

Histoire des anticorps antiphospholipides

LA SÉROLOGIE SYPHILITIQUE

L'histoire passionnante des anticorps antiphospholipides (APL) remonte au tout début du siècle dernier. En mars 1900, l'immunologiste belge, Jules Bordet et son beau-frère, Octave Gengou, développent un nouveau test sérologique, la réaction de fixation du complément. Ce test sera appliqué au sérodiagnostic de nombreuses maladies infectieuses. L'application la

plus connue et socialement la plus utile interviendra en 1906 lorsque August Wassermann, bactériologiste allemand formé à Strasbourg et exerçant ensuite à Berlin, applique la réaction de fixation du complément au sérodiagnostic de la syphilis (la réaction de Bordet-Wassermann ou BW). L'antigène alors utilisé est un extrait d'organes de patients syphilitiques riche en tréponèmes, préparation non dénuée de danger pour les utilisateurs. En 1907 Landsteiner, immunologiste autrichien devenu célèbre par la découverte des groupes sanguins, montre que l'antigène utilisé pour le BW pouvait être remplacé par un extrait de tissus d'animaux sains. Le plus utilisé sera un extrait alcoolique de cœur de bœuf. Quelques années plus tard, la réaction de fixation du complément est remplacée par un test de floculation sur lame, le "Venereal Disease Research Laboratory Test" (VDRL) mais utilisant toujours comme réactif, l'extrait alcoolique de cœur de bœuf. Ce n'est que 34 ans plus tard que Mary Pangborn va s'intéresser à la composition de l'extrait antigénique et montrer que le principal constituant est un phospholipide qu'elle va baptiser "cardiolipine" (cardiolipide en français). Ce cardiolipide s'avérera être le phosphatidylglycérol. La sérologie syphilitique sera très largement utilisée à partir de 1914 pour de larges campagnes de dépistage de la maladie chez les militaires, les candidats au mariage, les femmes enceintes. Celles-ci vont révéler un nombre important de sujets ayant un test positif sans aucune manifestation clinique de syphilis. Le terme de "sérologie faussement positive" est introduit par Moore et Mohr en 1952. Celle-ci s'observe surtout dans les maladies infectieuses non syphilitiques ainsi que les maladies auto-immunes et en particulier le lupus érythémateux disséminé (LED). La sérologie faussement positive deviendra même un des critères du diagnostic du LED établi par la Société Américaine de Rhumatologie.

L'ANTICOAGULANT LUPIQUE

Conley et Hartmann décrivent en 1952 l'existence, chez les malades lupiques, d'une activité plasmatique anticoagulante qu'ils dénomment "anticoagulant circulant". Dix ans plus tard Bowie et col. remarquent que les malades lupiques avec anticoagulant circulant font, paradoxalement, des accidents thrombotiques. En 1965, Alarçon-Segovia et Osmudson décrivent également des manifestations thrombotiques périphériques chez les patients lupiques avec sérologie syphilitique faussement positive et anticoagulant circulant. Feinstein et Rapaport emploient en 1972 pour la première fois le terme "d'anticoagulant lupique".

► *Éditorial*
Histoire des anticorps antiphospholipides
page 1

► *Point de vue du clinicien :*
Le syndrome des antiphospholipides (SAPL)
page 3

► *Mise au point :*
Exploration biologique des anticorps antiphospholipides
page 11

► *Étude multicentrique :*
Exploration du syndrome des antiphospholipides : apport de la recherche des anticorps anti- β_2 -glycoprotéine I par rapport à celle des anticorps anticardiolipine
page 18

► *Résumé de Congrès :*
Rapport du 5^e Symposium de Dresde sur les auto-anticorps (5th Dresden Symposium on autoantibodies)
page 20

LES ANTICORPS ANTI-CARDIOLIPIDE

En 1983, Harris et col. à Londres mettent au point un test radioimmunologique en phase solide utilisant des tubes recouverts de "cardiolipine". Ce nouveau test s'avère de 200 à 400 fois supérieur au VDRL. Les auteurs observent une corrélation entre ce nouveau test, la présence de l'anticoagulant lupique et la survenue de thromboses. Cette méthode RIA sera rapidement remplacée par une méthode immunoenzymatique de type ELISA, de réalisation plus aisée (Louisou et al., 1985).

LE SYNDROME DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES

C'est en 1985 que Graham Hughes évoque pour la première fois l'existence du "syndrome des anti-cardiolipides" associant la présence d'anticorps anti-cardiolipide décelés par ELISA ou d'un anticoagulant circulant, et une symptomatologie thrombotique. En 1987, Harris va montrer que le sérum de ces patients réagit également avec différents autres types de phospholipides et il introduit le nom de "syndrome des anti-phospholipides" (SAPL). Ce syndrome est défini par l'association de thromboses veineuses ou artérielles, de pertes fœtales répétées et d'une thrombopénie. En 1988, Asherson et col. décrivent des manifestations cliniques et biologiques semblables chez des malades ne présentant pas de LED. Ce syndrome sera défini comme "syndrome des APL-primaire".

LA SPÉCIFICITÉ DES ANTICORPS ANTI-PHOSPHOLIPIDES (APL)

Depuis qu'en 1941 Mary Pangborn avait montré que la fraction antigénique de l'extrait de cœur de bœuf était de nature phospholipidique, les chercheurs s'efforçaient de définir la nature exacte de l'antigène. Les études de Thiararajan et de Harris (1980) démontrèrent une réactivité maximale avec les phospholipides chargés négativement. Mais l'étape importante survient en 1989 lorsque McNeil et al. découvrent que l'apport de plasma humain ou bovin est nécessaire pour permettre la liaison de certains APL aux phospholipides. Cette date marque la naissance de la notion de dépendance en "cofacteur". Celui-ci est rapidement identifié par trois équipes différentes en 1990. Elles montrent qu'il s'agit d'une apolipoprotéine plasmique, la β_2 -glycoprotéine I (β_2 -GPI). Bewers et al. décrivent,

l'année suivante, un second cofacteur, la prothrombine. Ces protéines se caractérisent par leur capacité de se lier activement aux phospholipides chargés négativement et de modifier leur configuration moléculaire. En 1991, l'équipe française de Viard met au point un premier test ELISA pour la détection des anticorps anti- β_2 -GPI. Celle-ci va s'avérer peu sensible par rapport à la classique recherche des APL. Galli, puis Matsuro en 1994 et Roubey en 1995, observent que la liaison de la β_2 -GPI à une surface solide nécessite la présence de phospholipides anioniques mais que ceux-ci peuvent être supprimés si l'on utilise des plaques de polystyrène préalablement soumises à une irradiation par des rayons gamma. Ainsi naît la méthode de détection directe des anti- β_2 -GPI, sans intervention des phospholipides. Seuls les APL (dont la dénomination dans ce cas est inappropriée) associés aux thromboses réagissent dans ce test et aucune réaction n'est observée avec les APL (dénomination appropriée dans ce cas) retrouvés au cours de la syphilis et les maladies infectieuses.

Antérieurement nommés anticorps anti-phospholipides, ceux associés aux thromboses sont devenus anti-phospholipides-cofacteur, c'est-à-dire en fait anti-protéines, qui en se liant aux phospholipides acquièrent la capacité d'induire une réponse auto-immune avec une production d'autoanticorps.

Commencée à l'aube du XX^e siècle, l'histoire des APL ne va s'achever que 90 ans après avec l'identification des anti- β_2 -GPI. Mais les APL n'ont pas fini de faire parler d'eux. Il n'est toujours pas définitivement établi si la cible antigénique de ces anticorps est la β_2 -GPI ou si c'est le complexe β_2 -GPI-phospholipides. Comme il n'est pas formellement établi si l'interaction secondaire de la β_2 -GPI avec les surfaces solides oxydées entraîne l'expression de "néoépitopes" ou augmente simplement la densité des molécules. Enfin, d'autres protéines plasmatiques ont été identifiées comme cible antigénique en dehors de la β_2 -GPI et de la prothrombine, la protéine S, l'annexine V, les kininogènes. Il reste enfin à définir la signification des différents isotypes, IgG, IgA ou IgM, des anti- β_2 -GPI dans la maladie thrombotique.

*René-Louis Humbel
Président du GEAI*

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL)

Aspects cliniques, diagnostiques et thérapeutiques

Jean SIBILIA, Service de Rhumatologie - CHU Strasbourg - Hôpital de Hautepierre

1/ UNE VIEILLE HISTOIRE

En 1952, CONLEY et HARTMAN avaient déjà décrit au cours d'un lupus systémique un syndrome hémorragique lié à un anticoagulant circulant [9] ! Quelques années après, en 1963, BOWIE et col. ont observé des thromboses au cours d'un lupus, associées à la même anomalie biologique [5]. Plus tard, NILSSON a décrit à son tour l'association de morts fœtales et d'un anticoagulant circulant. Cinq ans après, deux Français, JP SOULIER et MC BOFFA, ont confirmé l'existence d'une entité associant des avortements répétés, des thromboses et la présence d'un anticoagulant circulant [43]. Cependant, ce n'est qu'en 1983, que HUGHES et HARRIS ont réellement scellé pour la postérité l'existence du syndrome des antiphospholipides (SAPL) en décrivant les anticardiolipines au cours du lupus compliqué de thromboses [20, 22].

2/ QUELLE EST LA FRÉQUENCE RÉELLE DU SYNDROME DES ANTIPHOSPHOLIPIDES ?

Le SAPL est observé dans 20 à 30 % des lupus. En revanche, il est beaucoup plus difficile d'estimer la prévalence du SAPL primaire car elle est directement liée au test de détection des antiphospholipides utilisés. Il faut bien distinguer la rareté du syndrome clinico-biologique de la fréquence du phénomène biologique (antiphospholipides) qui n'est pas une anomalie spécifique, comme nous le verrons ultérieurement. Le SAPL, même primaire, est essentiellement féminin. Il touche les sujets dont l'âge moyen est généralement très nettement inférieur à 45 ans. Dans certains cas, il s'agit même d'enfants chez qui le diagnostic est souvent particulièrement difficile. Des formes familiales ont été décrites, sans que l'on puisse identifier de gènes candidats majeurs [16]. Néanmoins, cette prédisposition génétique semble liée à HLA DR4 DQB1* 0301 (DQ7) et 0302 dans le SAPL primaire et à DR4, DR7 et DQB1* 0301, 02 et 03 dans le SAPL associé à un lupus.

3/ COMMENT DÉFINIR CE SYNDROME ?

L'originalité majeure de ce syndrome est qu'il est défini par un groupe d'autoanticorps originaux appelés anticorps antiphospholipides. Ce syndrome se caractérise par une triade associant des thromboses artérielles et/ou veineuses ou pertes fœtales répétées et la présence d'anticorps antiphospholipides [4, 6, 15, 17, 25]. La description et l'analyse de la signification diagnostique de ces auto-anticorps seront effectuées dans un autre chapitre.

Ce syndrome a été initialement décrit au cours du lupus systémique, mais actuellement on distingue deux formes [47] :

- un syndrome primaire des antiphospholipides qui se caractérise exclusivement par des éléments de la triade que nous venons de citer, mais sans aucun élément pouvant évoquer un lupus ou une autre affection auto-immune ;
- un syndrome secondaire des antiphospholipides généralement associé à un lupus, mais parfois, plus rarement, à une autre affection auto-immune ou, plus fréquemment, à une connectivite inclassée souvent caractérisée par la présence de deux ou trois signes du lupus. Dans ce cas, on retient l'appellation de syndrome apparenté au lupus ou "lupus-like syndrome".

Compte tenu de la diversité des signes cliniques et biologiques pouvant révéler un SAPL, il est parfois difficile de savoir s'il s'agit vraiment d'un syndrome primaire ou plutôt d'un syndrome secondaire associé à une connectivite inclassée. Pour faciliter la distinction entre ces deux formes nosologiques, JC PIETTE a proposé des critères d'exclusion définissant le SAPL primaire (*Tableau 1*) [39]. Si cette discussion nosologique est intéressante, elle a en fait assez peu d'importance en pratique, en particulier elle ne modifie pas réellement la prise en charge thérapeutique.

Tableau 1 / Critères d'exclusion du SAPL primaire [39]

La présence de l'un quelconque de ces critères n'est pas compatible avec le diagnostic de SAPL primaire
<ul style="list-style-type: none"> • Éruption malaire • Lupus discoïde • Ulcération orale ou pharyngée (sauf ulcération ou perforation de la cloison nasale) • Arthrite franche • Pleurésie, en l'absence d'embolie pulmonaire ou d'insuffisance cardiaque gauche • Péricardite, en l'absence d'infarctus myocardique ou d'insuffisance rénale marquée • Protéinurie supérieure à 0,5 g/jour, due à une glomérulonéphrite par complexes immuns prouvée histologiquement • Lymphopénie inférieure à 1000 µl • Anticorps anti-ADN natif, par radio-immunologie ou immunofluorescence sur Crithidia • Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles • Anticorps anti-nucléaires à un titre supérieur à 1/320 • Traitement connu comme inducteur d'APL

Le SAPL se caractérise par des thromboses qui peuvent toucher tous les vaisseaux sanguins : les artères, les capillaires ou les veines, quelle que soit leur taille et leur topographie. Ces thromboses sont généralement "spontanées" sans aucune anomalie de la paroi des vaisseaux, ce qui permet de les distinguer des thromboses qui compliquent les vascularites.

- Les thromboses veineuses sont plus fréquentes et touchent surtout les veines des membres inférieurs, mais presque toutes les localisations sont possibles : veines rénales, veines porte et sous-hépatique, veines mésentériques, veines caves inférieure et supérieure, veines pulmonaires, veines cérébrales et superficielles. Ces complications veineuses, souvent récidivantes, peuvent se compliquer d'embolies pulmonaires mortelles.
- Les thromboses artérielles sont moins fréquentes, mais tout aussi polymorphes, touchant presque tous les territoires, en particulier les coronaires, les artères mésentériques, rétiniennes, rénales, hépatiques.

Les manifestations cliniques du SAPL dépendent donc directement de la localisation (unique ou multiple) de ces thromboses. Cela explique l'étonnant polymorphisme des manifestations décrites dans la littérature [32].

4/ QUELQUES LOCALISATIONS PARTICULIÈRES MÉRITENT D'ÊTRE DÉCRITES

4.1. Les manifestations neurologiques sont assez fréquentes.

Les signes cliniques sont habituellement la conséquence d'accidents ischémiques constitués, rarement massifs, souvent limités, touchant généralement le territoire de l'artère

sylvienne [11]. En revanche, les thromboses veineuses sont assez rares. La répétition de ces accidents ischémiques peut mener à des syndromes démentiels irréversibles ou des affections démyélinisantes de type sclérose en plaques. Dans ces formes, l'IRM (imagerie par résonance magnétique) met en évidence des images séquellaires d'infarctus cérébraux, ou beaucoup plus fréquemment de multiples petits hypersignaux visibles en séquence T2, généralement localisés dans la substance blanche périvericulaire et sous-corticale [19]. D'autres manifestations neurologiques sont vraisemblablement la conséquence d'un syndrome des antiphospholipides. La chorée, l'épilepsie, la myélite transverse sont statistiquement associées à la présence d'antiphospholipides au cours du lupus, mais leur mécanisme n'est pas univoque [8, 21, 29, 46]. D'autres manifestations, comme les troubles psychiatriques, les surdités brusques, la migraine ou les neuropathies périphériques sont citées, mais leur relation avec le SAPL n'est pas établie [30, 33, 42, 49].

4.2. Les manifestations cardiaques du SAPL sont essentiellement des valvulopathies.

Ces valvulopathies sont des épaississements ou des végétations valvulaires connus depuis très longtemps sous l'appellation endocardite de Libman-Sacks [33, 41]. Ces valvulopathies, surtout mitrales et/ou aortiques ont parfois un retentissement hémodynamique, mais surtout elles peuvent se compliquer d'embolies surtout neurologiques et parfois de greffes bactériennes. Leur mécanisme est mal connu ; il pourrait être lié à une prolifération endothéliale "induite" par les antiphospholipides. D'autres complications cardiaques sévères sont possibles, mais plus rares, notamment l'infarctus du myocarde [18]. Ces phénomènes pourraient être la conséquence d'une athéromatose accélérée, observée parfois chez des sujets jeunes, même en l'absence de dyslipémie [45, 50].

Figure 1 / Livedo d'un syndrome de Sneddon associé à des anticardiolipines

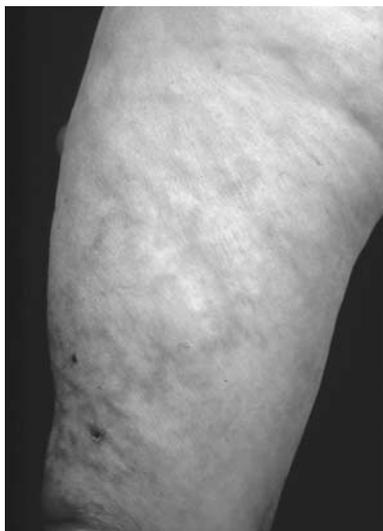


Figure 2 / Ulcère post-phlébitique compliquant un syndrome des antiphospholipides

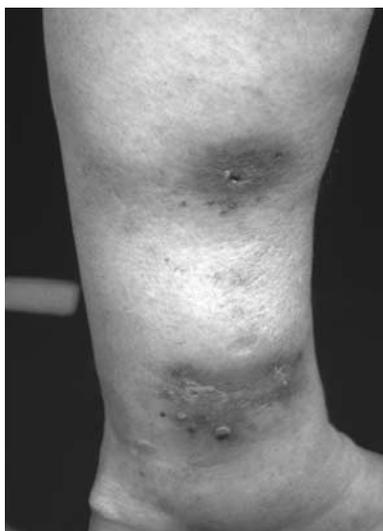


Figure 3 / Hémorragies sous-unguéales "en flammèches" associées à un syndrome des antiphospholipides



4.3. Les manifestations dermatologiques peuvent être évocatrices.

La manifestation dermatologique la plus connue est le livedo qui est statistiquement associé à la présence d'APL au cours du lupus [14]. Quand ce livedo s'associe à des lésions ischémiques cérébrales, il définit le syndrome de Sneddon qui s'associe à des antiphospholipides dans 30 à 40 % des cas (Figure 1) [13]. D'autres manifestations cutanées sont possibles, en particulier des ulcérations cutanées post-phlébites superficielles (Figure 2), des nécroses distales, parfois des hémorragies en flammèches sous-unguéales qui sont évocatrices du SAPL, mais pas totalement spécifiques (Figure 3) [36].

4.4. Les manifestations rénales doivent être évoquées en cas d'insuffisance rénale inexpliquée.

Les thromboses peuvent toucher tous les vaisseaux rénaux, en particulier l'artère ou la veine rénale, mais également les artérioles et les capillaires glomérulaires [28, 35]. Le tableau clinique est souvent trompeur, dominé généralement par une hypertension rénovasculaire compliquée d'une insuffisance rénale de gravité et d'évolutivité variables. Seule la biopsie rénale permet de confirmer le diagnostic.

4.5. Les complications respiratoires sont parfois sévères.

Au cours du SAPL, les embolies pulmonaires sont responsables de 4 à 10 % de la mortalité. Cette complication, parfois révélatrice, peut être de diagnostic difficile. Elle se manifeste parfois par de petits embols itératifs responsables de douleurs intermittentes ou d'épanchements pleuraux fugaces [2]. Le SAPL pourrait être également responsable d'hypertension artérielle pulmonaire apparemment primitive (c'est-à-dire non embolique) [23]. Mais, l'analyse du rôle des antiphospholipides est complexe car, dans ce contexte, il existe souvent un enchaînement de complications thrombotiques et non thrombotiques.

4.6. Les manifestations digestives et hépatiques sont rares, mais doivent être recherchées.

Les manifestations hépatiques sont rares et parfois sévères, comme la thrombose des veines sus-hépatiques responsable du syndrome de Budd-Chiari. Des infarctus hépatiques ou des thromboses de la veine porte ont été décrits [37]. Parfois il s'agit de lésions microthrombotiques ou vasculaires intrahépatiques qui se révèlent par une maladie veino-occlusive ou une hyperplasie nodulaire régénérative. Ces différentes complications peuvent être responsables d'une hypertension portale révélée par une splénomégalie. Plus rarement, il a été observé des thromboses veineuses et artérielles intestinales responsables souvent de tableaux bâtards avec des douleurs et des troubles du transit chroniques [44]. Les explorations reposent sur le scanner (avec injection) et depuis peu sur l'IRM.

4.7. Des complications hématologiques sont possibles.

Le SAPL, qu'il soit primaire ou associé à un lupus, peut être révélé par une thrombopénie habituellement modérée (50 à 100 000/ml). Dans la plupart des cas, il s'agit d'une thrombopénie périphérique liée à des auto-anticorps antiglycoprotéines plaquettaires (surtout anti-IIb-IIIa). D'autres mécanismes sont possibles comme l'illustrent de rares observations de microangiopathies caractérisées par une consommation plaquettaire par de multiples microthrombus périphériques. Plus rarement, elle peut être la conséquence d'un hypersplénisme, d'une hypertension portale secondaire à des thromboses hépatiques. L'anémie hémolytique semble très rare dans le SAPL primaire, mais plus fréquente dans la forme associée au lupus.

4.8. Les complications endocriniennes sont rares, mais originales.

Elles se manifestent par une insuffisance surrénale aiguë souvent post-opératoire résultant d'un infarctus veineux surrénal bilatéral. Les autres complications endocriniennes sont exceptionnelles ; elles sont surtout caractérisées par des atteintes ischémiques hypophysaires et/ou hypothalamiques.

4.9. Les complications ostéo-articulaires sont dominées par les ostéonécroses aseptiques.

Il s'agit d'ostéonécroses aseptiques épiphysaires surtout fémorales qui compliquent surtout le SAPL associé au lupus. Ces complications sont très rares dans le SAPL primaire, ce qui suggère le rôle de facteur associé comme les corticoïdes, souvent utilisés dans le lupus. Plus rarement, il s'agit de nécrose osseuse plus étendue [7].

4.10. D'autres manifestations cliniques plus rares sont décrites.

De nombreuses observations anecdotiques, dont les rapports avec le SAPL ne sont pas toujours établis, ont été décrites. Les plus intéressantes sont probablement les thromboses veineuses rétiniennes et d'exceptionnelles chondrites et perforations thrombotiques de la cloison nasale [31].

4.11. Le syndrome "catastrophique" des antiphospholipides

Cette entité, décrite plus récemment, se caractérise par un tableau de défaillance multiviscérale lié à des microthromboses multifocales [3]. Il s'agit généralement d'une atteinte presque exclusivement microcirculatoire. Le diagnostic est difficile en raison de la multitude des diagnostics différentiels (microangiopathie thrombotique, coagulation intravasculaire disséminée, embolie de cholestérol, syndrome thrombotique thrombopénique induit par l'héparine...). La connaissance de ce diagnostic exceptionnel est impérative, car elle justifie une prise en charge thérapeutique urgente (plasmaphèreses). Malgré cela, la mortalité est de près de 50 %.

5/ QUELS SONT LES ASPECTS OBSTÉTRICAUX DU SAPL ?

Les complications obstétricales sont à l'origine de la description historique du SAPL. Ces complications s'observent dans le SAPL primaire et secondaire. On peut considérer que près de 10 % des pertes fœtales répétées sont liées à un SAPL. Trois aspects différents peuvent être considérés comme la conséquence de ce syndrome [6] :

- la description d'au moins une mort fœtale inexplicable (après 10 semaines de gestation) alors que le fœtus n'a aucune anomalie morphologique détectable après une échographie et un examen direct ;
- l'existence d'au moins trois pertes consécutives embryonnaires (de la 3^e à la 9^e semaine de gestation) ou préembryonnaires (de la conception à la 3^e semaine de gestation) non liées à une anomalie anatomique, génétique ou hormonale ;
- la perte d'au moins un nouveau-né morphologiquement normal liée à une pré-éclampsie sévère ou une insuffisance placentaire importante.

Ces morts fœtales, qui peuvent survenir à différents moments de la grossesse, semblent essentiellement liées à la survenue d'infarctus placentaires. Ces lésions sont essentiellement la conséquence des antiphospholipides dirigés contre l'annexine V qui est un anticoagulant naturel présent en forte concentration dans le cordon et le placenta.

Chez la mère, les risques thrombotiques de la grossesse et du post-partum sont plus importants. Plus exceptionnellement, il est observé des thromboses des gros vaisseaux fœtaux artérioveineux car les antiphospholipides d'isotype IgG peuvent traverser le placenta.

6/ EXISTE-T-IL DES CRITÈRES DIAGNOSTIQUES ?

La description des complications précédentes illustre bien le polymorphisme clinique original du SAPL. Ce polymorphisme amplifié par la diversité des tests biologiques de détection des antiphospholipides, explique que plusieurs auteurs aient tenté de définir des critères diagnostiques [1]. Plusieurs critères ont été successivement proposés (*Tableau 2*), mais récemment lors d'un consensus international, de nouveaux critères ont été proposés [48]. Ces critères soulignent bien que la présence isolée d'antiphospholipides ne suffit pas à confirmer le diagnostic de SAPL. Cela est d'autant plus important que ces autoanticorps peuvent être décrits isolément (sans complication thrombotique) dans de nombreuses situations infectieuses, néoplasiques, toxiques, médicamenteuses qui peuvent être particulièrement trompeuses. A titre d'exemple, il est possible d'observer des titres significatifs d'APL chez 50 à 70 % des patients infectés par le VIH (*Tableau 3*). De même chez le sujet âgé, comme pour d'autres autoanticorps, il peut être détecté des titres élevés d'APL sans thrombose [38].

Tableau 2 / Consensus international sur les critères préliminaires de classification du SAPL défini [48]

Critères cliniques
<p>1) Thrombose(s) artérielle, veineuse ou microvasculaire Au moins un épisode clinique dans tout tissu ou organe, confirmé (sauf pour thrombose veineuse superficielle) par l'imagerie, le Doppler ou l'histologie (sans inflammation pariétale significative)</p> <p>2) Morbidité gravidique Au moins une mort fœtale (dès 10 semaines de gestation) inexpliquée par ailleurs, sans anomalies morphologiques fœtales décelables par échographie ou examen direct</p> <p style="text-align: center;">OU</p> <p>Au moins une naissance prématurée (< 34 semaines de gestation) d'un nouveau-né normal morphologiquement, liée à une (pré)-éclampsie ou une insuffisance placentaire sévère(s)</p> <p style="text-align: center;">OU</p> <p>Au moins 3 avortements (< 10 semaines de gestation) spontanés consécutifs inexpliqués non liés à une anomalie maternelle anatomique ou hormonale, ou chromosomique parentale</p>
Critères biologiques (avec confirmation au-delà de 6 semaines)
<p>1) Anticorps anticardiolipine IgG et/ou M, à titre moyen ou élevé, par un test ELISA standardisé pour la recherche d'anticorps anticardiolipine dépendants de la β_2-GP1</p> <p>2) Lupus anticoagulant dépisté dans le plasma selon les recommandations de l'International Society on Thrombosis and Hemostasis :</p> <ul style="list-style-type: none"> • allongement d'un temps de coagulation dépendant des phospholipides par un test de dépistage : TCA, TCK, dRVVT, TTD, temps de textarine ; • absence de correction du test de dépistage par mélange avec un plasma normal déplété en plaquettes ; • correction totale ou partielle du test de dépistage par adjonction d'un excès de phospholipides ; • exclusion d'autres coagulopathies, telles que héparinothérapie ou inhibiteur du facteur VIII. <p>Le SAPL est "défini" s'il existe au moins un critère clinique et un critère biologique.</p>

Tableau 3 / Affections et circonstances associées à la présence isolée d'anticorps antiphospholipides (sans complications thrombotiques ou obstétricales)

Infections
Infection par le VIH, virus de l'hépatite C, viroses aiguës, maladie de Lyme, syphilis, rickettsioses, tuberculose, endocardites bactériennes, infections à mycoplasme et parasitoses.
Affections néoplasiques
Cancers solides, hémopathies malignes, syndrome lymphoprolifératif (myélome, lymphome)
Affections inflammatoires
Vascularites, maladie de Crohn, spondylarthropathies...
Affections viscérales
Insuffisance rénale et hépatocellulaire sévère
Traitements inducteurs
Hydantoïne, hydralazine, bêtabloquants, procaïnamide, quinidine, phénothiazine, interféron alpha.

7/ EN PRATIQUE, QUAND FAUT-IL RECHERCHER LES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES ?

En préambulance, il faut rappeler que, compte tenu de la gravité de ce syndrome et de la nécessité d'un traitement anticoagulant urgent et prolongé, le SAPL doit être connu et évoqué dans de nombreuses circonstances. Pour des raisons de bon sens médical et économique, les examens complémentaires ne doivent être décidés qu'en tenant compte des différents critères :

- de l'âge (souvent < 45 ans) et du sexe du patient (féminin) ;
- du siège inhabituel ou de la fréquence des thromboses ;
- de facteurs thrombogènes associés (grossesse, immobilité, pilule, tabac, hyperhomocystéinémie...) ou d'un contexte familial de thrombophilie héréditaire ;
- de signes associés évoquant une maladie auto-immune.

En tenant compte de ces différents éléments, différentes situations cliniques devront faire évoquer un SAPL. Elles sont résumées dans le *tableau 4*.

Tableau 4 / Situations dans lesquelles il faut rechercher un SAPL

- Thromboses veineuses ou embolies pulmonaires récidivantes
- Thromboses veineuses de localisation inhabituelle : mésentérique, hépatique, rénale, cérébrale...
- Thromboses artérielles répétées et précoces (< 45 ans)
- Pertes fœtales répétées, soit précoces (> 3) ou plus tardives (après 10^e semaine gestationnelle) (> 1)
- Éclampsie ou pré-éclampsie atypique
- Livedo ou manifestations dermatologiques thrombotiques
- Manifestations neurologiques inhabituelles : chorée, myélite transverse, épilepsie à révélation tardive, démence vasculaire précoce inexpliquée...
- Endocardite aseptique et/ou phénomènes emboliques distaux
- Athéromatose précoce et diffuse
- Hypertension artérielle pulmonaire apparemment primitive
- Insuffisance surrénale aiguë inexpliquée
- Microangiopathie thrombotique
- Hypertension rénovasculaire avec insuffisance rénale inexpliquée
- Syndrome de Budd-Chiari non tumoral
- Ostéonécrose aseptique multifocale
- Thrombopénie périphérique modérée inexpliquée
- Sérologie syphilitique "dissociée"

8/ COMMENT TRAITER LE SAPL ?

8.1. Le traitement des complications thrombotiques

Le traitement curatif des thromboses justifie une héparinothérapie suivie d'un relais par les antivitamines K [24]. Pour éviter la récurrence des thromboses, ce traitement doit être prolongé pour une durée qu'il est difficile de préciser, mais probablement tant que persiste l'anomalie biologique, c'est-à-dire souvent plusieurs années ou même toute la vie. L'INR optimal est entre 2,5 et 3,5. Dans le SAPL, la surveillance de l'INR peut être parfois difficile. Pendant la grossesse, les antivitamines K doivent être interrompues et remplacées par une héparinothérapie. Ce traitement doit être complété par la suppression de tout autre facteur de risque (dyslipidémie, obésité, tabagisme, contraception, diabète, hypertension artérielle...).

La prévention primaire des thromboses est empirique, mais beaucoup d'entre nous utilisent l'aspirine à dose anti-agrégante sans que cette mesure ait démontré réellement son efficacité. Quand il existe un facteur thrombogène identifié (fracture, immobilisation, vol en long-courrier), il peut être justifié d'introduire une héparinothérapie préventive transitoire.

8.2. Les traitements associés (corticoïdes, immunosuppresseurs, anti-inflammatoires)

Une corticothérapie, ou a fortiori des immunosuppresseurs, ne sont pas utiles, voire même déconseillés en l'absence d'affection auto-immune (lupus) évolutive. En cas de lupus évolutif, il faudra bien sûr combiner un traitement anticoagulant et un traitement de l'affection dysimmunitaire.

En cas de douleurs, notamment articulaires, les anti-inflammatoires non stéroïdiens peuvent être utilisés sauf en cas de traitement anticoagulant. L'utilisation des nouveaux coxibs (anti-cyclo-oxygénase 2 spécifiques) est possible en association aux anticoagulants [26]. En revanche, chez les patients (avec des antiphospholipides) non anticoagulés, il faut être conscient d'un risque théorique de thrombose, comme cela a été signalé récemment [10, 18].

8.3. Prévention des pertes fœtales

Ce traitement est justifié chez les femmes ayant des antécédents de pertes fœtales récidivantes liées au SAPL, car le taux de succès spontané d'une grossesse est inférieur à 10 % [27, 40].

Habituellement, on propose successivement :

- un traitement par aspirine (100 mg/j) pendant toute la durée de la grossesse ;
- l'association d'aspirine et d'héparine sous-cutanée ou de bas poids moléculaire après échec de l'aspirine seule ;
- des perfusions d'immunoglobulines intraveineuses à fortes doses éventuellement associées à l'aspirine en cas d'échec.

En pratique, dans le SAPL primaire, les corticoïdes sont déconseillés, car au-delà d'une certaine dose (proche de 20 mg/jour de Prednisone), ils majorent le risque de prématurité et d'éclampsie. En cas de lupus, on propose souvent d'associer une corticothérapie faible dose (Prednisone 10 mg/jour) éventuellement associée à la poursuite des antipaludéens de synthèse (hydroxychloroquine) [12].

En fin de grossesse, il est conseillé d'arrêter l'aspirine 8 jours avant le terme, en particulier pour permettre une anesthésie péridurale. Dans ce cas, une héparinothérapie doit être introduite notamment pour éviter le risque de thrombose maternel.

Au total, cette prise en charge, souvent contraignante, permet de mener avec succès près de 80 % des grossesses au prix parfois d'un taux élevé de prématurité.

CONCLUSION

Le SAPL est un syndrome particulièrement polymorphe et trompeur dont le diagnostic peut être parfois difficile. Il faut savoir y penser dans des situations très diverses, même en l'absence de maladie auto-immune. En cas de thrombose, l'anticoagulation est une urgence et devra être maintenue efficacement au long cours.

Références

- [1] ALARÇON-SEGOVIA D, PEREZ-VASQUEZ ME, VILLA AR, DRENKARD C, CABIEDES J
Preliminary classification criteria for the antiphospholipid syndrome within systemic lupus erythematosus.
Sem Arthritis Rheum 1992 ; 21 : 275-85.
- [2] ASHERSON RA, CERVERA R
Review : antiphospholipid antibodies and the lung.
J Rheumatol 1995 ; 22 : 62-66.
- [3] ASHERSON RA, CERVERA R, PIETTE JC et al.
"Catastrophic" antiphospholipid syndrome: clinical and laboratory features of 50 patients.
Medicine (Baltimore) 1998 ; 77 : 195-207.
- [4] BERTOLACCINI ML, ATSUMI T, KHAMASHTA MA et al.
Autoantibodies to human prothrombin and clinical manifestations in 207 patients with systemic lupus erythematosus.
J Rheumatol 1998 ; 25 : 1104-1108.
- [5] BOWIE WE, THOMPSON JM, PASCUZZI CA, OWEN CA
Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulant.
J Clin Invest 1963 ; 62 : 416-430.
- [6] BRANCH DW, SILVER RM
Criteria for antiphospholipid syndrome : early pregnancy loss, fetal loss, or recurrent pregnancy loss?
Lupus 1996 ; 5 : 409-413.
- [7] BULUIK S, ARONSON I, RESS I et al.
Extensive bone marrow necrosis associated with antiphospholipid antibodies.
Am J Med 1995 ; 98 : 572-574.
- [8] CERVERA R, ASHERSON RA, FONT J et al.
Chorea in the antiphospholipid syndrome. Clinical, radiologic and immunologic characteristics of 50 patients from our clinics and the recent literature.
Medicine (Baltimore) 1997 ; 76 : 203-212.
- [9] CONLEY CL, HARTMAN RC
A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus.
J Clin Invest 1952 ; 31 : 621.
- [10] CROFFORD L, OATES J et al.
Thrombosis in patients with connective tissue diseases treated with specific cyclooxygenase 2 inhibitors. A report of four cases.
Arthritis Rheum 2000 ; 43 : 1891-6.
- [11] DESCHIENS MA, CONARD J, HORELLOU MH et al.
Coagulation studies, factor V Leiden and anticardiolipin antibodies in 40 cases of cerebral venous thrombosis.
Stroke 1996 ; 27 : 1724-1730.
- [12] EDWARDS MH, PIERANGELI S, LIU XW et al.
Hydroxychloroquine reverses thrombogenic properties of antiphospholipid antibodies in mice.
Circulation 1997 ; 96 : 4380-4384.
- [13] FRANCES C, PAPO T, WECHSLER B et al.
Sneddon's syndrome with or without antiphospholipid antibodies: a comparative study in 46 patients.
Medicine (Baltimore) 1999 ; 78 : 209-219.
- [14] FRANCES C, PIETTE JC
Cutaneous manifestations of Hughes syndrome occurring in the context of lupus erythematosus.
Lupus 1997 ; 6 : 139-144.
- [15] GALLI M, FINAZZI G, NORBIS F et al.
The risk of thrombosis in patients with lupus anticoagulants is predicted by their specific coagulation profile.
Thromb Haemost 1999 ; 81 : 695-700.
- [16] GOEL N, ORTEL TL, BALI D et al.
Familial antiphospholipid antibody syndrome: criteria for disease and evidence for autosomal dominant inheritance.
Arthritis Rheum 1999 ; 42 : 318-327.
- [17] GOMEZ-PACHECO L, VILLA AR, DRENKARD C et al.
Serum anti- β_2 -glycoprotein-I and anticardiolipin antibodies during thrombosis in systemic lupus erythematosus patients.
Am J Med 1999 ; 106 : 417-423.
- [18] GROSS LM, ROZYCKI MJ, BELMONT MH
Prevalence of coronary artery disease: risk factors and safety of HMG-CoA reductase and Cox-2 inhibitors in an active SLE population.
Arthritis Rheum 2000 ; 43 (suppl) Abst 1083 : S247.
- [19] HACHULLA E, MICHON-PASTUREL U, LEYS D et al.
Cerebral magnetic resonance imaging in patients with or without antiphospholipid antibodies.
Lupus 1998 ; 7 : 124-131.
- [20] HARRIS EN, GHARAVI AE, BOEY ML et al.
Anticardiolipin ab : detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in SLE.
Lancet 1983 ; 2 : 1211-1214.
- [21] HERRANZ MT, RIVIER G, KHAMASHTA MA et al.
Association between antiphospholipid antibodies and epilepsy in patients with systemic lupus erythematosus.
Arthritis Rheum 1994 ; 34 : 568-571.
- [22] HUGHES GRV
Thrombosis abortion, cerebral disease and lupus anticoagulant.
BMJ 1983 ; 287 : 1088-1089.
- [23] KARMOCHKINEM, CACOUB P, DORENT R et al.
High prevalence of antiphospholipid antibodies in precapillary pulmonary hypertension
J. Rheumatol 1996 ; 23 : 286-290.
- [24] KHAMASHTA MA, CUADRADO MJ, MUJIC F, TAUB NA, HUNT BJ, HUGHES GRV
The management of thrombosis in the antiphospholipid syndrome.
N Engl J Med 1995 ; 332 : 993-7.

REFERENCES

- [25] KRNIC-BARIE S, O'CONNOR CR et al.
A retrospective review of 61 patients with antiphospholipid syndrome. Analysis of factors influencing recurrent thrombosis.
Arch Intern Med 1997 ; 157 : 2101-2108.
- [26] LANDER S, WALLACE D, WEISMAN M
Is Celecoxib safe in systemic lupus with or without sulfa allergy? A pilot study.
Arthritis Rheum 2000 ; 43 (suppl) Abst 1056 : S242.
- [27] LASKIN CA, BOMBARDIER C, HANNAH ME et al.
Prednisone and aspirin in women with autoantibodies and unexplained recurrent fetal loss.
N Engl J Med 1997 ; 337 : 148-153.
- [28] LE THI HUONG DU, PAPO T, WECHSLER B et al.
Renal involvement in systemic lupus erythematosus: a study of 180 patients.
Medicine 1999 ; 78 : 148-166.
- [29] MOK CC, LAU CS, CHAN EYT et al.
Acute transverse myelopathy in systemic lupus erythematosus: clinical presentation, treatment and outcome.
J Rheumatol 1998 ; 25 : 467-473.
- [30] MONTALBAN J, CERVERA R, FONT J et al.
Lack of association between anticardiolipin antibodies and migraine in systemic lupus erythematosus.
Neurology 1992 ; 42 : 3681-3682.
- [31] MONTEHERMOSO A, CERVERA R, FONT J et al.
Association of antiphospholipid antibodies with retinal vascular disease in systemic lupus erythematosus.
Semin Arthritis Rheum 1999 ; 28 : 326-332.
- [32] MUNOZ-RODRIGUEZ FJ, FONT J CERVERA R et al.
Clinical study and follow-up of 100 patients with the antiphospholipid syndrome.
Semin Arthritis Rheum 1999 ; 29 : 1-11.
- [33] NAARENDORP M, SPIERA H
Sudden sensorineural hearing loss in patients with systemic lupus erythematosus or lupus-like syndromes and antiphospholipid antibodies.
J Rheumatol 1998 ; 25 : 589-592.
- [34] NESCHER G, ILANY J, ROSENMAN D et al.
Valvular dysfunction in antiphospholipid syndrome: prevalence, clinical features and treatment.
Semin Arthritis Rheum 1998 ; 27 : 27-35.
- [35] NOCHY D, DAUGAS E, DROZ D et al.
The intrarenal vascular lesions associated with primary antiphospholipid syndrome.
J Am Soc Nephrol 1999 ; 10 : 507-518.
- [36] PAIRA S, ROVENARO S, ZUNINO A et al.
Extensive cutaneous necrosis associated with anticardiolipin antibodies.
J Rheumatol 1999 ; 26 : 1197-2000.
- [37] PELLETIER S, LANDI B, PIETTE JC et al.
The antiphospholipid syndrome as the second cause of non tumorous Budd-Chiari syndrome.
J Hepatol 1994 ; 21 : 76-80.
- [38] PIETTE JC, CACOUB P
Antiphospholipid syndrome in the elderly: caution.
Circulation 1998 ; 97 : 2195-2196.
- [39] PIETTE JC, WECHSLER B, FRANCES C et al.
Exclusion criteria for primary antiphospholipid syndrome.
J Rheumatol 1993 ; 20 : 1802-4.
- [40] RAI R, COHEN H, DAVE M, REGAN L
Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriage associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies).
BMJ 1997 ; 314 : 253-257.
- [41] ROLDAN CA, SVIHELY BK, CRAWFORD MH
An echocardiographic study of valvular heart disease associated with systemic lupus erythematosus.
N Engl J Med 1996 ; 335 : 1424-1430.
- [42] SCHWARTZ M, ROCHAS M, WELLER B et al.
High association of anticardiolipin antibodies with psychosis.
J Clin Psychiatry 1998 ; 59 : 20-23.
- [43] SOULIER JP, BOFFA MC
Avortements à répétition, thromboses, anticoagulant circulant.
Nouv Presse Méd 1980 ; 9 : 859-65.
- [44] TINCANI A, BOZZETTI F, TARDANICO R et al.
Antiphospholipid antibodies and intestinal pathology.
J Rheumatol 1993 ; 20 : 2169-2170.
- [45] VAARALA O
Antiphospholipid antibodies and atherosclerosis.
Lupus 1996 ; 5 : 442-447.
- [46] VERRROT D, SAN-MARCO M, DRAVET C et al.
Prevalence and signification of antinuclear and anticardiolipin antibodies in patients with epilepsy.
Am J Med 1997 ; 103 : 33-37.
- [47] VIANNA JL, KHAMASHTA MA, ORDI-ROS J et al.
Comparison of the primary and secondary antiphospholipid syndrome: an european multicenter study of 114 patients.
Am J Med 1994 ; 96 : 3-9.
- [48] WILSON WA, GHARAVI AE, KOIKE T et al.
International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop.
Arthritis Rheum 1999 ; 42 : 1309-1311.
- [49] ZIPOREN L, SHOENFELD Y, LEVY Y et al.
Neurological dysfunction and hyperactive behavior associated with antiphospholipid antibodies. A mouse model.
J Clin Invest 1997 ; 100 : 613-619.
- [50] ZUCKERMAN E, TOUBI E, SHIRAN et al.
Anticardiolipin antibodies and acute myocardial infarction in non-systemic lupus erythematosus patients: a controlled prospective study.
Am J Med 1996 ; 171 : 381-386.

Exploration biologique des anticorps antiphospholipides

Dr. Marielle SAN MARCO. Fédération Auto-immunité et Thrombose.
Laboratoire d'Immunologie, Hôpital de La Conception, Marseille

Le terme "anticorps antiphospholipides" (aPLs) au sens strict regroupe une large famille d'anticorps reconnaissant aussi bien des phospholipides anioniques que neutres (Tableau 1). Ces phospholipides sont pour la plupart des constituants des membranes plasmiques cellulaires et sont organisés en bicouche avec une distribution asymétrique entre la membrane externe et interne (Figure 1). On a élargi le nom d'aPLs à des anticorps dont les cibles antigéniques sont non seulement les phospholipides eux-mêmes ("vrais" aPLs), mais aussi des protéines plasmatiques associées à ces phospholipides ou ces protéines seules (Figure 1). Parmi les aPLs, ceux dits "conventionnels", Lupus anticoagulants (LA) et anticorps anticardiolipine (anticardiolipide en français : par convention nous garderons dans ce texte le mot en anglais) (aCL), sont classiquement associés au syndrome des antiphospholipides (SAPL) et, bien que non spécifiques du SAPL, ils constituent les critères biologiques pour le diagnostic de ce syndrome.

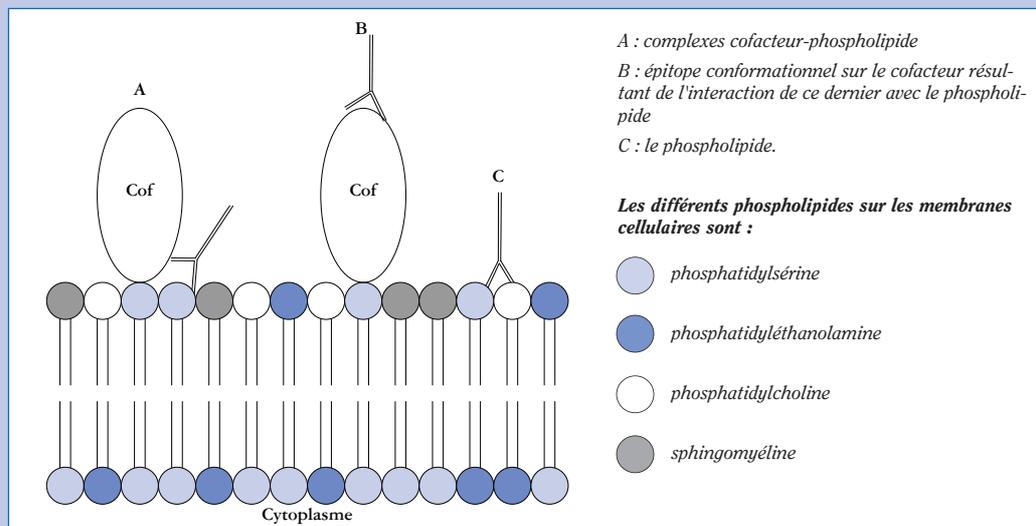
A côté de ces anticorps, nous verrons d'une part que certains, capables de reconnaître des protéines plasmatiques, représentent les marqueurs les plus associés au SAPL

et que d'autres, dont la recherche n'est pas encore une pratique courante, sont associés aux anomalies cliniques de ce syndrome et présentent un intérêt certain dans l'aide au diagnostic.

Tableau 1 /
Les phospholipides
cibles des aPLs

Anioniques	Neutres
Cardiolipine	Phosphatidyléthanolamine
Phosphatidylsérine	Sphingomyéline
Acide phosphatidique	Phosphatidylcholine
Phosphatidylinositol	
Phosphatidylglycérol	

Figure 1 /
Diversité des cibles
antigéniques des aPLs



I/ LES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES

I.1 LES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES "CONVENTIONNELS"

► Les LA

Le terme de LA désigne des anticorps définis par leur capacité à prolonger certains tests de coagulation dépendants des phospholipides. Il est admis que ces anticorps reconnaissent des cofacteurs protéiques liés aux phospholipides anioniques. Les principaux cofacteurs des LA sont la bêta₂-glycoprotéine I (β₂-GPI) et la prothrombine dont les caractéristiques seront étudiées plus loin. Il est important de noter que les LA et les aPLs mis en évidence par des techniques immunoenzymatiques peuvent être des entités distinctes. Bien que ces anticorps soient fréquemment associés au cours du SAPL, leur taux de recouvrement n'est que de 60 % et donc, il conviendra de rechercher la présence d'aPLs avec des tests immunologiques et des tests d'hémostase. Seuls les aPLs détectés par immunoenzymologie seront analysés au cours de cet exposé.

► Les aCL

La cardiolipine est un phospholipide anionique. C'est un constituant de la membrane interne des mitochondries, et récemment, sa présence a été établie dans le plasma sous forme complexée à des lipoprotéines [1] et à la surface de cellules apoptotiques [2].

Les aCL reconnaissent la cardiolipine mais aussi les autres phospholipides anioniques : phosphatidylglycérol, phosphatidylinositol et phosphatidylsérine. C'est la forme oxydée de la cardiolipine qui serait principalement reconnue par les aCL réagissant avec des néo-épitopes présents sur la cardiolipine oxydée [3]. Il convient de distinguer les aCL pour lesquels la réactivité vis-à-vis de la cardiolipine n'est pas dépendante de la présence d'un cofacteur plasmatique dans le milieu réactionnel ("vrais" aCL) de ceux "dépendants" parce qu'ils reconnaissent un complexe cardiolipine-cofacteur, voire même le cofacteur lui-même. Les premiers sont essentiellement retrouvés au cours d'infections alors que les autres sont présents au cours de maladies auto-immunes, dont le SAPL. La β₂-GPI, protéine plasmatique appelée aussi apolipoprotéine H, a été identifiée comme le principal cofacteur des aCL [4]. Au cours du SAPL, les aCL sont dans la majorité des cas d'isotype IgG. L'isotype IgM est plus rare et presque toujours associé à l'isotype IgG. On peut le retrouver isolé, mais dans ce cas sa présence est le plus souvent transitoire et associée à un contexte infectieux ou à la prise de certains médicaments (en particulier, des anti-épileptiques). La présence d'aCL d'isotype IgA est exceptionnelle au cours du SAPL, et lorsque c'est le cas, il est toujours associé à l'isotype IgG. Aussi, sa recherche en routine présente peu d'intérêt [5].

I.2 LES ANTICORPS ANTI-PHOSPHATIDYLÉTHANOLAMINE

La phosphatidyléthanolamine (PE) est un phospholipide neutre identifié comme un composant majeur de la membrane cellulaire où on la retrouve avec des conformations différentes, le plus souvent hexagonales ou lamellaires en bicouches. La structure en bicouches est la plus fréquente. La phase hexagonale est caractérisée par une structure cylindrique avec les têtes polaires des phospholipides situées soit à l'extérieur de la paroi du cylindre (phase I ou Hex I PE) soit à l'intérieur (phase II ou Hex II PE). Selon le contenu en cholestérol, l'environnement ionique et protéique, la PE peut passer de la phase I à la phase II. La PE joue un rôle important au cours de nombreuses étapes de la coagulation, en particulier dans la voie de la protéine C [6]. Enfin, sous la forme Hex II PE, elle est immunogène *in vivo* [7] et elle neutralise l'activité anticoagulante des LA *in vitro* [8].

A ce jour, les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine (aPE) sont bien moins documentés que ceux dirigés contre les phospholipides anioniques. Cependant, des études récentes ont montré que ces anticorps sont retrouvés en absence d'autres aPLs chez des patients présentant des accidents thromboemboliques et/ou des pertes fœtales récurrentes, mais aussi d'autres symptômes associés au SAPL [9, 10]. Certains aPE sont dépendants en cofacteurs plasmatiques dont les kininogènes de haut et bas poids moléculaire [11]; ils reconnaîtraient sur les kininogènes un épitope conformationnel exprimé seulement après leur interaction avec la PE [12]. Des protéines complexées au kininogène de haut poids moléculaire, comme la prékallicréine ou le facteur XI, pourraient aussi jouer un rôle de cofacteur. Le caractère dépendant ou non dépendant des aPE est lié à l'isotype de ces anticorps et non au contexte clinique associé. Contrairement aux aPE d'isotype IgM, ceux d'isotype IgG sont très dépendants de la présence de cofacteurs plasmatiques [13].

A cause de l'absence de standardisation et de la nécessité de confirmer leur intérêt clinique par des études multicentriques, la recherche de ces anticorps n'est pas encore pratiquée en routine dans la plupart des laboratoires.

II/ LES ANTICORPS ANTI-COFACTEURS PROTÉIQUES

Parmi les nombreuses protéines plasmatiques ayant un rôle de cofacteur vis-à-vis des aPLs, les plus connues sont la β_2 -GPI, la prothrombine et l'annexine V. Des anticorps dirigés contre ces protéines sont mis en évidence par des tests ELISA. Les anti- β_2 -GPI étant les plus fréquemment et les plus étroitement associés au SAPL. Les anticorps anti-prothrombine et anti-annexine V ont été décrits chez des patients présentant des événements cliniques du SAPL, mais des études sont encore nécessaires pour mieux définir l'intérêt de leur recherche en pratique quotidienne.

II.1 LES ANTICORPS ANTI- β_2 -GLYCOPROTÉINE I

Il est admis que la β_2 -GPI, principal cofacteur des aCL, représente par elle-même la cible antigénique de la plupart des aCL associés à un SAPL. C'est une glycoprotéine synthétisée par le foie et présente dans le plasma de sujets normaux. Le gène de la β_2 -GPI humaine est situé sur le chromosome 17. Les caractéristiques biochimiques et fonctionnelles de cette protéine sont présentées dans le *tableau 2*. Le site principal de liaison aux phospholipides anioniques est situé sur le 5^e domaine. Les épitopes les mieux connus comme cibles des anticorps anti- β_2 -GPI seraient situés sur le 1^{er} domaine [14]. Récemment, des épitopes localisés sur d'autres domaines ont été décrits. Son activité biologique n'est pas connue. Dans les conditions physiologiques, elle se lie aux phospholipides anioniques des membranes cellulaires avec une faible affinité et donc il est peu probable qu'elle exerce une activité anticoagulante en interférant

Tableau 2 / les caractéristiques de la bêta₂-glycoprotéine I humaine

Caractéristiques biochimiques
<p>Polypeptide monocaténaire</p> <ul style="list-style-type: none"> • 326 acides aminés • Fortement glycosylé (20%) • PM : 50KD • 5 domaines répétitifs de 60 acides aminés • Forte homologie interspèce • Polymorphisme allélique : 4 isoformes décrits • Concentration plasmatique : de 60 à 300 mg/l
Propriétés
<p>Liaison aux molécules chargées négativement :</p> <ul style="list-style-type: none"> • PHOSPHOLIPIDES ANIONIQUES • ADN • HÉPARINE
Fonctions
<p>In vitro : inhibition de</p> <ul style="list-style-type: none"> • la conversion prothrombine-thrombine • l'activation de la cascade de la coagulation intrinsèque • l'activation de la protéine C • l'agrégation plaquettaire <p>In vivo : inconnues</p>

avec la fixation des protéines de la coagulation. De plus, les déficits en β_2 -GPI ne sont pas associés à la survenue d'anomalies thromboemboliques. Par contre, après liaison aux anticorps, l'affinité de la β_2 -GPI est suffisante pour installer des conditions prothrombotiques, soit en inhibant certaines protéines ayant une activité anticoagulante (protéine C activée, annexine V), soit en induisant l'expression de molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales [15]. Dans les tests ELISA, les anticorps intéressants pour le diagnostic ne reconnaissent des épitopes exprimés sur la β_2 -GPI que si cette dernière est liée à des phospholipides anioniques ou fixée sur une plaque irradiée. L'irradiation γ augmente le nombre de groupements carboxyliques chargés négativement à la surface du polystyrène. Selon les auteurs, la fixation de la β_2 -GPI à une surface négative va permettre la réactivité des anticorps en induisant soit une augmentation de sa densité au fond des puits de la microplaque (les anticorps anti- β_2 -GPI sont de faible affinité et leur liaison nécessite une densité élevée de β_2 -GPI), soit des modifications conformationnelles avec expression de néo-épitopes reconnus par ces anticorps. Ces deux hypothèses n'étant pas exclusives l'une de l'autre.

II.2 LES ANTICORPS ANTI-PROTHROMBINE (ANTI-PT)

Ces anticorps représentent une grande partie des LA chez les patients ayant un SAPL. La prothrombine humaine ou Facteur II fait partie du complexe prothrombinase avec les facteurs Va, Xa et la phosphatidylsérine en présence de calcium. C'est sur la partie N terminale de la prothrombine (domaine GLA) que se trouve le site de liaison aux phospholipides anioniques. Les travaux de Rao et col. [16] suggèrent que les anti-PT pourraient augmenter l'affinité de la prothrombine pour les phospholipides anioniques et que les complexes PT-anti-PT inhiberaient la liaison des autres facteurs de la coagulation aux phospholipides anioniques. Ainsi, les anti-PT, au moins certains, pourraient avoir une action inhibitrice, d'une part sur la formation du complexe prothrombinase et d'autre part, sur l'activité anticoagulante de la protéine C activée. Les aPT ne sont pas spécifiques du SAPL, ils ont été décrits dans des contextes cliniques très variés allant du Lupus aux pathologies infectieuses [17]. Comme pour les ELISA anti- β_2 -GPI, la réactivité des aPT vis-à-vis de la prothrombine nécessite que celle-ci soit préalablement liée à une surface négative, c'est-à-dire à des phospholipides anioniques ou à des plaques ELISA irradiées. Les mêmes hypothèses que celles proposées pour l'immunoréactivité des anticorps anti- β_2 -GPI ont été avancées. Ces anticorps ont une faible sensibilité vis-à-vis de la thrombose et leur spécificité est très variable d'une étude à l'autre [17]. Aussi, l'intérêt de la recherche de ces anticorps dans l'exploration d'un SAPL reste à démontrer et leur dépistage en routine n'est pas recommandé.

II.3 LES ANTICORPS ANTI-ANNEXINE V

L'annexine V est une protéine placentaire retrouvée en faible quantité dans le plasma. In vitro, elle exerce une puissante activité anticoagulante mais ses fonctions physiologiques ne sont pas connues. Quelques études ont décrit la présence d'anticorps anti-annexine V chez des patients présentant des événements cliniques évocateurs d'un SAPL, thromboses et/ou pertes fœtales [18]. Cependant, leur prévalence dans ces contextes cliniques est faible et les études étant peu nombreuses, leur valeur clinique est loin d'être établie, et ce, d'autant plus que ces résultats n'ont pas été confirmés par d'autres auteurs [19]. Une étude récente menée dans notre laboratoire (non publiée) montre que ces anticorps sont essentiellement retrouvés au cours du Lupus en l'absence de toute manifestation clinique du SAPL et sont rares au cours du SAPL.

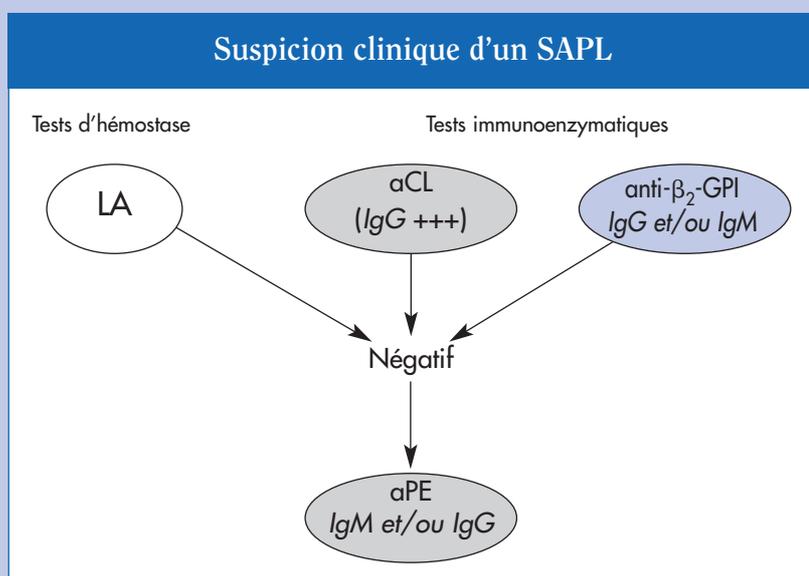


Figure 2 / Stratégie pour la recherche des APL dans le cadre d'un tableau clinique évocateur d'un SAPL.

III/ LES MÉTHODES DE DÉTECTION DES ACL ET DES ANTI-β₂-GPI

III.1 LES CONDITIONS PRÉ-ANALYTIQUES

Il faut éviter les sérums lipémiques ainsi que les congélations et décongélations successives de l'échantillon à tester pouvant produire des résultats faussement positifs. La conservation du sérum avant dosage doit se faire à 4 °C et si elle doit se prolonger au-delà de 72 heures, il est conseillé d'ajouter un bactéricide (de l'azide de sodium, le plus souvent).

III.2 LES MÉTHODES

Au cours de ce chapitre, seules les méthodes permettant la détection des aCL proprement dits et des anti-β₂-GPI seront abordées. Ces anticorps sont les plus recherchés en pratique quotidienne, ce qui n'est pas le cas des autres anticorps cités pour lesquels il n'existe pratiquement pas de trousses commercialisées.

Différentes méthodes ont été décrites pour la mise en évidence des aCL comme la radio-immunologie, la cytométrie en flux avec des billes de latex recouvertes de cardiolipine, la chromatographie en couche mince et l'ELISA. Les anti-β₂-GPI peuvent être recherchés sur immunoblot, immunodot et par ELISA en microplaques. C'est cette dernière méthode qui est la plus utilisée pour la détection de ces deux types d'anticorps et de nombreuses trousses commercialisées sont disponibles.

La standardisation de ces tests n'est pas encore achevée malgré de nombreuses tentatives et une avancée certaine. Aussi, les discordances de résultats obtenus selon la trousses utilisée sont encore fréquentes. La réactivité de ces anticorps est très dépendante des différents éléments de la réaction (Figure 2) mais aussi du choix de la valeur seuil et de la méthode de quantification des anticorps.

III.3 ANALYSE CRITIQUE

► ELISA aCL

Les résultats obtenus avec diverses trousses sont dépendants des éléments suivants :

- **La microplaque** : elle peut être irradiée ou non. L'irradiation va favoriser la fixation de β₂-GPI et donc privilégier la liaison des anticorps anti-β₂-GPI.
- **L'antigène** : la cardiolipine est un phospholipide très rapidement oxydé au contact de l'air. Comme nous l'avons précisé précédemment, l'oxydation est nécessaire à la réactivité de la plupart des aCL mais la durée d'exposition ne doit pas être trop prolongée car elle risque d'augmenter les réactivités non spécifiques. Des variations dans le degré d'oxydation de la cardiolipine selon les lots de préparations et la durée de contact à l'air peuvent expliquer les fluctuations de résultats selon la trousses utilisée. La sensibilisation des puits par la cardiolipine se fait après évaporation une nuit à 4 °C sur les microplaques d'une solution alcoolique de ce phospholipide.
- **Le tampon de saturation et de dilution des échantillons** : il est additionné de plasma ou de sérum animal afin d'apporter une quantité de β₂-GPI suffisante pour révéler les aCL dépendants en cofacteurs. Cette quantité est variable d'une source et d'un lot de sérum à l'autre, ce qui pourrait expliquer les différences de résultats observées selon les trousses. Certains utilisent des tampons additionnés de β₂-GPI humaine purifiée en quantité bien définie. Cependant, malgré une homologie d'environ 80 % entre la β₂-GPI humaine et animale, certains aCL reconnaîtraient des épitopes spécifiques d'espèce et

cette particularité pourrait être la cause de résultats discordants selon les trousse. Lorsque de la β_2 -GPI est présente dans la réaction, les anticorps détectés ne sont pas seulement des anticardiolipines stricto sensu, d'autant plus que la β_2 -GPI peut camoufler, au moins partiellement, les phospholipides.

- **Le temps d'incubation des sérums** : les aCL sont des anticorps de faible avidité et il est recommandé que le temps d'incubation soit suffisant (au moins 30 minutes) pour permettre une liaison optimale de ces anticorps à la cardiolipine adsorbée sur la plaque.
- **L'expression des résultats** : la détermination du taux des aCL est nécessaire pour mieux évaluer un risque de survenue d'un SAPL. Plus le taux est élevé plus le risque est grand. De nombreuses trousse commercialisées utilisent des standards internes dont la valeur a été définie par rapport à celle de standards produits par l'Université de Louisville (USA) et couramment appelés "standards Harris" [20] dont les valeurs sont exprimées en unités GPL pour l'isotype G et MPL pour l'isotype M. Une unité GPL ou MPL correspond à une concentration d'aCL de 1 mg/ml. Cependant, le manque de concordance entre les valeurs de ces standards d'une préparation à l'autre entraîne des variations substantielles dans les résultats obtenus avec des trousse différentes.

La détermination de la valeur seuil est aussi un élément important dans l'interprétation des résultats, elle dépend de la méthode de calcul utilisée et du niveau de sensibilité et de spécificité choisi par le fabricant. Différentes méthodes de calcul peuvent être employées : moyenne + n déviations standards (n peut varier de 2 à 5), percentiles (de 95 à 98 percentiles). La distribution des aCL dans la population dite normale n'étant pas gaussienne, c'est la méthode des percentiles qui paraît la plus adaptée mais elle n'a pas été choisie par tous les laboratoires malgré les recommandations internationales [21].

► ELISA anti- β_2 -GPI

- **La microplaque** : elle doit être irradiée pour les raisons citées précédemment.
- **Le tampon de saturation** : il est le plus souvent additionné de protéines animales ou de détergent comme le Tween 20. Les protéines animales doivent être purifiées afin d'éviter des contaminations par de la β_2 -GPI animale et des phospholipides.
- **La β_2 -GPI** : la plupart des trousse ELISA anti- β_2 -GPI commercialisées et "maison" utilisent de la β_2 -GPI d'origine humaine. Cependant, la qualité de la préparation de β_2 -GPI varie d'un fabricant à l'autre mais aussi d'un lot à l'autre. Les anticorps anti- β_2 -GPI sont très hétérogènes quant à leur spécificité antigénique [22] et selon les conditions de préparation de la β_2 -GPI, certains épitopes seront exprimés ou altérés.
- **Le temps d'incubation des sérums** : comme les aCL, ces anticorps sont de faible avidité et le temps minimal d'incubation du sérum dilué ne doit pas être inférieur à 30 minutes.

- **L'expression des résultats** : comme pour le test aCL, la valeur seuil peut être déterminée à partir d'une large population d'individus "normaux", le plus souvent des donneurs de sang. Les méthodes de calcul sont les mêmes que pour les aCL. La distribution des taux des anti- β_2 -GPI étant gaussienne, le choix de la méthode de calcul a moins d'importance dans le cas des anti- β_2 -GPI. Il n'y a pas encore de standards unanimement reconnus comme référence. La plupart des trousse utilisent des standards internes dont les valeurs sont définies arbitrairement ou par rapport à celles de standards fournis par le Laboratoire de Rhumatologie de l'Université de Seton, USA [23].

Un protocole multicentrique de standardisation des anticorps anti- β_2 -GPI est en cours au sein Forum Européen des Antiphospholipides. Ce protocole est coordonné par les docteurs J Arvieux et G. Reber [24]. L'analyse des variations inter-laboratoires a montré que les divergences de résultats étaient dues principalement à des différences de la valeur seuil et que l'utilisation de standards de références permettrait d'améliorer la standardisation de ce test.

IV/ ATTITUDE PRATIQUE DANS LA RECHERCHE DES APLS

Comme nous l'avons précisé précédemment, la diversité des aPLs est importante. Ces anticorps ne sont pas spécifiques du SAPL, mais certains, et en particulier certaines associations d'aPLs, représentent des outils diagnostiques fort utiles aux cliniciens. De plus, le SAPL est un syndrome qui atteint souvent le sujet jeune et dont le caractère récidivant des accidents thrombotiques est un facteur aggravant. Pour ces raisons, il est primordial de détecter ces anticorps et cette recherche doit se faire en concertation avec le clinicien, d'une part pour définir l'algorithme d'exploration le plus adapté et aussi pour mieux interpréter les résultats. Enfin, il faudra tenir compte des contraintes économiques et éviter des explorations inutiles ou redondantes.

Le choix des trousse ELISA pour la recherche des aCL et des anti- β_2 -GPI est délicat ; il doit tenir compte des différents paramètres influençant la réactivité et il est important de comparer les performances de plusieurs trousse. Il est conseillé de déterminer par soi-même la valeur seuil en testant au moins 50 sérums normaux, le plus souvent provenant de donneurs de sang et de la situer entre le 97^e et le 99^e percentile. Chaque manipulation doit comporter des contrôles internes en plus des contrôles fournis par la trousse : 2 sérums positifs testés dans plusieurs manipulations et dont le taux est stable d'une manipulation à l'autre (un avec un taux moyennement positif et un autre avec un taux limite. Un contrôle fortement positif est peu informatif sur la reproductibilité du test.) Il faudra interpréter les résultats en fonction des taux obtenus pour ces sérums contrôles. Dans notre laboratoire, nous révélons les anti-

corps par un antisérum spécifique d'un isotype donné. L'isotype IgG étant le plus fréquent et le plus associé au SAPL, il est recherché en première intention. Les anticorps d'isotype IgM ne sont recherchés qu'en présence d'un tableau clinique évocateur d'un SAPL et en absence d'aCL et d'anti- β_2 -GPI d'isotype IgG.

L'interprétation des résultats doit tenir compte de certaines données cliniques et biologiques comme :

- l'âge du patient (la prévalence des aCL est augmentée chez les personnes âgées et chez les enfants pour qui la présence de ces anticorps est le plus souvent asymptomatique. Chez les enfants, elle serait la conséquence d'infections) [25] ;
- une infection récente ;
- une hypergammaglobulinémie. Dans ce cas, il faut soustraire la réactivité non spécifique du sérum. Si la trousse utilisée par le laboratoire ne le permet pas, il convient d'envoyer le sérum dans un centre spécialisé où un tel procédé se pratique.

Devant toute suspicion de SAPL, il est indispensable de rechercher les anticorps suivants : LA, aCL et anti- β_2 -GPI. La présence simultanée de ces trois paramètres renforce un risque de SAPL chez un patient. En l'absence d'anomalies cliniques, la positivité de ces trois anticorps impose un suivi régulier du patient. La recherche des aPE apporte un complément d'information dans certaines situations cliniques mais elle n'est pratiquée que dans les laboratoires spécialisés. La *Figure 2* propose une stratégie pour l'exploration immunologique du SAPL.

Enfin, il est important de préciser que la présence d'un aPL, quel qu'il soit, doit être confirmée dans un délai de 2 à 3 mois.

Bibliographie

- [1] Deguchi H, Fernandez JA, Hackeng TA, Banka CL and Griffin H. Cardiolipin is a normal component of human plasma lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 1743-8.
- [2] Sorice M, Circella A, Misani R, Pittono V, Garofalo T, Cirelli A, Pavan A, Pontieri GM, Valesini G. Cardiolipin on the surface of apoptotic cells as a possible trigger for antiphospholipid antibodies. *Clin Exp Immunol* 2000 ; 122 : 277-84.[
- [3] Hörkkö S, Miller E, Branch DW, Palinski W, Witztum JL. The epitope for some antiphospholipid antibodies are adducts of oxidized phospholipid and β_2 -glycoprotein I (and other proteins). *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 10356-61.
- [4] McNeil HP, Simpson RJ, Chesterman CN, Krilis SA. Antiphospholipid antibodies are directed against a complex antigen that includes a lipid-binding inhibitor of coagulation. β_2 -Glycoprotein I (apolipoprotein H). *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 4120-24.
- [5] Selva-O'Callaghan A, Ordi-Ros J, Monegal-Ferran F, Martinez N, Cortes-Hernandez F, Villardel-Tarres M. IgA anticardiolipin antibodies. Relation with other antiphospholipid antibodies and clinical significance. *Thromb Haemost* 1998 ; 79 : 282-5.
- [6] Esmon NL, Sfa O, Smirnov MD, Esmon CT. Antiphospholipid antibodies and the proprotein C pathway. *Lupus* 2000 ; 15 : 221-5.
- [7] Rauch J, Janoff AS. Phospholipid in the hexagonal II phase is immunogenic : evidence for immunorecognition of non bilayer lipid phases in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 4112-4.
- [8] Rauch J, Tannenbaum M, Janoff AS. Distinguishing plasma lupus anticoagulants from anti-factor antibodies using hexagonal (II) phase phospholipids. *Thromb Haemost* 1989 ; 62 : 892-6.
- [9] Sanmarco M, Alessi MC, Harlé JR, Sapin C, Aillaud MF, Gentile S, et al. Antibodies to phosphatidylethanolamine as the only antiphospholipid antibodies found in patients with unexplained thromboses. *Thromb Haemost*. Sous presse.
- [10] Gris JC, Quere I, Sanmarco M, Boutiere B, Mercier E, Amiral A, et al. Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss. *Thromb Haemost* 2000 ; 84 : 228-36.
- [11] Sugi T, McIntyre JA. Autoantibodies to Phosphatidylethanolamine (PE) Recognize a Kininogen-PE Complex. *Blood* 1995 ; 86 : 3083-3089.
- [12] Sugi T, McIntyre JA. Phosphatidylethanolamine induces specific conformational changes in the kininogens recognizable by antiphosphatidylethanolamine antibodies. *Thromb Haemost* 1996 ; 76 : 354-360.
- [13] Berard M, Sugi T, McIntyre JA, Chantome R, Marcelli A and Boffa MC. Prevalence and kininogen dependence of antiphosphatidylethanolamine antibodies. *Nouv Rev Fr Hematol* 1995 ; 37 (Suppl 2) : 69-72.
- [14] McNeeley PA, Victoria EJ, Marquis D, Crisologo JF, Tuyay DC, Linnik MD. APS patient sera preferentially recognize the first domain of β_2 -glycoprotein I. *Lupus* 1998 ; 7 : S176.

- [15] Del Papa N, Sheng YH, Raschi E, Kandiah DA, Tincani A, Khamashta MA et al. Human β_2 -glycoprotein I binds to endothelial cells through a cluster of lysine residues that are critical for anionic phospholipid binding and offers epitopes for anti- β_2 -glycoprotein I antibodies.
J Immunol 1998 ; 160 : 5572-8.
- [16] Rao LVM, Hoang AD, Rappaport SI. Mechanism and effects of the binding of lupus anticoagulant IgG and prothrombin to surface phospholipids.
Blood 1996 ; 88 : 4173-8.
- [17] Galli M. Should we include anti-prothrombin antibodies in the screening for the antiphospholipid syndrome ?
J Autoimmunity 2000 ; 15 : 101-5.
- [18] Matsuda J, Gotoh M, Saitoh N, Gohchi K, Tsukamoto W, Yamamoto T. Anti-annexin V antibody in the sera of patients with habitual fetal loss or preeclampsia.
Thromb Res 1994, 75, 105-106.
- [19] Siaka C, Lambert M, Caron C, Amiral J, Hachulla E, Hatron PY et al. Faible prévalence des anticorps anti-annexine V dans le syndrome des antiphospholipides avec pertes fœtales
Rev Med interne 1999 ; 20 : 762-5.
- [20] Harris EN, Gharavi AE, Patel SP, Hughes GRV. Evaluation of the anticardiolipin antibody test: report of a standardization workshop held April 4th, 1986.
Clin Exp Immunol 1987 ; 68 : 215-22.
- [21] Harris EN, Exner T, Hughes GRV, Asherson RA. Phospholipid Binding Antibodies, CRC Press.
Boca Raton 1991 ; 175-187.
- [22] Roubey RAS. Immunology of the Antiphospholipid Syndrome : Antibodies, Antigens, Autoimmune Response.
Thromb Haemost 1999 ; 82 : 656-661.
- [23] Erickson E, Najmey S, Keil LB, El-Kadi HS, de Bari VA. Reference calibrators for IgG antibodies to beta2-glycoprotein I : preparation and availability to investigators.
Clin Chem 1996, 42, 116-117.
- [24] Arvieux J, Schousboe I, Boffa MC. On behalf of the participants to The European Forum on the Antiphospholipid Antibodies (aPL). Multicenter evaluation of the ELISA for anti-beta₂-glycoprotein I antibodies.
Lupus 1998 ; 7 : S183 (abstract).
- [25] Rapizzi E, Ruffatti A, Piccoli A, Calligaro A, Sfriso P and Todesco S. Correction for age of anticardiolipin antibodies cut-off points.
J Clin Lab Anal 2000 ; 14 : 87-90.

Exploration du syndrome des antiphospholipides : apport de la recherche des anticorps anti-bêta₂-glycoprotéine I par rapport à celle des anticorps anticardioline

SANMARCO M, ROLL P, OKSMAN F, JOHANET C, BAQUEY A, ESCANDE A, COHEN J, CHEVALIER A, GOETZ J, SIBILIA J, HUMBEL RL.

Le diagnostic du syndrome des antiphospholipides (SAPL) nécessite, de par sa définition, la présence d'anticorps antiphospholipides (aPLs) associée à celle des anomalies cliniques caractéristiques de ce syndrome qui sont essentiellement des thromboses et/ou des pertes fœtales le plus souvent récurrentes. Ainsi, l'exploration biologique de ce syndrome comporte-t-elle la détection des aPLs dits conventionnels, les Lupus anticoagulants mis en évidence par des tests de coagulation et les anticorps anticardioline (aCL) par des tests immunoenzymatiques. A cause de l'hétérogénéité du profil immunologique du SAPL, ces deux marqueurs sont recherchés en parallèle. Aucun des deux n'est spécifique du SAPL et ils sont retrouvés dans des contextes cliniques très divers. De nombreuses études ont montré depuis quelques années, que la principale cible antigénique reconnue par les aPLs était une protéine plasmique, la bêta₂-glycoprotéine I (β₂-GPI) [1]. Les anticorps anti-β₂-GPI apparaissent plus spécifiques du SAPL que les aCL [1, 2, 3]. De plus, ces anticorps sont plus étroitement associés avec les événements cliniques du syndrome des antiphospholipides (SAPL) que les aPLs. La principale préoccupation des biologistes est d'éviter les examens redondants, voire inutiles ainsi que ceux, qui par manque de sensibilité ou de spécificité, peuvent gêner le clinicien dans la détermination du diagnostic. C'est pourquoi bon nombre d'entre eux se demandent si la recherche des anticorps anti-β₂-GPI ne peut pas se substituer à celle des aCL dans l'exploration du syndrome des antiphospholipides.

C'est une question pertinente et l'objectif de cette étude a été de déterminer si la recherche des anticorps anti-β₂-GPI était suffisante par elle-même pour évaluer la présence d'un SAPL chez un patient. Dans ce but, une étude multicentrique rétrospective a été mise en place avec la participation du GEAL.

La prévalence et les associations cliniques des aCL et des anticorps anti-β₂-GPI ont été étudiées chez des patients ayant un SAPL et ont été comparées à celles trouvées chez des patients lupiques ne présentant aucun signe clinique de SAPL. Le diagnostic a été établi selon les critères définis

par l'American College of Rheumatology [4] dans le cas du Lupus érythémateux disséminé (LED) et par un consensus international [5] dans le cas du SAPL. Au total, 140 patients ont été sélectionnés selon les critères cliniques et biologiques de ces deux désordres auto-immuns : 69 LED et 71 SAPL dont 38 SAPL I et 33 SAPL II. Dans chacun des deux groupes de patients, la moyenne d'âge était d'environ 39 ans, la majorité des patients était de sexe féminin (87 %). Chez les patients ayant un SAPL, 90 % des SAPL I et 64 % des SAPL II ont eu des accidents thrombotiques. Les thromboses étaient veineuses dans la majorité des cas, elles étaient localisées au niveau des veines profondes. Le nombre de patients ayant eu des épisodes thrombotiques ou obstétricaux récurrents était similaire dans les deux groupes. Les thromboses artérielles avaient une localisation cérébrale dans la majorité des cas. Environ 50 % des patientes ont eu des pertes fœtales et la plupart (plus de 60 % des cas) ont eu plus de deux épisodes.

- Les aCL et les anticorps anti-β₂-GPI ont été détectés par des ELISAs mis au point au laboratoire et légèrement modifiés depuis leur description initiale [6, 7].

- Les résultats obtenus montrent que, dans le groupe SAPL, la prévalence des aCL et des anti-β₂-GPI (IgG et/ou IgM) est similaire (82 % et 76 %, respectivement) et qu'elle est significativement plus élevée par rapport à celle du groupe LED (36 % et 15 %, respectivement), $p < 0,0001$. De plus, les taux de ces deux anticorps sont plus élevés dans le SAPL que dans le LED ($p < 0,0001$).

L'étude de la relation entre les taux d'aCL et ceux d'anticorps anti-β₂-GPI dans les deux groupes de patients, avec LED et avec SAPL, révèle qu'ils sont fortement associés dans le SAPL ($p < 0,0001$), quel que soit l'isotype, alors qu'il n'y a aucune corrélation entre les taux de ces deux anticorps dans le groupe de patients ayant un lupus.

Nous avons également analysé la relation entre le taux de ces anticorps et la présence des principales anomalies cliniques du SAPL, thrombose et perte fœtale. Les résultats de cette analyse montrent que des taux élevés d'aCL d'isotype IgG mais pas IgM sont associés avec la présence de

perles fœtales ou d'accidents thromboemboliques. Dans le cas des anticorps anti- β_2 -GPI, les deux isotypes ont des taux significativement plus élevés en présence qu'en absence de cette anomalie du SAPL ($p < 0,0001$ pour les IgG et $p = 0,01$ pour les IgM).

La sensibilité et la spécificité des IgG-anti- β_2 -GPI vis-à-vis du SAPL ont été déterminées : 69 % et 93 %, respectivement. Il est impossible de comparer ces valeurs à celles des aCL pour la simple raison que la présence d'aCL avec celle des LA est un des critères de sélection du SAPL.

Parmi les patients ayant un SAPL, 5 étaient positifs pour les aCL et négatifs pour les anticorps anti- β_2 -GPI. Il s'agissait de 3 SAPL I et 2 SAPL II (Tableau 1).

• Les résultats de cette étude montrent que les anticorps anti- β_2 -GPI représentent des outils diagnostiques indis-

pensables au clinicien par leur grande spécificité vis-à-vis du SAPL. Cependant, l'hétérogénéité du profil biologique de ce syndrome ne permet pas de remplacer la recherche des aCL par celle des anticorps anti- β_2 -GPI puisque dans cette étude cinq patients ayant des caractéristiques biologiques et cliniques du SAPL étaient positifs pour les aCL et négatifs pour les anticorps anti- β_2 -GPI. Il est possible que le test que nous avons utilisé pour la recherche des anticorps anti- β_2 -GPI ne permette pas la détection de certains anticorps dont la réactivité pourrait être dirigée contre des épitopes qui ne seraient pas exprimés sur la β_2 -GPI utilisée dans le test. Les ELISAs pour la mise en évidence des anticorps anti- β_2 -GPI ne sont pas encore standardisés. Une étude multicentrique pour la standardisation de ces ELISAs a été entreprise au sein du Forum Européen [8]. Elle n'est pas encore achevée mais elle a montré des discordances de résultats entre les participants malgré l'adoption d'unités de mesure communes pour fixer le seuil de positivité. Ces résultats peuvent être interprétés par rapport à l'hétérogénéité de la population des anticorps anti- β_2 -GPI testés et l'importance de la qualité de la préparation de β_2 -GPI purifiée qui varie d'un fournisseur à l'autre et même d'un lot à l'autre.

Le SAPL est un syndrome caractérisé par une grande hétérogénéité aussi bien du point de vue clinique que biologique et, dans l'état actuel de nos connaissances et des performances des tests biologiques, il est indispensable que le biologiste et le clinicien collaborent afin de définir les conditions optimales pour l'exploration de ce syndrome.

Tableau 1 / Caractéristiques des patients SAPL avec des anticorps anticardiolipine et sans anticorps anti- β_2 -GPI.

Patients (N°)	SAPL	Âge	TV ¹ (nombre)	TA ²	TC ³	PF ⁴	ACL (UGPL)	LA
1	I	64	2	2	Oui	0	25	+
2	I	24	1	0	Oui	0	40	+
3	I	58	0	1	Non	0	70	+
4	II	62	1	2	Non	0	33	+
5	II	36	4	0	Oui	4	48	+

¹ TV : thrombose veineuse

² TA : thrombose artérielle

³ TC : thrombocytopénie

⁴ PF : perte fœtale

Références

- [1] ROUBEY RAS
Immunology of the antiphospholipid syndrome.
Arthritis Rheum 1996 ; 39 : 1444-54.
- [2] NAJMEY SS, KEIL LB, ADIB DYR, DEBARI VA
The association of antibodies to β_2 -glycoprotein I with the antiphospholipid syndrome : a meta-analysis.
Ann Clin Lab Sci 1997 ; 27 : 41-6.
- [3] DAY HM, THIAGARAJAN P, AHN C, REVEILLE JD, TINKER KF, ARNETT FC
Autoantibodies to β_2 -glycoprotein I in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome : clinical correlations in comparison with other antiphospholipid antibody tests.
J Rheumatol 1998 ; 25 : 667-74.
- [4] HOCHBERG MC
Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.
Arthritis Rheum 1997 ; 40 : 1725.
- [5] WILSON WA, GHARAVI AE, KOIKE T, LOCKSHIN MD, BRANCH DW, PIETTE JC et al.
International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome.
Arthritis Rheum 1999 ; 42 : 1309-11.
- [6] VERROT D, SANMARCO M, DRAVET C et al.
Prevalence and Signification of Antinuclear and Anticardiolipin Antibodies in Patients with Epilepsy.
Am J Med 1997 ; 103 : 33-7.
- [7] SANMARCO M, SOLER C, CHRISTIDES C et al.
Prevalence and clinical significance of IgG-isotype anti- β_2 -glycoprotein I antibodies in antiphospholipid syndrome : a comparative study with anticardiolipin antibodies.
J Lab Clin Med 1997 ; 129 : 499-506.
- [8] ARVIEUX J, SCHOUSBOE I, BOFFA MC.
On behalf of the participants to The European Forum on the Antiphospholipid Antibodies (aPL).
Multicenter evaluation of the ELISA for anti-beta₂-glycoprotein I antibodies Lupus 1998 ; 7 : S183 (abstract).

Rapport du 5^e Symposium de Dresde sur les auto-anticorps

(5th Dresden Symposium on autoantibodies)

Dr Chantal ANDRÉ, service d'Immurologie Biologique - CHU Henri Mondor

Il y a 10 ans, le Docteur Karsten Conrad organisait à Dresde (Allemagne) le "1^{er} Symposium sur les auto-anticorps". Des cliniciens et des scientifiques d'Allemagne, d'Australie et du Luxembourg avaient été réunis pour discuter essentiellement des aspects méthodologiques de la détermination des auto-anticorps. Depuis est organisé tous les deux ans à Dresde un symposium qui a pris une très grande ampleur puisque s'y retrouvent des participants du monde entier (États-Unis, Europe, Australie et Asie). Le but principal de ces réunions est de permettre aux spécialistes cliniciens, biologistes ou chercheurs en "auto-immunité" d'échanger des informations à la fois fondamentales et pratiques sur tous les domaines de l'auto-immunité et particulièrement sur les auto-antigènes et les auto-anticorps.

Le "5th Dresden Symposium on autoantibodies" organisé par le Docteur Karsten Conrad et les Professeurs René-Louis Humbel, M. Meurer, Y. Shoenfeld et E. M. Tan, du 18 au 21 octobre 2000, a eu un réel succès international. Les données récentes concernant la structure, la fonction d'auto-antigènes, les processus d'induction et les effets pathogènes des réponses auto-immunes ont été présentées. Les notions d'antigène appartenant à des "structures cellulaires multimoléculaires particulières" et l'apparition d'auto-anticorps par "diversification épitopique" (epitope spreading) ont souvent été abordées. De nouveaux systèmes antigène-anticorps d'intérêt diagnostique ou pathogène ont été identifiés. Le nombre de tests sérologiques pour identifier les auto-anticorps est en développement continu grâce aux progrès de la biologie moléculaire. Les problèmes de variabilité dans les sensibilités et les spécificités des différentes techniques proposées ont bien été abordés et le besoin d'optimisation et de standardisation des tests se fait de plus en plus sentir.

Il n'est pas possible de rapporter tous les travaux présentés, mais nous avons choisi certains sujets en fonction de leur intérêt pour le biologiste ou pour l'enseignant.

Les auto-antigènes : structure et fonction

Nature particulière des autoantigènes

Hiepe a rappelé ce point important concernant la majorité des auto-antigènes intracellulaires et présenté une revue des auto-antigènes actuellement connus faisant partie de particules multimoléculaires impliquées dans d'importantes fonctions cellulaires (notamment dans le cadre des connectivités). La découverte des anticorps a souvent permis, à côté de leur intérêt clinique, d'identifier ces particules, d'isoler et de cloner leurs composants :

les nucléosomes, le spliceosome (snRNPs et hnRNPs), le complexe ribonucléoprotéique Ro/SSA, La/SSB, le nucléole, les centromères, l'enveloppe nucléaire avec le complexe des pores nucléaires, les corps nucléaires (PML bodies et coiled bodies), l'appareil mitotique (centrosome, pôles mitotiques et kinétochore), le complexe du Golgi, les ribosomes, les 20s protéasomes : ce complexe protéolytique, nécessaire à la dégradation des protéines cytoplasmiques impliquées dans l'activation et la régulation de la réponse immune, présente une structure cylindrique composée de plusieurs sous-unités. Des anticorps spécifiques de sous-unités du protéasome ont été observés chez des patients présentant une myosite auto-immune, un lupus érythémateux disséminé (LED) ou un syndrome de Sjögren. L'aspect donné en fluorescence par ces anticorps sur le cytoplasme pourrait être comparable à celui donné par les anticorps anti-ribosomes (Feist, *J. Exp. Med.*, 1996 et *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2000).

La famille des protéines Sm

- Les déterminants antigéniques sur les différentes protéines Sm ne sont pas entièrement connus ;
- Existence probable d'un motif séquentiel commun entre les différentes protéines Sm ;
- Importance de certains épitopes conformationnels : les anti Sm reconnaissent une ou plusieurs des protéines natives E, F et G en immunoprécipitation et mieux le complexe (E, F, G), mais ne reconnaissent pas les protéines E, F et G dénaturées en immunoblot (Achsel).

Le nucléole

Il est formé d'au moins 9 complexes macromoléculaires composés de plusieurs protéines et tous ces complexes multimoléculaires ont au moins une molécule auto-antigénique. Mais le nombre d'antigènes décrits est limité par rapport au nombre de protéines présentes. L'induction, qui a été démontrée, de la fragmentation spécifique de certains auto-antigènes (PMScl100, Topoisomérase 1) lors de la mort cellulaire peut être à l'origine de la rupture de la tolérance vis-à-vis de ces antigènes dans certaines pathologies (Pruijn).

Auto-anticorps dirigés contre l'appareil mitotique

Excellente présentation par Fritzlér avec revue complète des diverses étiologies de l'apparition de ces auto-anticorps.

- Identification d'anti-centrosomes (92 % anti-péricentrique) chez des enfants avec ataxie post-varicelle (Adams, *Can. J. Neurol. Sci.*, 2000).
- Origine des auto-anticorps : clivage de protéines durant l'apoptose (Numa, DNA topoisomérase 2), augmentation dans les tissus se divisant rapidement (centromères-F dans le cancer du sein), diversification épitopique (Numa, centromère, centrosome).

Anti-PCNA

Takasaki a montré que des anticorps monoclonaux anti-PCNA (protéine auxiliaire de la DNA polymérase delta) se fixent à des "complexes PCNA" contenant diverses autres protéines incluant la protéine PA28 gamma (Ki) du protéasome permettant ainsi l'étude de ces complexes multimoléculaires.

Corps nucléaires

Le facteur de transcription CBP/p300 et la RNA polymérase 2 colocalisent dans une sous-population de corps

(dots) nucléaires contenant la protéine PML : argument pour la présence de sites de transcription dans ces corps nucléaires. (von Mikecz, *J. Cell. Biol.* 2000).

Mécanismes d'induction des auto-anticorps, nouveaux anticorps

Apoptose et nécrose

Excellente présentation de Casiano sur la balance entre les deux phénomènes et le rôle de l'environnement pendant la mort cellulaire pour déterminer soit une tolérance soit une réponse auto-immune. Dans des conditions non inflammatoires, les mécanismes d'apoptose peuvent permettre le maintien de la tolérance immunitaire aux antigènes du soi, alors que, dans un environnement inflammatoire associé à de la nécrose, les cellules dendritiques matures peuvent présenter des antigènes du soi intracellulaires et entraîner une réponse auto-immune.

Mutations somatiques

Elles peuvent être un mécanisme d'induction d'auto-immunité (antigène La/SSB) (Bachmann).

Anticorps anti-endosomes et anti-GOLGI présentés par Fritzler

- Six antigènes du Golgi ont été identifiés (giantin/macro golgine, golgin-67, golgin-95, golgin-97, golgin-160 et golgin-245) et deux antigènes des endosomes (EEA1 et la protéine CLIP). Les anti-Golgi ont été décrits dans les LES, ataxies cérébelleuses, sclérodermies, polyarthrites rhumatoïdes ou syndrome de Sjögren, les anti-endosomes au cours de neuropathies et de lupus associés à des neuropathies (Selak, *J. Invest. Med.* 1999).
- Les sérums anti-endosomes donnent (en IFI) un aspect vésiculaire (anti-EEA1) ou ponctué (anti-CLIP-170) du cytoplasme des cellules HEP2. A noter : les anti-EA1 donnent sur les polynucléaires granuleux le même aspect que les anticorps anti-protéase 3.
- Données sur la fréquence des anticorps anti-Golgi et anti-endosomes dans le laboratoire du Pr Fritzler : sur 5 000 échantillons testés, 20 sont des anti-Sm (0,4 %), 100 sont des anti-dsDNA (2 %), 300 des anticardiolipides (6 %), 4 des anticorps anti-PCNA (0,08 %), 25 des anti-Golgi (0,5 %) et 40 des anticorps anti-endosomes (0,8 %).

Auto-immunité dans la polyarthrite rhumatoïde

Auto-immunité cellulaire

La polyarthrite rhumatoïde n'est pas caractérisée par une seule réactivité à un seul antigène mais par un ensemble de réactivités cellulaires T et B, induisant et maintenant l'évolution de la maladie, associées à des facteurs environnementaux et des facteurs génétiques (nombres élevés d'anticorps décrits, mais pas toujours tous présents, et d'auto-antigènes reconnus par des cellules T spécifiques chez les patients) (Burmester).

Un antigène P250 purifié à partir du liquide synovial est l'antigène cellulaire T le plus important connu jusqu'à présent dans la PR ; il contient une séquence de 11 acides aminés identique à une séquence dans les domaines CH2 des IgG, région de l'IgG connue pour être la cible des facteurs rhumatoïdes (Bläss).

Nouveaux auto-anticorps ayant une signification diagnostique

La plupart de ces anticorps ont déjà été décrits dans ce journal.

A retenir

- Les anti-A2/RA33 sont spécifiques de la PR quand on a éliminé un LES ou une connectivite mixte (il est signalé l'existence d'un coffret ELISA pour leur détection).
- Les anti-Sa, les anti-BIP (détectés par immunoblot) et les anti-citrullines. La polyarthrite rhumatoïde est l'exemple typique de maladie pour laquelle c'est l'association de plusieurs anticorps qui permet de s'approcher au maximum de la spécificité pour cette pathologie : les facteurs rhumatoïdes, les anti-BIP et les anti-citrulline sont positifs simultanément seulement dans la PR (sensibilité de ce profil faible 30 %, mais spécificité diagnostique de 100 %).
- Les anticorps anti-filagrine : deux présentations (Bizzaro et Humbel) ont montré une bonne corrélation entre les résultats d'un test ELISA détectant les anticorps anti-peptide cyclique citrulliné (Immunoscan RA, Eurodiagnostica) et la recherche d'anticorps anti-filagrine par immunofluorescence indirecte (= anti-kératine). Il a été aussi présenté un "line immuno assay" (Innogenetics) utilisant de la filagrine recombinante citrullinée et 2 peptides A et B synthétiques citrullinés qui semble donner des résultats sensiblement équivalents à la recherche des anticorps anti-kératine. Ce test n'est pas encore commercialisé.

Auto-immunité dans les maladies hépatiques

Hépatites auto-immunes

Bons modèles d'étude de l'auto-immunité due à des facteurs génétiques (soit facteur de risque, soit polymorphisme ou déficit de régulation de la réponse immunitaire), à des infections virales (HCV et HDV) ou à des médicaments (Manns).

- Un modèle de pathologie auto-immune causée par des mutations sur un seul gène (le régulateur auto-immun AIRE) est le syndrome APS-1 ou APECED, syndrome complexe associant une candidose muco-cutanée, de multiples désordres auto-immuns, notamment des glandes endocrines et, chez certains patients, une hépatite avec anticorps anti-mitosomes de foie. La protéine AIRE est un facteur de transcription potentiellement impliqué dans l'induction et le maintien de la tolérance. Plusieurs cytochromes P450 sont impliqués comme auto-antigènes dans cette pathologie mais ils sont différents des cytochromes P450 des hépatites auto-immunes de type 2 (hépatites auto-immunes : CYP2D6 et APS-1 : CYP1A2, CYP2A6).
- Les patients ayant une hépatite virale chronique C et des anticorps anti LKM1 peuvent être traités par l'interféron α mais doivent être suivis très attentivement parce que 10 % peuvent développer une réelle hépatite auto-immune de type 2, et l'hépatite être exacerbée par ce traitement. Comme plusieurs épitopes du cytochrome P450 2D6 peuvent être reconnus par ces anticorps, seule la présence d'anticorps contre l'épitope 250-269 (préférentiellement reconnu dans les hépatites auto-immunes de

type 2) permettrait d'identifier les patients à risque, ce qui n'est pas possible en routine. La présence d'anticorps anti-LKM1 dans l'infection à virus C et d'anti-LKM3 dans l'hépatite à virus D montre que différents virus hépatotropiques sont capables d'induire des anticorps spécifiques non détectés dans d'autres infections virales.

- Un nouvel épitope conformationnel sur CYP2D6 est décrit par P. Obermayer-Straub qui semble être l'épitope majeur reconnu par les auto-anticorps anti-LKM1 autant dans les hépatites auto-immunes de type 2 que dans les hépatites C. Cet épitope (321-379) conformationnel semble homologue à plusieurs épitopes détectés par des auto-anticorps dirigés contre d'autres cytochromes P450 dans des hépatites induites par les médicaments.

- Anti-SLA (soluble liver antigen), -LP (liver pancreas) : plusieurs équipes ont isolé un cDNA codant pour une protéine de 50 ou 35 kd reconnue par les anticorps anti-SLA (*Lancet* 2000, *Clin. Exp. Immunology* 2000, *M. Volkmann Dresden*, octobre 2000). Actuellement, il n'est pas possible de dire si les anticorps anti-SLA reconnaissent une seule protéine ou plutôt plusieurs membres d'un même groupe de protéines, comme l'a démontré par immunoelectrophorèse bidimensionnelle E. Ballot (protéines cellulaires dont la fonction pour l'instant reste inconnue).

- P-ANCA atypiques particuliers (nommés par d'autres NANA) : B. Terjung a présenté son travail, paru dans *J. of Gastroenterology* (août 2000), montrant que la cible des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles donnant un aspect périnucléaire atypique (p-anca atypiques), trouvés chez les patients présentant une cholangite sclérosante primitive, une hépatite auto-immune ou une maladie inflammatoire de l'intestin, réagissent avec une protéine de 50 kd spécifique de l'enveloppe nucléaire des polynucléaires neutrophiles ou des lignées cellulaires myéloïdes.

Auto-immunité dans les maladies gastro-intestinales

Maladies inflammatoires de l'intestin

Aucun des nombreux anticorps décrits dans la maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH) ne semble jouer un rôle pathogène. Trois auto-anticorps peuvent apporter une aide au diagnostic quand leur recherche est associée.

a) Les p-anca (p-anca atypiques) : mais problème, car il existe d'énormes différences dans les fréquences données par les différentes équipes dans les RCH (de 0 à 88 %) et dans les MC (de 0 à 43 %) expliquées par des différences génétiques, mais surtout par des différences dans les techniques de détection (Sandborn, *Gastroenterology* 2000, 118 ; A 696).

S'il a été montré en 1998, que l'antigène reconnu par ces anticorps avait une réactivité croisée avec des antigènes bactériens (Seibold, 1998), il semble que ces p-anca atypiques reconnaissent une protéine de l'enveloppe nucléaire des cellules myéloïdes (voir plus haut).

b) Les anticorps anti-saccharomyces (ASCA) semblent être détectés essentiellement dans les MC, une meilleure discrimination avec la RCH n'étant obtenue qu'avec deux souches de saccharomyces cerevisiae.

c) Les anticorps anti-pancréas (antigène localisé dans les sécrétions pancréatiques) semblent hautement spécifiques de la MC, mais la fréquence de détection est faible (30 %). Au total, c'est l'association de la détection de ces trois anticorps qui peut être une aide au diagnostic différentiel : la présence d'ASCA, d'anti-pancréas et l'absence de p-anca est en faveur d'une MC et la présence de p-anca sans ASCA et sans anti-pancréas est en faveur d'une RCH. La recherche de ces anticorps doit être faite avant toute chirurgie.

Détection des ASCA par différents coffrets ELISA présentée par Wermeire : les pourcentages de positivité varient de 41 à 76 % selon les essais (les différences venant notamment des valeurs des cut off). Ce travail montre encore le problème qui se pose à tous les biologistes dans le choix d'un coffret et la nécessité de standardisation.

La maladie coeliaque

- Plusieurs affiches sur l'utilisation de la transglutaminase tissulaire recombinante (tTG) humaine pour la détection des anticorps anti-tTG.

- Importance de la mise en présence avec de la gliadine pour augmenter la sensibilité et la formation de néoépitope de tTG (Vigneron, Maasen).

À la question que tout le monde se pose concernant les tests sérologiques à effectuer pour le diagnostic de la maladie coeliaque : Henker répond que, si l'on veut 100 % de spécificité et de sensibilité, il faut à la fois rechercher les anticorps anti-endomysium et les IgA anti-gliadine.

Auto-immunité dans les maladies neurologiques et les syndromes paranéoplasiques

Neuropathies auto-immunes

De la revue complète présentée par A.J. Steck :

- la présence d'anti-Hu ou d'anti-MAG a une valeur diagnostique importante. La recherche d'anti-GM1 et d'anti-GM2 n'a pas un intérêt de routine pour le diagnostic du syndrome de Guillain-Barré, mais la recherche d'anti-GM1 est importante lors d'une suspicion de neuropathie neuromotrice multifocale ;

- la présence d'une activité anti-MAG d'une IgM monoclonale a un effet prédictif sur le risque d'apparition d'une neuropathie ;

- le concept de mimétisme moléculaire comme mécanisme pathologique peut être supposé dans le cas de syndrome de Guillain-Barré survenant après une infection à *Campylobacter jejuni* avec anticorps anti-GM1 : le LPS de certaines souches de *C. jejuni* a une structure identique au ganglioside GM1. La neuropathie est dans ce cas sévère (Yuki : *Ann. Neurol.* 2000, 47 : 314-21).

Les syndromes paranéoplasiques neurologiques

- J. Dalmau, dans une revue détaillée des anticorps, des antigènes et des mécanismes immunologiques, a rappelé l'implication clinique importante de la détection de ces anticorps pour rechercher le cancer dont seul le traitement peut agir sur la maladie neurologique. L'immunofluorescence indirecte (cerveau de rat) est une technique adéquate et assez sensible pour le dépistage de la majorité des anticorps sauf pour les anti-Ma, mais l'identification en immunoblot est nécessaire.

- Nouveaux anticorps : Anti-Ta (Voltz, *New Engl. J. Med.* 1999) anti-Ma (Dalmau, *Brain* 1999). Les anti-Ma réagissent avec les protéines Ma1 (37 kD) et Ma2 (40 kD) et les anticorps anti-Ta réagissent seulement avec la protéine Ma2 (40 kD). Voltz a présenté une étude sur 21 patients (de New York, Little Rock et Munich) : les anti-Ta sont fortement prédictifs chez l'homme jeune d'une tumeur de cellules germinales (14/15 ont un cancer du testicule) ; les anti-Ma (typiques et atypiques) sont trouvés chez l'homme et la femme et associés à un cancer du poumon ou du sein.
- Fréquence des autoanticorps anti-neuronaux dans les syndromes neurologiques paranéoplasiques présentée par De Leeuw : en Hollande, sur une période de 10 ans et plus de 3 000 sérums testés en immunofluorescence indirecte (positif si titre > 1/400) et identifiés en Western Blot, la fréquence des anti-Hu est de 2,8 % (83 sérums), anti-Yo de 0,4%, anti-Ri de 0,1 %, anti-amphiphysine de 0,2 %. 77 % des anti-HuD sont associés à un cancer du poumon. L'association anti-Hu et anti-amphiphysine est toujours en rapport avec la présence d'un cancer du poumon, les anti-amphiphysine seuls étant associés à un cancer du sein.

Auto-immunité et maladies de la peau

Concepts pathogéniques

- 1) la pelade (Meurer) : serait une maladie auto-immune avec réponse cellulaire (arguments expérimentaux pour un rôle de cellules T cytotoxiques spécifiques de follicule pileux) ; la présence d'anticorps anti-follicules est moins spécifique de la maladie.
- 2) vitiligo : les données actuelles montrent un rôle important joué par des lymphocytes T spécifiques de mélanocytes dans le développement de la maladie ; il doit encore être montré que les anticorps anti-mélanocytes détectés jouent un rôle pathogénique.
- 3) psoriasis : est-ce une maladie auto-immune ? Prinz a proposé une hypothèse pathogénique : maladie auto-immune induite par un mimétisme moléculaire dans laquelle interviendrait une sous-population de lymphocytes T spécifiques de peptides de protéine M streptococcique (les angines à streptocoque bêta hémolytique seraient le déclencheur principal des manifestations cutanées) ; il a été montré des homologies de séquences d'acides aminés de ces protéines streptococciques avec des protéines de kératinocytes.

Maladies bulleuses

- Dans les pemphigoïdes bulleuses, le taux des anticorps anti-BP 180 détectés par la technique ELISA (BP 180 NC16A recombinante) corrèle avec l'activité de la maladie et non le taux des anticorps anti-membrane basale détectés par immunofluorescence indirecte (à la fois anticorps anti-BP 180 et -BP 230) (Schmidt, *Arch. Dermatol.* 2000).
- Pemphigus : nouveaux modèles animaux utilisant des souris SCID greffées avec des peaux humaines.

Aspects méthodologiques et stratégies diagnostiques

Ce sujet était important puisque nous nous posons toujours des questions sur les stratégies à adopter et les tests à utiliser.

Nouveaux développements dans la détection des auto-anticorps

Le Pr. R.-L. Humbel nous a proposé une excellente revue

des tests commerciaux disponibles pour la détection des auto-anticorps et des résultats obtenus en insistant sur l'intérêt de l'utilisation des immunodots (mais il est difficile de quantifier par ce test). Malheureusement de nombreux tests ne sont pas encore disponibles en France.

- Anticorps anti-nucléaires : des tests ELISA existent pour détecter les anti-gp210, -np58, -sp100, nucléosomes. Se méfier de la réactivité croisée d'épitopes sur les protéines Sm BB' et les protéines RNP A et C pour la détection des anticorps anti-Sm en présence d'anti-nRNP. Seuls les anti-SmD sont les plus spécifiques. Cependant, le SmD1 recombinant et les peptides synthétiques correspondants sembleraient ne pas réagir tous avec les anticorps anti-Sm. Un peptide synthétique de SmD1 diméthylé au niveau des arginines C terminales semblerait avoir une très bonne sensibilité à la fois en ELISA et en immunodot.
- ANCA : les anti-PR3 réagissant essentiellement avec des épitopes conformationnels de la protéinase 3, il semblerait qu'il n'y a pas actuellement de test valable utilisant de la protéinase 3 recombinante pour détecter ces auto-anticorps. La présentation de trois kits différents pour détecter les anti-PR3 et les anti-MPO et les autres spécificités décrites parmi les ANCA a montré l'énorme disparité entre les coffrets commerciaux.
- Anticorps anti-F-actine : des dots utilisant de la F-actine (polymérisée) ont été présentés. Ces dots semblent montrer une bonne spécificité pour ces anticorps.
- Anticorps anti-glutamate décarboxylase (anti-GAD) : jusqu'à présent les tests ELISA n'étaient pas valables pour détecter les anti-GAD dans le diabète insulino-dépendant (anticorps dirigés contre des épitopes conformationnels). Un coffret ELISA basé sur un nouveau principe aurait la même sensibilité que les techniques de radioimmunologie (ELISA DIAPLETS Roche Diagnostic).
- Maladies neurologiques : un immunodot (Blot Milenia, DPC Biermann) a été présenté permettant de détecter les anti-Hu, anti-Yo, anti-Ri, anti-amphiphysine en utilisant des protéines recombinantes correspondantes.

Anti-nucléosomes

(S. Koutouzov) Ils apparaissent avant les anti-dsDNA dans les lupus, sont présents dans les lupus actifs et inactifs, corréler mieux avec l'atteinte rénale que les anticorps anti-dsDNA (surtout les IgG3 anti-nucléosomes). Le problème concerne leur présence dans d'autres connectivites (dans 40 à 60 % des sclérodermies et 16 à 55 % des connectivites mixtes), mais leur taux est peu élevé et ce ne sont pas des IgG3. D'autres pathologies auto-immunes (non connectivites ou vascularites) doivent être testées pour connaître la spécificité précise de ces anticorps. A la question "Faut-il remplacer la recherche des anti-dsDNA par celle des anti-nucléosomes ?" S. Koutouzov répond non, et qu'il est indispensable d'effectuer les deux recherches. Si on n'effectue que la recherche des anti-nucléosomes on ne sait pas si on détecte les anti-dsDNA seuls ou les anti-nucléosomes spécifiques. Il ne semble pas que la présence d'histone H1 dans l'antigène change la réactivité anti-nucléosomes.

- Le "6th Dresden Symposium on Autoantibodies" aura lieu du 4 au 7 septembre 2002. Le programme n'est pas précisé mais nous espérons qu'il sera tout aussi instructif et permettra à nouveau de nombreux échanges scientifiques et techniques entre les participants.

15 membres du GEAI

Association GEAI
CHU Hôpital Larrey
Laboratoire d'Immunologie et d'Immunopathologie
49033 ANGERS Cedex 01

René-Louis HUMBEL

Président du GEAI
CH Luxembourg
Laboratoire Biochimie et Immunopathologie
4, rue Barblé - L-1210 LUXEMBOURG
Luxembourg
Tél. : 00 352 44 11 21 78 - Fax : 00 352 45 77 94
E.mail : humbel.rl@chl.lu

Chantal ANDRÉ

CHU Henri Mondor
Service d'Immunologie Biologique
51, av. du Mal de Lattre de Tassigny - 94010 CRÉTEIL
Tél. : 01 49 81 28 86 ou 01 49 81 22 98 (sec)
Fax : 01 49 81 28 97
E.mail : chantal.andre@hmn.ap-hop-paris.fr

Alain CHEVAILLER

Trésorier du GEAI
CHU Hôpital Larrey
Laboratoire d'Immunologie et d'Immunopathologie
49033 ANGERS Cedex 01
Tél. : 02 41 35 47 89 ou 02 41 35 35 77
Fax : 02 41 35 47 83
E.mail : alchevailler@chu-angers.fr

Pascale CHRÉTIEN

CHI
Service Hématologie et Immunologie
49, avenue de Verdun - 94000 CRÉTEIL Cedex
Tél. : 01 45 17 53 88 ou 01 45 17 53 33 (sec)
Fax : 01 45 17 53 49
E.mail : pascale.chretien@chicreteil.fr

Andrée ESCANDE

CHU Saint Eloi
Laboratoire d'Immunologie
Avenue Bertin Sens - 34295 MONTPELLIER Cedex
Tél. : 04 67 33 71 35 - Fax : 04 67 33 71 29
E.mail : a-escande@chu-montpellier.fr

Florence GARNAUD

Secrétaire adjointe du GEAI
BIO-RAD
3, bd R. Poincaré - 92430 MARNES LA COQUETTE
Tél. : 01 47 95 61 44 - Fax : 01 47 95 62 76
E.mail : florence.garnaud@bio-rad.com

Joëlle GOETZ

CHU Hautepierre
Laboratoire d'Immunologie
Avenue Molière - 67098 STRASBOURG Cedex
Tél. : 03 88 12 75 26 - Fax : 03 88 12 81 34
E.mail : joelle.goetz@chru-strasbourg.fr

Catherine JOHANET

CHU Saint Antoine
Laboratoire Central d'Immunologie
184, faubourg St-Antoine - 75571 PARIS Cedex 12
Tél. : 01 49 28 20 11 - Fax : 01 49 28 22 92
E.mail : catherine.johanet@sat.ap-hop-paris.fr

Bruno LARIDA

Secrétaire du GEAI
BIO-RAD
3, bd R. Poincaré - 92430 MARNES LA COQUETTE
Tél. : 01 47 95 62 56 - Fax : 01 47 95 62 20
E.mail : bruno_larida@bio-rad.com

Jean-Claude MONIER

20, rue de l'Oratoire - 69300 CALUIRE
Tél. et fax : 04 78 29 66 86 (personnel)
ou 04 78 86 66 81 (hôpital)
Fax : 04 78 87 26 17 (école vétérinaire)
E.mail : jc.monier@libertysurf.fr

Françoise OKSMAN

Hôpital Rangueil
Avenue Jean Paulhes - 31403 TOULOUSE Cedex 4
Tél. : 05 61 32 34 25 (direct) ou 05 61 77 90 61 (sec)
Fax : 05 61 32 34 30
E.mail : oksman.f@chu-toulouse.fr

Nils Olivier OLSSON

Hôpital du Bocage
Laboratoire d'Immunologie
2, bd du M. de Lattre de Tassigny - BP 1542 - 21034 DIJON Cedex
Tél. : 03 80 29 33 72 ou 03 80 29 32 26 (labo)
ou 03 80 29 30 31 (standard)
Fax : 03 80 29 37 87
E.mail : nils.olsson@chu-dijon.fr

Marielle SAN MARCO

Hôpital de la Conception - Pavillon Cornil
Laboratoire d'Immunologie
147, boulevard Baille - 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tél. : 04 91 38 39 70 ou 04 91 38 39 08 ou 39 07 (sec)
Fax : 04 91 38 36 33
E.mail : msanmarco@mail.ap-hm.fr

Jean SIBILIA

CHU Hautepierre
Service Rhumatologie
67098 STRASBOURG
Tél. : 03 88 12 79 53 ou 03 88 12 79 55
Fax : 03 88 12 81 50
E.mail : jean.sibilia@wanadoo.fr

Marie-France TAILLEFER

Laboratoire BIOCENTRE
9, rue d'Hespel
59910 BONDUES
Tél. : 03 20 23 23 52 - Fax : 03 20 23 23 52
E.mail : mftaillefer@nordnet.fr

CALENDRIER DES MANIFESTATIONS EN AUTO-IMMUNITÉ

• **3^e INTERNATIONAL CONFERENCE ON SEX HORMONES, PREGNANCY, AND THE RHEUMATIC DISEASES**
Nov. 8-10, 2001, Park City, Utah, USA

• **ACR**
Nov. 11-15, 2001, San Francisco, California, USA

• **3^e INTERNATIONAL CONGRESS ON AUTOIMMUNITY**
Feb. 20-24, 2002, Geneva, Switzerland

• **1st TUTZING ANTIPHOSPHOLIPID CONFERENCE**
April 22-25, 2002, Tutzing, Germany

• **2^e COLLOQUE GEAI 2002 AUTO-ANTICORPS : ACTUALITÉS**
Vendredi 22 mars 2002, Institut Pasteur, Paris, France

• **10th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CELIAC DISEASE**
June 2-5, 2002, Paris, France

• **6th DRESDEN SYMPOSIUM ON AUTOANTIBODIES**
September 4-7, 2002, Dresden, Germany

• **10th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES**
September 2002

• **CLUB AUTO-IMMUNITÉ DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'IMMUNOLOGIE**
2002, Paris, France

• **10th INTERNATIONAL CONGRESS ON ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES**
29 septembre-3 octobre 2002, Taormine, Italie



Parution bisannuelle

RÉDACTEUR EN CHEF : Jean-Claude MONIER - **ÉQUIPE DE RÉDACTION :** Chantal ANDRÉ, Alain CHEVAILLER, Pascale CHRÉTIEN, Andrée ESCANDE, Joëlle GOETZ, René-Louis HUMBEL, Catherine JOHANET, Françoise OKSMAN, Nils Olivier OLSSON, Marielle SAN MARCO, Jean SIBILIA, Marie-France TAILLEFER

BIO-RAD, 3 bd R. Poincaré 92430 Marnes-la-Coquette
Directeur de publication : Bruno LARIDA
Secrétariat du GEAI : tél : 01 47 95 62 56 - fax : 01 47 95 62 20
Email : benedicte_guyot@bio-rad.com
Conception et réalisation GRAPHIC WAY : 01 58 04 90 90

BIO-RAD