

UE : IMMUNOLOGIE - Sémiologie (Cas cliniques n° 2)

Date : 25/10/2010 Plage horaire : 16h-17h
UE : Immunologie P2 Enseignant : Pr Blanco

Ronéistes :

PINARD Pauline :

Autoimmunité non spécifique d'organe Les anticorps anti-noyaux

I- Techniques et stratégie de recherche des ANA

A) L'immunofluorescence indirecte (IFI)

B) ELISA

II- Résultat et interprétation de la fluorescence

A) Homogène

B) Ponctué

C) Nucléolaire

D) Cytoplasmique

E) Moucheté

Ac = anticorps

Ag = antigène

Ce cours est important car on le reverra quand on sera interne. On sera amené à prescrire ces examens.

I- Techniques et stratégie de recherche des ANA

On classe les maladies autoimmunes en :

- Maladie spécifique d'organe qui ne touche qu'un organe comme :
L'hypothyroïdie autoimmune (thyroïdie de Hashimoto) et l'hyperthyroïdie **autoimmune** (la maladie de Basedow)
Le diabète autoimmun où l'on a une destruction autoimmune des cellules bêta de Langherans.
- Maladie non spécifique c'est-à-dire systémique qui peut toucher tous les appareils comme :
L'appareil **cardiaque, respiratoire , neurologique**.

C'est cela dont on va parler dans ce cours à travers une aide au diagnostic qui est constituée par la **recherche d'Ac anti-noyaux**. C'est-à-dire que bon nombre de ces maladies sont caractérisées par une autoimmunité aux antigènes d'origines nucléaires.

On va voir les techniques qui permettent de rechercher les Ac anti-noyaux et en fonction du résultat on verra quelques notions de maladies systémiques qui sont pour la plupart rares mais au programme de ENC!

Quand on voit un patient chez qui on suspecte ce type de maladie systémique autoimmune , on demande la **recherche d'Ac anti-noyaux** .

Puis on fait une prise de sang et là, on se demande souvent quel tube prendre... un tube hépariné ? Un tube sec ? Quand on étudie les Ac on a besoin de sérum car on s'en fou des protéines de la coagulation . On prend donc **un tube sec** ou sur gelose éventuellement , qui va permettre de coaguler toutes les protéines de la coagulation. Ensuite, on centrifuge et il reste le surnageant, qui est le sérum.

A) L'immunofluorescence indirecte (IFI)

L'IFI sur **cellule HEp2** permet de rechercher les Ac anti-noyaux :

La cellule HEp2 est une cellule cancéreuse qui est en faite une cellule de carcinome laryngé humain qui a un rapport nucléocytoplasmique **élevé**. Elle a donc un gros noyau qui va permettre la lecture beaucoup plus facile.

- Dans un premier temps, on va faire incuber le sérum du patient sur des lames où il y a les cellules HEp2 collées. S'il y a des Ac anti-noyaux ils vont se fixer sur le noyau de ces cellules.
- Puis, on lave.
- Puis on revient secondairement avec un anticorps dirigé contre la partie Fc des immunoglobulines IgG, et qui est couplé à un **fluorochrome**. Donc auparavant soit il y avait des anticorps anti-noyaux , auquel cas, l'Ac couplé va se fixer sur la partie Fc des Ig, soit il n'y en a pas et rien ne se fixe.
- Puis, on lave encore .
- Enfin, on passe la lame sous un microscope à fluorescence. Si les cellules HEp2 **fluorescent** , on considère qu'il y a des Ac anti-noyaux.

1) La clinicienne qui va réaliser la technique va regarder quel est **l'aspect de la fluorescence**,celui ci étant important car il oriente le diagnostic.

2) Elle va aussi donner un **résultat semi quantitatif** : Elle va en effet titrer le sérum de façon à diluer les auto Ac, pour arriver à une dilution pour laquelle on n'observe plus de fluorescence.

Elle commence, par exemple, au début à une dilution à 1 / 2 , puis elle dilue, encore et encore, pour arriver à une dilution de 1/100. Si elle passe ensuite à une dilution de 1/200 elle n'observe plus de fluorescence. Le résultat qu'elle va alors rendre est **la dernière dilution** pour laquelle elle observe une fluorescence.

Si vous n'avez pas compris, petit exemple avec la menthe :

On a une solution de menthe peu concentrée versus une autres très concentrée et on veut arriver à une couleur vert pâle. On a le même volume dans les deux. On met de plus en plus de volume. La solution la plus concentrée en menthe va demander plus d'eau pour devenir vert pâle, donc il va falloir une dilution beaucoup plus importante pour celle ci.

Si on adapte ça au sérum : Plus on a une concentration importante en Ac anti-noyaux, **plus on va devoir diluer pour négativer le résultat.**

Important :

Pour un patient A : on a un résultat où les Ac anti-noyaux sont positifs à une dilution de 1/1000.

Pour un patient B : on a des Ac qui sont positifs pour une dilution de 1/2000.

Lequel a le plus d'Ac anti-noyaux ?

Réponse : C'est le patient B car **plus la dilution est importante, plus la concentration en Ac est importante.**

C'est super important de comprendre ça !

B) ELISA

Dans le noyau, il existe tout un tas d'Ag, et la recherche des Ac anti-noyaux par IFI ne permet pas de manière précise d'orienter vers telle ou telle maladie.

On passe donc par une seconde étape, qui est une **technique d'identification**, la technique ELISA (technique immunoenzymatique) qui va nous permettre d'identifier la cible antigénique. On va savoir contre quoi sont dirigés ces anticorps anti-noyaux détectés précédemment (ex : le DNA, des enzymes etc ...) Puis, en fonction de cette identification, on va pouvoir en déduire une maladie.

II- Résultat et interprétation de la fluorescence

On peut avoir une fluorescence de type :

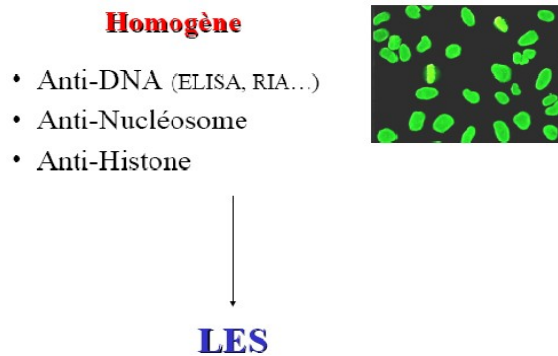
A) Homogène

On ne voit pas le cytoplasme autour, on voit uniquement **le noyau** qui fluorescence. On voit également sur la photo une cellule en **mitose**, ce qui est normal car les cellules cancéreuses se divisent en permanence. Quand on a une fluorescence de type homogène, 9 sur 10 on a des Ac dirigés contre **le matériel génétique** comme le DNA.

Et quand on a des Ac anti-DNA, cela oriente vers une seule maladie : le **lupus érythémateux systémique** qui n'est pas une maladie très grave . Elle concerne 9 femmes pour 1 homme. Ces femmes ont souvent notre âge.

On peut observer des atteintes peu graves_mais fréquentes ,dans 60% des cas : Ce sont des atteintes **cutanées et articulaires**. On peut aussi avoir des atteintes gravissimes qui nécessitent un traitement plus violent : **rénales, cardiaques, et neurologiques**

Le soleil favorise la survenue de poussées quand on a un lupus. Certaines patientes très photosensibles mettent de l'écran total tout le temps quand elles sortent s'il y a un peu de soleil. Ces patients sont pris en charge en médecine interne, en rhumatologie et néphrologie et en dermatologie.



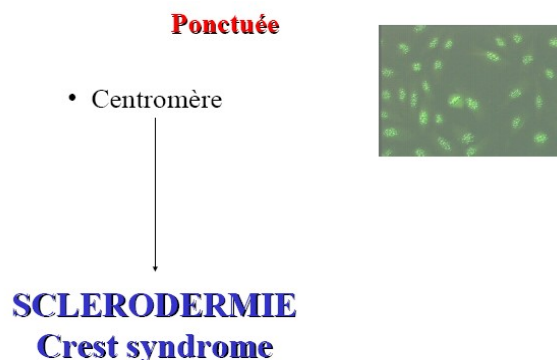
B) Ponctué

Ce qu'on observe dans le noyau, ce sont des points. Ce qui est caractéristique de cette fluorescence ponctué est que quand on fait une étude par ELISA on se retrouve avec des Ac dirigés **contre le centromère**.

Ceci oriente vers un groupe de maladie, **la sclérodermie** (il en existe plusieurs types) et ici cela oriente vers le CREST syndrome qui est une sclérodermie localisée :

- *C signifie* : **Calcinose sous cutanée** c'est-à-dire des compressions calcaires sous la peau. Si c'est au niveau des doigts pas exemple, on dirait que quand on appuie, il y a de la craie qui sort! C'est rare.
- *R signifie* : **Syndrome de Raynaud** qui est vasoconstriction (phase froide) des extrémités puis on a une phase chaude, intense, et douloureuse qui est une vasodilatation, secondaire à la vasoconstriction. C'est la plupart du temps familial.
- *E signifie* : **Atteinte oesophagienne** qui correspond à une perte du tonus du sphincter de l'oesophage. On observe donc des reflux gastro-oesophagiens provoquant des douleurs le long de l'oesophage à cause de l'acide.
- *S signifie* : **Sclérodactylie** qui est une perte de l'élasticité du tissu sous cutané. C'est comme si on avait un lifting du doigt, il n'y a plus de rides. Le problème est que l'on perd l'extension complète. Ceci est visible quand on fait le signe de la prière, on n'observe pas d'apposition parallèle des doigts.
- *T signifie* : **Télangiectasie** qui sont des taches rouges au niveau de la muqueuse jugale, des lèvres, et des doigts.

Le CREST syndrome n'est pas une maladie auto-immune très grave en soi. Mais le risque majeur de cette



maladie est **l'hypertension artérielle pulmonaire**.

C) Nucléolaire

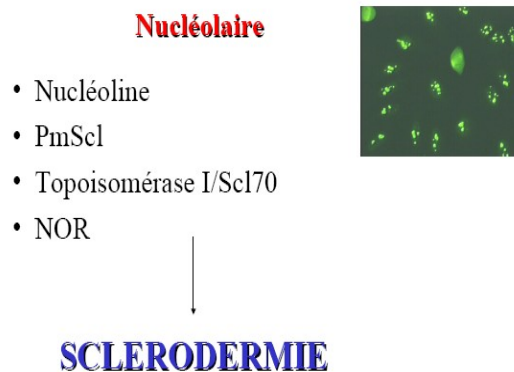
On recherche l'**Ac anti topoisomérase 1** (= enzyme SS70). Et si on a cette fluorescence nucléolaire avec cet Ac anti-SS70 , cela amène au diagnostic d'**une sclérodémie diffuse** , et qui dit diffuse dit **gravissime** car elle donne des atteintes pulmonaires de type fibrosantes, qui peuvent nous détruire le poumon au fur et à mesure. Sans greffe, on fini par mourir.

Une de ses patientes au prof, a 22 ans et est en post partum :

La patiente a été vu 2 fois à 4 semaines d'intervalle et elle se présente avec une sclérodactylie jusqu'à mi avant bras. Il se passe 3 semaines le temps d'avoir les scanners et les autres examens.

Puis quand elle revient le voir, elle a une sclérodémie jusqu'au visage qui lui pose alors des problèmes pour l'ouverture buccale. La symptomatologie qu'elle a en ce moment ne changera pas . On va la traiter avec des immunosuppresseurs.

C'est une maladie gravissime qui peut donc très mal tourner. C'est l'une des rares maladie autoimmune où l'on peut proposer une greffe de moelle osseuse.



D) Cytoplasmique

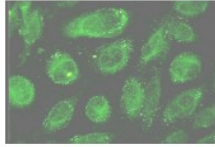
Quand on cherche des Ac anti-noyaux, parfois c'est le cytoplasme qui fluoresce. Tous les organites du cytoplasme peuvent être la cible d'une réponse autoimmune :

- Si on a des **Ac anti ribosome**, cela oriente vers **le lupus érythémateux systémique**.

- Si on a des **Ac anti mitochondries**, cela oriente vers le diagnostic d'une **cirrhose biliaire primitive** (maladie autoimmune fibrosante du foie) qui touche le plus souvent les femmes et qui se caractérise par une perturbation progressive du bilan hépatique. Cela peut passer inaperçu pendant de très nombreuses années.

- Si on détecte des **Ac antiactine** (ce sont les filaments du cytosquelette qui fluorescent) , cela oriente vers le diagnostic d'une **hépatite autoimmune**. Ceci touche souvent les femmes et peut passer relativement inaperçu. La transplantation hépatique est le seul traitement.

-Si on détecte le **tRNA synthétase** appelée aussi **JO1** , cela oriente vers **les myopathies inflammatoires** : les signes sont des myalgies et des déficits musculaires proximaux ,(touchant les ceintures pelviennes et scapulaire) donc il impossible de se lever d'un tabouret sans accouder. (on appelle cela le test du tabouret). C'est une maladie potentiellement grave.

- Cytoplasmique**
- Ribosome → **LES**
 - Mitochondrie → **CBP**
 - Actine → **HAI**
- 
-
- JO1
 - SRP → **PM/DPM**
 - PL7/PL12
- Syndrome des anti-synthétases**

Attention : il ne faut pas oublier que pour les maladies citées, il y a des atteintes systémiques. Il ne nous donne ici que les points cardinaux des maladies.

PM = polymyosite & DPM = dermatopolymyosite

E) Moucheté

On a 4 cibles essentielles à connaître qui sont des ribonucléoprotéines (antigènes solubles du noyau) :

- Si on détecte un **Ac anti-Sm** cela oriente le diagnostic vers **le lupus érythémateux systémique**.

- Si on détecte un **Ac anti-SSB** cela oriente le diagnostic vers **le syndrome de Gougerot Sjogren** qui touche plutôt les femmes . Il y a la présence une attaque autoimmune avec :

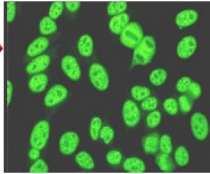
→ *le syndrome sec salivaire* : elles n'ont plus de salive qui normalement contient des antibiotiques naturels qui protègent la bouche contre les infections locales.

→ *le syndrome sec oculaire* : elles ne pleurent plus, ce qui peut devenir embêtant car on peut avoir une kératite, ce qui est extrêmement douloureux . Les larmes sont en effets utiles car elles nourrissent la cornée. On aura aussi des atteintes systémiques.

- Si on détecte un **Ac anti-SSA**, cela oriente le diagnostic vers le **lupus érythémateux systémique**, le **syndrome de Gougerot Sjogren**, et **le lupus congénital** (les anticorps de la maman passent la barrière foeto-placentaire et provoquent chez le bébé un bloc auriculo-ventriculaire qui amène à la mort du bébé, donc tout bilan pour une perte fœtale doit comprendre ce type de recherche).

- Si on détecte des **Ac antiRNP** ,cela oriente le diagnostic vers **le syndrome de Sharp**, qui est à la frontière entre 4 maladies : le lupus, la sclérodemie , la polyarthrite rhumatoïde et les myopathies.

Elle empreinte des signes à ces maladies et globalement elle évolue vers l'une d'entre elle, souvent vers le lupus d'ailleurs !

- Mouchetée**
« Ag solubles du noyau »
- RNP → **MCTD**
 - Sm → **LES**
 - SSA → **LES, LES congénital, SGS**
 - SSB → **SGS**
 - PCNA → **LES**
- 

De très nombreuses personnes ont un bilan autoimmun anormal dans l'amphi mais ce n'est pas pour autant qu'elles développeront ce genre de maladie !