

Les autoanticorps dans les dermatoses bulleuses auto-immunes

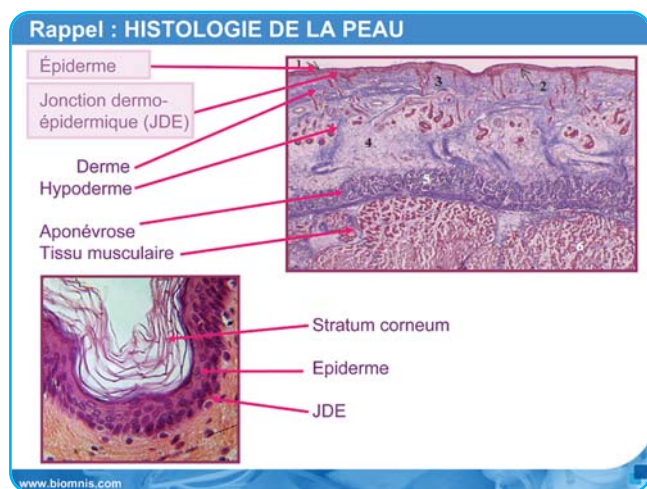
Définitions

Clinique :

caractérisée par des lésions cutanées (et/ou muqueuses) bulleuses liées à la présence d'auto-anticorps se fixant sur les structures assurant la cohésion de l'épiderme ou de la jonction dermo-épidermique. Ces anticorps sont déposés sur leur cible (peau) ou sont circulants.

D'après les critères du GOLD STANDARD : le diagnostic de DBAI (dermatose bulleuse auto-immune) est posé sur l'association des 3 critères suivants : clinique, histologique et immunopathologique. La recherche d'anticorps circulants est demandée devant toute suspicion de DBAI, car elle aide au diagnostic et au suivi des patients.

Histologie de la peau :



La peau est constituée de l'extérieur vers l'intérieur, de l'épiderme qui comprend 80 % de kératinocytes suivi par la jonction dermo-épidermique [JDE], du derme et de l'hypoderme. En fonction de la cible des autoanticorps, on distingue :

- les DBAI intra-épidermiques
- les DBAI sous-épidermiques

Les DBAI intra épidermiques (groupe des pemphigus) :

se caractérisent par une perte de cohésion interkératinocytaire.

On distingue 3 grands groupes en fonction de la localisation cutanée ou muqueuse des lésions :

- **Le Pemphigus profond ou vulgaire (PV)** : forme rare, touchant les personnes entre 40 et 50 ans, caractérisée par des érosions muqueuses buccales douloureuses qui s'étendent ensuite à la peau.
- **Les Pemphigus superficiels (PS)** : P. érythémateux endémiques foliacés caractérisés par les lésions érythémato-squameuses sur des zones séborrhéiques mais sans lésion des muqueuses. La distinction entre (PV) et (PS) se fait sur l'histologie.
- **Le Pemphigus paranéoplasique (PPN)** associé à certaines affections néoplasiques surtout lymphoprolifératives.

Diagnostic des Pemphigus établi sur les 3 critères suivants :

- **Clinique** : aspect et localisation des bulles/ signe de Nikolsky.
- **Histologie** : réalisée à partir d'une biopsie de bulle intra-épidermique intacte. Les bulles sont essentiellement acantholytiques, avec site de clivage profond pour le PV et superficiel pour le PS.
- **Immunofluorescence directe** : marquage de la jonction interkératinocytaire "en résille", pouvant être associé à un marquage linéaire dans les PPN. Le groupe des Pemphigus est caractérisé par la présence d'anticorps anti-desmosomes.

Les DBAI sous épidermiques (pemphigoïdes) :

Les DBAI sous-épidermiques ou groupe des Pemphigoïdes, sont caractérisées par une altération de la jonction dermo-épidermique.

On distingue :

- **Pemphigoïde bulleuse** : sa fréquence est en augmentation et concerne les sujets de plus de 70 ans, caractérisée par des lésions eczématiformes avec bulles de grande taille.
- **Pemphigoïde cicatricielle** : concerne les muqueuses oculaire (avec risque de cécité), buccale et génitale.
- **Pemphigoïde de la grossesse** : ou *herpes gestationis* est une forme rare de pemphigoïde qui se caractérise par un prurit abdominal intense au premier trimestre de la grossesse, régresse à l'accouchement mais avec risque de récurrences aux grossesses ultérieures.
- **Autres** : Epidermolyse bulleuse acquise (EBA), dermatose à IgA linéaire, dermatite herpétiforme.

Diagnostic des Pemphigoïdes :

- **Clinique** : cf ci-dessus
- **Histologie** : on observe des bulles tendues avec décollement dermo-épidermique.

■ **L'immunofluorescence directe** montre un marquage linéaire le long de la membrane basale. Les DBAI sous-épidermiques sont caractérisées par la présence d'anticorps dirigés contre les antigènes de la jonction dermo-épidermique (JDE).

L'IFI dans les DBAI est la méthode de référence pour dépister et titrer les anticorps sériques.

- **Dans le Pemphigus**, on observe un marquage "en résille" de la substance inter-kératinocytaire sur œsophage de rat et œsophage de singe, appelés anticorps anti-substance intercellulaire (anti-SIC).
- **Dans la Pemphigoïde bulleuse** : on observe un marquage linéaire le long de la JDE sur œsophage de rat et peau humaine, appelés anticorps anti-membrane basale (anti MB).

Les antigènes des anticorps présents dans les DBAI ont été identifiés par différentes techniques, dont le WBlot et l'IME. C'est ainsi que les principales cibles identifiées dans les pemphigus, sont les desmosomes (principales structures responsables de l'adhésion interkératinocytaire). Ils sont composés de 3 parties, dont une région extracellulaire comportant desmoglénines (Dsg) et desmocollines permettant le lien entre les cellules. Il existe 3 isoformes de Dsg. Par ailleurs, il a été montré que les antigènes cibles principaux des pemphigus V, S et PPN sont les desmoglénines 1 et 3 : anti- Dsg 3 pour le PV et anti- Dsg 1 pour le PS. Dans les DBAI sous-épidermiques, les antigènes cibles sont des molécules impliquées dans l'adhésion dermo-épidermique, comprenant les hémidesmosomes et la membrane basale. Dans les hémidesmosomes situés au niveau du pôle basal des kératinocytes basaux, on a mis en évidence la protéine BP 230 et la partie intracellulaire de la protéine BP 180. Au niveau de la membrane basale, la lamina lucida est traversée par des filaments d'ancrage dont la partie externe de la protéine BP 180. Il a été montré que l'antigène BP 180 était la cible des auto-anticorps dans les PB et les PG.

Les tests ELISA dans les DBAI :

Les principales protéines ayant été identifiées, des protéines recombinantes ont été fabriquées et utilisées pour la mise au point de tests ELISA. Ainsi, l'antigène utilisé est fixé sur une microplaque ; le sérum du patient est déposé, les complexes sont des antiglobulines marquées par une enzyme et la réaction est révélée par colorimétrie. L'équipe japonaise du Professeur Amagai a mis au point des tests ELISA anti-Dsg 1 et Dsg 3 pour le diagnostic des Pemphigus grâce à des épitopes cibles constitués à partir de la partie extra-cellulaire de ces protéines. Cette même équipe a également mis au point et commercialisé un test ELISA dirigé contre l'épitope cible de la protéine BP 180, appelé région NC16 a.

Evaluation des tests Elisa pour le diagnostic de DBAI :

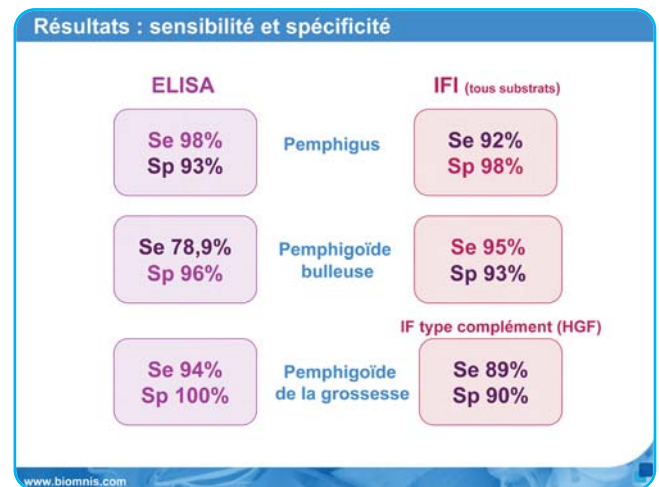
- Le travail a été fait dans le cadre des objectifs affichés par le centre de référence des maladies bulleuses en Ile de France.
- L'objectif du travail a été d'évaluer les tests Elisa commercialisés anti-Dsg1, anti-Dsg3 et anti-BP180 dans le diagnostic des DBAI, en particulier les pemphigus : PB et PG. Les résultats obtenus en ELISA ont été comparés aux résultats obtenus en IFI sur 3 substrats (œsophage de rat, de singe et de peau humaine).
- Les critères d'inclusion ont été définis pour nos différentes populations : résultats cliniques, histologie et IFD de patients dont le sérum a été reçu et conservé au laboratoire entre 1993 et 2005. La population témoin a été judicieusement choisie.
- La question posée est de savoir si les tests ELISA peuvent se substituer à l'IFI dans le diagnostic des Pemphigus, PB et PG ?

Matériel :

- **48 Pemphigus** : 29 PV, 12 PS, 4 PPN, 3 inclassables
- **103 Témoins** : 54 non DBAI, 43 PB, 6 autres
- ▶ **Anti- Dsg 1 et anti- Dsg 3**
- **57 Pemphigoïdes bulleuses**
- **103 témoins** : 54 non DBAI, 43 Pemphigus, 6 autres porteurs d'autres auto-anticorps suspectés d'être à l'origine de faux positifs.
- ▶ **Anti-BP180**
- **18 Pemphigoïdes de la grossesse**
- **10 témoins** : femmes enceintes
- ▶ **Anti-BP180**

Résultats :

Les sensibilités et spécificités des tests ELISA et de l'IFI sur 3 substrats sont présentées ci-dessous :



En IFI, il est nécessaire d'associer au moins 2 substrats pour avoir une bonne sensibilité dans le diagnostic des DBAI.

- **Dans les Pemphigus**, en particulier les PV et les PPN, l'œsophage de singe et l'œsophage de rat sont les substrats les plus sensibles. L'étude a permis de mettre en évidence une corrélation entre le titre sur ces substrats (OR et OS) et l'index en anti-Dsg1, ce qui est particulièrement intéressant dans le suivi des patients.
- **Dans les Pemphigoïdes bulleuses**, les résultats sont très différents, le substrat le plus sensible est la peau humaine, particulièrement la peau humaine clivée, qui permet, de plus, de faire le diagnostic différentiel entre les PB et l'EBA.

Conclusion :

Elisa anti-Dsg 1 et anti-Dsg3 :

- Excellentes sensibilité et spécificité pour le diagnostic des Pemphigus.
- Permet la discrimination PV/PS et pourrait remplacer l'IFI quand le diagnostic de pemphigus est posé avec IFD positif.

Elisa anti-BP 180 NC16a :

- Insuffisant pour le diagnostic des PB, l'IFI reste la technique de référence, en particulier sur la peau clivée pour le diagnostic différentiel PB/ EBA.
- Peut remplacer l'IF de type complément dans le diagnostic des PG car la technique est plus facile et plus rapide.

L'Elisa est une méthode standardisée et automatisable, cependant l'IFI permet le dépistage en une seule fois de toutes les DBAI.

