

AUTOIMMUNITE EN PATHOLOGIE HUMAINE

VALEUR DIAGNOSTIQUE DES AUTOANTICORPS

Dr Hend HACHICHA

Dr Hatem MASMOUDI

I- INTRODUCTION:

Diverses affections sont dues ou sont associées à des auto-anticorps (Ac) dont la valeur diagnostique n'est plus à démontrer.

Les auto-Ac peuvent être directement responsables des lésions observées (ex : auto-Ac anti-globules rouges dans les anémies hémolytiques auto-immunes) ou être simplement associés à la maladie sans jouer un rôle évident dans sa pathogénie; les lésions tissulaires observées dans ce cas seraient la conséquence d'autres mécanismes faisant intervenir l'immunité à médiation cellulaire (ex : auto-Ac anti-thyroglobuline dans la thyroïdite de Hashimoto).

II- AUTO-ANTICORPS AU COURS DES CONNECTIVITES :

1) Anticorps antinucléaires (AAN) :

a) AAN globaux :

- Détection des AAN (technique d'immunofluorescence indirecte (IFI))

La technique de référence pour la mise en évidence des AAN est l'IFI sur coupe de foie de rat ou mieux sur frottis de cellules d'une lignée tumorales humaines provenant d'un carcinome laryngé appelées cellules HEp-2 qui constitue désormais le substrat de choix pour la recherche des AAN. Ces frottis sont composés de cellules à grand noyau à différentes phases du développement cellulaire offrant ainsi une meilleure détection des AAN. La positivité du test indique la présence d'Ac dirigés contre un ou plusieurs antigènes (Ag) nucléaires que l'on pourra ensuite caractériser par d'autres techniques.

- Un résultat positif comporte le titre (qui est l'inverse de la dernière dilution positive) et l'aspect (homogène, moucheté, nucléolaire...)

- Le seuil de positivité est de 1/80 chez l'adulte et à 1/40 chez l'enfant.

-Avantages de l'IFI :

- Technique très sensible (sauf pour l'Ac anti-SSA ; mais il existe actuellement des cellules HEp-2000 transfectées par le gène codant la protéine SSA)
- Permet la détection de très nombreux auto-Ac en même temps
- Le substrat contient l'Ag dans sa conformation naturelle (meilleure spécificité pour l'auto-Ac)

-Inconvénients

- Peu spécifique (pour le diagnostic)
- Résultat opérateur dépendant et subjectif
- Un aspect peut en masquer un autre

-valeur diagnostique des AAN :

- **Bonne sensibilité** : positifs et à titre élevé dans la quasi-totalité des connectivites avec une fréquence variable (presque 100 % dans le lupus érythémateux systémique ou LES).

L'aspect est évocateur mais non caractéristique du type de connectivite ; par ex : les aspects homogène et à renforcement périphérique se voient surtout dans le LES, l'aspect moucheté dans la connectivite mixte, le syndrome de Gougerot-Sjogren (SGS) ou syndrome ses systémique, la sclérodermie et le LES, l'aspect nucléolaire dans la sclérodermie, la dermato-polymyosite et le LES. Dans la polyarthrite rhumatoïde (PR), les AAN sont positifs dans 25 à 75 % des cas, l'aspect est généralement homogène ou moucheté

- **Mauvaise spécificité** : 10 à 15 % des sujets adultes apparemment sains ont des AAN à la dilution 1/80 et 5 % à 1/160, et cette fréquence augmente avec l'âge, principalement chez les femmes après 60 ans.

Les AAN sont aussi positifs, avec une fréquence non négligeable et souvent à des titres élevés, dans de nombreuses autres affections (fibroses pulmonaires, leucémies lymphoïdes et lymphosarcomes, hépatites chroniques...), positifs à titre faible chez un certain pourcentage de sujets normaux surtout âgés

- Les AAN sont positifs dans 60 % des cas d'hépatite auto-immune de type I ou hépatite lupoïde, l'aspect étant habituellement homogène

- La cirrhose biliaire primitive (CBP) s'accompagne dans 25 à 50 % des cas d'Ac

anti-membrane nucléaire qui donnent un aspect cerclé autour du noyau.

- Attention : un aspect homogène peut masquer un aspect moucheté ou nucléolé
- Le principal intérêt diagnostique des AAN est de pouvoir éliminer un LES devant un test négatif (surtout sur cellules HEp-2) et de poursuivre les examens devant un test positif par la recherche d'Ac anti-ADN natif (double brin) et anti-Ag nucléaires solubles extractibles en milieu salin (anti-ENA pour "extractible nuclear antigens").

b- Identification :

Plusieurs techniques sont disponibles (immunoprécipitation, immunofluorescence, ELISA, immunodot...). Le type de fluorescence permet au médecin biologiste d'anticiper les techniques à utiliser pour déterminer les cibles antigéniques des AAN détectés par IFI.

Les techniques les plus utilisées sont l'ELISA et l'immunodot pour lesquels les Ag sont fixés sur un support en plastique ou en nitrocellulose. La fixation de l'auto-Ac sera révélée par la suite par une réaction enzymatique.

Les résultats sont dépendants de la qualité de l'Ag fixé (pureté, configuration moléculaire, structure, stabilité) et de l'adsorption sur le support. Ces techniques permettent de déterminer la spécificité des AAN.

Ac anti-ADN natif :

- Recherchés par IFI sur "*Chrithidia Lucialae*", par des techniques immuno-enzymatiques de type ELISA ou immunodot, ou par une méthode radio-immunologique en tube avec précipitation au sulfate d'ammonium (test de Far)

- Positifs dans 60 à 70 % des cas de LES dont ils constituent un bon marqueur diagnostique surtout quand leur titre est élevé

- Permettent de suivre l'évolutivité de la maladie lupique mieux que les AAN globaux. La technique Elisa qui donne des résultats quantitatifs permet le suivi des patients lupiques.

Ac anti-histones :

- Décelés par immuno-enzymologie ou par immunodot

- Retrouvés avec une fréquence élevée dans le LES, la PR, la CBP et l'hépatite lupoïde, mais leur intérêt majeur est qu'ils sont présents dans la quasi-totalité des cas de lupus induit où ils sont généralement associés à des Ac anti-ADN dénaturé (simple brin).

Ac anti-nucléosomes :

- Sont détectés par immunodot ou immuno-enzymologie dès les phases précoces du LES : c'est un Ac très sensible et très spécifique du LES.

Ac anti-antigènes nucléaires solubles ou extractibles (anti ENA) :

- Ce sont des Ac dirigés contre des ribonucléo-protéines présentes dans le noyau et, pour certaines, dans le cytoplasme aussi

- Leur recherche se faisait par double immuno-diffusion d'Ouchterlony entre le sérum du malade et un extrait de cellules thymiques de lapin (d'où le nom d'anti-ECT)

- En IFI, ils donnent généralement un aspect moucheté

- Leur typage se fait essentiellement en immunodot, technique qui permet d'améliorer la sensibilité et de révéler les bandes caractéristiques de chacun des quatre principaux Ag : Sm, RNP, Ro/SSA et La/SSB, ou aussi avec des techniques immuno-enzymatiques qui permettent un dosage quantitatif.

L'anti-Sm est spécifique du LES mais n'est retrouvé que dans 30 % des cas seulement

L'anti-RNP présent seul et à titre élevé est le marqueur diagnostique caractéristique de la connectivite mixte (ou syndrome de Sharp), cependant il n'est pas spécifique de cette affection puisqu'il est retrouvé dans 20 à 40 % des cas de LES (où il est souvent associé à d'autres spécificités) et exceptionnellement dans le syndrome de Gougerot-Sjogren (SGS) et la sclérodémie systémique

L'anti-SSA est présent dans 60 à 70 % des cas de SGS mais aussi dans 30 à 40 % des cas de LES et dans certains cas de PR. Il est directement associé au bloc auriculo-ventriculaire congénital dans le lupus néonatal. L'anti-SSA est fortement associé aux formes cutanées du lupus. En outre, il rend compte des rares cas de LES avec AAN négatifs (la concentration de l'Ag SSA dans le noyau étant très faible)

L'anti-SSB est présent dans 40 à 60 % des cas de SGS et 15 % des cas de LES.

Autres Ac anti-nucléaires :

L'anti-centromère donne en IFI sur cellules HEp-2 un aspect moucheté avec 46 points égaux qui se placent sur la plaque équatoriale dans les cellules en division. Il est retrouvé dans 70 à 90 % des cas de sclérodémie limitée ou distale encore appelée

CREST-syndrome (calcinose, syndrome de Raynaud, œsophagite, sclérodactylie, tégangiectasie). L'anti-centromère est spécifique du CREST-syndrome

L'anti-Scl70 donne une fluorescence d'aspect moucheté ou nucléolaire. Il est mis en évidence par immunoblot où il donne une bande de 70 kDa ou par immunoenzymologie. Dirigé contre un fragment de dégradation de la topoisomérase 1, l'anti-Scl70 est retrouvé dans 70 % des cas de sclérodermie diffuse ou systémique.

L'anti-PM-Scl est retrouvé dans 3 % des cas de sclérodermie et 8% des cas de dermato-polymyosite. Il donne un aspect nucléolaire en IFI.

Les anti-synthétases (anti-J01, anti-PL12, anti-PL7, anti-SRP, anti-MAD5...) sont caractéristiques des dermato-polymyosites avec atteinte pulmonaire. La présence de l'Ac anti TIF1- γ (Transcriptional intermediary factor 1- γ) est prédictive de survenue de cancer chez ces patients.

Les anti GP210 et anti Sp100 : sont 2 Ac détectés par IFI donnant un aspect cerclé du noyau sans fluorescence nucléaire pour le premier et de grains nucléaires ("nuclear dot") pour le second, la confirmation de leur présence se fait par ELISA ou immunodot. Leur présence est évocatrice de cirrhose biliaire primitive (CBP) et constitue un marqueur de mauvais pronostic.

2) Facteurs rhumatoïdes (FR) :

- Ce sont des auto-Ac anti-IgG qui se lient avec une affinité généralement faible au fragment Fc des IgG humaines et celles des autres mammifères.

- En règle générale, ce sont des Ac de classe IgM, quoique des FR de classe IgG et IgA existent.

- Leur mise en évidence se fait par les deux techniques classiques du latex et de Waaler-Rose ou mieux par néphélobimétrie qui est actuellement la technique recommandée permettant de donner un résultat quantitatif. Les techniques ELISA sont aussi utilisées pour la mise en évidence et le dosage des FR, elles permettent d'identifier et de quantifier séparément les FR de chaque isotype (IgM, IgG ou IgA).

- Le FR est présent dans 85 % des cas de PR, mais il n'est pas spécifique de cette affection puisque, d'une part, 15 % au moins des PR n'ont pas de FR et de ce fait sont dites séronégatives, d'autre part, le FR est présent dans la quasi-totalité (90 à 100 %) des cas de SGS et avec une fréquence non négligeable dans d'autres connectivites (LES,

sclérodémie, PAN...) et diverses affections inflammatoires chroniques (hépatites chroniques, lymphosarcomes, tuberculose, maladie d'Osler).

3) Les anticorps anti-CCP ("cyclic citrullinated peptide") :

Les anti-CCP sont très spécifiques de la PR, on les détecte dans les phases précoces de la PR où les FR sont souvent négatifs. Leur taux est associé à la sévérité de la maladie. Ils sont recherchés et dosés par des techniques ELISA.

III-AUTOANTICORPS AU COURS DES AFFECTIONS HEPATIQUES ANTICORPS ANTICYTOPLASMIQUES

Ce sont des Ac non spécifiques d'organe dirigés contre des organites intracytoplasmiques et rencontrés surtout au cours des affections hépatiques.

1) Ac anti-mitochondries :

- Recherchés par IFI sur coupe de rein – foie – estomac de rat.
- L'immunoblot permet de reconnaître différents types d'Ac anti-mitochondries : anti-M1, anti M2.....anti M9
- L'anti-M2 est le meilleur marqueur de la cirrhose biliaire primitive (CBP) (positif dans 96 % des cas et avec une bonne spécificité), l'Ag cible correspond au complexe de la pyruvate déshydrogénase (PDH), les auto-Ac spécifiques peuvent actuellement être recherchés par des techniques immuno-enzymatiques.
- Au cours de la CBP, ils peuvent être présents seuls ou associés aux anti- GP210 et/ou anti-Sp100.
- En plus de la CBP, les anti-mitochondries sont rencontrés au cours de la syphilis, de la myocardite primitive et de certaines hépatites médicamenteuses.

2) Ac anti-muscle lisse :

- Décelés par IFI sur coupe de rein – foie – estomac de rat (triple substrat)
- L'IFI sur frottis de cellules HEp-2 ou mieux de fibroblastes mis en culture en présence de colchicine permet de les typer en anti-actine et anti-vimentine
- Les Ac anti-actine sont retrouvés à des titres élevés (supérieurs au 1/100) surtout au cours de l'hépatite auto-immune de type I ou hépatite lupoïde mais aussi au cours de certaines hépatites médicamenteuses imitant l'hépatite lupoïde (clométacine = dupéran, fénofibrate = lipanthyl, α méthyl dopa = aldomet)
- Les Ac anti-vimentine se rencontrent au cours de l'hépatite virale B.

3) Ac anti-réticulum endoplasmique = Ac anti-microsome de foie et de rein (anti-LKM) :

- Les anti-LKM1 ("*liver-kidney microsome*") sont caractéristiques de l'hépatite auto-immune de type II, leur détection se fait par IFI ; en cas de positivité par IFI une confirmation par immunodot est nécessaire.

- Les anti-LC1 ("*liver cytosol*") sont eux aussi caractéristiques de l'hépatite auto-immune de type II, leur présence peut être camouflée par les anti-LKM en IFI; c'est pourquoi une IFI positive doit être suivie par une identification par immunodot, et ce, quel que soit l'aspect de la fluorescence.

- Les anti-SLA ("*specific liver antibodies*") sont parfois les seuls Ac présents chez les patients atteints d'hépatites auto-immunes de type I ou II ; ils sont de mauvais pronostic. Leur détection est impossible par IFI. La recherche des anti-SLA par immunodot est indiquée en cas de forte suspicion d'hépatite auto-immune, même lorsque l'IFI est négative.

IV- AUTO-ANTICORPS SPECIFIQUES D'ORGANES :

1) Ac anti-microsome thyroïdien :

- Décelés par IFI sur coupe de thyroïde humaine, par hémagglutination passive ou par immuno-enzymologie (Ac anti-TPO), l'Ag cible correspond à la "*thyroid-peroxydase*" ou TPO.

- Retrouvés à des titres colossaux dans la quasi-totalité des cas de thyroïdite de Hashimoto et à des titres élevés dans la grande majorité des cas de myxœdème primitif

- Observés avec une fréquence assez élevée au cours de la maladie de Basedow et plus rarement au cours de certains goitres.

2) Ac anti-thyroglobuline :

- Recherchés avec les mêmes techniques que les anti-microsomes.

- La valeur diagnostique et l'intérêt évolutif sont comparables à ceux des Ac anti-microsome thyroïdien avec une fréquence plus faible dans le myxœdème et la maladie de Basedow

- Le cancer thyroïdien et les thyroïdites, autres que la thyroïdite de Hashimoto, donnent exceptionnellement les deux Ac à la fois chez le même patient.

3) Les Ac stimulant la fonction thyroïdienne :

- Encore appelés "*long acting thyroid stimulator*" (LATS) ou Ac anti-récepteur de la TSH (anti TSH-R)

- Leur dosage est maintenant possible par des techniques ELISA

- Ces Ac sont spécifiques de la maladie de Basedow où ils sont retrouvés dans 75 % des cas au moins.

4) Ac anti-cellules β des ilots de Langerhans du pancréas (ICA) :

- Recherchés par IFI sur coupe de pancréas endocrine humain ou de singe

- Observés au cours du diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète type 1 où, de 85% des cas au cours de la 1ère année, ils ne sont plus présents que dans 15 % des cas après 5 ans d'évolution

- Représentent un bon marqueur sérologique du DID permettant dans une enquête familiale d'identifier les sujets susceptibles de développer la maladie (ont des Ac de titre élevé et fixant le complément).

En plus des ICA, d'autres auto-Ac sont présents au cours du DID. Les plus importants sont les anti-GAD ("glutamic acide decarboxylase") et les anti-IA2 détectés par des techniques ELISA et les Ac anti-insuline dont le dosage n'est possible que par RIA.

5) Ac anti-récepteur de l'acétylcholine (Ach-R) :

- Mis en évidence par des techniques de dosage radio-immunologique (RIA) dans des laboratoires spécialisés et maintenant aussi par ELISA.

- Sont spécifiques de la myasthénie : présents dans 70 % des cas de myasthénie grave de l'adulte mais absents dans les formes congénitales et strictement oculaires de la maladie

- Le titre d'Ac ne reflète pas nécessairement la gravité de la maladie

6) Ac anti-érythrocytes :

- Le test de Coombs direct reste l'examen essentiel pour le diagnostic des anémies hémolytiques auto-immunes (AHA)

- Le test de Coombs direct avec anti-globulines anti-IgG et anti-C3 est positif dans 99 % des AHA mais aussi dans les anémies hémolytiques immuno-allergiques (α -méthyl-dopa, pénicilline, phénacétine ...)

7) Les Ac anti-cytoplasme des PNN (anti-CPN ou ANCA)

Ces Ac sont caractéristiques de certaines vascularites telles que la granulomatose de Wegner (c-ANCA \Leftrightarrow anti-protéinase3 = anti-PR3) et la micro-angiopathie (p-ANCA \Leftrightarrow anti-myéloperoxydase = anti-MPO). D'autres types d'ANCA (appelés NANA) sont présents dans les maladies inflammatoires chroniques des intestins (MICI) et surtout dans la rectocolite hémorragique (RCH). Le dépistage des ANCA se fait par IFI et le typage (anti PR3/MPO ...) par ELISA ou immunodot.

8) Autres Ac :

- Ac anti-facteur intrinsèque gastrique dans l'anémie de Biermer
- Ac anti-surrénale dans certains cas de maladie d'Addison
- Ac anti-parathyroïde dans certaines hypo-parathyroïdies primitives
- Ac anti-substance intercellulaire des épithéliums stratifiés kératinisés dans le pemphigus
- Ac anti-membrane basale des épithéliums stratifiés (malpighiens et para-malpighiens) dans la pemphigoïde bulleuse
- Ac anti-membrane basale glomérulaire dans le syndrome de Goodpasture
- Ac anti-transglutaminase de type IgA et anti-endomysium de type IgA dans la maladie cœliaque et la dermatite herpétiforme. Les Ac anti-gliadine déamidée de type IgG sont préconisés en cas de forte suspicion de la maladie avec un déficit en IgA ou un âge <2 ans où ces IgG anti gliadine déamidée sont plus sensibles.
- Ac anti-coagulants circulants, Ac anti-cardiolipine, Ac anti- β_2 GP1 et autres Ac anti-phospholipides pour le diagnostic du syndrome des anti-phospholipides (SAPL)
- Ac anti-plaquettes dans les purpuras thrombopéniques idiopathiques...
- Ac anti-Hu et anti-Yo dans les syndromes paranéoplasiques
- Ac anti-myéline et anti-sphingolipides dans les syndromes neurogènes périphériques.