

LES ANTICORPS ANTI-ADN NE SONT PLUS CE QU'ILS ÉTAIENT !...

L'APPORT DES NOUVELLES TECHNIQUES DE DÉPISTAGE AU DIAGNOSTIC DU LUPUS ÉRYTHÉMATEUX DISSÉMINÉ

Sabine Croquefer^a, Paul Guéguen^a, Yves Renaudineau^a, Sandrine Jousse^b, Éric Renaudineau^d, Boutahar Bendaoud^a, Catherine Hanrotel^c, Valérie Devauchelle^b, Pierre Youinou^{a,*}

Résumé

Le diagnostic de lupus érythémateux disséminé repose sur un faisceau de signes cliniques et biologiques. Au premier chef, la recherche d'anticorps (Ac) anti-acide désoxyribonucléique (ADN) double brin (db). Plusieurs méthodes sont disponibles, mais elles ne sont pas interchangeables, car chacune d'entre elles ne détecte qu'une population d'Ac. Comparer les résultats obtenus par huit techniques de routine débouche sur cinq conclusions.

(1) L'immunofluorescence indirecte (IFI) sur *Crithidia luciliae* et le test Farrzyme™ sélectionnent les Ac anti-ADN dont l'affinité est la plus forte. (2) La sensibilité de l'enzyme-linked immunosorbent assay et de l'analyse cytofluorimétrique par technologie Luminex™ à l'aide de billes coiffées d'ADN est meilleure que celle de l'IFI sur *C. luciliae*, mais c'est aux dépens de leur spécificité. (3) Ce qui est décisif pour que l'ADN capte efficacement les Ac correspondants, ce n'est pas l'organisme dont il provient, mais la qualité de sa présentation dans le test. (4) La contamination de la préparation d'ADN « double brin » par de l'ADN « simple brin » ou par de l'acide ribonucléique explique que certains Ac d'affinité négligeable soient abusivement retenus et assimilés à des Ac anti-ADN de forte affinité. (5) Un titre élevé d'Ac et une positivité confirmée par plusieurs techniques indiquent que la maladie se trouve dans une phase active.

Anticorps anti-nucléaires - anticorps anti-ADN - lupus érythémateux disséminé - ADN double brin.

Summary: Anti-DNA antibodies are not anymore what they used to be !... Contribution of new screening methods to the diagnosis of systemic lupus erythematosus

*The diagnosis of systemic lupus erythematosus relies on a combination of clinical and biological criteria. Anti-double stranded (ds) desoxyribonucleic acid (DNA) antibodies (Abs) constitute the prevailing hallmark of this disease. Several methods have, therefore, been set for their detection. Meanwhile, evidence has been accumulating that discrete autoAb populations endowed with differing prognostic significances are detected, depending on the assay. From the results of eight tests available for the detection of anti-double stranded (ds)DNA Abs on a routine basis, five conclusions could be drawn. (1) The indirect immunofluorescence test using *Crithidia luciliae* as the substrate and the Farrzyme™ assay select those Abs with the highest affinity for dsDNA. (2) The sensitivity of enzyme-linked immunosorbent assays and the cytofluorimetric analysis (FIDIS™) based on Luminex™ technology is better, compared with the *C. luciliae* assay, whilst the specificity is lower. (3) The way DNA is presented, rather than its source, is influential in the assay. (4) Contamination of the dsDNA preparation with single-stranded DNA and ribonucleic acid (RNA) favors the detection of low-affinity Abs which are assimilated with high-affinity anti-dsDNA Abs. (5) The titer of these Abs and their detection through several techniques reflects activity of the disease.*

Antinuclear antibody - anti-DNA antibody - systemic lupus erythematosus - double stranded DNA.

^a Laboratoire d'immunologie

^b Service de rhumatologie

^c Service de néphrologie
Centre hospitalier universitaire
B.P. 284

29609 Brest cedex

^d Service de néphrologie
Centre hospitalier universitaire
14033 Caen cedex

* Correspondance
youinou@univ-brest.fr

article reçu le 9 août 2005, accepté le 2 juin 2006.

© 2006 - Elsevier Masson SAS - Tous droits réservés.

ABRÉVIATIONS

LED	: lupus érythémateux disséminé
Ac	: anticorps
AAN	: Ac anti-nucléaires
RNP	: ribonucléoprotéines
DNP	: desoxyRNP
ADN	: acide désoxyribonucléique
Ag	: antigène
db	: double brin
sb	: simple brin
IFI	: immunofluorescence indirecte
ELISA	: enzyme linked immunosorbent assay
CFM	: cytofluorométrie
PR	: polyarthrite rhumatoïde
LI	: lupus induit
ARN	: acide ribonucléique

1. Introduction

C'est Hargraves, qui, le premier [5], a repéré sur le myélogramme d'un patient souffrant de lupus érythémateux disséminé (LED) la cellule qui, depuis, porte son nom : un polynucléaire neutrophile ayant englouti le noyau préalablement altéré d'une autre cellule, celui d'un macrophage par exemple. Ce faisant, il inaugurerait un véritable feuilleton. Entre autres péripéties, la découverte, parmi les anticorps (Ac) anti-nucléaires (AAN), de ceux que suscitaient ribonucléoprotéines (RNP) et désoxyRNP (DNP), ainsi que ceux qui se fixaient à l'acide désoxyribonucléique (ADN). C'étaient ceux-là qui avaient tellement dégradé le noyau du macrophage de Hargraves que ses résidus avaient dû être phagocytés par le polynucléaire neutrophile qui passait par là... La piètre spécificité de cette cellule à deux noyaux pour le LED et la fastidiosité de sa recherche permettent de comprendre que la recherche des cellules de Hargraves soit devenue obsolète et que d'innombrables tests aient été mis au point pour détecter les auto-Ac contre les antigènes (Ag) solubles et insolubles qui constituent le noyau (revu in: [17]).

Le critère « présence d'auto-anticorps anti-ADN à un taux élevé » fait partie des critères biologiques retenus pour définir un LED. Cependant, ces critères ont été définis à une époque où seuls les Ac de forte affinité étaient détectés au moyen du test de Farr. Si les tests actuels, « enzyme-linked immunosorbent assay » (ELISA) par exemple, avaient été utilisés, il n'est pas certain que ce paramètre biologique ait été retenu dans les critères de classification.

Suite à la multiplication de nouvelles techniques développées pour étudier les auto-Ac au cours du LED, il nous est apparu important de redéfinir les différentes étapes du diagnostic biologique d'un LED en insistant tout particulièrement sur la recherche des auto-Ac anti-ADN.

2. Auto-anticorps au cours du lupus érythémateux disséminé

2.1. Anticorps anti-nucléaires

L'inventaire des auto-Ac d'un LED débute systématiquement par le dépistage et par le titrage de l'ensemble des AAN. Pour simplissime que paraisse cette technique, plusieurs « contrôles de qualité » n'en ont pas moins enseigné les difficultés [9]. La démarche est complétée par l'identification du maximum des Ag que les AAN que l'on vient de dépister reconnaissent dans le noyau. Quand le malade n'a pas encore été traité, le titre de ses AAN est élevé. En revanche, les authentiques LED « séro-négatifs », les vrais défauts d'AAN... ceux-là sont exceptionnels puisqu'ils représentent moins de 1 % des cas.

La fluorescence oriente vers des Ac anti-Ag nucléaires solubles quand elle est mouchetée, et vers des Ac anti-Ag insolubles quand elle est homogène. L'aspect homogène est traditionnellement rapporté aux Ac anti-ADN, aux Ac anti-histones et/ou aux Ac anti-DNP. Toutefois, l'adéquation entre Ac anti-ADN et fluorescence homogène est imparfaite, car ces Ac peuvent susciter également une fluorescence mouchetée. De plus, une image homogène et une image mouchetée peuvent être superposées. En pratique, il faut traquer les Ac anti-ADN devant la moindre suspicion de LED, chaque fois que les AAN sont positifs, et quel que soit l'aspect de la fluorescence qu'ils ont induite.

2.2. Auto-anticorps anti-ADN

Les Ac anti-ADN forment un groupe tellement hétérogène d'auto-Ac qu'on les classe en trois familles selon la cible qui leur est allouée sur l'ADN. **D'abord**, il y a ceux qui n'admettent comme Ag que l'ADN double brin (db). C'est la forme que prennent ces deux brins quand

ils s'accouplent qui crée des épitopes qui n'existaient pas quand ils étaient séparés l'un de l'autre. Les Ac anti-ADN de cette famille sont exceptionnels, mais on ne les trouve que dans le LED. **Ensuite**, on distingue ceux qui reconnaissent l'ADNdb, mais aussi l'ADN simple brin (sb). Cette fois, l'épitope correspond aux deux enchaînements de phospho-désoxyribose (PDR) embobinés autour de l'axe de la molécule. **Enfin**, il reste ceux qui se fixent exclusivement sur l'ADNsb. Ces Ac visent les bases puriques ou pyrimidiques, qui sont inaccessibles quand les deux brins d'ADN sont soudés l'un à l'autre. Seuls les Ac de la première et de la deuxième famille offrent une certaine spécificité pour le LED. Quant à ceux de la troisième famille, les Ac anti-ADNsb, certes ils pointent dans le LED, mais ils sont loin d'être spécifiques de cette maladie.

De nombreuses techniques ont été proposées pour mettre en évidence de tels Ac. Certaines ont fait long feu parce qu'elles manquaient de sensibilité ou parce que leur spécificité était médiocre. C'est le cas de la recherche des cellules de Hargraves, de l'immunoprécipitation, de la fixation du complément, de l'agglutination de particules, de l'immunodiffusion et de l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur ADN. D'autres ont perduré ; elles appartiennent à deux catégories. D'un côté, on trouve les techniques « en phase liquide », comme le test de Farr dont le principe est basé sur la précipitation des complexes formés par les Ac anti-ADN et l'ADNdb radiomarqué : dans ce cas particulier, l'agent précipitant est le sulfate d'ammonium, mais il y en a d'autres. De l'autre côté, on range les tests « en phase solide » : ils se font sur plaques, comme les ELISA dont l'ADNdb provient d'espèces variées, ou sur cellules, comme l'IFI sur *Criethidia luciliae* où l'ADNdb est celui du kinétoplaste. De nouvelles techniques apparaissent sur le marché, où la fixation de l'Ac à l'Ag présenté par des particules de latex est mesurée par cytofluorométrie (CFM) : le test FIDIS™ (BMD) qui utilise la technologie Luminex par exemple. Par ailleurs, le principe du test de Farr a été appliqué à l'ELISA de manière à ne dépister que les Ac dont l'affinité pour l'ADN est forte, sans recourir aux Ag radiomarqués du test de Farr : le test Farrzyme™ (The Binding Site) par exemple. Le distinguo entre ceux qui, parmi les Ac anti-ADNdb, sont détectés par IFI sur *C. luciliae* et dirigés contre l'ADN natif (n), et les autres Ac anti-ADNdb qui, eux, sont révélés par n'importe quelle technique en phase solide, à la condition que l'Ag soit de l'ADNdb, a été consacré par l'usage.

La disparité des performances de ces techniques et leur multiplicité exagèrent les divergences entre les résultats publiés par plusieurs équipes, puisqu'elles n'utilisent pas obligatoirement les mêmes tests. Il n'est donc pas étonnant que la prévalence des Ac anti-ADN du LED oscille de 25 % dans une série à 90 % dans une autre [17]. De plus, c'est dans le LED que les Ac sont le plus souvent rencontrés, mais on les retrouve au cours d'hépatopathies chroniques et dans d'autres maladies de système comme la polyarthrite rhumatoïde (PR), le syndrome de Gougerot-Sjögren et la connectivite mixte (CM). Le titre des Ac anti-ADN atteint également des niveaux élevés dans certains cas de syndrome « primaire » des Ac anti-phospholipides.

2.3. Anticorps anti-nucléosome et anticorps anti-histones

L'assemblage entre l'ADN et les histones compose une structure immunogène. Dans certains cas, l'épitope réside dans le nucléosome que forment 1,75 spires d'ADN autour de huit spécimens d'histones (deux proviennent de la classe H2A, deux de la classe H2B, deux de la classe H3 et deux de la classe H4). Dans d'autres cas, l'épitope appartient à des particules poly-nucléosomiques que l'on appelle la chromatine-H1. Notons que ces deux épitopes sont fournis dans les ELISA conçus pour mettre les Ac anti-nucléosomes en évidence. Malheureusement, la préparation d'Ag peut être souillée par des segments d'ADN libre ou par des histones détachées des nucléosomes. Ces tests sont donc

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/7665540>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/7665540>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)