

## Ac anti-ADN

Les anticorps anti-ADN forment un sous-groupe d'anticorps anti-nucléaires décrits en 1957. Ils peuvent reconnaître deux formes d'ADN : l'ADN natif ou bicaténaire (ADNn, ADN double brin, *double stranded DNA*, *dsDNA*) et l'ADN dénaturé ou monocaténaire (ADNd, ADN simple brin, *simple stranded DNA*, *ssDNA*).

Avec les anticorps anti-histones et anti-nucléosomes, les anti-ADN induisent une fluorescence anti-nucléaire, d'aspect classiquement homogène sur cellules HEP2.

Seuls les anticorps anti-ADNn sont fortement associés au lupus érythémateux systémique et ont une véritable valeur diagnostique, à condition d'utiliser une méthode spécifique pour les détecter. Ils font partie des 11 critères diagnostiques du lupus, selon l'ACR (American College of Rheumatology).

La présence d'IgG anti-ADNn n'est pas synonyme de lupus, mais ils sont rares chez le sujet sain. La concentration sérique des anti-ADNn est corrélée à l'activité de la maladie ainsi qu'à la fréquence et à la sévérité de l'atteinte rénale. Ils sont moins spécifiques que les anti-Sm, mais ils sont beaucoup plus fréquents, avec une sensibilité de 35 à 90 % selon la technique utilisée. L'interprétation de leur présence devra être confrontée aux données cliniques et tenir compte de la sensibilité et de la spécificité de la technique utilisée pour leur détection (faux positifs).

L'intérêt du dosage des anti-ADNn dans le suivi du lupus systémique tient à la possibilité, chez certains patients, de prévoir une rechute par l'évolution du titre des anticorps, son augmentation pouvant précéder la rechute clinique de plusieurs mois. C'est en particulier chez les patients atteints de glomérulonéphrite lupique que l'on observe la meilleure corrélation entre les taux d'Ac anti-ADNn et l'évolution clinique.

Le monitoring thérapeutique est amélioré : par une corticothérapie à faibles doses indiquée chaque fois que le taux des anti-ADNn augmente, il serait possible de diminuer l'incidence des rechutes et de raréfier les rechutes graves nécessitant un traitement cytotoxique. Il n'y a pas de consensus sur la périodicité du suivi biologique permettant au mieux de prévenir les poussées.

Soulignons que la VS, la protéinurie, les fractions C3 et C4 du complément sont les autres marqueurs informatifs dans le suivi de l'évolution clinique du patient lupique.

### Autoantigène

Les cibles antigéniques sont les liaisons entre les paires de base (désoxyguanosine-désoxycytosine, désoxy-

adénosine-désoxythymidine), les liaisons phosphodiester entre désoxyribose et acide phosphorique, et des antigènes conformationnels de la double hélice.

La plupart des anti-ADNn reconnaissent l'ADNn et l'ADNd. Les anti-nucléaires qui ne reconnaissent que l'ADNsb, c'est-à-dire les bases puriques et pyrimidiques, qui sont inaccessibles quand les deux brins d'ADN sont soudés l'un à l'autre, sont rares.

Les mécanismes qui conduisent à l'autoimmunisation restent obscurs ; l'ADN représente un antigène peu immunogène. Une hypothèse repose sur la présence d'autoanticorps naturels anti-ADNn et anti-ADNd, de classe IgM, et de faible affinité. Ces anticorps naturels peuvent subir une commutation de classe IgM-IgG et des mutations somatiques de leurs gènes aboutissant à des anticorps plus pathogènes et de plus forte affinité. Il est possible d'induire des anti-ADN chez la souris par injection de produits chimiques irritants (pristane), d'antigènes tels que de l'ADN bactérien, des phospholipides de la paroi bactérienne, des virus, des complexes d'ADN et de protéines. Les autoanticorps produits peuvent ou non se déposer sur les membranes glomérulaires et induire des lésions de glomérulonéphrite. Il semble que les anticorps induits par l'injection d'antigènes contenant de l'ADN soient les plus néphritogènes. L'antigène inducteur serait la chromatine : succession de nucléosomes séparés par des brins d'ADN internucléosomique ou ADN de liaison, ou les nucléosomes eux-mêmes.

Des complexes ARN-protéines peuvent également jouer un rôle dans l'autoimmunisation et induire des anticorps anti-ADN.

### Pathogénicité des anti-ADN

Elle est suggérée par la corrélation entre le titre des autoanticorps et son évolution chez certains malades, et l'évolution clinique de la maladie. Elle a été confirmée par de nombreux modèles animaux. Cependant, certains patients ne développent pas de glomérulonéphrite alors que leurs taux d'anti-ADNn sont élevés.

Le mécanisme des lésions, notamment glomérulaires, est incertain. Une théorie est basée sur la circulation des complexes immuns ADN-anti-ADN et leur dépôt sur la membrane glomérulaire. Elle est corroborée par la mise en évidence de dépôts granuleux d'immunoglobulines et de complément sur le versant épithélial de la membrane basale glomérulaire, sur les biopsies de rein de patients lupiques. L'activité anti-ADN de ces anticorps est confirmée après élution. Un mécanisme prépondérant pourrait être lié à la formation *in situ* des complexes immuns : l'ADN peut se fixer sur le collagène V de la membrane basale ; les anti-ADN se fixent ensuite sur

ces antigènes « plantés ». Les histones, très cationiques, pourraient aussi jouer un rôle dans la fixation de l'antigène : elles se déposeraient d'abord sur la membrane basale anionique et captureraient secondairement l'ADN, également anionique. Ces antigènes cationiques pourraient également être des nucléosomes. Ceux-ci peuvent être reconnus par des anticorps restreints, des anti-ADN et des anti-histones.

### **Méthodes de détection**

Les anticorps anti-ADN (double ou simple brin) font partie des anticorps anti-nucléaires de type chromatine, avec un aspect de fluorescence homogène sur cellules HEP2, parfois avec un renforcement à la périphérie du noyau. Les chromosomes à la mitose sont positifs.

Il existe quatre groupes de méthodes, qui diffèrent par la nature de l'ADN utilisé (purifié, recombinant), les isotypes (IgG, IgM) et l'avidité des anticorps détectés, et donc par leur sensibilité et spécificité.

- RIA, test de Farr : c'est un test d'immunocapture isotopique fondé sur la précipitation, par le sulfate d'ammonium à saturation, des complexes d'ADN marqué à l'iode 125 et des anti-ADNn (tous les isotypes) apportés par le sérum à tester. Les résultats sont quantitatifs, comparés à une gamme étalon contenant de fortes concentrations d'anti-ADNn issus de malades lupiques, et sont exprimés en unités internationales par millilitre. Ce test détecte les anticorps de haute affinité pour l'ADN natif. Sensible et spécifique, il est considéré comme le test de référence. Le test de Farr est corrélé au score SLEDAI-2K (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000), aux atteintes rénales et aux signes de vascularites.
- IFI, sur frottis de *Crithidia luciliae*, protozoaire parasite flagellé de la mouche, non pathogène pour l'homme et facile à cultiver *in vitro*. Les anticorps anti-ADN natif donnent une fluorescence intense du kinétoplaste, qui est riche en ADN double brin circulaire et pauvre en histones. Cette technique détecte les anticorps de forte et de faible affinité. Elle est spécifique mais pas très sensible. Les résultats sont exprimés en croix ou en titre.
- ELISA : les puits de la plaque de microtitration sont recouverts d'ADN natif. Les résultats sont quantitatifs et peuvent être exprimés en unités internationales. Ces techniques sont très sensibles et présentent l'inconvénient de faux positifs, liés notamment à la présence de segments d'ADN simple brin : seuls les résultats fortement positifs sont à considérer, mais le problème du seuil de positivité se pose. Il existe des techniques dérivées de l'ELISA, mais automatisées en tests *random access*. Le signal détecté peut être une

fluorescence ou une luminescence. Ce sont habituellement des IgG qui sont dosées par ces tests.

- Technologie Luminex® : elle repose sur l'utilisation de microbilles comme support d'antigène. Les billes sont colorées par un mélange de 2 marqueurs fluorescents, produisant différents niveaux de fluorescence. Des billes de coloration différentes, chacune spécifique d'un antigène, sont mélangées, permettant la mise en évidence de plusieurs anticorps simultanément dans le sérum. La réaction antigène-anticorps est révélée par l'ajout d'un conjugué fluorescent. Par lecture cytofluorimétrique, les différentes spécificités sont identifiées et quantifiées. Cette technologie est utilisée par plusieurs firmes, qui commercialisent des kits de détection de larges panels d'autoanticorps (connective, rhumatoïde, cœliaque, thyroïde), et en sérologies infectieuses. Elles sont très séduisantes parce qu'il est possible d'établir un profil complet en une seule prise d'essai.

### **Spécificité des anti-ADNn**

La présence d'anticorps anti-ADNn de forte avidité, d'isotype IgG à des taux élevés, est très en faveur d'un lupus. Cependant, des taux significatifs (surtout en technique ELISA) ont été décrits au cours d'autres maladies systémiques comme la polyarthrite rhumatoïde, le syndrome de Gougerot-Sjögren et la connectivite mixte ; au cours d'hépatopathies chroniques : hépatites chroniques médicamenteuses ou autoimmunes (rarement au cours de cirrhose biliaire primitive) ; et enfin, au cours de syndromes primaires des antiphospholipides (SAPL).

Les anti-ADNn d'isotype IgM ont une faible valeur diagnostique ; ils peuvent être détectés au cours d'autres maladies autoimmunes que le lupus, et au cours d'infections virales.

Ces observations soulignent combien il est parfois difficile de poser les limites de ces maladies systémiques, aux cadres nosologiques imprécis : il peut s'agir d'une polyarthrite rhumatoïde avec des anti-ADNn ou bien d'un lupus à présentation articulaire, dont le tableau clinique n'est pas (encore) assez riche pour convenir aux critères de l'ACR... C'est pourquoi il peut parfois être nécessaire de recourir à une technique de confirmation, comme le test de Farr ou *Crithidia luciliae*.

Notons que le dosage des anticorps anti-ADN ne permet pas de détecter une atteinte évolutive du système nerveux central.

Le diagnostic différentiel entre lupus induit médicamenteux et lupus idiopathique, aux présentations cliniques proches, repose sur la mise en évidence des anti-ADNn. En effet, les anticorps anti-histone sont aussi fréquents

dans les deux cas et ne sont pas discriminants, tandis que les anti-ADNn et les anti-ENA sont très rares au cours des lupus induits.

### **Les anti-ADNsb**

Les anti-ADNsb stricts (ne reconnaissant que l'ADN simple brin) sont retrouvés dans le LED, en particulier dans le lupus discoïde, mais leur positivité n'est pas suffisante comme critère de diagnostic. Ils sont aussi retrouvés dans des maladies rhumatismales, les syndromes inflammatoires, infections virales, et chez les sujets normaux.


Ils sont sans intérêt en diagnostic, ni en pronostic.


### **Critères diagnostiques de lupus**

Quatre critères sur 11 sont nécessaires pour définir un lupus :

- érythème malaire en aile de papillon ;
- lupus discoïde ;
- photosensibilité ;
- ulcérations buccales et/ou nasopharyngées ;
- polyarthrite non érosive ;
- péricardite et/ou pleurésie ;
- psychose et/ou convulsions ;

- néphropathie :
  - protéinurie > 0,5 g/24 h ;
  - cylindres urinaires.
- cytopénies :
  - anémie hémolytique ;
  - leucopénie < 4 000/mm<sup>3</sup> ;
  - lymphopénie < 1 500/mm<sup>3</sup> ;
  - thrombopénie < 100 000/mm<sup>3</sup>.
- désordres immunologiques :
  - anticorps anti-ADN natif ;
  - anticorps anti-Sm ;
  - anticorps anti-cardiolipine ;
  - anticoagulant circulant ;
  - VDRL+ avec TPHA négatif.
- anticorps anti-nucléaires.

 *Ac anti-histones, Ac anti-nucléaires, Ac anti-nucléosomes*

 Croquefer S, Guéguen P, Renaudineau Y, Jousse S, Renaudineau E, Bendaoud B, Hanrotel C, Devauchelle V, Youinou P. Les anticorps anti-AND ne sont plus ce qu'ils étaient !... L'apport des nouvelles techniques de dépistage au diagnostic du lupus érythémateux disséminé. Rev Fr Lab 2006 ; 36/386 : 25-32.

Neogi T, Gladman DD, Ibanez D, Urowitz M. Anti-dsDNA antibody testing by Farr and ELISA techniques is not equivalent. J Rheumatol 2006 ; 33 : 1785-1788.