



**HAL**  
open science

# Intérêt du dosage des auto-anticorps non conventionnels dans l'exploration du syndrome des antiphospholipides

Morgane Pelissier

► **To cite this version:**

Morgane Pelissier. Intérêt du dosage des auto-anticorps non conventionnels dans l'exploration du syndrome des antiphospholipides. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-01976873

**HAL Id: dumas-01976873**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01976873>**

Submitted on 10 Jan 2019

**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.

# THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA  
FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Le 11 décembre 2018

PAR

**Mlle Morgane PELISSIER**

Née le 03/10/1994 à Draguignan

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**TITRE :**

**INTERET DU DOSAGE DES AUTO-ANTICORPS NON  
CONVENTIONNELS DANS L'EXPLORATION DU  
SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES.**

**JURY :**

Président : Dr BARDIN Nathalie

Membres : Dr BERTIN Daniel  
Dr REYBAUD Paul  
Dr MOLLET Aurélie

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05

Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

**ADMINISTRATION :**

Doyen : Mme Françoise DIGNAT-GEORGE

Vice-Doyens : M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal  
RATHELOT

Chargés de Mission : Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme  
Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique  
GRIMALDI

Conseiller du Doyen : M. Patrice VANELLE

Doyens honoraires : M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice  
VANELLE

Professeurs émérites : M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Jean-Pierre  
REYNIER, M. Henri PORTUGAL

Professeurs honoraires : M. Guy BALANSARD, 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. JeanClaude  
SARI

Chef des Services Administratifs :

Mme Florence GAUREL

Chef de Cabinet : Mme Aurélie BELENGUER

Responsable de la Scolarité : Mme Nathalie BESNARD

**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.

THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

**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-JAU

Mme Florence SABATIER-  
MALATERRE

Mme Nathalie BARDIN

**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 Aurélie LEROYER  
M. Romaric LACROIX  
Mme Sylvie COINTE

MICROBIOLOGIE

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

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

M. Maxime LOYENS

**DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

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



MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE

Mme Anne FAVEL

Mme Joëlle MOULIN-  
TRAFFORT

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine DEFOORT

M. Alain NICOLAY

Mme Estelle WOLFF

Mme Elise LOMBARD

Mme Camille DESGROUAS

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET  
NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. David BERGE-LEFRANC

M. Pierre REBOUILLON

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Mme Sandrine FRANCO-  
ALIBERT

Mme Caroline DUCROS

M. Marc MONTANA

Mme Manon ROCHE

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

HYDROLOGIE

M. 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-LEDDET

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. Cyril PUJOL

DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE

M. Marc LAMBERT

GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE

ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET

COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET

GESTION DE LA PHARMAFAC

Mme Félicia FERRERA

A.H.U.

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

M. Mathieu CERINO

ATER

CHIMIE ANALYTIQUE

M. Charles DESMARCHELIER

CHIMIE THERAPEUTIQUE

Mme Fanny MATHIAS

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE

Mme Diane BRAGUER

M. Stéphane HONORÉ

PHARMACODYNAMIE

M. Benjamin GUILLET

TOXICOLOGIE GENERALE

M. Bruno LACARELLE

TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT

Mme Frédérique GRIMALDI

MAITRES DE CONFERENCES	
------------------------	--

PHARMACODYNAMIE

M. Guillaume HACHE

Mme Ahlem BOUHLEL

M. Philippe GARRIGUE

PHYSIOLOGIE

Mme Sylviane LORTET

Mme Emmanuelle MANOS-  
SAMPOL

TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE

M. Joseph CICCOLINI

Mme Raphaëlle FANCIULLINO

Mme Florence GATTACECCA

TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE

M. Pierre-Henri VILLARD

Mme Caroline SOLAS-  
CHESNEAU

Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.	
--------	--

PHARMACIE CLINIQUE

M. Florian CORREARD

PHARMACOCINETIQUE

Mme Nadège NEANT

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE
-------------------------------------

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

## REMERCIEMENTS

En premier lieu, je tiens à remercier le **Dr Nathalie BARDIN**, sans qui rien de tout cela n'aurait été possible. Dans un premier temps, elle m'a permis d'apprendre auprès d'elle durant ma 5<sup>ème</sup> année lors de mon stage dans le laboratoire d'Immunologie de l'Hôpital de la Conception. Et, par la suite, elle m'a proposé et aidé à présenter ce long travail qui clôture mes études.

Je veux aussi remercier toute l'équipe qui m'a entourée au laboratoire : le **Dr Daniel BERTIN** qui est un passionné passionnant à écouter et le **Dr Abdou BEZIANE** qui m'a permis de manipuler pour mon étude. Merci aussi à tous les internes et les personnes que j'ai pu rencontrer.

Une pensée à **tous les professeurs** qui nous ont entourés tout au long de nos études.

Merci à tous les **membres du Jury** qui me font l'honneur d'être présents aujourd'hui et grâce à qui ce travail peut être présenté. Le **Dr REYBAUD**, mon ancien maître de stage et le **Dr MOLLET** qui nous a donné des cours et qui prend du temps pour moi aujourd'hui après la naissance de sa petite Rose.

Un petit mot pour mes amis :

Les amis rencontrés grâce à la fac... A notre petite bande : **Marine, Caroline, Remi, Marie et Chloé** : à toutes nos soirées crêpes et toutes nos discussions ! Une pensée à toutes les autres personnes que j'ai rencontrées durant ces longues études.

A **Vanessa**, mon acolyte de stage et de gourmandise ! D'un soutien permanent !

Ma vieille bande de copains qui me supporte depuis le lycée et qui ne cesse de me faire rire et de me montrer son soutien : **Cynthia, Johann, Nicolas, Estelle, Charlène, Yann, Pierre, Max, Abel, Hugo, Guillaume, Nati, Cassou, Kevin, Leia**... Et tous les autres !

Les copines de cheval, plus de 10 qu'on fait les 400 coups ensemble : *Alexia, Amandine, et Clémence*. Sans oublier *Marie* : je ne compte plus les années de folies à tes côtés.

A *mes collègues de travail* qui me connaissent depuis des années et qui m'aident à évoluer ainsi qu'à *mes anciennes collègues de mon stage de 6<sup>ème</sup> année* : une équipe de folles qui m'a beaucoup enseigné !

A *ma belle-famille* qui m'apporte énormément d'amour et qui a fait le déplacement aujourd'hui. Une pensée aux absents malgré eux ! Votre soutien me réchauffe le cœur.

A ma famille, à toutes les épreuves que nous avons endurées durant cette année 2018... j'espère apporter une note de joie pour clôturer cette fin d'année !

*Mes parents*, qui m'ont toujours poussé à donner le meilleur de moi-même. Sans eux je n'aurais jamais pu parcourir tout ce chemin. Je vous aime tellement.

*Mon frère*, on n'est pas des démonstratifs dans notre famille mais tu sais combien je t'aime. A *Nanou*, sa chérie, et future femme. Je suis tellement heureuse de pouvoir bientôt t'appeler officiellement belle-sœur.

*Ma sœur*, dont les kilomètres nous séparent et qui me font encore plus chérir les moments ensemble. A son chéri, *Fabien*, que je considère comme un second frère. A leurs filles, *Louise et Charline*, qui sont une vraie source de joie.

A *mes grands-parents*. Eux aussi m'ont toujours soutenu par tous leurs moyens.

A *mes tantes, oncles, cousin(e)s*... Merci pour tout.

A *Benjamin*, mon ami, mon amour, mon confident. A notre nouvelle vie à deux, nos expériences, nos voyages et tous ceux à venir. Merci pour tout ce que tu as fait et tout ce que tu m'apportes quotidiennement. Tu as été un vrai pilier pour moi et je ne t'en remercierai jamais assez. Tu n'as jamais cessé de croire en moi et m'as toujours poussé lors de mes études. Mille mercis.

*« 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. »*



# SOMMAIRE

## Table des matières

REMERCIEMENTS .....	13
SOMMAIRE .....	16
LISTE DES ABREVIATIONS .....	18
LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX .....	20
INTRODUCTION GENERALE.....	22
PARTIE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES DU SAPL .....	24
I. De la découverte du SAPL à son individualisation .....	24
II. Définition.....	29
III. Epidémiologie .....	34
IV. Physiopathologie .....	36
1. Contexte entourant la pathologie.....	36
2. Pathogénèse.....	40
a. Les thromboses.....	41
b. Evènements obstétricaux .....	48
V. Diagnostic.....	51
1. Clinique .....	51
a. Critères .....	51
b. Autres manifestations rencontrées lors du SAPL.....	55
2. Biologiques.....	58
a. Marqueurs conventionnels.....	60
b. Marqueurs non conventionnels.....	61
c. La prothrombine et son anticorps .....	63
VI. Techniques de dosages .....	64
1. Technique hématologique .....	64
2. Technique immunologique.....	66
VII. Stratégie pour le diagnostic du SAPL et interprétations des résultats .....	68
VIII. Le traitement.....	70
1. Traitement primaire .....	70
2. Traitement secondaire .....	72

PARTIE II: TRAVAIL PERSONNEL.....	76
I. Introduction .....	76
II. Travail personnel.....	78
III. Discussion .....	85
PARTIE III: ETUDE D'UN CAS CLINIQUE .....	87
PARTIE IV: CONCLUSIONS.....	90
BIBLIOGRAPHIE .....	92
SERMENT DE GALIEN .....	99

## LISTE DES ABREVIATIONS

SAPL	: Syndrome des antiphospholipides
aPL	: Anti-phospholipides
aCL	: Anti-cardiolipines
a $\beta$ 2GPI	: Anti- beta 2 glycoprotéine 1
ACC	: Anticoagulant circulant
aPE	: Anti-phosphatidylethanolamine
aANV	: Anti-annexine V
aPT	: Anti-prothrombine
Ag	: Antigène
FP	: Fausse positivité
LED	: Lupus érythémateux disséminé
FC	: Fausses couches
ELISA	: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
PF	: Pertes fœtales
$\beta$ 2GPI	: Beta 2 glycoprotéine 1
MAI	: Maladie auto immune
SI	: Système immunitaire
LA	: Lupus anticoagulant
CAPS	: Syndrome catastrophique des anti-phospholipides
SNFMI	: Société National Française de Médecine Interne
PAMP	: Pathogen associated molecular pattern
DAMP	: Danger associated antigenic molecular pattern
AC	: Anticorps
PC	: Protéine C
PCa	: Protéine C activée
PGHS	: Protéoglycanes à héparane sulfate
PS	: Protéine S
PT	: Prothrombine
TVP	: Thromboses veineuses profondes

IDM	: Infarctus du myocarde
AVC	: Accident vasculaire cérébral
AIT	: Accidents ischémiques transitoires
HTA	: Hypertension artérielle
TCA	: Temps de céphaline activée
SNAPS	: Syndrome séronégatif des anti-phospholipides
GEHT	: Groupe d'Etude en Hémostase et Thrombose
CTAD	: citrate, théophylline, adénine, dipyridamole
DRVVT	: Temps de venin de vipère Russel dilué
TTD	: Temps de thromboplastine diluée
DO	: Densité optique
HBPM	: Héparine à bas poids moléculaire
AVK	: Anti vitamine K
INR	: International Normalized Ratio
HNF	: Héparine non fractionnée
aPS/PT	: Anti-phosphatidylserine / prothrombin antibodies

## LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Figure	1 : Chronologie des évènements autour du SAPL
Tableau	1 : Critères du SAPL retenues suite à la conférence de Sydney en 2006
Figure	2 : Représentation d'un phospholipide
Figure	3 : Représentation de nos membranes cellulaires
Figure	4 : Cascade de coagulation
Tableau	2 : Rôle des aPL dans le « first hit »
Figure	5 : Théorie du « Double Hit »
Figure	6 : Le « Double Hit »
Figure	7 : Pathogénèse des évènements obstétricaux
Tableau	3 : Critères cliniques du SAPL actualisés en 2006
Tableau	4 : Diagnostic différentiel : CAPS confirmé VS CAPS probable
Tableau	5 : Contextes asymptomatiques de présence d'aPL
Figure	8 : Profils immunologiques d'aPL et leurs risques thrombotiques
Figure	9 : Technique ELISA indirecte
Figure	10 : Stratégie de l'exploration d'un SAPL
Tableau	6 : Prévention primaire du SAPL
Tableau	7 : Traitement mis en place lors d'un SAPL avec thromboses
Tableau	8 : Traitement mis en place lors d'un SAPL obstétrical

Table 1: Clinical manifestations

Figure 11: Detailed profile of antiphospholipid antibodies detected in sera of aPT thrombotic patients (n=37) aB2GP1: anti- $\beta$ 2 glycoprotein I antibodies, aCL: anti-cardiolipin antibodies, aPT: anti-prothrombin antibodies, LA: Lupus anticoagulant

Figure 12: Comparison of aPT ratio levels by frequency of thrombosis (Isolated or Recurrent) and isotype (A: IgG, B: IgM). Data are presented as dot plots with median and interquartile range of aPT ratio. (\*  $p < 0.05$ , Mann-Whitney U test)

Tableau 9: Résultats biologiques de Mr G.

Tableau 10: Résultats biologiques de Mr G concernant les aPL

## INTRODUCTION GENERALE

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est une **pathologie auto immune** touchant principalement *les sujets de moins de 45 ans et les femmes*. C'est une **thrombophilie acquise** qui se manifeste cliniquement par un **risque accru d'apparitions d'évènements thrombotiques et/ou de complications obstétricales**. D'un point de vue biologique, on observera dans le sérum de ces patients des auto-anticorps de type **antiphospholipides (aPL)** qui devront être persistants après un deuxième dosage (3 mois après).

La gravité de cette maladie repose, entre autres, sur le manque d'homogénéité et la récurrence des évènements cliniques.

Par le caractère persistant des aPL dosés pour le diagnostic du SAPL, ils sont considérés comme les marqueurs biologiques de cette pathologie. Ils constituent un groupe très hétérogène d'auto-anticorps que l'on classe dans deux catégories différentes :

- **Les marqueurs conventionnels** seront systématiquement dosés en routine lors de la recherche biologique du SAPL. Ils ont été définis comme critères biologiques suite à la conférence internationale de Sydney de 2006. Au moins une anomalie doit être retrouvée parmi les auto-anticorps suivant :
  - Les anticorps anti-cardiolipine (aCL) IgG et/ou IgM ;
  - Les anticorps anti- $\beta$  2 glycoprotéine I (a $\beta$ 2GPI) IgG et/ou IgM ;
  - L'anticoagulant circulant (ACC).

- **Les marqueurs non conventionnels**, quant à eux, ne permettent pas à eux seuls de poser le diagnostic mais pourront être dosés en l'absence de marqueurs conventionnels. Il s'agit alors des marqueurs suivants :
  - Les aCL IgA ;
  - Les a $\beta$ 2GPI IgA ;
  - Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine (aPE) IgG et/ou IgM
  - Les anticorps anti-annexine V (aANV) IgG et/ou IgM ;
  - Les anticorps anti-prothrombine (aPT) IgG et/ou IgM.

Dans le cadre de ce travail, nous présenterons dans un premier temps des généralités et des rappels bibliographiques sur le SAPL : de la découverte de cette pathologie il y a moins d'un siècle jusqu'à sa prise en charge. Puis, dans une seconde partie nous exposerons notre travail portant sur l'intérêt du dosage des anticorps non conventionnels dans l'exploration du SAPL, et plus particulièrement avec le dosage des anticorps anti-prothrombine. Enfin, dans une dernière partie nous illustrerons notre travail par un cas clinique et nous clôturerons ce mémoire par une discussion générale.



## PARTIE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES DU SAPL

### I. De la découverte du SAPL à son individualisation

**1900 : BORDET et GENGOU** développent un nouveau test sérologique : la réaction de fixation du complément. [1]

**1906 : WASSERMANN** applique la réaction précédente pour un test de sérodiagnostic pour la syphilis (Réaction de BORDET-WASSERMAN) en utilisant un antigène (Ag) identifié par la suite en **1941 par Pangborn** comme étant un phospholipide de charge négative appelé « cardiolipine ». Le terme de fausse positivité (FP) pour la syphilis est utilisé en **1952 par Moor et Mohr** chez un malade atteint de lupus érythémateux disséminé (LED). [1]

**1952 : CONLEY et HARTMANN** observent une activité anticoagulante, c'est-à-dire, un syndrome hémorragique, lié à un anticoagulant circulant (ACC) chez un patient ayant un lupus systémique. [1]

**1954 : BEAUMONT** découvre la présence d'un ACC chez une patiente ayant fait 7 fausses couches (FC) spontanées précoces. [2]

**1963: BOWI et al.** repèrent l'association de thromboses veineuses ou artérielles et d'un ACC « lupique » chez un autre patient vivant avec un lupus. [1]

**1965 : ALARCON-SEGOVIA et OSMUDSON** observent des manifestations thrombotiques périphériques chez des patients lupiques avec une sérologie syphilitiques FP et ACC. [1]

**1972 : FEINSTEIN et RAPAPORT** utilisent pour la première fois le terme d' « anticoagulant lupique » qui est décrit comme étant un inhibiteur acquis de la coagulation. [1]

**1975: NILSSON** décrit une association entre la fréquence élevée de morts fœtales in-utéro chez des femmes ayant un ACC avec présence de multiples infarctus et de nécroses au sein du placenta. [3]

**1977 : VON FELTEN** reconnaît les antiphospholipides (aPL) comme étant la cause de thrombopénies. [4]

**1980 : SOULIER et BOFFA** constatent que les ACC sont aussi associés à des pertes fœtales répétés. Par la suite, ils **définissent une entité** associant : fausses couches spontanées à répétition, thromboses récidivantes et la présence d'un ACC. [3]

**1980 : THIARARAJAN et HARRIS** mettent en avant l'importance des phospholipides chargés négativement. [4]

**1983 : HUGHES et HARRIS** mettent au point un nouveau test radio immunologique (200 à 400 fois supérieur aux tests précédemment utilisés) : ils observent une corrélation entre le test, la présence d'ACC et la survenue de thromboses. Plus tard, ils **confirmeront l'existence du SAPL** en décrivant les anti-cardiolipines (aCL) chez un patient ayant un lupus associé à des thromboses récidivantes. [1]

**1985 : LOUISOU et al** mettent au point un test immuno-enzymatique pour la recherche des anticorps : **le test ELISA**. [1]

**1985 : HUGUES** évoque pour la première fois le « Syndrome des anti-cardiolipines » : associant la présence d'anticorps aCL (méthode ELISA) ou d'ACC avec des manifestations thrombotiques, des avortements et des pathologies cérébrales. [1]

**1987 : HARRIS** démontre que le sérum des patients réagit aussi avec d'autres phospholipides et il **introduit le nom de « syndrome des antiphospholipides »**. Ce syndrome est défini par l'association de thromboses veineuses ou artérielles, de pertes fœtales (PF) répétées et d'une thrombopénie. Il y a alors une **individualisation** de la pathologie. [1]

**1988 : ASHERSON et col** décrivent des manifestations cliniques et biologiques semblables chez des malades ne présentant pas de LED. Ce syndrome sera défini comme le « **syndrome des aPL primaire** ». [1]

**1989 : McNeil** et al définissent la notion de dépendance en « cofacteur » en démontrant la nécessité d'apport de plasma humain ou bovin pour permettre la liaison de certains aPL aux phospholipides. [1]

**1990 :** Le cofacteur décrit précédemment est identifié par 3 équipes différentes qui montrent qu'il s'agit de la  $\beta$ 2-Glycoprotéine I ( $\beta$ 2GPI), une apolipoprotéine plasmatique. [1]

**1991 : BEWERS et al** définissent un second cofacteur : la prothrombine. Ces cofacteurs ont la capacité de se lier aux phospholipides négatifs et de modifier leur configuration moléculaire. [2]

**1991 : VIARD** et al mettent au point le premier test ELISA pour la détection des anticorps anti- $\beta$ 2GPI (a $\beta$ 2GPI). [1]

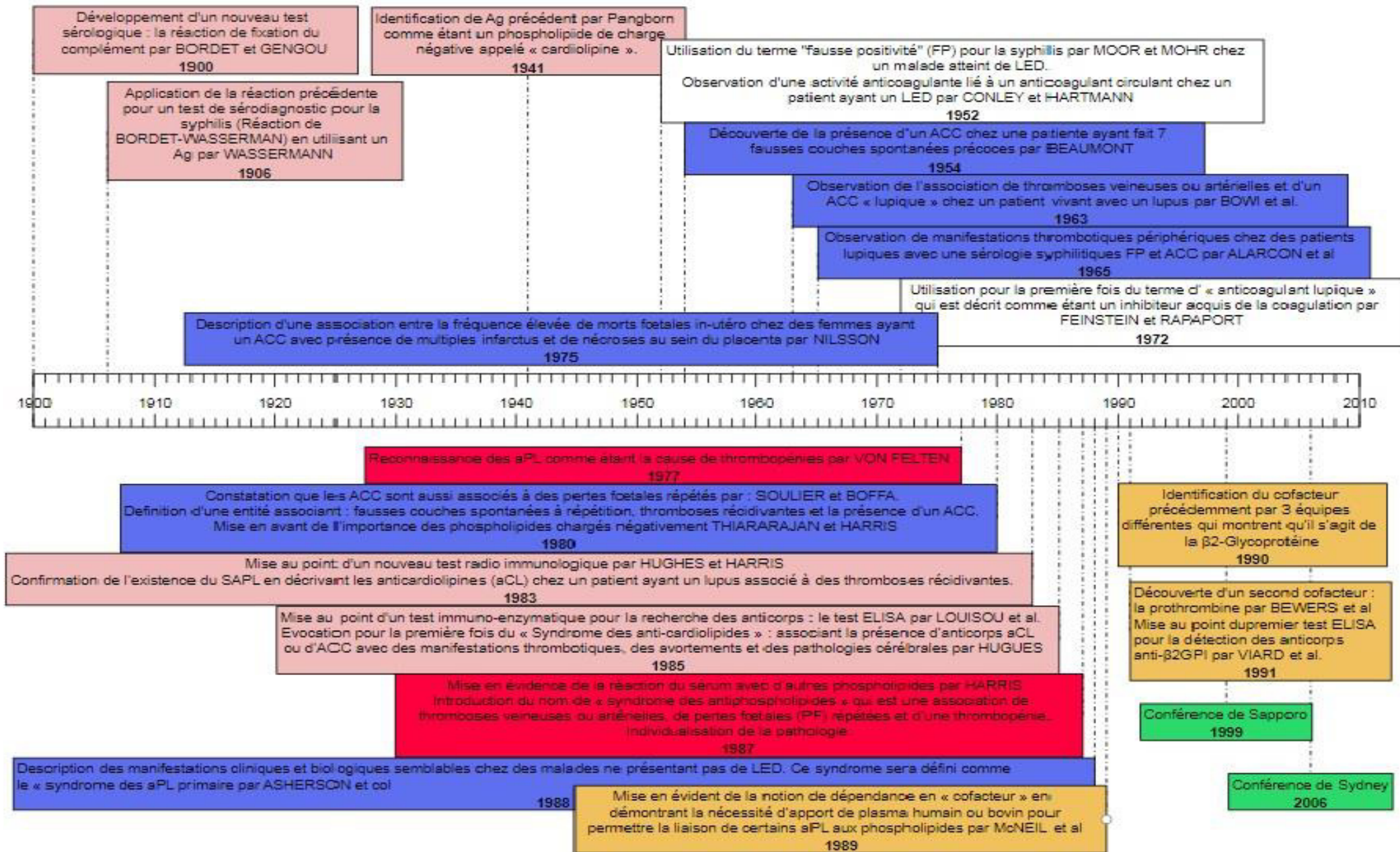
**1999** : La conférence de Sapporo permet de définir les premiers critères du SAPL.

[4]

**2006** : La conférence de Sydney permet une actualisation des critères du SAPL

**2010** : 13<sup>ème</sup> conférence internationale sur les anticorps antiphospholipides qui a permis d'actualiser la prise en charge du SAPL. [5]

**2013** : 14<sup>ème</sup> congrès international sur les anticorps APL tenu à Rio de Janeiro.



## II. Définition

Après **plus d'un siècle de recherches scientifiques**, une définition du SAPL a pu être proposée et validée par différents congrès scientifiques. Longtemps indifférenciée du lupus, une autre pathologie auto-immune, le SAPL se voit par la suite individualisé de celui-ci. Plus précisément, c'est à partir de la seconde moitié du XXème siècle que les découvertes autour de ce syndrome se sont accentuées et précisées.

Dans la littérature, on peut retrouver le SAPL sous différentes appellations : Syndrome de Hughes, Syndrome de Soulier et Boffa.... [6]

Le SAPL est une **maladie auto-immune** (MAI), c'est-à-dire, une pathologie dont les causes et les conséquences sont provoquées par notre propre organisme. En effet, cette maladie est engendrée par des **dysfonctionnements du système immunitaire** (SI) qui vont entraîner des réactions de défenses contre nos propres composants organiques par la présence d'auto anticorps dirigés contre les phospholipides, soit les anticorps antiphospholipides. [7]

C'est une **maladie thromboembolique** dont la définition est complexe car elle repose sur 2 plans :

- **D'un point de vue clinique**, elle se présente principalement par des **thromboses et/ou des complications obstétricales** comme des pertes fœtales, des fausses couches à répétition, des phlébites et encore bien d'autres manifestations.
- **D'un point de vue biologique**, des auto-anticorps, aussi appelés auto anticorps **antiphospholipides** (aPL) seront détectés de manière persistante au sein de l'organisme.

Il est à noter que les manifestations cliniques sont causées par la présence de ces aPL comme le montrent en particulier les modèles animaux.

La pathologie se définit classiquement comme *l'association d'au moins un critère clinique avec un critère biologique persistant 12 semaines* après le premier dosage. Il faut impérativement l'association d'un élément clinique et d'un élément biologique afin de confirmer le diagnostic.

Nous verrons qu'en plus des critères biologiques conventionnels (de définition), le dépistage des anticorps qualifiés de « non conventionnels » peut être intéressant pour la prise en charge des patients présentant un SAPL.

Cette maladie touche principalement les jeunes femmes adultes. [8]

Dans un premier temps, c'est grâce à la conférence de Sapporo en 1999 que nous avons pu avoir une première définition clinico-biologique pour le SAPL. Elle sera très largement utilisée. [9]

Cette définition a ensuite été revue en 2006 lors du 11ème congrès international des antiphospholipides à Sydney. Elle demeure toujours d'actualité sur le plan international au jour d'aujourd'hui et est utilisée couramment par les cliniciens.

D'autres conférences ont eu lieu depuis celle de Sydney afin que des comités d'experts puissent discuter des différentes actualités et découvertes suite aux études menées sur le SAPL. On considère le SAPL comme l'un des plus importants facteurs de risque de maladie thromboembolique veineuse acquise.



## CRITERES CLINIQUES

1. **Thromboses vasculaires :** *Au moins un épisode clinique de thrombose artérielle, veineuse ou de petits vaisseaux quel que soit le tissu ou l'organe*

**ET/OU**

2. **Complications obstétricales :**

- a. *Au moins une mort fœtale inexplicée survenue au-delà de la 10<sup>ème</sup> semaine de gestations ;*

**ET/OU**

- b. *Au moins une naissance prématurée avant la 34<sup>ème</sup> semaine de gestation en raison d'une éclampsie, d'une pré-éclampsie sévère ou d'une insuffisance placentaire ;*

**ET/OU**

- c. *Au moins 3 fausses couches spontanées consécutives survenues avant la 10<sup>ème</sup> semaine de gestations.*

## CRITERES BIOLOGIQUES

1. **Lupus anticoagulant (LA) :** *Présence dans le plasma d'un LA détecté sur 2 prélèvements à au moins 12 semaines d'intervalle, selon les recommandations de l'ISTH ;*

**ET/OU**

2. **aCL :** *Présence dans le sérum ou le plasma d'un aCL d'isotype IgG et/ou IgM à des taux moyens à élevés (>49 GPL ou MPL ou > 99<sup>ème</sup> percentile) et détectés sur 2 prélèvements à au moins 12 semaines d'intervalles par un test ELISA standardisé selon les recommandations européennes ;*

**ET/OU**

3. **aβGPI :** *Présence dans le sérum ou le plasma d'un aβ2GPI d'isotype IgG et/ou IgM à des taux > 99<sup>ème</sup> percentile et détecté sur 2 prélèvements à au moins 12 semaines d'intervalle par un test ELISA standardisé selon les recommandations européennes.*

Tableau 1 : Critères du SAPL retenues suite à la conférence de Sydney en 2006



D'après le tableau ci-dessus qui concerne l'actualisation des critères du SAPL suite à la conférence de Sydney, le SAPL est alors « défini » s'il existe au moins un critère clinique et un critère biologique. Cette condition était déjà obligatoire suite à la conférence de Sapporo.

Cependant, des changements ont été réalisés suite à la conférence de Sydney [9]:

- La première modification apportée est l'ajout d'un critère biologique : l' $\alpha$ 2GPI.
- La seconde modification est la durée au bout de laquelle un aPL est considéré comme persistant : elle est dorénavant de 12 semaines après le premier dosage (contre 8 semaines lors de la conférence de Sapporo).

Il existe 3 principales formes de SAPL : [10]

- **LE SAPL PRIMAIRE** : est ainsi défini un patient étant atteint uniquement d'un SAPL **sans aucun autre signe clinique** rappelant une autre pathologie.
- **LE SAPL SECONDAIRE** : on parlera de SAPL secondaire lorsqu'un patient présentera, en plus du SAPL, **une autre pathologie**. Le plus souvent, le SAPL se retrouve *associé au lupus*, maladie avec laquelle il a une très grande affinité.
- **LE SYNDROME CATASTROPHIQUE DU SAPL (CAPS)** est une forme particulière du SAPL et difficile à étudier à cause de sa rareté. Il a été décrit pour la première fois en 1992 par Asherson. C'est une **clinique accélérée, très grave et mortelle** dans 40% des cas. Pour cette forme de SAPL, la clinique est caractérisée par la survenue, simultanément ou sur une courte période, de thromboses de la microcirculation (majoritairement) à diverses localisations de l'organisme qui entraînent une *défaillance multi-viscérale* mettant en jeu le pronostic vitale dans la plupart des cas. Ceci se traduit par le fait

que les petits vaisseaux se bouchent en même temps à divers endroits du corps, pouvant entraîner une altération du fonctionnement de certains organes. L'adjectif « catastrophique » a été ajouté pour mettre en avant une forme accélérée du SAPL. Il existe un registre international permettant d'étudier l'épidémiologie et qui montre que 30% des cas de CAPS sont précipitamment déclenchés suite à une infection. (<https://ontocrf.grupocostaisa.com/es/web/caps>) [11], [12], [13]

Le CAPS peut être soit révélateur d'un SAPL soit en être une évolution. [14]

Il a été établi une **classification** de la population au sein de cette pathologie, permettant aux patients d'être « catégorisés » en fonction du type et du nombre de critères biologiques présents : [15]

- **Type I:** Présence d'au moins 2 marqueurs biologiques
- **Type II:** Un seul critère biologique présent de façon isolé
  - **IIa :** anti coagulant circulant isolé
  - **IIb:** anti-cardiolipine isolé
  - **IIc:** anti-β2GP1 isolé

Cette classification est importante car elle est basée sur le fait que le **risque d'apparition de manifestations cliniques dépend du type d'aPL présent** et de ce fait en découle un intérêt d'un point de vue pronostic. [16]

En effet, on a pu déduire que, premièrement, le **risque de thromboses sera d'autant plus grand qu'il y aura plus d'un critère biologique positif** : une triple positivité (LA, aCL, aβGP1) sera donc associée à un très haut risque de thromboses ou de complications obstétricales. Et, secondement, **l'AC le plus pathogène reste l'aβGP1**. Une étude menée par R. Forastiero et son équipe sur 194 patients confirme les deux phénomènes qui ressortent de cette classification [17], [18]

### III. Epidémiologie

Avant de s'intéresser à l'épidémiologie de cette maladie, il est important de ne pas confondre la prévalence du SAPL avec la prévalence de la présence d'aPL chez un patient. En effet, cette différence est primordiale car la présence d'aPL n'est pas systématiquement synonyme de SAPL et peut être uniquement transitoire.

En 2008, *d'après une publication d'Orphanet*, il semblerait que la **prévalence du SAPL soit semblable à celle du lupus (1/2400 personnes)** et qu'un patient atteint d'un lupus développe dans 20 à 30% des cas un SAPL secondaire (soit une prévalence de 1/12000 à 1/8000 environ). [8]

En 2014, *d'après la Société National Française de Médecine Interne (SNFMI)*, la prévalence du SAPL primaire serait de l'ordre de **0.5% de la population générale**. Et, un patient souffrant d'un lupus a un risque compris entre 20 et 40% de développer un SAPL associé. [19]

En théorie, les **femmes seront 4 à 5 fois plus touchées** que les hommes par le SAPL primaire et 9 fois plus concernées par le SAPL secondaire. Cette théorie est aussi confirmée par l'étude de 2011 à Nantes où parmi les 59 cas de SAPL nous y regroupons 42 femmes pour 17 hommes. [17]

Les enfants seront rarement touchés mais ne sont pas exclus. [8]

Le SAPL est présent **partout dans le monde** mais on sait que le lupus touche d'avantage les **populations noires** (et le lupus est souvent associé à un SAPL secondaire). [8]

Comme dit précédemment, il existe plusieurs formes de SAPL. Pour rappels, il s'agit du SAPL primaire, secondaire et du syndrome catastrophiques des antiphospholipides.

Les différentes études de la prévalence de cette maladie démontrent que le **SAPL primaire représente plus de la moitié des cas**. En effet on parle de 1/2400 personnes atteintes de SAPL primaire VS 1/8000 (à 1/12 000) personnes atteintes de SAPL secondaire. Une étude effectuée à Nantes en 2011 nous prouve ces valeurs : sur 59 patients analysés, 45 présentaient un SAPL primaire contre 14 cas de SAPL secondaire. Cependant, le SAPL primaire peut évoluer en un SAPL secondaire. [17], [8]

Concernant le CAPS, la plus grave et, heureusement, rare des formes de SAPL, la prévalence ne s'élève pas plus haut que **1% des cas de SAPL**. Ce syndrome catastrophique est mortel dans 40% des cas. [14]

Qu'importe la forme de SAPL, les femmes seront toujours les plus touchées par rapport aux hommes. Pour la forme CAPS du SAPL, les femmes seront aussi les plus atteintes (69% VS 31%). [14]

## IV. Physiopathologie

### 1. Contexte entourant la pathologie

Il est nécessaire de faire quelques rappels afin de parler de la physiopathologie en elle-même.

Chaque individu vivant possède un **système immunitaire (SI)** qui lui est **propre et unique** : on en hérite dès la naissance mais il n'est pas figé dans le temps et va évoluer tout au long de notre vie.

Le SI a pour but de **défendre notre organisme** grâce à une multitude d'éléments coordonnés entre eux et divisés en deux catégories principales : les éléments de reconnaissance et les éléments de défense.

Une notion fondamentale à l'équilibre de cette immunité est la **tolérance du soi**. Cette tolérance permet au SI de ne pas s'activer vis-à-vis de ses propres antigènes.

Le fonctionnement de la réponse immunitaire repose sur une théorie : **la théorie de danger** qui a été avancée par les travaux du Dr Polly MATZINGER en 1994. [20]

Elle remet en cause le concept en place depuis les années 50 et reposant sur la différenciation du soi et du non soi.

La théorie du danger repose sur une *reconnaissance de motifs moléculaires portés par les pathogènes* (et absents de la surface des cellules du soi), les PAMP (Pathogen associated molecular pattern), ou les DAMP, Danger associated antigenic molecular pattern), ces DAMP pouvant provenir d'un pathogène (non soi) ou d'un tissu lésé (soi modifié) [21]

Concernant les maladies auto-immune (MAI) la réponse immune est dirigée contre les antigènes de notre organisme, qui ne sont pas des pathogènes.

Cet état est lié à la [rupture des mécanismes de tolérance aux antigènes du soi](#), impliquant l'ensemble des composants du SI comme les lymphocytes T auto réactifs et les lymphocytes B qui produiront des auto-anticorps. Alors qu'habituellement nos anticorps (AC) tolèrent nos constituants, lors des MAI, ils vont s'attaquer à nos auto-antigènes et provoqueront des lésions cellulaires.

Les MAI sont des maladies qui deviennent de plus en plus fréquentes. Elles sont très **hétérogènes et généralement évoluent selon un mode chronique**. La prévalence dans la population globale des MAI est de l'ordre de 7%.

Dans le SAPL, le dysfonctionnement de l'immunité est provoqué par les antiphospholipides, qui sont au cœur de cette pathologie et qui, comme leur nom l'indique, seront dirigés contre nos phospholipides ainsi que leurs protéines cofacteurs.

C'est à la surface des phospholipides que reposent les réactions pathologiques du SAPL. Un phospholipide est un lipide qui possède une propriété particulière : il est amphiphile. C'est-à-dire qu'il est à la fois hydrophile (attirance pour les molécules d'eau) au niveau de la « tête » et hydrophobe au niveau de la « queue ».

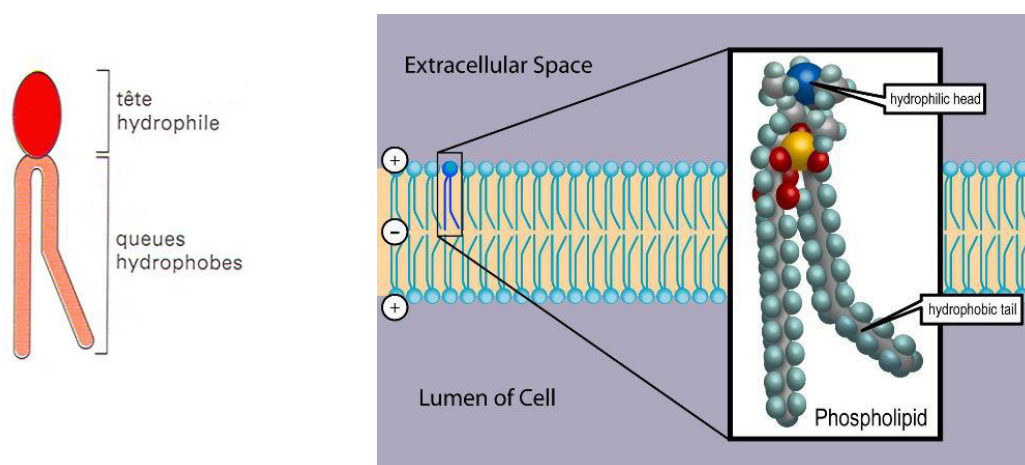
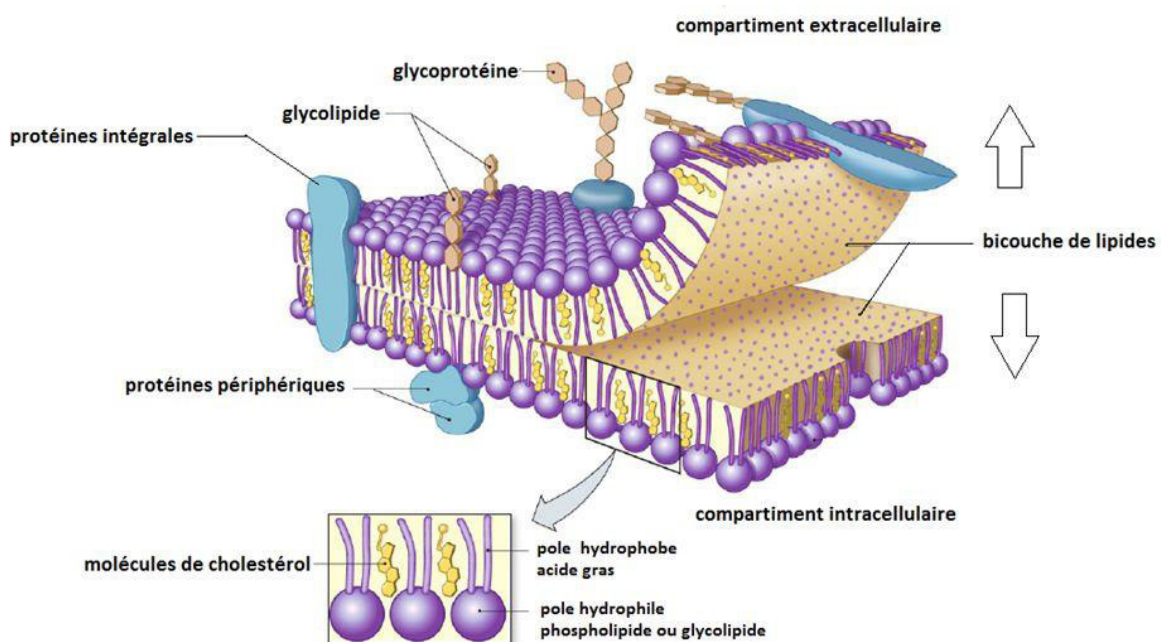


Figure 2 : Représentation d'un phospholipide

Ceux sont les **principaux constituants de nos membranes cellulaires**.

Ils s'organisent en bicouches lipidiques dans lesquelles la partie hydrophobe ou, lipophile, (sans affinité pour l'eau) se situe à l'intérieur de la structure alors que la partie hydrophile, elle, se retrouve à la surface de ces bicouches. Il y a d'autres composants qui peuvent s'insérer dans cette bicouche : le cholestérol, des glycoprotéines, des glycolipides, des protéines... Cet ensemble forme une barrière imperméable et rigide (particulièrement grâce au cholestérol) et assure des fonctions de transduction des signaux, de communication et de protection.



*Figure 3 : Représentation de nos membranes cellulaires*

Lors d'une lésion cellulaire, les **phospholipides sont indispensables pour les phénomènes de la cascade de la coagulation** où ils servent de support pour l'activation enzymatique des facteurs de la coagulation. La coagulation est un mécanisme permettant **l'arrêt des saignements** grâce à un enchaînement de réactions qui va aboutir par la formation d'un caillot de fibrine et la réparation de la lésion tissulaire.

Lorsqu'un patient présente un SAPL, un **état d'hypercoagulabilité** va se mettre en place dans l'organisme car les aPL vont interférer avec les étapes de la coagulation.

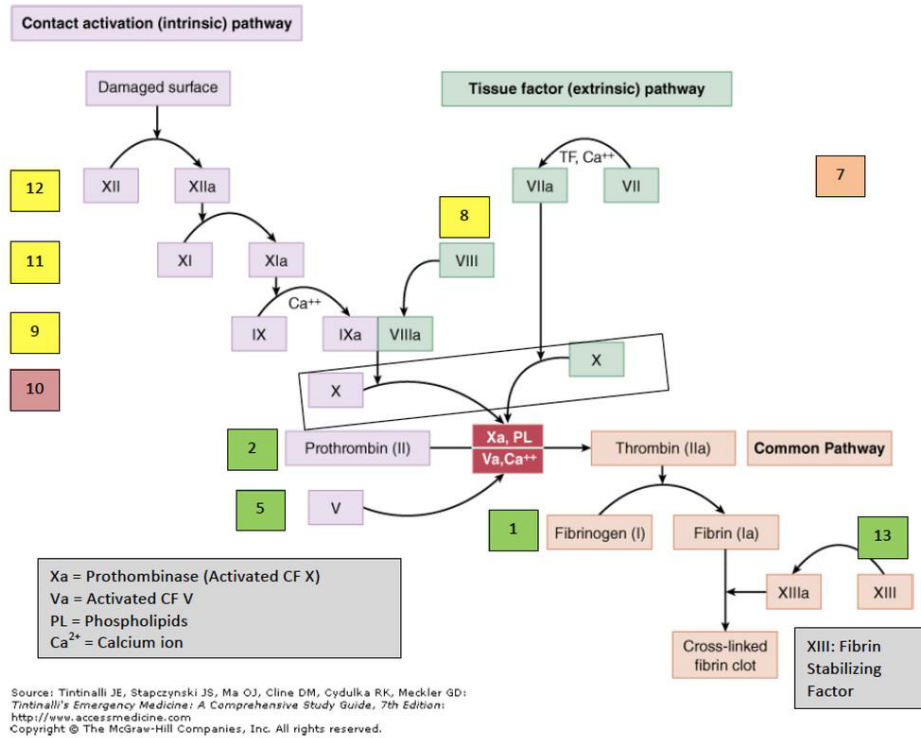


Figure 4 : Cascade de coagulation



## 2. Pathogénèse

Le SAPL est une **pathologie très hétérogène** rendant sa physiopathologie difficile à comprendre et à expliquer même si l'association entre thromboses, complications obstétricales et aPL ne reste plus à être prouver.

De ce fait, il n'existe pas de mécanisme pathologique unique. De nombreuses études ont été réalisées pour tenter de répondre aux multiples hypothèses concernant le lien entre les aPL et les thromboses.

Il existe un paradoxe concernant ces aPL. In vitro, ils allongent les temps de coagulation phospholipides dépendants (action anti coagulante) alors que parallèlement, ils ont une action pro-thrombotique in vivo. [22]

Les aPL, en plus d'avoir un intérêt diagnostique, ont un rôle pathogène sur l'organisme. Ceux dirigés contre la  $\beta$ 2GPI sont les plus étudiés dans la littérature, la B2GPI étant la protéine au centre du SAPL.

Puisque les phospholipides sont au centre des mécanismes de l'hémostase, il est facilement compréhensible que des aPL conduisent à une pathologie thrombotique.

### a. Les thromboses

Il a été reconnu qu'il y avait un **risque deux fois plus important** d'apparition de thromboses chez une personne ayant des aPL par rapport à une personne sans anti-phospholipide ainsi qu'un risque de **récidives dix fois plus importants** chez ces mêmes sujets. [23]

Chez les **modèles utilisant l'animal**, l'immunisation (passive ou active) avec des aPL humains ou murins entraînent l'apparition d'une thrombose. Des études menées par Pierangeli et al. démontrent que les thrombus provoqués par des aPL de patients ayant un SAPL sont plus gros et plus long à disparaître que ceux induits avec des aPL de sujets porteurs des AC sans clinique [24]

La **cible majeure connue dans ce syndrome est la  $\beta$ 2GPI**. C'est une protéine plasmatique ayant un rôle anticoagulant et qui se lie fortement à la surface des phospholipides. Suite à cette fixation, ces molécules subissent des changements [25] :

- Dimérisation de la  $\beta$ 2GPI qui devient alors **fortement immunogène**
- Augmentation de *l'exposition de certains phospholipides (anioniques principalement), démasquant ainsi des récepteurs.*

Cet ensemble amplifie la fixation des auto-anticorps qui vont pouvoir reconnaître les complexes phospholipides/protéines exprimées à la surface plaquettaire. Ils vont alors pouvoir interagir et engendrer des **activations cellulaires** comme par exemple, **au niveau des plaquettes, des monocytes ou des cellules endothéliales** qui vont **altérer l'expression ou la production de nombreuses molécules**. [26]

Un modèle de **thrombose « en deux temps »** est proposé pour expliquer la formation de thrombus chez les patients atteints du syndrome des antiphospholipides. Un « premier coup » blesse l'endothélium et il doit impérativement avoir un « deuxième coup » qui potentialise la formation de thrombus.

Meroni et al ont avancés des travaux qui expliquent ce modèle dans une théorie : **la théorie du « double hit »**. A ce jour, elle reste le modèle retenu pour expliquer la physiopathologie du SAPL. [24]

Ces travaux auraient démontré que les **aPL représenteraient la première condition** (le premier signal) nécessaire à la formation de thromboses.

Les aPL **déplacent la balance de l'hémostase** vers un état pro-thrombotiques mais leur présence reste *insuffisante* pour provoquer la formation de thrombus d'où, le besoin fondamental d'un « second hit » comme par exemple un processus infectieux ou une inflammation.

Cette **nécessité coïnciderait avec la présence persistante des aPL** mais la **survenue aléatoire des thromboses**.

Les aPL vont induire de nombreuses perturbations pouvant expliquer les manifestations cliniques observées chez les patients. Les aPL **vont être capables d'inhiber de nombreuses réactions anticoagulantes** comme par exemple au niveau de la protéine C ou de l'activité de l'antithrombine qui ont un rôle régulateur de la coagulation.

*Effets rapportés des aPL sur : [27], [28]*

- **VOIE DE LA PROTEINE C.** Cette protéine est une enzyme vitamine K dépendante. En binôme avec la protéine S et une fois activée (Protéine C activée = PCa) par le complexe Thrombine/Thrombomoduline, elle a pour *rôle d'inhiber la coagulation par inactivation du Facteur Va et du Facteur VIIa.*

Les aPL, vont se lier à leur cofacteur de prédilection (complexe aβ2GP1/β2GP1 par exemple) et vont **entrer en compétition avec la PCa.** Ainsi, la PCA sera dans l'incapacité de se fixer à la membrane et de former son complexe anticoagulant. *On aura alors un état d'hypercoagulabilité.*

La présence de la β2GP1 reste indispensable à cette étape car elle permet la liaison entre les aPL et la protéine C.

- **VOIE DU FACTEUR II OU PROTHROMBINE.** Elle est le précurseur de la thrombine qui a un rôle primaire dans la cascade de coagulation en catalysant la conversion du fibrinogène soluble et fibrine insoluble.

Les aPL vont provoquer une **activation anormale de la prothrombine** induisant des phénomènes de *coagulation pathologique.*

- **VOIE DE LA PROTEINE S.** Elle joue le rôle de cofacteur de la PC.

Les aPL provoquent un **déficit en protéine S**, entraînant alors, ici aussi, un état *d'hypercoagulabilité.*

- **VOIE DE LA THROMBOMODULINE.** Ce cofacteur de la thrombine est une protéine membranaire retrouvée à la surface des cellules endothéliales.

Une interaction au niveau de cette protéine **va empêcher l'activation de la PC** et va donc provoquer une *impossibilité à jouer son rôle anticoagulant.*

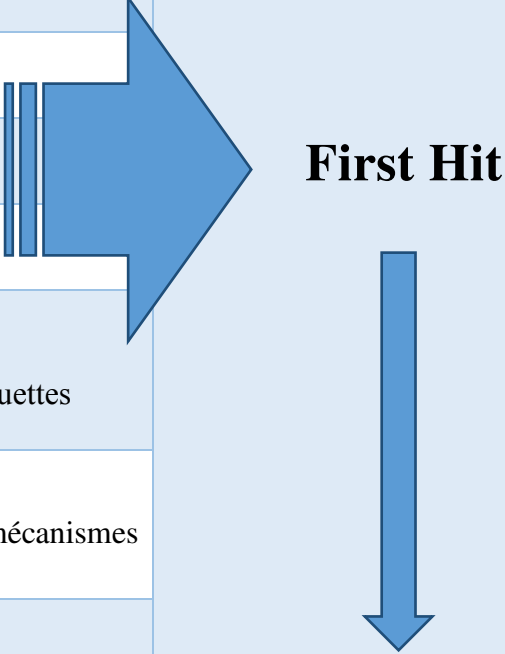
- **VOIES DES PLAQUETTES.** Il va y avoir une **exposition des phospholipides anioniques** à la surface des membranes. Ces surfaces deviendront des **supports « pro-coagulants »**.

Des études, toujours réalisées chez les souris, montrent un **accroissement de l'agrégation plaquettaire ainsi que de l'activation des plaquettes** circulantes, après injections de  $\beta$ 2GP1.
- **VOIES DES CELLULES ENDOTHELIALES.** Les AC aPL ont la possibilité de **modifier le phénotype** de ces cellules en phénotype pro-coagulant et pro-inflammatoire.

Les a $\beta$ 2GP1 vont former un complexe avec les  $\beta$ 2GP1 qui va **favoriser l'activation des facteurs tissulaires** exprimées par les cellules endothéliales et les monocytes. De plus, leur rôle pro-coagulant va être renforcé par **l'inhibition** des mécanismes anticoagulants comme celui de la **fibrinolyse**.
- **VOIE DE L'ANNEXINE.** Les aPL **bloqueraient l'annexine V** qui est un **puissant anticoagulant** naturel lié à la surface membranaire par des phospholipides anioniques.

La  $\beta$ 2GP1 interagit avec ces derniers permettant la **transmission d'un signal « thrombo-modulateur »**.
- **VOIE DE L'ANTITHROMBINE.** L'antithrombine est un anticoagulant par inhibition des facteurs IXa, Xa et de la thrombine. Son rôle ne pourrait se jouer sans les protéoglycanes à héparane sulfate (PGHS) retrouvée au niveau de l'endothélium.

Des aPL dirigés contre ces PGHS témoignent **d'une activité diminuée de cet anticoagulant naturel**.
- **VOIE DU CHOLESTEROL :** L'interaction des aPL (de type aCL plus particulièrement) a été rapportée avec les LDL oxydées donnant ainsi une prédisposition à l'athérosclérose ainsi qu'une activation du complément.

<i>VOIES ALTEREES</i>	<b>MECANISMES PATHOLOGIQUES CAUSES PAR LES APL</b>	<b>CONSEQUENCES</b>
<i>Voie de la protéine C</i>	<b>Phénomène de compétition</b> entre les aPL et la PCa → Impossibilité de former le complexe anticoagulant	 <p><b>First Hit</b></p> <p><b>Etat</b></p> <p><b>d'hypercoagulabilité</b></p>
<i>Voie du facteur II ou prothrombine</i>	<b>Activation anormale de la PT</b> → Amplification de la coagulation	
<i>Voie de la protéine S</i>	<b>Déficit de la PS</b> → Diminution de l'inhibition de la coagulation	
<i>Voie de la thrombomoduline</i>	<b>Interaction qui empêche l'activation de la PC</b> → Impossibilité de jouer le rôle anticoagulant.	
<i>Voies des plaquettes</i>	<b>Exposition des phospholipides anioniques</b> → Supports « pro-coagulants » → Accroissement de l'agrégation plaquettaire et de l'activation des plaquettes	
<i>Voies des cellules endothéliales</i>	<b>Formation de complexes</b> → Favorise l'activation des facteurs tissulaires et l'inhibition des mécanismes anticoagulants (fibrinolyse)	
<i>Voie de l'annexine</i>	<b>Déplacement de l'annexine V</b> → Diminution de son rôle anticoagulant	
<i>Voie de l'antithrombine</i>	<b>aPL dirigés contre ces PGHS</b> → Diminution de l'activité de cet anticoagulant naturel.	
<i>Voie du cholestérol</i>	<b>Interaction des aPL avec les LDL oxydées</b> → Prédisposition à l'athérosclérose ainsi qu'à l'activation du complément.	

En somme, les aPL vont **agir sur de nombreuses voies** en bloquant l'accès à certains facteurs de la coagulation.

La présence et la fixation des aPL constituent une première étape et la formation du thrombus **dépend donc d'un second évènement**. [29]

A ce moment-là, *le second signal pourra se mettre en place* afin de déclencher la coagulation. Ce « second hit » peut avoir **diverses origines** : un **évènement inflammatoire, un processus infectieux**... Tout ce qui peut être **perçu comme danger** peut être un évènement déclencheur qui a pour rôle de dévoiler certaines cibles des aPL ou d'augmenter leur expression.

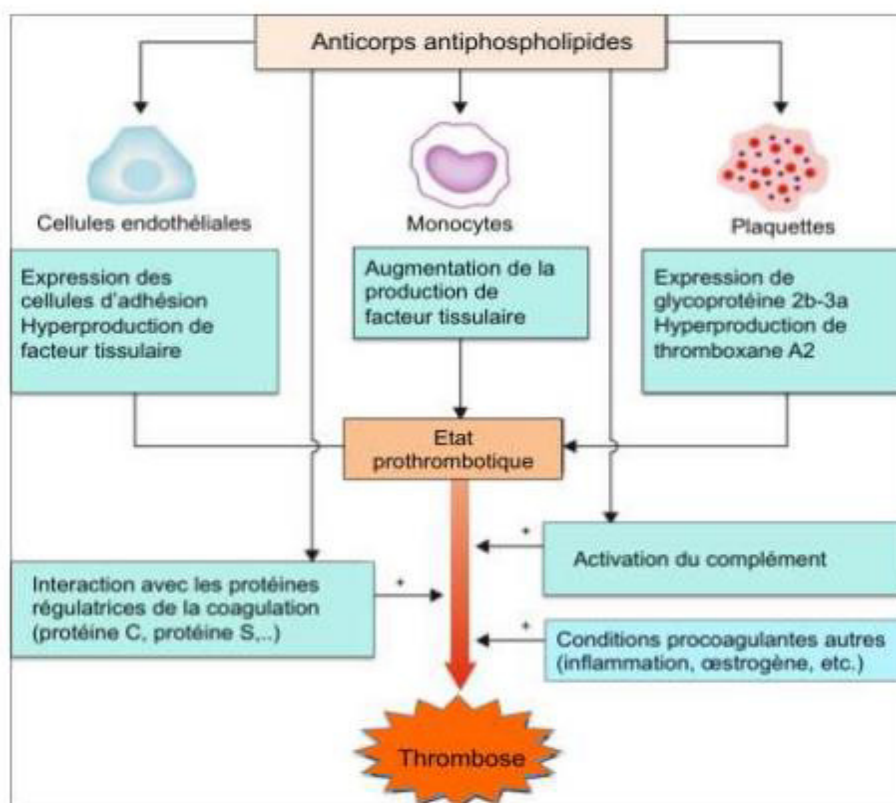


Figure 5 : Théorie du « Double Hit »

Le second hit **peut passer par la voie du complément**. En effet, il est important de ne pas oublier que les aPL peuvent activer le complément et qu'à ce moment-là, cette **étape est indispensable à la survenue des événements cliniques de cette pathologie**. C'est pourquoi tous les patients ayant des aPL dans leur sérum n'auront pas forcément de thromboses veineuses profondes (TVP) car il faut obligatoirement cette deuxième condition pour la survenue des manifestations cliniques.

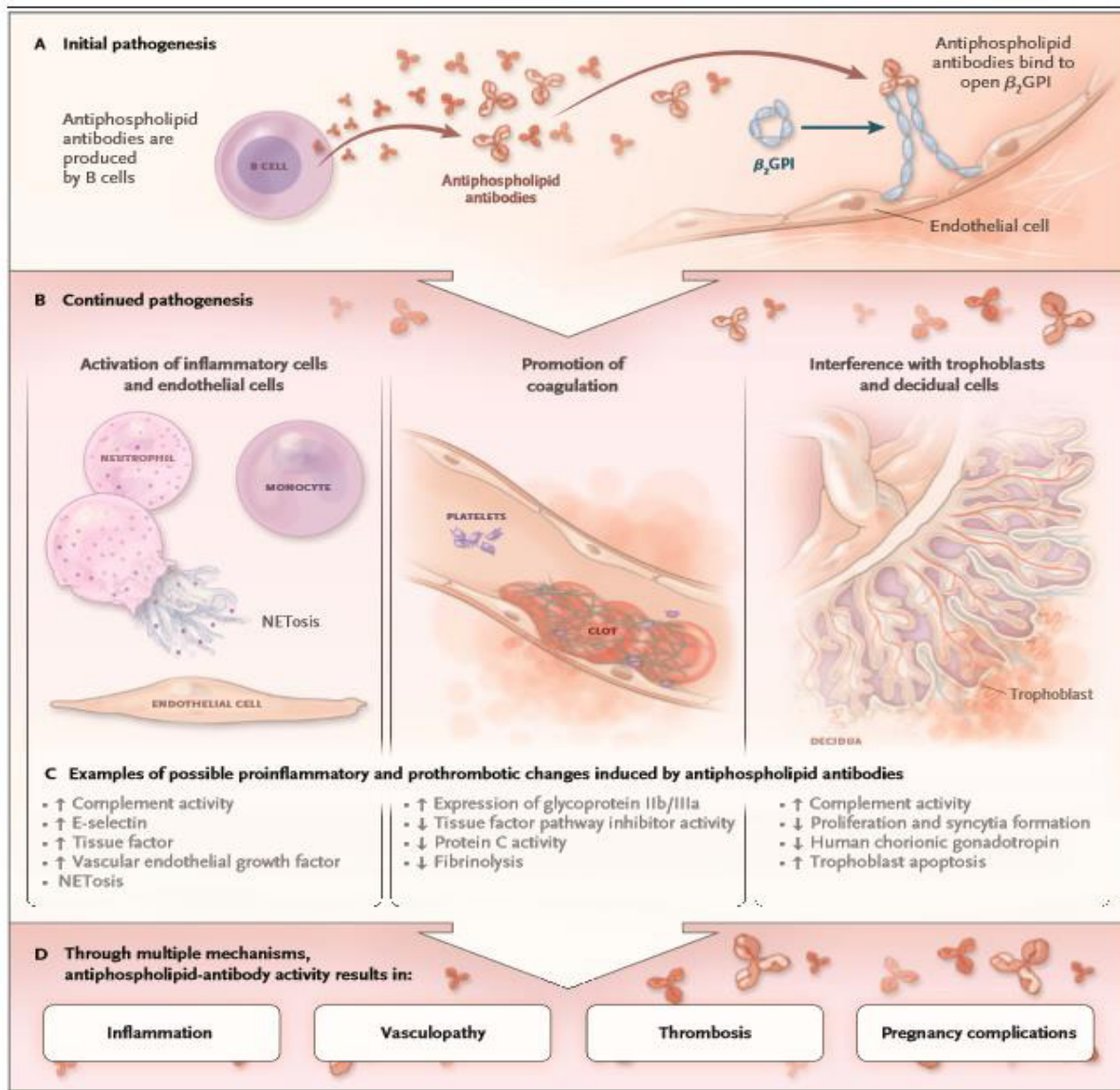


Figure 6 : Le « Double Hit »



## b. Evènements obstétricaux

Chez les modèles animaux utilisant des souris, **la simple administration d'aPL suffirait à induire des pertes fœtales**. Cette observation va contre le « Double Hit » qui explique que la seule présence des aPL n'est pas suffisante pour induire des thromboses. Il est alors envisageable de **considérer la grossesse comme étant en elle-même une situation à risque** et donc, de constituer le « second hit ». En effet, les modifications hormonales et vasculaires durant cette étape de la vie suffisent pour **établir un état de risque thrombotique pour la femme**. [30]

Maintenant que ces faits ont été rappelés, on peut donc affirmer que, tout comme lors des thromboses veineuses, les aPL vont provoquer, par le biais d'un état pro-coagulant, les différentes complications obstétricales qui peuvent apparaître chez une femme enceinte atteinte d'un SAPL *Les pertes fœtales, les accouchements prématurés et tous les autres problèmes obstétricaux sont donc imputables aux aPL*.

Par quels moyens les aPL vont induire la clinique obstétricale ? Les mécanismes misent en cause semblent être les mêmes que ceux cités pour les TVP.

Par exemple, au niveau maternel, les aPL vont provoquer des **thromboses au niveau du placenta** ainsi que des **infarctus** qui induira un **état pro-inflammatoire**.

De plus la **B2GPI est retrouvé en grande quantité au niveau du placenta**.  
[24]

Par la suite, chez les femmes enceintes ayant des aPL, **l'annexine V** (AV, puissant anticoagulant), n'est **pas retrouvée en aussi grande quantité** au niveau du placenta que chez des femmes sans aPL.

Chez ces femmes saines, la présence de l'annexine dans la circulation aurait un *rôle protecteur vis-à-vis des facteurs de coagulation* et empêcherait donc la formation de thromboses. Cette diminution de la concentration en AV s'explique par la formation d'un complexe aPL/phospholipide qui déplace alors l'AV.

Enfin, il va y avoir des modifications au niveau fœtal : une interaction entre les phospholipides des trophoblastes et des vaisseaux placentaires avec certains facteurs de coagulation entraînant **l'activation de la cascade de coagulation** qui aboutit à la formation de thrombus. Cette interaction modifie les fonctions de ces cellules et peut entraîner une *diminution de leur prolifération et donc un retard de croissance* ou un *problème d'implantation du fœtus*.

Cet ensemble de mécanismes est alors responsable de différents évènements obstétricaux que l'on peut retrouver durant cette pathologie.

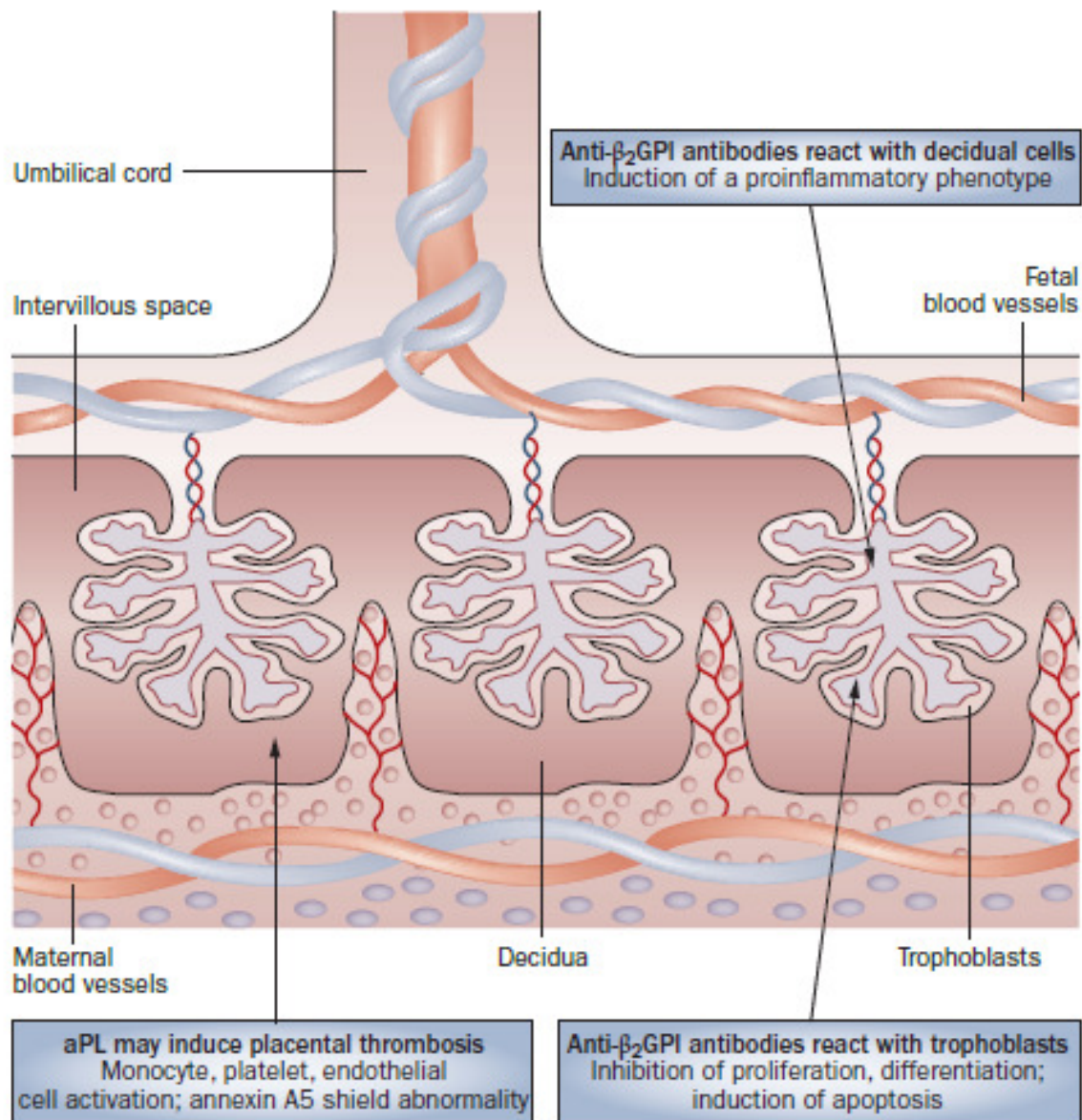


Figure 7 : Pathogénèse des évènements obstétricaux

## V. Diagnostic

### 1. Clinique

Le SAPL est la **principale cause de thrombophilie acquise**. [31]

Etant une pathologie très hétérogène, la clinique peut se manifester de diverses manières. Parmi celles-ci, seuls certains signes ont été retenus comme critères du SAPL.

#### *a. Critères*

Pour rappel, le diagnostic de cette pathologie repose sur une **double dimension clinico-biologique** : il faut obligatoirement l'association d'un critère clinique ET d'un critère biologique.

Les critères cliniques permettant de poser le diagnostic de SAPL ont évolué au cours des années. Ils ont été actualisés en 2006 lors de la conférence de Sydney à cause du manque de spécificité et de sensibilité avec les patients présentant un risque thrombotique.

Suite à cette conférence, il en a été déduit que le SAPL pouvait se manifester par 2 type de cliniques différentes [32] :

## Thromboses vasculaires :

Au moins une manifestation clinique (ou plus) de thrombose artérielle, veineuse ou de petits vaisseaux quel que soit le tissu ou l'organe.

*Cet épisode doit être confirmé par imagerie ou par histopathologies.*

## Complications obstétricales :

*Au moins une mort fœtale inexplicée survenue au-delà de la 10<sup>ème</sup> semaine de gestation.*

*Au moins une naissance prématurée avant la 34<sup>ème</sup> semaine de gestation à cause d'une éclampsie, d'une pré-éclampsie sévère ou d'une insuffisance placentaire.*

*Au moins 3 fausses couches spontanées successives survenues avant la 10<sup>ème</sup> semaine de gestation.*

*Tableau 3 : Critères cliniques du SAPL actualisés en 2006*

En s'intéressant un peu plus aux thromboses, on peut affirmer qu'elles sont **majoritairement veineuses**. En effet, le secteur veineux sera prédominant en particulier au niveau des veines profondes des membres inférieurs ou encore au niveau de la veine cave inférieure, des veines sous-clavières ou axillaires.

A côté de ces localisations, le secteur artériel présente moins de 40% de risques thrombotiques.

La grossesse représente par définition un état pro-thrombotique et, de ce fait, représente une situation à risque.

Une grossesse chez une femme atteinte de SAPL **voit le risque de survenue de thrombose majoré à cause de la présence des aPL** : il est de l'ordre de 30% pour une première grossesse et augmente après chaque fausse couche. Les manifestations obstétricales associées au SAPL sont multiples : fausses couches, retard de croissance intra utérin et mort fœtale inexplicée.

**La gravité, la fréquence, et les récurrences** de ces manifestations définissent cette MAI comme une pathologie très hétérogène.

A noter quelques différences entre la clinique du SAPL primaire ou secondaire et la clinique du CAPS.

A l'inverse du SAPL, le **CAPS touchera beaucoup plus rarement les vaisseaux** de moyens et gros calibres et les thromboses seront essentiellement au niveau des petits vaisseaux.

Bien souvent, un évènement déclencheur est retrouvé comme une chirurgie, un arrêt ou une modification d'un traitement anticoagulant ou encore, un épisode infectieux le plus fréquemment.

Ce syndrome est une **urgence vitale** et une prise en charge devra être mise en place le plus rapidement possible. Bien souvent, le patient est placé en unité de soins intensifs avec des traitements qui sont très lourds mais efficaces.

Il existe des critères permettant de diagnostiquer ce syndrome qui ont été définis en 2003 par Asherson et son équipe puis revus en 2010.

Le CAPS est confirmé si les 4 critères cités ci-dessous sont présents (voir tableau). A noter le diagnostic différentiel entre un CAPS confirmé et un CAPS probable. [12]

	<b>Diagnostic CAPS certain</b>	<b>Diagnostic CAPS probable</b>
<b>Critère 1</b>	Atteinte d'au moins 3 organes, systèmes et/ou tissus	Atteinte de <b>seulement 2 organes</b> , systèmes ou tissus
<b>Critère 2</b>	Se constituant en moins d'une semaine	<b>Délai d'une semaine non respecté</b> (supérieur) ou le 3 <sup>ème</sup> événement survient entre 1 semaine et 1 mois après le début du CAPS malgré un traitement anticoagulant
<b>Critère 3</b>	Avec <b>confirmation anatomopathologique</b> d'une occlusion des petits vaisseaux dans au moins un organe ou tissus	<b>Pas de confirmation</b> histologique obtenue
<b>Critère 4</b>	<b>Présence d'aPL confirmés</b> au moins <b>12</b> semaines après	<b>Absence de confirmation biologique</b> (décès précoce du patient)

*Tableau4 : Diagnostic différentiel : CAPS confirmé VS CAPS probable*

## b. Autres manifestations rencontrées lors du SAPL

La plupart des manifestations sont causées par l'**obstruction des vaisseaux sanguins** dû à une **hypercoagulabilité**. De ce fait, en fonction de l'endroit où se produit la thrombose, on peut rencontrer, assez fréquemment, d'autres types de manifestations cliniques mais qui ne rentrent pas en compte dans les critères de diagnostic.

Parmi ces autres manifestations on retrouve des expressions de types :

- **DERMATOLOGIQUES**: Le **livedo** (coloration bleue-violacée au niveau du tronc, des jambes ou des avant-bras en forme de mailles de filet à cause du froid ou de la compression) serait présent dans 40% des SAPL ce qui en fait une des manifestations les plus courantes en dehors des critères cliniques. En dehors de cette manifestation, on peut apercevoir un développement de **purpura** (lésion due à une microhémorragie), **d'ulcérations** cutanées, de **gangrènes** digitales, d'un **syndrome de Raynaud**, des lésions pseudo-vasculitiques, des **nécroses** digitales, des **hémorragies sous-unguéales ou des anétodermie** (pertes localisées de tissus élastiques) [33]
- **CARDIAQUES**: Il a été remarqué que de nombreuses **anomalies valvulaires** étaient corrélées aux taux d'AC aCL : il s'agit principalement d'insuffisance ou d'épaississement des valves. Plus rarement, on peut voir des atteintes des artères coronaires et en dehors de ces anomalies, des manifestations de types insuffisances cardiaques, infarctus du myocarde (IDM), endocardites pseudo-infectieuses, athérosclérose, hypertrophie ou dysfonction ventriculaire peuvent se présenter lors d'un SAPL [34].



- **NEUROLOGIQUES**: Les thromboses peuvent s'étendre au niveau du système nerveux et plus précisément, c'est au niveau du cerveau qu'on retrouvera la majorité des thromboses artérielles. Elles entraîneront essentiellement des **accidents vasculaires cérébraux (AVC) ou des accidents ischémiques transitoires (AIT)**. Il a été décrit d'autres symptômes comme des occlusions d'artères ou de **veines rétiniennes** ou des thrombophlébites cérébrales. D'autres manifestations, non thrombotiques, peuvent avoir lieu comme la myélite, l'hémiballisme, la chorée (mouvements anormaux, involontaires, irréguliers et imprévisibles), des crises épilepsies, des migraines, ainsi que des symptômes plus cognitifs comme la démence, des amnésies transitoires ou des troubles psychologiques [35].
  
- **PULMONAIRES**: En plus des embolies pulmonaires qui sont provoquées lorsqu'un caillot se détache et vient boucher l'artère pulmonaire, un patient peut être atteint **d'infarctus pulmonaire, d'hypertension artérielle pulmonaire ou d'un syndrome de détresse respiratoire aiguë** par exemple. Il peut aussi présenter des capillarites pulmonaires ou des hémorragies intra-alvéolaires [36], [39].
  
- **DIGESTIFS**: Les manifestations du système digestif sont assez rares mais peuvent être graves. Cependant, on peut retrouver quelques cas de **splénomégalie, d'hypertension** au niveau de la veine porte (par thromboses des veines sus-hépatique ou de la veine porte), de **pancréatites**, de **cholécystites** alithiasiques ou encore d'hémorragies et d'ulcérations digestives [36].

- **RENAUX**: Au niveau rénal, les symptômes seront généralement asymptomatiques : bien souvent, on se rendra compte de leur présence par des analyses (urines). Ces manifestations sont dominées par l'occlusion des petites artères ou leur sténoses provoquant une hypertension artérielle (HTA), une **protéinurie**, une **hématurie** et parfois même une **insuffisance rénale** entraînant une perte de l'équilibre de l'organisme puisque les reins sont le siège de l'élimination de nombreuses substances présentes dans notre corps [37], [39].
- **HEMATOLOGIQUES**: Au niveau des analyses sanguines, on peut voir une **thrombopénie**, c'est-à-dire une diminution du taux de plaquettes (éléments de la coagulation). On verra aussi des cas **d'anémies** (diminution de l'hémoglobine des globules rouges) [38].
- **AUTRES**: Les patients peuvent également souffrir d'insuffisance surrénale, d'une diminution de la vision, de dysthyroïdies, ou d'ostéonécrose [36], [39].

Enfin, dans l'ensemble des systèmes cités ci-dessus, on pourra voir un infarctus de l'organe à cause des thromboses pouvant entraîner la nécrose de ce dernier qui ne sera plus irrigué.

## 2. Biologiques

Il a été mis en place des recommandations quant à l'initiation d'un dosage des aPL. Une recherche des marqueurs doit être motivée pour les indications suivantes [40]:

- Thromboses veineuses profondes (TVP) ou embolie pulmonaire ainsi que leurs récurrences ;
- Antécédents de fausses couches à répétition précoces ou tardives ;
- Pré-éclampsie précoce ou sévère ;
- Insuffisance placentaire sévère ;
- Retard de croissance intra utérin inexplicé ;
- Femmes enceintes ayant une MAI ou des antécédents familiaux ;
- Sujets de moins de 50 ans ou sujets de plus de 50 ans sans facteur de risque présentant un AVC ou une thrombose artérielle périphérique à des sites inhabituels ;
- Sujets présentant des thromboses artérielles récurrentes malgré un traitement anticoagulant préventif ;
- Sujets atteints d'un LED (pour évaluer le risque de thromboses) ou présentant un livédo reticularis ou une autre affection dermatologiques thrombotiques ;
- Allongement des tests de la coagulation comme le Temps de Céphaline Activée (TCA) lors d'un bilan sanguin ;
- Manifestations neurologiques inhabituelles comme la chorée, la myélite transverse, l'épilepsie à révélation tardive, la démence vasculaire précoce inexplicée...

La liste ci-dessus est non exhaustive, et il est possible de découvrir la présence d'aPL chez un patient dans des circonstances autres que les indications de dosages citées ci-dessus.

La découverte d'aPL peut être fortuite et leur présence peut être asymptomatique. La positivité de ces marqueurs peut être plus ou moins transitoire ou persistante en fonction du contexte pathologique responsable associé à leur présence. (Exemple : lors d'une infection, la présence des aPL sera transitoire, alors que lors d'une MAI, leur présence sera permanente). La présence d'aPL n'est pas forcément synonyme de SAPL. Il existe des situations durant lesquelles ces aPL peuvent apparaître [41].

- **Bilans préopératoire ;**
- **Infections virales ou bactérienne ;**
- **Affections néoplasiques (tumeur solide ou syndrome lymphoprolifératif) ;**
- **Hémopathies lymphoïdes ;**
- **Idiopathique ;**
- **Médicaments : certains antibiotiques, la quinine, la procaïnamide, les phénothiazines, certains antiépileptiques ou l'interféron**

*Tableau 5 : Contextes asymptomatiques de présence d'aPL*

## a. Marqueurs conventionnels

Les critères biologiques ont été revus et validés lors de la conférence de Sydney en 2006.

Le diagnostic biologique du SAPL est basé sur la détection de ces critères par différentes méthodes de dosages. De ce fait, pour pouvoir poser le diagnostic de SAPL, on va avoir recours, en routine, aux dosages de marqueurs appelés marqueurs conventionnels qui sont les suivants [42] :

<b>Anticoagulant circulant lupique (hématologie)</b>
<b>Anticorps anticardiolipines IgG et/ou IgM</b>
<b>Anticorps anti-β2GP 1 IgG et/ou IgM</b>

Au cours du SAPL, et contrairement à d'autre contexte, (comme expliqué précédemment lors d'infections par exemple), la **présence des aPL est persistante** et il sera indispensable pour définir un SAPL de prouver ce point par un second dosage.

De ce fait, il sera obligatoire d'effectuer un second dosage afin de confirmer les anomalies biologiques sur un second prélèvement 12 semaines après le premier dosage. C'est seulement à ce moment-là qu'on pourra valider le diagnostic par la persistance biologique associée à la clinique.

La durée entre 2 dosages a été modifiée suite à la conférence de Sydney afin d'éliminer les patients « faux positifs » ayant des aPL dans leur sérum à cause d'un syndrome infectieux. On est passé de 6 à 12 semaines d'intervalle entre les 2 dosages.

Chaque aPL a un **pouvoir pathogène différent** et certains profils immunologiques constituent des critères de gravité. Une méta-analyse de 25 études différentes rassemblant plus de 7000 patients a fait ressortir un **haut risque de récurrences chez les patients avec un ACL** (en comparaison avec ceux avec des aCL par exemple).

Il n'est plus à prouver qu'une **triple positivité majeure la clinique du SAPL ainsi que le risque de récurrences**.

**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 8 : Profils immunologiques d'aPL et leurs risques thrombotiques*

Ces marqueurs sont appelés marqueurs conventionnels par opposition à d'autres marqueurs ne faisant pas partie des critères de diagnostic du SAPL mais pour lesquels certaines études ont démontré une association avec la clinique du SAPL. [43]

## *b. Marqueurs non conventionnels*

Les patients présentant des **signes cliniques évocateurs du SAPL** mais pour lesquels les **critères biologiques ne nous satisferont pas** seront regroupés sous le terme de [Syndrome des antiphospholipides séronégatif \(SNAPS\)](#). Ce terme est employé pour la première fois par Hugues en 2003. [44], [45]

Par définition, on parlera de SNAPS lorsqu'une pathologie se manifeste cliniquement par des thromboses inexplicables ou par des complications obstétricales mais avec des marqueurs biologiques négatifs. [46]

Au cours des années, plusieurs hypothèses ont été évoquées face à cette absence de marqueurs conventionnels dont une hypothèse de « consommation » des marqueurs.

Face à ce syndrome séronégatif, **le diagnostic biologique s'est largement développé**. Nous avons désormais à disposition une autre classe de marqueurs « atypiques » : **les marqueurs non conventionnels**. Ils ne font pas partis des critères biologiques du SAPL à proprement parlé et ne permettent pas de poser le diagnostic de SAPL à eux seuls. [47]

Cependant, des études, comme celle menée par l'équipe de E. ont démontrés leur association avec des évènements rappelant la clinique du SAPL. Nous pouvons donc avoir recours au dosage de ces marqueurs dans ces situations « d'impasse ». En effet, lorsque les marqueurs conventionnels sont négatifs mais que la clinique est fortement évocatrice d'un SAPL, il est alors recommandé de doser des marqueurs appartenant à cette catégorie « non conventionnel ». [48]

Parmi les marqueurs « non conventionnels », on retrouve [48] :

- Les aCL IgA
- Les a $\beta$ 2GPI IgA
- Les aPE IgG, IgM et/ou IgA
- Les aANV IgG et/ou IgM
- Les aPT IgG et/ou IgM

Des études ont mis en avant certains de ces marqueurs non conventionnels comme l'indique les travaux de l'équipe du Dr San Marco et du Dr Lambert concernant les anticorps antiphosphatidyléthanolamine.

Selon les recommandations et en accord avec les études de ces dernières années, **l'isotype IgA sera dosé en première intention** lorsque les marqueurs conventionnels sont négatifs et qu'un SAPL est suspecté au vu de la clinique.

Notre intérêt se portant sur les marqueurs non conventionnels de type aPT, nous développeront ces marqueurs dans la suite de notre travail.

### c. La prothrombine et son anticorps

La prothrombine, ou facteur II est une **protéine de la coagulation**. Elle est produite par le foie et ne fonctionne qu'après activation par la vitamine K : c'est un facteur « vitamine K dépendants ».

C'est le *précurseur de la thrombine qui elle, est une enzyme déclenchant la première phase de la cascade de coagulation*. Elle est aussi appelée Facteur II activé. A la suite de la transformation de la prothrombine en thrombine, cette dernière catalysera **la conversion du fibrinogène soluble en fibrine insoluble** formant ainsi un caillot sanguin. La production de thrombine, à partir de la prothrombine est induite uniquement lorsque notre organisme en a besoin comme par exemple lors d'une blessure.

Au niveau de la structure de la prothrombine, c'est à partir de sa partie N-terminale (domaine GLA) que se trouve le site permettant la liaison avec les phospholipides anioniques. [50]

C'est **BAJAJ et col** qui ont été les premiers à évoquer la présence d'AC aPT. Ils ne sont *pas spécifiques* au SAPL et peuvent être retrouvés dans diverses pathologies comme le lupus ou lors d'infections. Le travail de l'équipe de Rao et al sous-entend que les aPT augmenteraient l'affinité de la prothrombine pour les phospholipides anioniques. [51]

Ces anticorps ont une faible sensibilité avec la thrombose et leur spécificité reste très variable (entre 50 et 90%). Leur présence reste beaucoup plus présente lors de maladie auto immune.



## VI. Techniques de dosages

Lors du dosage des marqueurs du SAPL, on aura recours à deux types de techniques différentes.

Le lupus anticoagulant (LA) sera recherché à l'aide d'une méthode hématologique.

Pour les autres marqueurs, on utilisera une technique immunologique : le test ELISA.

### 1. Technique hématologique

La recherche de LA doit être motivée et pertinente [52]

Selon les recommandations du Groupe d'Etude en Hémostase et Thrombose (GEHT) et de l'ISTH, le prélèvement doit être, si possible, effectuer *en l'absence de traitement anticoagulant* qui fausserait les résultats. On prélève le plasma sur un tube citraté ou CTAD (citrate, théophylline, adénine, dipyridamole).

Cette technique est réalisée en trois temps et dépend de :

- **La détection d'un allongement du temps de coagulation** lors de tests de coagulation dépendant des phospholipides. La BCSH et ISTH recommandent d'utiliser deux tests de dépistages basés sur des principes différents. L'un devant être fondé sur un système ayant une faible concentration de phospholipides. Ces tests pourront être choisis parmi :
  - **Temps de venin de vipère Russel dilué (DRVVT)**. Il sera utilisé en première intention grâce à sa spécificité et sa sensibilité car il ne dépend pas des déficits des facteurs de la voie endogène de la coagulation
  - **Temps de céphaline avec activateur (TCA)**
  - **Temps de thromboplastine diluée (TTD)**
  
- Par la suite, **l'identification de la présence d'un inhibiteur de la coagulation** sera réalisée grâce à un **test de mélange** dont l'objectif est de montrer l'absence de correction du temps de coagulation, à condition que l'allongement soit dû à un inhibiteur.
  
- Enfin, un **test de confirmation** sera effectué pour **prouver la dépendance aux antiphospholipides** grâce au test « DRVVT confirm » qui utilise des réactifs ayant un excès de phospholipide. Ils vont saturer les aPL présents et il y aura alors une correction des temps de coagulation.

## 2. Technique immunologique

La **technique ELISA**, Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay, concerne tous les autres marqueurs du SAPL, y compris les marqueurs non conventionnels. Elle a été inventée en 1971 par deux scientifiques. C'est une **technique immuno-enzymatique** qui permet de visualiser et d'analyser la réaction entre antigènes et anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action d'un enzyme sur un substrat. [53]

La technique ELISA est déclinée en plusieurs variantes et celle utilisée pour la détection des aPL est la technique dite « indirecte ». Elle se compose en différentes étapes. Elle est réalisée sur des plaques ELISA contenant 96 puits.

- **PREMIERE ETAPE:** « **coating** » de l'**antigène**.

On va fixer (« coaté ») au fond des puits, en saturation, la solution d'antigènes spécifiques à l'anticorps recherché. Après incubation, les puits sont ensuite lavés pour éliminer le surplus d'antigène.

- **DEUXIEME ETAPE:** **fixation de l'anticorps à doser**.

On incube les puits avec la solution d'anticorps qu'on cherche à doser. Si les échantillons à tester *contiennent l'AC recherché, ils vont se fixer spécifiquement à l'antigène, formant un complexe AC/AG*. Comme lors de la première étape, les puits seront lavés pour éliminer l'excès d'anticorps.

- **TROISEME ETAPE:** **fixation de l'anticorps de détection**.

Toujours grâce à une incubation, on va fixer cette solution d'anticorps qui *va se lier spécifiquement à l'anticorps que l'on veut doser*. S'en suit toujours une étape de lavage pour éliminer l'excès d'AC. Ces anticorps sont **couplés à une enzyme** qui, en présence de son substrat, *laissera apparaitre une réaction mesurable grâce à une coloration*.

▪ **QUATRIEME ETAPE: Révélation.**

Toujours grâce à une incubation, on va **appliquer une solution révélatrice qui contient le substrat de l'enzyme**. L'apparition d'une coloration indique la présence de l'anticorps. *L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme* et donc à la concentration de l'AC recherché.

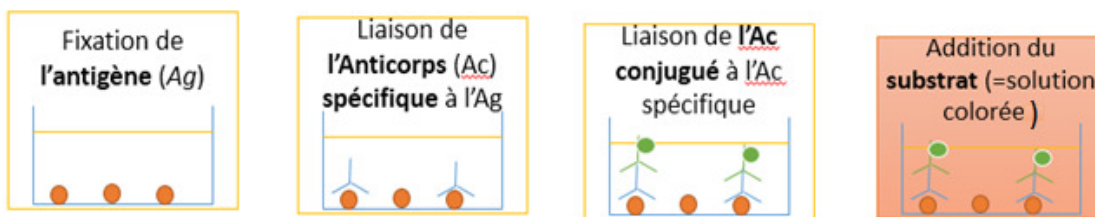


Figure 9 : Technique ELISA indirecte

Suite à l'ensemble de ces étapes, on va relever la variation de la densité optique (DO) par spectrophotométrie. Cette variation d'absorbance est proportionnelle à la quantité de complexes AC/AG, et donc, proportionnelle à la quantité d'anticorps dans l'échantillon.

Pour le dosage des marqueurs non conventionnels, le laboratoire d'Immunologie utilise une technique « maison ».

## VII. Stratégie pour le diagnostic du SAPL et interprétations des résultats

Il est important de tenir compte de certaines *données démographiques, biologiques et cliniques* lors de l'interprétation des résultats. [54]

- ✓ **L'âge du patient:** Le taux d'aPL **augmente avec l'âge**
- ✓ **La présence d'une infection:** Elle peut faire apparaître de manière **transitoire** des aPL
- ✓ **La prise d'un traitement:** Certains médicaments entraînent la production de certains aPL
- ✓ **Une hypergammaglobulinémie:** Elle peut être responsable de FP si le test utilisé lors du dosage ne permet pas l'élimination des réactions non spécifique du sérum
- ✓ **La présence simultanée de plusieurs aPL aggrave le diagnostic.** La triple positif est un facteur associé au risque thrombotique encore plus accru.

Après avoir pris en compte les différents facteurs pouvant influencer la présence d'aPL, on pourra rendre un résultat.

L'exploration biologique lors d'un SAPL se fait de la manière suivante :

- **PREMIERE ETAPE:** En présence de **manifestations cliniques évocatrices du SAPL**, on effectuera en première intention un dosage des marqueurs conventionnels qui sont le LA, les aCL IgG et IgM et les aB2GP1 IgG et IgM.

Deux situations sont alors possibles :

→ **Les marqueurs sont positifs.** Un second dosage sera réalisé 12 semaines après le premier pour évaluer la persistance. S'ils reviennent **encore une fois positif : SAPL confirmés.**

→ **Les marqueurs sont négatifs.** A ce moment-là, on va se tourner vers une seconde étape

- **SECONDE ETAPE:** En présence de **manifestations cliniques** suspectant un SAPL associés à une persistance des **marqueurs conventionnels négatifs**, les dosages des marqueurs non conventionnels tels que aCL et aB2GP1 IgA ainsi que les aANV et les aPT IgG et IgM seront effectués :

→ **Les marqueurs sont positifs :** on se retrouve devant un **syndrome séronégatif des aPL**

→ **Les marqueurs négatifs :** *Diagnostic non confirmé.*

## VIII. Le traitement

**L'élimination des aPL est possible** grâce à différentes thérapies : *administration à fortes doses de corticoïdes, utilisation de traitements immunosuppresseurs ou échanges plasmatiques*. Cependant, le **résultat obtenu est transitoire** et les anticorps réapparaissent en quelques semaines après l'arrêt du traitement. Cette thérapeutique ne sera alors pas envisagée dans les cas de SAPL primaire. [55]

C'est pourquoi, en dehors des formes secondaires ou catastrophiques nécessitant un traitement spécifique, l'objectif de la mise en place d'un traitement vise à **prévenir les thromboses et/ou les pertes fœtales** induites par les aPL ainsi que **leurs récives**.

### 1. Traitement primaire

La **présence d'aPL** dans un contexte de cliniques associées constitue un **facteur de risque de récives** indéniable qu'il est important de ne pas ignorer. L'association de d'aPL persistants avec des thromboses s'accompagne d'un risque de **récives à hauteur de 10%**. C'est avec la connaissance de ces faits que les cliniciens justifient la mise en place de traitements à la fois préventifs et curatifs.

Les recommandations proposent un **contrôle des facteurs de risque cardiovasculaires** (tabac, hypertension artérielle, obésité, contraception...) et une **surveillance accrue**. L'utilisation d'*Héparine à Bas Poids Moléculaire* (HBPM) lors de certaines les situations à risque thrombotique (chirurgie, immobilisation, grossesse, avion...) est parfois même nécessaire. [56]

Chez les patients atteints de lupus et ayant des aPL, l'utilisation *d'aspirine, à des doses anti-agrégant, en prophylaxie primaire* réduiraient les risques d'apparition d'événements thrombotiques. Par exemple, dans l'étude de TARR et al, on observe 1.9% d'apparition de thromboses chez les patients recevant de l'aspirine contre 6,9% chez ceux n'en n'ayant pas. De ce fait et en pratique, la prescription d'aspirine en prévention primaire est recommandée chez les patients avec un LED avec un LA ou des aCL persistants.

A côté de ce traitement, il est important d'effectuer une recherche et un dosage régulier des aPL, plus particulièrement lors d'une triple positivité pour évaluer le risque clinique.

Cependant, une prophylaxie primaire (bien souvent à base d'aspirine) n'apporterait *aucun bénéfice chez les patients asymptomatiques*. De nombreuses études menées dans le but de prouver le rôle d'un traitement primaire en sont venu à cette même conclusion : Aplasa, Ginsburg et al, Pengo et al. [57]

TRAITEMENT PRIMAIRE		
Patients sans risques	Patients sans risque mais ayant des situations à risques ponctuelles	Patients atteints de lupus ou ayant des aPL
Pas de mise en place de prophylaxie primaire mais surveillance accrue et contrôle des facteurs de risques		
	HBPM	Aspirine

Tableau 6 : Prévention primaire du SAPL



## 2. Traitement secondaire

La **prévention des récurrences est le point essentiel** de la mise en place d'un traitement. En effet, l'étude de Pengo et al, montre que le risque de récurrences chez certains profils immunologiques est très important : 44.2% chez les triples positifs au bout de 10 ans. [55]

De nombreux paramètres sont à prendre en compte lors de sa mise en place et une analyse de ces derniers par Ruiz-Irastorza et coll. a permis la mise en place d'une répartition de l'intensité du traitement. Les paramètres à prendre en compte avant l'instauration du traitement sont : [59]

- **LE TYPE DE THROMBOSES**: veineuses ou artérielles
- **LE NOMBRE DE RECURRENCES**
- **LE PROFIL IMMUNOLOGIQUE** des patients
- **LES MODALITES THERAPEUTIQUES**: INR (International Normalized Ratio) cible, durée du traitement.
- **PRESENCE DE CONTRE INDICATION** : grossesse et anti vitamine K (AVK) par exemple.

La prise en charge du SAPL repose principalement sur **l'utilisation de deux types de molécules** : les **AVK et les héparines**, l'aspirine étant beaucoup moins efficace. Effectivement, il a été observé chez 1700 patients différents venant de 16 études différentes la prise en charge thérapeutique suivante.

**Lors de thromboses**, on mettra en place un traitement sur une longue durée. Il sera composé principalement d'**AVK** (Anti Vitamine K) ou des **anticoagulant oraux**, peu importe l'origine de la thrombose. *Ce qui changera d'un type de thrombose à une autre sera la cible de l'INR.* Lors de thromboses veineuse, on aura un INR cible moins élevé que lors de **thromboses artérielles qui constitue un risque de récurrences accrues.**

Il existe **une grande variabilité interindividuelle** qui rend l'utilisation des AVK délicate : l'index thérapeutique est étroit et il existe des interactions alimentaires avec ces molécules. Les patients seront régulièrement suivi par le biais de l'INR pour juger le risque thrombotique (sous dosage) ou hémorragique (sur dosage).

Le cas des anticoagulants oraux a été vu lors du 14<sup>ème</sup> congrès des aPL car ceux sont des molécules récentes qui réduisent le risque de variation. De ce fait, le suivi est moins lourd et consiste juste à vérifier la fonction rénale et ajuster le traitement en fonction d'une insuffisance rénale ou hépatique.

	LOCALISATION	TRAITEMENT
SAPL avec THROMBOSES	<i>Veineuse</i>	AVK <i>INR cible : 2 à 3</i>
	<i>Artérielle</i>	AVK <i>INR cible : &gt; 3</i> Ou Aspirine + AVK <i>INR cible : 2 à 3</i>

*Tableau 7 : Traitement mis en place lors d'un SAPL avec thromboses*

Si, malgré la mise en place d'une prophylaxie secondaire, une, ou plusieurs **récidives apparaissent** tout de même, le traitement en sera modifié. Si le traitement initial était un AVK avec un INR cible entre 2 et 3, on pourra modifier le traitement par deux mesures différentes :

- [Augmentation de l'INR cible](#) entre 3 et 4
- [Association d'aspirine à un AVK](#) (cible INR 2 à 3) déjà préexistant.

Enfin, pour les **patients résistants ou difficiles à traiter**, on pourra envisager la prescription **d’HBPM, d’hydroxychloroquine** ou de **statines**.

**Lors de manifestations cliniques de types obstétricales**, les *AVK* ne pourront être envisagés à cause de la contre-indication avec la grossesse. De même que précédemment, les molécules et les doses évolueront en fonction du type de manifestations. [60]

Lors d’une grossesse, on utilisera toujours soit des Héparines Non Fractionnées (HNF) soit des HBPM qui seront toujours associées à de l’aspirine. Si les manifestations obstétricales sont de types *FC précoces récidivantes*, les doses utilisées seront prophylactiques. De même si la clinique se manifeste par des morts fœtales in utero récidivantes, les doses seront prophylactiques ou intermédiaires.

	TYPE DE MANIFESTATIONS	TRAITEMENTS
SAPL OBSTETRICAL	<i>Fausses couches précoces récidivantes</i>	HNF à dose prophylactique + aspirine ou HBPM à dose prophylactique + aspirine
	<i>Morts fœtales in utéro récidivantes</i>	HNF à dose prophylactique ou intermédiaire + aspirine ou HBPM à dose prophylactique ou intermédiaire + aspirine

Tableau 8 : Traitement mis en place lors d’un SAPL obstétrical

A côté du SAPL à manifestations obstétricales, **si une grossesse se déclare chez une patiente ayant un SAPL avec des antécédents de thromboses**, un **traitement à base d'héparine** sera, là aussi, mis en place comme précédemment sauf que les doses employées seront curatives.

Concernant la **forme catastrophique du SAPL**, le traitement nécessite des **soins intensifs** (Héparine par voie parentérale, fortes doses de corticoïdes, antibiotiques, échanges plasmatiques...)

Pour toutes les cliniques différentes, il est important **d'effectuer une surveillance clinique** que ça soit pour repérer les signes d'apparition de thromboses ou autre témoinnant d'une **insuffisance de traitement** ou au contraire pour surveiller les hémorragies qui pourrait révéler un **surdosage**.

## PARTIE II: TRAVAIL PERSONNEL.

### **INTEREST OF IgG AND IgM ANTI-PROTHROMBIN AUTOANTIBODIES IN THE EXPLORATION OF ANTI- PHOSPHOLIPID SYNDROME: A 5 YEARS RETROSPECTIVE STUDY.**

*Intérêt des anticorps anti prothrombine IgG et IgM dans l'exploration du SAPL : étude  
rétrospective de 5 ans.*

#### I. Introduction

Pour rappel, le SAPL est une maladie auto-immune caractérisée par **l'association de thromboses et/ou de manifestations obstétricales** avec la **persistante positivité de marqueurs conventionnels** dans le sérum.

A côté de ces marqueurs conventionnels, **d'autres aPL ont été décrits** chez des patients présentant une manifestation suggérant une SAPL mais avec des marqueurs négatifs.

Parmi ces aPL non conventionnels, la détection d'auto-anticorps dirigés contre la prothrombine (PT), une protéine impliquée dans la cascade de la coagulation a été proposée **pour améliorer le diagnostic et donc la prise en charge de ces patients**.

La prothrombine (facteur de coagulation II) est une protéine plasmatique clivée par protéolyse pour former de la thrombine dans le processus de coagulation.

Des anticorps contre la PT (aPT), identifiés comme des cofacteurs de l'ACC, sont **liés à la thrombose**. Il a été décrit qu'ils *modulent le processus de coagulation*. Plus précisément, **l'aPT joue un rôle d'inhibiteur de compétition** avec les facteurs de coagulation.

L'effet prothrombotique de l'aPT a également été *décrit dans un modèle de souris ex-vivo* montrant le **thrombus induit après immunisation active avec de la PT**. La prévalence de l'aPT et leurs associations avec les caractéristiques cliniques de la PPS ont été étudiés dans des études antérieures.

*Les résultats restent controversés, notamment sur l'intérêt diagnostique de ces anticorps, et sur l'isotype à explorer dans la pratique courante.*

Le but de l'étude est **d'évaluer l'intérêt de la détection des aPT IgG et IgM dans l'exploration du SAPL** grâce à une vaste cohorte de 499 patients référés successivement au laboratoire d'immunologie sur une période de 5 ans.

## II. Travail personnel

### MATERIAL AND METHODS

#### Patients

We **performed a retrospective study** of the laboratory results of all patients who underwent IgG and IgM aPT testing at the University Hospital of Marseilles between *September 2011 and September 2016*.

A total of [499 assaying results for IgG and IgM aPT were extracted](#) from the results server of the laboratory. All samples were part of a declared Biobank (DC 2012-1704) in compliance with ethical directives.

#### Clinical data

Clinical data included *demographic parameters* (age, gender), *occurrence of arterial/venous thromboembolic events; pregnancy morbidity; auto-immune diseases, active infectious disease and neurological diseases* (including inflammatory disease of central nervous system such as multiple sclerosis or myelitis).

**Arterial thrombotic events** included transient ischemic attack, cerebrovascular accident, or other acute events involving the arterial vasculature.

**Venous events** included deep vein thrombosis, pulmonary embolism or other acute events involving the venous vasculature

## aPT ELISA

For the detection of aPT, we used an **in-house ELISA** (enzyme-linked immunosorbent assay).

Irradiated polystyrene microtiter plates (Maxisorp®, Nunc®, Rockilde, Denmark) were coated overnight with 1 µg/well of human prothrombin (Hyphen Biomed, Neuville-sur-oise, France) and blocked by incubation for 1 h at room temperature (RT) with a solution of PBS–1% BSA (PBS-BSA).

Serum samples (100 µl/well; diluted 1:100 in PBS-1%BSA-0.1%Tween (PBS-BSA-T)) were added in duplicate **on coated and non-coated** wells and incubated for 1h at RT.

After washes with PBS-T, alkaline phosphatase-conjugated affinity-purified goat anti-human immunoglobulin (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, USA) IgG (diluted 1:5000 in PBS-BSA-T) or IgM (diluted 1:2000 in PBS-BSA-T) were added and incubated for 1h at RT.

After washes, 100 µl per well of paranitrophenylphosphate (PNPP, VWR International West Chester, PA, USA) solution (1 mg/ml of PNPP in ethanolamine buffer 1 M pH 9.8) were added.

After incubation at 37 °C during 20 mn, optical densities (OD) were read at 405 nm and  $\Delta OD$  for each sample was calculated by subtracting OD of coated well from OD obtained with non-coated well. Results were reported as a ratio of  $\Delta OD$  of patient/ $\Delta OD$  of a threshold control (a result is positive if the ratio is greater than or equal to 1). The cut-off values were calculated as the 99th percentile of values obtained with a sample of 100 healthy-blood donors.



## Statistical analysis

**Venn diagram** was plotted using R statistical software (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Dot Plots and statistical calculations were performed with GraphPad Prism version 5.03 for Windows (GraphPad Software, La Jolla California USA). The threshold for statistical significance was set at  $p = 0.05$ .  
PARAGRAPH NOEMIE

## RESULTS

From 2011 to 2016, detection IgG and IgM aPT were performed in a total of **499 patients**. Patients' serum samples **were mostly addressed to our Immunology laboratory by Internal Medicine** (39%), Neurology (29%), and to a lesser extent by Pediatrics (4%) and Infectious diseases (4%) departments. All patients *lived in the southeast of France*. **Mean age was  $45 \pm 18$  years and 63.5% of patients were women.**

We found a **prevalence of 17% for aPT positive patients (75/441)**. To further analyze results, clinical data were collected and were available for 88% of patients (441/499) (Table1). We found a **significant association between aPT positivity and thrombosis ( $p=0.035$ )** but *not with obstetrical complications ( $p=0.326$ ) or infectious disease ( $p=0.074$ )*. In contrast to thrombosis context, an association was found between aPT negativity and neurologic disorders ( $p=0.006$ ).

	aPT- (n=366)	aPT+ (n=75)	p
<b>THROMBOSIS</b>	126 (77.3%)	37 (22.7%)	<b>0.0351</b>
<b>NEUROLOGICAL DISORDERS</b>	93 (93.9%)	6 (6.1%)	0.0060
<b>INFECTIOUS DISEASES</b>	5 (55.5%)	4 (44.5%)	0.0742
<b>OBSTETRICAL MORBIDITY</b>	32 (88.9%)	4 (11.1%)	0.3258
<b>AUTOIMMUNE DISEASES</b>	34 (70.8%)	14 (29.2%)	0.0351
<b>OTHER DISEASES</b>	76 (88.4%)	10 (11.6%)	0.1667

*Table 1: Clinical manifestation*

Since thrombosis is the most prevalent context associated with aPT positivity, we further analyzed results by **focusing on the 37 aPT positive patients suffering from thrombosis**. We observed [that both IgG and IgM isotypes were represented](#) (20 patients with aPT IgG only, 15 with aPT IgM only and 2 with both IgG and IgM aPT). *Only 30% (11/37) presented thrombotic events in an APS context, with 82% (9/11) of patients positive for LA and/or anti-B2GPI (Figure 11).*

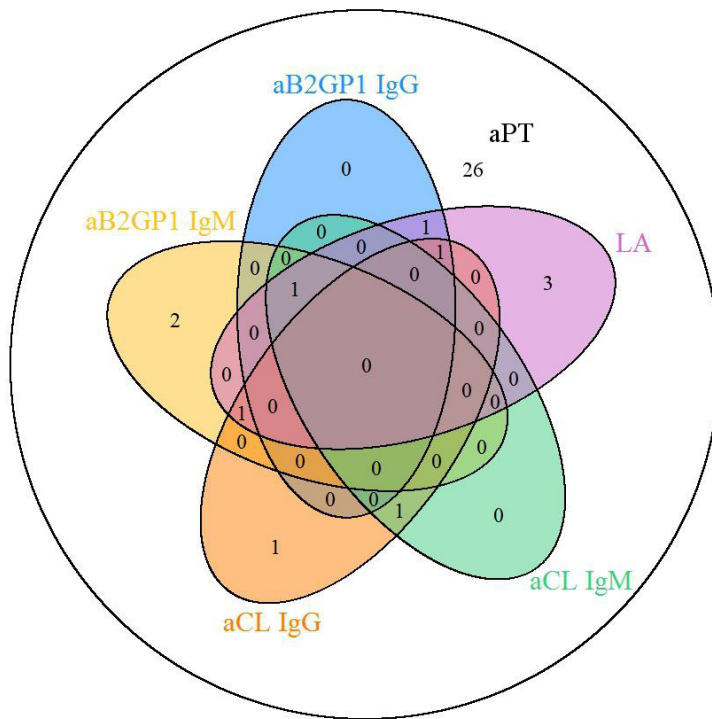


Figure 11: Detailed profile of antiphospholipid antibodies detected in sera of aPT thrombotic patients (n=37) aB2GPI: anti- $\beta$ 2 glycoprotein I antibodies, aCL: anti-cardiolipin antibodies, aPT: anti-prothrombin antibodies, LA: Lupus anticoagulant

Interestingly, **70% of aPT positive patients (26/37) had an unexplained thrombosis without any conventional aPL**. No difference was found in isotype repartition with 16 aPT IgG and 12 aPT IgM. In this subgroup only positive for aPT, we observed 17 patients with cerebral stroke, 1 with thrombosis of thoracic aorta, 8 with pulmonary embolism, 20 with deep vein thrombosis of the leg, 3 with renal vein thrombosis and 2 with jugular vein thrombosis. In addition, **27 patients had a single-site thrombosis while 10 patients presented a thrombosis of multiple vascular sites**. Of interest, we showed that **IgG aPT ratio were significantly higher in patients with recurrent thrombosis** than in patients with isolated thrombosis ( $p=0.013$ , Figure 12) whereas **IgM aPT was significantly higher in patients with isolated thrombosis** ( $p=0.032$ , Figure 12).

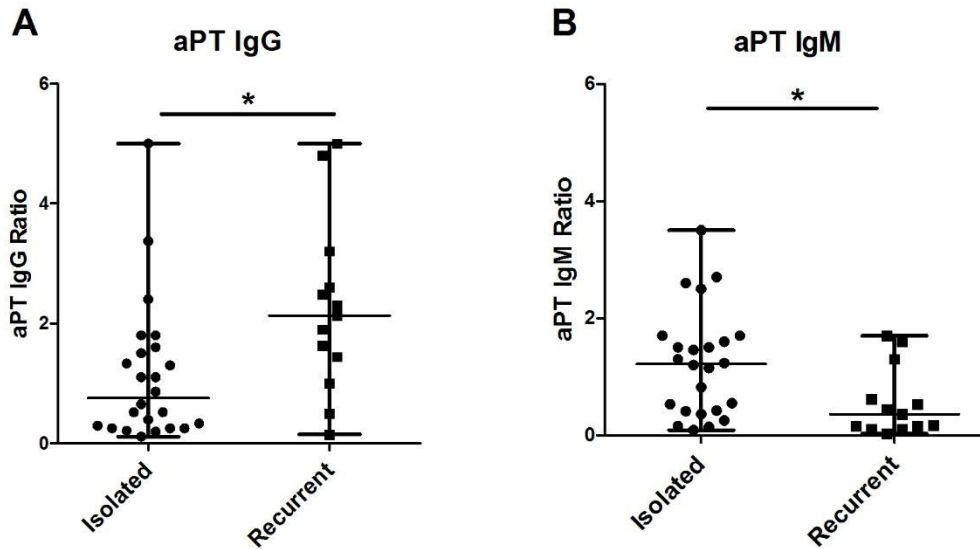


Figure 12: Comparison of aPT ratio levels by frequency of thrombosis (Isolated or Recurrent) and isotype (A: IgG, B: IgM). Data are presented as dot plots with median and interquartile range of aPT ratio. (\*  $p < 0.05$ , Mann-Whitney U test)

## DISCUSSION

In the present study, we evidenced the interest to investigate both **IgG and IgM aPT isotype** in the laboratory exploration of APS, in particular when the conventional markers were negative. This result was obtained from an observational study of routine practice showing that **73% of thrombotic patients without any conventional aPL, were only positive for aPT.**

This result is of **great interest if we consider the low prevalence of aPT (1%)** we observed in healthy blood donors. This is in agreement with the low prevalence of aPT (<1%) reported in healthy subjects (13)

For the detection of anti-prothrombin antibodies, two types of ELISA have been described: anti-prothrombin antibodies (aPT) and anti-phosphatidylserine / prothrombin antibodies (aPS/PT) (13), (14). Several studies showed that these antibodies correspond to a heterogeneous group of antibodies (15). Therefore we can **hypothesize a different contribution of these antibodies in the diagnostic strategy of APS**. Anti-phosphatidylserine / prothrombin antibodies (aPS/PT) presenting a high correlation with LA activity (16), could be proposed in cases of difficult LA interpretation (17). In contrast **aPT detection could be investigated when the conventional markers of APS are negative in order to improve the diagnosis** and thus the management of these patients.

Compared to a $\beta$ 2GP1 antibodies, which have been well characterized, the **interest of aPT detection remains controversial**. A previous meta-analysis failed to show any association between aPT antibodies and the risk of thrombosis (18). More recently, a systematic *review of literature using much more data from 38 studies found that aPT represents a risk factor for thrombotic events* (5), in agreement with our results.

Our study **highlights the interest of both isotype detection since IgG and IgM are detected among the positive patients**. Furthermore, our study revealed the interest to quantify aPT level, because high IgG aPT ratio were associated with recurrent thrombosis, whereas IgM aPT ratio were higher in patients with isolated thrombotic events.

To conclude, our study supports the **interest of aPT detection in the exploration of APS, in particular in patients with thrombosis when conventional markers are negative**. Prospective clinical studies are required to determine whether the quantification of these markers could represent a help for predicting the recurrence of thrombosis.

### III. Discussion

Dans cette étude, nous avons mis en évidence **l'intérêt d'étudier les aPT IgG et IgM dans l'exploration du SAPL** lorsque les marqueurs conventionnels sont négatifs.

Ce résultat a été obtenu par une étude rétrospective permettant d'observer que **73% des patients thrombotiques et sans aucun marqueur conventionnel étaient uniquement positifs pour les aPT**.

*Ce résultat présente un grand intérêt si l'on prend en compte la faible prévalence des aPT (1%) chez les donneurs de sang en bonne santé. Ceci est en accord avec la faible prévalence des aPT (<1%) rapportée chez des sujets en bonne santé (13)*

Pour la détection des anticorps aPT, deux types de test ELISA ont été décrits: *les aPT et les anticorps anti-phosphatidylserine/prothrombine (aPS/ PT) (13) (14)*. Plusieurs études ont montré que ces anticorps représentent un groupe assez hétérogène (15). Par conséquent, nous pouvons émettre une hypothèse sur une **contribution différente de ces anticorps dans la stratégie de diagnostic du SAPL**.

- Les anticorps *aPS / PT* présentant une forte corrélation avec l'activité de l'ACC (16), ils pourraient être proposés en cas d'interprétation difficile de l'ACC (17).
- En revanche, **la détection des aPT pourrait être étudiée lorsque les marqueurs conventionnels du SAPL sont négatifs afin d'améliorer le diagnostic et donc la gestion de ces patients**.

Par rapport aux anticorps anti- $\beta$ 2GP1, *l'intérêt de la détection de l'aPT reste controversé* : une méta-analyse précédente n'a montré aucune association entre les anticorps anti-aPT et le risque de thrombose (18).

Plus récemment, une revue de littérature utilisant des données provenant de 38 études a révélé que **les aPT représentaient un facteur de risque d'événements thrombotiques** (5), ce qui correspond à nos résultats.

Notre étude met en évidence l'intérêt de la détection des aPT IgG et IgM. De plus, elle a révélé l'intérêt de **quantifier le taux d'aPT, car une concentration élevée d'aPT IgG est associée à des thromboses récidivantes**, alors que le ratio d'aPT IgM était plus élevé chez les patients présentant des événements thrombotiques isolés.

En conclusion, notre étude confirme l'intérêt de la détection de l'aPT dans l'exploration du SAPL, *en particulier chez les patients présentant des thromboses lorsque les marqueurs conventionnels sont négatifs*.

Des études cliniques prospectives sont nécessaires pour déterminer si la quantification de ces marqueurs pourrait constituer une aide pour prédire la récurrence des thromboses.

## PARTIE III: ETUDE D'UN CAS CLINIQUE

Dans cette dernière partie, nous allons **présenter un cas clinique** du laboratoire d'Immunologie de l'Hôpital de la Conception *dont les données ont été récoltées par Paul-Remi PETIT, interne dans le secteur immunophénotypage lymphocytaire.*

Voici les principales informations recueillies : nous allons étudier le cas clinique de **Mr G. qui a 60 ans**. Il a présenté un **AVC ischémique** (avec hémiplegie droite) ainsi que deux épisodes **d'embolies pulmonaires** et de **TVP**. Ces manifestations cliniques ont eu lieu alors que Mr G. était sous anticoagulant.

Un **bilan de thrombophilie** est demandé dont les résultats sont les suivants :

- ✓ Numération formule : rien d'anormal ce qui permet d'écarter un syndrome myeloprolifératif.
- ✓ Pas d'examen concernant la *recherche de clone HPN* ou d'un *déficit en*

<b>TCA</b>		
<b>TCA Patient</b>		<b>47,4</b>
<b>TCA Témoin</b>		<b>33,0</b>
<b>Ratio P/T</b>	<b>H</b>	<b>1,4</b>
<b>FIBRINOGENE</b>	<b>H</b>	<b>4,86</b>
<b>ACC</b>		
<b>ACC</b>		
<b>TEMPS DE THROMBINE</b>		
<b>TT Patient</b>		<b>32,4</b>
<b>TT Témoin</b>		<b>25,0</b>
<b>Ratio P/T</b>		<b>1,3</b>
<b>DEPISTAGE AVEC TCA</b>		
<b>PTT-LA Patient</b>		<b>47,0</b>
<b>PTT-LA Mélange</b>		<b>35,0</b>
<b>PTT-LA Témoin</b>		<b>31,6</b>
<b>Indice Rosner</b>		<b>7,2</b>
<b>DRVVT</b>		
<b>Témoin</b>		<b>34,0</b>
<b>Mélange</b>		<b>40,4</b>
<b>Ratio M/T</b>		<b>1,2</b>
<b>Conclusion</b>		<b>Absence d'anticoagulant circulant</b>



Bioch sg Timone				
Homocystéine	H	15,4	μmol/L	0,0 - 14,0
<b>BIO MOLECULAIRE</b>				
<b>Mut V+ II</b>				
<b>Facteur V Leiden</b>		<b>Absence de la mutation</b>		
<b>Facteur II Leiden</b>		<b>Présence de la mutation à l'état hétérozygote</b>		

Tableau 9 : Résultats biologiques de Mr G.

Devant la clinique de Mr G., évocatrice d'un SAPL, une [recherche des aPL](#) est alors effectuée :

- ✓ **Marqueurs anti-cardiolipine IgG et IgM : négatifs**
- ✓ **Marqueurs anti-β2GPI IgG et IgM : négatifs**

Les [marqueurs conventionnels immunologiques du SAPL](#) sont négatifs. Une recherche **des marqueurs non conventionnels** est alors effectuée, conformément à la stratégie de diagnostic du SAPL.

- ✓ Anticorps antiprothombine IgM négatifs
- ✓ Anticorps antiprothombine IgG à taux élevé

ANTIPHOSPHOLIPIDES				
<b>Nat Prel : SERUM</b>				
Anti-cardiolipine G		12,50	GPL/ml	< 22,00
Anti-cardiolipine M		7,42	MPL/ml	< 10,00
Anti-Bêta 2 GP1(IgG)		2,76	U/ml	< 8,00
Anti-Bêta 2 GP1(IgM)		3,57	U/ml	< 8,00
CONCLUSION :				
Absence d'anomalies immunologiques du syndrome des antiphospholipides.				
ANTIPHOSPHOLIPIDES				
<b>Nat Prel : SERUM</b>				
Antiprothrombine IgG	H	5,00	Ratio	0,00 - 1,00
CONCLUSION :				
Résultats à contrôler sur un prélèvement ultérieur dans un délai de 12 semaines selon le contexte clinique.				
Antiprothrombine IgM		0,44	Ratio	0,00 - 1,00
ANTIPHOSPHOLIPIDES				
<b>Nat Prel : SERUM</b>				
Anti-PE (IgA)		0,65	ratio	0,00 - 1,00
AC ANTI-NUCL DEPIST.				
<b>Nat Prel : SERUM</b>				
Anti-nucléaires		Positif, titre = à 160.		
aspect nucléaire		Moucheté.		
<b>Dépist Ag solubles</b>				
Depist Ag solubles		Absence d'auto-Ac anti-SSA, SSB, Sm, RNP, JO1, Scl70, centromère B		

Résultats biologiques de Mr G concernant les aPL ;

Le cas de Mr G. illustre typiquement un cas de SNAPS : **une évocatrice du SAPL** : *AVC ischémique avec des antécédents d'embolies pulmonaires et de thromboses veineuses profondes*. Nos investigations biologiques se sont naturellement tournées vers la **recherche de marqueurs conventionnels** de ce syndrome qui sont alors **négatifs**. Dans un dernier temps, nous avons donc testés la seconde classe de marqueurs : celles des **marqueurs non conventionnels** qui se révèlent alors positif pour un des marqueurs : **les anti-prothrombines IgG**.

Ce cas clinique illustre notre étude. En effet, cette dernière nous avait permis de suggérer **un intérêt entre les manifestations thrombotiques récidivantes et les aPT IgG**. Mr G. représente en tout point cette hypothèse : il a des antécédents de thromboses et d'embolies pulmonaires sans marqueurs conventionnels et l'exploration des marqueurs non conventionnels nous montre un haut taux d'aPT IgG.

## PARTIE IV: CONCLUSIONS

L'ensemble de nos résultats obtenus par notre étude et par le cas clinique montre l'intérêt de la recherche des autres marqueurs quand une clinique évocatrice du SAPL est associée à des marqueurs conventionnels sont négatifs.

Ils permettent de mettre en **évidence un risque thrombotique plus élevé chez les patients aPT positifs.**

Ces résultats nous permettent de proposer une nouvelle stratégie de diagnostic du SAPL lorsque les marqueurs conventionnels sont négatifs.

### **Discussions :**

Mise en évidence de l'importance de la recherche des marqueurs non conventionnels dans l'exploration du SAPL devant la négativité des aPL conventionnels avec une clinique évocatrice :

- ✓ Pourquoi ne pas orienter la recherche vers la détection des **aPT IgG** *chez un patient ayant des thromboses récidivantes ?*
- ✓ Au contraire, pourquoi ne pas rechercher d'emblée les **aPT IgM** *lorsqu'un patient présente un évènement thrombotique isolé ?*
- ✓ Améliorer la prise en charge des patients en fonction de l'isotype présent (par rapport au risque de récurrences entre autre)

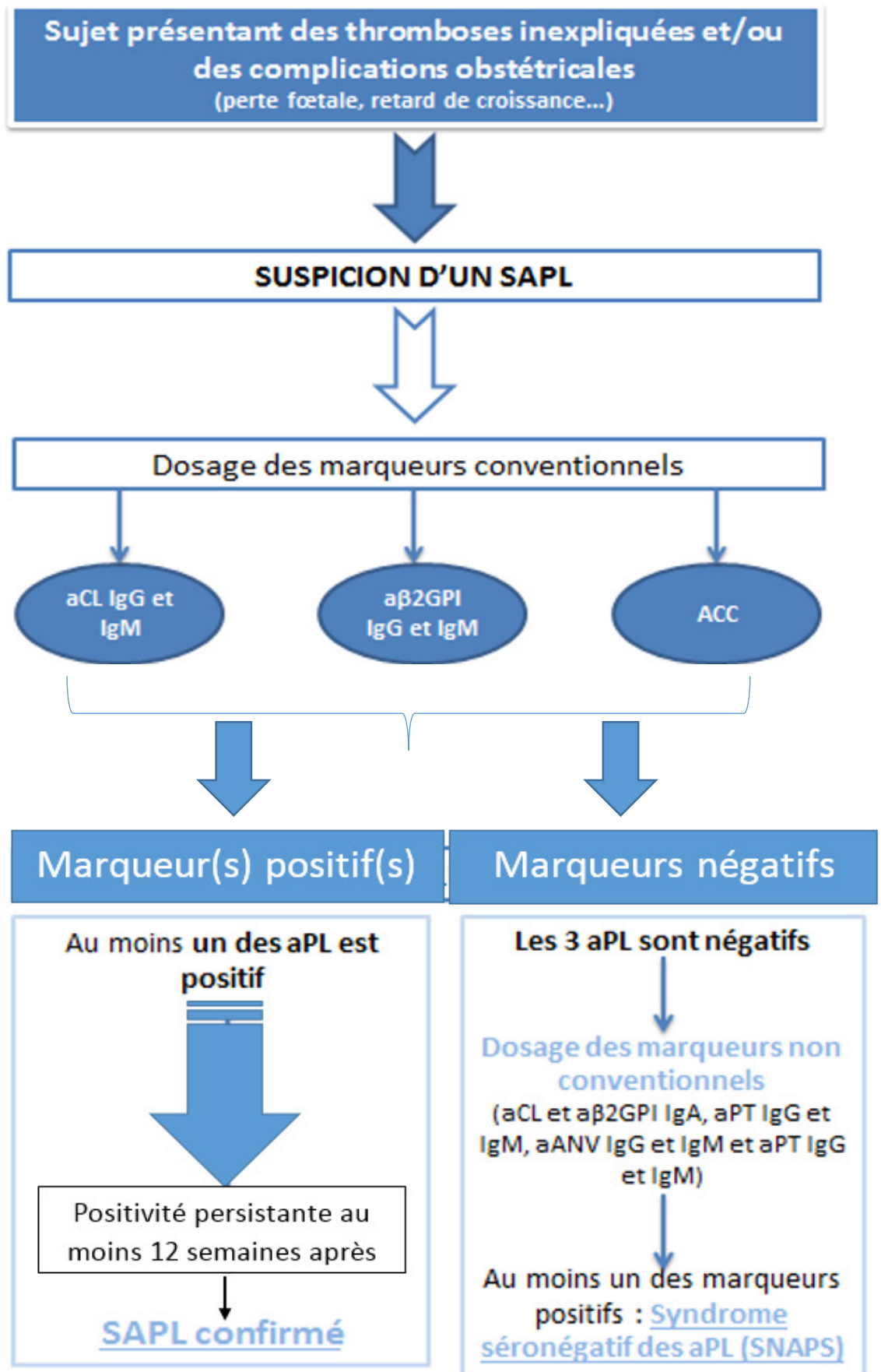


Figure 10 : Stratégie de l'exploration d'un SAPL

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] R.L. HUMBEL. Histoire des anticorps antiphospholipides. GEAI' info n°4. 2001 Septembre p1-2
- [2] G. PORCU, T. DE LAPPARENT, J. BANET. Anticorps antiphospholipides et infertilité : revue de la littérature. La Lettre du Gynécologue n° 295. 2004 Octobre
- [3] J. SIBILIA. Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) Aspects cliniques, diagnostiques et thérapeutiques, GEAI' info n°4 2001 Septembre p3
- [4] D. ALARCÓN-SEGOVIA. The Antiphospholipid Story. The journal of rheumatology. Volume 30. Numéro 9 – 2003
- [5] B. COUTURIER. Syndrome des Antiphospholipides. Hôpital Erasme. ULB. 2006 Janvier.
- [6] R. ELLOUZE, S. GUERMAZI. Le syndrome des anti-phospholipides. Revue francophone des laboratoires - n°436 - 2011 novembre
- [7] B. ROBERTSON, M. GREAVES. Antiphospholipid syndrome: An evolving story. Blood Reviews 2006. 20, 201–212
- [8] Z. AMOURA, Orphanet, Association Lupus France, Association française du lupus et autres maladies auto immune. Le syndrome des antiphospholipides, syndrome de Huges. Encyclopédie Orphanet Grand Public. 2008 Juillet
- [9] B. VISSEAUX, J. MASLIAH-PLANCHON, A.M. FISCHER, L. DARNIGE. Diagnostic du syndrome des antiphospholipides : actualités. Annal de Biologie Clinique 2011 ; 69 (4) : 411-8

- [10] B. CARBONNE, J. CABANE, C. CUDEVILLE, E. CYNOBER, K. TRABELSI, J. MILLIEZ. Syndrome des antiphospholipides primitif et grossesse. CNGOF. Extrait des Mises à jour en Gynécologie et Obstétrique. TOME XXIV 2000 Novembre
- [11] R. CERVERA, S. BUCCIARELLI, M.A. PLASSIN, A. GOMEZ PUERTA, J. PLAZA, G. PONS ESTEL, Y. SHOENFIELD, M. INGELMO, G. ESPINOS. Catastrophique antiphospholipid syndrom (CAPS) : Descriptive analysis of a series of 280 patients from « CAPS registry ». Journal of Autoimmunité 32. 240-245. 2009
- [12] L. DARNIGE, J.C. PIETTE. Le syndrome catastrophique des antiphospholipides.
- [13] N. COSTEDOART-CHALUMEAU, L. COUTTE, V. LE GUERN, N. MOREL, G. LEROUX, R. PAULE, L. MOUTHON, J.C. PIETTE. Syndrome catastrophique des antiphospholipides (CAPS) : revue 2016. La presse médicale Tome 45. Numéro 12. 2016 Décembre
- [14] N. COSTEDOAT-CHALUMEAU, L. ARNAUD, D. SAADOUN, J. CHASTRE, G. LEROUX, P. CACOUB, Z. AMOURA, J.C. PIETTE. Le syndrome catastrophique des antiphospholipides. La revue de médecine interne. Vol 33 - N° 4. p. 194-199. 2012 Mars
- [15] D. BRUNENGO, L. GUIIS. Syndrome des antiphospholipides. Focus #6. 2002 Décembre
- [16] J.L. PASQUALI, J. SIBILIA, V. POINDRON, A.S. KORGANOW, P. SOULAS SPRARUET, T. MARTIN. Aspects immunologiques du syndrome des antiphospholipides. La revue de médecine interne 33. P 189-193. 2012
- [17] J. CONNAULT, A. MASSEAU, M. AUDRAIN, C. DURANT, C. AGARD, A. NEEL, P. POTTIER, B. PLANCHON, M. HAMIDOU. Étude monocentrique rétrospective de 59 patients porteurs du syndrome des antiphospholipides (SAPL) : dépistage et correction des facteurs de risque cardiovasculaire lors des SAPL primaires et secondaires. La revue de médecine interne. Volume 32, n° S2. p 284-285. 2011 Décembre
- [18] L. DARNIGE. Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides : actualités. Journal des Maladies Vasculaires. Volume 37, n° 2. p 63-64 2012 Mars
- [19] N. MOREL, V. LE GUERN, N. COSTEDOAT-CHALUMEAU. Antiphospholipides (syndrome des SAPL). Société Nationale de Médecin Interne Française. 2014 Mai.

- [20] T. PRADEU, E.L. COOPER. The danger theory: 20 years later. *Front Immunol.* 3: 287. 2012
- [21] D. TANG, R. KANG, C.B. COYNE, J. ZEH, M.T. LOTZE. PAMPs and DAMPs: Signal Os that Spur Autophagy and Immunity. *Immunol Revue.* 2013 Septembre
- [22] Labtestsonline
- [23] D. PERIARD P.A. BART C. A. DERUAZ F. SPERTINI A. LEIMGRUBER. Le syndrome des antiphospholipides. *Revue Medical Suisse.* Volume 0. 23688. 2004
- [24] M. O BORGHI, F. TEDESCO. Pathogenesis of antiphospholipid syndrom : Understanding the antibodies. *Nature reviews rheumatology.* 2011 Juin.
- [25] H. KSOURI, F. MELLOULI, M. BEJAOUI. Le syndrome des anti-phospholipides : physiopathologie et aspects clinico-biologiques. *Archs Inst Pasteur.* 85 (1-4). 2008
- [26] O. MEYER. Physiopathologie du syndrome des antiphospholipides et aspects thérapeutiques. *Revue du rhumatisme* 74. 751-758. 2007
- [27] J.L. PASQUALI, V. POINDRON, A.S. KORGANOW, T. MARTIN. Physiopathologie du syndrome des antiphospholipides. *Mise au point, médecine interne.* 36. 667-73. 2007
- [28] G. ESPINOSA, R. CERVERA, J. FONT, J.C. REVERTER, Y. SHOENFELD. Mechanism of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Immunologia.* Vol 22. Numéro 1. 2003 Février Mars
- [29] D. GARCIA, D. ERKAN. Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrom. *The New england journal of medecin.* 378. 2010
- [30] J.L. PASQUALI. Physiopathologie du syndrome des antiphospholipides. *La revue de médecine interne.* 285. S302-S303. 2007
- [31] D. WAHL, L. SAADI, C. PERRET-GUILLAUME, A. MEMBRE, M. FREDERIC, J. DEVIGNES, A. BLUM, O. THIEBAUGEORGES, V. REGNAULT, T. LECOMPTE. Syndrome des antiphospholipides. Classification actuelle et indications thérapeutiques. *MT.* Vol 13 numéro 2. 2007 Mars Avril
- [32] C. EMILE. Des anticorps antiphospholipides devenus bien hétérogènes. *OptionBio.* N 456-457. 2011 Juin
- [33] C. FRANCES. Manifestation cutanées du syndrome des antiphospholipides. *Réalités thérapeutiques en dermato-venérologie.* Numéro 225. 2013 Septembre.

- [34] V. LE GUERN, L. GUILLEVIN. Manifestations cardiaques au cours du syndrome des antiphospholipides. Réalités cardiologiques. Octobre 2010
- [35] P. LEVESQUE. Syndrome des antiphospholipides et atteintes neurologiques. Staff neuro vasculaire. 2010 Juin
- [36] B. GODEAU. Syndrome des antiphospholipides. Revue Hématologie Volume 12. 2006
- [37] F. FAKHOURI, L.-H. NOËL, H. BEAUFILS, J.-P. GRÜNFELD, J.-C. PIETTE et P. LESAVRE. Hétérogénéité des atteintes rénales associées au syndrome des anticorps antiphospholipides (SAPL) Flammarion médecine-sciences — actualités néphrologiques 2002
- [38] B. GODEAU, J.C. PIETTE. Les anticorps antiphospholipides : signification et traitement. Presse Med; 33: 944-52. 2004
- [39] B.N. PHAM, J.L. PREUD'HOMME, A. SOMOGYI, O. BLETRY, D. ARNOUX, J. ARVIEUX, M. SANMARCO. Syndrome des antiphospholipides. Cahier de formation biologie médicale n°22. 2001 Octobre.
- [40] J. SIBILIA. Syndrome des antiphospholipides : pourquoi faut-il y penser et comment faire le diagnostic ? Revue du rhumatisme 70. 228–234. 2003.
- [41] M. SANMARCO. Exploration biologique du syndrome des antiphospholipides. La Lettre du Rhumatologue - n° 283 - 2002 juin
- [42] L. DARNIGE. Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides. Journal des Maladies Vasculaires Volume 40, Issue 5, 2015 September, P 293
- [43] G. MOULIS, K. DELAVIGNE, F. HUGUET, F. FORTENFANT, O. BEYNE RAUZY, D. ADOUE. Profil des anticorps antiphospholipides et risque de thromboses : étude comparative entre thrombopénie immunologique chronique et syndrome des antiphospholipides primaire. La revue de médecine interne. 32. 724-729. 2011.
- [44] J. ARVIEUX, L. DARNIGE, F. SARRO REYNAULD. Les nouvelles cibles des anticorps « antiphospholipides ». Revue médical interne. 38. 292-302. 1997
- [45] M. SANMARCI. Les « autres » anticorps antiphospholipides. Revue française des laboratoire. Numéro 293. 1997 Mai.
- [46] F. JOALLAND, H. DE BOYSSON, L. DARNIGE, A. JOHNSON, C. JEANJEAN, S. CHEZE, A. AUGUSTIN, C. AUZARY, L. GEFFRAY. Syndrome des antiphospholipides « séronégatif », syndrome catastrophiques, nouveaux anticoagulant ; enseignements d'une observation de prise en charge difficile. La revue de médecine interne 24. 752-756. 2014



- [47] O. MEYER. Nouveautés dans le syndrome des antiphospholipides (SAPL) en 2014. CHU Bichat. 2014
- [48] E. HOCHULLA. Importance des anticorps antiphospholipides en clinique. *Immunoanal biol spé.* 16. 103-109. 2001
- [49] E. HOCHULLA. Le SAPL séronégatif existe-t-il ? *J Rheumatol.* 44:597. 2017
- [50] S.S. SALAH. Intérêt du dosage des anticorps anti prothrombine et anti annexine V dans le diagnostic du SAPL. Congrès de la SAMI. 2014 Mai.
- [51] S.P. BAJAJ, S. RAPAPORT, D. FIERER, K. HERBST, D. SCHWARTZ. A mechanism for the hypoprothrombinemia of the acquired hypoprothrombinemia-lupus anticoagulant syndrome. *Blood.* 61 : 684—92. 1983
- [52] A. PACULL. Biologie des anomalies de l'hémostase. Tome VI : détection d'un anticoagulant de type lupique. HAS. 2011 Juillet.
- [53] V. JOSTE, M.A. DRAGON DUREY, L. DARNIGE. Laboratory diagnosis of antiphospholipid syndrome : from criteria to practice. *La revue de médecine interne.* 2017
- [54] M. SANMARCO. Exploration biologique du syndrome des antiphospholipides. *La Lettre du Rhumatologue - n° 283 - 2002 juin*
- [55] D. SAADOUN, J.C. PIETTE, D. WAHL, N. COSTEDOAT CHALUMEAU. Management of antiphospholipid syndrom. *La revue de médecine interne* 33. 217-222. 2012
- [56] L. ARNAUD et Z. AMOURA. Prise en charge thérapeutique du SAPL : mise au point. *Médecine sciences - actualités néphrologiques.* 2011
- [57] N. LE GOUELLEC, M. LAMBERT, C. STAVRIS, G. LEFEVRE, H. MAILLARD, S. VUYE, C. HAUSPIE, E. HACHULLA, P.Y. HATRON, C. CARON, S. DUBUCQUOI. Les anticorps antiphosphatidyléthanolamine sont associés à un risque élevé de récurrence thrombotique! *La Revue de médecine interne* 32S - S252–S312. 2011
- [58] N. COSTEDOAT CHALUMEAU, D. SAADOUN, J.C. PIETTE. The antiphospholipid syndrome in 2012 : its heterogeneity requires a personalized care. *La revue de médecine interne* 33. 173-175. 2012
- [59] A. MEKINIAN, M.C. BOURRIENNE, L. CARBILLON, A. BENBARA, N. ABISROR, S. CHOLLET-MARTIN, A. TIGAIZIN, F. MONTESTRUC, O. FAIN, P. NICAISE-ROLAND. Anticorps non conventionnels chez les patientes avec des complications obstétricales: caractéristiques et efficacité du traitement. *La revue de médecine interne* 375. A27 – 188. 2016
-

- (1) Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost JTH*. 2006 Feb;4(2):295–306.
- (2) Hughes GRV, Khamashta MA. Seronegative antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2003 Dec;62(12):1127.
- (3) Sanmarco M. Clinical significance of antiphosphatidylethanolamine antibodies in the so-called “seronegative antiphospholipid syndrome.” *Autoimmun Rev*. 2009 Dec;9(2):90–2.
- (4) Zohoury N, Bertolaccini ML, Rodriguez-Garcia JL, Shums Z, Ateka-Barrutia O, Sorice M, et al. Closing the Serological Gap in the Antiphospholipid Syndrome: The Value of “Non-criteria” Antiphospholipid Antibodies. *J Rheumatol*. 2017 Nov;44(11):1597–602.
- (5) Sciascia S, Sanna G, Murru V, Roccatello D, Khamashta MA, Bertolaccini ML. Anti-prothrombin (aPT) and anti-phosphatidylserine/prothrombin (aPS/PT) antibodies and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. A systematic review. *Thromb Haemost*. 2014 Feb;111(2):354–64.
- (6) Krishnaswamy S. The transition of prothrombin to thrombin. *J Thromb Haemost JTH*. 2013 Jun;11 Suppl 1:265–76.
- (7) Loeliger A. Prothrombin as a co-factor of circulating anticoagulant in systemic lupus erythematosus? *Thromb Diath Haemorrh*. 1959;3:237–56.
- (8) Yang Y-H, Chang C-J, Chuang Y-H, Hsu H-Y, Chen PP, Chiang B-L. Identification of anti-prothrombin antibodies in the anti-phospholipid syndrome that display the prothrombinase activity. *Rheumatol Oxf Engl*. 2010 Jan;49(1):34–42.
- (9) Simmelink MJ, Horbach DA, Derksen RH, Meijers JC, Bevers EM, Willems GM, et al. Complexes of anti-prothrombin antibodies and prothrombin cause lupus anticoagulant activity by competing with the binding of clotting factors for catalytic phospholipid surfaces. *Br J Haematol*. 2001 Jun;113(3):621–9.
- (10) Haj-Yahia S, Haj-Yahja S, Sherer Y, Blank M, Kaetsu H, Smolinsky A, et al. Anti-prothrombin antibodies cause thrombosis in a novel qualitative ex-vivo animal model. *Lupus*. 2003;12(5):364–9.
- (11) Ishikura K, Wada H, Kamikura Y, Hattori K, Fukuzawa T, Yamada N, et al. High prevalence of anti-prothrombin antibody in patients with deep vein thrombosis. *Am J Hematol*. 2004 Aug;76(4):338–42.
- (12) Pengo V, Denas G, Bison E, Banzato A, Jose SP, Gresele P, et al. Prevalence and significance of anti-prothrombin (aPT) antibodies in patients with Lupus Anticoagulant (LA). *Thromb Res*. 2010 Aug;126(2):150–3.

- (13) Bertolaccini ML, Atsumi T, Koike T, Hughes GRV, Khamashta MA. Antiprothrombin antibodies detected in two different assay systems. Prevalence and clinical significance in systemic lupus erythematosus. *Thromb Haemost.* 2005 Feb;93(2):289–97.
- (14) Nojima J, Iwatani Y, Suehisa E, Kuratsune H, Kanakura Y. The presence of anti-phosphatidylserine/prothrombin antibodies as risk factor for both arterial and venous thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Haematologica.* 2006 May;91(5):699–702.
- (15) Bertolaccini ML, Gomez S, Pareja JFP, Theodoridou A, Sanna G, Hughes GRV, et al. Antiphospholipid antibody tests: spreading the net. *Ann Rheum Dis.* 2005 Nov;64(11):1639–43.
- (16) Hoxha A, Ruffatti A, Mattia E, Meneghel L, Tonello M, Salvan E, et al. Relationship between antiphosphatidylserine/prothrombin and conventional antiphospholipid antibodies in primary antiphospholipid syndrome. *Clin Chem Lab Med.* 2015 Jul;53(8):1265–70.
- (17) Pregolato F, Chighizola CB, Encabo S, Shums Z, Norman GL, Tripodi A, et al. Anti-phosphatidylserine/prothrombin antibodies: an additional diagnostic marker for APS? *Immunol Res.* 2013 Jul;56(2-3):432–8.
- (18) Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Anti-beta 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood.* 2003 Oct 15;102(8):2717–23.

## 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.*