

---

# LE SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES : PHYSIOPATHOLOGIE ET ASPECTS CLINICO-BILOGIQUES

H. KSOURI<sup>1\*</sup>, F. MELLOULI<sup>2</sup> ET M. BEJAOUI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Service des Laboratoires, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse 2, Rue Jebel Lakdhar, 1006 TUNIS, TUNISIE.

<sup>2</sup> Unité Immuno-Hématologie, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse 2, TUNIS, TUNISIE.

\* Auteur correspondant : Tél: 71577406, E-mail : ksourib\_2000@yahoo.fr

---

## RESUME

*A plus d'un siècle de la découverte par Wasserman du premier anticorps impliqué dans le syndrome des antiphospholipides : anticorps anti-cardiolipine et diagnostic de la syphilis, ce syndrome continue par sa diversité clinique, ses signes biologiques en perpétuel remaniement et ses multiples facettes étiopathogéniques à poser des défis aux chercheurs. Dans cet article, nous proposons une mise au point de l'étiologie et des spécificités épitopiques des anticorps antiphospholipides. Concernant la physiopathologie de ce syndrome, nous insistons sur le rôle majeur de l'immunité innée dans la physiopathologie de ce syndrome. Fait confirmé par l'intervention des récepteurs Toll like qui représenteraient la structure membranaire cellulaire responsable du signal de transduction à l'origine de l'état thrombogène due à la fixation des Ac anti-beta2-glycoprotéine I à la surface des cellules endothéliales. Le rôle des anticorps anti-domaine I de la  $\beta 2$  glycoprotéine I qui feraient le lien entre marqueur biologique et manifestations thrombotiques sera aussi évoqué. Le diagnostic positif de ce syndrome à la lumière des recommandations du dernier consensus international pour les critères de classification du syndrome des antiphospholipides ainsi que les difficultés diagnostiques que pose ce syndrome clôturent cette revue.*

**Mots clés:** Anticorps anti-phospholipide, beta2-glycoprotéine I, critères diagnostiques, immunité innée.

## SUMMARY

*Due to its heterogeneity and pathogenesis diversity, antiphospholipid syndrom remains a challenge for researchers more than a century after first antibody, the anticardiolipin antibody for syphilis diagnosis was discovered.*

*After a review of the etiology and epitopic specificities of antiphospholipid antibodies, we propose a detailed overview of mechanisms and clinical aspects of antiphospholipid syndrome. We emphasize on the role of innate immunity and the involvement of endothelial cells Toll like receptors in the transduction signal of anti-beta2-glycoprotein I antibodies fixation, which induce a thrombogenic state.*

*The thrombogenic role of the anti- $\beta 2$ GPI antibodies direct against  $\beta 2$ GPI domain I in the clinical onset of this syndrome is also evoked.*

*Diagnosis problems and clinicobiological manifestations in the light of the last international consensus statement of the classification criteria for antiphospholipid syndrome end this review.*

**Key words:** Antiphospholipid antibodies, beta2-glycoprotein I, diagnostic criteria, innate immunity.

## INTRODUCTION

Le syndrome des antiphospholipides (SaPL) est une entité clinico-biologique qui comprend, sur le plan clinique, une association de thromboses (veineuses et/ou artérielles) et d'avortements spontanés ou pertes fœtales à répétition, et sur le plan biologique, la présence d'anticorps (Ac) anti-phospholipides (aPL) : « anticoagulants circulants ou lupus anticoagulant (LA) », anti-cardiolipine (aCL) et anti- $\beta_2$  glycoprotéine I (anti- $\beta_2$ GPI) <sup>1,2</sup>. Ce syndrome peut être primaire, s'il n'est rattaché à aucune maladie définie, ou secondaire au cas où il s'associe avec une autre pathologie telle que les maladies auto-immunes ou d'autres nature <sup>3</sup>.

Les Ac aPL caractéristiques de ce syndrome sont très divers et posent un problème d'identification. De ce fait la standardisation des méthodes de recherche reste tributaire des kits utilisés et des Ac aPL recherchés <sup>3,4</sup>. D'un autre côté, la définition même du SaPL est jusqu'à ce jour en perpétuel remaniement vu le grand éventail de signes biologiques et cliniques qui accompagnent cette entité <sup>1,2,5</sup>.

Au cours de cette revue nous nous proposons de détailler les étiologies et la physiopathologie du SaPL, en insistant sur les nouveautés concernant les mécanismes à l'origine des manifestations clinico-biologiques de ce syndrome.

## SPECIFICITES EPITOPHIQUES DES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES

Les Ac aPL présentent un groupe hétérogène, il s'agit d'Ac dirigés contre les PL anioniques, telle que la CL ou contre les complexes « protéines/PL ». Les protéines associées à ces PL sont essentiellement représentées par la  $\beta_2$ GPI et la prothrombine. Les aPL qui reconnaissent les complexes « protéines/PL » sont de différents isotypes (IgG, IgA et IgM), et appartiennent à 2 classes, ceux prolongeant les tests de coagulation dépendant des PL *in vitro*: LA, et ceux reconnus par les tests immunologiques en phase solide (ELISA) utilisant généralement la cardiolipine ou la  $\beta_2$ GPI comme antigène (Ag): (aCL) et anti- $\beta_2$ GPI <sup>3,6</sup>.

### Les anti-coagulants de type lupique

En réalité, ces Ac possèdent un effet pro-coagulant *in vivo* et agissent comme des inhibiteurs de la coagulation *in vitro*, d'où la dénomination historique de LA. *In vitro*, ces Ac ralentissent le taux de régénération de la thrombine donc la formation du caillot en interférant avec les tests de coagulation dépen-

dant des PL. Ces Ac sans réactivité aCL réagissent contre les complexes « PL anioniques/ $\beta_2$ GPI » ou « PL anioniques/ prothrombine » <sup>7</sup>.

### Anticorps anti-cardiolipines

Les premiers Ac détectés sont ceux dirigés contre l'Ag utilisé dans le test VDRL (Venerian Disease Research Laboratory) pour le diagnostic sérologique de la syphilis donnant des résultats faussement positifs, avec un test TPHA (Tréponema Pallidum Hemmaglutination Assay) négatif. L'Ag majeur utilisé dans ce test correspondait à un PL anionique, la CL. En fait, ces Ac ne sont pas spécifiques de la syphilis, et sont aussi retrouvés au cours des maladies auto-immunes <sup>3</sup>. La cardiolipine a été longtemps considérée comme la cible des Ac responsables du phénomène « anticoagulant type lupique ». Ultérieurement, il a été démontré que les Ac responsables dit aCL pouvaient fixer d'autres structures: la  $\beta_2$ GPI, la prothrombine, la protéine C, et l'annexine V <sup>3</sup>. Ainsi, la dénomination aCL a été remplacée par aPL d'où dérive le terme de SaPL. En réalité, ces Ac se fixent à une glycoprotéine d'adhésion membranaire hautement glycosylée et fixant les PL anioniques: la  $\beta_2$ GPI <sup>3</sup>.

### Les Ac anti- $\beta_2$ GPI (Figure 1)

C'est une protéine cationique à faible activité anticoagulante qui intervient au cours de l'hémostase en inhibant la phase contact de la coagulation <sup>6</sup>. Cette molécule immunogène possède 5 domaines acides aminés répétitifs. Le domaine V constitue le site de fixation majeur aux PL anioniques et le domaine I contient une portion hydrophile hautement immunogène <sup>8</sup>. Suite à la fixation de la  $\beta_2$ GPI aux PL anioniques, les 2 molécules subissent un changement de leur conformation qui entraîne l'exposition d'épitopes cryptiques de la  $\beta_2$ GPI et amplifie la fixation des Ac anti- $\beta_2$ GPI <sup>3</sup>. La conséquence de l'hétérogénéité de ces Ac fait qu'on peut avoir au cours du SaPL: une positivité simultanée LA et Ac aCL, ou une positivité à part d'un seul des deux Ac <sup>3</sup>. La spécificité plus grande des Ac anti- $\beta_2$ GPI pour le SaPL a été à l'origine de leur inclusion aux critères diagnostiques biologiques de ce syndrome <sup>2</sup>. Par contre l'association des Ac anti- $\beta_2$ GPI avec la thrombose est inconstante, bien qu'ils constituent un facteur thrombogène majeur au cours du SaPL <sup>3</sup>. Le rôle du domaine de la molécule de  $\beta_2$ GPI contre lequel l'Ac est dirigé semble être primordial dans ce contexte.

Les Ac dirigés particulièrement contre le domaine I de la  $\beta_2$ GPI sont retrouvés de façon plus significative chez les patients ayant des antécédents de thromboses<sup>8</sup>. La  $\beta_2$ GPI fixe d'autres structures chargées négativement / : héparine, ADN, lipoprotéine de faible densité oxydés (LDL ox), cellules trophoblastiques syncytiales, plaquettes activées, cellules endothéliales<sup>9,10</sup>.

### Autres Ac aPL

D'autres APL (anti-phosphatidyléthanolamine, antiphosphatidylinositol, anti-acide phosphatidique, etc ...) ont été associés au SaPL. Cependant, peu de données confirment cette association. De plus, les tests diagnostiques qui permettent de détecter ces Ac ne sont pas encore standardisés<sup>6</sup>.

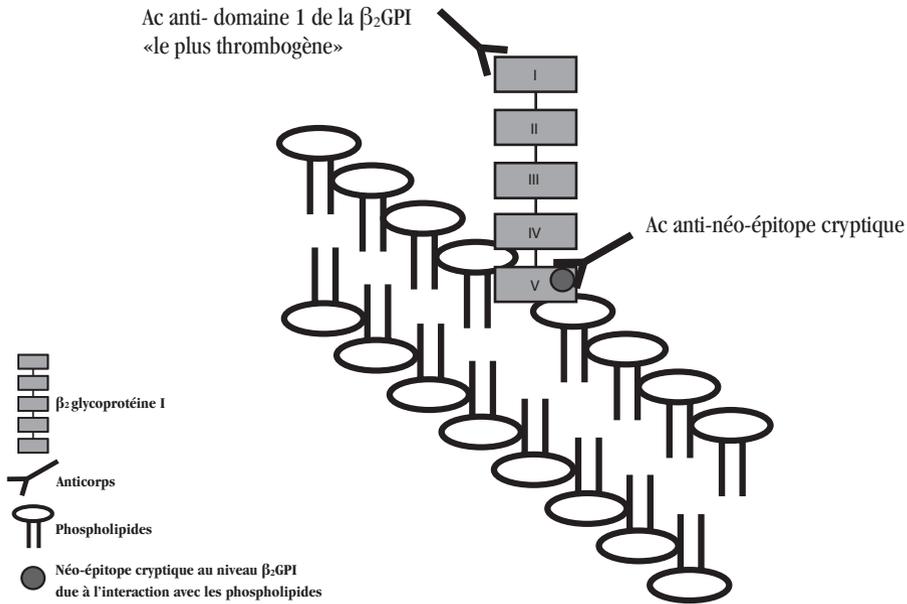


Figure 1. Sites épitopiques reconnus par les anticorps anti- $\beta_2$  glycoprotéine I.

## MECANISMES ETIOPATHOGENIQUES DES AC APL

Les aPL sont produits soit suite à des syndromes infectieux, soit qu'ils peuvent témoigner d'un dérèglement du système immunitaire et entrer dans le cadre des pathologies autoimmunes. Le SaPL qui en découlerait peut être primaire ou secondaire à plusieurs pathologies, en particulier celles autoimmunes.

### Anticorps aPL et syndromes infectieux

Les Ac aCL ont été retrouvés dans de nombreuses infections, virales, bactériennes et parasitaires<sup>11</sup>. Contrairement à ce qui a été pendant longtemps affirmé, ces Ac peuvent provoquer des manifestations cliniques du SaPL, en particulier le SaPL catastrophique<sup>12,13</sup>. D'un autre côté, le rôle attribué aux

agents infectieux dans l'étiopathogénie de certaines réactions autoimmunes, expliquerait la relation entre Ac aPL associés aux infections et manifestations cliniques du SaPL. Ainsi, Blank et al.<sup>14</sup> ont évoqué le rôle du mimétisme moléculaire dans l'induction des Ac aPL, en mettant en évidence une structure bactérienne homologue à la  $\beta_2$ GPI induisant la formation d'Ac aPL pathogéniques.

Le fait que la  $\beta_2$ GPI présente une homologie avec certains virus et bactéries, et que ces derniers constituent les ligands naturels des récepteurs Toll like (TLR), laisse supposer que la  $\beta_2$ GPI seule ou associée à son récepteur au niveau de la cellule endothéliale pourrait interagir avec ces TLR. La fixation ultérieure des Ac anti- $\beta_2$ GPI sur le complexe « TLR/ $\beta_2$ GPI » ou «  $\alpha$ TLR/ $\beta_2$ GPI / récepteur de la  $\beta_2$ GPI » peut déclencher ainsi la cascade d'activation de la coagulation<sup>15</sup>.

### **Anticorps aPL et dérèglement immunitaire**

Il s'agit de désordres auto-immuns favorisant l'exposition des PL anioniques (normalement situés dans la couche interne de la membrane des cellules endothéliales) au niveau des couches externes de cette membrane, ce qui permet à certaines protéines de fixer les PL et de présenter au système immunitaire une conformation néo-antigénique<sup>9</sup>. Il a été suggéré qu'au cours du SaPL, un défaut de clearance ou un excès de production des cellules apoptotiques favorisait la formation d'Ac aPL dirigés contre la  $\beta_2$ GPI et la prothrombine fixées au niveau de la phosphatidylsérine exposée à la surface de ces cellules<sup>16</sup>. Les lymphocytes T autoréactifs sont activés *in vitro* uniquement par les complexes « PL/ $\beta_2$ GPI » et non par l'un des composants à part, ce qui implique la formation d'un épitope cryptique reconnu par ces lymphocytes<sup>17</sup>. L'interleukine-6 et l'interaction CD40-CD40L jouent aussi un rôle important dans la production des Ac anti- $\beta_2$ GPI par les lymphocytes B autoréactifs<sup>18</sup>. Une hypothèse selon laquelle les complexes « $\beta_2$ GPI /Ac anti- $\beta_2$ GPI» où la  $\beta_2$ GPI oxydée joueraient le rôle d'adjuvant immunologique en fournissant un signal de co-stimulation via leurs capacités à ponter les TLR-4 présents à la surface des cellules dendritiques et des lymphocytes B autoréactifs, a été émise suite à des expérimentations *in vitro*<sup>19</sup>.

### **Anticorps aPL et prédispositions génétiques**

Les études concernant ce sujet sont divergentes<sup>20, 21</sup>, néanmoins une prédisposition génétique suggérée par certaines études familiales semble exister. Certains allèles HLA de classe II semblent intervenir, des associations entre les Ac aPL et de multiples Ag HLA DR ou DQ ont été décrites (HLA DR7 et susceptibilité de production des aCL)<sup>22</sup>. Des études génétiques ont déterminées que le génotype vv (valine/valine) en position 247 du gène de la  $\beta_2$ GPI constituait un facteur de risque génétique pour la production d'Ac anti- $\beta_2$ GPI et la survenue de thrombose au cours du SaPL primaire<sup>23</sup>. De plus, les sujets ayant un déficit en  $\beta_2$ GPI ne font pas de thromboses, par contre, les sujets atteints du SaPL possèdent des taux normaux, voir élevés de  $\beta_2$ GPI<sup>24</sup>.

## **PATHOGENIE DU SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES**

L'association paradoxale entre un état prothrombogène et la présence d'auto-Ac avec une activité

anticoagulante *in vitro* est jusqu'à présent partiellement élucidée. Les Ac aPL interfèrent avec les protéines fixant les PL qui agissent à différents niveaux de la régulation de l'hémostase<sup>4, 10</sup>. Cependant, ces Ac aPL nécessaires pour déclencher les manifestations cliniques du SaPL doivent s'associer aux médiateurs de l'immunité innée qui fournissent un second signal capable d'induire les évènements thrombotiques<sup>25</sup>. Les Ac anti- $\beta_2$ GPI sont aussi l'expression de la réponse immuno adaptative comme le démontre la présence des lymphocytes T spécifiques de la  $\beta_2$ GPI chez les patients atteints du SaPL<sup>26</sup>. La fixation des Ac à la  $\beta_2$ GPI exprimée au niveau de la membrane cellulaire serait responsable des effets de ces Ac au niveau des différents tissus. Il apparaît ainsi que la  $\beta_2$ GPI se comporte comme un « pont » entre les Ac circulants et les tissus cibles<sup>27</sup>. Ce fait explique la multitude des manifestations que peuvent déclencher les Ac anti- $\beta_2$ GPI, vu la large répartition de la  $\beta_2$ GPI.

Le développement de plusieurs modèles murins de SAPL, spontanés et induits expérimentalement, plaide en faveur du rôle pathogène de certains des Ac aPL. Des souches de souris lupiques se caractérisent par une réduction de la taille des portées et une thrombopénie, conjointement à l'apparition d'aPL  $\beta_2$ GPI-dépendants. Le transfert passif d'aPL polyclonaux ou monoclonaux (anti- $\beta_2$ GPI) à des souris gestantes accroît le taux de résorption fœtale et diminue le poids des placentas<sup>28</sup>.

### **La cascade de coagulation (Figure 2)**

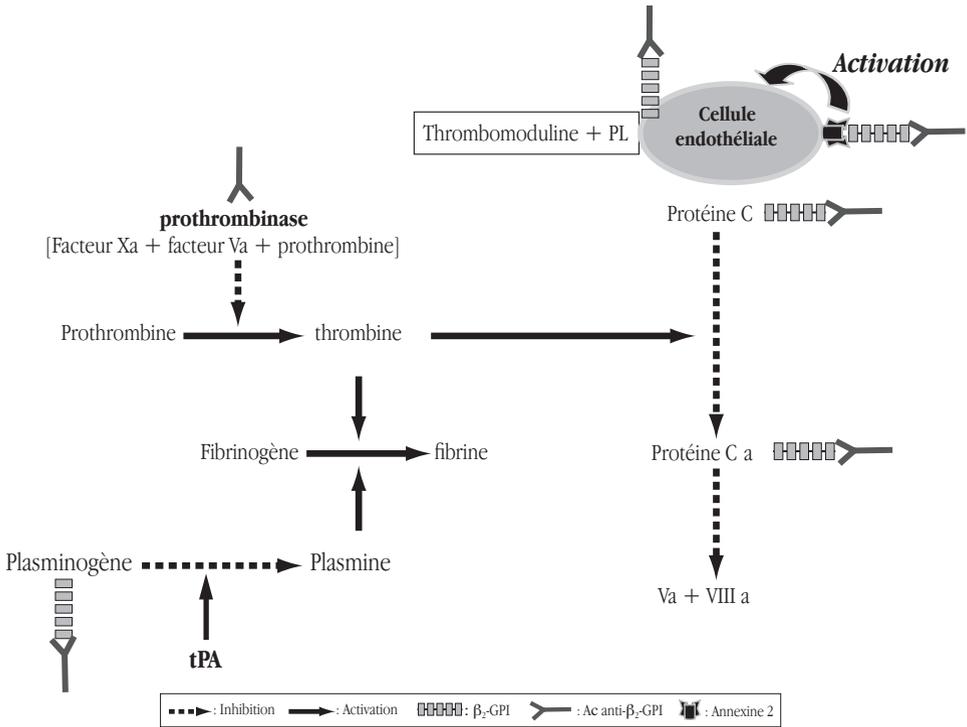
Les Ac aPL interfèrent avec différentes étapes et facteurs de l'hémostase<sup>29</sup>. La fixation de l'Ac aPL au niveau de sa cible protéique préalablement fixée à un PL anionique bloquerait *in vitro* l'assemblage de la prothrombinase nécessaire à la production de la thrombine<sup>7</sup>. Ces Ac inhibent l'activation et la fonction de la protéine C, inhibition conditionnée par la présence de la  $\beta_2$ GPI nécessaire à la fixation des Ac aPL à la protéine C<sup>29</sup>. Des études *in vitro* suggèrent que la  $\beta_2$ GPI pourrait réguler l'activité du facteur XI de la coagulation en inhibant son activation par la thrombine et le facteur XII activé<sup>30</sup>.

### **Les plaquettes**

Les plaquettes sont impliquées dans l'état prothrombogène des patients atteints du SaPL via la formation de surfaces membranaires pro-coagulantes caractérisées par l'exposition des PL anioniques.

L'administration d'Ac murins anti- $\beta_2$ GPI potentialise l'agrégation plaquettaire au sous-endothélium et entraîne une thrombopénie<sup>31</sup>. Il existe une augmentation de l'état d'activation des plaquettes circulantes avec production de thromboxane A2 favorisant la vasoconstriction et la formation du clou hémostatique. Récemment deux nouveaux récepteurs plaquettaires de la  $\beta_2$ GPI ont été mis en évidence, il s'agit de l'apolipoprotéine E receptor 2' (ApoR2'), unique récepteur des lipoprotéines de faible densité (LDL)

présent à la surface de ces cellules, impliqué dans l'amplification de la fixation plaquettaire au collagène induite par le complexe «  $\beta_2$ -GPI/Ac anti- $\beta_2$ GPI »<sup>32</sup>. De plus, la sous unité GPIIb du récepteur GPIIb/IX/V localisée à la surface des plaquettes et dont le ligand principal est le facteur de von Willebrand, fixe la  $\beta_2$ GPI, permet la co-localisation du facteur XI de la coagulation et de la thrombine à la surface plaquettaire et permettrait *in vitro* l'activation des plaquettes par les Ac anti- $\beta_2$ GPI<sup>33,34</sup>.



**Figure 2.** Quelques actions procoagulantes des anticorps antiphospholipides. **tPA**: Activateur tissulaire du plasminogène; **PL**: Phospholipide; **a**: activé.

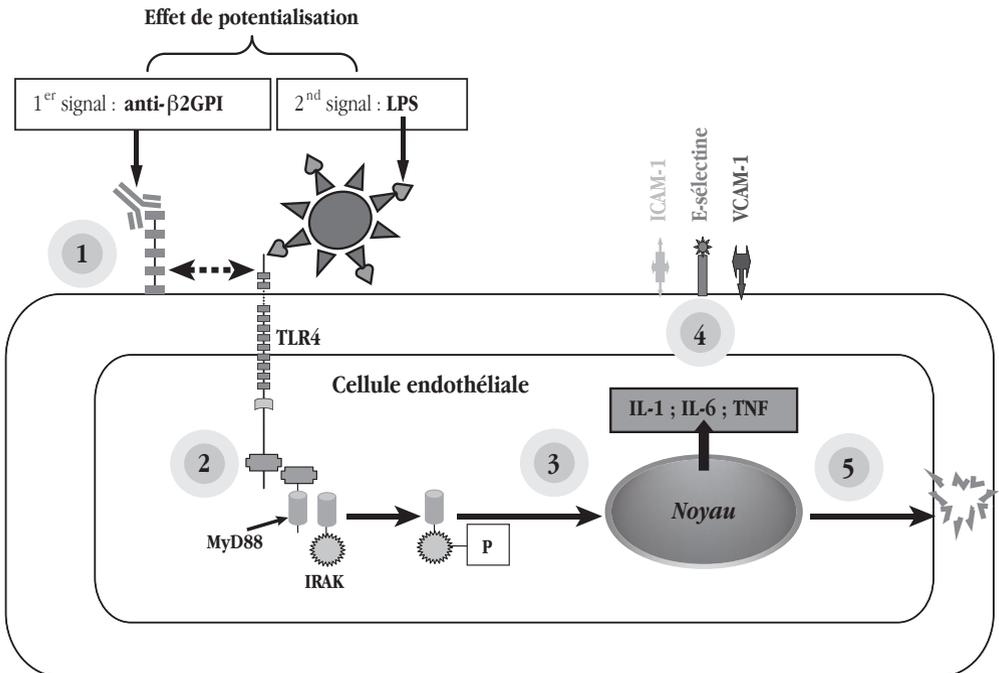
**Les cellules endothéliales** (Figure 3)

Les Ac aPL ont la capacité de modifier le phénotype des cellules endothéliales en phénotype pro-coagulant et pro-inflammatoire<sup>35</sup>. Au cours du SaPL, les Ac anti- $\beta_2$ GPI se fixent aux épitopes cryptiques de la  $\beta_2$ GPI de la membrane cytoplasmique des cellules endothéliales<sup>36</sup>. Ce tropisme endothélial de la  $\beta_2$ GPI dépend en partie de sa fixation à l'annexine II<sup>37</sup>, mécanisme à la base de l'activation des cellules endothéliales par les Ac anti- $\beta_2$ GPI<sup>38</sup>. La présence des Ac aPL, favorise l'activation des facteurs tissulaires exprimés par les cellules endothéliales et les monocytes,

et l'inhibition des mécanismes anti-coagulants<sup>38</sup>. Les Ac aPL favorisent l'expression des molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM I etc.), et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-6). Ces effets enclenchés par l'activation du NF- $\kappa$ B, sont comparables aux effets de l'incubation des cellules endothéliales avec l'IL-1 $\beta$ , le TNF- $\alpha$  et le LPS<sup>39</sup>. Les voies d'activation consécutives à l'action des Ac anti- $\beta_2$ GPI et le lipopolysaccharide (LPS) suivent la même cinétique temporelle de phosphorylation de l'IRAK (IL-1 récepteur-activated kinase), première kinase recrutée par la famille IL-1R/TLR (récepteurs Toll like).

Ce processus étant facilité par une protéine adaptatrice MyD88: protéine de différenciation myéloïde 88. Ce qui suggère que ces Ac activent les cellules endothéliales à travers le récepteur impliqué dans la voie des LPS <sup>40</sup>. *In vivo*, l'association inconstante entre la présence des Ac aPL et les manifestations thrombotiques a conduit certains auteurs <sup>41, 42</sup> à émettre la théorie dite des deux signaux. Cette théorie préconise que les Ac aPL (premier signal) augmentent uniquement le risque thrombogène et que la coagulation ne se déclenche que si une condition thrombogène (second signal) se manifestait. Dans le modèle expérimental, le LPS seul étant incapable de provoquer un effet vasculaire significatif, les Ac aPL produisent le «premier signal» nécessaire mais insuffisant pour déclencher la coagulation, un «second signal» correspondant à l'action du LPS est alors nécessaire pour exprimer l'activité thrombogène des Ac aPL <sup>43</sup>. Expérimentalement

l'infusion artérielle d'IgG anti- $\beta_2$ GPI à des rats naifs n'induit un effet vasculaire au niveau de la microcirculation mésentérique que si une petite quantité de LPS est injectée en intra-péritonéal <sup>42</sup>. Les TLR largement exprimés à la surface des cellules endothéliales, en particulier le TLR-4 prennent part à l'activation des cellules endothéliales par les Ac anti- $\beta_2$ GPI. Ce mécanisme serait en partie responsable de l'état thrombogène au cours du SaPL <sup>42</sup>. Une mutation ponctuelle au niveau du gène *tlr4* chez la souris est associée à un défaut de signalisation cellulaire et protège des effets thrombogènes des Ac aPL <sup>44</sup>. Chez les patients atteints du SaPL ayant présenté des épisodes thrombotiques, ce polymorphisme *tlr4* «protecteur» est significativement réduit <sup>43</sup>. Ce qui suggère qu'une réponse inflammatoire robuste constituerait un facteur favorisant la thrombose en présence des Ac aPL <sup>44</sup>, les TLR représentant la structure membranaire cellulaire responsable du signal de transduction <sup>35</sup>.



**Figure 3.** Activation des cellules endothéliales par les anticorps anti-phospholipides : Théorie des « deux signaux ». (1) les Ac anti- $\beta_2$ GPI (1<sup>er</sup> signal) en association avec les TLR fixant les structures microbiennes (représenté ici par le LPS) (2<sup>nd</sup> signal) peuvent agir de façon synergique pour déclencher le processus de coagulation; (2) Les Ac anti- $\beta_2$ GPI et le lipopolysaccharide (LPS) suivent la même cinétique temporelle de phosphorylation de l'IRAK (IL-1 receptor-activated kinase), processus facilité par la protéine adaptatrice de différenciation myéloïde 88 (MyD88); (3) Activation de la voie NF- $\kappa$ B; (4) Expression des molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM 1...) et sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-6, ...); (5) Activation des mécanismes pro-coagulants.

### **Les avortements spontanés à répétition**

Les phénomènes d'insuffisance placentaire d'origine ischémiques, en rapport avec des thromboses et des infarctus placentaires sont liés à des Ac dirigés contre la thrombine<sup>45</sup>, ou contre la PAP-I (phospholipid placental anticoagulant protein I) ou annexine V, protéine associée à la membrane cytoplasmique du syncytiotrophoblaste et synthétisée par les cellules trophoblastiques placentaires<sup>10</sup>. La réduction des capacités anticoagulantes de l'annexine V est un des mécanismes potentiels des thromboses *in vivo* induit par les Ac aPL<sup>46</sup>. Ainsi, le déficit en annexine V contribuerait à la thrombose placentaire responsable des avortements spontanés à répétition<sup>(1)</sup> (ASR)<sup>9</sup>.

Le rôle des Ac anti- $\beta_2$ GPI dans la survenue d'ASR reste controversé. Alors que Rai et al.<sup>47</sup> n'ont pas mis en évidence un tel rôle, Lee et al.<sup>48</sup> ont attribué à ces Ac un rôle au cours des ASR. Dans une méta-analyse concernant les femmes non atteintes de maladies auto-immunes<sup>49</sup>, uniquement le LA et non les Ac anti- $\beta_2$ GPI présentaient une forte association avec les pertes fœtales à répétition précoces<sup>(2)</sup> (PFR). En fait, l'intensité de l'association entre Ac aPL et PFR précoces varie selon les types d'Ac et les associations entre ces Ac<sup>47, 50, 51</sup>. Récemment De Laat et al.<sup>52</sup> ont démontré que les Ac anti-domaine I de la  $\beta_2$ GPI conféraient une résistance accrue aux propriétés anticoagulantes de l'annexine V. Le rôle unique de la thrombose au cours des manifestations obstétricales du SaPL reste sujet à débat, puisque la présence d'une thrombose placentaire ou déciduale chez les patientes atteintes du SaPL n'est pas toujours prouvée au cours des ASR. De plus la physiopathologie des pertes fœtales est différente selon l'âge de grossesse<sup>53</sup>. Au cours des PFR précoces, les effets des Ac aPL sur la fusion intercellulaire, le pouvoir invasif des cellules trophoblastiques, l'apoptose et la production des hormones trophoblastiques semblent être plus prononcés<sup>10</sup>. Les mécanismes non thrombotiques à l'origine des manifestations obstétricales du SaPL suggèrent l'intervention du complément dans des situations caractérisées par la constitution d'infiltrats inflammatoires au niveau du placenta.

L'expression d'un facteur tissulaire induit par l'activation du complément à la surface des polynucléaires neutrophiles infiltrant le trophoblaste fait partie des

mécanismes pathogéniques qui seraient responsables des PFR précoces induit par les Aca PL<sup>54</sup>.

L'interaction des Ac anti- $\beta_2$ GPI avec la  $\beta_2$ GPI exprimée à la surface des cellules trophoblastiques placentaires<sup>55</sup> inhibe la sécrétion de la gonadotrophine et réduit le pouvoir invasif du trophoblaste. La fixation des Ac anti- $\beta_2$ GPI au niveau des cellules déciduales et endométriales humaines *in vitro*, induit un phénotype pro-inflammatoire qui serait responsable de pertes fœtales chez les animaux<sup>56</sup>.

### **Les atteintes neurologiques**

L'expérimentation animale<sup>57</sup> suggère que le primum movens de l'atteinte neurologique au cours du SaPL est la fixation des Ac aPL à l'endothélium cérébral, provoquant ainsi des micro-thrombi, un dysfonctionnement endothélial et une fuite d'IgG à travers la barrière hémoméningée. La libération de cytokines par les cellules inflammatoires recrutées autour des vaisseaux sanguins accentue les lésions de cette barrière. L'extravasation des IgG aPL et de la thrombine activée à travers l'endothélium cérébral lésé induirait les changements comportementaux observés au cours du SaPL expérimental. En clinique humaine, une prévalence de 15% d'Ac aPL a été retrouvée chez une population de 350 patients pris au hasard dans un service de neurologie clinique, apoplexies et attaques ischémiques transitoires représentant la majorité des manifestations cliniques<sup>58</sup>. Chez les enfants, la présence d'Ac aPL a été associée à une augmentation de l'ordre de 6 fois du risque d'apoplexie, ce qui dépasse le risque secondaire à la présence de facteurs de risques thromboemboliques héréditaires<sup>59</sup>. Ces manifestations neurologiques viennent en seconde place (20,2%) parmi les manifestations cliniques durant l'évolution du SaPL chez une cohorte de 1000 patients souffrant de ce syndrome<sup>60</sup>. Une répercussion de la présence des Ac aPL chez des femmes enceintes souffrant d'un SaPL primaire sur le développement neuropsychique ultérieur de leurs enfants a été aussi suggérée par Nacinovich et al.<sup>61</sup>.

Un syndrome simulant la sclérose en plaque en présence d'Ac aPL et répondant bien au traitement anticoagulant a été évoqué par plusieurs auteurs<sup>62, 63</sup>. L'histoire médicale associée à la présence des Ac aPL ainsi que les lésions caractéristiques observées à l'imagerie par résonance magnétique constituent le support principal du diagnostic. Ces faits imposent une recherche systématique des Ac aPL en cas de manifestations cliniques atypiques de la sclérose en plaque<sup>64</sup>.

<sup>(1)</sup> & <sup>(2)</sup> Selon la définition, ASR ou PFR précoces correspondent à trois avortements spontanés successifs survenant durant les premières 10 à 15 semaines d'aménorrhée correctement documentés et sans grossesse intercalaire menée à terme.

### **L'athérosclérose**

L'implication des Ac aPL et des LDL ox dans la pathogénèse de l'athérosclérose au cours du SaPL a été évoquée par certains auteurs <sup>64, 65, 66, 67</sup>.

Les patients atteints d'athérosclérose possèdent des taux élevés de LDL ox, d'Ac anti-LDL ox circulants et d'Ac aPL <sup>65, 66</sup>. Réciproquement, des individus avec des niveaux élevés en Ac aPL, possèdent des taux élevés d'Ac anti-LDL ox <sup>67</sup>. Nonobstant, ces Ac peuvent représenter uniquement des marqueurs associés à l'athérosclérose sans pouvoir pathogène vrai. Le fait que les patients atteints de SaPL présentent un risque accru d'athérosclérose par rapport à la population générale a été suggéré par Vaarala <sup>68</sup>, qui ont montré que la présence d'un titre élevé d'aCL était un facteur de risque indépendant de la survenue d'un infarctus du myocarde ou de décès d'origine cardiaque. Durant l'athérogénèse, les LDL sont séquestrées dans l'espace sous-endothélial et ultérieurement oxydés, constituant ainsi les Ag majeurs impliqués dans l'athérosclérose. Les macrophages activés par la phagocytose des LDL ox entraînent des lésions au niveau des cellules endothéliales, première étape de l'installation du processus athéromateux.

La fixation de la  $\beta_2$ GPI seule aux LDL ox réduit la clairance de ces derniers par les macrophages. Alors que la fixation des Ac anti- $\beta_2$ GPI sur les complexes « $\beta_2$ GPI/LDL ox», entraîne une amplification de la clairance des LDL ox *in vitro* <sup>69</sup>, ce qui expliquerait la survenue d'une athérosclérose accélérée chez les patients atteints de SaPL. D'un autre côté, la réactivité croisée des Ac aPL avec les PL oxydés et les Ag bactériens pourrait avoir des implications importantes relatives au rôle des agents infectieux dans la pathogénèse de l'athérosclérose <sup>70</sup>.

Les liens complexes unissant SaPL et athérosclérose ont été corroborés chez la souris, d'une part dans l'un des modèles de SaPL par l'injection de LDL oxydées, d'autre part dans un modèle d'athérome par l'immunisation avec de la  $\beta_2$ GPI <sup>65</sup>. Dans chacun des modèles, ces manipulations ont provoqué l'aggravation de la maladie initiale, suggérant un rôle des anticorps anti- $\beta_2$ GPI dans l'athérome <sup>68</sup>.

L'existence de spécificités Ac communes entre les patients athéromateux et ceux atteints de SaPL reste plausible, mais difficile à déterminer vu la diversité des Ac aPL <sup>70</sup>. Dans tous les cas, le nombre réduit d'études à ce sujet empêche d'associer l'athérosclérose à la pathologie vasculaire attribuée au SaPL indépendamment des risques vasculaires traditionnels <sup>71</sup>.

### **Le syndrome catastrophique des antiphospholipides (SCaPL)**

Le SCaPL ou syndrome d'Asherson est une entité à part du SaPL, particulière par sa physiopathologie et son caractère aigu. Il s'agit d'une défaillance multiviscérale secondaire à des thromboses diffuses touchant la microcirculation et atteignant moins de 1% des patients souffrant d'un SaPL <sup>3</sup>. Ce syndrome est plus fréquemment rencontré chez les patients souffrant d'un SaPL primaire (49,9%) et chez ceux souffrant d'un lupus érythémateux systémique (LES) ou des syndromes « lupus like » (45%) <sup>72</sup>. Les facteurs déclenchant ce syndrome sont en particulier les infections (22%) et les traumatismes (13%) <sup>73</sup>. Ce syndrome associe à des degrés divers des atteintes : rénales (70%), pulmonaires (66%) sous forme d'un syndrome de détresse respiratoire aiguë, neurologiques (60%) pouvant entraîner un état convulsif, cardiaques souvent graves (52%) et cutanées (47%). Les patients décèdent souvent suite aux atteintes cardio-respiratoires et neurologiques <sup>73</sup>.

Récemment Espinosa et al. <sup>12</sup> ont proposé l'existence d'un lien entre SCaPL et choc septique, la relation évidente entre SaPL et infection pouvant expliquer la survenue du SCaPL. La réponse inflammatoire systémique secondaire à la libération excessive de cytokines à partir des tissus nécrosés représente un des facteurs favorisant la survenue du SCaPL. L'activation des cellules endothéliales par les Ac anti- $\beta_2$ GPI via les récepteurs de la famille TLR/IL-1 faisant le lien entre l'étiologie infectieuse et ce syndrome <sup>13</sup>. L'activité aberrante des polynucléaires neutrophiles impliquée dans la survenue de la défaillance multiviscérale lors du choc septique sévère <sup>74</sup> interviendrait lors du SCaPL. L'activation du complément au niveau pulmonaire secondaire au passage des bactéries à travers la barrière intestinale lésée (suite à l'ischémie induite par la maladie occlusive des vaisseaux de petits calibres au cours du SCaPL), pouvant être responsable des hémorragies alvéolaires diffuses compliquant ce syndrome <sup>75</sup>. Le SCaPL peut parfois être confondu avec le syndrome de coagulation intra-vasculaire disséminée <sup>76</sup>.

### **DIAGNOSTIC DU SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES (TABLEAU I)**

Les critères cliniques pour le diagnostic du SaPL sont clairs et peuvent être établis de façon objective.

Par contre, les critères biologiques restent assujettis aux laboratoires qui effectuent ces analyses. Ainsi, un nombre important de patients sont diagnostiqués de façon erronée comme souffrant d'un SaPL<sup>4</sup>. Les décisions concernant le début et la durée du traitement anticoagulant reposent sur

un diagnostic certain, de ce fait la pratique de telles analyses dans un laboratoire spécialisé doit être recommandée<sup>24</sup>. Parmi les critères du SaPL de Sapporo révisés, les Ac anti- $\beta_2$ GPI ont été nouvellement intégrés<sup>2</sup>. La présence d'au moins un critère clinique et un critère biologique définit le SaPL.

**Tableau I : Critères du syndrome des anti-PL révisés (2006)<sup>2</sup>.**

CRITERES CLINIQUES	CRITERES BIOLOGIQUES
<p>1. <b>Thrombose artérielle, veineuse ou microvasculaire.</b></p> <p>2. <b>Accidents gravidiques (en dehors de toutes autres pathologies mater-nelles ou fœtales) au moins :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- une mort fœtale inexpiquée dès 10 semaines de grossesse ;</li> <li>- une naissance prématurée (&lt;34 semaines) liée à une pré-éclampsie ou à une insuffisance placentaire sévère ;</li> <li>- trois avortements spontanés consécutifs inexpiqués avant la 10<sup>ème</sup> semaine de grossesse.</li> </ul>	<p>1. <b>LA</b> : dépisté à 2 occasions ou plus et à au moins 12 semaines d'écart au niveau du plasma selon les recommandations de l'ISTH (Scientific subcommittee on lupus anticoagulants/phospholipid-dependent antibodies).</p> <p>2. <b>ACL IgG et/ou IgM</b> : dépisté à 2 occasions ou plus et à au moins 12 semaines d'écart au niveau du sérum ou du plasma et révélés par ELISA standardisée à des titres moyens ou élevés [<math>&gt; 40</math> GPL ou MPL].</p> <p>3. <b>Anti-<math>\beta_2</math>GPI IgG et/ou IgM</b>: dépisté à 2 occasions ou plus et à au moins 12 semaines d'écart au niveau du sérum ou du plasma et révélés par ELISA [titres <math>&gt;99^{\text{ème}}</math> percentile].</p>

ACL : anti-cardiolipine;  $\beta_2$  GPI :  $\beta_2$  glycoprotéine I; LA : anticoagulant lupique; ISTH : International Society on Thrombosis and Hemostasis.

### Manifestations cliniques

#### • Manifestations cliniques majeures

Le terme majeur signifie que le critère diagnostique appartient à la définition du SaPL. Il s'agit en premier lieu des thromboses vasculaires, veineuses et/ ou artérielles. Les accidents gravidiques constituent la seconde manifestation clinique majeure du SaPL.

#### • Manifestations cliniques mineures (Tableau II)

Le terme mineur signifie : que le critère diagnostique n'appartenant pas à la définition du SaPL, sans qualification de la gravité clinique. Ces critères sont nombreux, très divers, parfois liés à des accidents thrombotiques dont on ne peut pas faire la preuve<sup>1,5</sup>.

**Tableau II : Manifestations cliniques mineures du syndrome des PL.**

<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pertes fœtales spontanées avant la 10<sup>e</sup> semaine de grossesse (après élimination des autres causes)</li> <li>- Accidents ischémiques transitoires</li> <li>- Thrombopénie</li> <li>- AHAI</li> <li>- Chorée</li> <li>- Myélite transverse</li> <li>- Anomalies valvulaires non rhumatismales</li> <li>- Livedo</li> <li>- Ulcère de jambe</li> <li>- Hémorragie bilatérale des surrénales</li> <li>- Histoire familiale clairement identifiée de LES ou SaPL</li> <li>- Convulsions</li> <li>- HTAP</li> <li>- Néphropathie des aPL</li> </ul>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

AHAI : anémie hémolytique auto-immune, LES : lupus érythémateux systémique, SaPL : syndrome des antiphospholipides, HTAP : hypertension artérielle pulmonaire.

**Signes biologiques****• Signes biologiques majeurs**

Ces aPL détectés par différents tests difficilement standardisés, posent un problème de difficulté d'identification. Ces signes associent la présence d'aCL IgG ou IgM à des taux élevés révélés par ELISA et la présence de LA, dont témoigne l'existence d'un auto-Ac allongeant un test fonctionnel de coagulation dépendant des PL<sup>1,5</sup>. L'introduction récente des Ac anti-β2GPI comme signe biologique majeur du SaPL2 a comblé une lacune dans le diagnostic biologique positif de ce syndrome.

**• Signes biologiques mineurs**

Il s'agit de la présence d'un ou de plusieurs parmi ces Ac: IgA aCL, anti-mitochondries (M5), anti-phosphatidyléthanolamine, anti-PL mixte, anti-prothrombine, anti-LDL ox<sup>1,5</sup>. Des titres > 40 unités sont considérés comme positifs, mais dans tout les cas,

un résultat positif doit être confirmé après 12 semaines au moins<sup>2</sup>.

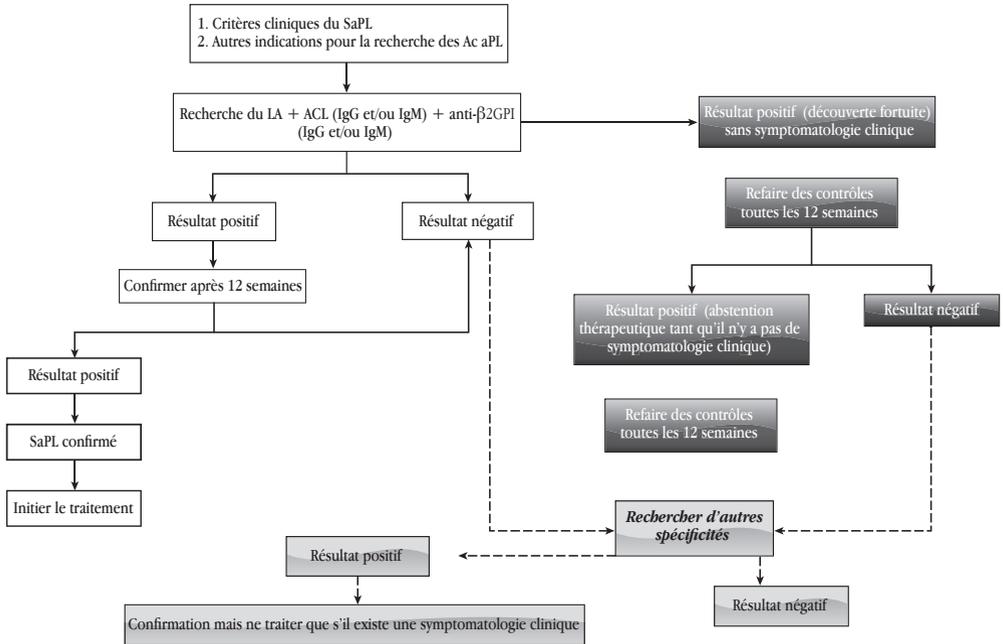
**INDICATIONS POUR LA RECHERCHE DES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES (TABLEAU III), (FIGURE 4)**

En raison des nombreuses manifestations cliniques qui peuvent accompagner le SaPL, les indications pour la recherche des Ac aPL sont innombrables. Ce fait rend plus délicat la délimitation d'une maladie bien individualisée à laquelle serait attribué le terme de SaPL. Les associations cliniques de ce syndrome intègrent, le SaPL primaire ou idiopathique, le SaPL secondaire à certaines pathologies auto-immunes. D'autres conditions peuvent aussi engendrer un tel syndrome/: les infections, la prise de certains médicaments (phénothiazines, procaïnamide, phénytoïne, ...) et la survenue de maladies lymphoprolifératives<sup>6,24</sup>.

**Tableau III : Indications pour la recherche des anticorps aPL.**

- Antécédents de thromboses artérielles et / ou veineuses.
- Embolies pulmonaires récidivantes.
- 1<sup>er</sup> épisode de thrombose veineuse de siège inhabituel : rénal, sus hépatique ...et/ou 1<sup>ère</sup> manifestation artérielle systémique si âge < 45 ans : accident ischémique cérébral transitoire ou constitué, IDM ; infarctus viscéral...
- Manifestations artérielles systémiques répétées (45-65 ans) hors athérome.
- Au moins 1 mort foetale in utéro après 10 semaines de gestation.
- Au moins 3 avortements spontanés.
- Syndrome auto-immun d'échec de la reproduction associant, des avortements spontanés à répétition et une stérilité.
- Thrombopénie durable inexpliquée.
- Autres : Sérologie syphilitique dissociée; lupus érythémateux systémique; éclampsie atypiques; retard de croissance in utéro, décollement placentaire.
- Livedo racemosa ; manifestations dermatologiques liées à un processus thrombotique non inflammatoire
- Végétations ou épaississement valvulaire de cause inconnue survenant avant 45 ans, thrombose intracardiaque.
- Indications rares : chorée non familiale ; hémorragie surrénalienne bilatérale ; microangiopathie thrombotique.

AHAI : anémie hémolytique autoimmune, LES : lupus érythémateux systémique, SaPL : syndrome des antiphospholipides, HTAP : hypertension artérielle pulmonaire.



**Figure 4.** Algorithme décisionnel pour la recherche des anticorps anti-phospholipides. *PL*: phospholipides; *aCL*: anti-cardiolipine; *β2GPI*: β2glycoprotéine 1; *SaPL*: syndrome des anti-phospholipides.

## DIFFICULTES DIAGNOSTIQUES

Le SaPL étant cliniquement et biologiquement polymorphe, toute manifestation suspecte doit être considérée. La présence de ces Ac chez des personnes asymptomatiques apparemment saines, la présence d'Ac secondaires aux infections ou à la prise de certains médicaments, la prévalence élevée des Ac aCL à faibles titres et la reproductibilité limitée des tests de recherche des Ac aPL sont autant de facteurs qui compliquent le diagnostic positif du SaPL<sup>3</sup>. Les tests de coagulations utilisées présentent une spécificité intermédiaire pour les LA [car la concentration de facteurs contribuant à la formation du caillot et la présence d'inhibiteur de la coagulation autres que le LA peuvent interférer]. Le manque de standardisation des techniques de recherche est à l'origine de l'absence de corrélation entre la présence de ces Ac et la symptomatologie clinique<sup>3, 5, 7, 77</sup>. Il est en fait préconisé qu'au moins 2 types de tests soient utilisés pour la recherche des LA, car l'habileté à prolonger les temps de coagulation des LA diffère suivant les tests utilisés<sup>78</sup>. Les tests ELISA à la recherche des Ac aCL et anti-β<sub>2</sub>GPI restent plus sensibles et ne souffrent pas d'interférence avec les activateurs et les inhibiteurs

de la coagulation. Pourtant, cette sensibilité est la source d'un grand nombre de faux positifs dans le cas des Ac aCL spécifiques des infections, ce qui rend ce test inutilisable pour la détection des patients à risque de thromboses<sup>3, 4</sup>.

## CONCLUSION

Le SaPL demeure une pathologie multiforme malgré les divers consensus internationaux. La relative conservation des critères cliniques diagnostiques de ce syndrome et l'ajustement continu des critères biologiques traduit les difficultés diagnostiques. L'absence de corrélations clinico-biologiques et la non standardisation des tests diagnostiques accentuent encore plus ces difficultés. La multitude des facteurs étiologiques pouvant être à l'origine du SaPL, la multitude des intervenants (système de coagulation, plaquettes, cellules endothéliales etc...) et le continuum entre les étiologies infectieuses et dysimmunitaire contribuent à cette complexité. Le rôle majeur de l'immunité innée dans le déclenchement de la symptomatologie clinique du SaPL est confirmé par l'intervention des TLR qui fournissent un second signal nécessaire et complémentaire du rôle des Ac aPL.

D'un point de vue pratique, les recommandations du dernier consensus en plus de l'introduction de la recherche des Ac anti- $\beta_2$  GPI, ont insisté sur la positivité des résultats confirmée à au moins douze semaines d'intervalle et ont considéré une positivité des Ac aCL supérieure à 40 GPL ou MPL, ce qui élimine tout les cas intermédiaires avec des valeurs des aCL < 40. De plus concernant les LA, l'utilisation de plus d'un test de dépistage de l'allongement du temps de coagulation est conseillée.

L'association fortement significative entre les Ac dirigés contre le domaine I de la  $\beta_2$  GP I et les thromboses représente une nouvelle aire de recherche. Cette association permettra si elle est confirmée, la mise en place de tests ELISA associant sensibilité et spécificité et constituant un argument fondamental dans la corrélation clinico-biologique au cours du SaPL.

## REFERENCES

- 1- **V.A. Wilson, A.E. Gharavi and J.C. Piette** (2001). International classification criteria for antiphospholipid syndrome: synopsis of post-conference workshop held at the 9<sup>th</sup> International aPL symposium (Tours, France). *Lupus*, **10**, 457- 460.
- 2- **S. Miyakis, M.D. Lockshin, T. Atsumi, D.W. Branch, R.L. Brey, R. Cervera et al.** (2006). International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J.Thromb. Haemost.*, **4**, 295-306.
- 3- **B. Robertson and M. Greaves** (2006). Antiphospholipid syndrome. *Blood Reviews*, **20**, 201-212.
- 4- **B. de Laat, K. Mertens and P.G. de Groot** (2008). Mechanisms of Disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.*, **4**, 192-198.
- 5- **M.D. Lockkin, L.R. Sammaritano and S. Schwartzman** (2001). Validation of the Sapporo criteria for antiphospholipid syndrome. *Arthritis. Rheum.*, **43**, 440- 443.
- 6- **Y. Shoenfeld, G. Twig, U. Katz and Y. Sherer** (2008). Autoantibody explosion in antiphospholipid syndrome. *J. Autoimmunity.*, **30**, 74-83.
- 7- **M.J. Simmelink, D.A. Horbach, R.H. Derksen, J.C. Meijers, G.M. Bevers, G.M. Willems et al.** (2001). 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*, **3**, 621- 629.
- 8- **B. de Laat, R.H. Derksen, R.T. Urbanus and P.G. de Groot** (2005). IgG antibodies that recognize epitope Gly40-Arg43 in domain I of  $\beta_2$ -glycoprotein I cause LAC and their presence correlates strongly with thrombosis. *Blood*, **105**, 1540-1545.
- 9- **C.J. Lockwood and J.H. Rand** (1994). The immunobiology and obstetrical consequences of antiphospholipid antibodies. *Obstet. Gynecol. Surv.*, **49**, 432-441.
- 10- **N. Di Simone, P.L. Meroni, N. Del Papa, E. Raschi, D. Calandro, S. De Carolis et al.** (2000). Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotrophin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered beta 2 glycoprotein I. *Arthritis. Rheum.*, **43**, 140-153.
- 11- **D. Sène, J.C. Piette and P. Cacoub** (2008). Antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome and infections. *Autoimmun. Rev.*, **7**, 272-277.
- 12- **G. Espinosa, R. Cervera and R.A. Asherson** (2007). Catastrophic antiphospholipid syndrome and sepsis: a common link ? *J. Rheumatol.*, **34**, 923-926.
- 13- **E. Raschi, C. Testoni, M.O. Borghi, S. Fineschi and P.L. Meroni** (2003). Endothelium activation in antiphospholipid syndrome. *Biomed. Pharmacother.*, **7**, 282-286.
- 14- **M. Blank, I. Krause, M. Fridkin, N. Keller, J. Kopolovic, I. Goldberg et al.** (2002). Bacterial induction of autoantibodies to  $\beta_2$ -glycoprotein-I accounts for the infectious etiology of antiphospholipid syndrome. *J. Clin. Invest.*, **6**, 797-804.
- 15- **Y. Shoenfeld, M. Blank, R. Cervera, J. Font, E. Raschi and P.L. Meroni** (2006). Infectious origin of the antiphospholipid syndrome. *Ann. Rheum. Dis.*, **65**, 2-6.
- 16- **A.M. Cline and M.Z. Radic** (2004). Apoptosis, subcellular particles and autoimmunity. *Clin. Immunol.*, **112**, 175-182.
- 17- **M. Kuwana, E. Matsuura, K. Kobayashi, Y. Okazaki, J. Kaburaki, Y. Ikeda et al.** (2005). Binding of beta 2-glycoprotein I to anionic phospholipids facilitates processing and presentation of a cryptic epitope that activates pathogenic autoreactive T cells. *Blood*, **105**, 1552-1557.
- 18- **T. Arai, K. Yoshida, J. Kaburaki, H. Inoko, Y. Ikeda, Y. Kawakami et al.** (2001). Autoreactive

- CD4(+) T-cell clones to beta2-glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome: preferential recognition of the major phospholipid-binding site. *Blood*, **98**, 1889-1896.
- 19-B. Buttari, E. Profumo, V. Mattei, A. Siracusano, E. Ortona, P. Margutti et al. (2005). Oxidized beta2-glycoprotein I induces human dendritic cell maturation and promotes a T helper type I response. *Blood*, **106**, 3880-3887.
- 20-P. Dagenais, M.B. Urowitz, D.D. Gladman and C.S. Norman (1992). A family study of the antiphospholipid syndrome associated with other autoimmune diseases. *J. Rheumatol.*, **19**, 1393-1396.
- 21-N. Goel, T.L. Ortel, D. Bali, J.P. Anderson, I.S. Gourley, H. Smith et al. (1999). Familial antiphospholipid antibody syndrome: Criteria for disease and evidence for autosomal dominant inheritance. *Arth. Rheum.*, **42**, 318-327.
- 22-S. Trabace, M. Nicotra, S. Cappellaci, M. Morellini, C. Mutinelli, M. Sbracia et al. (1991). HLA-DR and DQ antigens and anticardiolipin antibodies in women with recurrent spontaneous abortion. *Am. J. Reprod. Immunol.*, **26**, 147-149.
- 23-G.A. Prieto, A.R. Cabral, M. Zapata-Zuniga, A.J. Simon, A.R. Villa, D. Alarcon-Segovia et al. (2003). Valine/valine genotype at position 247 of the beta 2 glycoprotein I gene in Mexican patients with primary antiphospholipid syndrome: association with anti-beta2 glycoprotein I antibodies. *Arthritis Rheum.*, **48**, 471- 474.
- 24-B. Namjou (2003). Antiphospholipid Syndrome: Genetic Review. *Curr. Rheumatol. Rep. Oct.*, **5**(5), 391-394.
- 25-S. Austin and H. Cohen (2008). Antiphospholipid syndrome. *Nat. Medicine.*, **11**, 472- 475.
- 26-N. Hattori, M. Kuwana, J. Kaburaki, T. Mimori, Y. Ikeda, Y. Kawakami et al. (2000). T cells that are autoractive to  $\beta$ 2-glycoprotein 1 in patients with antiphospholipid syndrome and healthy individuals. *Arthritis. Rheum.*, **43**, 65-75.
- 27-M. Le Tonqueze, K. Salozhin, M. Dueymes, J.C. Piette, V. Kovalev, Y. Shoenfeld, et al. (1995). Role of  $\beta$ 2-glycoprotein I in the antiphospholipid antibody binding to endothelial cells. *Lupus*, **4**, 179-186.
- 28-E. Hachulla, L. Darnige and J. Arvieux (2007). Syndrome des antiphospholipides. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Hématologie, 13-022-C-10.
- 29-P.G. de Groot, D.A. Horbach and R.H. Derksen (1996). Protein C and other cofactors involved in the binding of antiphospholipid antibodies: relation to the pathogenesis of thrombosis. *Lupus*, **5**, 488- 493.
- 30-T. Shi, G.M. Iverson, J.C. Qi, K.A. Cokerill, M.D. Linnik, P. Konecny et al. (2004). Beta 2-glycoprotein I binds factor XI and inhibits its activation by thrombin and factor XIIa: loss of inhibition by clipped beta 2-glycoprotein I. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **101**, 3939-3944.
- 31-A.N. Mason, R.A. Mageded and C.G. Mackworth-Young (2001). The effects of a human IgM monoclonal anticardiolipin antibody on pregnancy in a transgenic mouse model. *Lupus*, **10**, 289-294.
- 32-B.C. Lutters, R.H. Derksen, W.L. Tekelenburg, P.J. Lenting, J. Arnout and P.G. de Groot (2003). Dimers of beta 2-glycoprotein I increase platelet deposition to collagen via interaction with phospholipids and the apolipoprotein E receptor 2'. *J. Biol. Chem.*, **278**, 33831-33838.
- 33-T. Shi, B. Giannakopoulos, X. Yan, P. Yu, M.D. Berndt, R.K. Andrews et al. (2006) Antibeta2-glycoprotein I antibodies in complex with beta2-glycoprotein I can activate platelets in a dysregulated manner via glycoprotein Ib-IX-V. *Arthritis Rheum.*, **54**, 2558-2567
- 34-M.C. Berndt, Y. Shen, S.M. Dopheide, E.E. Gardiner and R.K. Andrews (2001). The vascular biology of the glycoprotein Ib-IX-V complex. *Thromb. Haemost.*, **86**, 178-188.
- 35-P.L. Meroni, E. Raschi, C. Testoni and M.O. Borghi (2004). Endothelial cell activation by antiphospholipid antibodies. *Clin. Immunol.*, **112**, 169-174.
- 36-N. Del Papa, L. Guidali, A. Sala, C. Buccellati, M.A. Khamashta, K. Ichikawa et al. (1997). Endothelial cells as target for anti-phospholipid antibodies: human polyclonal an monoclonal anti-beta2 glycoprotein I antibodies react in vitro with endothelial cells through adherent beta 2 glycoprotein I and induce endothelial activation. *Arthritis. Rheum.*, **40**, 551-561.
- 37-J.C. Zhang and K.R. McCrae (2002). Antiphospholipid antibodies activate endothelial cells through a novel  $\beta$ 2-glycoprotein I ( $\beta$ 2GPI) and annexin II-dependent pathway. *Blood.*, **100**, 500-507.
- 38-R.T. Urbanus (2007). Current insight into diagnostics and pathophysiology of the antiphospholipid syndrome. *Blood. Rev.*, **5**, 156-164.
- 39-F. Mercurio and A.M. Manning (1999). Multiple signals converging on NF- $\kappa$ B. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, **11**, 226-232.

- 40-E. Raschi, C. Testoni, D. Bosisio, M.O. Borghi, T. Koike, A. Mantovani et al. (2003). Role of the MyD88 transduction signalling pathway in endothelial activation by anti-phospholipid antibodies. *Blood*, **101**, 3495-3500.
- 41-P.L. Meroni and P. Riboldi (2001). Pathogenic mechanisms mediating antiphospholipid syndrome. *Curr. Opin. Rheumatol.*, **13**, 377-382.
- 42-F. Fischetti, P. Durigutto, V. Pellis, A. Debeus, P. Macor, R. Bulla et al. (2005). Thrombus formation induced by antibodies to {beta}2-glycoprotein I is complement dependent and requires a priming factor. *Blood*, **106**, 2340-2346.
- 43-P.L. Meroni (2008). Pathogenesis of the antiphospholipid syndrome: An additional example of the mosaic of autoimmunity. *J. Autoimm.*, **30**, 99-103.
- 44-S.S. Pierangeli, M.E. Vega-Ostertag, E. Raschi, X. Liu, Z. Romay-Penabad, V. De Micheli et al. (2007). Toll-like receptor and antiphospholipid mediated thrombosis: *in vivo* studies. *Ann. Rheum. Dis.*, **66**, 1327-1333.
- 45-T. Akimoto, A. Akama, M. Saitoh, I. Kono and T. Sumida (2000). Antiprothrombin autoantibodies in severe preeclampsia and abortion. *Am. J. Med.*, **110**, 188-191.
- 46-J.H. Rand, X.X. Wu, H.A. Andree, C.J. Lockwood, S. Guller, J. Scher et al. (1997). Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome-a possible thrombogenic mechanism. *N. Engl. J. Med.*, **337**, 154-160.
- 47-R.S. Rai, L. Regan, K. Clifford, W. Pickering, M. Dave, I. Mackie et al. (1995). Antiphospholipid antibodies and beta2-glycoprotein-I in 500 women with recurrent miscarriage: results of a comprehensive screening approach. *Hum. Reprod.*, **10**, 2001-2005.
- 48-R.M. Lee, D.W. Branch and R.M. Silver (2001). Immunoglobulin A antibeta2- glycoprotein antibodies in women who experience unexplained recurrent spontaneous abortion and unexplained fetal death. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **185**, 748-753.
- 49-L. Opatrny, M. David, S.R. Kahn, I. Shrier and E. Rey (2006). Association Between Antiphospholipid Antibodies and Recurrent Fetal Loss in Women Without Autoimmune Disease: A Metaanalysis. *J. Rheumatol.*, **33**, 2214-2221.
- 50-M. Higashino, K. Takakuwa, M. Arakawa, M. Tmura, M. Yasuda and K. Tanaka (1998). Anticardiolipin antibody and anticardiolipin beta2-glycoprotein I antibody in patients with recurrent fetal miscarriage. *J. Perinat. Med.*, **26**, 384-389.
- 51-H. Matsubayashi, T. Sugi, T. Arai, A. Kondo, T. Suzuki, S. Izumi et al. (2001). Different antiphospholipid antibody specificities are found in association with early repeated pregnancy loss versus recurrent IVF-failure patients. *Am. J. Reprod. Immunol.*, **46**, 323-329.
- 52-B. de Laat, X.X. Wu, M. Van Lummel, R.H. Derksen, P.G. de Groot and J.H. Rand (2007). Correlation between antiphospholipid antibodies that recognize domain I of  $\beta$ 2-glycoprotein I and a reduction in the anticoagulant activity of annexin A5. *Blood*, **109**, 1490-1494.
- 53-R.H.W.M. Derksen and P.G. de Groot (2008). The obstetric antiphospholipid syndrome. *J. Reprod. Immunol.*, **77**, 41-50.
- 54-G. Girardi, J. Berman, P. Redecha, L. Spruce, J.M. Thurman, D. Kraus et al. (2003). Complement C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome. *J. Clin. Invest.*, **112**, 1644-1654.
- 55-N. Di Simone, P.L. Meroni, N. Del Papa, E. Raschi, D. Caliandro, C.S. De Carolis et al. (2000). Antiphospholipid antibodies affect trophoblast gonadotropin secretion and invasiveness by binding directly and through adhered beta2-glycoprotein I. *Arthritis. Rheum.*, **43**, 140-150.
- 56-P.L. Meroni, M. Gerosa, E. Raschi, S. Scurati, C. Grossi and M.O. Borghi (2008). Updating on the pathogenic mechanisms of the antiphospholipid antibodies-associated pregnancy loss. *Clin. Rev. Allergy. Immunol.*, **34**(3), 332-337.
- 57-D. Tanne, A. Katzav, O. Beilin, N.C. Grigoriadis, M. Blank and C.G. Pick (2008). Interaction of inflammation, thrombosis, aspirin and enoxaparin in CNS experimental antiphospholipid syndrome. *Neurobiol. Dis.*, **30**, 56-64.
- 58-W. Miesbach, A. Gilzinger, G. Buket, D. Claus and I. Scharrer (2006). Prevalence of antiphospholipid antibodies in patients with neurological symptoms. *Clin. Neurol. Neurosurg.*, **108**, 135-142.
- 59-G. Kenet, S. Sadetzki, H. Murad, U. Martinowitz, N. Rosenberg, S. Gitel et al. (2000). Factor V Leiden and antiphospholipid antibodies are significant risk factors for ischemic stroke in children. *Stroke*, **31**, 1283-1288.
- 60-R. Cervera (2008). Lessons from the "Euro-Phospholipid" project. *Autoimmun. Rev.*, **3**, 174-178.

- 61-R. Nacinovich, J. Galli, M. Bomba, E. Filippini, G. Parrinello, M. Nuzzo et al. (2008). Neuropsychological development of children born to patients with antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum.*, **3**, 345-351.
- 62-J.W. Ijdo, A.M. Conti-Kelly, P. Greco, M. Abedi, M. Amos, J.M. Provenzale et al. (1999). Antiphospholipid antibodies in patients with multiple sclerosis and MS-like illnesses: MS or APS? *Lupus*, **8**, 109-115.
- 63-J. Francisco, A. Fernández-Fernández, A. Rivera-Gallego, J. de la Fuente-Aguado, S. Pérez-Fernández and D. Muñoz-Fernández (2006). Antiphospholipid syndrome mimicking multiple sclerosis in two patients. *European. J. Intern. Med.*, **17**, 500-502.
- 64-V. Pengo, E. Bison, A. Ruffatti and S. Iliceto (2008). Antibodies to oxidized LDL/beta2-glycoprotein I in antiphospholipid syndrome patients with venous and arterial thromboembolism. *Thromb. Res.*, **122**, 556-559.
- 65-S. Horkko, C.J. Binder, P.X. Shaw, M.K. Chang, G. Silverman, W. Palinski et al. (2000). Immunological responses to oxidized LDL. *Free. Radic. Biol. Med.*, **28**, 1771-1779.
- 66-Y. Sherer and Y. Shoenfeld (2003). Antiphospholipid antibodies: are they proatherogenic or an epiphenomenon of atherosclerosis? *Immunobiol.*, **20**, 713-716.
- 67-F.I. Romero, O. Amengual, T. Atsumi, M.A. Khamashta, F.J. Tinahones and G.V.R. Hughes (1998). Association of antibodies against beta2-glycoprotein I and antibodies against oxidized low density lipoprotein to arterial diseases in systemic lupus erythematosus. *Br. J. Rheum.*, **37**, 883-888.
- 68-O.Vaarala (1998). Antiphospholipid antibodies and myocardial infarction. *Lupus*, **7**(suppl2): S132-S134.
- 69-E. Matsuura, K. Kobayashi, K. Inoue, L.R. Lopez and Y. Shoenfeld (2005). Oxidized LDL/beta2-glycoprotein I complexes: new aspects in atherosclerosis. *Lupus*, **14**, 736-741.
- 70-D. Nicolo, A.S. Varadhachary and M. Monestier (2007). Atherosclerosis, antiphospholipid syndrome and antiphospholipid antibodies. *Front. Biosci.*, **12**, 2171-2182.
- 71-P.G. Vlachoyiannopoulos and M. Samarkos (2004). Peripheral vascular disease in antiphospholipid syndrome. *Thromb. Res.*, **114**, 509-519.
- 72-R.A. Asherson (2006). The catastrophic antiphospholipid (Asherson's) syndrome. *Autoimmun. Reviews*, **6**, 64-67.
- 73-R.A. Asherson (2005). Multiorgan failure and antiphospholipid antibodies: the catastrophic antiphospholipid (Asherson's) syndrome. *Immunobiol.*, **210**, 727-733.
- 74-K.A. Brown, S.D. Brain, J.D. Pearson, J.D. Edgeworth, S.M. Lewis and D.F. Treacher (2006). Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis. *Lancet*, **368**, 157-169.
- 75-M.L. Hart, K.A. Keonzo and L.A. Shaffer (2005). Gastrointestinal ischemia-reperfusion is lectin complement pathway dependent without involving C1q. *J. Immunol.*, **174**, 6373-6380.
- 76-M. Levi (2004). Current understanding of disseminated intravascular coagulation. *Br. J. Haematol.*, **124**, 567-576.
- 77-R. Cervera, J. Font, A. Tincani and M.C. Boffa (2006). V Meeting of the European Forum on Antiphospholipid Antibodies. *Autoimmun. Rev.*, **5**, 499-507
- 78-M. Greaves, H. Cohen, S.J. MacHin and I. Mackie (2000). Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid syndrome. *Br. J. Haematol.*, **109**, 704-715.