

Sous la direction de
Loïc Guillevin
Olivier Meyer
Éric Hachulla
Jean Sibilia

Traité
des **Maladies**
et **syndromes**
systemiques

6^e édition

m

Lavoisier
Médecine
SCIENCES

Traité
des **Maladies**
et **syndromes**
systemiques

6^e édition

Chez le même éditeur

Dans la collection « Traités »

Traité d'imagerie médicale, par H. Nahum
Traité d'anesthésie et de réanimation, par O. Fourcade, T. Geeraerts, V. Minville et K. Samii
Traité européen de psychiatrie et de psychopathologie de l'enfant et de l'adolescent, par P. Ferrari et O. Bonnot
Traité d'addictologie, par M. Reynaud
Traité de psychiatrie, par M. Gelder, R. Mayou et P. Cowen
Traité de médecine et chirurgie de l'obésité, par A. Basdevant, J.-L. Bouillot, K. Clément, J.-M. Oppert et P. Tounian
Traité de nutrition clinique de l'adulte, par A. Basdevant, M. Laville et É. Lerebours
Traité de diabétologie, par A. Grimaldi
Traité d'endocrinologie, par Ph. Chanson et J. Young
Traité de prévention, par F. Bourdillon
Traité de santé publique, par F. Bourdillon, G. Brückner et D. Tabuteau
Manuel d'échocardiographie clinique, par A. Cohen et P. Guéret
Cardiopathies valvulaires de l'adulte, par B. Cormier, E. Lansac, J.-F. Obadia et C. Tribouilloy
Médecine cardiovasculaire du sujet âgé, par P. Assayag, J. Belmin, J.-M. Davy, J.-N. Fiessinger, P. Friocourt, G. Jondeau, J. Puel et Ch. Tivalle
Traité de thérapeutique cardiovasculaire, par P. Ambrosi
Traité de pneumologie, par M. Aubier
Traité d'allergologie, par D. Vervloet et A. Magnan
Traité d'ORL, par D. Brasnu, D. Ayache, S. Hans, D.M. Hartl et J.-F. Papon
Traité de médecine hospitalière, par J.-P. Grünfeld
Traité de thérapeutique rhumatologique, par Th. Bardin et Ph. Orcel
Maladies métaboliques osseuses de l'adulte, par M.-C. de Vernejoul et P. Marie
Traité de proctologie, par Ph. Godeberge
Traité de pancréatologie clinique, par Ph. Lévy, Ph. Ruszniewski et A. Sauvanet
Traité de gynécologie, par H. Fernandez, C. Chapron et J.-L. Pouly
Traité d'obstétrique, par D. Cabrol, J.-C. Pons et F. Goffinet
Principes de médecine interne Harrison, par D.L. Longo, A.S. Fauci, D.L. Kasper, S.L. Hauser, J.L. Jameson, J. Loscalzo
Traité de médecine, par P. Godeau, S. Herson et J.-Ch. Piette

Dans d'autres collections

Ceil et maladies systémiques, par P. Sève et L. Kodjikian
Le livre de l'interne : médecine interne, par L. Guillevin
Sémiologie médicale, par L. Guillevin

La petite encyclopédie médicale Hamburger, par M. Leporrier
Guide du bon usage du médicament, par G. Bouvenot et C. Caulin
Le Flammarion médical, par M. Leporrier
Dictionnaire français-anglais, anglais-français des termes médicaux et des médicaments, par G.S. Hill
L'anglais médical : *spoken and written medical english*, par C. et F.-X. Coudé

Sous la direction de
Loïc Guillevin
Olivier Meyer
Éric Hachulla
Jean Sibilia

Traité
des **Maladies**
et **syndromes**
systemiques

6^e édition

Préface du Professeur Marcel-Francis KAHN

L*avoisier*
Médecine
SCIENCES
editions.lavoisier.fr

1^{re} édition, 1982
2^e édition, 1985
2^e édition, 2^e tirage, 1986
2^e édition, 3^e tirage, 1987
3^e édition, 1991
3^e édition, 2^e tirage, 1991
3^e édition, 3^e tirage, 1993
3^e édition, 4^e tirage actualisé, 1995
4^e édition, 2000
4^e édition, 2^e tirage, 2001
5^e édition, 2008
6^e édition, 2015

Direction éditoriale : Fabienne Roulleaux
Coordination éditoriale : Béatrice Brottier
Secrétariat d'édition : Caroline Chevalier
Fabrication : Estelle Perez
Couverture : Isabelle Godenèche
Composition : Nord Compo, Villeneuve-d'Ascq
Impression, reliure : Grafos, Barcelone

Liste des collaborateurs

ACKERMANN Félix, Praticien, service de Médecine interne, hôpital Foch, Suresnes.

ALLANORE Yannick, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Cochin, Paris.

ALLEZ Matthieu, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Gastro-entérologie, hôpital Saint-Louis, Paris.

AMOURA Zahir, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne 2, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

AOUBA Achille, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, CHU, Caen.

ARNAUD Laurent, Chef de clinique-Assistant, service de Médecine interne, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

ASLI Bouchra, Attaché, service d'Immunologie clinique, hôpital Saint-Louis, Paris.

BACH Jean-François, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, consultant, laboratoire d'Immunologie, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

BADER-MEUNIER Brigitte, Praticien hospitalier, service d'Immuno-Hématologie et Rhumatologie pédiatriques, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

BAILLET Athan, Chef de clinique-Assistant, clinique universitaire de Rhumatologie, CHU, Grenoble.

BALLARD Magali, ancien Chef de clinique-Assistant, service de Rhumatologie, hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris.

BARDIN Thomas, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Lariboisière, Paris.

BARETE Stéphane, Praticien attaché, service de Dermatologie-Allergologie, hôpital Tenon, Paris.

BATTISTELLA Maxime, Praticien hospitalier, service d'Anatomopathologie, hôpital Saint-Louis, Paris.

BAY Jacques-Olivier, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Thérapie cellulaire et Hématologie clinique, CHU, Clermont-Ferrand.

BENVENISTE Olivier, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne-Immunologie clinique, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

BÉREZNÉ Alice, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.

BERTHEAU Philippe, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Anatomopathologie, hôpital Saint-Louis, Paris.

BERTHELOT Jean-Marie, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Nantes.

BIENVENU Boris, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, CHU, Caen.

BLANCO Patrick, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, CNRS/UMR 5164, service d'Immunologie et Immunogénétique, CHU, Bordeaux.

BONNET Joëlle, Praticien hospitalier, service de Gastro-entérologie, hôpital Sainte-Camille, Brie-sur-Marne.

BOURNAUD-SALINAS Claire, Praticien hospitalier, service de Médecine nucléaire, CHU, Lyon.

BOYER Olivier, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, Inserm U905 ; laboratoire d'Immunologie clinique et expérimentale, CHU, Rouen.

BOYSSON Hubert de, Interne des Hôpitaux, service de Médecine interne, CHU, Caen.

BRACHEMI Soumeia, Néphrologue, Professeur adjoint à l'université de Montréal ; service de Néphrologie, CHUM, Montréal.

BREBAN Maxime, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Ambroise-Paré, Boulogne-Billancourt.

CABANE Jean, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Saint-Antoine, Paris.

CACOUB Patrice, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne-Immunologie clinique, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

CADRANEL Jacques, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Pneumologie, hôpital Tenon, Paris.

CANDON Sophie, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, Inserm U1151 ; service d'Immunologie biologique, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

CANIONI Danièle, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service d'Anatomopathologie, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

CHANDESRIIS Marie Olivia, Praticien hospitalier, service d'Hématologie, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

CHAPELON-ABRIC Catherine, Praticien hospitalier, service de Médecine interne-Immunologie clinique, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

CHARLES Pierre, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.

CHATENOUD Lucienne, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, Inserm U1151 ; service d'Immunologie biologique, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

- CHIOCCHIA Gilles, Directeur de recherches Inserm, Inserm U576, CNRS/UMR 8104 ; service d'Immunologie, hôpital Cochin, Paris.
- CLAUDEPIERRE Pascal, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Henri-Mondor, Créteil.
- CLIQUENNOIS Manuel, Chef de clinique-Assistant, service d'Hématologie clinique, hôpital Saint-Vincent de Paul, Lille.
- COHEN Pascal, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.
- COMBE Bernard, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Montpellier.
- CONSTANTIN Arnaud, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Toulouse.
- COPPO Paul, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service des Maladies du sang et de Thérapie cellulaire, hôpital Saint-Antoine, Paris.
- COROUGE Marion, Praticien hospitalier contractuel, service d'Hépatologie, hôpital Cochin, Paris.
- COSETTE Pascal, Professeur des Universités, CNRS/URM 6270, plateforme Protéomique PISSARO, université de Rouen.
- COSTEDOAT-CHALUMEAU Nathalie, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.
- CRABOL Yoann, Chef de clinique-Assistant, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.
- CRIBIER Bernard, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Dermatologie, CHU, Strasbourg.
- DAMAJ Gandhi, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Hématologie clinique, CHU, Caen.
- DEREURE Olivier, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Dermatologie, CHU, Montpellier.
- DESAUW Christophe, Praticien hospitalier, service d'Oncologie médicale, CHU, Lille.
- DIEUDÉ Philippe, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris.
- DODÉ Catherine, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service de Biochimie et Génétique moléculaire, hôpital Cochin, Paris.
- DONADIEU Jean, Praticien hospitalier, service d'Hémo-Oncologie pédiatrique, hôpital Trousseau, Paris.
- DOUGADOS Maxime, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Cochin, Paris.
- DUBREUIL Patrice, Directeur de recherches, UMR 891, Centre de recherches en cancérologie, Marseille.
- DUCROIX Jean-Pierre, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, CHU, Amiens.
- DUFFAU Pierre, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne-Immunologie clinique, CHU, Bordeaux.
- DUHAUT Pierre, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, CHU, Amiens.
- EA Hang-Korng, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Lariboisière, Paris.
- EMMERICH Joseph, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine vasculaire et HTA, hôpital européen Georges-Pompidou, Paris.
- EYMARD Bruno, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, institut de Myologie, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.
- FABRE Sylvie, Praticien, service de Rhumatologie, clinique Beau-Soleil, Montpellier.
- FAIN Olivier, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Saint-Antoine, Paris.
- FAUTREL Bruno, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.
- FERMAND Jean-Paul, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Immunologie clinique, hôpital Saint-Louis, Paris.
- FRAITAG Sylvie, Praticien hospitalier, service d'Anatomie pathologique, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.
- FRANCÈS Camille, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Dermatologie-Allergologie, hôpital Tenon, Paris.
- FRÉMEAUX-BACCHI Véronique, Praticien hospitalier, service d'Immunologie clinique, hôpital européen Georges-Pompidou, Paris.
- GAUDIN Philippe, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, clinique universitaire de Rhumatologie, CHU, Grenoble.
- GAYRAUD Martine, Professeur au Collège de Médecine, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, institut mutualiste Montsouris, Paris.
- GEORGIN-LAVIALLE Sophie, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Tenon, Paris.
- GODEAU Bertrand, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Henri-Mondor, Créteil.
- GOËB Vincent, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Amiens.
- GOTTENBERG Jacques-Éric, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Strasbourg.
- GRATEAU Gilles, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Tenon, Paris.
- GROSSIN Maggy, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service d'Anatomopathologie, hôpital Louis-Mourier, Colombes.
- GUETTROT-IMBERT Gaëlle, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, CHU, Clermont-Ferrand.
- GUILLEVIN Loïc, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.
- HACHULLA Éric, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, CHU, Lille.
- HATRON Pierre-Yves, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, CHU, Lille.
- HAYEM Gilles, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Ambroise-Paré, Boulogne-Billancourt.
- HERMINE Olivier, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Hématologie, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.
- HERSON Serge, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne-Immunologie clinique, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.
- HILLION Sophie, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, laboratoire d'Immunologie et d'Anatomopathologie, université Bretagne occidentale, Brest.
- JACQUOT Serge, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service d'Immunopathologie, CHU, Rouen.
- JANIN Anne, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Pathologie, hôpital Saint-Louis, Paris.
- KAHN Jean-Emmanuel, Praticien, service de Médecine interne, hôpital Foch, Suresnes.
- KAVERI Srinivasa V., Directeur de recherches, Inserm U681, université Pierre et Marie Curie, Paris.
- KONÉ-PAUT Isabelle, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Pédiatrie générale-Rhumatologie pédiatrique, hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre.
- LAASSOUED Kaïss, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, Inserm U925 ; service d'Immunologie, CHU, Amiens.
- LAZARO Estibaliz, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, CHU, Bordeaux.
- LE GUERN Véronique, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.
- LE THI HUONG Du, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

LEFEBVRE Guillaume, Assistant hospitalo-universitaire, institut d'Immunologie-Réseau éosinophile, CHRU, Lille.

LEGRÈS Luc, Ingénieur de recherches Inserm, Inserm U728 ; service d'Anatomopathologie, hôpital Saint-Louis, Paris.

LESAVRE Philippe, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Néphrologie, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

LHERMITTE Ludovic, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service d'Hématologie, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

LHOTE François, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, centre hospitalier, Saint-Denis.

LIOTÉ Frédéric, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Lariboisière, Paris.

LIOTÉ Hugette, Praticien hospitalier, service de Pneumologie, hôpital Tenon, Paris.

LORTHOLARY Olivier, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service des Maladies infectieuses et tropicales, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

MAHR Alfred, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Saint-Louis, Paris.

MARIETTE Xavier, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre.

MASSON Charles, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Angers.

MATHIAN Alexis, Praticien hospitalier, service de Médecine interne 2, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

MEYER Olivier, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris.

MICELI-RICHARD Corinne, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre.

MICHEL Marc, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Henri-Mondor, Créteil.

MIOSSEC Pierre, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, laboratoire d'Immunogénomique et Inflammation, CHU, Lyon.

MIRAULT Tristan, Praticien hospitalier, service de Réadaptation vasculaire, hôpital Coeurnet-Celton, Issy-les-Moulineaux.

MORANNE Olivier, Praticien hospitalier, service de Néphrologie, CHU, Nice.

MOREL Jacques, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Montpellier.

MORTIER Laurent, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Dermatologie, CHU, Lille.

MOURA Daniéla, Praticien, service d'Hématologie, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

MOUTHON Luc, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.

NEVEN Bénédicte, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service d'Immuno-Hématologie et Rhumatologie pédiatriques, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

NIZARD Jacky, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Gynécologie et Obstétrique, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

NOCHY Dominique, Praticien hospitalier, service d'Anatomopathologie, hôpital européen Georges-Pompidou, Paris.

NUNES Hilario, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Pneumologie, hôpital Avicenne, Bobigny.

OKSENHENDLER Éric, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Immunologie clinique, hôpital Saint-Louis, Paris.

ORCEL Philippe, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Lariboisière, Paris.

ORGIAZZI Jacques, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Endocrinologie, CHU, Lyon.

PAGNOUX Christian, Praticien hospitalier, division of Medicine, department of Rheumatology, Mount Sinai Hospital, Toronto.

PALAZZO Clémence, Chef de clinique-Assistant, service de Médecine physique et Réadaptation, hôpital Cochin, Paris.

PALAZZO Élisabeth, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris.

PAPO Thomas, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris.

PEFFAULT DE LA TOUR Régis, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Hématologie-Greffe, hôpital Saint-Louis, Paris.

PICARD Capucine, Praticien hospitalier, service de Dermatologie, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

PIETTE Jean-Charles, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

PILLEBOUT Évangéline, Praticien hospitalier, service de Néphrologie-Transplantations, hôpital Saint-Louis, Paris.

PLAISIER Emmanuelle, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Néphrologie et Dialyse, hôpital Tenon, Paris.

POUCHOT Jacques, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital européen Georges-Pompidou, Paris.

PRIEUR Anne-Marie, Praticien hospitalier, service d'Immuno-Hématologie et Rhumatologie pédiatriques, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

PUECHAL Xavier, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.

QUARTIER Pierre, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Immunologie-Hématologie pédiatrique, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

RAMIREZ Carole, Praticien hospitalier, service de Neurologie, CHU, Lille.

RANQUE Brigitte, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital européen Georges-Pompidou, Paris.

RENAUDINEAU Yves, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, laboratoire d'Immunologie et Immunothérapie, CHU, Brest.

RICHETTE Pascal, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Lariboisière, Paris.

RICHEZ Christophe, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Bordeaux.

RONCO Pierre, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Néphrologie et Dialyses, hôpital Tenon, Paris.

RONDEAU Éric, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Néphrologie et Dialyses, hôpital Tenon, Paris.

SAADOUN David, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne-Immunologie clinique, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.

SACRÉ Karim, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris.

SAINT-BASILE Geneviève de, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, Directeur de recherches Inserm, Inserm U768 ; service d'Immunologie-Hématologie pédiatriques, hôpital Necker-Enfants malades, Paris.

SAMSON Maxime, Chef de clinique-Assistant, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.

SARAUX Alain, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Brest.

SCHLEINITZ Nicolas, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, CHU, Marseille.

SENET Patrica, Praticien hospitalier, service de Dermatologie-Allergologie, hôpital Tenon, Paris.
SENSEBÉ Luc, Directeur médical et scientifique, UMR5273, CNRS/UPS/EFS, Inserm U1031 ; EFS Pyrénées-Méditerranée, Toulouse.
SEROR Raphaële, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre.
SIBILIA Jean, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Strasbourg.
SOCIÉ Gérard, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Hématologie-Transplantation, hôpital Saint-Louis, Paris.
SOGNI Philippe, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Hépatologie, hôpital Cochin, Paris.
SOUBRIER Martin, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHU, Clermont-Ferrand.
TATAR Zuzana, Chef de clinique-Assistant, service de Rhumatologie, CHU, Clermont-Ferrand.
TAZI Abdellatif, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Pneumologie, hôpital Saint-Louis, Paris.
TERRIER Benjamin, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Cochin, Paris.
THERVET Éric, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Néphrologie, hôpital européen Georges-Pompidou, Paris.
TOUITOU Isabelle, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, laboratoire de Génétique des maladies rares et auto-inflammatoires, CHU, Montpellier.
TRON François, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Immunopathologie, CHU, Rouen.
UZUNHAN Yurdagül, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service de Pneumologie, hôpital Avicenne, Bobigny.
VALEYRE Dominique, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Pneumologie, hôpital Avicenne, Bobigny.
VARIN Audrey, Chargé d'études, UMR5273, CNRS/UPS/EFS, Inserm U1031 ; EFS Pyrénées-Méditerranée, Toulouse.
VERNEUIL Laurence, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Dermatologie, CHU, Caen.
VEYRADIER Agnès, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, laboratoire d'Hématologie, hôpital Antoine-Béclère, Clamart.
VINCENEUX Philippe, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Médecine interne, hôpital Louis-Mourier, Colombes.
VITTECOQ Olivier, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, Inserm U905, service de Rhumatologie, CHU, Rouen.
WECHSLER Bertrand, Professeur au Collège de Médecine, service de Médecine interne-Immunologie clinique, hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris.
WECHSLER Janine, Maître de conférences des Universités, Praticien hospitalier, service d'Anatomopathologie, hôpital Henri-Mondor, Créteil.
WÉMEAU Jean-Louis, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service d'Endocrinologie, CHU, Lille.
WENDLING Daniel, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Rhumatologie, CHRU, Besançon.
YOUINOU Pierre, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, laboratoire d'Immunologie, CHU, Brest.
ZERBIB Philippe, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Chirurgie digestive et Transplantation, CHU, Lille.
ZUBER Mathieu, Professeur des Universités, Praticien hospitalier, service de Neurologie et Neurovasculaire, hôpital Saint-Joseph, Paris.

Sommaire

Préface , par M.-F. KAHN	XIII
Avant-propos , par L. GUILLEVIN, O. MEYER, É. HACHULLA et J. SIBILIA	XV

PATHOGÉNIE : GÉNÉRALITÉS

Chapitre 1	Exploration de l'immunité humorale et cellulaire , par F. TRON, O. BOYER et S. JACQUOT	3
Chapitre 2	Génétique des maladies systémiques : méthodologie et applications , par C. MICELI-RICHARD et P. DIEUDÉ	23
Chapitre 3	Réaction inflammatoire : déclenchement et évolution , par H.-K. EA	36
Chapitre 4	Nouveaux outils biologiques : la génomique. Principes et applications , par G. CHIOCCHIA et J.-É. GOTTENBERG	54
Chapitre 5	Intérêt de l'analyse protéomique dans les maladies systémiques , par P. COSETTE, O. VITTECOQ, V. GOEB, P. GAUDIN et A. BAILLET	62
Chapitre 6	Auto-anticorps dans les maladies systémiques , par Y. RENAUDINEAU, S. HILLION, A. SARAUX et P. YOUINOU	73
Chapitre 7	Concepts actuels de l'auto-immunité , par F. TRON et J.-F. BACH	105
Chapitre 8	Analyses tissulaires , par A. JANIN, P. BERTHEAU, L. VERNEUIL, L. LEGRÈS et M. GROSSIN	124
Chapitre 9	Évaluation thérapeutique dans les maladies systémiques. Les clefs pour comprendre , par R. SEROR et M. DOUGADOS	136
Chapitre 10	Maladies systémiques et grossesse , par N. COSTEDOAT-CHALUMEAU, J. NIZARD, D. LE THI HUONG et G. GUETTROT-IMBERT	146

MALADIES AUTO-IMMUNES

Chapitre 11	Physiopathologie du lupus , par P. BLANCO, P. DUFFAU, E. LAZARO et C. RICHEZ	169
Chapitre 12	Lupus érythémateux systémique , par O. MEYER	210
Chapitre 13	Syndrome des antiphospholipides (hors grossesse) , par O. MEYER, L. ARNAUD, J.-C. PIETTE et Z. AMOURA	365
Chapitre 14	Évaluation du traitement du lupus érythémateux systémique , par A. MATHIAN, O. MEYER et Z. AMOURA	396
Chapitre 15	Manifestations systémiques de la polyarthrite rhumatoïde , par T. BARDIN, P. RICHELLE, P. DIEUDÉ, H. LIOTÉ, P. ORCEL et F. LIOTÉ	434
Chapitre 16	Sclérodémie systémique , par L. MOUTHON, Y. ALLANORE, J. CABANE et É. HACHULLA	490
Chapitre 17	Fasciite avec éosinophilie (syndrome de Shulman). Syndromes sclérodémiformes , par É. PALAZZO, C. PALAZZO, M. BALLARD et M. GROSSIN	544
Chapitre 18	Syndrome de Gougerot-Sjögren , par X. MARIETTE	557
Chapitre 19	Connectivites mixtes , par G. HAYEM	591
Chapitre 20	Myopathies inflammatoires , par O. BENVENISTE, B. EYMARD et S. HERSON	609
Chapitre 21	Polychondrite chronique atrophiante , par B. TERRIER et L. GUILLEVIN	635

VASCULARITES

Chapitre 22	Classification et épidémiologie des vascularites , par A. MAHR	643
Chapitre 23	Mécanismes des vascularites primitives , par S. BRACHEMI et P. LESAVRE	657
Chapitre 24	Maladie de Horton et pseudo-polyarthrite rhizomélique , par P. DUHAUT et J.-P. DUCROIX	674
Chapitre 25	Maladie de Takayasu , par T. MIRAULT et J. EMMERICH	708
Chapitre 26	Périartérite noueuse , par M. SAMSON et L. GUILLEVIN	723
Chapitre 27	Maladie de Kawasaki , par A. AOUBA et A. MAHR	737
Chapitre 28	Polyangéite microscopique , par P. CHARLES et L. GUILLEVIN	743
Chapitre 29	Granulomatose éosinophilique avec polyangéite (Churg-Strauss) , par F. LHOTE, P. COHEN et L. GUILLEVIN	748
Chapitre 30	Granulomatose avec polyangéite (Wegener) , par C. PAGNOUX	775
Chapitre 31	Pronostic des vascularites associées aux ANCA et de la périartérite noueuse. Complications des traitements , par M. GAYRAUD	807
Chapitre 32	Syndrome de Goodpasture , par E. PLAISIER, J. CADRANEL et P. RONCO	815
Chapitre 33	Syndrome de Cogan , par P. VINCENEUX et J. POUCHOT	832
Chapitre 34	Thromboangéite oblitérante (maladie de Buerger) , par X. PUÉCHAL	843
Chapitre 35	Purpura rhumatoïde , par É. PILLEBOUT, D. NOCHY et É. THERVET	854
Chapitre 36	Autres vascularites et pseudo-vascularites , par C. FRANCÈS, P. CACOUB et P. SENET	873
Chapitre 37	Vascularites secondaires aux affections systémiques et auto-immunes , par A. AOUBA et B. BIENVENU	894
Chapitre 38	Maladie de Behçet , par D. SAADOUN, P. CACOUB et B. WECHSLER	903
Chapitre 39	Manifestations extrahépatiques associées à l'infection chronique par le virus de l'hépatite C , par P. CACOUB, B. TERRIER, P. COHEN et D. SAADOUN	922
Chapitre 40	Vascularites cryoglobulinémiques , par P. CACOUB, D. SAADOUN et B. TERRIER	929
Chapitre 41	Vascularites des maladies malignes , par O. FAIN	938
Chapitre 42	Vascularites du système nerveux central , par H. DE BOYSSON et M. ZUBER	941
Chapitre 43	Maladie associée aux IgG₄ , par P.-Y. HATRON et N. SCHLEINIZ	948

MANIFESTATIONS ET AFFECTIONS SYSTÉMIQUES

Chapitre 44	Manifestations systémiques des spondyloarthrites , par D. WENDLING, P. CLAUDEPIERRE, G. HAYEM et M. BREBAN	963
Chapitre 45	Manifestations systémiques des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et de la maladie coeliaque , par J. BONNET et M. ALLEZ	981
Chapitre 46	Maladie de Whipple , par X. PUÉCHAL	1000
Chapitre 47	Manifestations systémiques des hépatopathies auto-immunes , par M. COROUGE et P. SOGNI	1012
Chapitre 48	Manifestations systémiques des thyroïdites auto-immunes , par C. BOURNAUD-SALINAS et J. ORGIAZZI	1036
Chapitre 49	Manifestations systémiques des syndromes lymphoprolifératifs , par B. ASLI et J.-P. FERMAND	1043
Chapitre 50	Syndrome POEMS , par M. SOUBRIER, Z. TATAR et J.-O. BAY	1051
Chapitre 51	Maladies de Castleman , par É. OKSENHENDLER	1064
Chapitre 52	Mastocytoses , par M. O. CHANDESRI, S. BARETE, S. GEORGIN-LAVIALLE, G. DAMAJ, S. FRAITAG, D. CANIONI, L. LHERMITTE, D. MOURA, P. DUBREUIL, O. LORTHOLARY et O. HERMINE	1077
Chapitre 53	Syndromes hyperéosinophiliques , par J.-E. KAHN, G. LEFEBVRE et F. ACKERMANN	1104
Chapitre 54	Syndrome hémophagocytaire , par P. COPPO, G. DE SAINT-BASILE et K. LASSOUED	1114
Chapitre 55	Histiocytoses , par A. TAZI, J. DONADIEU et J. WECHSLER	1129

Chapitre 56	Hypodermes , par M. BATTISTELLA et B. CRIBIER	1150
Chapitre 57	Dermatoses neutrophiliques , par O. DEREURE et C. FRANCÈS	1163
Chapitre 58	Maladies du tissu conjonctif (élastopathies et autres affections) , par M. BATTISTELLA et B. CRIBIER	1176
Chapitre 59	Manifestations systémiques des cancers épithéliaux , par C. DESAUW, J.-L. WÉMEAU, C. RAMIREZ, L. MORTIER, O. MORANNE, P. ZERBIB, M. CLIQUENNOIS, É. HACHULLA et P.-Y. HATRON	1184
Chapitre 60	Purpura thrombotique thrombocytopénique, syndrome hémolytique et urémique et autres syndromes de micro-angiopathie thrombotique , par P. COPPO, A. VEYRADIER, V. FRÉMEAUX-BACCHI et É. RONDEAU, pour le Centre de référence des micro-angiopathies thrombotiques (CNR-MAT)	1226
MALADIES SYSTÉMIQUES EN PÉDIATRIE		
Chapitre 61	Maladies systémiques à début pédiatrique , par P. QUARTIER et B. BADER-MEUNIER	1243
Chapitre 62	Syndromes et maladies auto-inflammatoires , par J. SIBILIA et G. GRATEAU	1278
Chapitre 63	Fièvre méditerranéenne familiale (maladie périodique) , par I. TOUITOU et I. KONÉ-PAUT	1289
Chapitre 64	Syndrome d'hyperimmunoglobulinémie D (déficit en mévalonate kinase) , par B. BADER-MEUNIER, J. SIBILIA et G. GRATEAU	1305
Chapitre 65	Pathologies auto-inflammatoires systémiques héréditaires associées à la cryopyrine , par B. NEVEN, A.-M. PRIEUR et I. KONÉ-PAUT	1309
Chapitre 66	Pathologies associées aux mutations du gène du récepteur de type 1 du TNF (TRAPS) , par J.-M. BERTHELOT, C. MASSON, Z. AMOURA et C. DODÉ	1320
AUTRES AFFECTIONS SYSTÉMIQUES		
Chapitre 67	Fibroses systémiques , par C. CHAPELON-ABRIC	1335
Chapitre 68	Granulomatoses systémiques , par K. SACRÉ, B. RANQUE et T. PAPO	1347
Chapitre 69	Amyloses , par G. GRATEAU	1371
Chapitre 70	Maladie du greffon contre l'hôte , par G. SOCIÉ, R. PEFFAULT DE LA TOUR et A. JANIN	1394
Chapitre 71	Déficits immunitaires héréditaires , par J. SIBILIA, C. PICARD, L. MOUTHON et É. OKSENHENDLER	1404
Chapitre 72	Maladie de Still de l'adulte , par B. FAUTREL et J. POUCHOT	1442
Chapitre 73	Sarcoïdose , par D. VALEYRE, C. CHAPELON-ABRIC, Y. UZUNHAN et H. NUNES	1462
THÉRAPEUTIQUE		
Chapitre 74	Immunosuppresseurs , par B. GODEAU et M. MICHEL	1497
Chapitre 75	Immunoglobulines intraveineuses , par Y. CRABOL, S.V. KAVERI et L. MOUTHON	1508
Chapitre 76	Hémaphérese thérapeutique , par V. LE GUERN et L. GUILLEVIN	1525
Chapitre 77	Anti-TNF et maladies systémiques , par B. COMBE et J. MOREL	1540
Chapitre 78	Nouvelles stratégies d'immuno-intervention , par S. CANDON et L. CHATENOU	1556
Chapitre 79	Thérapie cellulaire , par L. SENSEBÉ et A. VARIN	1579
Chapitre 80	Thérapie génique , par S. FABRE	1587
Chapitre 81	Corticothérapie , par B. TERRIER, A. BÉREZNÉ et L. MOUTHON	1609
Chapitre 82	Biothérapies	1624
	Inhibiteurs des cytokines, interleukines 6, 12 et 17, par P. MIOSSEC	1624
	Les voies de co-stimulation et leurs récepteurs, par J. SIBILIA et A. CONSTANTIN	1627
	Antagonistes de l'interleukine 1, par É. HACHULLA	1646
	Anti-CD20 et autres inhibiteurs des lymphocytes B, par X. MARIETTE	1652
	Liste des principales abréviations	1667
	Index	1675

Préface

Ceux qui ont la responsabilité de l'édition de cette sixième version du *Traité des maladies (et syndromes) systémiques* et, en leur nom, Loïc Guillevin m'ont fait l'amitié et l'honneur de me demander une préface ! J'ai accepté, bien sûr, mais il faudra d'abord que le lecteur de cette préface subisse un retour sur le passé, un passé vieux de 42 ans !

La première version de cet ouvrage est en effet parue – sous ma responsabilité et celle d'André Peltier – en 1982 ! Elle comportait 33 chapitres contre 82 aujourd'hui ; 56 auteurs y avaient collaboré, trois fois plus aujourd'hui ! Parmi ces 56 auteurs, 8 seulement sont toujours présents dans cet ouvrage et y ont collaboré ! Ainsi va le temps et passe la vie !

Il serait fastidieux de passer ici en revue les avancées physiopathologiques, diagnostiques et thérapeutiques qui ont vu le jour et se sont développées depuis 40 ans ! Ces avancées ont permis de comprendre les conditions de survenue de nombre de pathologies envisagées dans cet ouvrage, de décrire certaines qui étaient complètement ignorées alors. Et surtout, de disposer de traitements nouveaux et actifs reposant notamment sur ces avancées, bien que l'on doive relever que la bonne vieille cortisone est encore présente dans nombre des chapitres de l'ouvrage !

Il serait également fastidieux de lister les concepts et les mots apparus depuis 40 ans ! En faisant le vœu pieux que le français ne soit pas trop maltraité et utilisé correctement chaque fois que la chose est possible, ce qui malheureusement est loin d'être le cas dans nombre de publications médicales ! Le « conventionnel » à la place de classique, le « contrôle » à la place de témoin sont deux exemples qui irritent, à juste titre, les vieux défenseurs de la langue française ! Même si, comme nous l'avons avoué dès 1982, il devenait difficile d'échapper à l'impropre adjectif « systémique » présent jusqu'à ce jour ! Parfois se forment des couples illégitimes comme le tout récent « netose » fruit des amours de l'anglais pour « filet » et de la désinence gauloise en « ose » !

Autre évocation de 1982 : nous nous interrogeons dans la préface de l'époque sur le destin des gros traités de médecine et de la concurrence prévisible de l'informatique sous toutes ses formes ! Nous comparions ces ouvrages aux gros animaux préhistoriques dont la disparition – de cause encore discutée – fit place aux mammifères et finalement à l'*Homo* (dit) *sapiens*. Qu'en est-il aujourd'hui ? La réponse à cette interrogation est – au moins en partie – la publication en 2015 de cet ouvrage ! Mais une première concession est apparue : le volume des références qui a enflé au fil des années et des éditions successives a imposé que l'électronique vienne en renfort de la page imprimée. De plus, ce recours – outre qu'il va épargner quelques arbres de nos forêts – permettra peut-être – du moins je l'espère – de satisfaire un vœu que j'avais exprimé dans la préface de l'édition précédente et que je renouvelle ici : que l'électronique permette entre deux rééditions de l'ouvrage imprimé d'adresser à son utilisateur les compléments, nouveautés, progrès thérapeutiques et diagnostiques, qu'il est urgent de leur faire connaître !

Ainsi cette préface qui donc associe des souvenirs nostalgiques et des vœux pieux pourra avoir une modeste utilité pour des utilisateurs, notamment les jeunes que je souhaite aussi nombreux qu'ils le furent pour les précédentes éditions !

Marcel-Francis KAHN

Avant-propos

Une nouvelle édition du *Traité des maladies et syndromes systémiques* est un événement éditorial pour nombre d'internistes, rhumatologues, immunologistes et pour de nombreux autres médecins spécialistes, passionnés par ces maladies complexes dont l'expression clinique est souvent déroutante, le diagnostic difficile, la pathogénie et le traitement complexes. Comme le souligne M.-F. Kahn dans sa préface, la taille de l'ouvrage a augmenté au fil des décennies, traduisant essentiellement le progrès médical, qu'il s'agisse de comprendre les mécanismes des maladies ou de l'arrivée de nouveaux traitements. Cette édition marque aussi un tournant dans l'évolution de l'ouvrage car, dans un délai proche, des mises à jour seront disponibles sur un site web réservé à cet effet, permettant de suivre au plus près les évolutions prévisibles de la Médecine. L'internet permettra aussi d'introduire une iconographie encore plus riche, des documents de référence, des liens utiles et des vidéos.

Le *Traité* est un ouvrage de référence « vivant » qui évolue au fil du progrès médical. Les nombreux auteurs et rédacteurs de section qui ont préparé cette nouvelle édition ont apporté les données les plus complètes et les plus récentes, situant ainsi ce livre parmi ceux que tout médecin hospitalier et de nombreux étudiants devraient avoir dans leur bibliothèque.

Loïc GUILLEVIN
Olivier MEYER
Éric HACHULLA
Jean SIBILLA

PATHOGÉNIE : GÉNÉRALITÉS

EXPLORATION DE L'IMMUNITÉ HUMORALE ET CELLULAIRE

1

François TRON, Olivier BOYER et Serge JACQUOT

Le système immunitaire et ses mécanismes effecteurs sont fréquemment impliqués dans la physiopathologie des maladies systémiques, qu'il s'agisse de manifestations relevant d'une hypersensibilité faisant intervenir les auto-anticorps, les complexes immuns ou les cellules T ou de manifestations associées aux déficits en immunoglobulines (Ig) ou aux maladies lymphoprolifératives. L'exploration du système immunitaire est donc souvent mise en œuvre au cours des maladies systémiques. Elle peut être conduite avec l'objectif de rechercher les anomalies immunologiques permettant d'établir un diagnostic, de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques en cause en identifiant les mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine des manifestations observées ou encore de suivre un traitement immunosuppresseur ou immunomodulateur. Classiquement, l'étude du système immunitaire comporte l'exploration de l'immunité humorale et de l'immunité cellulaire. Nous préférons cependant présenter les modalités d'exploration du système immunitaire en regroupant les méthodes d'analyse du compartiment lymphocytaire B puis celles du compartiment lymphocytaire T au cours des maladies systémiques, avant de présenter les stratégies utilisées en fonction de la recherche du mécanisme physiopathologique en cause.

Exploration du compartiment lymphocytaire B

Le lymphocyte B naît de la cellule souche hématopoïétique dans la moelle osseuse et y poursuit sa différenciation. Au cours de ce processus surviennent deux grands événements : le réarrangement de l'ADN germinale au niveau des locus codant la chaîne lourde et les chaînes légères et la tolérance centrale contrôlant le passage à la périphérie de clones lymphocytaires B autoréactifs. Les mécanismes de réarrangement font que chaque lymphocyte B acquiert un programme génétique unique qui ne lui permet de sécréter qu'une seule variété structurale d'Ig spécifique d'un seul déterminant antigénique. Ces mécanismes sont aussi à l'origine de la diversité du répertoire d'immunoglobulines capables de réagir avec environ 10^9 déterminants antigéniques différents. Ce répertoire lymphocytaire B théoriquement illimité peut reconnaître non seulement les antigènes exogènes, mais aussi les antigènes du soi. Le contrôle du répertoire autoréactif s'opère au niveau de la cellule B immature. Les lymphocytes B matures sélectionnés gagnent les organes lymphoïdes périphériques. Lorsque l'antigène est introduit dans l'organisme, il sélectionne le clone porteur de la molécule d'immunoglobulines qui lui est spécifique et induit, avec l'aide des cellules T du paracortex (pour les antigènes thymo-dépendants), la prolifération et la poursuite de la différenciation lymphocytaire en plasmocytes sécréteurs d'IgM. Certains lymphocytes gagnent le centre germinatif des organes lymphoïdes secondaires où surviennent les mutations somatiques,

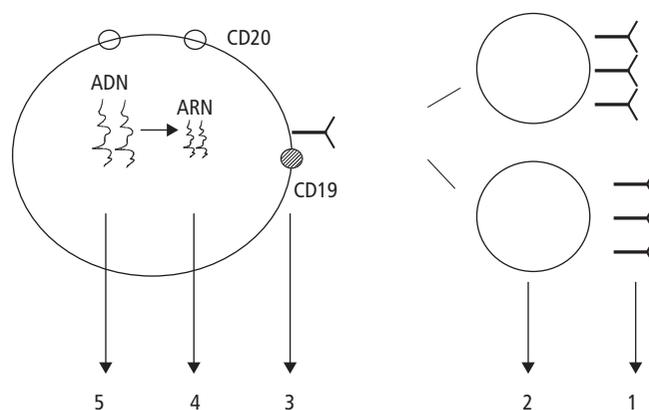


Figure 1-1 Les différents niveaux d'étude des lymphocytes B. (1) Étude des propriétés quantitatives et qualitatives des molécules d'immunoglobulines. (2) Étude des fonctions du lymphocyte B (prolifération et capacité de sécrétion des molécules d'immunoglobulines). (3) Étude phénotypique des lymphocytes B. (4) Étude du lymphocyte B au niveau des ARNm. (5) Étude du lymphocyte B au niveau de l'ADN.

la commutation de classe et la sélection des lymphocytes B spécifiques de l'antigène associée à la contre-sélection des lymphocytes auxquels les mutations somatiques ont pu conférer une spécificité différente, notamment dirigée contre un antigène du soi. Au stade ultime de la différenciation, le lymphocyte B devient soit un plasmocyte sécréteur de molécules d'immunoglobulines de classe G, A ou E, soit un lymphocyte B mémoire.

L'exploration du compartiment lymphocytaire B peut donc se faire à différents niveaux (Figure 1-1).

Méthodes d'analyse des immunoglobulines

Électrophorèse des protéines du sérum

L'étude de la migration des immunoglobulines dans un champ électrique par l'électrophorèse des protéines du sérum montre leur diversité structurale (Figure 1-2). L'analyse du tracé montre que la bande de l'albumine est étroite et clairement délimitée, alors que la bande protéique contenant les immunoglobulines et connue sous le terme de gammaglobulines est large et diffuse. Cette absence apparente de résolution est liée à la présence de nombreuses molécules d'immunoglobulines, de mobilité électrophorétique différente. Cette mobilité électrophorétique de distribution gaussienne est liée aux petites différences dans la composition des résidus d'acides aminés des immunoglobulines synthétisées par les individus normaux, donnant le classique profil

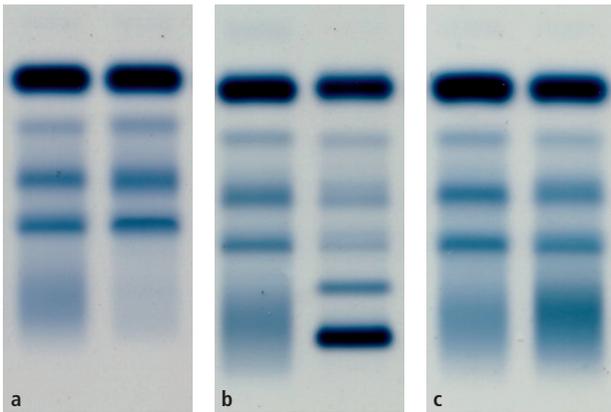


Figure 1-2 Analyse électrophorétique des protéines du sérum dans un gel d'agarose. a) Profil électrophorétique normal et hypogammaglobulinémie. b) Profil normal et présence d'une protéine monoclonale ; la bande protéique correspondant à l'immunoglobuline monoclonale a deux caractéristiques : elle est étroite et ses bords sont parfaitement bien limités. Cette bande étroite traduit la présence en quantité anormale d'une immunoglobuline ayant les mêmes caractéristiques structurales et donc la même mobilité électrophorétique. c) Hypergammaglobulinémie polyclonale. (Documents dus au Dr Muriel Quillard.)

électrophorétique polyclonal. L'électrophorèse des protéines du sérum permet une première évaluation des modifications quantitatives (hyper- ou hypogammaglobulinémie) et qualitatives (hypergammaglobulinémie monoclonale) de la production des Ig (voir Figure 1-2).

Immunofixation

L'immunofixation a aujourd'hui remplacé l'immuno-électrophorèse pour rechercher et identifier une immunoglobuline monoclonale. L'étape initiale consiste à séparer les protéines du sérum dans des pistes d'électrophorèse placées en parallèle dans un gel d'agarose. Après la séparation des protéines et avant leur coloration, chacune des six pistes du gel est incubée avec un antiserum spécifique soit de l'ensemble des protéines du sérum, soit d'une classe d'immunoglobulines, soit d'une chaîne légère. L'antisé-

rum pénètre dans le gel, interagit avec les protéines dont il est spécifique et forme un précipité lorsque le rapport antigènes/anticorps est à l'équivalence. Après lavage qui élimine les protéines non précipitées, les complexes antigène/anticorps sont colorés au bleu de Coomassie (Figure 1-3). Le tableau 1-I résume les principales indications d'une analyse par immunofixation des protéines du sérum. La mise en évidence d'une immunoglobuline monoclonale doit conduire à rechercher une chaîne légère dans les urines par la pratique d'une immunofixation des protéines urinaires et la mise en évidence d'une protéine de Bence-Jones.

Tableau 1-I Principales indications de l'exploration quantitative et qualitatives des immunoglobulines.

<i>Indications d'une analyse par immunofixation du sérum</i>	
Caractériser une immunoglobuline monoclonale détectée sur l'électrophorèse	Identifier une immunoglobuline monoclonale présente en quantité insuffisante pour être détectée sur l'électrophorèse des protéines du sérum
Rechercher une chaîne légère monoclonale devant une hypogammaglobulinémie	Présence d'une amylose primitive
<i>Indications du dosage quantitatif des immunoglobulines</i>	
Présence d'une hypogammaglobulinémie à l'électrophorèse des protéines du sérum	Présence d'une immunoglobuline monoclonale à l'électrophorèse des protéines du sérum
Infections bactériennes récurrentes	Maladie à IgG ₄
<i>Indications du dosage des sous-classes d'IgG</i>	
Déficit en IgG	Déficit en IgA
Maladie à IgG ₄	Infections bactériennes récurrentes en l'absence de déficit en immunoglobulines
<i>Indications du dosage des IgA</i>	
Infections bactériennes récurrentes	Maladies auto-immunes (maladie cœliaque, etc.), déficit en IgA
<i>Indications du dosage des IgE</i>	
Déficits immunitaires	Suspicion de syndrome d'hyper-IgE
Atopie	Infections parasitaires
<i>Indications du dosage des IgD</i>	
Suspicion de syndrome d'hyper-IgD	

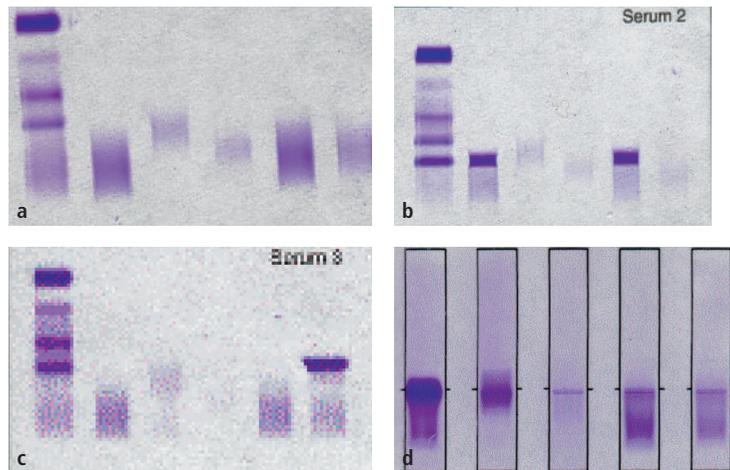


Figure 1-3 Analyse des protéines du sérum et des immunoglobulines par la technique d'immunofixation. Dans les trois gels (a), (b) et (d), les six pistes sont incubées, de gauche à droite, avec un antiserum antiprotéines totales, antichaîne lourde γ , antichaîne lourde α , antichaîne lourde μ , antichaîne légère κ et antichaîne légère λ . a) Sérum normal. b) Présence d'une IgG κ monoclonale ; il existe une bande étroite précipitée par les antisérums anti- μ et anti- κ de même aspect et de même mobilité électrophorétique. c) Présence d'une chaîne légère λ , il existe une bande étroite précipitée par l'antiserum anti- λ et non précipitée par les antisérums anti- γ , anti- α , anti- μ ou anti- κ . d) Maladie des chaînes lourdes γ . Seules cinq pistes sont montrées, correspondant de gauche à droite à un antiserum anti- γ , anti- α , anti- μ , anti- κ et anti- λ . Il existe une bande étroite précipitée uniquement par l'antiserum anti- γ .

Dosage quantitatif des classes et sous-classes d'immunoglobulines

La molécule d'immunoglobuline est constituée de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères identiques deux à deux. Il existe cinq classes de chaînes lourdes γ , α , μ , δ et ϵ et deux types de chaînes légères κ et λ . Chaque ensemble de chaînes lourdes est associé à un ensemble de chaînes légères, conduisant à plusieurs formules moléculaires pour les IgG (γ_2, κ_2 ; γ_2, λ_2), les IgM (μ_2, κ_2 ; μ_2, λ_2), les IgA (α_2, κ_2 ; α_2, λ_2), etc. Les IgG, IgD et IgE sont toujours présentes sous forme monomérique, les IgA et les IgM sous forme multimérique. Chez l'adulte normal, la concentration des IgG sériques est comprise entre 800 et 1 400 mg/dl. Les différences en acides aminés des domaines constants de la chaîne lourde des IgG permettent de séparer celles-ci en quatre sous-classes : IgG₁ (66 p. 100 des IgG), IgG₂ (23 p. 100), IgG₃ (7 p. 100) et IgG₄ (4 p. 100). Les IgA sont présentes dans le sérum à la concentration de 0,7 à 3,4 mg/dl et constituent la principale classe d'Ig des liquides sécrétoires où elles existent sous forme de dimère associé à la chaîne J et au composant sécrétoire qui est sécrété par les cellules de la muqueuse épithéliale et permet le transport des IgA du pôle basal de la cellule épithéliale vers son pôle apical. Les molécules d'IgM sont composées de cinq sous-unités monomériques liées entre elles par des ponts disulfures et par la chaîne J (structure pentamérique). La concentration sérique des IgM est comprise entre 0,5 et 2,1 g/l. L'IgD est un composant mineur du sérum dont la concentration est d'environ 0,03 g/l. L'IgE est présente dans le sérum à la concentration la plus faible (17-450 ng/ml). Les taux des immunoglobulines de classes G, A et M sont le plus souvent déterminés par néphélométrie et celui des IgE par une technique ELISA, de même que les IgD. La détermination du taux des sous-classes d'IgG se fait par technique ELISA et nécessite l'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques des déterminants antigéniques portés par les chaînes lourdes $\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$ ou γ_4 . Il s'agit d'une technique délicate devant prendre en compte le taux global d'immunoglobulines de classe G. La concentration des sous-classes d'IgG varie avec l'âge et, en outre, ne suit pas une distribution normale dans la population. Par exemple, 30 p. 100 des sujets adultes de sexe féminin ont des taux indétectables d'IgG₄. Le tableau 1-I précise les indications du dosage des sous-classes d'IgG.

Recherche et identification des cryoglobulines

Les cryoglobulines sont des Ig sériques qui précipitent au froid et se redissolvent à 37 °C. La recherche d'une cryoglobuline comporte trois étapes : le dépistage, le dosage et l'identification. Le dépistage d'une cryoglobuline impose des conditions strictes de prélèvement et de recueil du sang sur un tube sec qui doit être placé à 37 °C et, après rétraction du caillot, centrifugé à cette même température. Le sérum est ensuite transféré dans des tubes longs et étroits (classiquement tube de Veillon) et conservé à +4 °C pendant 8 jours, délai nécessaire pour détecter les cryoglobulines de faible quantité. Le dosage de la cryoglobuline se fait le plus souvent en déterminant directement la quantité de protéines présentes dans le précipité et en rapportant ensuite la quantité obtenue au volume initial du sérum prélevé. L'identification de la cryoglobuline permet de la classer dans l'un des trois types proposés par Brouet et al. [1] et est indispensable pour en apprécier la signification clinique. Elle se fait aujourd'hui par la technique d'immunofixation (Figure 1-4).

Les cryoglobulines de type I sont constituées uniquement d'une Ig monoclonale de classe G, M ou A porteuse de l'un des deux types de chaînes légères (voir Figure 1-4). Ces cryoglobulines sont associées aux affections comportant la production d'une Ig monoclonale.

Les cryoglobulines de type II sont mixtes, et comportent une Ig monoclonale, le plus souvent une IgM κ , et des composants polyclonaux



Figure 1-4 Analyse des différents types de cryoglobulines par la technique d'immunofixation. a) Cryoglobuline de type I, IgM κ : une bande étroite de même aspect et de même mobilité est immunoprécipitée par les antisérum anti- μ et anti- κ . b) Cryoglobuline de type II comportant une Ig monoclonale IgM κ , des IgG et des IgA polyclonales associées à des chaînes légères κ et λ . c) Cryoglobuline de type II comportant plusieurs composants monoclonaux IgG λ et IgM κ . d) Cryoglobuline de type III composée d'IgM $\kappa\lambda$, d'IgG $\kappa\lambda$ et d'IgA $\kappa\lambda$ polyclonales. G, A, M, K et L indiquent les antisérum utilisés.

IgM $\kappa\lambda$, IgG $\kappa\lambda$ et IgA $\kappa\lambda$. L'IgM monoclonale a une activité facteur rhumatoïde, c'est-à-dire dirigée contre le fragment Fc des IgG polyclonales. Les cryoglobulines de type II s'accompagnent fréquemment de la positivité dans le sérum des tests au latex et de Waaler-Rose et d'une consommation du C4 qui toutefois semble survenir in vitro. Les cryoglobulines de type II peuvent cependant être de composition différente, renfermant par exemple plusieurs composants monoclonaux (voir Figure 1-4) ou un composant monoclonal de classe IgG κ ou IgG λ . Les cryoglobulines de type II sont fréquemment observées au cours de l'infection par le VHC (Tableau 1-II). La mise en évidence d'un composant monoclonal est un élément cardinal, car il témoigne de l'expansion anormale d'un clone lymphocytaire B, ce qui peut justifier la poursuite des explorations complémentaires, notamment la recherche d'une maladie lymphoproliférative.

Tableau 1-II Maladies associées aux différents types de cryoglobulines.

Maladie		Cryoglobulines	
Hémopathies malignes			
Myélome	}	Types I et II	
LLC			
Lymphome			
Maladie des agglutinines froides			
Maladies infectieuses			
Virales	VHC	}	Types II et III
	VHB		
	CMV		
	EBV		
Bactériennes	Endocardites	}	Type III
	Lèpre		
	GNA		
Parasitaires	Schistosomiase	}	Type III
	Paludisme		
Maladies auto-immunes		Type III	

CMV : cytomegalovirus ; EBV : virus d'Epstein Barr ; GNA : glomérulonéphrite aiguë ; LLC : leucémie lymphoïde chronique ; VHB : virus de l'hépatite B ; VHC : virus de l'hépatite C.

Tableau 1-III Indications de la recherche de cryoglobuline.

Suspicion d'une maladie à complexes immuns
Manifestations cliniques évoquant une vascularite
Manifestations cliniques cutanées déclenchées par le froid
Présence d'une protéine monoclonale
Infections virales chroniques, notamment à VHC

Les cryoglobulines de type III sont mixtes et polyclonales, ne comportant aucun composant monoclonal. Elles peuvent être constituées d'IgM, d'IgG et d'IgA. Leur taux est souvent faible, inférieur à 1 g/l. Ici encore, les cryoglobulines de type III peuvent être associées à la positivité des tests au latex et de Waaler-Rose, témoignant de l'activité anti-IgG des IgM polyclonales. Le tableau 1-II montre les principales affections associées à la présence d'une cryoglobuline de type III.

Les cryoglobulines peuvent être responsables de manifestations cliniques et doivent être recherchées dans les situations pathologiques indiquées dans le tableau 1-III.

Analyse de la fonction anticorps des immunoglobulines

PRINCIPALES TECHNIQUES DE DÉTECTION DES ANTICORPS • Immunofluorescence indirecte (IFI) La technique d'IFI est utilisée pour détecter les anticorps spécifiques d'antigènes cellulaires ou tissulaires. Elle consiste à incuber le sérum du malade avec des coupes de

tissus animaux ou humains ou des cellules préalablement fixées à l'alcool ou l'éthanol, ce qui permet la pénétration intracellulaire des anticorps. Après incubation, les coupes sont lavées et les protéines du sérum et les anticorps non fixés sont éliminés. La coupe est incubée avec des anticorps secondaires marqués par un fluorochrome pour révéler la fixation des anticorps primaires spécifiques des antigènes de tissus ou de cellules. Ces anticorps secondaires peuvent être spécifiques des différents isotypes d'immunoglobulines humaines. L'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) est le fluorochrome le plus souvent utilisé. Le FITC est excité par une lumière incidente d'une longueur d'onde comprise entre 450 et 500 nm et émet une lumière fluorescente de plus faible énergie ayant une longueur d'onde comprise entre 500 et 550 nm (jaune-vert) qui est sélectionnée par les filtres du microscope et transmise aux objectifs qui en permettent la visualisation. L'IFI est une technique semi-quantitative dont les résultats sont exprimés en titre. Sa sensibilité permet la détection d'anticorps spécifiques à la concentration d'environ 0,1 µg/ml. La technique nécessite la caractérisation de chacun des réactifs, plus particulièrement des antisérums secondaires et doit, pour chaque test, inclure des contrôles négatif et positif. Elle est largement utilisée pour rechercher des anticorps dirigés contre des antigènes bactériens ou viraux au cours des maladies infectieuses et des auto-anticorps au cours des maladies auto-immunes. Elle n'implique pas l'identification et la caractérisation moléculaire de l'antigène reconnu, mais permet de décrire un aspect de la fluorescence qui oriente vers la spécificité des auto-anticorps. Il s'agit donc d'une technique de dépistage d'une réactivité globale vis-à-vis des antigènes du tissu ou de la cellule utilisés comme substrats (Figure 1-5).

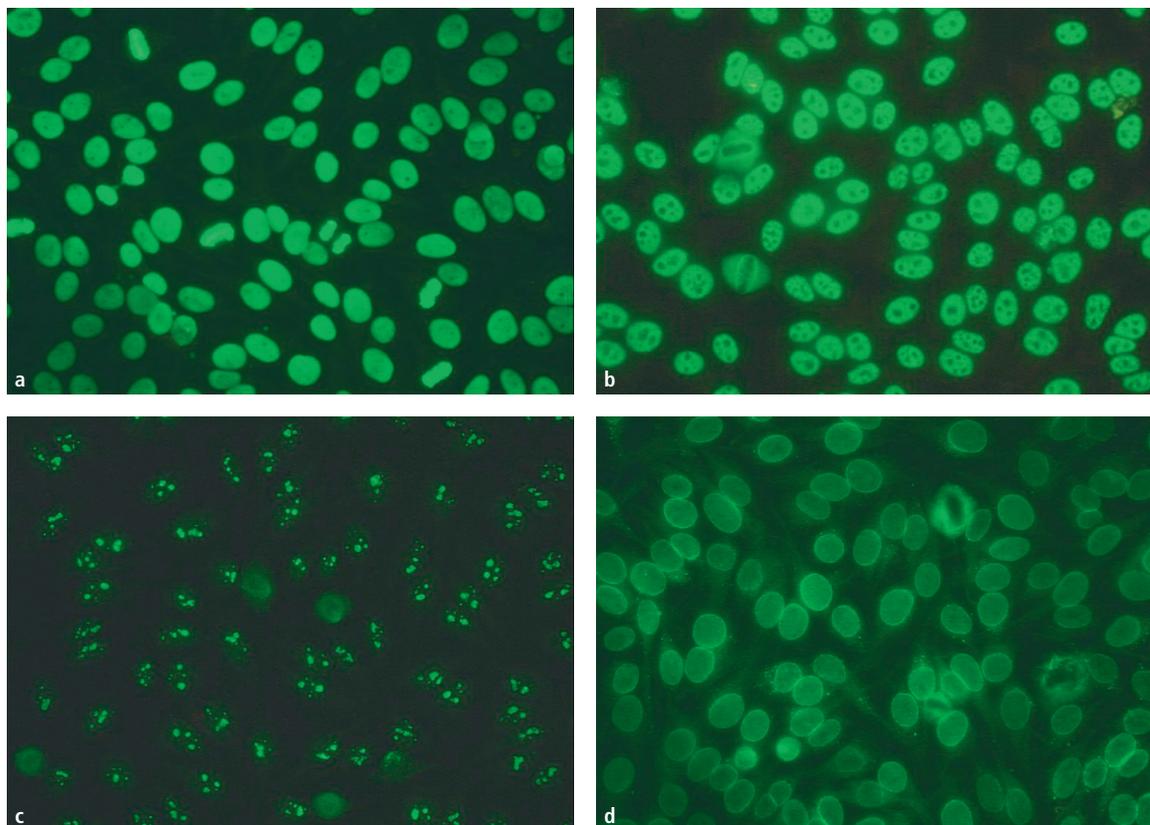


Figure 1-5 Analyse en immunofluorescence indirecte sur des cellules HEP-2 des sérums de malades atteints de maladies auto-immunes non spécifiques d'organe (agrandissement $\times 400$). Les auto-anticorps présents dans le sérum des malades sont incubés avec les cellules HEP-2 étalées sur la lame, fixées et perméabilisées avec de l'éthanol. L'antisérum utilisé est un sérum de lapin polyclonal anti-IgG humaines et marqué par le FITC. a) Aspect nucléaire et homogène de la fluorescence, correspondant à la présence d'anticorps antinucléosome. b) Aspect nucléaire et moucheté de la fluorescence, correspondant à la présence d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles. c) Aspect nucléolaire de la fluorescence, correspondant à la présence d'anticorps anti-ScI70. d) Aspect nucléaire et de la membrane nucléaire de la fluorescence, correspondant à la présence d'anticorps antilamine. (Documents dus au Dr Fabienne Jouen.)

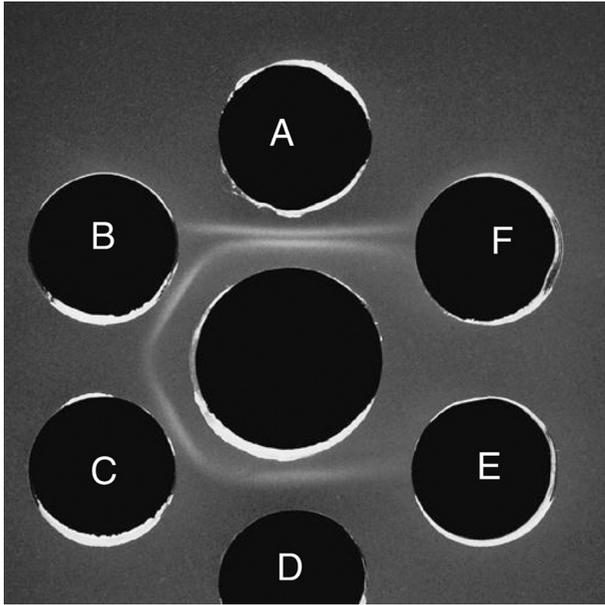
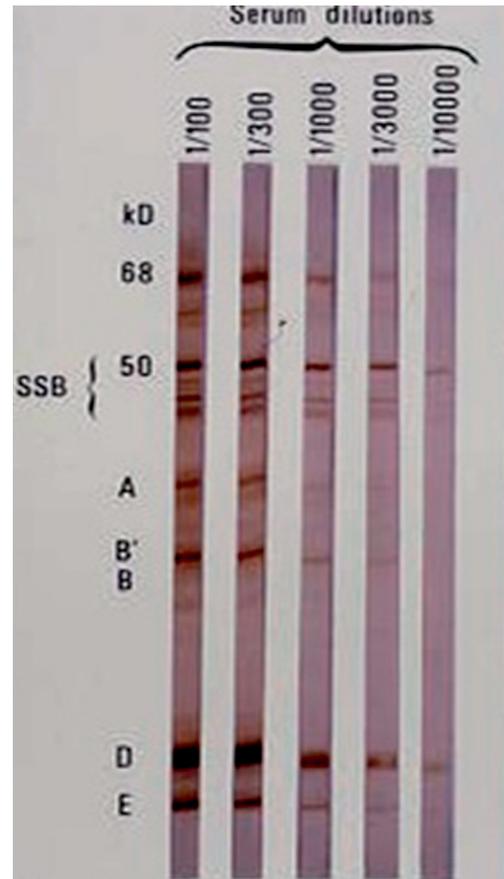


Figure 1-6 Mise en évidence d'auto-anticorps dirigés contre les antigènes nucléaires solubles par la technique de double immunodiffusion en gel dans les sérums de malades atteints de LES. Un extrait soluble d'antigènes nucléaires est introduit dans le puits central. Les sérums des malades atteints de lupus A, C, E et F et les sérums de référence B et D sont introduits dans les puits périphériques. Une réaction de précipitation est observée au niveau des puits A, B, C et D. Une réaction d'identité est observée entre les arcs de précipitation des puits A, B, C et D. Au niveau du puits A, il existe deux arcs de précipitation séparés, ne donnant pas lieu à une réaction d'identité et correspondant à deux populations d'auto-anticorps reconnaissant des antigènes différents.

Techniques de précipitation Elles sont fondées sur une réaction antigène-anticorps au cours de laquelle un antigène multivalent réagit avec les anticorps, soit dans la phase fluide, soit dans une phase semi-solide telle qu'un gel d'agarose pour former un réseau insoluble de complexes antigène-anticorps. Les réactions de double immunodiffusion en gel (Ouchterlony) sont encore fréquemment utilisées, notamment pour détecter la présence d'auto-anticorps dirigés contre des extraits d'antigènes cellulaires (Figure 1-6). La précipitation survient pour un rapport particulier de concentration d'antigènes et d'anticorps appelé point d'équivalence. La technique de double immunodiffusion a en outre l'avantage, par l'examen de l'aspect des lignes de précipitation et l'utilisation de sérums de référence, de définir la spécificité des anticorps donnant une réaction de précipitation.

Immuno-empreinte ou Western-blot La première étape d'une analyse en Western-blot consiste à extraire les protéines du substrat cellulaire ou d'un agent pathogène qui sont la cible des anticorps. Les protéines sont séparées selon leur masse moléculaire dans un gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (PAGE-SDS). Les protéines sont ensuite transférées et immobilisées sur un support solide semi-perméable telle qu'une feuille de nitrocellulose, puis celle-ci est incubée avec le sérum et, après lavage, avec les anticorps secondaires marqués par une enzyme. Après réaction avec le substrat de l'enzyme, les protéines reconnues apparaissent sous forme de bandes dont la masse moléculaire peut être estimée par rapport à des standards de masse moléculaire inclus dans le gel de polyacrylamide et transférés sur la feuille de nitrocellulose. Le nombre et l'inten-



Anti-Sm	7	5,1	3,2	2,3	< 1
Anti-RNP	4	3	1,6	< 1	< 1
Anti-SS-B (La)	4,4	3,2	1,6	1,2	< 1

Figure 1-7 Analyse par immuno-empreinte d'un extrait nucléaire avec un mélange de sérums de malades atteints de LES. Les protéines ont été extraites d'une lignée cellulaire HL60, séparées selon leur poids moléculaire par électrophorèse dans un gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS) et transférées sur une membrane de nitrocellulose. Celle-ci est incubée avec les sérums des malades dont les anticorps fixés sont révélés avec un antisérum anti-immunoglobulines humaines. Ici, on observe une réactivité vis-à-vis de polypeptides de masse moléculaire de : 68-30 kDa (A), 28-27 kDa (B-B'), correspondant à une réactivité anti-RNP complète ; 52 kDa, correspondant à une réactivité anti-SS-B (La) ; 16 et 12 kDa, correspondant à une réactivité anti-Sm. Les différentes pistes correspondent à différentes dilutions.

sité des bandes dépendent du nombre d'antigènes reconnus et de la concentration des anticorps du sérum (Figure 1-7).

Tests immuno-enzymologiques Les tests ELISA sont les plus fréquemment utilisés pour la recherche d'anticorps [9]. Le principe de l'ELISA est décrit dans la figure 1-8. Cette technique offre de nombreux avantages : elle est plus sensible que les techniques d'IFI et d'immunoprécipitation, permettant la détection d'anticorps à la concentration de 1-10 ng/ml ; elle permet une mesure semi-quantitative des anticorps spécifiques grâce à l'établissement d'une courbe standard calibrée en unités ; les variabilités inter-essais et inter-laboratoires sont le plus souvent limitées. Les techniques immuno-enzymologiques supposent que l'antigène qui est la cible des anticorps ait été identifié et purifié pour être adsorbé sur la phase solide. Cette

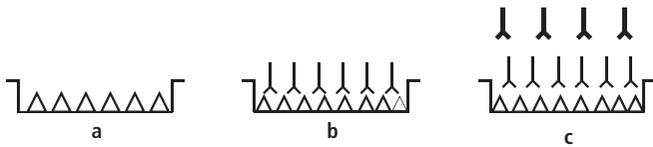


Figure 1-8 Principe d'un test ELISA. a) L'antigène (Δ) est fixé de façon non covalente à un support solide tel que les puits d'une microplaque de plastique. La nature du support dépend des caractéristiques chimiques de l'antigène et a aussi pour objectif de diminuer la liaison non spécifique des immunoglobulines. b) L'incubation du sérum testé permet la fixation des anticorps spécifiques à l'antigène fixé sur le support solide (I). c) Après lavage, un antisérum polyclonal ou un anticorps monoclonal anti-immunoglobulines humaines marqués avec une enzyme (λ) est ajouté aux puits. L'étape finale du test ELISA consiste à évaluer la quantité de produit coloré générée par l'addition du substrat de l'enzyme.

technique se situe donc en aval des techniques d'IFI qui, rappelons-le, permettent la détection d'une réactivité tissulaire ou cellulaire et des techniques d'immuno-empreinte en PAGE-SDS qui permettent la caractérisation de la masse moléculaire du polypeptide reconnu par les anticorps.

DÉVELOPPEMENT DES STRATÉGIES DE DÉTECTION DES ANTICORPS • Identification de nouvelles populations antigènes-anticorps Deux techniques permettent l'identification de nouvelles populations d'auto-anticorps, c'est-à-dire l'identification de l'antigène cible. La première est l'immunocriblage de banque d'expression d'ADNc préparée à partir des ARNm extraits du substrat cellulaire exprimant l'antigène et construite dans *Escherichia coli* (Figure 1-9).

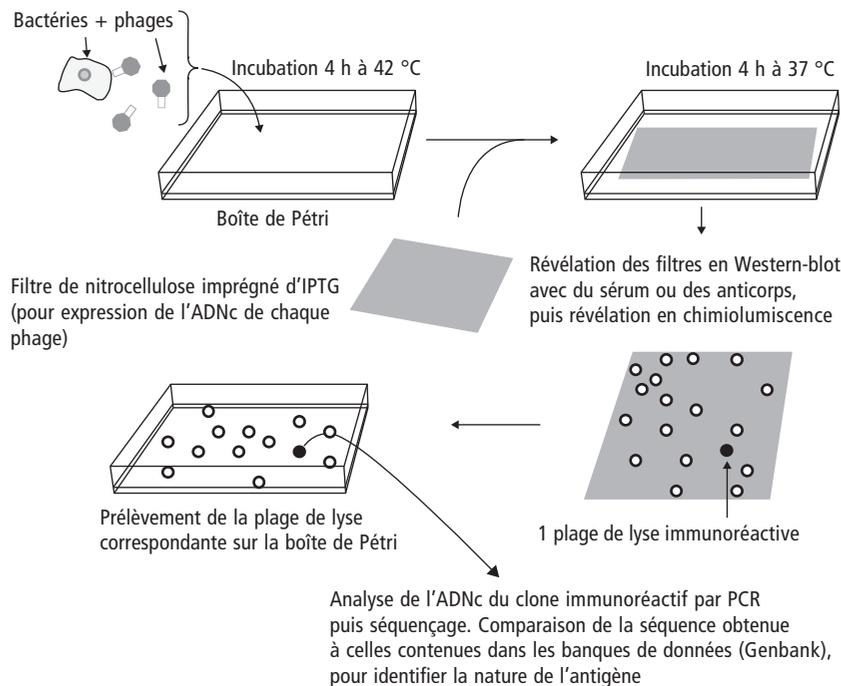


Figure 1-9 Immunocriblage d'une banque d'expression d'ADNc. La technique consiste à extraire les ARNm du substrat cellulaire exprimant l'antigène cible, puis à transcrire les ARNm en ADNc. Les ADNc sont clonés dans des vecteurs d'expression (λ gt11) qui sont utilisés pour transformer des bactéries compétentes. Celles-ci sont étalées sur une boîte de culture et synthétisent la protéine correspondante à l'ADNc transfecté. Le criblage des replica des clones bactériens avec le sérum du malade permet l'identification du clone sécrétant la protéine cible. L'isolement, puis l'expansion du clone bactérien permettent l'extraction du phage, le séquençage de l'ADNc et, in fine, l'identification de l'antigène correspondant.

Une deuxième technique est l'immunocriblage d'une carte protéomique de la lignée cellulaire contenant l'antigène cible, suivie de l'identification de la protéine immunoréactive par spectrométrie de masse (Figure 1-10).

Approche diagnostique multiparamétrique Cette approche est fondée sur la constatation que les réponses anticorps survenant au cours d'une maladie infectieuse, inflammatoire ou auto-immune, sont dirigées le plus souvent contre de nombreux antigènes. La réactivité de la réponse anticorps vis-à-vis des antigènes cibles permet l'établissement d'un profil dont la valeur diagnostique peut être supérieure à celle apportée par l'étude d'une seule population d'anticorps [3]. En outre, la réactivité vis-à-vis d'un ensemble d'antigènes permet, par exemple au cours d'une manifestation pathologique pouvant relever de différentes maladies, telles qu'un rhumatisme inflammatoire persistant, de déterminer quels sont les auto-antigènes reconnus ou non reconnus et d'établir ainsi un profil spécifique d'une maladie donnée. Il est ainsi possible de créer des puces ou *micro-arrays* d'antigène pour un grand nombre de maladies allergiques ou auto-immunes (Figure 1-11).

ÉVALUATION ET DÉTECTION DES ANTICORPS SPÉCIFIQUES •

Anticorps dirigés contre les xéno-antigènes Un excellent moyen d'évaluer la capacité fonctionnelle du compartiment lymphocytaire B est d'étudier la réponse in vivo à une stimulation antigénique par des antigènes thymo-dépendants ou thymo-indépendants. La stratégie consiste à mesurer la concentration d'anticorps spécifiques avant et après immunisation, en considérant qu'une augmentation du taux d'anticorps 4 fois supérieure à celui observé avant l'immunisation est le reflet d'un fonctionnement normal du compartiment lymphocytaire B. L'étude des réponses anticorps vis-à-vis de

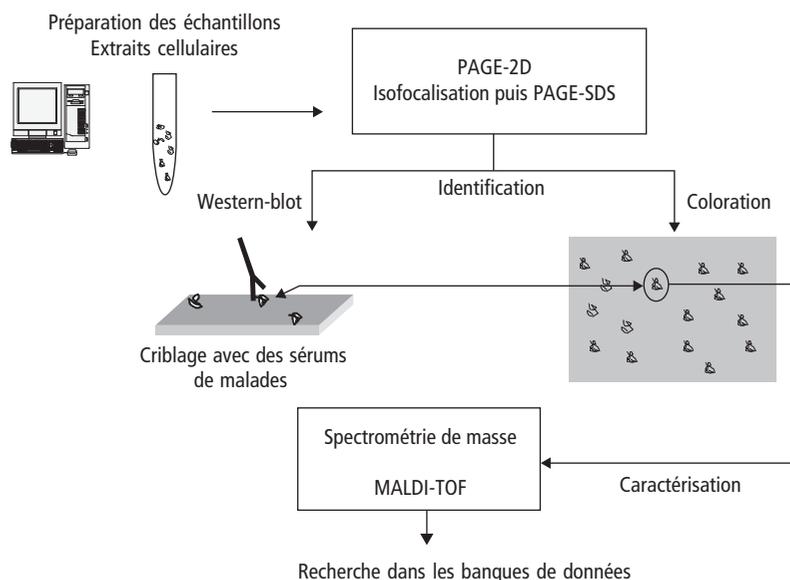


Figure 1-10 Immunocriblage d'une carte protéomique préparée à partir du substrat cellulaire exprimant l'auto-antigène. La technique consiste, lorsque les anticorps reconnaissent un antigène protéique, par exemple, en immuno-empreinte d'un extrait cellulaire séparé par PAGE-SDS, à séparer l'extrait cellulaire par électrophorèse bidimensionnelle qui combine une première séparation selon le point iso-électrique et une seconde séparation selon la masse moléculaire. Un replica de la carte protéomique est obtenu sur une feuille de nitrocellulose (empreinte) qui est ensuite incubée avec le sérum étudié. La protéine immunoréactive est visualisée sur le replica, repérée sur le gel de polyacrylamide, excisée, digérée par la trypsine et analysée par spectrométrie de masse.

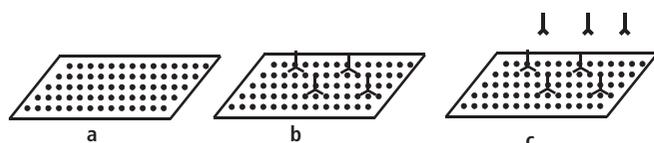


Figure 1-11 Principes des puces à protéines dédiées à l'analyse des réponses auto-immunes. Un *micro-array* est composé (a) d'une large collection d'antigènes connus (protéines, lipides, antigènes polysaccharidiques, peptides linéaires) qui, en une seule étape (b), sont fixés par les anticorps présents dans le sérum étudié (c) et, après lavage, l'addition d'un antiserum anti-immunoglobuline humaine permet d'établir un profil de reconnaissance caractéristique.

l'anatoxine tétanique ou de l'anatoxine diphtérique est la méthode la plus utile pour évaluer la réponse vis-à-vis des antigènes T-dépendants. L'évaluation de la réponse vis-à-vis des antigènes polysaccharidiques thymo-indépendants se fait par l'administration d'un vaccin pneumococcique. L'absence de réponse aux antigènes vaccinaux s'observe au cours des déficits immunitaires héréditaires, acquis ou induits. L'absence de réponse aux antigènes polysaccharidiques peut aussi s'observer au cours des déficits en IgG₂ et IgG₄ ou chez des patients n'ayant pas de déficit quantitatif en Ig, comme cela a été décrit au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren ou chez des sujets présentant des infections bactériennes à répétition.

Évaluation de la réponse vis-à-vis des allo-antigènes Il s'agit d'anticorps naturels présents chez des sujets sans stimulation antigénique délibérée. Ces iso-hémagglutinines sont des anticorps de classe IgM dirigés contre les antigènes polysaccharidiques des groupes sanguins A et/ou B. L'absence d'hémagglutinines naturelles est observée au cours des déficits immunitaires du compartiment lymphocytaire B et des déficits immunitaires combinés sévères.

Détection des auto-anticorps [2]

Auto-anticorps non spécifiques d'organe

Les maladies auto-immunes non spécifiques d'organe sont associées à la présence d'auto-anticorps dirigés principalement contre les antigènes nucléaires que l'on met en évidence par une technique d'IFI utilisant comme substrat habituel les cellules HEP-2. Ces auto-anticorps donnent une fluorescence du noyau différente selon leur spécificité (voir Figure 1-5). L'aspect de l'IFI permet donc une première indication de la spécificité des anticorps détectés (Tableau 1-IV). L'identification molé-

Tableau 1-IV Spécificité des auto-anticorps en fonction de leur aspect en immunofluorescence indirecte sur cellules HEP-2.

Aspect de la fluorescence	Spécificité
Périphérique	Nucléosome, ADN
Homogène	Chromatine, subnucléosome, histones, ADN, topoisomérase II
Nucléolaire	Nucléoline, nucléosphosmine Fibrillarine, ARN polymérase NOR 90, PM/ScI
Moucheté	Sm, RNP, SS-A (Ro), SS-B (La), PCNA
Membrane nucléaire	Lamines A, C, B LAP1 et LAP2 gp120
Centromère	CEN-P-A, CEN-P-B, CEN-P-C
Appareil fusorial	NUMA MSA2 et MSA3
Cytoplasmique	Jo1, ribosome, mitochondrie Actine, vimentine

LAP: lamine-associated protein; MSA: microtubule associated protein; NUMA: nuclear mitotic apparatus; PCNA: proliferating cell nuclear antigen; RNP: ribonucléoprotéine.

Tableau 1-V Auto-anticorps spécifiques d'une maladie auto-immune non spécifique d'organe.

<i>Auto-anticorps</i>	<i>Maladies</i>
Anti-ADN natif (à titre élevé)	Lupus
Anti-Sm	Lupus
Anti-Ma	Lupus
Anti-PCNA	Lupus
Anti-Scl70	Sclérodermie
Anti-centromère	Syndrome CREST
Anti-Jo1	Myosite

culaire des antigènes cibles des auto-anticorps donnant un profil particulier en IFI a permis leur purification, la mise au point de tests diagnostiques de type ELISA et la détection individuelle d'auto-anticorps spécifiques. Certains de ces auto-anticorps sont des marqueurs spécifiques des maladies auto-immunes (Tableau 1-V), d'autres des marqueurs d'évolutivité. C'est le cas des anticorps anti-ADN natif dont le taux peut être mesuré par une technique ELISA ou par la technique radio-immunologique de Farr et est corrélé à l'index d'activité clinique au cours du LES. Certains auto-anticorps constituent des marqueurs de sous-groupes d'une maladie auto-immune non spécifique d'organe. C'est le cas des anticorps anti-SS-A (Ro) qui peuvent s'observer au cours du lupus ou du syndrome de Gougerot-Sjögren et qui constituent un marqueur de risque de survenue de lupus néonatal. De même, les anticorps anti-Jo1 contribuent non seulement au diagnostic de polymyosite, mais sont aussi un marqueur d'atteinte pulmonaire interstitielle.

Il n'est pas rare que la présence d'anticorps antinucléaires dépistés par une réaction d'IFI ne soit pas associée à la présence d'auto-anticorps de spécificité connue. Dans ce cas, l'analyse du sérum en immunoeempreinte sur un extrait cellulaire ou nucléaire permet d'identifier la masse moléculaire de la protéine cible. L'identification de l'antigène peut alors faire appel aux techniques mentionnées ci-dessus, c'est-à-dire à l'immunocriblage d'une banque d'expression d'ADNc ou d'une carte protéomique de l'extrait cellulaire, suivi d'une analyse en spectrométrie de masse de la tache protéique reconnue par les auto-anticorps.

Anticorps antiphospholipides

Les anticorps antiphospholipides sont principalement représentés par les anticorps anticardioline qui sont détectés par une technique ELISA. Ces anticorps peuvent être de classe IgG et/ou IgM. Ils sont fréquemment associés à la présence d'anticorps de classes G et/ou M dirigés contre un cofacteur protéique permettant la reconnaissance des phospholipides par les anticorps antiphospholipides, la β_2 -glycoprotéine I. Il existe d'autres catégories d'auto-anticorps antiphospholipides, notamment les anticorps dirigés contre les phospholipides cationiques comme la phosphatidyl-éthanolamine dont la signification est discutée, comme il existe d'autres cofacteurs protéiques cibles des anticorps (Tableau 1-VI). Le syndrome des antiphospholipides peut également se manifester biologiquement par la présence d'un anticoagulant circulant. Une fausse sérologie syphilitique (positivité du VDRL) peut s'observer, de même que des anticorps antimitocondrie de type 5. C'est donc l'ensemble de ces éléments biologiques qu'il convient de rechercher pour réunir les éléments d'un syndrome des antiphospholipides.

Auto-anticorps dirigés contre les antigènes des éléments figurés du sang

L'auto-immunisation dirigée contre les globules rouges est mise en évidence par le test de Coombs direct qui permet la détection des antigènes et du complément fixés *in vivo* aux érythrocytes par l'ajout d'un

Tableau 1-VI Anticorps antiphospholipides et anticofacteurs des antiphospholipides.

<i>Anticorps antiphospholipides</i>
Anticardioline
Antiphosphatidyl sérine
Antiphosphatidyl éthanolamine
<i>Anticorps anticofacteurs</i>
Anti- β_2 -glycoprotéine I
Antiprothrombine
Antiprotéine C-protéine S
Anti-annexine V

sérum anti-IgG ou anticomplément et par l'analyse du sérum du malade qui permet notamment la détection des anticorps froids. On classe en effet les anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI) selon l'activité thermique des auto-anticorps : les anticorps froids se lient de façon optimale aux érythrocytes à 4 °C, les anticorps chauds à 37 °C. La majorité (70 p. 100) des malades présentant une AHAI ont des anticorps chauds, 15 à 20 p. 100 des anticorps froids et 10 p. 100 environ présentent les deux types d'anticorps. Les anticorps chauds sont principalement de classe G et dirigés, dans 50 p. 100 des cas, contre des antigènes du système Rhésus. Les anticorps froids sont le plus souvent de classe M et peuvent induire une agglutination des globules rouges. Ces agglutinines peuvent être polyclonales et reconnaissent alors l'antigène I ; elles peuvent être monoclonales et reconnaissent alors l'antigène I ou l'antigène i (syndrome lymphoprolifératif, maladie des agglutinines froides). La sévérité de l'hémolyse provoquée par les agglutinines froides dépend de leur amplitude thermique, c'est-à-dire de l'affinité des anticorps pour l'antigène érythrocytaire en fonction de la température.

L'immunisation antiplaquettaire est principalement dirigée contre les glycoprotéines IIIa, IIIb et Ib. Elle est détectée soit par le test de Coombs plaquettaire (dont le principe est identique au test de Coombs érythrocytaire), soit par le test MAPAI qui consiste à quantifier les molécules d'Ig à la surface des plaquettes.

L'auto-immunisation peut également intéresser les polynucléaires et être à l'origine d'une neutropénie auto-immune. Les auto-anticorps sont de classe G et principalement dirigés contre des récepteurs de surface, CD11b/CD18, CR1, Fc γ R2, plus rarement les antigènes NA1 et NA2 des granulocytes. Le diagnostic repose sur des tests indirects mesurant la liaison des anticorps d'un sérum à des granulocytes de donneur normal.

Auto-anticorps spécifiques d'organe

Dans la très grande majorité des cas, la stratégie de recherche d'auto-anticorps permettant de diagnostiquer une maladie auto-immune spécifique d'organe consiste successivement en la mise en évidence des anticorps dirigés contre le tissu par analyse en IFI, l'analyse du sérum en Western-blot et la détection d'anticorps spécifiquement dirigés contre les antigènes cibles, une fois ceux-ci identifiés. Un exemple en est donné par les maladies auto-immunes cutanées bulleuses telles que les pemphigus (Figure 1-12). Cette stratégie s'applique à de nombreuses autres maladies auto-immunes spécifiques d'organe (Tableau 1-VII), encore que la recherche directe d'auto-anticorps dirigés contre un antigène identifié par une technique ELISA soit fréquemment adoptée, notamment dans les maladies thyroïdiennes.

Détection des complexes immuns

Les complexes immuns sont formés de molécules d'Ig et des antigènes dont elles sont spécifiques. Leur formation est physiologique et induit

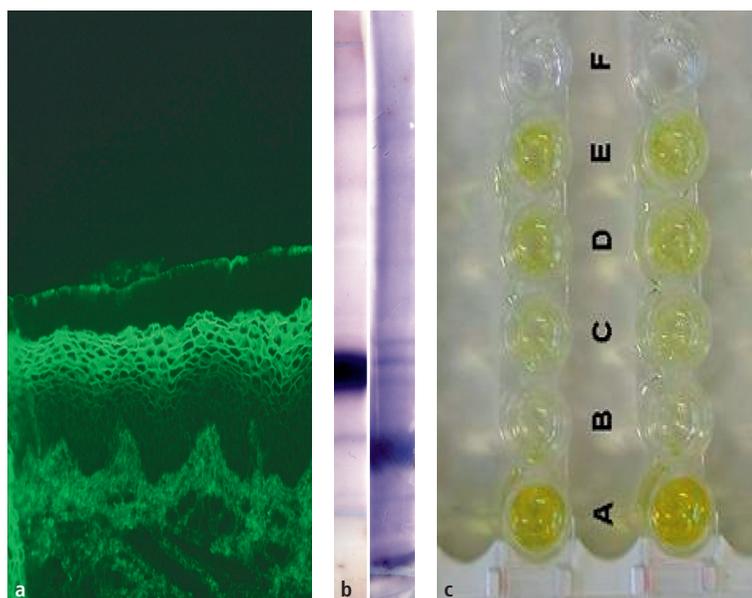


Figure 1-12 Analyse de la spécificité des anticorps anti-épiderme observés dans le sérum de malades atteints de pemphigus vulgaire ou de pemphigus superficiel. a) L'analyse en immunofluorescence indirecte du sérum montre une fluorescence en résille de l'épiderme témoignant de la présence d'anticorps antisubstance intercellulaire. b) L'analyse en immuno-empreinte d'un extrait d'épiderme avec le sérum de ces malades montre une réactivité dirigée contre une bande polypeptidique, soit de 130 kDa et correspondant à la desmogléine 3 (pemphigus vulgaire), soit de 160 kDa et correspondant à la desmogléine 1 (pemphigus superficiel). c) La desmogléine 3 ou la desmogléine 1, obtenues sous forme recombinante, sont fixées à un support solide et un test ELISA est effectué selon le principe illustré dans la figure 1-8. (Documents dus à Danièle Gilbert.)

Tableau 1-VII Techniques utilisées pour détecter et identifier les populations d'auto-anticorps au cours de maladies auto-immunes spécifiques d'organe.

Tissu	Maladie	Détection globale par IFI	IE (kDa)	Tests fonctionnels	Antigènes cibles	Tests utilisant l'antigène purifié
Peau	Pemphigus vulgaire	+	130	-	Desmogléine 3	ELISA
	Pemphigus superficiel	+	160	-	Desmogléine 1	ELISA
	Pemphigoïde bulleuse	+	180 et 210	-	BPAG1 et BPAG2	ELISA
	Dermatite herpétiforme					
Thyroïde	Thyroïdite de Hashimoto	-	-	TSII	TPO, Tg	
	Myxoedème	-	-	TSI	TPO, Tg, TSH-R	
	Maladie de Basedow	-	-			
Pancréas	Diabète de type 1	+	+		Insuline GAD65, IA-2	RIA ELISA IE
Rein	Syndrome de Goodpasture	+	+	-	Collagène de type IV	ELISA
	Syndrome hémolytique et urémique	-			Facteur H	Complément
	Purpura thrombotique	-			ADAMST13	ELISA
SNC	Syndromes paranéoplasiques	+		-	Hu, Yo, Ri	Dot, ELISA
	Encéphalite				Récepteur glutamate	
SNP	Neuropathies	-	-	-	MAG	ELISA
	- NMMBC	-	-	-	Gangliosides monosialylés	Dot, ELISA
	- neuropathies motrices	-	-	-		
Estomac	Gastrite	+	-	-	ATPase H ⁺ /K ⁺	ELISA

BPAG : antigène de la pemphigoïde bulleuse ; GAD65 : décarboxylase de l'acide glutamique ; IE : immuno-empreinte ; IFI : immunofluorescence indirecte ; MAG : glycoprotéine associée à la myéline ; NMMBC : neuropathies motrices multifocales avec bloc de conduction ; Tg : thyroglobuline ;

TPO : thyroperoxydase ; TSH-R : récepteur de la TSH ; TSI : thyroid stimulating Ig ; TSII : thyroid stimulating inhibiting Ig.

l'activation de la voie classique du complément qui est essentielle à leur solubilisation et à leur clairance. En effet, l'activation de la voie classique s'accompagne de la libération de C4b et de C3b, qui se fixent à la surface des complexes immuns, induisent leur solubilisation et empêchent ainsi

leur dépôt tissulaire. Les complexes immuns solubilisés sont transportés aux cellules phagocytaires de la rate et du foie par les globules rouges.

La détection des complexes immuns repose sur des techniques faisant appel soit à leurs propriétés physiques (masse moléculaire et pré-

cipitation au polyéthylène glycol) ou de cryoprécipitation (recherche de cryoglobuline), soit à leurs propriétés immunologiques, notamment la présence de complément au sein des complexes, comme la fixation du C1q, la déviation du C1q, la fixation aux cellules Raji. Ces dernières techniques sont aujourd'hui abandonnées.

Analyse des lymphocytes B

Analyse phénotypique des lymphocytes B

Les caractéristiques phénotypiques des lymphocytes B sont analysées par cytométrie de flux (*voir* « La cytométrie en flux et ses applications »). Cette analyse permet avant tout de dénombrer le nombre de lymphocytes B circulants grâce aux marqueurs CD19 et CD20 exprimés par la totalité des lymphocytes B matures ou à l'expression des Ig de surface en sachant que les cellules B matures portent des IgM et des IgD ou, après commutation isotypique, des IgG ou des IgA (Tableau 1-VIII). L'étude phénotypique permet aussi de distinguer, d'une part, les lymphocytes B naïfs des lymphocytes B mémoires grâce à la molécule CD27 et, d'autre part, les sous-populations lymphocytaires B : lymphocytes B transitionnels, récemment émigrés de la moelle osseuse, lymphocytes matures naïfs, lymphocytes B de la zone marginale, support cellulaire de la réponse vis à vis des antigènes thymo-indépendants. La caractérisation de ces sous-populations lymphocytaires (*voir* Tableau 1-VIII) a un intérêt au cours des déficits immunitaires communs variables (détermination de la présence de cellules mémoires), des maladies auto-immunes comme le syndrome de Gougerot-Sjögren et des syndromes lymphoprolifératifs (présence de lymphocytes B CD5⁺).

Exploration des propriétés fonctionnelles des lymphocytes B

Les propriétés fonctionnelles sont évaluées par l'étude de la prolifération des lymphocytes B ou de leur différenciation en cellules sécrétrices d'immunoglobulines.

La prolifération des cellules B peut être analysée *in vitro* après leur activation par le pontage des immunoglobulines de surface (soit par des anticorps anti-IgM, soit par la protéine A du staphylocoque Cowan) et par un deuxième signal. Celui-ci peut être apporté par des interleukines (IL-2, IL-4 ou IL-10) ou l'activation du CD40 par un anticorps monoclonal agoniste ou le ligand du CD40 exprimé par une cellule transfectée. La prolifération des cellules B est évaluée après 72 heures de culture par la mesure de l'incorporation de la thymidine tritiée dans l'ADN des cellules en division. L'étude de la sécrétion d'immunoglobulines se fait dans les mêmes conditions de stimulation, après une culture cellulaire poursuivie 5 à 7 jours. Les cellules B se différencient en effet en plasmocytes *in vitro* et produisent des molécules d'immunoglobulines détectables dans le milieu de culture par une technique ELISA. La mesure de la quantité d'immunoglobuline sécrétée permet d'évaluer la capacité de différenciation des cellules B *in vitro*. Il est aussi possible de déterminer le nombre de cellules B pro-

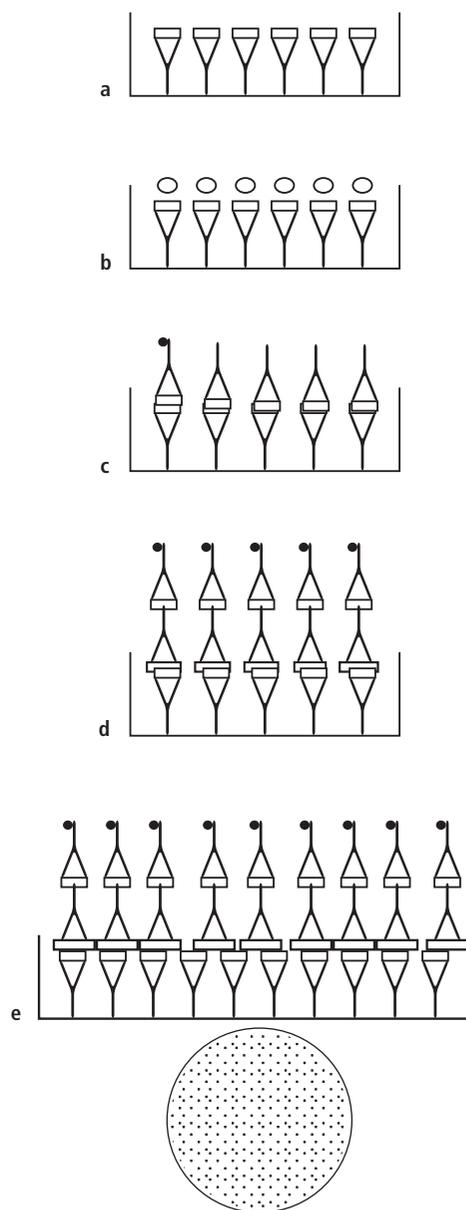


Figure 1-13 Évaluation du pourcentage de lymphocytes B circulants sécréteurs de molécules d'immunoglobulines. a) La plaque de culture est recouverte d'anticorps anti-immunoglobulines humaines. b) Les lymphocytes B sont incubés, stimulés, et les immunoglobulines sécrétées sont capturées. c) Après lyse des cellules et lavage, les anticorps anti-immunoglobulines humaines biotinylées sont ajoutés. d) Le complexe avidine-enzyme est incubé. e) Le substrat de l'enzyme est ajouté et les « spots » sont comptés.

Tableau 1-VIII Principaux marqueurs utilisés pour l'immunophénotypage des lymphocytes B.

Marqueurs pan-B

CD19, CD20, immunoglobulines de surface

Principales sous-populations définissables phénotypiquement dans le sang

IgM ⁺ , IgD ⁺ , CD27 ⁻	B matures naïfs
IgM ⁺ , IgD ⁺ , CD27 ⁺	B de la zone marginale
IgM ⁻ , IgD ⁻ , CD27 ⁺	B mémoires commutés
CD19 ⁺ , CD21 ⁻ , CD26 ⁺ , CD38 ⁺	B transitionnels

duisant des immunoglobulines. La technique utilisée est l'ELISPOT (Figure 1-13) qui peut aussi évaluer le nombre de cellules B sécrétrices de molécules d'immunoglobulines spécifiques d'un antigène donné.

Exploration du système complémentaire [4]

Le système complémentaire participe aux mécanismes de défense vis-à-vis des infections bactériennes et virales par son rôle dans la stimulation de la phagocytose des bactéries par les cellules du système monocytaire macrophagique (opsonisation), la lyse d'agents bactériens

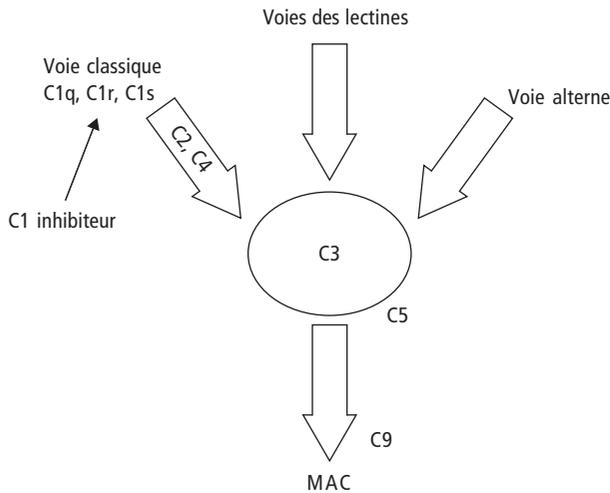


Figure 1-14 Voies d'activation du complément. Le schéma montre les trois voies d'activation du système complémentaire, le rôle de la molécule C3 et la voie lytique C5-C9.

ou viraux, la libération de facteurs chimiotactiques et anaphylactiques (respectivement C5a et C3a) et la solubilisation des complexes immuns. Il participe aussi à l'activation du système immunitaire adaptatif par l'initiation de la réponse lymphocytaire B, notamment par l'interaction de la molécule C3d avec le CR2 exprimé par les lymphocytes B. Les propriétés fonctionnelles du système complémentaire s'exercent en outre grâce à la présence à la surface cellulaire, de récepteurs pour certains fragments du complément. La figure 1-14 montre les trois voies d'activation du complément, la place centrale de la molécule C3 et la voie lytique terminale. L'activation du système complémentaire est contrôlée par des protéines du sérum ou exprimée à la surface des cellules.

L'exploration du système complémentaire vise à mettre en évidence trois grands types d'anomalies : la consommation de composants par la mise en jeu des voies d'activation, les déficits en complément et la production d'auto-anticorps dirigés contre des composants. Son exploration initiale repose sur la détermination du CH50, le dosage du C4, du facteur B et du C3 [4].

L'activation des protéines du complément joue, de plus, un rôle majeur dans la réponse inflammatoire et le déclenchement des lésions tissulaires au cours de nombreuses maladies systémiques. Les profils observés permettent donc une orientation diagnostique (Tableau 1-IX). Les déficits en complément sont à l'origine de maladies inflammatoires ou d'une susceptibilité aux infections. Ainsi les déficits des composants de la voie classique exposent-ils à la survenue d'un LES, qu'ils s'agissent des exceptionnels déficits en C1q ou en C1r/C1s, de déficits en C4 dont les déficits complets sont rares ou du déficit homozygote en C2. Leur diagnostic repose sur la détermination du CH50 et le dosage des composants C3, C4 et C1q. Les déficits portant sur la voie lytique terminale s'accompagnent principalement de manifestations infectieuses à *Neisseria*. L'exploration comporte ici encore la détermination du CH50 et la correction de celui-ci par l'ajout du facteur purifié manquant. L'œdème angioneurotique est lié à un déficit quantitatif ou fonctionnel du C1 inhibiteur, déficit qui peut être héréditaire ou acquis. Le déficit héréditaire en C1 inhibiteur est caractérisé par une diminution du CH50, la consommation de C4 et un taux normal de C1q. Le C1 inhibiteur peut être soit diminué, soit non fonctionnel. Le déficit acquis en C1 inhibiteur est dépistée sur la diminution du CH50, du C4 et du C1q. Il peut être lié à la présence d'anticorps anti-C1 inhibiteur. Des anomalies du

Tableau 1-IX Profils d'activation du complément observés au cours de différentes situations pathologiques.

Voie d'activation	CH50	C4	C3	B	Pathologies
Classique	↓	↓	↓	N	Lupus, vascularite systémique, cryoglobulinémie essentielle, maladies du sérum
Alterne	↓	N	↓	↓	Glomérulonéphrite aiguë post-streptococcique, C3Nef, bactériémie à Gram négatif, déficit en facteur H ou facteur I
Classique et alterne	↓	↓	↓	↓	Lupus, glomérulonéphrite membranoproliférative de type I
Activation phase fluide	↓	↓	N	N	Œdème angioneurotique
Erreur de prélèvement	↓	N	N	N	Prélèvement conservé trop longtemps à température ambiante

complément peuvent en effet être liées à la production d'auto-anticorps dirigés contre les fractions du complément. À côté de l'œdème angioneurotique acquis et associé à des anticorps anti-C1 inhibiteur, il faut mentionner la production d'anticorps anti-C1q au cours du LES qui serait positivement corrélée à la présence d'une atteinte rénale, à la présence d'anticorps anti-C3 convertase soit de la voie classique, soit de la voie alterne qui s'accompagne d'une glomérulonéphrite membranoproliférative ou enfin d'anticorps antifacteur H que l'on peut observer au cours de certains syndromes hémolytiques et urémiques.

Analyse des lymphocytes B au niveau de l'ARN [8]

Il est possible d'analyser l'expression d'un gène au sein des lymphocytes B par la détection et la quantification des ARN messagers (ARNm). On peut ainsi détecter la présence des ARNm par la technique du Northern-blot, du dot-blot et de la RT-PCR. Ces techniques ont cependant leurs propres limites car elles ne permettent pas l'analyse simultanée et globale des gènes impliqués dans les anomalies des lymphocytes B au cours des maladies auto-immunes et des syndromes lymphoprolifératifs. La technique des *micro-arrays* permet l'étude de l'abondance des transcrits à grande échelle, c'est-à-dire l'analyse des transcriptomes. Celle-ci permet l'évaluation de l'expression de milliers de gènes simultanément et d'obtenir ainsi des signatures moléculaires d'un état d'activité de la cellule, donc une vision globale du fonctionnement cellulaire lors d'une situation physiologique ou pathologique à un instant donné. La technologie des puces ou *arrays* repose sur l'hybridation d'un jeu ordonné de sondes d'ADN ou de courts oligonucléotides fixés sur un support solide avec des cibles préparées à partir des ARNm extraits des lymphocytes B. La figure 1-15 résume les différentes étapes de la technique des *macro-arrays*. La technologie des *micro-arrays* utilise un support en verre et la fluorescence pour le marquage des cibles.

Les applications cliniques principales sont :

- l'identification du profil d'expression ou de la signature moléculaire caractéristique d'une maladie, donnant une vision globale du niveau d'expression des gènes, et donc l'identification de marqueurs diagnostiques ou pronostiques de la maladie ;
- une approche physiopathologique par le regroupement des gènes ayant un profil d'expression similaire ;

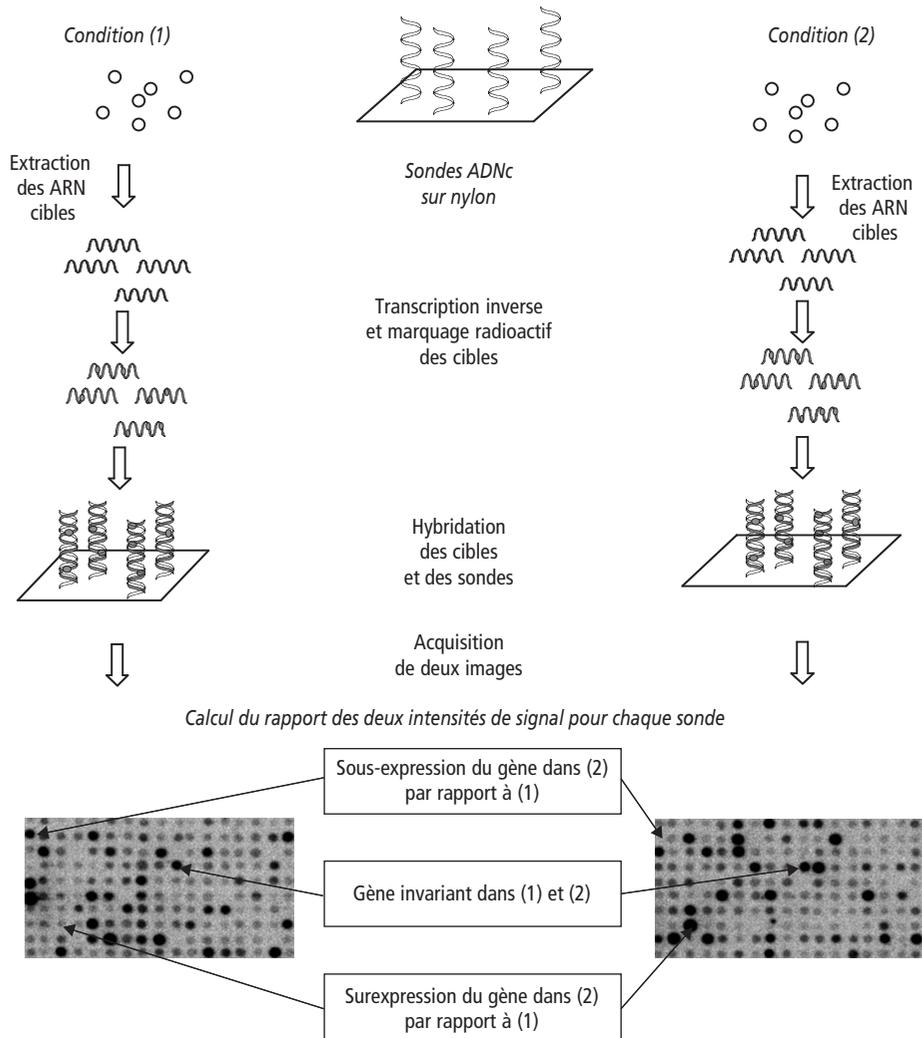


Figure 1-15 Analyse du transcriptome des lymphocytes B par la technique des *macro-arrays*. Les cibles extraites des lymphocytes B et marquées par radioactivité sont hybridées avec un jeu ordonné de sondes immobilisées sur une membrane de nylon. Le rapport des deux intensités de signal propres à chaque ARNm dans chacune des deux conditions traduit le niveau de fluctuation d'expression des gènes. Plusieurs méthodes bio-informatiques ont été développées pour analyser les larges quantités de données générées par ces expériences de *macro-arrays*. On peut ainsi comparer l'expression différentielle des gènes entre les deux échantillons.

– l'identification de marqueurs prédictifs de réponse à un traitement.

La puissance de l'analyse des transcriptomes laisse augurer de nouvelles classifications diagnostiques ou pronostiques dans les maladies touchant le lymphocyte B [8].

Analyse des lymphocytes B au niveau de l'ADN

Cette analyse a essentiellement pour but de rechercher, au sein d'une population cellulaire, un réarrangement prédominant des segments génétiques codant une chaîne lourde d'Ig, ce qui permet de détecter une prolifération monoclonale B. L'approche aujourd'hui utilisée est l'analyse de la taille de la jonction V-D-J (Figure 1-16). Celle-ci est hétérogène au sein d'une population lymphocytaire polyclonale. L'analyse des produits d'amplification de ces fonctions donne donc un aspect diffus dans un gel d'agarose. La présence d'un

clone B prépondérant se traduit par un produit d'amplification de taille unique et qui constitue une véritable « bande étroite » d'ADNc (voir Figure 1-16).

Exploration du compartiment lymphocytaire T

Diversité des populations lymphocytaires T

Les lymphocytes T reconnaissent les antigènes exprimés à la surface d'une autre cellule. Ils possèdent pour cette fonction un récepteur clonal, le récepteur pour l'antigène des lymphocytes T (TCR pour *T cell receptor*), associé au multimère CD3. L'essentiel des lymphocytes T possèdent un TCR de type $\alpha\beta$ qui reconnaît les antigènes sous la forme de peptides présentés par les molécules du complexe majeur d'histocompa-

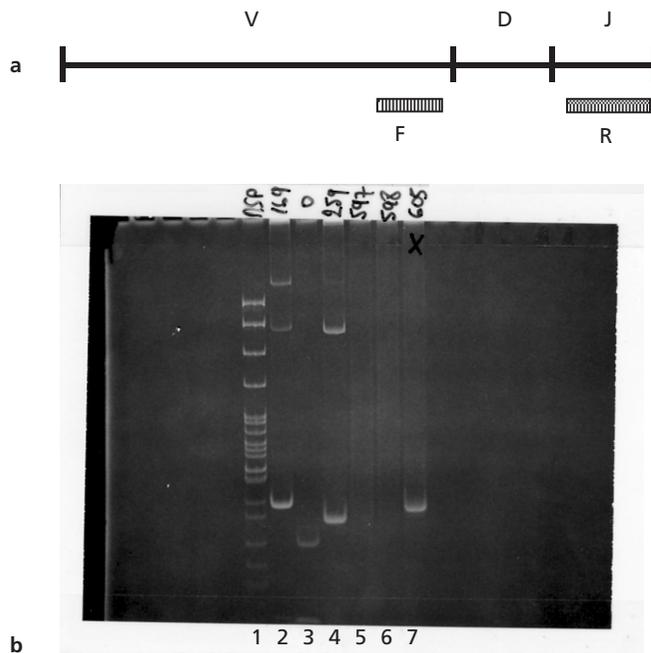


Figure 1-16 Analyse dans un gel d'agarose des produits d'amplification par PCR des jonctions V(D)J des chaînes lourdes d'immunoglobulines. a) L'ADN est extrait des lymphocytes et les jonctions (V, D, J) sont amplifiées par PCR à l'aide des amorces (R et F) encadrant cette séquence. b) Dans le gel d'agarose, la piste de gauche correspond aux marqueurs de taille ; les pistes 2, 4 et 7 à l'amplification de l'ADN d'une population lymphocytaire contenant un clone lymphocytaire B, les pistes 3, 5 et 6 à l'amplification de l'ADN d'une population lymphocytaire B polyclonale.

tibilité HLA ; et ils expriment de façon mutuellement exclusive un corécepteur CD4 ou CD8 en fonction de la classe de molécule HLA qui restreint leur reconnaissance antigénique, classe II (HLA-DR, DQ, DP) ou classe I (HLA-A, B, C), respectivement. Un lymphocyte T donné n'exprime qu'une seule chaîne TCR- β , associée à une (ou deux) chaîne(s) TCR- α .

Les lymphocytes T CD3⁺ TCR- $\alpha\beta$ ⁺ se différencient dans le thymus à partir d'un précurseur lymphoïde issu de la cellule souche hématopoïétique, puis quittent cet organe sous forme de lymphocytes naïfs qui circulent dans le sang et les organes lymphoïdes secondaires (et non dans les tissus périphériques). La réponse immunitaire T adaptative est initiée dans les organes lymphoïdes secondaires par la reconnaissance d'antigènes présentés sous forme de complexe HLA/peptide par des cellules dendritiques activées qui y migrent à partir des tissus périphériques. Les lymphocytes ainsi activés vont alors subir une expansion clonale et se différencier en cellules effectrices dont une partie persistera sous forme de lymphocyte mémoire. Parmi les sous-populations fonctionnelles des lymphocytes T CD3⁺ TCR- $\alpha\beta$ ⁺, effectrices ou régulatrices, citons les lymphocytes T CD4⁺ auxiliaires T_H1 sécréteurs de cytokines de type 1 (interleukine 2, interféron γ), les lymphocytes T CD4⁺ auxiliaires T_H2 sécréteurs de cytokines de type 2 (interleukine 4, interleukine 10), les lymphocytes T CD4⁺ auxiliaires T_H17 sécréteurs d'IL-17 et d'IL-22, les lymphocytes T CD4⁺ auxiliaires folliculaires T_{FH}, les lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques, les lymphocytes T régulateurs naturels ou induits (T reg) CD4⁺ CD25⁺ qui régulent physiologiquement l'immunité et T_R1 (sécréteurs d'interleukine 10) qui apparaissent dans certaines conditions d'activation [5].

Outre les lymphocytes conventionnels CD3⁺ TCR- $\alpha\beta$ ⁺, il existe d'autres populations, minoritaires dans le sang, mais qui peuvent être retrouvées en plus grande abondance dans certains tissus ou organes : les lymphocytes T CD3⁺ TCR- $\gamma\delta$ ⁺ qui reconnaissent des phosphoantigènes, les lymphocytes NKT CD3⁺ TCR- $\alpha\beta$ ⁺ exprimant des marqueurs de cellules NK qui reconnaissent des lipides antigéniques présentés par les molécules CD1d. Enfin les cellules NK CD3⁻ dépourvues de TCR qui lysent naturellement les cellules ayant perdu l'expression de certaines molécules HLA de classe I (cellules infectées, cellules tumorales) appartiennent aux lymphocytes de l'immunité naturelle avec d'autres populations sécrétrices de cytokines.

Ordres de grandeur de la taille et de la diversité des compartiments T

Pour interpréter les résultats d'une exploration des lymphocytes T, il convient de prendre en considération certains ordres de grandeur. Rappelons d'abord que, de façon comparable à la lymphopoïèse B, le réarrangement de l'ADN germlinal au niveau des loci codant les chaînes TCR- α et TCR- β donne naissance à un large répertoire (ensemble des spécificités clonales portées par les TCR des lymphocytes T) qui permet la reconnaissance d'un nombre virtuellement illimité d'antigènes. Parmi les nombreux segments génétiques disponibles au locus TCR-B (et TCR-A), le réarrangement va juxtaposer un segment unique TCR-V β , D β et J β (et TCR-V α et J α pour la chaîne α), pour aboutir in fine à un gène complet VDJ β -C β et VJ α -C α codant respectivement une chaîne TCR- β et une chaîne TCR- α complète. Des mécanismes moléculaires additionnels vont entraîner une variabilité génétique considérable, principalement à la jonction V(D)J qui correspond à la région CDR3 de la molécule qui entre en contact avec le peptide antigénique sur la molécule HLA. La diversité issue de ce mécanisme peut être estimée à environ 25×10^6 TCR- $\alpha\beta$ différents dans le sang à l'âge adulte. On évalue par ailleurs à $5-10 \times 10^{11}$ le nombre total de lymphocytes T dans l'organisme. Le nombre de lymphocytes T sanguins totaux s'établit quant à lui à environ 10^{10} cellules (ce que l'on peut retrouver aisément en calculant : lymphocytose $1-4 \times 10^9/l$ \times volémie $5l$ \times fréquence des lymphocytes T 70-80 p. 100). Ainsi, s'il est usuel de considérer que les lymphocytes T sanguins sont globalement représentatifs de l'ensemble des lymphocytes T de l'organisme, il convient de rappeler qu'ils ne représentent en fait que $10^{10}/5-10 \times 10^{11} = 1-2$ p. 100 de ce compartiment (le reste étant principalement localisé dans les organes lymphoïdes secondaires, rate et ganglions lymphatiques, avec un compartiment abondant dans les structures lymphoïdes associées au tube digestif) et que d'importantes variations de répartition de sous-populations ainsi que d'états fonctionnels existent en fonction des localisations lymphoïdes ou extralymphoïdes. Par exemple, les lymphocytes T $\gamma\delta$ sont rares dans le sang mais retrouvés en fréquence plus élevée au sein des lymphocytes intra-épithéliaux de l'intestin.

En termes clonaux, la comparaison de la diversité du répertoire T sanguin (25×10^6 TCR- $\alpha\beta$ différents) et de la taille de ce compartiment (10^{10} cellules) indique que la taille d'un clone donné est environ de 10^2 à 10^3 cellules. Cet ordre de grandeur, purement théorique, est en fait inégalement réparti entre deux populations : les lymphocytes T naïfs (avant la rencontre avec l'antigène) dont le répertoire est très diversifié et la taille des clones plus restreinte, et les lymphocytes T mémoires dont le répertoire est plus restreint (il a été sélectionné en réponse à un nombre limité d'antigènes) et la taille des clones plus grande (du fait de l'expansion clonale). Proche de 100 p. 100 à la naissance, le rapport lymphocytes T naïfs/lymphocytes T totaux diminue en fonction de l'âge, traduisant l'accumulation des rencontres antigéniques au cours de la vie. Terminons ces considérations numériques sur le