAPS Registry », qui permet d'étudier l'épidémiologie de ce syndrome rare (<http://ontocrf.costaisa.com/es/web/caps>).

On y retrouve que dans 30% des cas, l'évènement déclencheur est une infection. Il a été montré que dans les CAPS, les infections ou les chirurgies récentes augmentent le risque de

lésions endothéliales, précipitant donc les événements thrombotiques (29). De même, un arrêt de l'anticoagulation peut être un facteur déclenchant important. Les chirurgies représentent environ 10% des événements déclencheurs de CAPS, de même que les cancers, la prise de contraceptif. A moindre niveau, nous pouvons retrouver une césarienne, la prise de médicaments, une crise lupique.

Le diagnostic est posé par la clinique d'une part, avec la preuve de thromboses de la microcirculation d'au moins un organe ou tissu (par de l'imagerie ou par une analyse histopathologique), et par la présence d'autre part d'au moins un aPL à l'analyse biologique. A noter que bien évidemment, la confirmation douze semaines plus tard n'est alors pas nécessaire pour poser le diagnostic. Le titre d'aPL est généralement élevé.

## B. Biologique

Il est important de souligner que c'est la persistance de la positivité des tests mettant en évidence la présence d'aPL, à au moins douze semaines d'intervalle, qui constitue le critère biologique pour le diagnostic du SAPL. En effet, devant la forte prévalence dans la population générale des événements thrombotiques et des complications obstétricales décrites ci-dessus, il est primordial que la biologie apporte toute la spécificité de ce syndrome.

### 1. Indications de la recherche des aPL

Voici les indications où la recherche des aPL est justifiée :

- Diagnostic étiologique d'une thrombose vasculaire (artérielle ou veineuse) chez le sujet âgé ou le sujet jeune lorsqu'elle est non provoquée ; de localisation inhabituelle ; lorsqu'elle survient chez des sujets anticoagulés ; ou enfin en cas de récurrence,
- Diagnostic étiologique d'une MFIU lorsqu'aucune anomalie morphologique du fœtus n'a été retrouvée,
  - En cas pré-éclampsie précoce ou sévère,
  - En cas d'insuffisance placentaire,
  - En cas de retard de croissance intra-utérin sévère inexpliqué chez des femmes ayant un antécédent de MTEV,
  - En cas de fausses couches précoces spontanées, et multiples,
  - Chez les femmes enceintes ayant une MAI et une histoire familiale de MTEV (ou une notion de thrombophilie familiale), même asymptomatiques,
  - Chez les patients atteints de LED,

- En cas de thrombopénie persistante inexpliquée,
- En cas de découverte fortuite d'un allongement d'un test global de coagulation (TCA ou TCK).

## 2. Anticoagulant circulant (ACC) de type lupique

### a) INTERET

Il est admis que les aPL de type ACC ont principalement pour cible antigénique la B2GPI et la prothrombine (22). Ce sont les aPL avec la plus importante signification clinique (30), surtout s'ils ont la B2GPI comme cible antigénique (12) (figure 9).

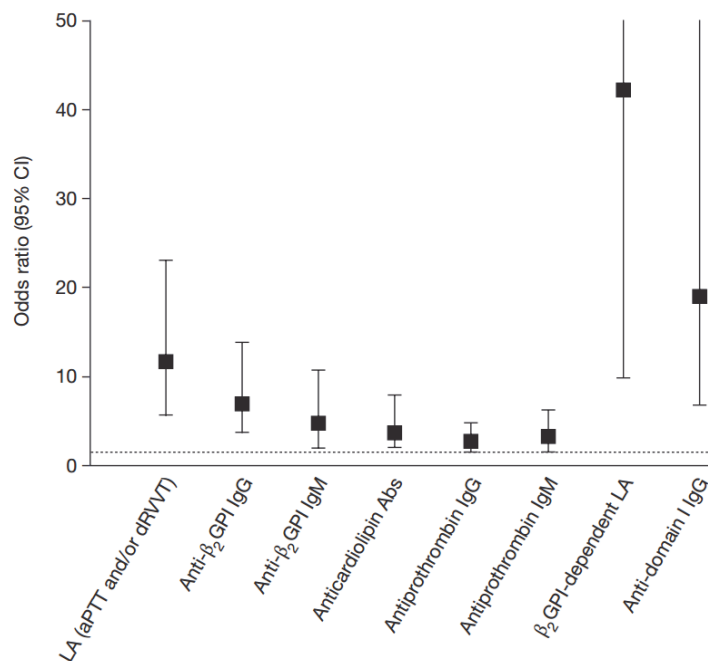


Figure 9 Odds Ratio des aPL dans la thrombose (31)

Cela a principalement été démontré dans la méta-analyse effectuée en 2002 par Galli et al. Cette équipe a combiné les résultats de plusieurs études basées sur i) le lupus anticoagulant uniquement, et sur ii) le lupus anticoagulant et les aCL ; et a ainsi montré, sur un total de 979 patients et 681 témoins :

- i) l'ACC a un OR (IC 95%) allant de 5.71 à 9.4 pour les thromboses artérielles et/ou veineuses
- ii) l'ACC a un OR (IC 95%) allant de 4.09 à 16.2 pour les thromboses artérielles et/ou veineuses



Ils démontrent ainsi que les ACC sont des facteurs de risque importants de thrombose, sans pouvoir cependant prédire le site ou le type de thrombose, et ce, qu'il y ait un LED associé ou non. De plus, ce résultat serait indépendant du type de test utilisé en laboratoire.

#### b) PRINCIPE DE DOSAGE

Il faut souligner que le terme d'anticoagulant circulant (ACC) n'est pas totalement exact, car comme nous l'avons vu, les aPL ont *in vivo* une action pro-coagulante. Mais paradoxalement cet ACC prolonge certains tests d'exploration de l'hémostase.

En effet, la recherche d'ACC est réalisée en laboratoire d'hémostase, en trois temps, selon les recommandations du Groupe d'Etude en Hémostase et Thrombose (GEHT) et de l'ISTH (International Society on Thrombosis and Hemostasis). D'abord il peut être suspecté devant un allongement des temps de coagulation des tests globaux, il s'agit du *dépistage*. Pour ce faire, l'ISTH recommande d'utiliser deux tests complémentaires :

- Le TCA, ou Temps de Céphaline + Activateur, est un test global de coagulation utilisant la silice micronisée comme activateur de la cascade de la coagulation. Il est réalisé en routine par les laboratoires d'analyse médicale, principalement pour le suivi des patients ayant un traitement par héparine non fractionnée (HNF). Il explore la voie endogène (ou intrinsèque) de la coagulation, et est sensible aux déficits en facteurs de cette voie (VIII, IX, XI, XII, PK et KHPM) ainsi qu'aux déficits en facteurs communs aux voies intrinsèque et extrinsèque (II, V, X et Fibrinogène ou facteur I), aux aPL, et à la présence de traitements anticoagulants dans le sang.

- Le dRVVT (Temps de Venin de Vipère Russel dilué), plus précisément le « dRVVT screen » est le test le plus spécifique et le plus sensible pour la détection des ACC. En effet, il explore la fin de la cascade de la coagulation, où le complexe prothrombinase (facteurs Xa, Va, Ca<sup>2+</sup>, PL) active la Prothrombine II en Thrombine IIa. Il est donc insensible aux déficits en facteurs de la voie endogène de la coagulation (VIII, IX, XI, XII, PK, KHPM).

L'étape suivante, dite de *démonstration*, consiste à mélanger l'échantillon du patient avec du plasma normal (mélange en quantités égales) et à renouveler les tests globaux, qui doivent rester allongés. Si l'on observe une correction des tests de coagulation lors du mélange, cela oriente alors vers un déficit en facteur de la coagulation (exemple de l'hémophilie A ou B).

Enfin, pour la dernière étape, la *confirmation* de la dépendance aux anti-phospholipides est révélée par un test spécifique (« *dRVVT confirm* ») dont les réactifs contiennent un excès de phospholipides. Cet excès sature les aPL présents, et on observe alors une normalisation du temps de coagulation, ce qui ne serait pas le cas s'il y avait présence d'un anticorps dirigé contre un des facteurs de la coagulation (exemple de l'hémophilie A, ou B, acquise).

Une fois ces tests réalisés, l'indice de Rosner (IR) est calculé à partir du TCA et du TCA mélange, et le ratio normalisé (RN) est calculé à partir du « *dRVVT screen* » et du « *dRVVT confirm* ». C'est l'interprétation de ces calculs qui permettra de conclure à la présence ou l'absence d'ACC de type lupique.

✓ Indice de Rosner (%) :

$$IR = 100 \times \frac{TCA_{mélange} - TCA_{témoin}}{TCA_{patient}}$$

*Interprétation :*

- Si IR < 12% => absence d'ACC.
- Si IR compris entre 12% et 15% => résultat douteux à reconstrôler si possible.
- Si IR > 15% => présence d'ACC (le test mélange n'est pas corrigé).

✓ Ratio normalisé :

$$RN = \frac{dRVVT_{screen_{patient}} / dRVVT_{screen_{témoin}}}{dRVVT_{confirm_{patient}} / dRVVT_{confirm_{patient}}}$$

*Interprétation :*

- Si RN < 1,2 => absence d'ACC de type lupique.
- Si RN ≥ 1,2 => présence d'ACC de type lupique.

Une double centrifugation est nécessaire avant de réaliser les tests dépendant des phospholipides dans le but d'obtenir un plasma contenant moins de 10 000 plaquettes/μL. en effet, les PL présents au niveau des membranes plaquettaires pourraient neutraliser les aPL recherchés dans les échantillons, et conduire à de faux négatifs.

D'autre part, comme tous les tests chromométriques, il s'agit d'un test fonctionnel, et est donc sensible à la présence d'anticoagulants dans l'échantillon. Afin d'éviter les faux positifs, il est donc fortement recommandé de réaliser un temps de prothrombine (TP), et une héparinémie (dosage de l'activité anti-Xa) avant de réaliser la recherche d'ACC. Un INR (International Normalized Ratio) > 3 de même qu'une activité Anti-Xa > 0.8 UI/mL devra conduire à l'annulation totale des tests. Un TP < 50% entraînera la réalisation du dRVVT sur un échantillon dilué au demi avec un pool de plasma normaux. Le PTT-LA ne sera pas réalisé si l'héparinémie est comprise entre 0.15 et 0.8 UI/mL. Enfin, la présence d'anticoagulants oraux directs (AOD) (pouvant être suspectée devant un temps de thrombine (TT) allongé pour le dabigatran, ou une héparinémie très élevée pour le rivaroxaban ou l'apixaban), peut aussi faussement positiver les tests. Il est ainsi recommandé de ne pas interpréter un résultat positif en présence d'AOD.

#### c) *VERS DES TESTS PLUS SPECIFIQUES*

Afin d'améliorer la spécificité du « lupus anticoagulant », il est possible de montrer sa dépendance à la B2GPI. Dans une première étude est expliqué la démarche (32), ensuite une seconde publication démontre l'intérêt indiscutable de cette technique (33) : un anticorps anti-B2GPI avec activité lupus anticoagulant a la plus importante corrélation clinique (OR=42,3 ; 95% IC, 9.9 – 194.3) (Figure 9).

Cette technique est basée sur un TCA sensibilisé : le PTT-LA pour temps de thromboplastine partiel - lupus anticoagulant. Il utilise aussi la silice micronisée comme activateur, mais possède une concentration plus faible en PL.

Autre avantage de ce test : la technique est décrite comme étant simple. Il doit être réalisé dans un premier temps un PTT-LA classique avec le plasma du patient ; puis réaliser un PTT-LA avec le plasma du patient en diluant le réactif PTT-LA au demi avec des vésicules de cardiolipine dosées à 25µM. Pour chaque test, un rapport avec un PTT-LA réalisé sur un pool de plasma de patients sains (témoins) est calculé. Dans le cas d'une dépendance à la B2GPI, un raccourcissement du temps de coagulation avec le réactif contenant la cardiolipine (CL) doit être observé. Ainsi la différence est calculée :

$$d = \frac{PTTLA_{\sim CL_{patient}}}{PTTLA_{\sim CL_{témoin}}} - \frac{PTTLA_{patient}}{PTTLA_{témoin}}$$

*Interprétation :*

- Si  $d \leq -0,05$  => présence d'anti-B2GPI avec activité lupus anticoagulant.
- Si  $d > -0,05$  => absence d'anti-B2GPI avec activité lupus anticoagulant.

### 3. Anti-béata-2-Glycoprotéine 1

#### a) *INTERET*

Dès les années 1990 la B2GPI a suscité un fort intérêt, elle est même considérée comme l'antigène le plus cliniquement significatif (14). C'est d'ailleurs en 1995 que la présence d'anticorps Anti-béata-2-Glycoprotéine 1 (aB2GPI) a été démontrée en utilisant un test immunologique avec cet antigène directement, sans phospholipides (34). Plus précisément, ces anticorps seraient davantage corrélés à la clinique du SAPL que les anti-cardiolipines utilisés jusqu'alors (34 ;35). Dès cet instant, de nombreux laboratoires ont mis au point des techniques mettant en évidence ces aPL.

Initialement, ils ne faisaient pas partie des critères initiaux de Sapporo, où l'on ne considérait que le « lupus anticoagulant » et les « anti-cardiolipines B2GPI dépendant », ils ont été rajoutés aux critères révisés de Sydney, en 2006.

Déjà en 1995, Cabiedes et al (35), en démontrant la meilleure spécificité des tests dépistant les aB2GPI (quasiment 90%) vis-à-vis du SAPL chez des patients lupiques, par rapport aux autres tests ELISA dépistant les aPL (49%), émettait l'hypothèse d'une conformation particulière de la B2GPI après son interaction avec la cardiolipine, exposant alors de nouveaux épitopes. Par la suite, la distinction de ses différents domaines et le rôle principalement du domaine I (Figure 4) ont été au centre de nombreux travaux.

Depuis, il a été montré que les anticorps anti-domaine I de la B2GPI étaient davantage corrélés à la clinique du SAPL (36). En effet, dans une étude uni-centrique chez 198 patients présentant des désordres auto-immuns, de Laat et al. ont calculé que l'Odds-Ratio des anticorps anti-domaine I de la B2GPI était de 18,9 (95% CI, 6.8 – 53.2) pour les thromboses (principalement veineuses) versus 1,1 (95% CI, 0.4 – 2.8) pour les anticorps dirigés contre les autres domaines de la B2GPI. Il a confirmé ces résultats avec une étude multicentrique incluant uniquement des patients présentant des aB2GPI, où il a d'ailleurs aussi montré qu'ils étaient davantage corrélés avec les complications obstétricales (OR=2,4 ; 95% CI, 1.4 – 4.3).

b) PRINCIPE DE DOSAGE

A ce jour, il est recommandé d'utiliser une technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) pour le dépistage des aB2GPI (6). De nombreux kits commerciaux existent, mais le principe général reste le même, il s'agit du principe de l'ELISA indirect (Figure 10).

Nous disposons d'une plaque ELISA de 96 puits, au fond desquels est fixé (« coaté ») en quantité saturante l'antigène d'intérêt : la B2GPI naturelle. Une quantité fixée d'échantillon est déposée dans les puits (sérum ou plasma) du patient. Si l'échantillon contient l'anticorps recherché, celui-ci se lie à son antigène fixé au fond du puits, et un complexe antigène-anticorps se forme. Les étapes de lavages sont très importantes afin d'éliminer toute molécule non fixée à l'antigène, ou les molécules fixées mais non spécifiques. Un réactif (le conjuguât d'enzyme) est ensuite déposé dans les puits, il contient des immunoglobulines anti-IgG ou anti-IgM en fonction de l'isotype recherché. Ces anticorps sont couplés à une enzyme, par exemple la peroxydase. Après incubation, puis lavage pour éliminer les excès d'anticorps couplés, le substrat de l'enzyme est ajouté dans le puits. Ceci induit une coloration de la solution, et la variation de la densité optique (DO) est mesurée dès l'ajout d'un réactif stoppant la réaction (généralement un acide fort ou une base forte), par spectrophotométrie. Cette variation d'absorbance est proportionnelle à la quantité de complexes antigène-anticorps présents dans le puits, c'est-à-dire qu'elle est donc proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon du patient.

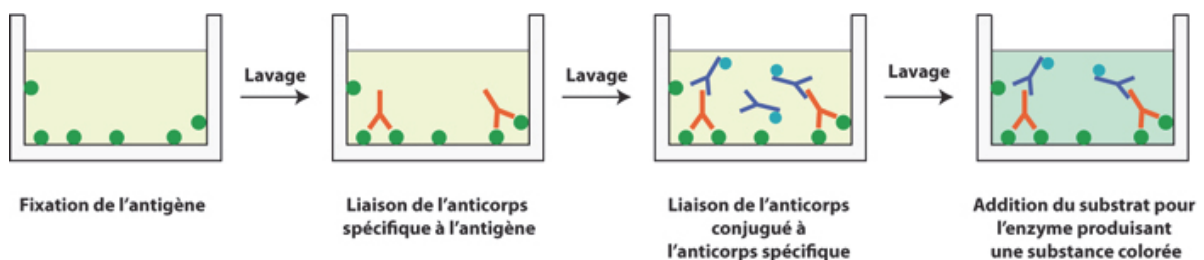


Figure 10 Principe du test ELISA indirect

Les résultats sont rendus généralement en « Unités Internationales » ou selon les recommandations du fournisseur. Les aB2GPI sont considérés comme positifs lorsque le titre est supérieur au 99<sup>ème</sup> percentile et ce, quel que soit l'isotype IgG ou IgM.

### c) *VERS DES TESTS PLUS SPECIFIQUES*

Les tests que nous venons de détailler ont donc été mis au point dès la mise en évidence d'anticorps dirigés contre la B2GPI, en vue d'obtenir une meilleure spécificité par rapport aux ELISA visant à dépister les anticardiolipines. Cependant, des anticorps non pathogéniques sont encore détectés avec cette méthode. Il a ainsi été suggéré que la fixation de la B2GPI sur les plaques en plastique des tests ELISA entraînait une conformation différente de la protéine, exposant de nouveaux épitopes. En effet, certaines études n'ont pas trouvé de lien entre les aB2GPI et les manifestations thrombotiques (38). De plus, il semblerait que des faux-positifs soient liés à des infections telles que la leishmaniose, la leptospirose, la lèpre... D'ailleurs, dans les cas de lèpre, il semblerait que les anticorps soient d'avantage dirigés contre le domaine V, ou d'isotype IgM (37).

Cette notion de conformation de la B2GPI est très importante, car il est aisé de comprendre que sa conformation tridimensionnelle puisse être largement modifiée par différentes méthodes de purification, de production ou encore de fixation à la plaque ELISA. Ce sont autant de facteurs de variabilités à l'origine des différences observées lors de la réalisation de ces tests par différents laboratoires, ou dans un même laboratoire mais avec des fournisseurs différents.

Ainsi des ELISA plus spécifiques du SAPL ont été développés, et nous pouvons citer principalement les ELISA ciblant les anti-domaine I de la B2GPI. Un gain de spécificité induit probablement une perte de sensibilité. Dans cet ELISA, l'épitope d'intérêt coaté sur la plaque est uniquement le domaine I (Figure 11).

Plus précisément au sein du domaine I, c'est un épitope tridimensionnel comprenant la séquence entre l'arginine en position 39 et l'arginine en position 43, les acides aspartiques en position 8 et 9, et l'inter région entre le domaine I et le domaine II qui serait le plus antigénique, et les anticorps ayant cette cible sont très corrélés à la clinique thrombotique ou obstétricale du SAPL (36 ; 39 ; 40). De nouveau, la notion de conformation reste primordiale.

**Table 1** Differences between the anti-domain I assay and the anti-β2GPI ELISA

	Anti-domain I assay	Anti-β2GPI ELISA
Conformation of β2GPI	Conformation independent, as only domain I is coated	Binding of antibodies to β2GPI depends on whether epitope R39–R43 is exposed
Charge of the ELISA plate	A neutral plate is needed to prevent epitope R39–R43 from being coated downward to the plate	A negative plate is needed, which is thought to induce a conformational change and enables 1 antibody to bind 2 molecules
Specificity and sensitivity	High specificity, but it is not known whether other pathogenic antibody populations are missed	High sensitivity, but a mediocre specificity, as a significant number of positive patients do not develop APS-related clinical symptoms
Source of protein	Domain I is produced and thereby recombinant	β2GPI can be purified from human or bovine plasma, or produced recombinant. It is not known whether there are differences in conformation between the different sources
Purification	Domain I contains a his-tag and is purified via nickel-Sepharose <sup>a</sup>	β2GPI can be purified by applying different techniques; the influence of the different techniques on the conformation of β2GPI is not known

APS antiphospholipid syndrome, ELISA enzyme-linked immunosorbent assay, GPI glycoprotein I

<sup>a</sup> Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)

Figure 11 ELISA anti-domaine 1 vs ELISA anti-B2GPI (14)

#### 4. Anti-cardiolipines

##### a) INTERET

Ce sont les premiers tests ELISA mis au point pour rechercher les APL, et leur intérêt est historique. Ce sont les tests les plus sensibles (Figure 12). Dans sa revue de littérature, Harris et al (42) indique que ce test est positif chez 80 à 90% des patients présentant un SAPL.

Cependant, ils manquent de spécificité et de standardisation. L'ajout de sérum de veau foetal, qui constitue une source de B2GPI, a pour but d'améliorer cette spécificité, mais peut entraîner une perte de sensibilité car certains patients peuvent présenter des anti-B2GPI<sub>humaine</sub>, et non des anti-B2GPI<sub>bovine</sub> (37). De fait, certains ELISA sont désormais réalisés avec de la B2GPI humaine.

Ainsi les anticorps détectés sont soit liés directement à la cardiolipine : ce sont les anti-cardiolipines « vrais » ou B2GPI indépendants, soit liés à la B2GPI, et sont dits anti-cardiolipines-B2GPI-dépendants. Ces derniers sont les anticorps les plus associés à la clinique du SAPL ; les aCL « vrais » pouvant être retrouvés au décours d'infections telles que la syphilis, le VIH...

Des équipes ayant travaillé sur le SAPL recommanderaient même de retirer les aCL des critères diagnostiques (41) puisqu'ils sont moins souvent associés avec la clinique du SAPL que les aB2GPI, et qu'il y a un recouvrement partiel avec les ELISA détectant les aB2GPI.

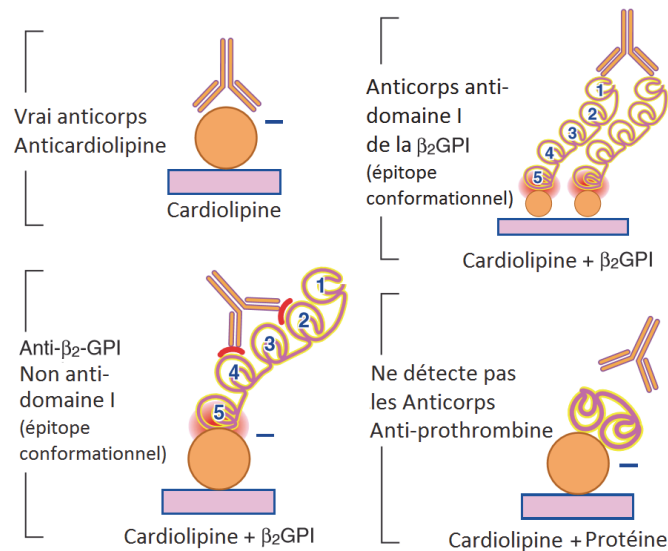


Figure 12 Différents anticorps détectés les tests ELISA-CL (37)

### b) PRINCIPE DE DOSAGE

Le principe des tests est le même que celui décrit précédemment, puisqu'il s'agit de tests ELISA indirects. L'antigène coaté au fond des plaques est la cardiolipine, et il est nécessaire d'y faire incuber du sérum de veau foetal (pour l'apport de B2GPI).

Certaines recommandations préconisent de rendre les résultats des tests en unités GPL pour les IgG, ou en MPL pour les IgM ACL. Ils seraient ainsi considérés comme positifs lorsque le taux d'APL est supérieur à 40 GPL ou 40 MPL, ou bien supérieur au 99<sup>ème</sup> percentile (6). Ces unités standardisées et internationales sont définies à l'aide de calibrateurs contenant 1 µg d'IgG ou d'IgM anti-cardiolipines purifiées et polyclonales. Malgré ces essais de standardisation, il persiste de grandes variabilités inter-laboratoires, et intra-laboratoires lorsqu'ils utilisent des techniques, des lots ou des fournisseurs différents. Ces variabilités sont plus importantes que celles observées pour les ELISA anti-B2GPI.

### 5. Anticorps non conventionnels

Il existe des tests ELISA visant à dépister la présence d'anti-Phosphatidyléthanolamine (aPE) d'isotype IgG, IgM ou IgA, des anti-prothrombines avec les mêmes isotopes, ou encore pour les anti-Annexine V, ainsi que des ELISA pour les isotopes IgA des anti-cardiolipines et des anti-béta-2-glycoprotéine I.

Il a été décrit que les aCL d'isotype IgA seraient davantage reliés à une thrombopénie, des ulcères cutanés et des lésions de vascularite (12).



D'autre part, la présence d'aPE a été rapportée dans plusieurs cas chez des patients séronégatifs pour les aPL conventionnels mais avec des thromboses récurrentes (43), ainsi que chez certaines femmes avec complications obstétricales précoces ou plus tardives (44). C'est l'isotype IgG qui serait le plus impliqué en clinique, avec un Odds Ratio à 6 pour les événements thrombotiques (43).

Ainsi, il est recommandé de rechercher ces aPL non conventionnels dans les cas de persistance de négativité des tests conventionnels chez des patients cliniquement fortement suspects de SAPL. Hughes et Khamashta (72) ont proposé l'utilisation du terme « *Seronegative Antiphospholipid Syndrome* » pour « Syndrome des Antiphospholipides séronégatif » (ou SNAPS) lorsque la clinique en est très évocatrice d'un SAPL avec une biologie négative.

## V. Traitement

### A. Les molécules disponibles

#### 1. Héparine et AVK

Le traitement de référence du SAPL dans un contexte d'événement thromboembolique veineux fait appel à l'utilisation d'anticoagulants, premièrement par voie injectable : l'héparine (HNF : Héparine Non Fractionnée ; ou HBPM : Héparine de Bas Poids Moléculaire) avec un relais par des anticoagulants oraux : les anti-vitamines K (AVK). Le traitement oral est généralement sur du long terme, mais il est contre-indiqué chez les femmes enceintes, chez qui il est préférable d'utiliser des HBPM.

L'inconvénient majeur des AVK est une variabilité interindividuelle importante et des interactions notamment alimentaires, ce qui implique un monitoring lourd (par détermination de l'INR, International Normalized Ratio), avec des répercussions parfois importantes sur la qualité de vie des patients. De ce fait, les surdosages sont fréquents, exposant aux risques hémorragiques, de même que les sous-dosages, exposant à un risque thrombotique.

#### 2. Les anticoagulants oraux directs (AOD)

A la suite du 14<sup>ème</sup> congrès international sur les anticorps aPL qui a eu lieu en 2013, un groupe de travail a été constitué afin de discuter des différents nouveaux traitements pouvant être envisagés dans le SAPL, et principalement du cas des anticoagulants oraux directs (45).

Les différents AOD disponibles sur le marché sont :

- le rivaroxaban (XARELTO®) : inhibiteur direct du facteur Xa de la coagulation,
- l'apixaban (ELIQUIS®) : inhibiteur direct du facteur Xa de la coagulation,
- le dabigatran (PRADAXA®) : inhibiteur direct du facteur IIa de la coagulation.

Nous pourrions bientôt ajouter à cette liste l'edoxaban (LIXIANA®) : inhibiteur direct du facteur Xa de la coagulation.

Ces molécules ont pour intérêt principal de présenter moins de variations interindividuelles que les AVK, la posologie est donc fixe en fonction de l'indication, et le suivi en routine n'est plus indiqué. Un ajustement de posologie est tout de même nécessaire en cas d'insuffisance rénale et/ou hépatique. Un dosage spécifique de la molécule est possible uniquement en situation d'événement hémorragique ou de chirurgie urgente (voir infra), il est alors réalisé dans des laboratoires spécialisés. Le principe consiste à doser l'activité anti-Xa ou anti-IIa (en fonction de la molécule) en se référant à une courbe de calibration spécifique de cette molécule. Sa réalisation se limite aux cas de suspicion de surdosage, aux urgences accidentelles ou chirurgicales, ou en cas d'apparition ou d'aggravation d'une insuffisance rénale. D'autres intérêts majeurs des AOD sont la diminution de survenue d'effets indésirables de type hémorragie intracrânienne, l'absence d'interaction alimentaire, la diminution des interactions médicamenteuses. En revanche, un seul antidote est disponible sur le marché, l'idarucizumab (PRAXBIND®) qui neutralise spécifiquement l'effet du dabigatran (67).

L'utilisation des AOD dans le SAPL ne fait pas l'objet d'AMM car trop peu de données sont disponibles. Des patients atteints de SAPL étaient inclus dans les études de phase III mais les statuts et les profils de ces patients n'étaient pas suffisamment documentés, ainsi plus de preuves étaient nécessaires. Une étude récente, publiée en septembre 2016, concernait l'utilisation du Rivaroxaban versus la warfarine (AVK) pour traiter des patients avec un SAPL thrombotique avec ou sans LED (étude RAPS) (46). 116 patients ont été inclus, tous traités initialement par la warfarine, puis 57 ont switché pour le rivaroxaban, alors que les 59 autres ont continué leur traitement initial. L'objectif était de démontrer la non-infériorité du rivaroxaban versus la warfarine, ainsi que sa tolérance. Pour comparer l'efficacité des traitements anticoagulants, des tests de génération de thrombine (test global permettant d'observer l'effet anticoagulant) ont été réalisés à 42 jours de la randomisation. En ne se

basant que sur le potentiel de thrombine endogène (ETP) le rivaroxaban était inférieur à la warfarine, mais en analysant dans leur globalité les thrombogrammes, il n'y avait pas de majoration du risque thrombotique, de plus, aucun évènement thrombotique n'a été déclaré pendant les 6 mois de traitement. De même, aucun saignement majeur n'a été observé pour la totalité des patients, et la survenue de saignements mineurs était comparable dans les deux bras. Ainsi, le rivaroxaban peut se présenter comme une alternative efficace et sûre face aux AVK chez les patients SAPL, notamment chez des patients présentant une hypersensibilité aux AVK (45, 46). Cependant, de nouvelles études sont nécessaires pour appuyer cette hypothèse, et les résultats de l'étude de Pengo et al. (53) qui compare l'utilisation du rivaroxaban versus la warfarin pour le traitement de SAPL thrombotiques chez des patients à haut risque (triple positifs) dans l'essai TRAPS sont attendus.

NB : il est important de considérer que l'administration d'AOD peut positiver les tests de coagulation lors de la recherche d'ACC (dRVVT et PTTLa et TCA). Ainsi, un bilan de thrombophilie avec recherche d'ACC devra être réalisé à l'arrêt du traitement, ou lors de réalisation d'une fenêtre thérapeutique.

### 3. Les alternatives

#### a) *LES AUTRES ANTICOAGULANTS*

L'utilisation de fondaparinux (ARIXTRA®), danaparotide (ORGARAN®), qui sont des anticoagulants injectables inhibant directement l'activité du facteur Xa de la coagulation, ainsi que l'argatroban (ARGANOVA®), qui est un inhibiteur direct de la thrombine activée (facteur IIa) administrable en injectable, est indiquée chez les patients SAPL en cas de thrombopénie induite par l'héparine (TIH) (45).

#### b) *HYDROXYCHLOROQUINE*

Cette molécule commercialisée en France sous la spécialité PLAQUENIL® est utilisée en rhumatologie, particulièrement chez les patients polyarthritiques et lupiques, pour ses effets anti-inflammatoires et antalgiques, avec, de façon généralement retardée, une amélioration sur les douleurs articulaires. Ses effets indésirables sont principalement oculaires, nécessitant un suivi ophtalmologique.

Certains auteurs rapportent même des effets bénéfiques chez des patients lupiques avec SAPL, avec diminution du risque thrombotique artériel et veineux (47 - 51). Une étude

(52) a comparé la survenue d'évènements thrombotiques dans deux groupes de patients atteints de SAPL primaire : le premier bras comprend des patients traités uniquement par AVK (n=20), l'autre des patients traités par AVK + hydroxychloroquine (n=20). Malgré un INR dans la cible, 6 évènements (soit pour 30% des patients) ont été déclarés dans le premier groupe, alors qu'aucune thrombose n'a été observée dans le bras des patients traités par AVK et hydroxychloroquine. Malheureusement, les effectifs réduits, une durée de suivi trop courte et des limites dans la méthodologie ne permettent pas de tirer de conclusion significative.

Cependant, le groupe de travail (45) recommande l'utilisation de l'hydroxychloroquine chez tous les patients lupiques avec aPL, de plus elle pourrait être une aide dans les cas de SAPL réfractaires. Son utilisation dans le SAPL primaire nécessite quant à elle de nouvelles études avant d'être admise.

#### c) LES STATINES

Les statines constituent une famille de médicaments hypocholestérolémiants, utilisées, entre autre, en prophylaxie primaire ou secondaire d'évènements artériels (principalement coronaires) chez des patients hypertendus avec plusieurs facteurs de risque cardiovasculaires.

Elles ont d'autres propriétés bénéfiques reconnues, comme une action anti-inflammatoire, anti-thrombotique et immunomodulatrice. Cependant le groupe de travail ne recommande pas l'utilisation des statines chez les patients SAPL sans dyslipidémie, du fait d'un manque de données (45).

#### d) RITUXIMAB

L'utilisation de cet anticorps monoclonal chimérique ayant pour cible la molécule CD20 (donc les lymphocytes B) dans le SAPL a fait l'objet de publications de plusieurs *case-reports* et principalement d'une étude : RITAPS, en 2013 (54).

Le groupe de travail (45) rapporte que l'utilisation du rituximab n'a jamais permis de négativer les aPL chez des patients avec une positivité persistance associée à la clinique du SAPL. Néanmoins, son utilisation peut avoir un intérêt dans les SAPL réfractaires et notamment dans le SCAPL, ainsi que dans les SAPL avec atteintes hématologiques (thrombopénie profonde par exemple) ou avec microangiopathies.

Concernant l'utilisation du belimumab (BENLYSTA®), un anticorps monoclonal humain utilisé chez des patients adultes atteints de LED actif malgré un traitement habituel, et en association avec le traitement habituel (55, 56), chez des patient SAPL n'a pas encore été spécifiquement étudiée. Stohl et al. (57) rapporte une diminution significative du taux d'IgA aCL lors de l'utilisation de belimumab à 10 mg/kg lorsqu'il analyse les résultats des études BLISS-52 (55) et BLISS-76 (56).

#### *e) INHIBITEUR DU COMPLEMENT*

Quelques auteurs rapportent l'utilisation de l'eculizumab (SOLIRIS®) dans des cas de SAPL particulièrement réfractaires, dont certains ayant conduit à un succès (58, 59). Il serait particulièrement intéressant d'utiliser cet inhibiteur de la fraction C5 du complément chez des patients SAPL nécessitant une greffe rénale (60). Plus de données sont nécessaires pour justifier la recommandation de cette molécule (45).

#### *f) THERAPIE PAR LE PEPTIDE*

Une des pistes de recherche de nouveaux traitements spécifiques du SAPL est basée sur l'utilisation de fragments de B2GPI pour neutraliser les aPL ciblant cette molécule. Malheureusement les essais n'en sont qu'aux phases précoces, avec des études réalisées sur des modèles animaux. Deux peptides ont été proposés : le premier ciblant le domaine I (qui comprend l'épitope de la B2GPI qui lie les principaux aPL pathogéniques), le second ciblant le domaine V (domaine liant la b2GPI aux PL) (45).

#### *g) VITAMINE D*

La vitamine D ayant de nombreux effets immunomodulateurs, il est recommandé de traiter tout déficit chez les patients SAPL, de même que dans la population générale (45).

### **B. Prévention primaire**

La découverte d'aPL chez un(e) patient(e) n'ayant jamais présenté de thrombose artérielle ou veineuse, ni d'évènement obstétrical est donc fortuite et n'implique que très rarement la mise en place d'un traitement. En revanche, une prise en charge des facteurs de risque cardiovasculaires (FdR CV) est fortement recommandée (tabac, HyperTension Artérielle, obésité, prise de contraceptif œstroprogestatif, dyslipidémie, etc...).

Il est généralement proposé une prophylaxie par antiagrégant plaquettaire (aspirine à faible dose) chez des patients lupiques porteurs d'aPL. Tarr et al. ont montré que des

évènements thrombotiques survenaient chez 1,9% des patients lupiques recevant une prophylaxie primaire par aspirine, versus 6,9% chez ceux n'en recevant pas (63). Et dans une revue de la littérature, Saadoun et al. recommandent d'y associer l'hydroxychloroquine (62), dont nous avons déjà discuté des avantages dans ce contexte.

De même, en cas de présence de FdR CV ou de profil à haut risque (Figure 13) il est alors recommandé de prévenir la survenue d'évènements thromboemboliques par de l'aspirine à faible dose (62).

**Tableau 1**

Profil d'anticorps antiphospholipides à haut et à faible risques.

---

<i>Risque élevé</i>
Présence d'un anticoagulant circulant (ACC)
Association de plusieurs aPL (ACC + aCL + anti-β2-GP1)
Titres persistants d'aPL à un taux moyen ou élevé (étudié seulement au cours du LES)
<i>Faible risque</i>
Titres intermittents et isolés d'aCL ou d'anti-β2-GP1 à un taux faible ou moyen

---

aPL : anticorps antiphospholipides ; ACC : anticoagulant circulant ; aCL : anticorps anticardiolipine ; anti-β2-GP1 : anticorps anti-β2 glycoprotéine 1 ; LES : lupus érythémateux systémique.

*Figure 13 Profils d'aPL à haut et faible risques (62)*

Chez les femmes avec aPL, il est recommandé d'utiliser de l'HBPM en prophylaxie primaire au cours de la grossesse et en post-partum, à dose préventive (62).

Enfin, aucun traitement n'est généralement proposé aux patients asymptomatiques sans autre FdR CV (Figure 14) sauf en cas de situation à risque élevé (immobilisation, chirurgie, vols long courrier) où l'on peut proposer des injections sous-cutanées d'HBPM à dose préventive (62).

**Tableau 2**

Recommandations pour la prévention et la prise en charge à long terme des thromboses chez les patients ayant des anticorps antiphospholipides<sup>a</sup>.

Recommandations (niveau des recommandations)
<i>Recommandations générales pour les patients ayant des aPL</i>
Un contrôle strict des facteurs de risque cardiovasculaires devrait être obtenu chez tous les patients avec un profil d'aPL à haut risque (non coté)
Les auteurs recommandent que tous les patients ayant des aPL aient une thromboprophylaxie par HBPM préventive en cas de chirurgie, immobilisation prolongée et de post-partum (1C)
<i>Prévention primaire des thromboses chez les patients lupiques ayant des aPL</i>
Les patients lupiques devraient avoir des recherches régulières d'aPL (non coté)
Les auteurs recommandent que les patients ayant un lupus et soit un ACC, soit des aCL persistants à un taux moyen ou élevé, aient une thromboprophylaxie par hydroxychloroquine (1B) et aspirine à dose antiagrégante (2B) <sup>b</sup>
<i>Prévention primaire des thromboses chez les patients ayant des aPL sans lupus associé</i>
Les auteurs suggèrent que les patients ayant un profil d'aPL à haut risque (et plus particulièrement ceux ayant d'autres facteurs de risque de thrombose) aient une thromboprophylaxie par aspirine à dose antiagrégante (2C)

aPL : anticorps antiphospholipides ; aCL : anticorps anticardiolipine ; HBPM : héparine de bas poids moléculaire ; AVK : antivitamine K ; SAPL : syndrome des antiphospholipides.

<sup>a</sup> Ces recommandations sont basées sur les conclusions d'un groupe de travail (13<sup>e</sup> Congrès international sur les anticorps antiphospholipides) [3]. Elles n'évoquent pas spécifiquement le cas des thromboses veineuses superficielles ou des thromboses exclusivement localisées à la microcirculation (livedo, microangiopathie thrombotique rénale isolée). La force des recommandations était cotée 1 (élevée, correspondant à « nous recommandons ») ou 2 (faible, correspondant à « nous suggérons »). Le niveau de preuve était coté de A (élevé) à C (faible), voire non coté quand les recommandations ne reposaient que sur l'expérience des auteurs.

<sup>b</sup> Certains experts du groupe proposaient un niveau 2B pour l'utilisation de l'hydroxychloroquine.

<sup>c</sup> Certains des experts proposaient l'aspirine à dose antiagrégante seule ou les AVK seuls avec un objectif d'INR entre 2 et 3.

Figure 14 Recommandations de prophylaxie primaire chez des patients avec aPL (62)

### C. Prévention secondaire

Il faut distinguer le traitement en cas de premier évènement thromboembolique, qui se réfère généralement aux recommandations de cette pathologie, avec un traitement de prophylaxie secondaire dont le but est d'éviter les récives. En effet, comme le montre l'étude de Pengo et al., les récives chez des patients à haut risque (triples positifs) sont importantes : 44.2% à 10 ans (figure 15).

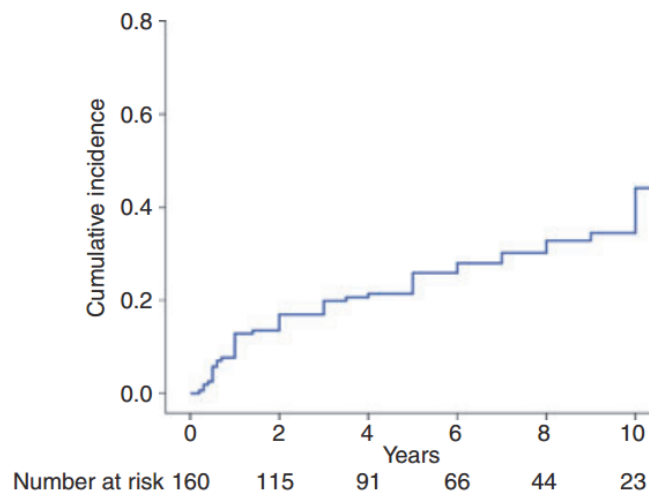


Figure 15 Incidence cumulée d'évènements thromboemboliques chez des patients à haut risque (61)

Il semblerait que ces récurrences soient indépendantes de la clinique au diagnostic (figure 16), cependant il peut être intéressant de noter que dans cette étude, les 4 patients ayant présenté initialement un SCAPL ont récidivé durant la période de suivi : 2 en veineux, 2 en artériel.

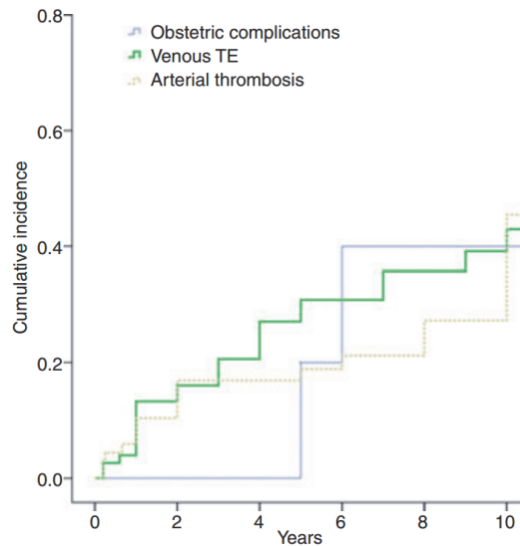


Figure 16 Incidence cumulée d'évènement thromboembolique chez des patients triple positifs en fonction de la clinique au diagnostic (61)

Toujours dans cette même étude, Pengo et al. montre que les récurrences sont plus fréquentes en absence de prophylaxie secondaire (p=0.002) (figure 17) et que le statut de l'anticoagulation orale était le seul facteur prédictif d'évènement thromboembolique.

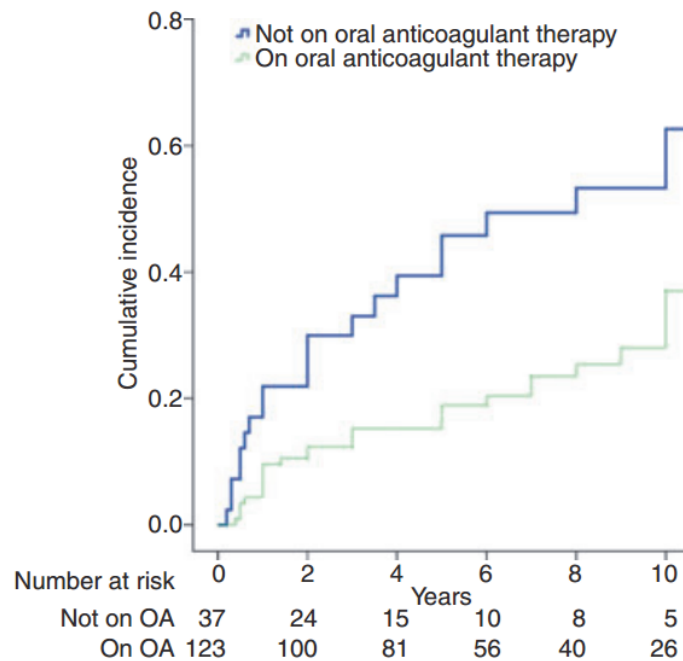


Figure 17 Incidence cumulée des récurrences en présence et en absence de prophylaxie secondaire par AVK (61)



Le seul traitement au long cours qu'il est recommandé d'utiliser par voie orale est le recours aux AVK. Nous avons vu que l'utilisation des AOD ne faisait pas encore partie des recommandations. Il a été montré qu'en prophylaxie secondaire des ETEV, la cible de l'INR devait se situer entre 2 et 3, car ceci entraînait moins de risque hémorragique et autant d'efficacité qu'un INR cible entre 3 et 4. En revanche, en cas de récurrences multiples malgré un traitement bien conduit (INR dans les cibles), il peut alors être décidé d'augmenter la cible de l'INR pour se situer entre 3 et 4.

En cas d'évènements thrombotiques artériels, il est recommandé d'associer la prise d'aspirine à faible dose, ou d'augmenter la cible de l'INR entre 3 et 4. Chez des patients à faible risque de récurrence (non lupique, avec un facteur déclenchant transitoire, un profil biologique à faible risque) et ayant présenté en premier évènement un AVC (sans embolie d'origine cardiaque) peuvent recevoir uniquement de l'aspirine à dose anti-agrégante (62).

**Tableau 2**

Recommandations pour la prévention et la prise en charge à long terme des thromboses chez les patients ayant des anticorps antiphospholipides<sup>a</sup>.

Recommandations (niveau des recommandations)
<i>Prophylaxie secondaire des thromboses</i>
Les auteurs recommandent que les patients ayant une thrombose veineuse ou artérielle et des aPL ne remplissant pas les critères de classification pour le SAPL (donc ayant des titres faibles ou des aPL non persistants), soient pris en charge de la même façon que s'ils n'avaient pas d'aPL (1C)
Les auteurs recommandent que les patients ayant un SAPL défini et un premier épisode de thrombose veineuse reçoivent des AVK avec un objectif d'INR entre 2 et 3 (1B)
Les patients ayant un SAPL défini et une thrombose artérielle devraient être traités par AVK avec un objectif d'INR supérieur à 3 ou par aspirine à dose antiagréante et AVK avec un objectif d'INR entre 2 et 3 <sup>c</sup> (non coté du fait d'un manque de consensus)
Une estimation du risque hémorragique devrait être faite avant de prescrire des AVK avec un objectif d'INR supérieur à 3 ou une combinaison d'aspirine et d'AVK (non coté)
Les patients non lupiques, ayant un premier épisode d'AVC (embols d'origine cardiaque exclus) avec un profil d'aPL à faible risque et ayant un facteur déclenchant réversible, pourraient être traités par aspirine à dose antiagréante (non coté)
<i>Durée du traitement</i>
Les auteurs recommandent que les patients ayant un SAPL défini avec thrombose soient traités de façon indéfinie par anticoagulants (1C)
En cas de premier épisode de thrombose veineuse avec un profil d'aPL à faible risque et avec un facteur déclenchant identifié et transitoire, l'anticoagulation pourrait être limitée à 3 à 6 mois (non coté)
<i>Cas difficiles ou résistants</i>
Pour les patients dont la prise en charge est difficile du fait de thromboses récurrentes, de fluctuations de l'INR, de saignement majeur ou de risque important de saignements graves, les alternatives thérapeutiques pourraient comporter les traitements par HBPM au long cours, l'hydroxychloroquine ou les statines (non coté)

aPL : anticorps antiphospholipides ; aCL : anticorps anticardiolipine ; HBPM : héparine de bas poids moléculaire ; AVK : antivitamine K ; SAPL : syndrome des antiphospholipides.

<sup>a</sup> Ces recommandations sont basées sur les conclusions d'un groupe de travail (13<sup>e</sup> Congrès international sur les anticorps antiphospholipides) [3]. Elles n'évoquent pas spécifiquement le cas des thromboses veineuses superficielles ou des thromboses exclusivement localisées à la microcirculation (livedo, microangiopathie thrombotique rénale isolée). La force des recommandations était cotée 1 (élevée, correspondant à « nous recommandons ») ou 2 (faible, correspondant à « nous suggérons »). Le niveau de preuve était coté de A (élevé) à C (faible), voire non coté quand les recommandations ne reposaient que sur l'expérience des auteurs.

<sup>b</sup> Certains experts du groupe proposaient un niveau 2B pour l'utilisation de l'hydroxychloroquine.

<sup>c</sup> Certains des experts proposaient l'aspirine à dose antiagréante seule ou les AVK seuls avec un objectif d'INR entre 2 et 3.

Figure 18 Recommandations de prophylaxie secondaire dans le cadre du SAPL (62)

## VI. Problématique

Quelques points clés du SAPL ont été abordés dans cette présentation. Il est important de souligner la forte prévalence de la clinique non spécifique du SAPL dans la population générale, qui met le diagnostic biologique au premier plan. Malheureusement, les tests disponibles aujourd'hui manquent de spécificité et de standardisation.

Par ailleurs, il est loin d'être anodin de traiter au long cours par des anticoagulants oraux. Il est recommandé actuellement de faire appel aux AVK en prophylaxie secondaire d'ETEVE dans le SAPL. Pourtant, cette classe de médicament se place au premier rang des médicaments responsables d'effets iatrogènes graves (37% en 2004 et 31% en 2009), avec comme conséquence des hospitalisations importantes, et mise en péril du pronostic vital. Ce sont les hémorragies gastro-intestinales et intracrâniennes qui constituent les principaux effets indésirables de ces médicaments.

Ainsi, il est pertinent ou majeur de définir des facteurs de risque de survenue d'évènements cliniques chez les patients porteurs d'aPL. La caractérisation de ces facteurs de risque permettrait de mieux cibler la prise en charge thérapeutique des patients.

En effet, de nombreux travaux ont eu pour objectif de stratifier le risque clinique en tenant compte des éléments cliniques et biologiques des patients, afin d'adapter au mieux leur prise en charge.

Une des premières études, et des plus importantes, est celle publiée en 2005 par Pengo et al (64). Il montrait que la triple positivité des patients est un facteur de risque très important de présenter des évènements thrombotiques. La « triple positivité » est définie par la positivité des trois tests biologiques parmi ceux retenus dans les critères actualisés de Sydney (6) : lupus anticoagulant, aCL d'isotype IgG ou IgM et aB2GPI d'isotype IgG ou IgM. Cette triple positivité aurait un Odds Ratio de 33.3 (95% CI ; 7.0-157.6), lors de cette étude réalisée sur 618 patients, pendant une période de 6 ans. Par ailleurs, le profil des patients doubles positifs avec lupus anticoagulant négatif serait plus en faveur d'une clinique obstétricale. Enfin, les aCL seuls n'étaient pas corrélés avec une clinique du SAPL, dans cette étude. D'autre part, le sexe masculin, un âge supérieur à 45 ans, et la présence de cofacteurs de risque cardiovasculaires artériels ou veineux étaient d'autres facteurs de risque thrombotiques.

Il est intéressant de noter que chez les triples positifs le taux d'IgG aB2GPI serait significativement plus élevé que chez les patients doubles positifs (avec ACC négatif) ; alors que ceci n'est pas démontré pour les IgM aB2GPI (figure 19).

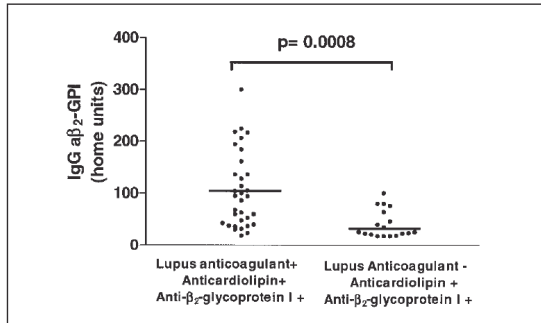


Figure 1: Positive anti-β2-glycoprotein I IgG antibody values.

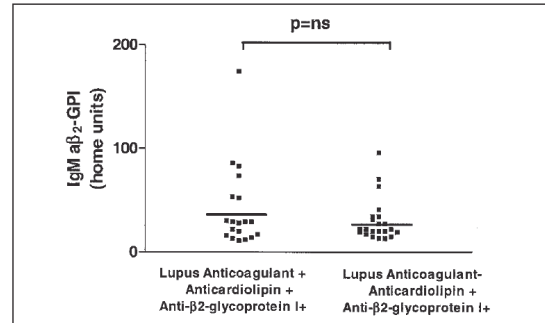


Figure 2: Positive IgM anti-β2-glycoprotein I antibody value.

Figure 19 Comparaison des taux d'IgG et d'IgM aB2GPI chez les triples positifs vs doubles positifs (LA négatifs) (64)

Cette étude de Pengo et al. (citée 185 fois) a ouvert le chemin à bon nombre d'auteurs. Il n'est pas impensable de considérer que ces résultats puissent être liés au fait que tous les patients recrutés étaient des consultants du centre de thrombose, mais ils ont été largement redémontrés par la suite, notamment dans une étude publiée en 2013 (65). Dans cette étude, la prévalence d'évènements cliniques faisant partie des critères diagnostiques du SAPL est de 90% pour les triples positifs, 86% pour les double positifs et seulement 19% pour les simples positifs. Il y démontre par ailleurs que la persistance des aPL est quasi constante dans ce groupe de patients. En effet, celle-ci atteint les 98% pour les triples positifs, alors qu'elle n'est présente que dans 40% des cas de simple positifs.

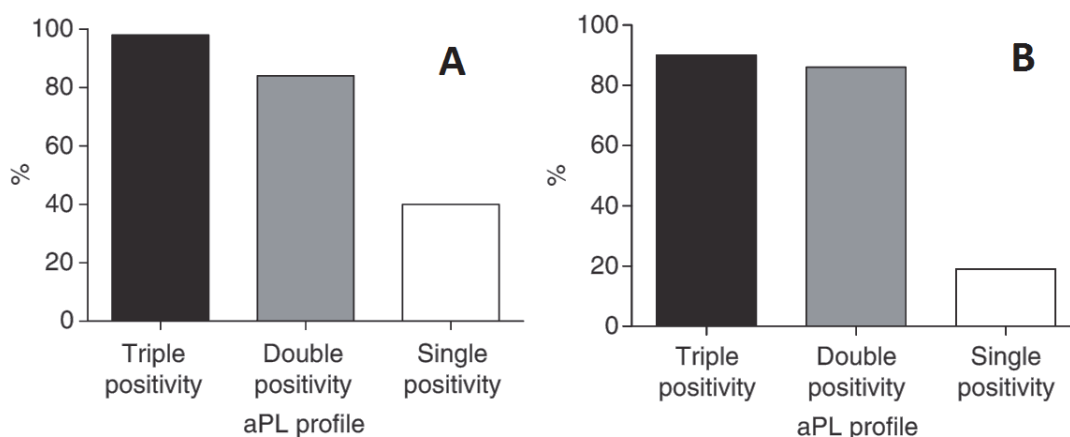


Figure 20 A : persistance des aPL en fonction des profils biologiques ; B : Taux de présence de critères cliniques diagnostiques du SAPL en fonction des profils biologiques (65).

Nous avons déjà évoqué les récurrences d'évènements thromboemboliques chez les patients SAPL triples positifs, qui atteignent 44,2% à 10 ans (Figure 15) ; preuve du caractère « haut risque clinique » de ces patients (61).

Une autre étude très intéressante, multicentrique, réalisée en prospectif et publiée en 2011, toujours par Pengo et al. (66) concernait la prévalence de survenue d'un premier évènement thromboembolique chez des patients triples positifs en aPL, mais donc sans antécédents cliniques (non étiquetés SAPL). Elle atteindrait les 37.1% (95% CI, 19.9%-54.3%) à 10 ans (Figure 21) dans cette étude.

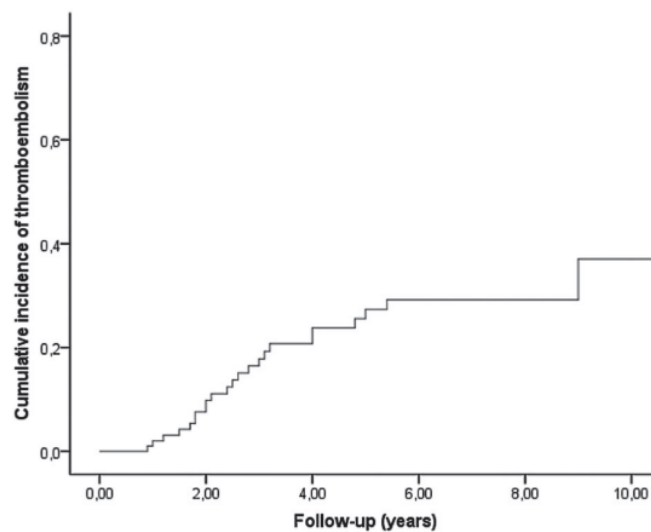


Figure 1. Cumulative incidence of TEs in the follow-up period of 104 carriers of triple positivity for aPL antibody tests.

*Figure 21 Incidence cumulée de survenue d'un 1<sup>er</sup> évènement thromboembolique chez des patients triples positifs sains (66)*

Par ailleurs, des scores ont été développés afin d'estimer le risque de survenue d'évènements thrombotiques et/ou obstétricaux (68-70). Le dernier à avoir été proposé est le Global Anti-Phospholipid Syndrome Score (GAPSS) (70). Il a été développé et validé chez des patients lupiques, en considérant leur profil biologique d'aPL (marqueurs conventionnels et non conventionnels), et l'un des avantages de ce score est qu'il prenait en compte leurs FdR CV (HTA, diabète, tabac, dyslipidémie) ainsi que des marqueurs d'auto-immunité tels que les anticorps antinucléaires, les anticorps anti-antigènes solubles, les anti-DNA. Le GAPSS est calculé à partir de 6 paramètres clinico-biologiques (Figure 22). Un seuil à 10 semble le plus significatif, et il a été montré que les valeurs les plus élevées étaient corrélées avec la clinique du SAPL. De même, des valeurs plus élevées étaient aussi corrélées avec une multiple positivité des aPL. Ce score a aussi été évalué chez des patients avec SAPL primaire (71), où il

a été montré que des patients avec antécédents de thromboses avaient des scores plus hauts que des patientes avec antécédents obstétricaux uniquement ; et que des patients avec récurrences d'évènements thrombotiques avaient eux aussi, des score plus élevés.

**TABLE 3** Multivariate logistic regression analysis for the development cohort and scoring system

	$\beta$ -coefficient	GAPSS <sup>a</sup>
Hyperlipidaemia	1.73	3
Arterial hypertension	0.54	1
aCL IgG/IgM	2.63	5
Anti- $\beta$ 2GPI IgG/IgM	2.02	4
aPS/PT IgG/IgM	1.78	3
LA	2.35	4

<sup>a</sup>Assignment of points to risk factors was based on a linear transformation of the corresponding  $\beta$ -regression coefficient by using the formula  $GAPSS = [\beta_x / \beta_{min}]$ , where  $\beta_x$  is the  $\beta$ -regression coefficient for the variable  $x$  and  $\beta_{min}$  is the lowest  $\beta$ -value among the significant variables in the whole population after multivariate analysis. For example, in this cohort, the GAPSS for hyperlipidaemia is 3, as  $GAPSS = [\beta_{hyperlipidaemia} / \beta_{arterial hypertension}] = [1.73 / 0.54] = 3.20 = 3$ , when rounded to the nearest integer.

Figure 22 Le Global Antiphospholipid Syndrome Score (70)

Il nous a ainsi semblé intéressant de combiner les résultats de deux laboratoires de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille : le laboratoire d'immunologie de l'Hôpital de la Conception, et le laboratoire d'Hématologie spécialisé en Hémostase de l'Hôpital de la Timone, afin d'analyser la répartition des profils biologiques des patients triples positifs.

## Partie II – Travail personnel

### Asymptomatic carriers presenting a high-risk antiphospholipid antibody profile.

#### I. Introduction

Antiphospholipid antibodies (aPLs) constitute a heterogeneous group of auto-antibodies associated with thrombosis related events, and define the anti-phospholipid syndrome (APS) (22). APS is an autoimmune disease characterized by venous or arterial thrombosis and/or obstetric complications. Clinical criteria associated with the persistent positivity of at least one aPL, such as Lupus Anticoagulant (LA) or antibodies directed against Cardiolipin (aCL) or  $\beta$ 2-Glycoprotein I (a $\beta$ 2GPI) of IgG or IgM isotype, is necessary for APS diagnosis (6). Functional tests, based on clotting time are used for the detection of LA, described as the most correlated marker to clinical manifestations (30). APS mainly affecting young people, is a severe disease, which requires long-term anticoagulant therapy, and despite this, thrombotic recurrences are frequent.

aPLs are not only used for APS diagnosis, they also have an important role in the pathophysiology of the disease. A two hit hypothesis has been suggested to explain why thrombotic events occur only occasionally in spite of the persistent presence of autoantibodies (22). aPL (first hit) increase the thrombotic risk and clot takes place in the presence of another thrombophilic condition, such as infectious or inflammatory diseases (second hit) (22).

It is now widely recognized that multiple positivity of aPL is more frequently associated with thrombotic or obstetrical events than single one (38, 41). Pengo et al demonstrated that among multiple positivity, triple positivity which is defined as the association of LA, aCL and a $\beta$ 2GPI, irrespective of their isotype, represents the aPL profile associated with the highest risk of thromboembolic events occurrence and severe pregnancy morbidity (64).

However, triple positivity is also described in asymptomatic “carriers” raising the dilemma of whether to initiate or not a primary thromboprophylaxis. To better stratify the thrombotic risk, an appropriate interpretation of aPL positivity has been challenging. To this end, we performed a retrospective study on 7111 samples to select triple positive patients presenting or not thrombotic related events. Among them a comparison was made between

“clinical” and “carrier” patients leading us to propose a score to stratify the thrombotic risk. This score was then tested in a follow up study performed on triple positive “carriers”.

## II. Material and methods

### 1. Patients and study design

In this retrospective study, we analysed over a 2-year period, consecutive venous blood samples, for LA, IgG/IgM aCL and IgG/IgM a $\beta$ 2GPI antibodies routine detection. Samples were sent to immunology and hemostasis hospital laboratories. Reasons for testing were mainly an autoimmune disorder, recent venous or arterial thrombosis, previous pregnancy morbidity, pregnancy monitoring, and exploration of prolonged partial thromboplastin time.

7111 samples were tested, corresponding with 6500 patients. Subjects were grouped according to their laboratory profile. We considered LA positive if at least one of the two tests performed was positive (PTT-LA and dRVVT), aCL or a $\beta$ 2GPI positive if IgG or IgM isotype test detection was positive. We obtained 528 patients with a single test positive (208 LA positive, 157 aCL positive and 163 a $\beta$ 2GPI positive), 116 patients double positive (33 LA & a $\beta$ 2GPI positive, 38 LA & aCL positive, and 45 aCL and a $\beta$ 2GPI positive) and 93 triple positive patients (Fig. 1).

Exclusion criteria were an age younger than 18 years old, or older than 80 years old; and evidence of no aPL persistence explained by an infection.

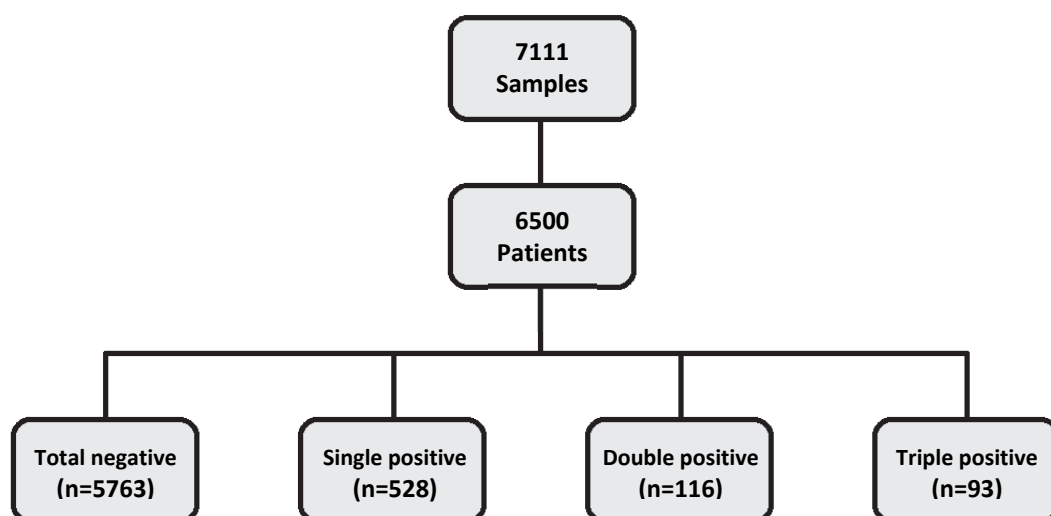


Fig. 1 Patients selection

## 2. Data collection

The following clinical data were retrospectively systematically collected : (i) history of venous or arterial thromboembolism (such as deep vein thrombosis, pulmonary embolism, stroke, transient ischemic attack, myocardial infarction); (ii) history of obstetrical complications; (iii) clinical manifestations not included in revised criteria (6); (iv) arterial risk factors (smoking habit, hypercholesterolemia, high blood pressure, diabetes, obesity, family history), (v) venous risk factors (combined oral contraceptive, pregnancy, neoplasia, thrombophilia, family history).

*NB: Concerning « family history » we were looking for: history of venous thromboembolism (VTE) in first-degree relative (parent or sibling); or history of myocardial infarction or sudden cardiac death in a first-degree relative men younger than 55 years old or in a first-degree relative women younger than 65 years old; or history of stroke in a first degree relative (parent or sibling) before 45 years old.*

Furthermore, we systematically collected those biological data : (i) persistence of aPL; (ii) persistence of triple positivity; (iii) presence (or absence) of antinuclear antibodies; (iv) presence (or absence) of anti-DNA; (v) ABO blood group status, considering only “O blood groups” versus “non-O blood groups”, since it is well established that O blood group status is a risk factor for thrombosis (75), (vi) platelets, (vii) hemoglobin, with Mean Corpuscular Volume (MCV) and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC), (viii) white blood cells and neutrophils, (ix) bilirubin, LDH and haptoglobin, to evaluate a potential hemolysis.

## 3. Laboratory tests

Lupus anticoagulant (LAC) was determined as recommended by International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) using two clotting times: Partial Thromboplastin Time-Lupus Anticoagulant (PTT-LA) by STAGO® and diluted Russel Viper Venom Time (dRVVT) by STAGO®. We calculated the Rosner Index (RI) and we considered positive when RI > 15. Results of dRVVT were expressed with a Normalized Ratio (NR) (positive value, > 1.2).

IgG and IgM a $\beta$ 2GPI were measured with two specific ORGENTEC diagnostika® kits ELISA using purified B2GPI directly bound to the microwells. The same cut off was set at 8 UI/mL (76). The assays were performed following the manufacturer’s instructions.



aCL was determined with two home-made ELISA as previously described (77). The aCL positivity is concluded if test results are higher than 22 UI/mL for IgG and 10 UI/mL for IgM (calculated using the 99<sup>th</sup> percentile of the geometric mean for 100 blood donors).

#### 4. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using R software. Continuous variables were compared by Student's t test and categorical data by the  $\chi^2$  test or Fisher test. Estimation of odds ratio for each variable was calculated using univariate logistic regression. Variables with p-values < 0.20 were considered as candidates for the multivariate analysis. For multivariate analysis, we considered two or most cardiovascular risk factors (including high blood pressure, diabetes, obesity, dyslipidemia, smoking habit, combined oestrogenic contraceptive and age older than 45 years old). All tests were two-sided. p<0.05 was retained for significance.

### III. Results

Over a 2-year period, we selected 93 patients presenting a triple positivity, defined as the association of LA, IgG and/or IgM aCL, and IgG and/or IgM a $\beta$ 2GPI. Among them, 5 patients were excluded according to criteria as defined in material and methods. As shown in Table 1, we constituted two groups of patients based on their clinical history.

The first one called "clinical group" is composed by 51 patients (58%) with history of recurrent superficial thrombosis (n=2) and thromboembolic events or obstetrical complications as defined by revised criteria of APS (n=49) (6). In the second group of 37 subjects (42%), named "carriers group", patients have never had such events. Some patients presented clinical features such as chorea, APS nephropathy, rheumatic mitral valve disease, migraine headache, or less than 2 early miscarriages.

A comparison between the two groups was performed according to their demographic and clinical data, but also to their cardiovascular risk factors including high blood pressure, diabetes, obesity, dyslipidemia, smoking habit, combined oestrogenic contraceptive and age older than 45 years old.

	Carriers patients (No(%))	Clinical patients (No(%))	p-value (Odds Ratio; Confidence Interval)
<b>Clinical history</b>			
No	37 (100%)	0 (0%)	< 0.0001
Yes	0 (0%)	51 (100%)	
<b>Age</b>	48.14y ± 15.98	46.06 ± 14.33	0,5233 (OR 0.99; IC 0.96-1.02)
<b>Weight</b>	69.59 ± 17.21	72.15 ± 20.87	0,5651 (OR 1.01; IC 0.98-1.03)
<b>BMI</b>	26.08 ± 6.49	25.88 ± 6.78	0,9054 (OR 1.00; IC 0.92-1.07)
<b>Gender</b>			
Men	7(19%)	17(33%)	0,1339 (OR 0.47; IC 0.16-1.24)
Women	30(81)	34(67%)	
<b>ABO Blood group status</b>			
O blood group	12(40%)	16(38%)	0,8702 (OR 1.08; IC 0.41-2.83)
Non O blood group	18(60%)	26(62%)	
<b>Cardiovascular risk factor</b>			
< 2	24(65%)	22(43%)	<b>0,0440 (OR 2.43; IC 1.03-5.95)</b>
≥ 2	13(35%)	29(57%)	
<b>Triple positivity persistence</b>			
No	2(7%)	2(5%)	1,0000 (OR 1.46; IC 0.17-12.79)
Yes	28(93%)	41(95%)	
<b>Autoimmune disease associated</b>			
No	17(46%)	30(59%)	0,2319 (OR 0.60; IC 0.25-1.39)
Yes	20(54%)	21(41%)	
<b>Lupus Erythematosus</b>			
No	29(78%)	38(75%)	0,6743 (OR 1.24; IC 0.46-3.50)
Yes	8(22%)	13(25%)	
<b>Recent infectious disease</b>			
No	22(81%)	33(94%)	0,2233 (OR 0.27; IC 0.04-1.36)
Yes	5(19%)	2(6%)	
<b>Anti-Nuclear Status</b>			
Negative	8(22%)	20(43%)	0,0522 (OR 0.39; IC 0.14-1.00)
Positive	28(78%)	27(57%)	
<b>Anti-DNA status</b>			
Negative	25(78%)	27(82%)	0,7098 (OR 0.79; IC 0.23-2.70)
Positive	7(22%)	6(18%)	
<b>Anemia</b>			
No	30(83%)	41(85%)	0,7939 (OR 0.85; IC 0.26-2.90)
Yes	6(17%)	7(15%)	
<b>Thrombopenia</b>			
No	22(61%)	37(77%)	0,1131 (OR 0.47; IC 0.18-1.20)
Yes	14(39%)	11(23%)	
<b>Leucopenia</b>			
No	33(92%)	46(96%)	0,6470 (OR 0.48; IC 0.06-3.04)
Yes	3(8%)	2(4%)	
<b>Neutropenia</b>			
No	36(100%)	48(100%)	nc
<b>Hemolysis</b>			
No	14(61%)	28(70%)	0,4592 (OR 0.67; IC 0.23-1.98)
Yes	9(39%)	12(30%)	

Table 1 Characteristics of carriers versus clinical triple positive patients.

As expected, history of thrombotic event or obstetrical complications was significantly associated with “clinical group” ( $p < 0.001$ ). No difference was found between the two groups in term of age, gender, weight nor BMI, ABO blood group, cell numeration, an association with an autoimmune disease, hemolysis neither an infection.

We can note that no difference was found concerning the persistence of triple positivity (Odds Ratio 1.46; Confidence Interval 0.17-12.79). A trend of significance is observed regarding anti-nuclear status, in favour of the carriers group.

Interestingly, having two or more cardiovascular risk factors was significantly associated with the “clinical group” (Odds Ratio 2.43, Confidence Interval 1.03-5.95). This result was confirmed in a multivariate analysis (Odds Ratio 2.93; Confidence Interval 1.13-7.56).

Regarding the biology and in particular aPL profile, although twenty seven profiles are possible, fourteen biological profiles were found in our study (Fig. 2). The most prevalent profile, called “Double-Double” is composed by the association of the two positive LA tests (with RI > 15 and NR > 1.2) and double IgG isotype for both aCL and a $\beta$ 2GPI. This double-double profile, with an Odds Ratio at 3.9 (Confidence Interval 1.43-12.01) is significantly associated with the “clinical group”, and represents an independent risk factor for thrombosis or obstetrical complications. This result was confirmed in a multivariate analysis (Odds Ratio 3.59, Confidence Interval 1.23-10.50). No statistical analysis of the others groups were performed due to low enrolment.

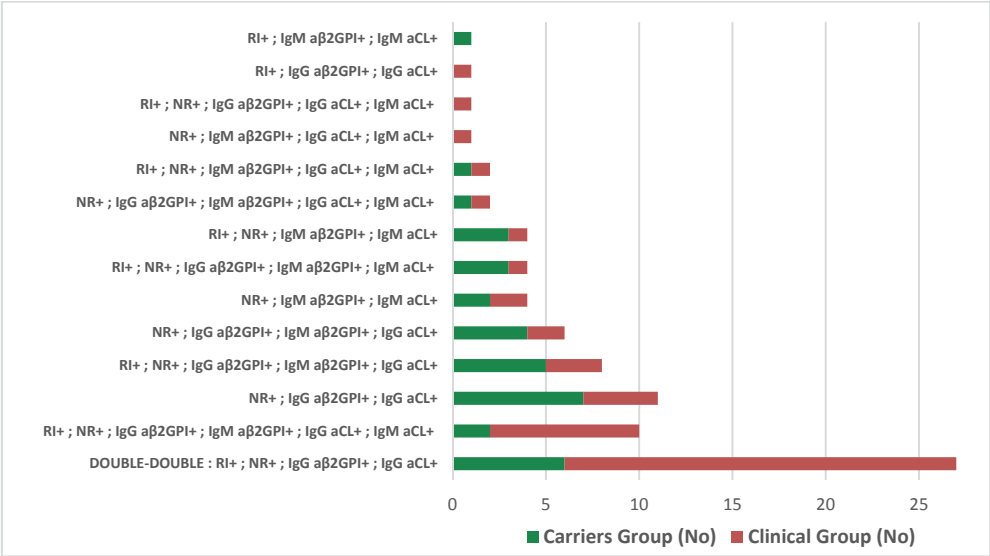


Fig. 2 Biological profiles of carriers versus clinical triple positive patients.

In order to better interpret aPLs positivity, each test was also individually analysed (Table 2). We found a significant association of IgM a $\beta$ 2GPI with carriers patients and a trend of significance with the clinical group for Rosner Index and IgG aCL, with Odds Ratio at respectively 2.57 (CI 0.92-7.55) and at 2.96 (CI 0.93-10.47).

	Carriers patients (No(%))	Clinical patients (No(%))	p-value (OR; CI)
<b>Rosner Index</b>			
< 15	12(36%)	8(18%)	0,07 (OR 2.57; CI 0.92-7.55)
> 15	21(64%)	36(82%)	
<b>Normalized Ratio</b>			
< 1,2	1(3%)	1(2%)	1,00 (OR 1.43; CI 0.06-36.94)
> 1,2	35(97%)	50(98%)	
<b>IgG a<math>\beta</math>2GPI</b>			
< 8 UI/mL	7(19%)	5(10%)	0,2187 (OR 2.15; CI 0.63-7.85)
> 8 UI/mL	30(81%)	46(90%)	
<b>IgM a<math>\beta</math>2GPI</b>			
< 8 UI/mL	13(35%)	30(59%)	0,0282 (OR 0.38; CI 0.15-0.90)
> 8 UI/mL	24(65%)	21(41%)	
<b>IgG aCL</b>			
< 22 UI/mL	9(24%)	5(10%)	0,066 (OR 2.96; CI 0.93-10.47)
> 22 UI/mL	28(76%)	46(90%)	
<b>IgM aCL</b>			
< 10 UI/mL	23(62%)	34(67%)	0,6623 (OR 0.82; CI 0.34-2.00)
> 10 UI/mL	14(38%)	17(33%)	

Table 2 aPL tests in carriers versus clinical triple positive patients.

These results conducted us to determine new thresholds, presented in Table 3.

	Carriers patients (No(%))	Clinical patients (No(%))	p-value (OR; CI)
<b>ROSNER INDEX</b>			
$\leq$ 27	27(82%)	25(57%)	<b>0,0204 (OR 3,42; CI 1,23-10,66)</b>
> 27	6(18%)	19(43%)	
<b>Normalized Ratio</b>			
$\leq$ 1,85	29(78%)	30(60%)	0,054 (OR 2,54; CI 1,00-6,94)
> 1,85	8(22%)	21(41%)	
<b>IgG a<math>\beta</math>2GPI</b>			
$\leq$ 15,5 UI/mL	10(27%)	9(18%)	0,2911 (OR 1,73; CI 0,62-4,89)
> 15,5 UI/mL	27(73%)	42(82%)	
<b>IgG aCL</b>			
$\leq$ 33,8 UI/mL	14(38%)	10(20%)	0,058 (OR 2,50; CI 0,97-6,67)
> 33,8 UI/mL	23(62%)	41(80%)	

Table 3 Statistical analysis of new thresholds.

Interestingly, with values above 27, Rosner Index became an independent risk factor for thrombosis related events (Odds Ratio 3.42, Confidence Interval 1.23-10.66). This result was also confirmed by a multivariate analysis (Odds Ratio 3.33, Confidence Interval 1.11-10.04).

At least, a combination of a Rosner Index > 27; a Normalized Ratio > 1.2, and double IgG isotype for both aCL and a $\beta$ 2GPI antibodies was significantly associated with the “clinical group”, showing that this combination of positive results represented an important risk factor for thrombosis or obstetrical complications (Odds Ratio 6.31, Confidence Interval 1.58-42.36). This profile was also identified in a multivariate analysis as an independent and an important risk factor for thrombosis or obstetrical morbidity (Odds Ratio 6.58, Confidence Interval 1.33-32.45).

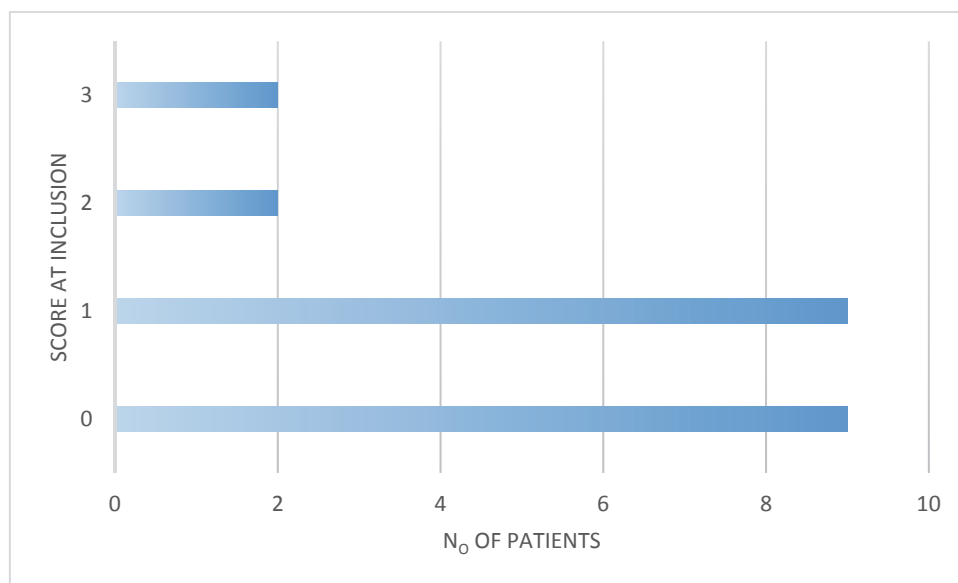
Altogether our data led us to propose a score (Table 4) called “Score of triple aPLs positive patients” (STAPP) combining clinical data and biological results of aPLs. This score considered all risk factors highlighted in our study such as, having  $\geq 2$  cardiovascular risk factors, the double-double profile, and a high value of Rosner Index (>27). Like previously described, all this results were significantly associated with thrombotic events or obstetrical complications in our study. We assigned to each risk factor the same weighted points since their  $\beta$ -logistic regression coefficient values (calculated in multivariate analysis) were substantially equivalent.

<b>STAPP</b>	Points
<p style="text-align: center;"><b><math>\geq 2</math> Cardiovascular risk factors</b></p> <p>Including : High Blood Pressure, diabetes, dyslipidemia, obesity, smoking habit, Combined Oestroprogestative Contraceptive, age &gt; 45 years old</p>	1
<p style="text-align: center;"><b>Double-Double profile</b></p> <p>Combination of Rosner Index positive, Normalized Ratio positive, Double IgG isotype for aCL and a<math>\beta</math>2GPI antibodies</p>	1
<b>Rosner Index &gt; 27</b>	1

Table 4 “Score of triple antiphospholipid positive patients” (STAPP)

The STAPP mean values were respectively 1.44 ( $\pm 0.97$ ) and 0.72 ( $\pm 0.89$ ) in “clinical” group and in “carriers” group, with an expected significance at  $p=0.0014$ . For STAPP values above 2, we obtained specificity at 84%, a positive predictive value at 82%, and an odds ratio at 5.65 (Confidence Interval 1.84-17.29).

To test the STPP, a follow up of 2 years was performed on 22 triple positive carriers. The mean Score at inclusion was 0.86 ( $\pm 0.94$ ) with a repartition as presented in Fig. 3, indicating that two patients presented the highest score at 3.



*Fig. 3 Distribution of STAPP of followed up patients at inclusion.*

New clinical events, particularly thrombotic or obstetrical complications were reported. Among the 22 patients only a woman experienced a transient ischemic attack, occurring 1.35 year after laboratory test inclusion. At inclusion, her STAPP was calculated at 3. This patient presented triple positivity persistence, two cardiovascular risk factors (age older than 45 years old and smoking habit), the double-double profile, and a high value of Rosner Index ( $> 27$ ). At this event, an oral anticoagulant prophylaxis with vitamin K antagonist (VKA) has been proposed.

#### IV. Discussion

Nowadays interpretation of aPL positivity represents an important challenge. The aPL positivity, and in particular aPL triple positivity confers the higher risk for both thrombosis and pregnancy morbidity. The quantification of such a risk may constitute a help for the clinicians to tailor the treatment.

We showed that among the triple positive patients, a combination of double IgG isotype for both aCL and a $\beta$ 2GPI antibodies, a Normalized Ratio > 1.2 and a Rosner Index > 27 represents an important risk factor of thrombosis or obstetrical complications with an Odds Ratio higher than 6. Altogether these results led us to propose the STAPP, a Score of triple antiphospholipid positive patients.

To design our study, 7111 samples were retrospectively analysed to select triple positive patients. Among the 88 selected patients, we showed that 42% of triple positive patients have never experienced thrombotic events or obstetrical complications. To the best of our knowledge, such a proportion of “carriers” has never been described. This may be due to a large subject’s recruitment from various medical specialities. Anyway, this percentage highlights the high prevalence of aPL “carriers” and the need to anticipate the clinical risk in this group of patients.

Pengo et al. have improved the specificity of laboratory results by considering biological profile of patients. He demonstrated that triple positivity of aPLs tests remains the antibody profile with the highest thrombotic risk (64). In the same way and more precisely, we showed that the profile composed by IgG aCL, IgG a $\beta$ 2GPI and LA positivity according to two tests (PTT-LA expressed with Rosner Index, dRVVT expressed with normalized ratio) and called double-double profile displays a higher risk. Our study agrees also with the fact that IgG isotype is the isotype mainly correlated with clinical events (78, 79). Interestingly, no difference was observed between the two groups of triple positive patients, “clinical” and “carriers”, according to the persistence of aPLs. In agreement with Pengo et al. (65), we observed that triple positivity is persistent in almost all cases (95%), also making us think that, in triple positive patients, an aPLs persistence confirmation at least twelve weeks apart is not necessary (80). However, triple positivity persistence does not appear to be a risk factor for thrombosis.

In addition, we evidenced that triple positive patients presenting at least two cardiovascular risk factors (including high blood pressure, diabetes, obesity, dyslipidemia, smoking habit, combined oestroprogestative contraceptive and age older than 45 years old) have an increased risk for thrombosis or obstetrical complications. Several studies demonstrated that cardiovascular risk factors increase the thrombotic risk in aPLs carriers, particularly an age older than 45 years old (64), hypertension (81-83), hypercholesterolemia

(71, 83), smoking (82). Patients with multiple risk factors are closely monitored in high-risk situations such as surgery, pregnancy, and prolonged immobilization. In the same way, women with multiple thrombosis risk are strongly advised to avoid combined oral contraceptive or hormonal replacement therapy. We conclude with our study that consideration of clinical data with biological results remains critical.

To get further in aPL interpretation, each aPLs antibody test (PTT-LA, dRVVT, ELISAs for IgG and IgM aCL antibody detection, and ELISAs for IgG and IgM a $\beta$ 2GPI antibody detection) was analysed. Further studies are required to better interpret the significance of positivity for IgM isotype of a $\beta$ 2GPI in carriers patients. Interestingly, we showed that a Rosner Index established at the threshold at 27 represents an independent and increased risk for thromboembolism events or obstetrical complications. This result is consistent with data from the literature since LA is the conventional marker most correlated to the clinic of APS (30). However, dRVVT is described as the most specific, sensitive and robust test to detect lupus anticoagulant (84). Although studies are necessary to confirm our results, we can hypothesize that in triple aPLs positive patients, the Rosner Index displays a very interesting asset.

Moreover, a combination of Rosner Index higher than 27 with the double-double profile reached the main Odds Ratio of our study, with a value greater than 6. This is a high value compared with those observed in literature considering all antiphospholipid carrier patients, irrespective of their profiles (66, 71, 85-88). Even in high risk population of triple positive patients, Pengo et al. calculated lower odds ratio for male gender (OR 4.4) and cardiovascular risk factors associated (OR 3.3) (66).

The consideration of all these results led us to propose the Score of Triple Antiphospholipid Positive Patients (STAPP). Two scores have already been proposed: the Antiphospholipid Score (68) and the Global APS Score (GAPPS) (69, 71). Only the GAPSS includes clinical data (hyperlipidemia and arterial hypertension) and aPLs specificities (IgG/IgM aCL; IgG/IgM a $\beta$ 2GPI; LA; IgG/IgM anti-prothrombin/phosphatidylserine complex) (71). The originality of STAPP is that it constitutes the first proposal to manage the triple positive patients. STAPP also associates clinical data and aPL results, and its advantage is that it includes aPL routinely tested. Therefore STAPP is easy to elaborate. In addition, STAPP was tested in a follow up study showing that the only one patient, who had a thrombotic event, had a maximal score (3/3).



To conclude, we evidenced that among triple aPLs patients, having two or more cardiovascular risk factors, a double-double profile and a high Rosner Index represents an increased risk for thrombosis related events. We demonstrated that the risk profile of triple aPLs patients can be assessed by STAPP which can be calculated in routine practice. Although prospective studies are now necessary to validate this score, STAPP could help clinicians to stratify the clinical risk of triple-positive patients and possibly initiate a primary prophylaxis.

## Bibliographie

- (1) Harris EN, Baguley E, Asherson RA, Hughes GRV. Clinical and serological features of the « antiphospholipid syndrome » (APS) (abstract). *Br J Rheumatol* 26 : 19, 1987.
- (2) Beaumont, J. L. “[Acquired hemorrhagic syndrome caused by a circulating anticoagulant; inhibition of the thromboplastic function of the blood platelets; description of a specific test].” *Le Sang* 25, no. 1 (1954): 1–15.
- (3) Bowie, E. J., J. H. Thompson, C. A. Pascuzzi, and C. A. Owen. “Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants.” *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 62 (September 1963): 416–30.
- (4) Soulier JP, Boffa MC. Avortements à répétition, thromboses et anticoagulant circulant antithromboplastine. Trois observations. *Nouv Presse Med* 1980;9:859–60.
- (5) Wilson, W. A., A. E. Gharavi, T. Koike, M. D. Lockshin, D. W. Branch, J. C. Piette, R. Brey, et al. “International Consensus Statement on Preliminary Classification Criteria for Definite Antiphospholipid Syndrome: Report of an International Workshop.” *Arthritis and Rheumatism* 42, no. 7 (July 1999): 1309–11.
- (6) Miyakis, S., M. D. Lockshin, T. Atsumi, D. W. Branch, R. L. Brey, R. Cervera, R. H. W. M. Derksen, et al. “International Consensus Statement on an Update of the Classification Criteria for Definite Antiphospholipid Syndrome (APS).” *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 4, no. 2 (February 1, 2006): 295–306.
- (7) Galli, M., P. Comfurius, C. Maassen, H. C. Hemker, M. H. de Baets, P. J. van Breda-Vriesman, T. Barbui, R. F. Zwaal, and E. M. Bevers. “Anticardiolipin Antibodies (ACA) Directed Not to Cardiolipin but to a Plasma Protein Cofactor.” *Lancet (London, England)* 335, no. 8705 (June 30, 1990): 1544–47.
- (8) Matsuura H et al. (1990) Anticardiolipin cofactor(s) and differential diagnosis of autoimmune disease. *Lancet* 336: 117–118
- (9) McNeil HD et al. (1990) Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation:  $\beta$ 2-glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 4120–4124
- (10) Bevers EM et al. (1991) Lupus anticoagulant IgG’s (LA) are not directed to phospholipids only, but to a complex of lipid-bound human prothrombin. *Thromb Haemost* 66: 629–632
- (11) Previtali, Emanuele, Paolo Bucciarelli, Serena M. Passamonti, and Ida Martinelli. “Risk Factors for Venous and Arterial Thrombosis.” *Blood Transfusion = Trasfusione Del Sangue* 9, no. 2 (April 2011): 120–38.
- (12) Bas de Laat, H., Ronald H. W. M. Derksen, and Philip G. de Groot. “beta2-Glycoprotein I, the Playmaker of the Antiphospholipid Syndrome.” *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)* 112, no. 2 (August 2004): 161–68.
- (13) Giannakopoulos, Bill, and Steven A. Krilis. “The Pathogenesis of the Antiphospholipid Syndrome.” *The New England Journal of Medicine* 368, no. 11 (March 14, 2013): 1033–44.

- (14) de Laat, and Philip G. de Groot. "Autoantibodies Directed against Domain I of beta2-Glycoprotein I." *Current Rheumatology Reports* 13, no. 1 (February 2011): 70–76.
- (15) Iverson, G. M., E. J. Victoria, and D. M. Marquis. "Anti-beta2 Glycoprotein I (beta2GPI) Autoantibodies Recognize an Epitope on the First Domain of beta2GPI." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95, no. 26 (December 22, 1998): 15542–46.
- (16) Nimpf, Johannes, Helmut Wurm, and Gerhard M. Kostner. "β2-Glycoprotein-I (Apo-H) Inhibits the Release Reaction of Human Platelets during ADP-Induced Aggregation." *Atherosclerosis* 63, no. 2 (February 1, 1987): 109–14.
- (17) Schousboe, I. "Beta 2-Glycoprotein I: A Plasma Inhibitor of the Contact Activation of the Intrinsic Blood Coagulation Pathway." *Blood* 66, no. 5 (November 1985): 1086–91.
- (18) Schousboe, I., and M. S. Rasmussen. "Synchronized Inhibition of the Phospholipid Mediated Autoactivation of Factor XII in Plasma by Beta 2-Glycoprotein I and Anti-Beta 2-Glycoprotein I." *Thrombosis and Haemostasis* 73, no. 5 (May 1995): 798–804.
- (19) Nimpf, J., E. M. Bevers, P. H. Bomans, U. Till, H. Wurm, G. M. Kostner, and R. F. Zwaal. "Prothrombinase Activity of Human Platelets Is Inhibited by Beta 2-Glycoprotein-I." *Biochimica Et Biophysica Acta* 884, no. 1 (October 29, 1986): 142–49.
- (20) Shi, W., B. H. Chong, P. J. Hogg, and C. N. Chesterman. "Anticardiolipin Antibodies Block the Inhibition by Beta 2-Glycoprotein I of the Factor Xa Generating Activity of Platelets." *Thrombosis and Haemostasis* 70, no. 2 (August 2, 1993): 342–45.
- (21) Keeling, D. M., A. J. Wilson, I. J. Mackie, D. A. Isenberg, and S. J. Machin. "Role of Beta 2-Glycoprotein I and Anti-Phospholipid Antibodies in Activation of Protein C in Vitro." *Journal of Clinical Pathology* 46, no. 10 (October 1993): 908–11.
- (22) Meroni, Pier Luigi, M. Orietta Borghi, Elena Raschi, and Francesco Tedesco. "Pathogenesis of Antiphospholipid Syndrome: Understanding the Antibodies." *Nature Reviews. Rheumatology* 7, no. 6 (June 2011): 330–39.
- (23) Urbanus, Rolf T., Ronald H. M. W. Derksen, and Philip G. de Groot. "Current Insight into Diagnostics and Pathophysiology of the Antiphospholipid Syndrome." *Blood Reviews* 22, no. 2 (March 2008): 93–105.
- (24) Espinosa, Gerard, Ricard Cervera, Josep Font, and Yehuda Shoenfeld. "Antiphospholipid Syndrome: Pathogenic Mechanisms." *Autoimmunity Reviews* 2, no. 2 (March 2003): 86–93.
- (25) Yasuda, Shinsuke, Miyuki Bohgaki, Tatsuya Atsumi, and Takao Koike. "Pathogenesis of Antiphospholipid Antibodies: Impairment of Fibrinolysis and Monocyte Activation via the p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway." *Immunobiology* 210, no. 10 (2005): 775–80.
- (26) Ruiz-Irastorza, Guillermo, Mark Crowther, Ware Branch, and Munther A. Khamashta. "Antiphospholipid Syndrome." *Lancet (London, England)* 376, no. 9751 (October 30, 2010): 1498–1509.

- (27) Groot, P. G. de, B. Lutters, R. H. W. M. Derksen, T. Lisman, J. C. M. Meijers, and F. R. Rosendaal. "Lupus Anticoagulants and the Risk of a First Episode of Deep Venous Thrombosis." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 3, no. 9 (September 2005): 1993–97.
- (28) Urbanus, Rolf T., Bob Siegerink, Mark Roest, Frits R. Rosendaal, Philip G. de Groot, and Ale Algra. "Antiphospholipid Antibodies and Risk of Myocardial Infarction and Ischaemic Stroke in Young Women in the RATIO Study: A Case-Control Study." *The Lancet. Neurology* 8, no. 11 (November 2009): 998–1005.
- (29) Asherson, R. A. "The Catastrophic Antiphospholipid Syndrome, 1998. A Review of the Clinical Features, Possible Pathogenesis and Treatment." *Lupus* 7 Suppl 2 (1998): S55-62.
- (30) Galli, Monica, Davide Luciani, Guido Bertolini, and Tiziano Barbui. "Lupus Anticoagulants Are Stronger Risk Factors for Thrombosis than Anticardiolipin Antibodies in the Antiphospholipid Syndrome: A Systematic Review of the Literature." *Blood* 101, no. 5 (March 1, 2003): 1827–32.
- (31) de Laat, Koen Mertens, and Philip G. de Groot. "Mechanisms of Disease: Antiphospholipid Antibodies—from Clinical Association to Pathologic Mechanism." *Nature Clinical Practice. Rheumatology* 4, no. 4 (April 2008): 192–99.
- (32) Simmelink, M. J. A., R. H. W. M. Derksen, J. Arnout, and P. G. De Groot. "A Simple Method to Discriminate between beta2-Glycoprotein I- and Prothrombin-Dependent Lupus Anticoagulants." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 1, no. 4 (April 2003): 740–47.
- (33) de Laat, Ronald H. W. M. Derksen, Rolf T. Urbanus, Mark Roest, and Philip G. de Groot. "beta2-Glycoprotein I-Dependent Lupus Anticoagulant Highly Correlates with Thrombosis in the Antiphospholipid Syndrome." *Blood* 104, no. 12 (December 1, 2004): 3598–3602.
- (34) Viard, J. P., Z. Amoura, and J. F. Bach. "Anti-Beta 2-Glycoprotein I Antibodies and Thrombosis." *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* 13, no. 1 (1995): 67–72.
- (35) "Clinical Manifestations of the Antiphospholipid Syndrome in Patients With Systemic Lupus Erythematosus Associate More Strongly With Anti-Beta 2-Glycoprotein-I Than With Antiphospholipid Antibodies." *PubMed Journals*.
- (36) de Laat, Ronald H. W. M. Derksen, Rolf T. Urbanus, and Philip G. de Groot. "IgG Antibodies That Recognize Epitope Gly40-Arg43 in Domain I of Beta 2-Glycoprotein I Cause LAC, and Their Presence Correlates Strongly with Thrombosis." *Blood* 105, no. 4 (February 15, 2005): 1540–45.
- (37) Giannakopoulos, Bill, Freda Passam, Yiannis Ioannou, and Steven A. Krilis. "How We Diagnose the Antiphospholipid Syndrome." *Blood* 113, no. 5 (January 29, 2009): 985–94.
- (38) Galli, Monica, Davide Luciani, Guido Bertolini, and Tiziano Barbui. "Anti-Beta 2-Glycoprotein I, Antiprothrombin Antibodies, and the Risk of Thrombosis in the Antiphospholipid Syndrome." *Blood* 102, no. 8 (October 15, 2003): 2717–23.

- (39) Iverson, G. Michael, Stephen Reddel, Edward J. Victoria, Keith A. Cockerill, Ying-Xia Wang, Marc A. Marti-Renom, Andrej Sali, David M. Marquis, Steven A. Krilis, and Matthew D. Linnik. "Use of Single Point Mutations in Domain I of Beta 2-Glycoprotein I to Determine Fine Antigenic Specificity of Antiphospholipid Autoantibodies." *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 169, no. 12 (December 15, 2002): 7097–7103.
- (40) Ioannou, Yiannis, Charis Pericleous, Ian Giles, David S. Latchman, David A. Isenberg, and Anisur Rahman. "Binding of Antiphospholipid Antibodies to Discontinuous Epitopes on Domain I of Human beta(2)-Glycoprotein I: Mutation Studies Including Residues R39 to R43." *Arthritis and Rheumatism* 56, no. 1 (January 2007): 280–90.
- (41) Galli, Monica, Giovanna Borrelli, Eva Marie Jacobsen, Rosa Maria Marfisi, Guido Finazzi, Roberto Marchioli, Finn Wisloff, Stefana Marziali, Olivier Morboeuf, and Tiziano Barbui. "Clinical Significance of Different Antiphospholipid Antibodies in the WAPS (Warfarin in the Antiphospholipid Syndrome) Study." *Blood* 110, no. 4 (August 15, 2007): 1178–83.
- (42) Harris, E. N., S. S. Pierangeli, and A. E. Gharavi. "Diagnosis of the Antiphospholipid Syndrome: A Proposal for Use of Laboratory Tests." *Lupus* 7 Suppl 2 (1998): S144-148.
- (43) Sanmarco, Marielle, Stéphane Gayet, Marie-Christine Alessi, Marie Audrain, Emmanuel de Maistre, Jean-Christophe Gris, Philip G. de Groot, et al. "Antiphosphatidylethanolamine Antibodies Are Associated with an Increased Odds Ratio for Thrombosis. A Multicenter Study with the Participation of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies." *Thrombosis and Haemostasis* 97, no. 6 (June 2007): 949–54.
- (44) Sugi, Toshitaka, Hidehiko Matsubayashi, Akifumi Inomo, Lu Dan, and Tsunehisa Makino. "Antiphosphatidylethanolamine Antibodies in Recurrent Early Pregnancy Loss and Mid-to-Late Pregnancy Loss." *The Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 30, no. 4 (August 2004): 326–32.
- (45) Erkan, Doruk, Cassyane L. Aguiar, Danieli Andrade, Hannah Cohen, Maria J. Cuadrado, Adriana Danowski, Roger A. Levy, et al. "14th International Congress on Antiphospholipid Antibodies: Task Force Report on Antiphospholipid Syndrome Treatment Trends." *Autoimmunity Reviews* 13, no. 6 (June 2014): 685–96.
- (46) Cohen, Hannah, Beverley J. Hunt, Maria Efthymiou, Deepa R. J. Arachchillage, Ian J. Mackie, Simon Clawson, Yvonne Sylvestre, et al. "Rivaroxaban versus Warfarin to Treat Patients with Thrombotic Antiphospholipid Syndrome, with or without Systemic Lupus Erythematosus (RAPS): A Randomised, Controlled, Open-Label, Phase 2/3, Non-Inferiority Trial." *The Lancet. Haematology* 3, no. 9 (September 2016): e426-436.
- (47) Wallace, D. J. "Does Hydroxychloroquine Sulfate Prevent Clot Formation in Systemic Lupus Erythematosus?" *Arthritis and Rheumatism* 30, no. 12 (December 1987): 1435–36.
- (48) Jung, Hyejung, Raja Bobba, Jiandong Su, Zhaleh Shariati-Sarabi, Dafna D. Gladman, Murray Urowitz, Wendy Lou, and Paul R. Fortin. "The Protective Effect of Antimalarial Drugs on Thrombovascular Events in Systemic Lupus Erythematosus." *Arthritis and Rheumatism* 62, no. 3 (March 2010): 863–68.

- (49) Kaiser, R., C. M. Cleveland, and L. A. Criswell. "Risk and Protective Factors for Thrombosis in Systemic Lupus Erythematosus: Results from a Large, Multi-Ethnic Cohort." *Annals of the Rheumatic Diseases* 68, no. 2 (February 2009): 238–41.
- (50) Petri M, Law G, Fang H, Magder L. Hydroxychloroquine reduces thrombosis (both arterial and venous) in systemic lupus erythematosus, but only in antiphospholipid positive patients. *APLA-LACA* ; 2013 (ABSTRACT).
- (51) Tektonidou, Maria G., Katerina Laskari, Demosthenes B. Panagiotakos, and Haralampos M. Moutsopoulos. "Risk Factors for Thrombosis and Primary Thrombosis Prevention in Patients with Systemic Lupus Erythematosus with or without Antiphospholipid Antibodies." *Arthritis and Rheumatism* 61, no. 1 (January 15, 2009): 29–36.
- (52) Schmidt-Tanguy, A., J. Voswinkel, D. Henrion, J. F. Subra, L. Loufrani, V. Rohmer, N. Ifrah, and C. Belizna. "Antithrombotic Effects of Hydroxychloroquine in Primary Antiphospholipid Syndrome Patients." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 11, no. 10 (October 2013): 1927–29.
- (53) Pengo, V., A. Banzato, E. Bison, G. Zoppellaro, S. Padayattil Jose, and G. Denas. "Efficacy and Safety of Rivaroxaban vs Warfarin in High-Risk Patients with Antiphospholipid Syndrome: Rationale and Design of the Trial on Rivaroxaban in AntiPhospholipid Syndrome (TRAPS) Trial." *Lupus* 25, no. 3 (March 2016): 301–6.
- (54) Erkan, Doruk, JoAnn Vega, Glendalee Ramón, Elizabeth Kozora, and Michael D. Lockshin. "A Pilot Open-Label Phase II Trial of Rituximab for Non-Criteria Manifestations of Antiphospholipid Syndrome." *Arthritis and Rheumatism* 65, no. 2 (February 2013): 464–71.
- (55) Furie, Richard, Michelle Petri, Omid Zamani, Ricard Cervera, Daniel J. Wallace, Dana Tegzová, Jorge Sanchez-Guerrero, et al. "A Phase III, Randomized, Placebo-Controlled Study of Belimumab, a Monoclonal Antibody That Inhibits B Lymphocyte Stimulator, in Patients with Systemic Lupus Erythematosus." *Arthritis and Rheumatism* 63, no. 12 (December 2011): 3918–30.
- (56) Navarra, Sandra V., Renato M. Guzmán, Alberto E. Gallacher, Stephen Hall, Roger A. Levy, Renato E. Jimenez, Edmund K.-M. Li, et al. "Efficacy and Safety of Belimumab in Patients with Active Systemic Lupus Erythematosus: A Randomised, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial." *Lancet (London, England)* 377, no. 9767 (February 26, 2011): 721–31.
- (57) Stohl, William, Falk Hiepe, Kevin M. Latinis, Mathew Thomas, Morton A. Scheinberg, Ann Clarke, Cynthia Aranow, et al. "Belimumab Reduces Autoantibodies, Normalizes Low Complement Levels, and Reduces Select B Cell Populations in Patients with Systemic Lupus Erythematosus." *Arthritis and Rheumatism* 64, no. 7 (July 2012): 2328–37.
- (58) Lonze, Bonnie E., Andrew L. Singer, and Robert A. Montgomery. "Eculizumab and Renal Transplantation in a Patient with CAPS." *The New England Journal of Medicine* 362, no. 18 (May 6, 2010): 1744–45.
- (59) Shapira, Iuliana, Danieli Andrade, Steven L. Allen, and Jane E. Salmon. "Brief Report: Induction of Sustained Remission in Recurrent Catastrophic Antiphospholipid Syndrome via Inhibition of Terminal Complement with Eculizumab." *Arthritis and Rheumatism* 64, no. 8 (August 2012): 2719–23.

- (60) Lonze, B. E., A. A. Zachary, C. M. Magro, N. M. Desai, B. J. Orandi, N. N. Dagher, A. L. Singer, et al. "Eculizumab Prevents Recurrent Antiphospholipid Antibody Syndrome and Enables Successful Renal Transplantation." *American Journal of Transplantation: Official Journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 14, no. 2 (February 2014): 459–65.
- (61) Pengo, V., A. Ruffatti, C. Legnani, P. Gresele, D. Barcellona, N. Erba, S. Testa, et al. "Clinical Course of High-Risk Patients Diagnosed with Antiphospholipid Syndrome." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 8, no. 2 (February 2010): 237–42.
- (62) Saadoun, D., J.-C. Piette, D. Wahl, and N. Costedoat-Chalumeau. "[Management of antiphospholipid syndrome]." *La Revue De Medecine Interne* 33, no. 4 (April 2012): 217–22.
- (63) Tarr, Tunde, Gabriella Lakos, Harjit Pal Bhattoa, Pal Soltesz, Yehuda Shoenfeld, Gyula Szegedi, and Emese Kiss. "Clinical Thrombotic Manifestations in SLE Patients with and without Antiphospholipid Antibodies: A 5-Year Follow-Up." *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* 32, no. 2 (April 2007): 131–37.
- (64) Pengo, Vittorio, Alessandra Biasiolo, Cinzia Pegoraro, Umberto Cucchini, Franco Noventa, and Sabino Iliceto. "Antibody Profiles for the Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome." *Thrombosis and Haemostasis* 93, no. 6 (June 2005): 1147–52.
- (65) Pengo, V., A. Ruffatti, T. Del Ross, M. Tonello, S. Cuffaro, A. Hoxha, A. Banzato, et al. "Confirmation of Initial Antiphospholipid Antibody Positivity Depends on the Antiphospholipid Antibody Profile." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 11, no. 8 (August 2013): 1527–31.
- (66) Pengo, Vittorio, Amelia Ruffatti, Cristina Legnani, Sophie Testa, Tiziana Fierro, Francesco Marongiu, Valeria De Micheli, et al. "Incidence of a First Thromboembolic Event in Asymptomatic Carriers of High-Risk Antiphospholipid Antibody Profile: A Multicenter Prospective Study." *Blood* 118, no. 17 (October 27, 2011): 4714–18.
- (67) Pollack, Charles V., Paul A. Reilly, John Eikelboom, Stephan Glund, Peter Verhamme, Richard A. Bernstein, Robert Dubiel, et al. "Idarucizumab for Dabigatran Reversal." *The New England Journal of Medicine* 373, no. 6 (August 6, 2015): 511–20.
- (68) Sciascia, Savino, Maria Jose Cuadrado, and Mohammed Yousuf Karim. "Management of Infection in Systemic Lupus Erythematosus." *Best Practice & Research. Clinical Rheumatology* 27, no. 3 (June 2013): 377–89.
- (69) Otomo, Kotaro, Tatsuya Atsumi, Olga Amengual, Yuichiro Fujieda, Masaru Kato, Kenji Oku, Tetsuya Horita, Shinsuke Yasuda, and Takao Koike. "Efficacy of the Antiphospholipid Score for the Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome and Its Predictive Value for Thrombotic Events." *Arthritis & Rheumatism* 64, no. 2 (February 1, 2012): 504–12.
- (70) Sciascia, Savino, Giovanni Sanna, Veronica Murru, Dario Roccatello, Munther A. Khamashta, and Maria Laura Bertolaccini. "GAPSS: The Global Anti-Phospholipid Syndrome Score." *Rheumatology (Oxford, England)* 52, no. 8 (August 2013): 1397–1403.
- (71) Sciascia, Savino, Giovanni Sanna, Veronica Murru, Dario Roccatello, Munther A. Khamashta, and Maria Laura Bertolaccini. "The Global Anti-Phospholipid Syndrome Score in Primary APS." *Rheumatology (Oxford, England)* 54, no. 1 (January 2015): 134–38.

- (72) Hughes, G. R. V., and M. A. Khamashta. "Seronegative Antiphospholipid Syndrome." *Annals of the Rheumatic Diseases* 62, no. 12 (December 2003): 1127.
- (73) Meroni, Pier Luigi, Cecilia Beatrice Chighizola, Francesca Rovelli, and Maria Gerosa. "Antiphospholipid Syndrome in 2014: More Clinical Manifestations, Novel Pathogenic Players and Emerging Biomarkers." *Arthritis Research & Therapy* 16, no. 2 (2014): 209.
- (74) Gómez-Puerta, Jose A., and Ricard Cervera. "Diagnosis and Classification of the Antiphospholipid Syndrome." *Journal of Autoimmunity* 48–49 (March 2014): 20–25.
- (75) Wu O, Bayoumi N, Vickers MA, Clark P. ABO(H) blood groups and vascular disease: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost.* 2008 Jan;6(1):62-9. Epub 2007 Oct 25.
- (76) Villalta, D., M. G. Alessio, M. Tampoia, A. Da Re, S. Stella, M. Da Re, R. Tozzoli, and N. Bizzaro. "Accuracy of the First Fully Automated Method for Anti-Cardiolipin and Anti-beta2 Glycoprotein I Antibody Detection for the Diagnosis of Antiphospholipid Syndrome." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1173 (September 2009): 21–27. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04659.x.
- (77) Despierres, Laura, Abdou Beziane, Gilles Kaplanski, Brigitte Granel, Jacques Serratrice, William Cohen, Florence Bretelle, et al. "Contribution of Anti-β2glycoprotein I IgA Antibodies to the Diagnosis of Anti-Phospholipid Syndrome: Potential Interest of Target Domains to Discriminate Thrombotic and Non-Thrombotic Patients." *Rheumatology (Oxford, England)* 53, no. 7 (July 2014): 1215–18.
- (78) Kelchtermans, H., L. Pelkmans, B. de Laat, and K. M. Devreese. "IgG/IgM Antiphospholipid Antibodies Present in the Classification Criteria for the Antiphospholipid Syndrome: A Critical Review of Their Association with Thrombosis." *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH* 14, no. 8 (August 2016): 1530–48.
- (79) Bećarević, Mirjana, Duško Mirković, and Svetlana Ignjatović. "Double Positivity of the IgG Isotype of Both Anticardiolipin and Anti-β2gpI Antibodies Is Associated with the Highest Number of Vascular Impairment Parameters in Patients with Primary Antiphospholipid Syndrome: Preliminary Data." *Clinical Rheumatology* 35, no. 12 (December 2016): 2947–54.
- (80) Pengo, Vittorio. "Four Good Reasons to Appreciate Triple Positivity." *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 126, no. 1–2 (2016): 7–8.
- (81) Ruffatti, Amelia, Teresa Del Ross, Manuela Ciprian, Maria T. Bertero, Savino Sciascia, Sciascia Salvatore, Salvatore Scarpato, et al. "Risk Factors for a First Thrombotic Event in Antiphospholipid Antibody Carriers: A Prospective Multicentre Follow-up Study." *Annals of the Rheumatic Diseases* 70, no. 6 (June 2011): 1083–86. doi:10.1136/ard.2010.142042.
- (82) Erkan, D., Y. Yazici, M. G. Peterson, L. Sammaritano, and M. D. Lockshin. "A Cross-Sectional Study of Clinical Thrombotic Risk Factors and Preventive Treatments in Antiphospholipid Syndrome." *Rheumatology (Oxford, England)* 41, no. 8 (August 2002): 924–29.
- (83) Girón-González, José A., Enrique García del Río, Carmen Rodríguez, Javier Rodríguez-Martorell, and Ascensión Serrano. "Antiphospholipid Syndrome and Asymptomatic Carriers of Antiphospholipid Antibody: Prospective Analysis of 404 Individuals." *The Journal of Rheumatology* 31, no. 8 (August 2004): 1560–67.



- (84) Pengo, V., A. Tripodi, G. Reber, J. H. Rand, T. L. Ortel, M. Galli, P. G. De Groot, and Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. "Update of the Guidelines for Lupus Anticoagulant Detection. Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis." *Journal of Thrombosis and Haemostasis*: JTH 7, no. 10 (October 2009): 1737–40.
- (85) Latino, J. O., S. Udry, F. M. Aranda, S. D. A. Perés Wingeyer, D. S. Fernández Romero, and G. F. de Larrañaga. "Pregnancy Failure in Patients with Obstetric Antiphospholipid Syndrome with Conventional Treatment: The Influence of a Triple Positive Antibody Profile." *Lupus*, January 1, 2017, 961203317692432.
- (86) Zhao, J. L., Y. D. Sun, Y. Zhang, D. Xu, Q. Wang, M. T. Li, and X. F. Zeng. "[The clinical manifestations and thrombotic risk factors in primary antiphospholipid syndrome]." *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 55, no. 5 (May 1, 2016): 386–91.
- (87) Ruffatti, A., T. Del Ross, M. Ciprian, M. Nuzzo, M. Rampudda, M. T. Bertero, R. Bergia, et al. "Risk Factors for a First Thrombotic Event in Antiphospholipid Antibody Carriers. A Multicentre, Retrospective Follow-up Study." *Annals of the Rheumatic Diseases* 68, no. 3 (March 2009): 397–99.
- (88) Finazzi, G., V. Brancaccio, M. Moia, N. Ciaverella, M. G. Mazzucconi, P. C. Schinco, M. Ruggeri, et al. "Natural History and Risk Factors for Thrombosis in 360 Patients with Antiphospholipid Antibodies: A Four-Year Prospective Study from the Italian Registry." *The American Journal of Medicine* 100, no. 5 (May 1996): 530–36.

## SERMENT DE GALIEN

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- ❖ *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ *D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ *De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ *En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.*



## Abstract

**Objectives:** To assess risk factors for thrombotic events or obstetrical complications in a targeted cohort of triple positive patients for antiphospholipid tests, a novel score is proposed to better stratify this clinical risk and a short follow up was performed.

**Methods:** Recruitment criteria were an age ranged between 18–80 years old and triple positivity for aPLs tests, namely lupus anticoagulant; IgG/IgM anti-beta-2-glycoprotein I antibody (aB2GPI) and IgG/IgM anti-cardiolipin antibody (aCL). Demographic, laboratory and clinical data were retrospectively collected.

**Results:** Over a 2-year period, 88 subjects were selected and formed two groups according to their clinical status: clinical group and carriers group. A high prevalence of triple positive carriers is highlighted; moreover, having two or more cardiovascular risk factors is an independent risk factor for clinical events. We also evidenced that the double-double profile (which associate double IgG isotype for both aCL and aB2GPI, normalized ratio > 1.2 and Rosner Index > 15) and a Rosner index above 27 are also independent risk factors, and the combination of a high Rosner Index (value exceeding 27) and double-double profile is an important and an independent risk factor for thrombosis or obstetrical complications. All these results led us to propose the Score for Triple Antiphospholipid Positive Patients (STAPP) considering clinical and laboratory data significantly associated with clinical events.

**Conclusions:** Interpretation of aPLs triple positivity needs consideration of clinical and laboratory data. The use of our score, the STAPP, may help clinicians to stratify the clinical risk and initiate or not a primary prophylaxis.