

LA RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE
ET POPULAIRE

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université De Blida I

Faculté Des Sciences De La Nature Et La Vie

Département De Biologie Et Physiologie Cellulaire

Filière : Biologie

Option : Bio-Signalisation Cellulaire Moléculaire Et Immunologique

Mémoire de Fin d'Étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en Science de la Nature et de la Vie

Thème :
**L'identification Des Auto Anticorps Antinucléaire Dans Le Lupus
Néphrotique**

Présenté Par :

- Hamache Asma
- Mansour Imane

Date de soutenance : 17/09/2016

Devant le jury composé de :

Mme ZEROUTI. K	Maître assistante A (U. Blida1)	Présidente
Mme RAHIM. I	Maître assistante A (U. Blida1)	Examinatrice
Mme ALLAM. I	Maître assistante A (C.H.E Beni-Messous)	Promotrice
Mme BENCHABANE. S	Maître assistante A (U. Blida1)	Co-promotrice



Je dédie ce mémoire ...

A Mes Très Chers Parents

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble profession, et c'est à travers vos critiques que je me suis réalisée. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi. Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.

A Mes adorables sœurs : Imane, Rima, Maroua

A mes chères grands-mères

En témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorde santé, longue vie et bonheur.

A Mon ange gardien et mon fidèle compagnon dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse ma cousine KARIMA

A tous Mes oncles en particulier SAMIR et NOUREDDINE

A toute ma famille et mes amis

*A Ma chère binôme Imane et ma chère amie Amina
qui m'ont accompagné tout au long de la période de réalisation de ce projet*

*Veillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien, encouragements,
et affection.*

*J'espère que vous retrouvez dans la dédicace de ce travail, le témoignage de mes sentiments
sincères et de mes vœux de santé et de bonheur*





Je dédie ce mémoire ...



A Ma Très Chère Mère

O Mère, Femme de cœur, vous n'êtes que générosité, douceur, amour, gaieté, patience, pardon...

*Je vous demande pardon pour chaque larme versée et chaque inquiétude ressentie.
Que DIEU le Tout Miséricordieux vous protège et vous apporte santé, bonheur, prospérité et longévité.*

Je t'aime énormément...

A Mon Très Chère Père

Les mots me manquent pour exprimer mes sentiments... toute la richesse de la langue reste muette devant vous.

Vous n'avez jamais hésité à faire des sacrifices pour nous.

Vous avez toute mon admiration et ma gratitude.

Merci à vous pour cet amour.

*Ma chère grand-mère maternelle, ma chère grand-mère paternelle,
Et mon cher grand-père paternel.*

A mes très chères sœurs, Amel, Khadidja, Khaoula.

Mes très chers frères, Abdelmalek, Abdenasser et sa femme Amina et la petite Sabaa Hourine

Puissions-nous rester toujours ainsi dans la tendresse, solidarité dans la vie et fidèles à l'éducation que nos chers parents ont sue nous inculquer.

À Tous Les Membre De Ma Famille, Mon affection et ma tendresse les plus sincères.

À Ma chère binôme, Asma Hamache

À Mes Chers Amies, Romaina et Chahra ... À tous mes amis En souvenir des moments inoubliables passés ensemble.

À Tous Mes Maitres, Merci pour votre enseignement.



Résumé

Le lupus érythémateux systémique (LES) est une maladie auto-immune systémique non spécifique d'organe, caractérisée par la production d'un large panel d'auto anticorps particulièrement les anticorps antinucléaires.

L'atteinte rénale est l'une des manifestations les plus fréquentes et les plus graves du LES qui peut conduire dans la majorité des cas à une insuffisance rénale.

Le but de notre travail est de déterminer le profil des auto-anticorps antinucléaire chez les patients atteints d'un lupus néphrotique. Nous avons analysé les paramètres épidémiologiques, cliniques, et immunologiques chez une cohorte de patients Algériens atteints de cette pathologie.

Il s'agit d'une étude rétrospective de 70 patients atteints de lupus néphrotique, 57 étaient de sexe féminin et 11 de sexe masculin (5F/1H), et une moyenne d'âge de 35 ± 8 ans. Ces échantillons ont été comparés avec une population de 58 patients présentant un lupus non néphrotique, 54 étaient de sexe féminin et 4 de sexe masculin (13F/1H), et une moyenne d'âge de 36 ± 12 ans. Les auto-anticorps anti-nucléaires ont été recherchés par deux techniques que sont l'immunofluorescence indirecte et l'ELISA.

Nos résultats montrent une nette prédominance féminine (84%) avec une tranche d'âge de 20 à 40 ans. Les manifestations cliniques sont dominées par l'atteinte Articulaires avec une fréquence de 83%, suivie par l'érythème malaire 44% puis la thrombose 43%. Les autres manifestations sont moins fréquentes. Les résultats d'immunofluorescence indirect sur Hep2 sont positifs chez tous les patients, avec une dominance d'aspect mixte Homogène moucheté (44%) et de titre 1/1000 (40%). Aucune différence statistiquement significative n'a été notée en comparant les deux groupes lupiques avec ou sans atteinte rénale. En effet, les anticorps anti-ADN sont positifs chez 22%, 23% respectivement, et les anticorps anti-antigènes solubles (ENA) chez 26%, 25% respectivement. Pour le profil des anticorps anti-antigènes solubles (anti-SSA, anti-SSB, anti-Sm, anti-RNP), une fréquence plus élevée d'anticorps anti-SSA dans les deux populations a été retrouvée, suivie par les anti-RNP, anti-Sm et les anti-SSB avec des fréquences approximativement égales.

Mot clé :

Lupus érythémateux systémique, néphropathie lupique, auto-anticorps, anticorps antinucléaires, anticorps anti-ADN, antigènes nucléaires solubles (ENA).

Summary

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a non-specific systemic autoimmune disease organ, characterized by the production of a wide autoantibody panel particularly antinuclear antibody.

Lupus nephritis is one of the most common and severe complications in patients with systemic lupus erythematosus.

The aim of our work is to determine the profile of antinuclear autoantibody in patients with nephritic lupus. In addition, we analyzed the epidemiological, clinical, and immunological factors associated with the development of nephritic lupus in Algerian patients.

Retrospective study of 70 patients with nephritic lupus, 57 were female and 11 male, with a sex ratio of 5F/1H and an average age of 35 ± 8 years. These samples were compared with a population of 58 patients with non-nephritic lupus, 54 were female and 4 male with a sex ratio of 13.5 (13/1) and a mean age of 36 ± 12 years. Cars antinuclear antibodies were sought by two techniques that are indirect immunofluorescence and that of ELISA.

A female predominance is found in our series (84%) with an age range of 20-40 years. Clinical manifestations are dominated by Articular reached with a frequency of 83%, followed by malar erythema 44% and 43% thrombosis. Other events are less frequent. The results of IFI Hep2 are positive in all patients, with à dominance of combined homogenous and speckled patterns (44%) and of title 1/1000 (40%).

The statistical analysis shows that a difference is not significant by comparing The Two group's lupic with or without kidney damage. Indeed, antibodies anti-DNA are positive at 22%, 23% respectively and the anti-extractable nuclear antigens (ENA) at 26%, 25% respectively, for the anti-ENA profile (anti-SSA, anti-SSB, anti-Sm, anti-RNP), a higher frequency of anti-SSA in the two populations, followed by anti-RNP, anti-Sm and anti-SSB with approximately equal frequencies.

Keyword :

Systemic lupus erythematosus, lupus nephritis, autoantibody, antinuclear antibodies, Anti-DNA antibody, extractable nuclear antigens (ENA).

المخلص

الذئبة او الذئبة الإحمرارية هي داء يؤدي إلى انهيار الجهاز المناعي اذ هذا الأخير يلعب دورًا عكسيًا، فهو يُفرض أجسامًا مضادةً تهاجم الأنسجة السليمة بدلاً من المريضة. أخطر أشكال الذئبة الاحمرارية، هي الذئبة الجهازية، أي التي تعم الجسم كله، والتي قد تهاجم الأعضاء الداخلية مثلما تهاجم الجلد من بينها الذئبة الكلوية التي تعد من أصعب التظاهرات لمرض الذئبة الحمراء اذ تأتي في اغلب الحالات الى القصور الكلوي.

دراستنا تركز على الدراسة المناعية الحيوية للذئبة الكلوية. حيث قمنا بتحليل الخصائص السريرية كذلك الاجسام المضادة النووية (DNA)، ل70 مريضا بالتهاب الكلية الذئبية حيث متوسط عمر قدر ب 8 ± 35 سنوات ونسبة الجنسين 5.18، (5/1) هذه الفئة تمت مقارنتها مع 58 مريض بالذئبة الإحمرارية الغير كلوية حيث متوسط عمر قدر ب 12 ± 36 سنة ونسبة الجنسين (13/1) 13.5، وذلك باستعمال تقنيتين الوسم المناعي الغير مباشر وتقنية الإليزا. بهدف تحديد اهم الأجسام المضادة النووية المفروزة في حالة الذئبة الكلوية.

لقد تم الكشف عن الاجسام المضادة للنواة بتقنية الوسم المناعي الغير مباشر على خلايا طلائية 2، في حالة ظهور نتائج إيجابية نقوم بالبحث على المستخلص النووي للأجسام المضادة (ENA) بتقنية الإليزا، وازداد الحمض النووي الريبى (DNA) بتقنية الوسم المناعي الغير مباشرة على خلايا البكتيرية كريتيديا لوسيال.

المصابين الرئيسين بالذئبة الكلوية كن من النساء بنسبة % 84 اللاتي يتراوح عمرهن بين 20الى 40 سنة. الحالات السريرية الأكثر ترددا هي الإصابات المفصلية ب %83 والالتهابات الوجهية ب %44 والاصابة في الدم قدرت ب %43 اما الإصابات الأخرى نسبيا قليلة. على صعيد المناعي لم نسجل أي فرق واضح بين المجموعتين، المصابة بالذئبة الكلوية والغير كلوية اذ نسبة اعداد الحمض النووي الريبى على التوالي ب % 22 و %23 اما المستخلص النووي للأجسام المضادة قدر علي توالى ب % 26 و % 25 بالتحديد تم اختبار الاجسام المضادة المولدة ضد (Sm .SSA .SSB .RNP) اذ لوحظ بروز الأجسام المضادة المولدة ضد SSA في كلتا المجموعتين .

الكلمات المفتاحية: الذئبة الإحمرارية الجهازية، الذئبة الكلوية، الاجسام المضادة الذاتية، الاجسام المضادة للنواة، الاجسام المضادة ضد الحمض النووي الريبى، الاجسام المضادة ضد المستخلص النووي للأجسام المضادة .

LISTE DES ABRÉVIATION

AAN	Anticorps Antinucléaires
Ac	Anticorps
ACR	American College of Rheumatology
ADN	Acid Désoxyribonucléique
ADNn	Acide Désoxyribonucléique Natif
ADNdb	Acide Désoxyribonucléique double brin
Ag	Antigens
APRIL	A Proliferating-Inducing Legend
ARA	American Rheumatism Associatio
AZA	Azathioprine
BAFF	B-Cell Activating Factor of Tnf Family
BANK 1	B-Cell Scaffold Protein With Ankyrin
Bcma	B-Cell Maturation Antigen
BLK	B lymphoid kinase
Blys	B Lymphocytes Stimulator
CI	Complexe Immun
CMV	Cytomégalovirus
CTC	Corticoïdes
CYC	Cyclophosphamide
DFG	Débit De Filtration Glomérulaire
DO	Densité optique
dsDNA	Double-Stranded Désoxyribonucléique Acide
EBV	Epstein-Barr Virus
ECBU	Examen Cytobactériologique Des Urines
ECG	Électrocardiographie
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
Ena	Extractable Nuclear Antigens
Eular	European League Against Rheumatism
FAN	Facteurs Antinucléaires
FCR	Fraction c récepteur
GN	Glomérulonéphrite
GNL	Glomérulonéphrite Lupique
Hep-2	Cellule Épithéliale Humaine
HLA	Human Leukocyte Antigen
IgA	Immunoglobulines A
IgG	Immunoglobulines G
IgM	Immunoglobulines M
IRF	Interféron régulateur facteur
ISN	International Société de Néphrologie
ITGAM	Intégrine alpha M
LE	Lupus Érythémateux

LED	Lupus Érythémateux Disséminé
LES	Lupus Érythémateux Systémique
LS	Lupus Systémique
MAI	Maladie Auto Immune
MBG	Membrane Basale Glomérulaire
MENA	Moyen-Orient Et Afrique Du Nord
MMF	Mycophénolate Mofétil
NET	Neutrophil Extracellular Trap
NFKB	Nuclear Factor-Kappa B
NI	Néphropathie Lupique
RNP	Ribonucléoprotéine
RPS	Rénal Pathology Society
RSA	République De Sud Afrique
Scl-70	Sclérodémie 70
SLICC	Systemic Lupus International Collaborating Clinics
Sm	Smith
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
SSA	Syndrome de Sjögren A
SSB	Syndrome de Sjögren B
snRNP	Small Nuclear Ribonuclear Protein
ssDNA	Simple-Strand Acid Désoxyribonucléique
TACI	Transmembrane Activator and Cyclophilin Ligand Interactor
TCP	Tube Contourné Proximal
TNF	Tumor Necrosis Factor

GLOSSAIRE

- **Alopécie** : l'accélération de la chute des cheveux ou des poils.
- **Arthralgie** : est une douleur située au niveau des articulations sans que l'on ne constate de modification de l'apparence extérieure de la jointure.
- **Asthénie** : affaiblissement de l'organisme, fatigue physique.
- **Cellule de Hargreaves (cellules LE)** : cellules particulières découvertes, dans la moelle sternale des lupiques, constituées de polynucléaires neutrophiles ayant phagocyté le noyau d'une autre cellule,
- **Comorbidité** : en médecine désigne les maladies qui en accompagnent souvent à une autre
- **Connectivites mixtes** : est une connectivite rare, dans laquelle des signes cliniques de lupus érythémateux systémique, de sclérodermie, de polymyosite et/ou de polyarthrite rhumatoïde sont intriqués.
- **DNase** : La désoxyribonucléase (ou ADNase) est une enzyme catalysant les acides désoxyribonucléiques en nucléotides ou polynucléotides.
- **Facteur de haserick** : les anticorps responsables de la formation des cellules LE (anticorps dirigés contre l'histone H1)
- **Héparanes Sulfates** : est un polysaccharide dont l'unité structural est un acide hexuronique relié par une liaison 1-4 à une glucosamine. Il s'attache à des protéoglycanes et se retrouve à la surface des cellules ou dans la matrice extracellulaire
- **Immunoblot** : est une méthode de biologie moléculaire qui permet la détection de protéines spécifiques sur une membrane.
- **Immunoprécipitation** : est une technique qui permet la précipitation d'un antigène (protéine) en solution par un anticorps qui agglutine spécifiquement une protéine particulière.
- **Jo-1** : autoanticorps anti-antigènes nucléaires solubles, reconnaissent une enzyme cytoplasmique, l'histidyl-ARNt synthétase. « Jo » correspond aux deux premières lettres du nom du patient chez qui cet anticorps a été mis en évidence pour la première fois.
- **L'érythème malaire (Rashs malaire)** : est l'un des critères de diagnostic du lupus érythémateux disséminé caractérisé par des lésions dermatologiques qui se manifeste par une rougeur sur les joues.
- **Maladie de Biermer** : correspond à une maladie due à une carence en vitamine B12, elle-même consécutive à un manque de sécrétion de facteur intrinsèque.
- **Mésangiales** : Type de cellule interlobulaire du rein.
- **Para-vertébraux** : proches de la vertèbre ou de la colonne vertébrale
- **Parvovirus b19** : appartient à la famille des parvoviridae, sous-famille des parvovirinae, genre érythrovirus. Il s'agit d'un virus nu, comportant une capsidie icosaédrique, et dont le génome est de type ADN monocaténaire linéaire.
- **Pelade** : une maladie de la peau (dermatose) s'attaquant plus précisément aux follicules pileux à l'origine de la pousse des cheveux et des poils.
- **Pleurésie** : Inflammation aiguë ou chronique de la plèvre (membrane enveloppant les poumons).

- **post-partum** : Période s'étendant de l'accouchement au retour de couches (réapparition des règles).
- **Psoriasiformes** : Maladie cutanée chronique caractérisée par l'éruption en plaques érythémato-squameuses (taches rouges couvertes de squames).
- **Réticulocytes** : la cellule précédant le stade d'érythrocyte dans l'érythropoïèse, sont les précurseurs des globules rouges.
- **Rétro péritonéaux** : la partie de l'abdomen en arrière de la cavité péritonéale. Il contient des organes des appareils urinaire et digestif.
- **Séreuses** : membranes tapissant la paroi des cavités thoraciques et abdominales et enveloppant les viscères qui s'y trouvent (plèvre, péricarde, péritoine)
- **Sérite** : Inflammation d'une membrane séreuse
- **SnRNP** : des complexes mixtes entre des petits ARN et des protéines qui permettent l'épissage des ARNm dans le noyau.
- **Splicéosome** : appelé particule d'épissage, est un complexe dynamique de particules ribonucléoprotéiques composées d'ARN et de protéines et localisé dans le noyau des cellules. Son rôle est d'assurer l'excision des introns
- **Syndrome de Dressler** : Péricardite (inflammation du péricarde, membrane qui enveloppe le cœur) survenant d'une à plusieurs semaines après un infarctus du myocarde.
- **Synovite** : Inflammation de la synoviale (membrane tapissant l'intérieur de la capsule des articulations mobiles).
- **Syphilis** : Maladie infectieuse due au tréponème pâle, sexuellement transmissible, et se manifestant initialement par un chancre et plus tardivement par des atteintes viscérales et nerveuses.
- **Test de Coombs** : Technique qui permet de mettre en évidence des anticorps à la surface des globules rouges.
- **Test radio-immunologique de farr** : est une technique de dosage radio-immunologique, elle utilise de l'ADN double brin marqué par un radio-isotope.
- **Vespertilion** : type d'érythème du visage, apparaissant notamment lors d'un lupus érythémateux disséminé. Le terme est utilisé pour décrire la forme en "ailes de chauve-souris", qui touche le visage de la racine du nez en s'étendant vers les pommettes.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : le développement des Critères de diagnostique du lupus au cours des années ___ 68

Tableau II : Épidémiologie du lupus érythémateux systémique dans les pays en développement par rapport aux registres connus _____ 70

*Tableau III : Principaux facteurs génétique de susceptibilité au LES*_____ 71

Tableau IV : Critères de classification du SLICC pour le lupus systémique _____ 72

Tableau V : Classification internationale de l'ISN/RPS des glomérulonéphrites lupiques. ___ 74

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1 : les facteurs de susceptibilité du LES</i>	6
<i>Figure 2 : Le mécanisme d'induction de LES pas le virus EBV</i>	7
<i>Figure 3 : Le développement des lésions lupique peut être soumis au contrôle conjugué de facteurs d'environnement et génétique</i>	8
<i>Figure 4: quelque manifestation lupiques</i>	9
<i>Figure 5 : Les Organes Du Système Urinaires</i>	10
<i>Figure 6: Structure des reins</i>	10
<i>Figure 7 : Anatomie et vascularisation rénale</i>	11
<i>Figure 8 : Schématisation d'un néphron</i>	12
<i>Figure 9 : A-Schéma de la structure glomérulaire normale</i>	12
<i>Figure 10 : l'Atteintes glomérulaires de la néphropathie lupique</i>	13
<i>Figure 11: la pathogénicité des auto-Anticorps (Ac) anti-ADN dans le lupus néphrotique</i>	16
<i>Figure 12: La structure de nucléosome</i>	17
<i>Figure 13 : le complexe rubonucléoprotéique Sm/U1RNP</i>	18
<i>Figure 14: le complexe ribonucléoprotéique RO/LA</i>	19
<i>Figure 15 : l'immunofluorescence indirecte (IFI) d'anticorps anti-α-actinine exprime au niveau des glomérules</i>	20
<i>Figure 16 : le rôle d'anticorps d'antiC1q dans le déclenchement d'inflammation rénale</i>	21
<i>Figure 17 : la libération d'ADN par la mort cellulaire</i>	22
<i>Figure 18 : mécanisme d'induction d'auto-anticorps anti-nucléaire par apoptose</i>	23
<i>Figure 19 : physiopathologie du lupus</i>	24
<i>Figure 20 : pathogénicité du lupus néphrite</i>	25
<i>Figure 21 : Rôles pathogènes des auto-anticorps anti nucléosome au niveau des glomérules rénaux.</i>	26
<i>Figure 22 : les lésions glomérulaires du lupus néphrotique</i>	27

Figure 23 : le mécanisme de déclenchement des néphropathies lupique par l'intermédiaire du C1q _____	28
Figure 24 : Biothérapie de la néphropathie lupique _____	30
Figure 25 : Immunomodulateurs ciblant Blys/BAFF _____	31
Figure 26 : l'algorithme utilisé pour la recherche d'anticorps antinucléaires (ANA) par IFI et ELISA dans le cas de dépistage d'un Lupus _____	35
Figure 27 : Les lames d'immunofluorescences indirecte sur Hep-2 _____	37
Figure 28 : aspect négatif d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule Hep-2 _____	37
Figure 29 : aspect Homogène d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule Hep-2 _____	38
Figure 30 : aspect moucheté a gros grains d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur HEP-2 _____	38
Figure 31 : aspect moucheté fin d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule Hep-2 _____	39
Figure 32 : immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule de Crithidia luciliae négatif _____	40
Figure 33 : immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule Crithidia luciliae positif _____	40
Figure 34 : répartition des patients atteints d'un Lupus Néphrotique selon leur sexe _____	45
Figure 35 : La répartition des patients atteints d'un Lupus Néphrotique selon les tranches d'âge _____	46
Figure 36 : La répartition du sexe des patients atteints d'un Lupus Néphrotique en fonction des tranches d'âge _____	46
Figure 37 : Répartition des patients en fonction des manifestations cliniques _____	47
Figure 38 : les titres des ANA par immunofluorescence indirecte sur HEP-2 _____	48
Figure 39 : les aspects des ANA par immunofluorescence indirecte sur HEP-2 _____	48
Figure 40 : La fréquence des autoanticorps anti-DNA et anti-ENA dans les deux populations lupique néphrotique et non néphrotique _____	49
Figure 41 : profil des auto-anticorps anti ENA dans les deux populations lupique néphrotique et non néphrotique _____	50

SOMMAIRE

Introduction

Chapitre I : Synthèse Bibliographique	2
1.1 Généralités sur les maladies auto-immunes	3
1.1.1 Définition	3
1.1.2 Classification	3
1.2 Généralités sur le lupus	4
1.2.1 Définition	4
1.2.2 Historique	4
1.2.3 Critères de classification	5
1.2.4 Épidémiologie	5
1.2.5 Étiologie	5
1.2.6 Diagnostique	8
1.3 Lupus rénale	10
1.3.1 Rappel anatomique des reins	10
1.3.2 Atteinte rénal	13
1.3.3 Classification Histologique	13
1.3.4 Manifestations des néphropathies lupiques	14
1.4 Les Anomalies Immunologiques	15
1.4.1 Les Anticorps anti-nucléaires (AAN)	15
1.4.2 Les anticorps anti-ADN	15
1.4.3 Les anticorps anti-histones	16
1.4.4 Anticorps anti-nucléosomes	17
1.4.5 Les anticorps spécifiques d'antigènes nucléaires solubles (anti-ENA)	17
1.4.6 Anticorps anti- α -actinine	19
1.4.7 Anticorps anti-C1q	20
1.4.8 Cytokines	21
1.4.9 Autres anomalies	21
1.5 Physiopathologie	22
1.5.1 La source principale des auto-antigènes lupiques	22
1.5.2 L'activation du système immunitaire	23
1.5.3 Physiopathologie de la néphropathie lupique	25

1.6	Traitement	29
1.6.1	Les Types du Traitement	29
1.6.2	Biothérapie de la Néphropathie Lupique	29
1.6.3	Pronostique	31
Chapitre II :Matériel et Méthodes		51
2.1	Matériel	33
2.1.1	Matériel Biologique	33
2.1.2	Matériel non Biologique	34
2.2	Méthodes	34
2.2.1	Identification des ANA par immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule Hep2	36
2.2.2	Identification des anticorps anti-DNA	39
2.2.3	Identification des anticorps anti-antigènes solubles (ENA)	40
2.2.4	Étude statistique	43
Chapitre III :Résultats et Discussion		63
3.1	Résultats	45
3.1.1	Données épidémiologiques	45
3.1.2	Données cliniques	47
3.1.3	Donné immunologique	48
3.2	Discussion	51
Conclusion		74
Références Bibliographiques		

Les maladies systémiques ou les connectivites constituent aujourd'hui un vrai problème de santé publique. En effet, prises dans leur ensemble, il représente la troisième cause de morbidité et de mortalité après les pathologies cardiovasculaires et le cancer (**Chatenoud, 2013**).

Dans notre étude nous nous sommes intéressés par le lupus érythémateux systémique qui représente la principale maladie qui domine les connectivites. On souhaite mettre en lumière un sujet qui nous paraît d'actualité avec des recherches récentes intéressantes, que ce soit sur le plan immunologique, clinique ou thérapeutique.

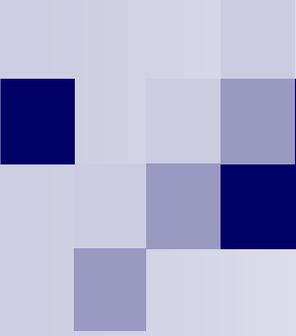
Le lupus érythémateux systémique « LES » est une maladie auto-immune, non spécifique d'organe, (**Meyer, 2005**), d'étiologie mal connue et d'aspect clinique très polymorphe, (**Bonnet, 2012**) il est considéré comme paradigme de « maladie multifactorielle complexe » (**Humbel et al., 2013**), et est caractérisé par la production d'un large panel d'auto anticorps principalement les anticorps antinucléaires. (**Baline et al., 2015**)

L'atteinte rénale est l'une des manifestations les plus fréquentes et les plus graves du LES conditionnant en grande partie le pronostic de cette pathologie (**Fakhouri et Lesavre, 2007**). Elle se manifeste cliniquement par une protéinurie et une hématurie élevée. Ces éléments cliniques, consolidés par les données immunologiques sont très évocateurs de la néphropathie lupique (**Karras, 2015**). La gravité potentielle de cette complication impose une bonne connaissance de leur présentation, essentielle à une prise en charge thérapeutique adaptée. (**Claessens et Mouthon, 2013**)

La physiopathologie du lupus est très complexe, elle implique des facteurs génétiques, environnementaux, hormonaux et immunologiques (**Fabreguet, 2013**). Des travaux fondamentaux ont permis, de mieux comprendre les mécanismes pathogéniques conduisant au développement de cette maladie chronique mais sa cause reste inconnue (**Combe, 2007**) .

Les auto-anticorps sont une aide au diagnostic et au suivi du lupus, de nombreuses recherches d'auto-anticorps ont été développées et permettent le dépistage de la maladie à un stade précoce mais on observe une diversité de la réponse d'anticorps au cours des différentes manifestations lupique (**Kaux et al., 2008**).

Cette situation problématique amène à la question suivante : Quel sont les principaux autoanticorps antinucléaire incriminé dans lupus a manifestations rénales ? dans ce contexte, l'objectif principal de notre présente étude réalisée au niveau du service d'immunologie de l'hôpital ISSAD Hassani de Beni Messous, étant la mise en évidence d'un profil d'auto anticorps anti nucléaires chez les patients atteints d'un lupus néphrotique sur la base d'une comparaison entre deux groupe de patients lupique avec ou sans atteinte rénale. Ceci permet de préciser l'apport de ces auto-anticorps au cours du diagnostic et la suivie de lupus néphrotique.



Chapitre I : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

1.1 Généralités sur les maladies auto-immunes

1.1.1 Définition

Les maladies auto-immunes (MAI) représentent la 3ème cause de morbidité après les affections cardio-vasculaires et oncologiques , elles surviennent souvent chez des sujets jeunes (**Kaux et al., 2008**) ,sont la conséquence d'une dérégulation du système immunitaire entraînant une réponse immunologique inadaptée de l'organisme contre les antigènes du soi à l'origine d'un processus pathologique (**Claessens et Mouthon 2013**).

1.1.2 Classification

On distingue classiquement les MAI systémiques et les MAI spécifiques d'organe.

Les MAI non spécifiques d'organe, ou MAI systémiques, le processus auto-immun est dirigé vis-à-vis de multiples organes ou de structures antigéniques retrouvées dans de nombreux organes. Dans ce groupe, on retrouve en particulier les vascularites et les connectivites dont le chef de file est le lupus érythémateux systémique (LES) (**Claessens et Mouthon 2013**).

Les MAI spécifiques d'organe sont caractérisées par une réaction immunologique dirigée spécifiquement contre un organe ou un tissu cible (par exemple, la maladie de Biermer (**Claessens et Mouthon 2013**).

1.2 Généralités sur le lupus

1.2.1 Définition

Prototype des maladies auto-immunes non spécifiques d'organe, le lupus érythémateux disséminé (LED) ou lupus érythémateux systémique (LES) est une connectivite fréquente et d'expression clinique très variable (**Lok 2015**), qui évolue par poussées entrecoupées de période de remissions(**Guillvin 2014**), caractérisée par la production d'anticorps anti-nucléaires et plus particulièrement d'anticorps anti-ADN natif (**Lok, 2015**).

1.2.2 Historique

Le terme « lupus » (« loup » en latin) a été employé la première fois pendant le Moyen Âge pour décrire les lésions cutanées érosives évocatrices d'une « morsure de loup » (**George et al., 2012**). Laurent-Théodore Bielt, d'origine suisse, publie en 1828 la première édition des abrégés pratiques des maladies de la peau dans laquelle les auteurs séparent différentes formes du lupus : le lupus qui détruit en surface, le lupus qui détruit en profondeur et le lupus avec hypertrophie. Il a également décrit une dermatose localisée à la face comme étant un « érythème centrifuge ». *Ferdinand von Hebra*, fondateur de l'école dermatologique autrichienne a décrit en 1846 l'aspect tout particulier de l'éruption malaire en « aile de papillon ». En 1851, *Pierre-Louis-Alphée Cazenave* (1802–1877) modifie l'appellation en « lupus érythémateux » (**Humbel et al., 2013**). En 1872 Le lupus a été identifié la première fois comme maladie systémique avec des manifestations viscérales par *Moritz Kohn-Kaposi* qui appelle cette forme « lupus érythémateux disséminé »(**Meyer, 2005**). *Jadasshon*, dermatologue allemand exerçant à Berne, contribue en 1904 à la substitution du terme de « lupus érythémateux disséminé » par celui de « lupus érythémateux systémique » ou mieux « maladie lupique ». La découverte des cellules dites de Hargraves (cellule LE) en 1948 et du « facteur de Haserick » en 1949, qui ont donné au LES ses premiers critères biologiques, (**Grosshans et Sibilis 2005**). En 1954, *Peter Miescher*, un immunologiste suisse, réussit à adsorber le facteur sérique « LE » avec des noyaux de cellules de thymus démontrant ainsi que le facteur était un anticorps antinucléaire. En 1957, *Maxime Seligman*, à Paris, montra que le sérum des malades lupiques provoque un précipité avec l'ADN ainsi les anti-ADN sont devenus les marqueurs sérologiques spécifiques du lupus. À partir de 1975, la recherche des anticorps antinucléaires se fera sur des cultures de cellules HEp-2, substrat encore utilisé de nos jours (**Humbel et al., 2013**).

1.2.3 Critères de classification

Les premiers critères de classification du lupus érythémateux systémique, ont été établis en 1971 par l'Association Américaine de Rhumatisme (ARA), devenue le collège Américain de rhumatologie (ACR) en 1988. Datent de 1982 dans leur actuelle formulation et ont été actualisés en 1997 pour tenir compte des progrès survenus dans la pratique des tests biologiques (**Humbel et al., 2013**). Une approche ayant pour but de moderniser les critères d'ACR a été faite par *Hochberg* dans une lettre avec la suggestion d'enlever les *cellules LE* et de les remplacer par des anticorps lupique d'anticoagulant et d'anticardiopline de type (IgM) ou IgG (**Ighe et al., 2015**). Depuis 2003, le groupe du SLICC (Systemic Lupus International Collaborating Clinics), a établi de nouveaux critères ayant conduit à une nouvelle classification qui a été publiée en 2012 (**Costedoat-Chalumeau et al., 2014**). Ces nouveaux critères sont plus sensibles, mais moins spécifique que ceux de l'ACR. Les éléments ajoutés dans la classification du SLICC (par rapport à la classification de l'ACR) ont été soulignés dans le **Tableau I (Annexe IX)**, (**Guillvin, 2014**). Ces critères permettent d'inclure plus de patients ayant un lupus cliniquement défini, limitant ainsi le nombre de patients étiquetés comme ayant un lupus incomplet ou probable (**Costedoat-Chalumeau et al., 2014**).

1.2.4 Épidémiologie

Le LES survient dans 85 % des cas chez la femme, généralement en période d'activité génitale. La prévalence (15 à 50 cas pour 100 000) est plus élevée chez les sujets noirs (**Bonnet, 2012**). Le lupus touche principalement les femmes jeunes, entre 20 et 40 ans, avec 9 femmes atteintes pour un homme (**Guillvin, 2014**). L'âge de début est variable de 0 à 80 ans, mais la plupart du temps la maladie commence entre 10 et 40 ans (en moyenne 29) (**Bontoux, 2015**). Les publications portant sur la mortalité chez des patients lupiques nord-africains sont rares (**Jallouli et al., 2008**). La plupart des données épidémiologiques tunisiennes varie d'une étude à l'autre entre 0,1 à 0,3% (**Mahfoudh et al., 2010**) (**Tableau II, Annexe IX**).

1.2.5 Étiologie

Bien que l'étiologie exacte du lupus érythémateux systémique (LES) reste encore mal définie, il est aujourd'hui bien établi que le LES est une maladie dite complexe ou multifactorielle (**Humbel et al., 2013**), au cours de laquelle divers facteurs interviennent pour favoriser sa survenue et son évolution (**Lok 2015**).

➤ Facteurs Génétique

La prédisposition génétique est attestée par la fréquence accrue de la maladie chez les jumeaux monozygotes et par l'atteinte d'un autre membre de la famille dans 10% des cas (**Lok 2015**). De nombreux gènes ont été impliqués au cours de la survenue du LES, tels que ceux de l'interféron de type1 (IRF5, 7, 8), ceux intervenant au cours de l'ubiquitination et la voie NFkb dans l'apoptose (ITGAM, FCR), ou encore dans certaines anomalies lymphocytaires T

(BANK1, BLK, STAT4). Il existe également une association à certains allèles du système HLA de classe II (DR2, DR3). Enfin certains déficits en complément (déficits complets ou partiels en C2 ou en C4) sont associés a un risque élevé de développer un LES (Guillvin, 2014), (Tableau III Annexe IX), (Figure 1)

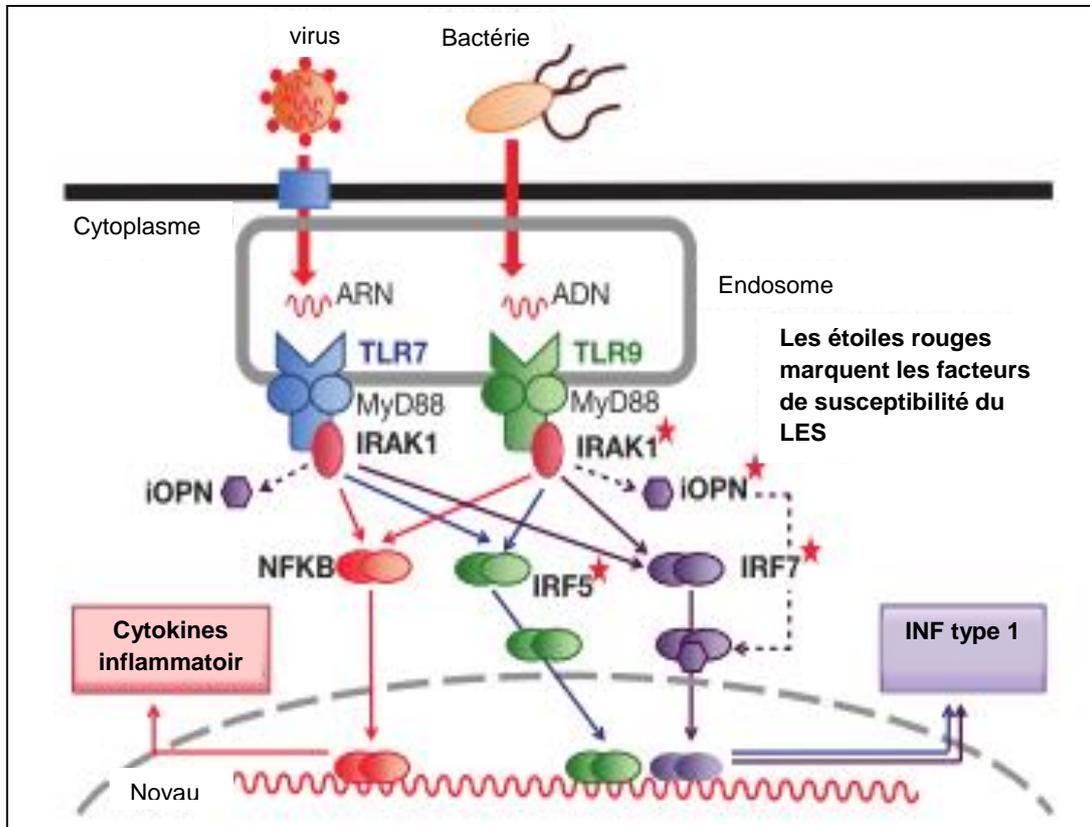


Figure 1 : les facteurs de susceptibilité du LES (Humbel et al., 2013)

➤ Facteurs Environnementaux

Les principaux facteurs environnementaux identifiés sont :

Les agents infectieux (CMV, parvovirus B19, EBV). L'antigène nucléaire 1 de l'EBV (anti-EBNA1) pourrait initier l'auto-immunité par le biais d'une réaction croisée entre antigène du virus et antigène du soi car l'EBV partage une séquence épitopique commune avec les auto antigènes SSA (Ro) et Sm (Figure 2) (Mathian et al., 2014).

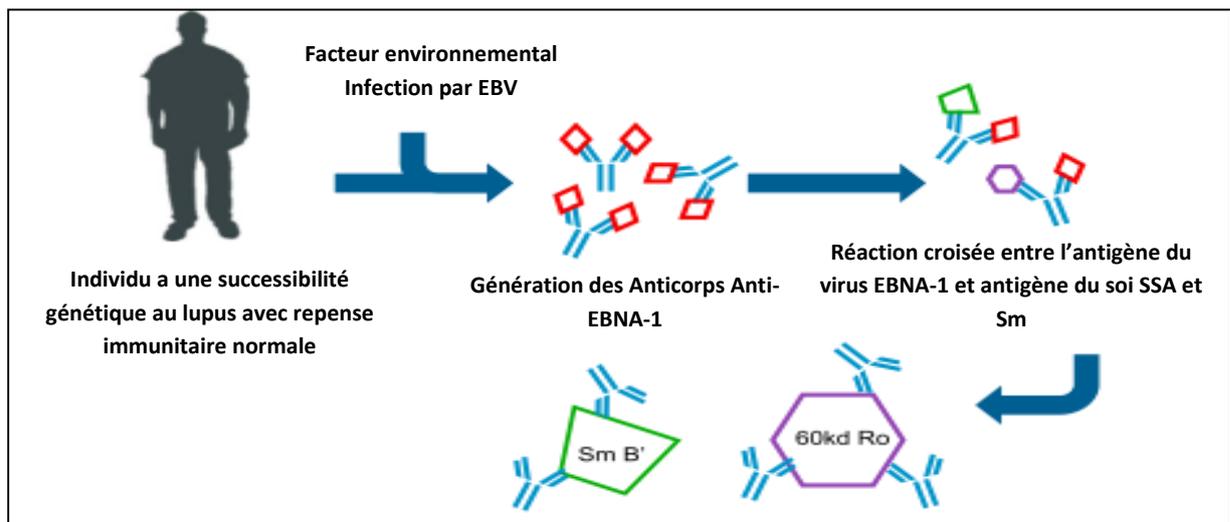


Figure 2 : Le mécanisme d'induction de LES pas le virus EBV (**Robert et Lahita 2011**)

- les rayonnements ultraviolets (caractère photosensible de l'éruption lupique, poussées systémique possibles après exposition) favorisent l'apoptose des kératinocytes et la production en excès de corps apoptotiques(**Mathian et al., 2014**).
- les facteurs hormonaux : la stimulation du récepteur α aux estrogènes, ils ont un rôle activateur sur le système immunitaire avec notamment une action sur les lymphocytes B et les lymphocytes T (**Mathian et al., 2014**).
- les médicaments et autres produits chimiques (lupus induits)
les lupus induits par les médicament s'accompagnent plus rarement d'atteintes viscérales (rénales ou neurologiques en particulier et disparaissent généralement après l'arrêt du médicament en cause) (**Guillvin, 2014**). Ils sont secondaires à l'administration prolongée de certains médicaments(**Bonnet, 2012**). L'hydralazine et le Procainamide , deux médicaments responsables de lupus induit, inhibent la méthylation de l'ADN ce qui entraine l'augmentation de l'expression de plusieurs gènes des lymphocytes T (**Mathian et al., 2014**).

Le LES résulte d'interactions probables entre un terrain génétique particulier (polymorphismes à risque des gènes de susceptibilité) et des facteurs d'environnement. Cette interaction a pour conséquence une réponse immune anormale comportant une hyperréactivité lymphocytaire T et B, qui n'est pas réprimée par les circuits habituels d'immuno-régulation, et la production d'anticorps en particulier les anticorps antinucléaires (**Lok 2015**) (**Figure 3**).

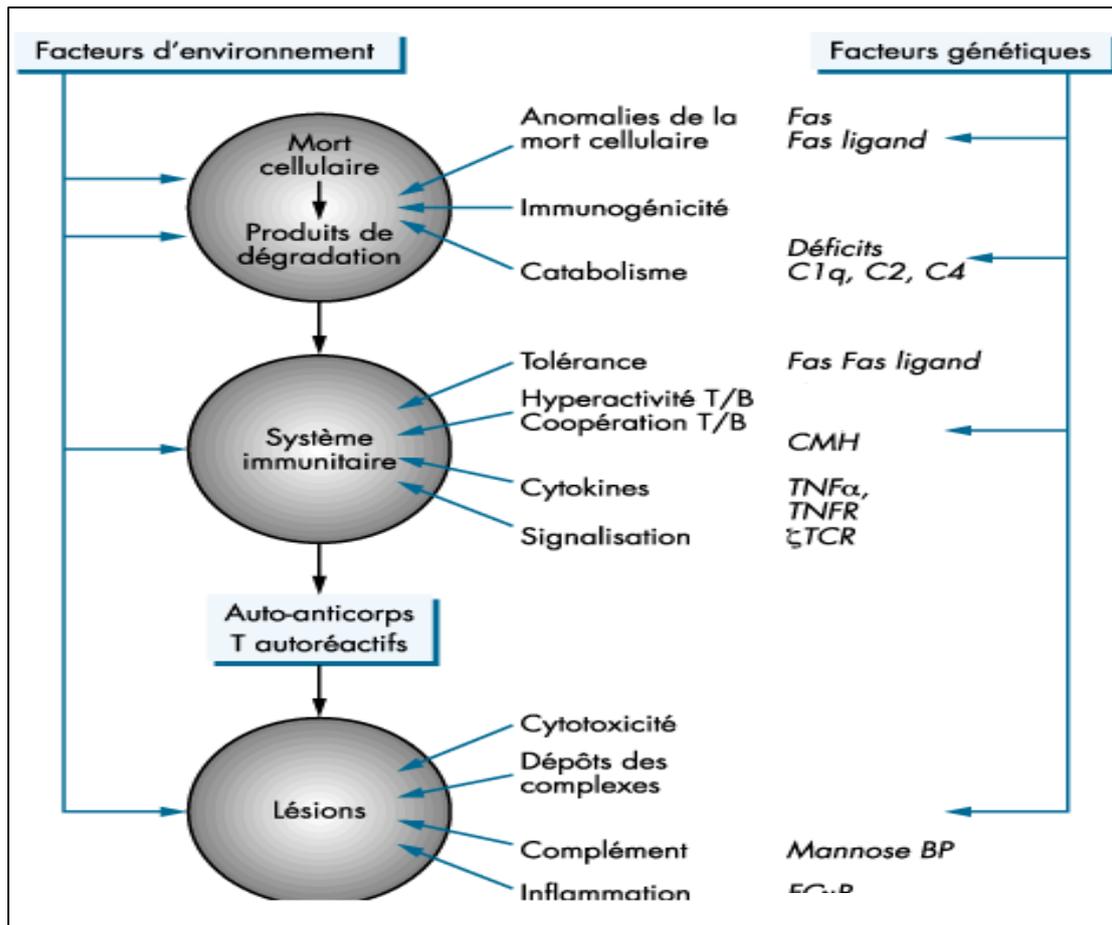


Figure 3 : Le développement des lésions lupique peut être soumis au contrôle conjugué de facteurs d'environnement et génétique (Subra et al., 2000).

1.2.6 Diagnostique

un patient peut être diagnostiqué comme ayant un lupus érythémateux systémique s'il remplit au moins quatre critères (**Tableau IV, Annexe IX**), dont au moins un critère clinique et un critère immunologique ou s'il a une glomérulonéphrite lupique prouvée histologiquement associée à la présence d'anticorps antinucléaires ou d'anticorps anti ADN double brin .la présence de quatre critères ,successifs ou simultanés sont nécessaires et suffisants pour classer le patient comme ayant un LES (**Guillvin, 2014**). Le caractère extrêmement polymorphe des modes de présentation de la maladie lupique rend impossible une définition purement clinique de l'affection. D'un autre côté, une définition purement immunologique, telle que l'existence d'anticorps anti-ADN natif, en l'absence de manifestations cliniques, serait absurde (**Meyer, 2005**).

Des signes généraux non spécifiques sont quasi toujours présents à un moment ou à un autre de l'évolution de la maladie tels que fièvre, asthénie, amaigrissement.la fièvre peut dessiner toutes les courbes thermique possibles et s'accompagner de frissons, chaque manifestation clinique ou biologique, n'est pas spécifique ,si elle est prise séparément .seule l'association de différents éléments permet de retenir le diagnostic(**Bontoux, 2015**).

On oppose schématiquement des formes bénignes principalement cutané-articulaires et des formes graves associant diverses atteintes viscérales (**Bonnet, 2012**) (**Figure 4**).



Figure 4: quelque manifestation lupiques (Meyer, 2005)

La maladie lupique évolue par poussées successives entrecoupées de périodes de rémission de durée et de qualité très variables (Bonnet, 2012). La vitesse de sédimentation est élevée au cours des poussées dans 80 à 100 % des cas. Elle revient à la normale en période de rémission (Humbel et al., 2013). La protéine C-réactive reste peu élevée, sauf en cas d'infection concomitante (Lok 2015). La bandelette urinaire est réalisée systématiquement à chaque consultation et lors de chaque poussée (Belot et Cimaz 2012).

1.3 Lupus rénale

1.3.1 Rappel anatomique des reins

Les reins font partie de l'appareil urinaire qui est composé de bassinets, de deux uretères, de la vessie et de l'urètre (Johanna, 2013) (Figure 5).

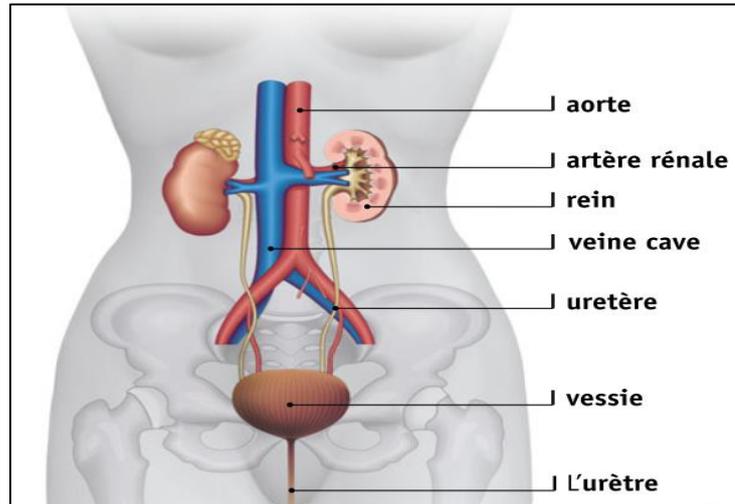


Figure 5 : Les Organes Du Système Urinaires (Stéphane Batigne, 2015).

➤ Structure des reins

Les reins humains sont deux organes rétro péritonéaux et para vertébraux pesant chacun approximativement 150 g. Leurs dimensions sont environ 11 à 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur (Gougoux, 2005), dont la forme rappelle celle des haricots, Protégés par une capsule fibreuse entourée de tissus adipeux. Ils sont constitués d'une couche externe, le cortex, et d'une région interne, la médulla, dans laquelle apparaissent des structures coniques appelées «pyramides». Les pyramides sont formées de nombreux tubules rénaux qui convergent pour former des tubules collecteurs, qui se vident dans les petits et les grands calices (Stéphane Batigne, 2015) (Figure 6).

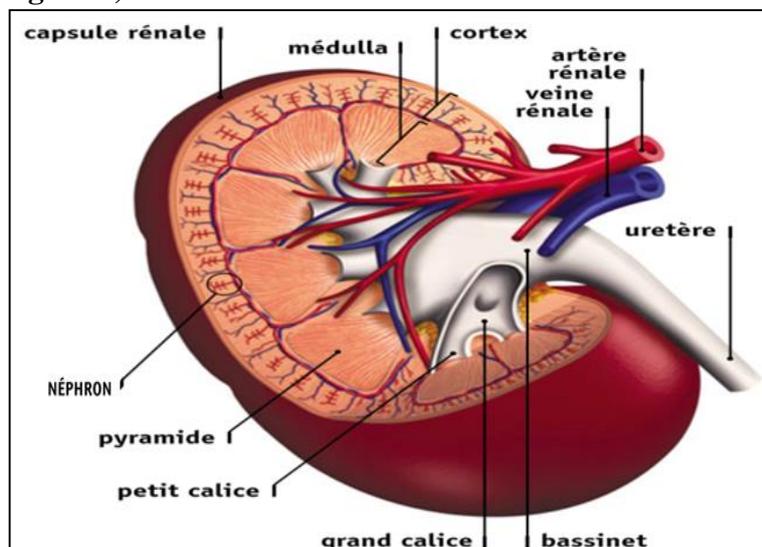


Figure 6 : Structure des reins (Stéphane Batigne, 2015)

➤ **Vascularisation rénale**

La vascularisation rénale représente 20% du débit cardiaque. L'artère rénale donne naissance aux artères segmentaires puis aux artères interlobaires. Celles-ci vont alors se diviser en artères arquées puis en artères interlobulaires qui se ramifient pour vasculariser les glomérules par l'artériole afférente. Après filtration, le sang artériel quitte le glomérule par l'artériole efférente. Celle-ci descend dans la médullaire pour donner naissance aux vasa recta qui participent aux échanges avec l'interstitium rénal. Le système veineux est satellite du réseau artériel (**Gueutin et al., 2011**)(Figure 7).

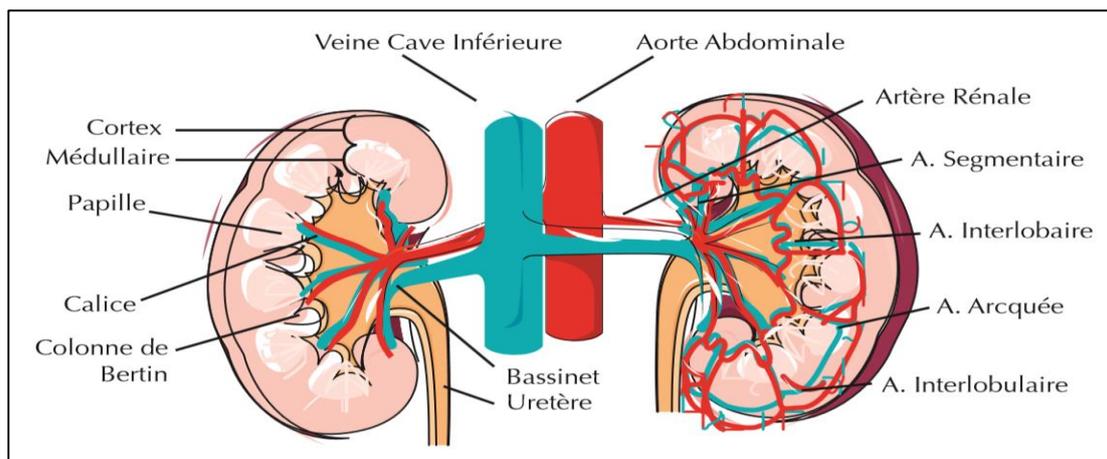


Figure 7 : Anatomie et vascularisation rénale(**Gueutin et al., 2011**).

➤ **Néphrons**

Chaque rein humain possède plus d'un million de néphrons, qui constituent ses unités structurales et fonctionnelles. (**Gougoux, 2005**) et ne sont pas strictement identiques (hétérogénéité néphrotique). Chacun de ces néphrons est composé de deux parties, un glomérule et le tubule urinaire, qui vont assurer les opérations de filtration, de réabsorption et de sécrétion qui conduisent à la formation de l'urine définitive (**Lacour, 2013**), (**Figure 8**).

➤ **Les tubules**

Le tubule rénal est tapissé d'une couche unique de cellules épithéliales qui servent de barrière entre l'intérieur de l'organisme et l'environnement extérieur que représente la lumière tubulaire (**Gougoux, 2005**). Le tubule fait suite au corpuscule et Comporte différentes parties qui ne jouent pas le même rôle dans la transformation de la pré-urine glomérulaire en urine définitive. On distingue la partie contournée proximale, l'anse de Henlé, la partie contournée distale et le canal collecteur (**Lacour, 2013**)(**Figure 8**).

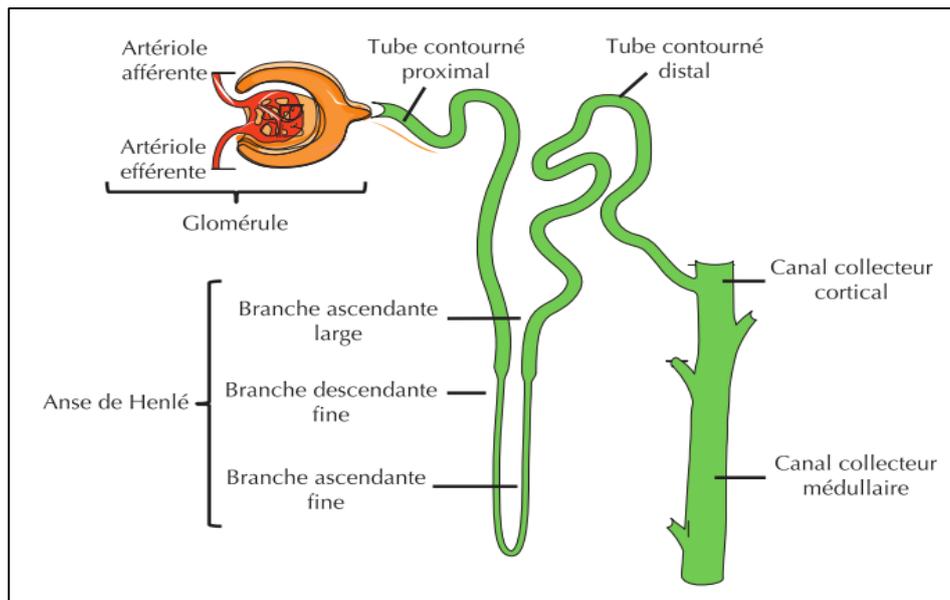


Figure 8 : Schématisation d'un néphron (Gueutin et al., 2011)

➤ **Le glomérule**

Le glomérule est une sphère mesurant environ 200 µm de diamètre et qui possède un pôle vasculaire dans lequel arrivent l'artériole afférente, et un pôle urinaire en continuité avec le tube contourné proximal (**Figure 8**). L'artériole efférente émerge au pôle vasculaire et forme avec la macula densa l'appareil juxtaglomérulaire (**Kanfer et al., 2014**). Le glomérule est organisé autour des boucles capillaires et délimité par la capsule de Bowman (**Gueutin et al., 2011**), et est constituée de cellules épithéliales pariétales aplaties qui sont en continuité avec les cellules épithéliales du tube contourné proximal. En dehors de ces cellules épithéliales pariétales, il existe des cellules endothéliales qui ont un cytoplasme fenêtré, la membrane basale glomérulaire (MBG) et les cellules épithéliales viscérales ou podocytes (**Kanfer et al., 2014**). Le plasma filtré ayant traversé dans l'ordre ces trois couches arrive dans la chambre urinaire délimitée par la capsule de Bowman comportant une couche de cellules épithéliales pariétales. L'urine primitive entre alors dans le tube contourné proximal (TCP) (**Gueutin et al., 2011**) (**Figure 9**).

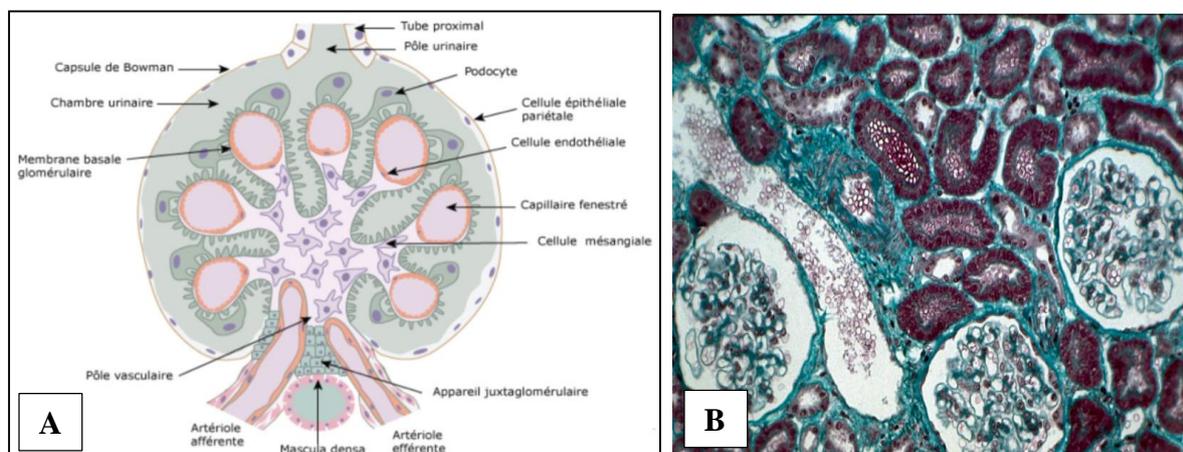


Figure 9 : A-Schéma de la structure glomérulaire normale (**Kanfer et al., 2014**)
 B-Microscopie optique d'un glomérule normal (**Kanfer et al., 2014**).

1.3.2 Atteinte rénal

La néphropathie lupique (NL) est une complication majeure et fréquente du LES, cette complication est précoce et s'installe rapidement, **(Renaudineau et al., 2008)**. Elle concerne 30 à 50 % des patients atteints de LES. Elle est inaugurale dans 50 % des cas, mais peut survenir tardivement dans l'histoire de la maladie **(Jourde-Chiche et al., 2014)**. Elles constituent la deuxième cause de mortalité de lupus érythémateux systémique **(Meyer, 2005)**. En l'absence de traitement, l'évolution se fait vers une insuffisance rénale chronique et irréversible chez la moitié des patients **(Renaudineau et al., 2008)**. Bien que les femmes représentent 90 % des malades souffrant de LED, ce sont paradoxalement les hommes qui développent plus souvent une NL, elle prédomine avant 33 ans. Les facteurs qui concourent au développement d'une NL ont tout lieu d'être multiples, mais ils restent inconnus **(Renaudineau et al., 2008)**. Le survenue d'une atteinte rénale est associée à des titres élevés d'anticorps anti-ADN natif **(Guillvin, 2014)**.

1.3.3 Classification Histologique

La classification histologique des Glomérulonéphrites lupiques a fait l'objet de multiples conférences de consensus, afin d'obtenir une nomenclature internationale admise de façon consensuelle. La dernière classification en date a été publiée il y a moins de dix ans, sous le terme ISN/RPS 2003 **(Tableau V, Annexe IX)**. Elle permet de classer de façon reproductible les GN lupiques dans l'une des six catégories majeures, de faire la part entre lésions chroniques et lésions actives, de déterminer les index d'activité et de chronicité de la maladie rénale. **(Karras, 2011)**. L'adoption d'une classification utilisée par l'ensemble des pathologistes et des cliniciens a surtout permis d'identifier des sous-groupes de patients ayant des caractéristiques cliniques et histologiques communes, pour pouvoir élaborer des essais cliniques et des protocoles thérapeutiques internationaux **(Karras, 2011)**.

L'étude histologique montre des lésions principalement glomérulaires, mais aussi tubulo-interstitielles et parfois vasculaires qui coexistent fréquemment sur une même biopsie. L'atteinte peut être restreinte aux cellules mésangiales (hypercellularité et dépôts immuns), affecter les cellules endothéliales (lésions glomérulaires) ou s'étendre aux cellules épithéliales ou podocytaires (lésions extra-membraneuses) **(Abdnasser et Mansour, 2014)** **(Figure 10)**

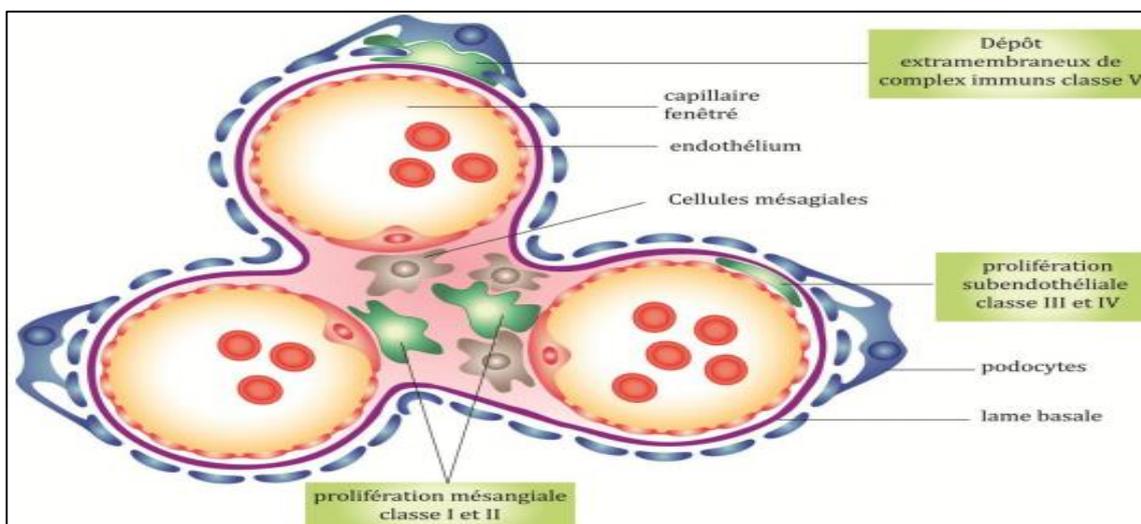


Figure 10 : l'Atteintes glomérulaires de la néphropathie lupique (Abdnasser et Mansour, 2014)

En raison de la discordance fréquente entre la gravité histologique et les signes biologiques L'analyse de la biopsie rénale va permettre de classer histologiquement l'atteinte rénale, et d'éliminer les néphropathies sans rapport avec le lupus **(Karras, 2015)**.

Cette classification histologique n'est pas figée, et il n'est pas rare qu'une forme mésangiale ou proliférative segmentaire et focale devienne ultérieurement une forme diffuse proliférative. Inversement, sous traitement, certaines lésions vont régresser **(Meyer, 2005)**.

1.3.4 Manifestations des néphropathies lupiques

La néphropathie lupique doit être suspectée chez tout patient lupique présentant une insuffisance rénale, même minime **(Karras, 2015)**.

Le bilan minimal doit comprendre :

- une mesure de la pression artérielle
- un dosage de la créatinémie avec calcul du débit de filtration glomérulaire estimé (DFG)
- un dépistage de l'albuminurie et de l'hématurie par une bandelette urinaire confirmée par un dosage pondéral de la protéinurie.
- une recherche d'hématurie ou de cylindres hématiques à l'ECBU.

Ce bilan doit être proposé lors de chaque évaluation de la maladie lupique, notamment lors de situations associées à un fort risque de poussée (grossesse, diminution du traitement immunosuppresseur, mauvaise observance au traitement) **(Karras, 2015)**. Selon les récentes recommandations de l'ACR et de l'EULAR la biopsie rénale doit être réalisée en cas :

- D'insuffisance rénale (DFG < 60 ml).
- De protéinurie $\geq 0,5$ g/24 h (ou un ratio protéinurie/créatinurie sur échantillon urinaire $\geq 0,05$ g/mmoL), surtout si celle-ci est associée à la présence d'une hématurie microscopique **(Corapi, et al., 2015)**

1.4 Les Anomalies Immunologiques

1.4.1 Les Anticorps anti-nucléaires (AAN)

C'est Hargreaves qui est, le premier, a repéré, sur le myélogramme d'un patient souffrant de LED, la cellule éponyme. Il s'agit d'un polynucléaire neutrophile ayant phagocyté le noyau d'une autre cellule préalablement recouvert d'AAN. Cette recherche est tellement fastidieuse qu'elle est tombée en désuétude quand les tests de détection des AAN se sont multipliés (**Renaudineau et al., 2008**).

Les autoanticorps de spécificité variée sont dominés par les anticorps anti-nucléaires (AAN) ou facteurs antinucléaires (FAN) (**Lok, 2015**). Ces auto-anticorps représentent un groupe hétérogène d'immunoglobulines reconnaissant des structures antigéniques situées dans le noyau des cellules (**Humbel et al., 2013**). Ce sont rechercher en cas de suspicion de maladie auto-immune, principalement de connectivite (ou maladies auto-immunes systémiques).

Ces anticorps sont une aide au diagnostic, mais leur présence est décrite dans de nombreuses autres pathologies non auto-immunes et parfois chez les sujets sains (**Fusaro et Musset 2016**). Ils repèrent des antigènes nucléaires différents. (anti-ADNdb, anti-Sm, anti-SSA/Ro, anti-SSB/La, anti-Jo-1...) (**Humbel et al., 2013**).

La plupart des anticorps antinucléaires sont dépourvus de toute action pathogène directe, comme en témoignent la présence d'anticorps anti-nucléaires dans le sérum de sujets normaux. mai via leur capacité à se lier à des auto-antigènes circulants et à former des complexes immuns que ces anticorps vont devenir pathogènes (**Humbel et al., 2013**)

les AAN constituent un marqueur biologique quasi constant (98 %) du lupus érythémateux systémique (**Humbel et al., 2013**). Ces auto-anticorps sont détectés par immunofluorescence indirecte sur cellules Hep2 est une méthode globale de dépistage des FAN très sensible (95% environ), mais peu spécifique du lupus puisque l'on retrouve des anticorps antinucléaires dans d'autres affections auto-immune (**Guillvin, 2014**)

1.4.2 Les anticorps anti-ADN

Parmi les anticorps anti-DNA, on distingue les anticorps anti-ssDNA (dirigés contre l'ADN simple brin, dénaturé) et les anticorps anti-dsDNA (dirigés contre l'ADN double brin natif). Les anticorps anti-ssDNA sont peu utiles en clinique car peu spécifiques. Les anticorps anti-dsDNA par contre sont très spécifiques du LES (**Petitpierre et al., 2009**). Ils sont présents chez 70 % des sujets lupiques à un moment quelconque de l'évolution de la maladie (**Humbel et al., 2013**)

la recherche des anti-DNA est un examen moins sensible (50 à 80%), mais nettement plus spécifique du LES(Lok, 2015). Cela peut être réalisé par différentes techniques :

- immunofluorescence indirecte sur *Crithidia luciliae*,(Petitpierre et al., 2009)
- radio immunologique de Farr,
- ELISA, (Antico et al., 2010).

Une augmentation du taux de ces anticorps précède parfois les manifestations cliniques d'une poussée. La présence de grandes quantités d'anticorps anti-dsDNA dans les dépôts de complexes immuns glomérulaires chez les patients avec une néphrite lupique suggère que ces anticorps peuvent avoir un rôle dans la pathogénèse de la maladie (Petitpierre et al., 2009) (Figure 11).

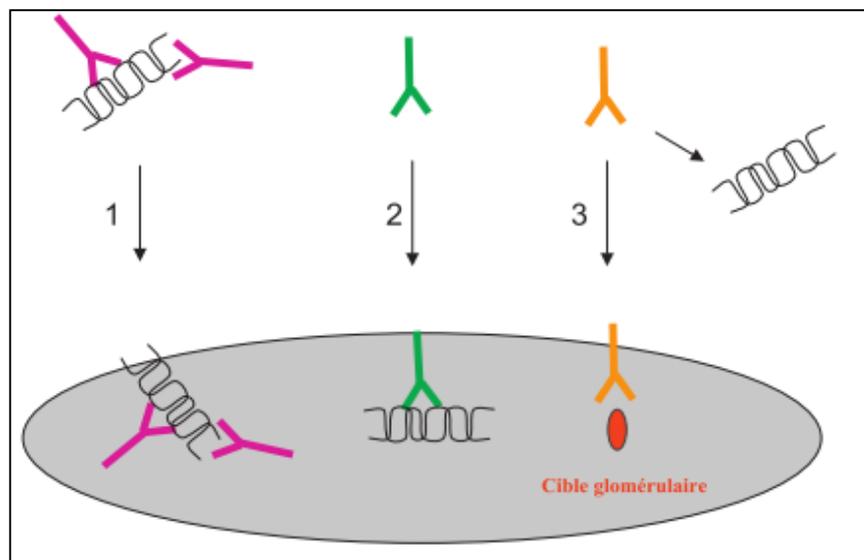


Figure 11: la pathogénicité des auto-Anticorps (Ac) anti-ADN dans le lupus néphrotique

1. Les complexes immuns (CI) anti-ADN/ADN viennent ce déposé dans les reins et engagent la cascade inflammatoire. **2.** L'Ac anti-ADN reconnaît les nucléosomes déposés dans les reins, les Ac se fixent donc directement sur une cible glomérulaire. **3.** Les Ac anti-ADN reconnaissent par réaction croisée un constituant du glomérule rénal (Ségalen et al., 2011).

1.4.3 Les anticorps anti-histones

Les histones sont des protéines basiques, riches en arginine et en lysine qui, avec la double hélice d'ADN, constituent la majeure partie de la chromatine. Il existe différentes classes d'histones (H1, H2B, H2A, H3 et H4).Jusqu'à 80% des patients avec un LES ont des anticorps anti-histones. Ces derniers sont présents chez plus de 95% des patients qui ont un lupus d'origine médicamenteuse (Petitpierre et al., 2009).

Les dosages se font par ELISA. Le contraste entre la présence d'anticorps anti-histones à titre élevé et l'absence d'anticorps anti-ADN natif a un grand intérêt diagnostique en faveur d'un lupus induit (Humbel et al., 2013).

1.4.4 Anticorps anti-nucléosomes

Le nucléosome est un complexe protéique constitué d'un octamère de deux fois deux histones (H2A, H2B, H3 et H4) autour duquel s'enroule un ADN (Ségalen et al., 2011) (Figure 12). ces anticorps sont présents chez 60 à 80 % des patients lupique (Guillvin, 2014). Ils sont détectés par ELISA. Leur spécificité est voisine de 95 % mais ils s'observent aussi bien dans le lupus érythémateux spontané que médicamenteux. Ils sont parfois présents dans le lupus érythémateux spontané en l'absence d'anti ADN natif,

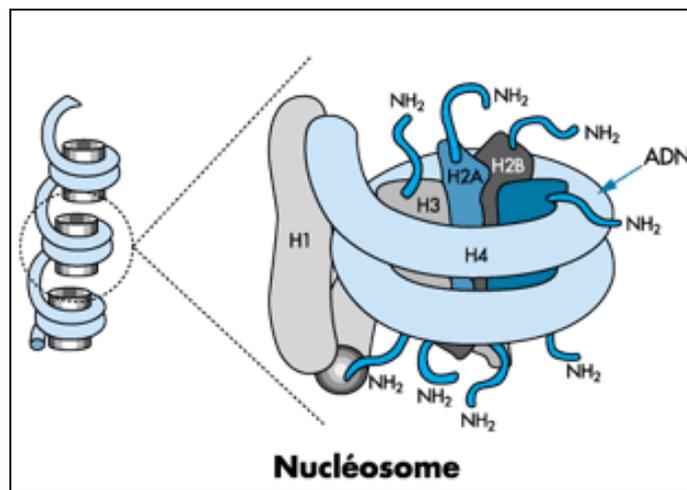


Figure 12: La structure de nucléosome (Fournel et Muller, 2000).

Tout au plus, peut-on espérer que l'usage des nucléosomes dans un ELISA assure non seulement, la détection des anti-ADN isolés et des Ac anti-histones isolés, mais également celle des Ac strictement dirigés contre les nucléosomes (Ségalen et al., 2011). Notamment en dehors d'une poussée évolutive. Leur taux serait plus élevé en cas d'atteinte glomérulaire (Humbel et al., 2013). D'autres études retrouvent un taux élevé de la sous-classe d'IgG3 chez les patients dont le LED est actif. Cette augmentation des IgG3 anti-nucléosomes sériques semble être spécifique des poussées de la maladie. D'ailleurs, elle est particulièrement marquée en présence d'une NL (Ségalen et al., 2011).

1.4.5 Les anticorps spécifiques d'antigènes nucléaires solubles (anti-ENA)

Les anticorps spécifiques d'antigènes nucléaires solubles (anticorps anti-ENA) sont détectés et identifiés par Immunoprécipitation, immunoblot ou ELISA. Ces anticorps reconnaissent des motifs antigéniques peptidiques présents sur des complexes formés de protéines antigéniques et de petits ARN. Les principaux anticorps observés au cours du lupus sont (Humbel et al., 2013).

▪ **Anti-RNP :**

Les anticorps anti-RNP sont dirigés contre des protéines faisant partie des snRNP, et plus précisément contre des protéines associées à l'ARN U1. Ce sont donc des anticorps anti-U1RNP (Petitpierre et al., 2009) (Figure 13).

Les anticorps anti-U1RNP, également présents au cours des connectivites mixtes. Ils sont observés chez 40% des lupus. Ils s'associent volontiers à un phénomène de Raynaud et à une composante myositique. En l'absence d'anti-ADN natif, ils constituent un marqueur de lupus bénins, sans atteinte rénale grave (Humbel et al., 2013).

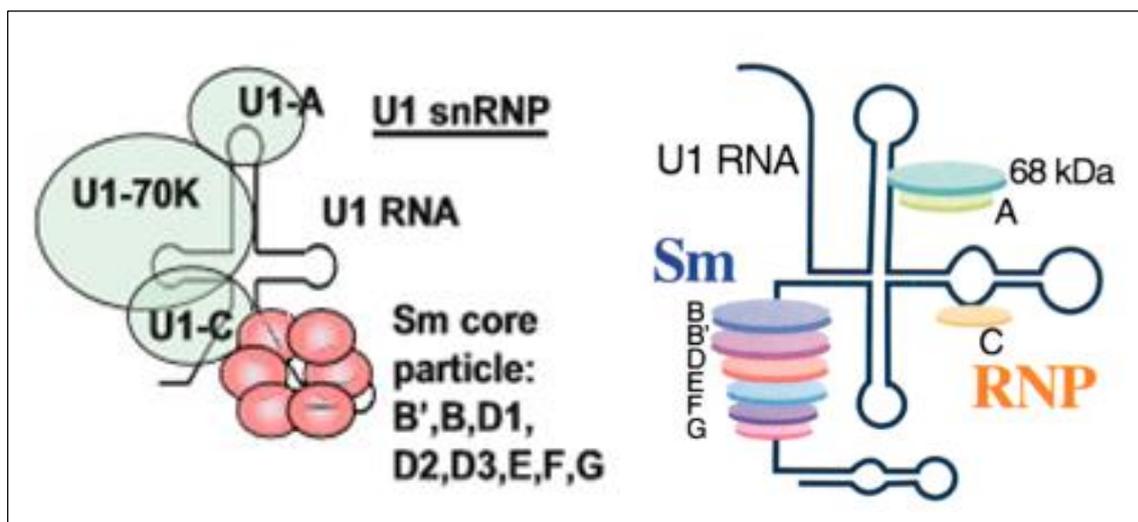


Figure 13 : le complexe rubonucléoprotéique Sm/U1RNP (Robert et Lahita 2011)

Le snRNP U1 est un complexe de plusieurs protéines (70K, A, B'/B, C, D, E, F, et G) lié à une petite molécule d'ARN U1 nucléaire. Les protéines 70K, A, et C sont identifiées par l'anticorps anti-RNP et les protéines B'/B, D, E, F, et G forment une particule nommée Sm. Cette particule est identifiée par les anticorps anti-Sm (Robert et Lahita 2011).

▪ **Anti-Smith (anti-Sm)**

Les anticorps anti-Sm ont pour cible des protéines faisant partie d'un sous-groupe de ribonucléoprotéines (snRNP) (Petitpierre et al., 2009). Ils sont extrêmement spécifiques du lupus, au point de faire partie des critères de classification (Humbel et al., 2013). De manière similaire à ce qui a été décrit pour les anticorps anti-DNA, les anticorps anti-Sm sont souvent associés à la présence d'une néphrite lupique (Petitpierre et al., 2009) (Figure 13).

▪ **Anti-SSA (Ro) / Anti-SSB (La)**

Les anticorps anti-Ro/SSA et anti-La/SSB sont dirigés contre des protéines faisant partie d'un complexe antigénique hétérogène, le complexe Ro/La, constitué de trois protéines différentes (52 kD Ro, 60 kD Ro et 48 kD La) et de petits ARN (Y1, Y2, Y3, Y4 et Y5) synthétisés dans le noyau sous le contrôle d'une ARN polymérase III, dont le rôle est peu clair. Les anticorps anti-

Ro/SSA et anti-La/SSB sont principalement associés à deux connectivites: le syndrome de Sjögren et le LES (Petitpierre et al., 2009) (Figure 14).

Les anticorps anti-SSA(Ro) dirigés contre des antigènes à la fois nucléaires et cytoplasmiques ,(Lok, 2015) Ils sont présents chez 30 à 50 % des lupus spontanés (Humbel et al., 2013). Les anticorps anti-SSB(La) sont rares dans le lupus (10 %) (Humbel et al., 2013).

Il a été décrit que les grossesses des patientes présentant des anticorps anti-Ro/SSA ou anti-La/SSB peuvent se compliquer d'un lupus néonatal, maladie auto-immune transférée passivement de la mère au fœtus. La complication la plus sérieuse est le bloc cardiaque congénital, qui survient dans 1 à 2% des cas (Petitpierre et al., 2009).

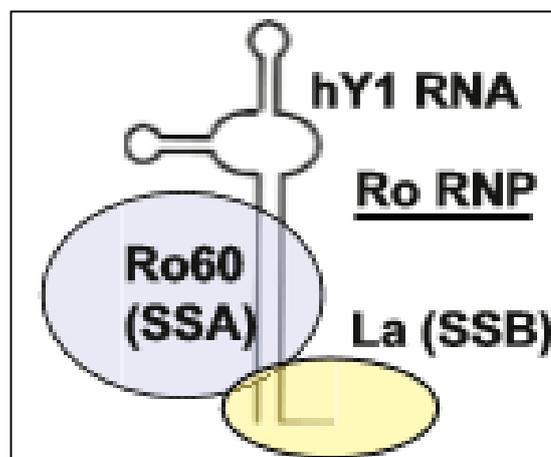


Figure 14: le complexe ribonucléoprotéique RO/LA(Robert et Lahita, 2011)

1.4.6 Anticorps anti- α -actinine

L' α -actinine est une protéine de 100 kD se liant à l'actine présente à la surface des cellules mésangiales et sur les podocytes du glomérule rénal. Cette protéine favorise la survenue d'une néphropathie. Certains Ac anti-ADNn reconnaissent l' α -actinine glomérulaire. Ces auto-anticorps sont dotés d'une double spécificité, et ils se fixent à l'ADNn avec une forte affinité. On les trouve dans le LED, mais pas dans les autres affections voisines En pratique, (Ségalen et al., 2011) la surface de l' α -actinine est acide, donc chargée négativement comme l'ADN. De plus, sa structure tridimensionnelle est proche de celle de l'ADN. Ce qui pourrait expliquer l'existence de réactions croisées (Guerrier et al., 2007). On utilise un test ELISA pour doser les Ac anti- α actinine (Ségalen et al., 2011). Ces Ac peuvent précéder une atteinte rénale, augmenter au cours de l'atteinte rénale, disparaître dès l'instauration d'un traitement efficace, puis réapparaître en cas de rechute (Renaudineau et al., 2008) (Figure 15).

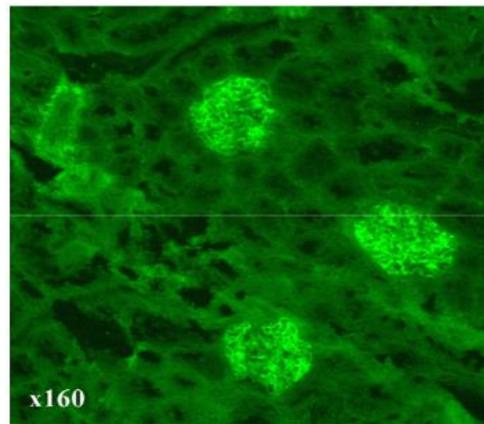


Figure 15 : l'immunofluorescence indirecte (IFI) d'anticorps anti- α -actinine exprime au niveau des glomérules .Grossissement $\times 160$ (**Guerrier et al., 2007**)

1.4.7 Anticorps anti-C1q

Le C1q est l'un des composants de la voie classique d'activation du complément. Il intervient dans la clairance des CI et des corps apoptotiques, ce qui explique que les sujets qui manquent de C1q souffrent de LED, amassent des corps apoptotiques dans les reins et développent une glomérulonéphrite sévère (**Ségalen et al., 2011**). Ils reconnaissent la partie « collagène-like » de la molécule C1q (**Humbel et al., 2013**).

Des Ac anti-C1q d'isotype IgG apparaissent dans 10 à 30% des LED en phase active, en particulier ceux qui présentent une NL (80—100%) (**Renaudineau et al., 2008**). Ces Ac anti-C1q ont également été incriminés dans la GN lupique. En effet, au cours du LED, la moitié des patients qui en possèdent souffrent d'atteinte rénale (**Guerrier et al., 2007**).

La recherche des Ac anti-C1q par ELISA est basée sur la capacité des auto-Ac à reconnaître le C1q fixé sur le support en plastique (**Renaudineau et al., 2008**). Ils ne sont pathogènes qu'en présence d'Ac contre une cible glomérulaire comme l' α -actinine, la laminine ou les nucléosomes (**Ségalen et al., 2011**), ou lorsque ils sont attachés à la surface des corps apoptotiques (**Pickering et Botto 2010**). En effet, l'activation du complément nécessite la fixation de l'auto-Ac sur la cible glomérulaire. Le C1q fixé est reconnu par l'anti-C1q, ce qui amplifie le processus inflammatoire (**Ségalen et al., 2011**) (**Figure 16**).

L'absence d'Ac anti-C1q permet pratiquement d'exclure une récurrence rénale avec une valeur prédictive négative proche de 90 %. Enfin, une augmentation ou une réapparition des Ac anti-C1q suggère qu'une rechute rénale est en cours (**Renaudineau et al., 2008**).

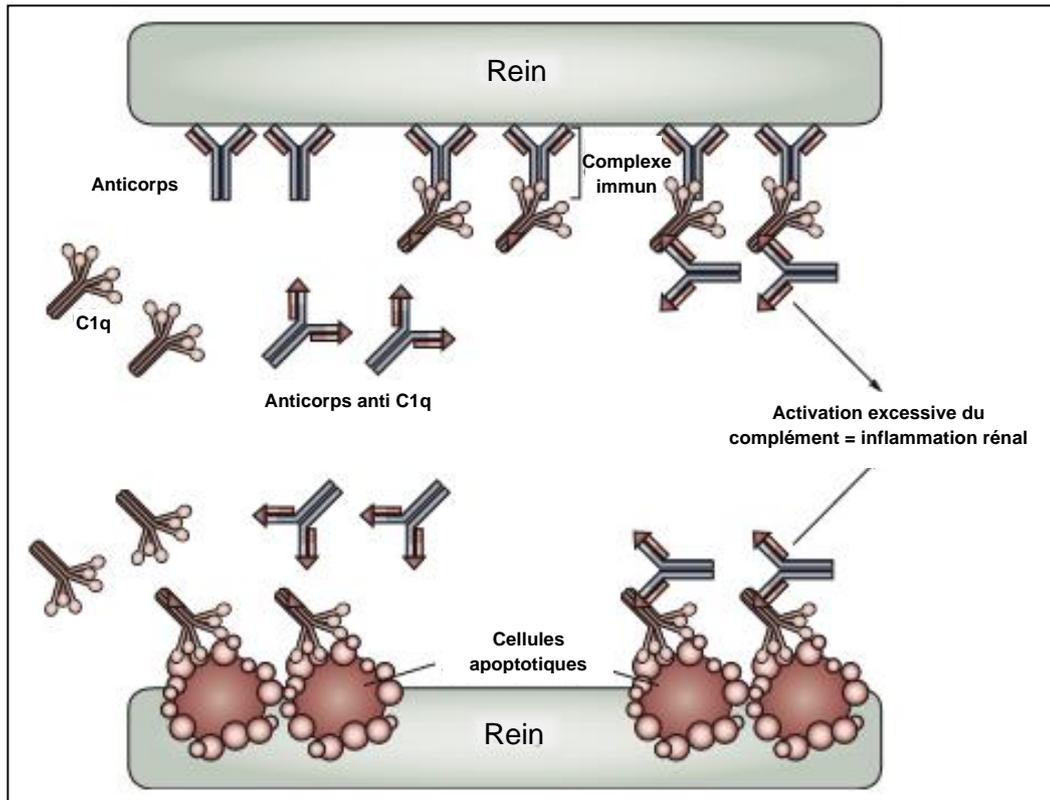


Figure 16 : le rôle d'anticorps d'antiC1q dans le déclenchement d'inflammation rénale (Pickering et Botto, 2010).

1.4.8 Cytokines

L'interleukine 6 (IL6) circulante est élevée au cours des poussées de la maladie, ainsi que le récepteur soluble de l'IL2. Il a également été rapporté une forte production du Blys, cytokine stimulant la production d'autoanticorps (Stohl et al., 2003). la production d'IFN α est très augmentée au cours du LES évolutif, comme l'atteste la production accrue d'ARN messagers codant pour des gènes inductibles par l'IFN α (Meyer, 2005). Parmi les autres biomarqueurs sériques reflétant l'activité du lupus, citons : la chimiokine CXCL13 qui facilite la chimiotaxie des lymphocytes B (Humbel et al., 2013).

1.4.9 Autres anomalies

- présence de facteur rhumatoïde, Le test au latex est positif chez environ 20 % des lupus, plus fréquemment chez les lupus ayant débuté après 50 ans.
- anticorps anti-globule rouge hémolyse mis en évidence par un test de Coombs direct.
- anticorps anti-plaquettes
- cryoglobuline, complexes immuns circulants et chaînes légères libres d'immunoglobulines
- complément (Humbel et al., 2013)

1.5 Physiopathologie

Les mécanismes physiopathologiques responsables du LES restent peu connus. Ils font intervenir des facteurs génétiques, environnementaux et immunologiques. Les travaux les plus récents permettent de mieux comprendre l'interaction entre ces trois facteurs aboutissant chez un individu donné au développement de la maladie lupique (Mouthon, 2012).

1.5.1 La source principale des auto-antigènes lupiques

L'ADN et les nucléosomes peuvent être libérés dans le sang par la mort cellulaire où elle peut se produire par diverses voies qui incluent l'apoptose, la nécrose, et la NETos (Figure 17). Ces voies diffèrent en termes de stimulus, les événements moléculaires qui causent la mort cellulaire, structure de l'ADN libérée et les propriétés immunologiques des cellules décédées (Pisetsky, 2015).

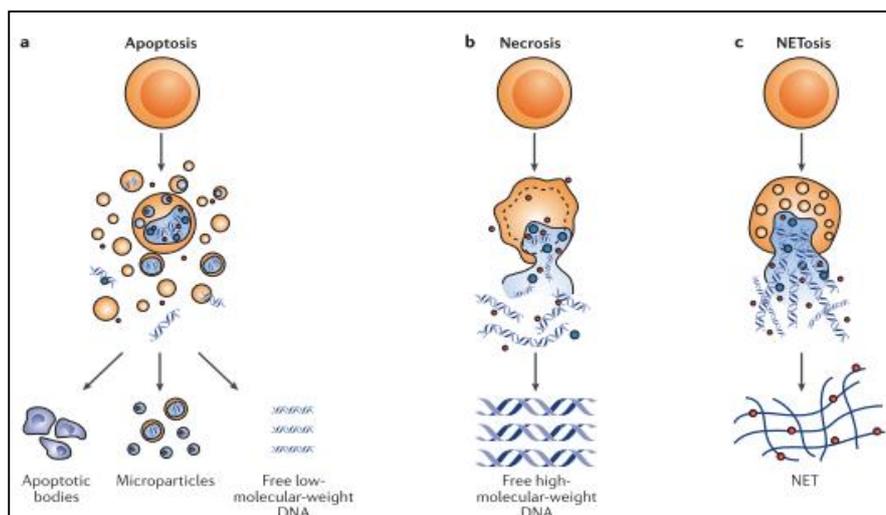


Figure 17 : la libération d'ADN par la mort cellulaire (Pisetsky, 2015)

- **L'apoptose :**

Au cours du lupus érythémateux, le corps apoptotique pourrait constituer « l'auto-antigène » impliqué directement dans la rupture de tolérance contre des antigènes nucléaires. On peut ainsi envisager le lupus érythémateux comme résultant d'un défaut quantitatif d'apoptose et/ou d'un défaut qualitatif et/ou d'une anomalie de la clairance des corps apoptotiques (Humbel et al., 2013). La réaction auto-immune contre les corps apoptotiques est favorisée par un environnement inflammatoire (débris cellulaires, microbiens et cytokines pro-inflammatoires), et la survenue, lors de l'apoptose, de modifications post-translationnelles des auto-Ag avec la création de néoépitopes ou l'exposition d'épitopes cryptiques. Par exemple, les Ag majeurs contre lesquels les patients lupiques développent des auto-Ac (ADNn, nucléosomes, protéines RNP, SSA, SSB et phospholipides) sont regroupés spatialement dans les corps apoptotiques (Mathian et al., 2014) (Figure 18).

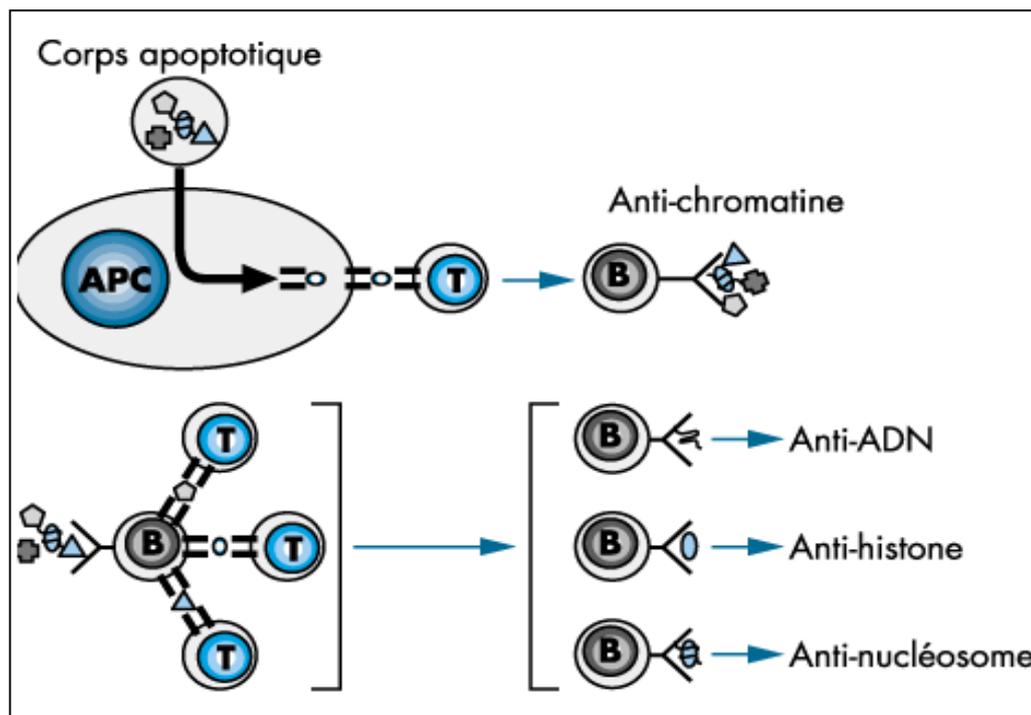


Figure 18 : mécanisme d'induction d'auto-anticorps anti-nucléaire par apoptose (Subra et al., 2000)

- la NETose :

Au cours du lupus, les polynucléaires immatures sont présents en excès dans la circulation (Bennett et al., 2003), Plusieurs travaux récents tendent à impliquer ces cellules dans la production des auto-Ag du LES. Au cours d'une mort cellulaire qui lui est propre, la NETose, le polynucléaire neutrophile subit sous l'influence de signaux extérieurs un processus rapide et actif de désintégration de sa membrane nucléaire et de sa chromatine. Ce processus aboutit à la formation de longs filaments de chromatine couplé au contenu des granules qui prennent la forme de filets (NET), (Figure 17 (c)) qui ont un pouvoir bactéricide très important. Au cours du lupus, les NETs seraient produits en excès et fourniraient une source importante d'auto-antigènes nucléaires (Mathian et al., 2014).

1.5.2 L'activation du système immunitaire

Un excès de production et/ou un défaut de clairance des cellules en apoptose induisent l'accumulation de débris cellulaires (corps apoptotiques, ADN, ARN et protéines nucléaires). Les polynucléaires neutrophiles fournissent une seconde source d'auto-Ag, les NETs. Les cellules dendritiques captent ces auto-Ag et activent les lymphocytes T auto-réactifs qui facilitent et contrôlent l'activation et la sécrétion d'auto-Ac par les lymphocytes B, les cellules dendritiques, les lymphocytes T CD4 et CD8 et les lymphocytes B interagissent par l'intermédiaire de molécules de costimulation, les auto-Ac se fixent aux auto-Ag dans la circulation ou dans les tissus pour former des complexes immuns (CI). Les CI activent la voie classique du complément (C1q), la cascade du complément libère des cytokines et la cytotoxicité lymphocytaire induisent l'inflammation tissulaire. L'IFN α est la cytokine chef d'orchestre de la réaction auto-immune. Il est produit par les cellules dendritiques

plasmacytoïdes et les polynucléaires neutrophiles exposés à différents matériels nucléaires seuls ou sous la forme de complexes immuns. Il active de nombreuses cellules immunitaires, Bly augmente la survie et la sélection des lymphocytes B immatures auto-réactifs, la survie, l'activation et la prolifération des lymphocytes B matures et la production des plasmoblastes et des plasmocytes auto-réactifs. Des boucles de régulation entretiennent et amplifient la réaction auto-immune (Mathian et al., 2014) (Figure 19).

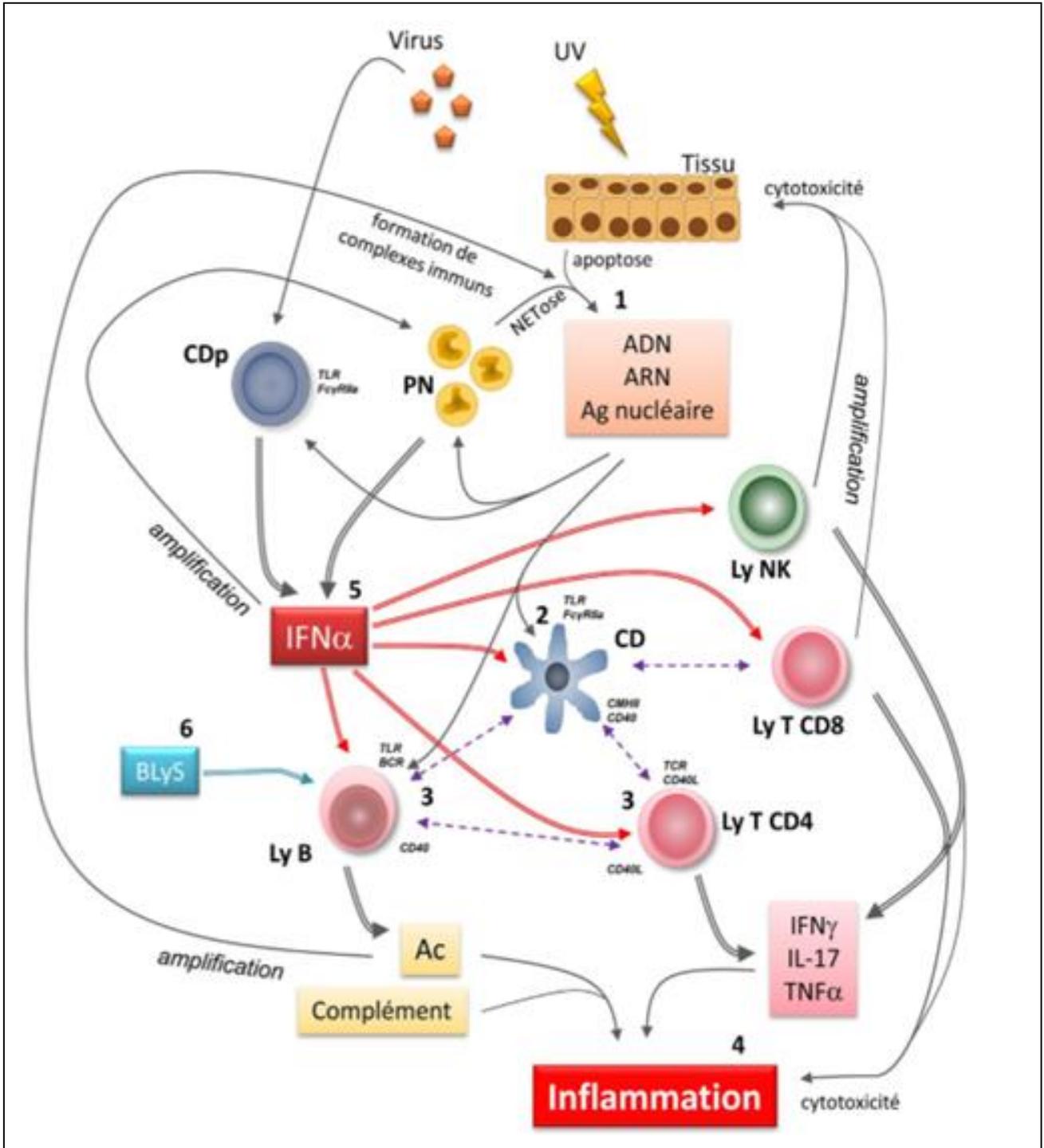


Figure 19 : physiopathologie du lupus(Mathian et al., 2014)

1.5.3 Physiopathologie de la néphropathie lupique

Les lésions intra rénales constatées, sont à la fois liées aux dépôts glomérulaires d'immunoglobulines et de complément mais sont aussi souvent secondaires à l'infiltration du parenchyme rénal par des cellules inflammatoires, notamment par des macrophages activés (**Figure 20**). La présence d'anticorps anti-ADN natif est corrélée au développement des lésions glomérulaires dans le LED, mais les auto-anticorps qui semblent directement et en grande partie responsables de cette atteinte rénale sont les anticorps anti-nucléosomes et les anti-DNA (**Karras, 2015**).

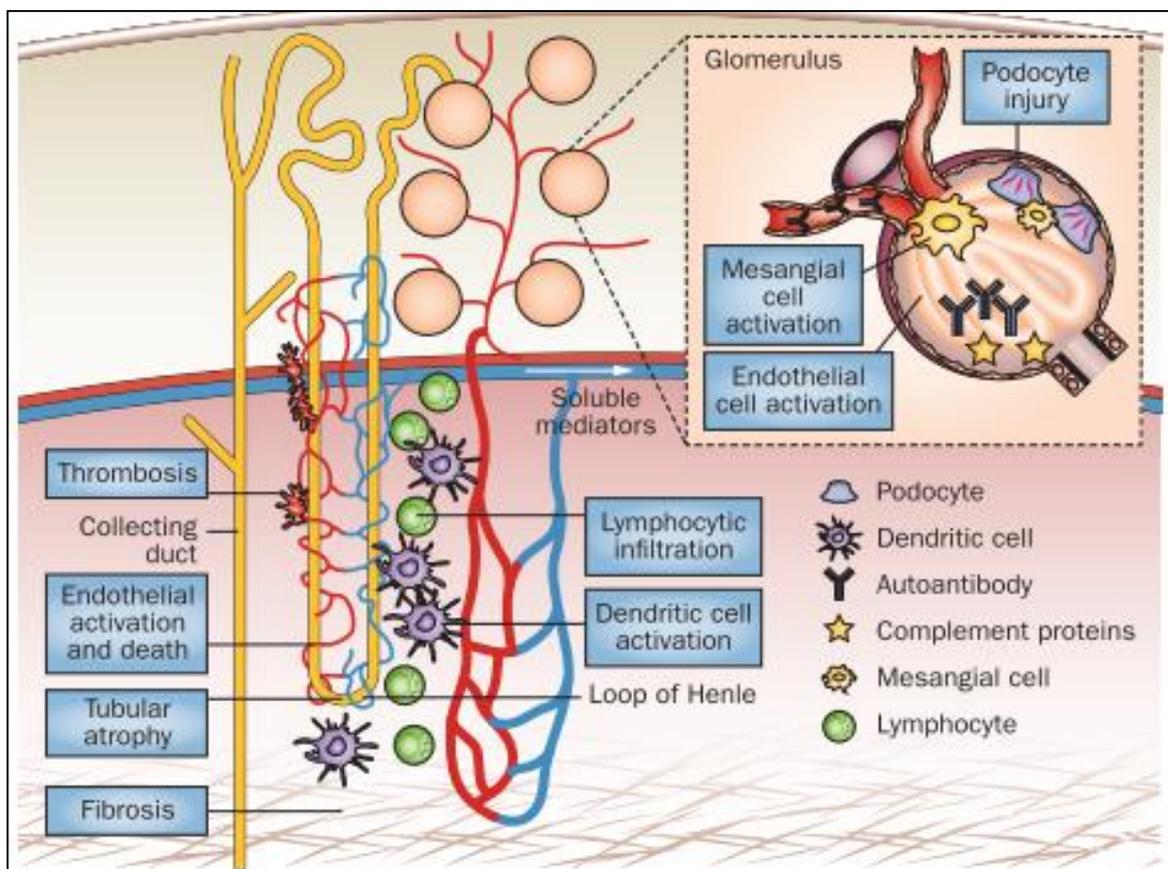


Figure 20 : pathogénicité du lupus néphrite (**Chan, 2015**).

- **Mécanismes primaire des lésions rénales**
 - a) **L'inflammation rénale par les auto-anticorps :**

La glomérulopathie lupique se caractérise dans sa forme classique par des dépôts glomérulaires d'immunoglobulines. La fixation d'Ac anti-ADN ou d'Ac anti-nucléosomes sur des nucléosomes ou de l'ADN glomérulaire ou, par réactivité croisée, sur d'autres antigènes (Ag) glomérulaires (**Mathian et al., 2014**).

L'anomalie de clairance des corps apoptotiques classiquement observée chez les patients lupiques renforce cette possibilité (Humbel et al., 2013).

Les histones très cationiques se fixent sur les héparines sulfates anioniques des membranes basales glomérulaires. Ces histones sont liées à l'ADN natif sous forme de nucléosome, et les anticorps anti-ADN forment un complexe immun avec les nucléosomes plantés (Humbel et al., 2013). Les mécanismes impliqués dans le dépôt des complexes nucléosomes anti-nucléosomes ne sont pas connus. Le dépôt glomérulaire des auto-anticorps peut se faire soit par un mécanisme de formation locale de complexes immuns, soit du fait du dépôt de complexes circulants (Subra et al., 2000). pour secondairement induire une réaction inflammatoire via l'activation du complément (Humbel et al., 2013) (Figure 21).

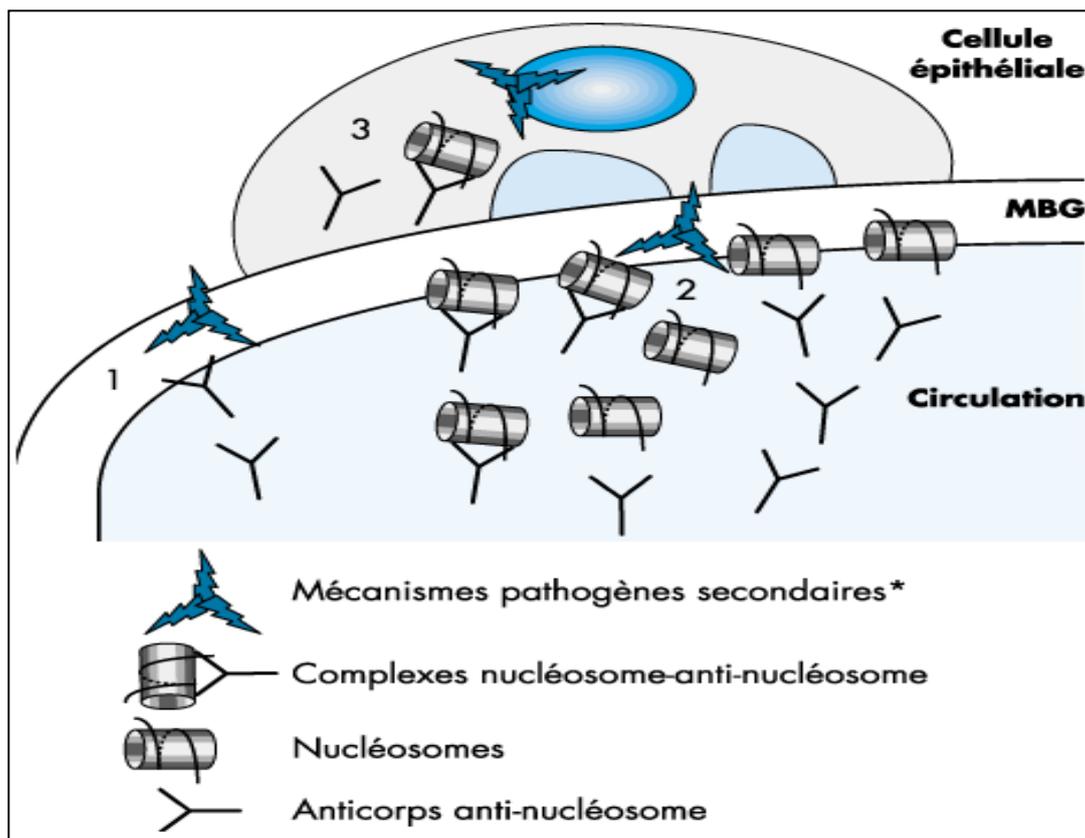


Figure 21 : Rôles pathogènes des auto-anticorps anti nucléosome au niveau des glomérules rénaux.

1. Mécanisme pathogène direct par fixation sur une structure glomérulaire. 2. Formation de complexes par dépôt de complexes immuns circulants et/ou formation locale de complexes. 3. Endocytose et pénétration intra-cytoplasmique et/ou intranucléaire d'anticorps ou de complexes immuns. Ces mécanismes peuvent aussi intéresser les cellules endothéliales et mésangiales des glomérules rénaux. * Mécanismes pathogènes secondaires : activation du système du complément, réaction inflammatoire, apoptose intraglomérulaire (Subra et al., 2000).

b) L'inflammation rénale par les complexes immuns :

Dans la majorité des cas, les auto-Ac sont à l'origine des lésions tissulaires par le biais de la formation de complexes immuns (CI) (Mathian et al., 2014). Ces derniers peuvent déclencher les lésions rénales par différents mécanismes (Figure 22). Les complexes qui se déposent dans le sous-endothélium détruisent les cellules endothéliales qui sont à l'origine des néphropathies lupiques de classe III et IV. Ces dépôts ont accès à l'espace vasculaire et peuvent activer les cellules myéloïdes circulantes exprimant les récepteurs de la fraction Fc, cela leur permet de s'infiltrer dans le tissu rénal. En revanche, le dépôt sous-épithélial, trouvé dans la néphropathie lupique de classe V, détruit les podocytes mais obtient une réponse inflammatoire moins grave que les dépôts sous-endothéliaux, car ils entrent en contact seulement avec l'espace urinaire. Si les ruptures sont aux niveaux de la membrane basale glomérulaire MBG. Ces complexes immuns sous-épithéliaux peuvent alors accéder au glomérule entier. Les dépôts immuns peuvent activer la cascade du complément (Davidson, 2015), ou ils peuvent directement activer la cellule glomérulaire intrinsèque (cellule mésangiale), qui mène aux lupus de classe I et II (Kanfer et al., 2014). Les complexes contenant les acides nucléiques activent en plus les récepteurs TLR intracellulaires, à leur tour augmentant la réponse inflammatoire (Davidson, 2015), par une importante production intra-rénale de cytokines proinflammatoires et notamment d'interféron α et d'IL6, ainsi qu'une surexpression de molécules d'adhésion sur les parois de la microcirculation rénale, conduisant à l'afflux de lymphocytes T cytotoxiques et Th17, ainsi que de lymphocytes B, qui amplifient l'inflammation intra-rénale (Karras, 2015).

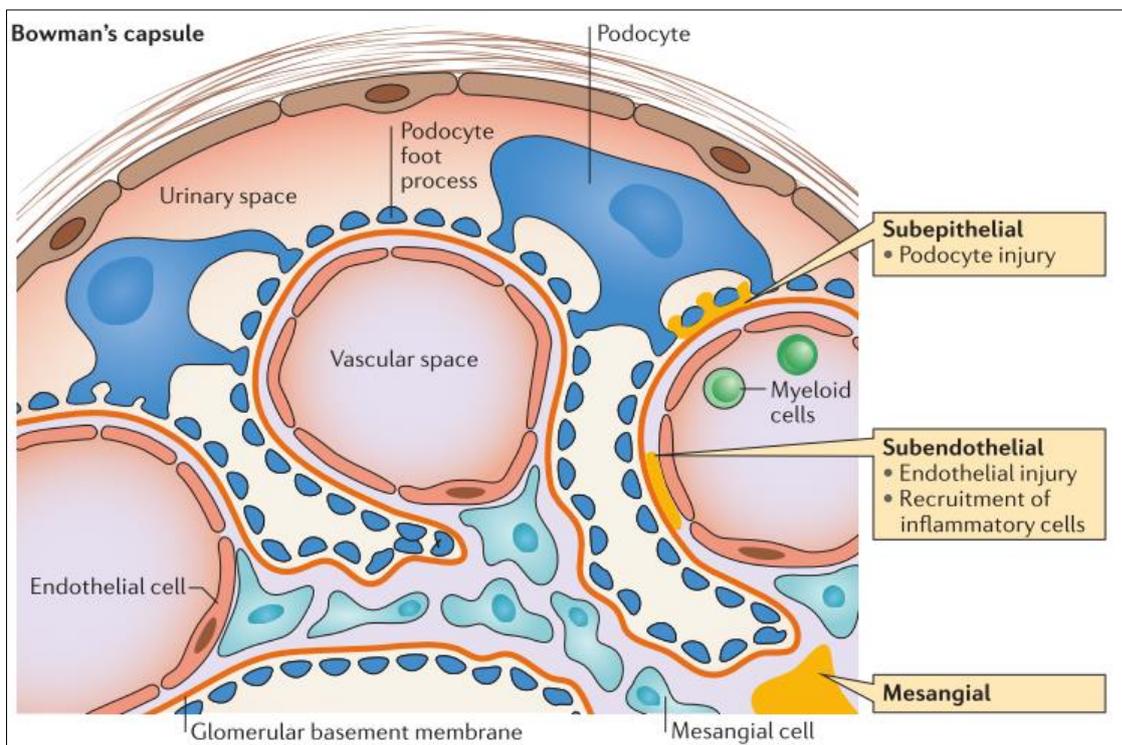


Figure 22 : les lésions glomérulaires du lupus néphrotique (Davidson, 2015).

➤ Mécanisme secondaire des lésions rénales

a) L'inflammation rénale par le complément :

La présence des complexes immuns dans les tissus, activent la voie classique du complément (**Mathian et al., 2014**). Ceci conduit au dépôt du C1 (C1q/C1r/C1s) sur la membrane basal glomérulaire. La libération des peptides chimiotactiques C5a et C3a déclenche le recrutement des cellules phagocytaires (monocyte, macrophage...) à proximité du C1q. L'activation des phagocytes conduit à la libération des radicaux libres qui peuvent modifier post-traditionnellement (MPT) le C1q, ces modifications peuvent être absorbées par les cellules présentatrices d'antigène et les peptides modifiés présentés aux lymphocytes T. Les lymphocytes T auto-réactifs à leur tour active les lymphocytes B qui vont se différencier en cellules plasmiques productrices d'anticorps anti-C1q muté (**Eggleton et al., 2014**) (**Figure 23**).

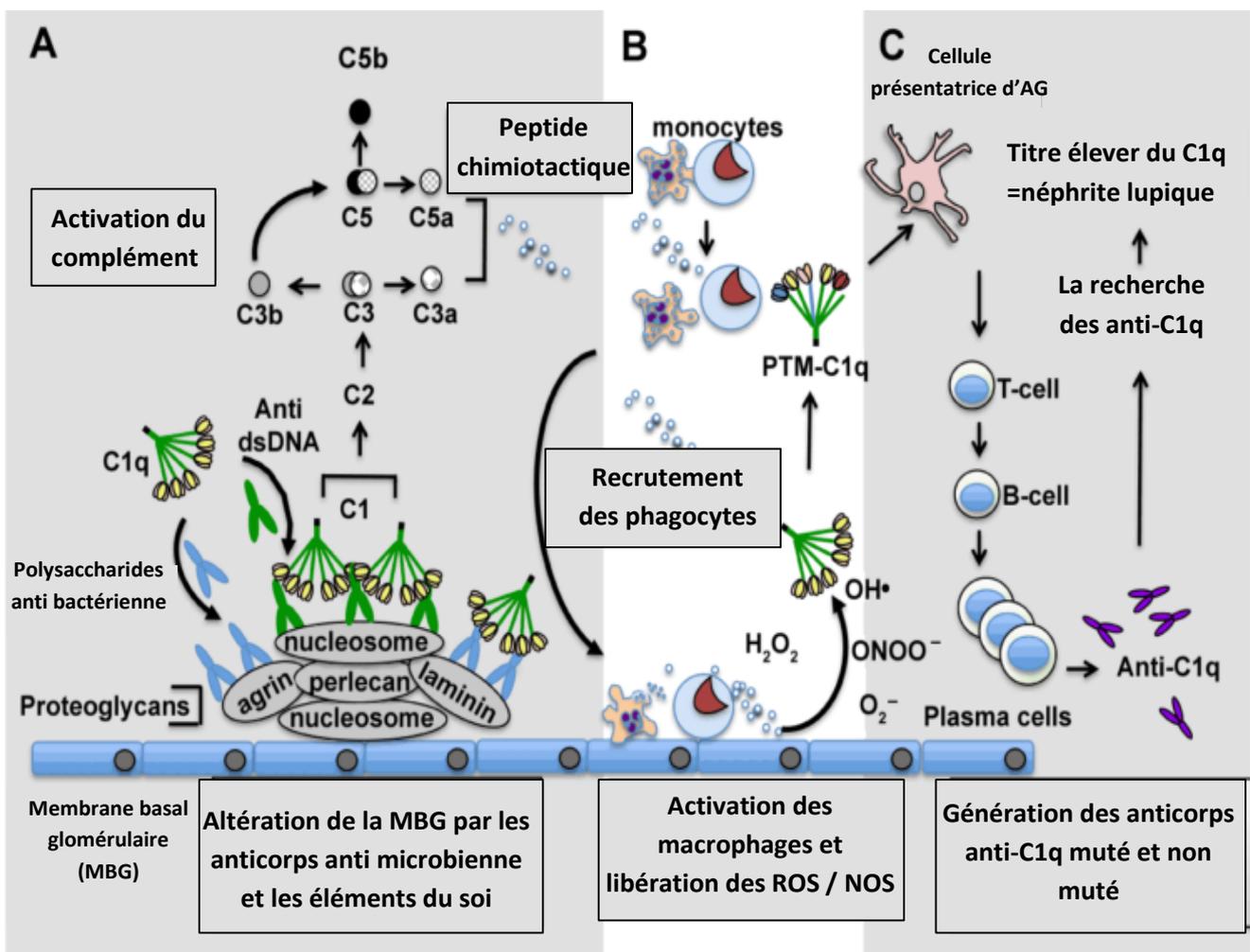


Figure 23 : le mécanisme de déclenchement des néphropathies lupique par l'intermédiaire du C1q (**Eggleton et al., 2014**).

1.6 Traitement

Le traitement de la néphropathie lupique a beaucoup évolué depuis 20 ans, mais malgré les nouvelles molécules qui ont enrichi notre arsenal thérapeutique. Le choix des traitements repose sur la caractérisation précise des lésions histologiques rénales et la biopsie doit rester systématique avant de prendre la décision thérapeutique (**Karras, 2015**). Les types de néphropathie lupique qui posent de vrais problèmes thérapeutiques sont les classes III, IV et V (**Fakhouri et Lesavre 2007**).

1.6.1 Les Types du Traitement

Le traitement est conduit en deux phases. Une première période de traitement dit « d'attaque », visant à mettre la néphropathie en rémission, suivie d'une période de traitement « d'entretien », dont le but est d'éviter la rechute de la GN, complication qui peut toucher jusqu'à 35 % des patients et qui a des conséquences significatives sur le pronostic rénal à long terme (**Karras, 2015**). La nécessité d'un traitement initial d'attaque « fort » appelée traitement d'induction comportant une association de corticostéroïdes et de cyclophosphamide, puis la nécessité d'un traitement d'entretien par mycophénolate mofétil ou azathioprine associé à des corticoïdes à faible dose (**Daugas, 2008**). un traitement immunosuppresseur par CYC, MMF, ciclosporine ou azathioprine (AZA) peut faire diminuer la protéinurie et améliorer le pronostic rénal, notamment lorsqu'il existe une dysfonction rénale associée ou un syndrome néphrotique persistant (**Karras, 2015**).

1.6.2 Biothérapie de la Néphropathie Lupique :

Les nouvelles biothérapies ont de multiples "cibles" spécifiques impliquées dans l'immunopathologie du lupus (**Sibilia et Sordet 2005**). Le rôle majeur du lymphocyte B dans de nombreuses pathologies auto-immunes est à l'origine du développement de nouvelles molécules ciblant sa fonction, Cibler le lymphocyte B est donc un sujet d'actualité dans les maladies auto-immunes systémiques et particulièrement le lupus (**Hachulla, 2012**) (**Figure 24**).

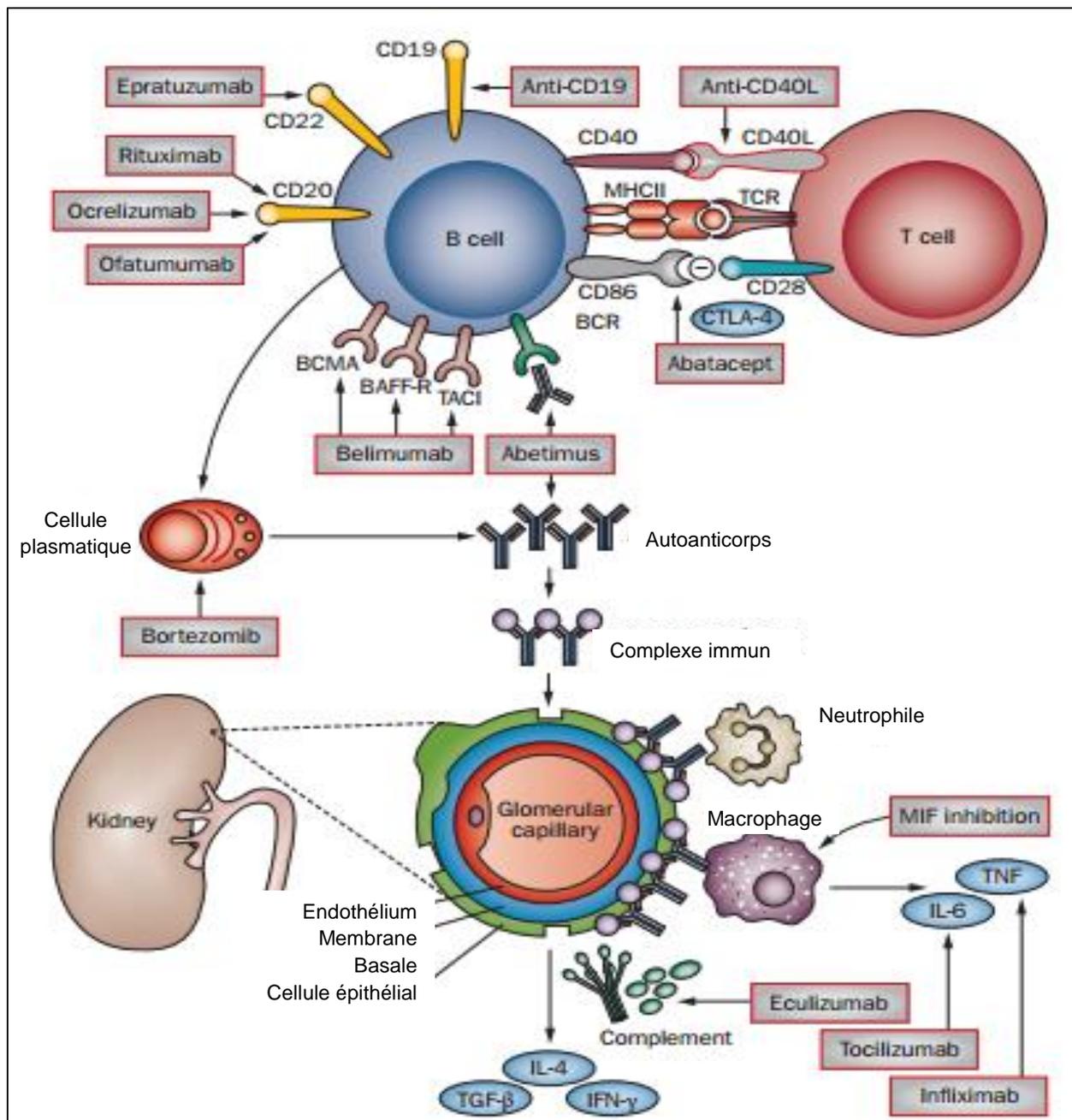


Figure 24 : Biothérapie de la néphropathie lupique (Chan, 2015)

➤ **Immunomodulateurs ciblant Blys (BAFF) :**

Blys a été impliquée dans la physiopathologie lupique dans la mesure où des taux élevés de Blys ont été détectés chez les patients lupiques et sont corrélés aux taux élevés d'auto-Ac. A l'heure actuelle deux classes de molécules modulant BAFF sont en cours de développement dans la néphropathie lupique (Abdnasser et Mansour, 2014).

BAFF est exprimé par les monocytes, macrophages et cellules dendritiques notamment. Cette protéine transmembranaire est clivée par une protéase libérant une forme soluble. BAFF peut se fixer sur 3 récepteurs membranaires du lymphocyte B : BAFF récepteurs, TACI et BCMA (B

cell maturation antigen). BAFF est le récepteur qui influence la différenciation et la survie du lymphocyte B. TACI est un récepteur inhibiteur des lymphocytes B.

- **Le Belimumab** : est un anticorps monoclonal totalement humanisé IgG1 lambda qui se fixe sur le Blys soluble et inhibe ainsi son activité biologique. Blys inhibe l'apoptose des lymphocytes B et stimule leur différenciation en cellules plasmocytaires productrices d'immunoglobulines (Hachulla, 2012) (Figure 25).
- **L'Atacicept** : Cette molécule est capable de neutraliser BAFF mais également APRIL (Dall'Era et al., 2007) (Figure 25).

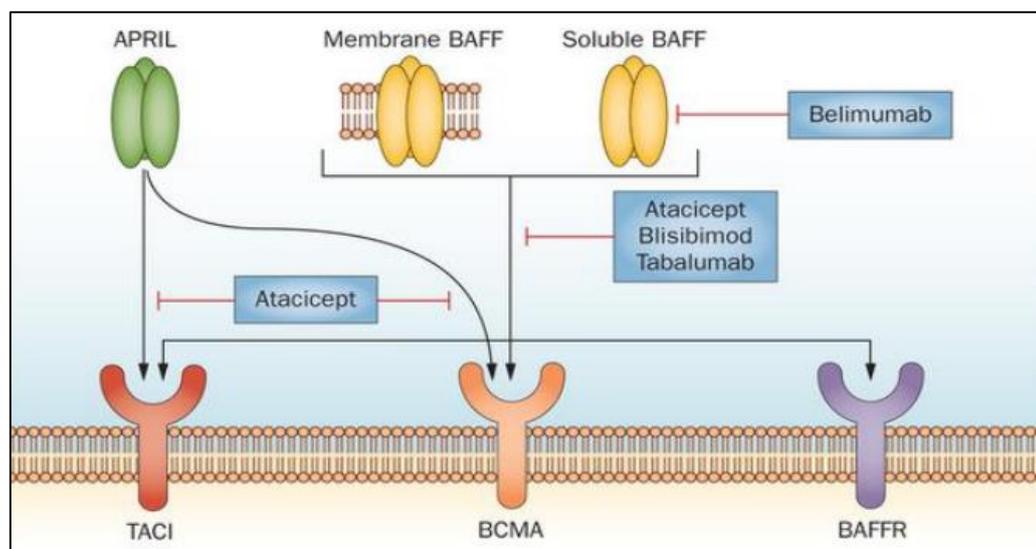
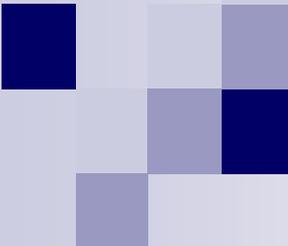


Figure 25 : Immunomodulateurs ciblant Blys/BAFF (Stohl, 2013)

1.6.3 Pronostique

Le pronostic du LES s'est considérablement amélioré depuis 30 ans, notamment en raison du diagnostic des formes frustes et des progrès thérapeutiques. Le taux de survie à 10 ans est d'environ 90 % (Lok, 2015). Cette amélioration a été obtenue au prix d'une morbidité et d'une mortalité iatrogènes non négligeables, de nature principalement infectieuse et cardio-vasculaire (Mathian et al., 2014).

Il est envisageable d'améliorer le pronostic par une prise en charge précoce des patients, par une éducation thérapeutique renforcée, pour une meilleure observance du traitement, et par une épargne cortisonique dans la mesure du possible (Bouras et al., 2014).



Chapitre II : Matériel Et Méthodes

Chapitre II : Matériels Et Méthodes

Notre stage pratique a été réalisée au niveau du service d'immunologie médicale, unité d'auto-immunité de l'hôpital « ISSAD Hassani » de Beni Messous durant la période de six mois (janvier 2016 - juin 2016). L'objectif principal de notre travail est d'établir un profil d'auto anticorps anti nucléaires chez les patients atteints d'un lupus néphrotique sur la base d'une étude comparative et analytique entre les patients lupiques en présence ou en absence d'atteinte rénale. L'intérêt souhaité à travers notre étude est de préciser l'apport de ces auto-anticorps dans le diagnostic et le suivi de la néphropathie lupique.

2.1 Matériel :

2.1.1 Matériel Biologique

Notre étude a porté sur un échantillon de 70 patients atteints de lupus néphrotique, 57 étaient de sexe féminin et 11 de sexe masculin, avec un sexe ratio de (5F/1H), avec des extrêmes d'âge allant de 16 à 66 ans et une moyenne de 35 ± 8 ans. Ces échantillons ont été comparés avec une population de 58 patients présentant un lupus non néphrotique, L'âge de cette seconde population variait entre 11 et 87 ans avec une moyenne de 36 ± 12 ans, 54 étaient de sexe féminin et 4 de sexe masculin avec un sex-ratio de (13F/1H). Le diagnostic du LED chez ces patients a été retenu devant l'association d'au moins 4 signes cliniques ou biologiques appartenant aux 11 critères de l'ACR. Les données de chaque patient ont été collectées à partir des fiches de renseignement remplies par le médecin traitant. Les renseignements regroupant des données épidémiologiques, cliniques (rash malaire, photosensibilité, phénomène de Raynaud, atteinte rhumatologique, atteinte neurologique...) et immunologiques (FAN, Anticorps anti-DNA, anti-SSA, anti-SSB, anti-SM, anti-RNP) des patients qui ont été établies (**ANNEXE VII**).

▪ les Sérums :

Les prélèvements sanguins ont été effectués par ponction veineuse et récoltés dans des tubes héparines. Une centrifugation du sang total a été réalisée par la suite afin de récupérer les sérums, qui ont été aliquotés dans des eppendorfs annotés pour chaque patient. Si le test ne peut pas être fait dans les 8 heures qui suivent le prélèvement, les échantillons vont être conservés à 4°C, après l'analyse. Les échantillons sont congelés à -20°C pendant 6 mois pour les études antérieures.

- **Cellule HEP2 :**

cellules HEp-2, dérivées d'une lignée tumorale de cellules épithéliales humaines, qui possèdent de gros noyaux et de gros nucléoles permettant une bonne visualisation des structures nucléaires reconnues par les anticorps du patient, de plus ces cellules étant tumorales, elles offrent l'avantage de présenter de multiples mitoses, utiles à l'interprétation et à l'identification d'anticorps particuliers (**Petitpierre et al., 2009**) (ANNEXE I).

- **Cellule *Crithidia luciliae* :**

Est un trypanosome flagellé unicellulaire, parasite de la mouche (non pathogène chez l'homme). Il contient un volumineux noyau et un kinétoplaste qui contient une masse fortement condensée d'ADN double brin circulaire, elle sert de substrat sensible et spécifique pour la détection d'autoanticorps anti-ADN double brin (**Fraud, 2011**) (ANNEXE I).

2.1.2 Matériel non Biologique

Le Matériel et l'appareillage sont présentés en ANNEXE II, IV, V

- Les principaux kits utilisés sont :
 - ✓ NOVA Lite® HEp-2 ANA Kits : pour le dépistage des FAN en immunofluorescence indirecte sur Hep-2.
 - ✓ NOVA Lite® dsDNA *Crithidia luciliae* Kits : pour le dépistage des anticorps anti-DNA en immunofluorescence indirecte sur *Crithidia luciliae*.
 - ✓ QUANTA Lite tm ENA 6 ELISA en Screening : pour le dépistage des anticorps anti-ENA en ELISA screen.
 - ✓ QUANTA Lite® ENA Profil ELISA : pour déterminé le profil d'anticorps anti-ENA en ELISA Profile.

2.2 Méthodes :

Deux méthodes sont habituellement utilisées pour rechercher les AAN : l'immunofluorescence indirecte (IFI), et la méthode immuno-enzymatique (ELISA). De manière générale, l'IFI est considérée comme une méthode très sensible, mais peu spécifique, alors que l'ELISA, qui permet de détecter les anticorps spécifiquement dirigés contre des nucléoprotéines bien caractérisées, est plus spécifique mais moins sensible. Pour cela, afin de déterminer le profil d'autoanticorps chez les patients atteints d'un lupus, nous avons utilisé en premier lieu l'immunofluorescence indirect sur cellule HEP-2 comme test de dépistage, en cas de positivité, des autoanticorps anti-ENA ont été recherchés au moyen de deux ELISA (ENA screening, ENA profil) et les anti-dsDNA ont été recherchés par IFI sur *Crithidia luciliae* (**Figure 26**).

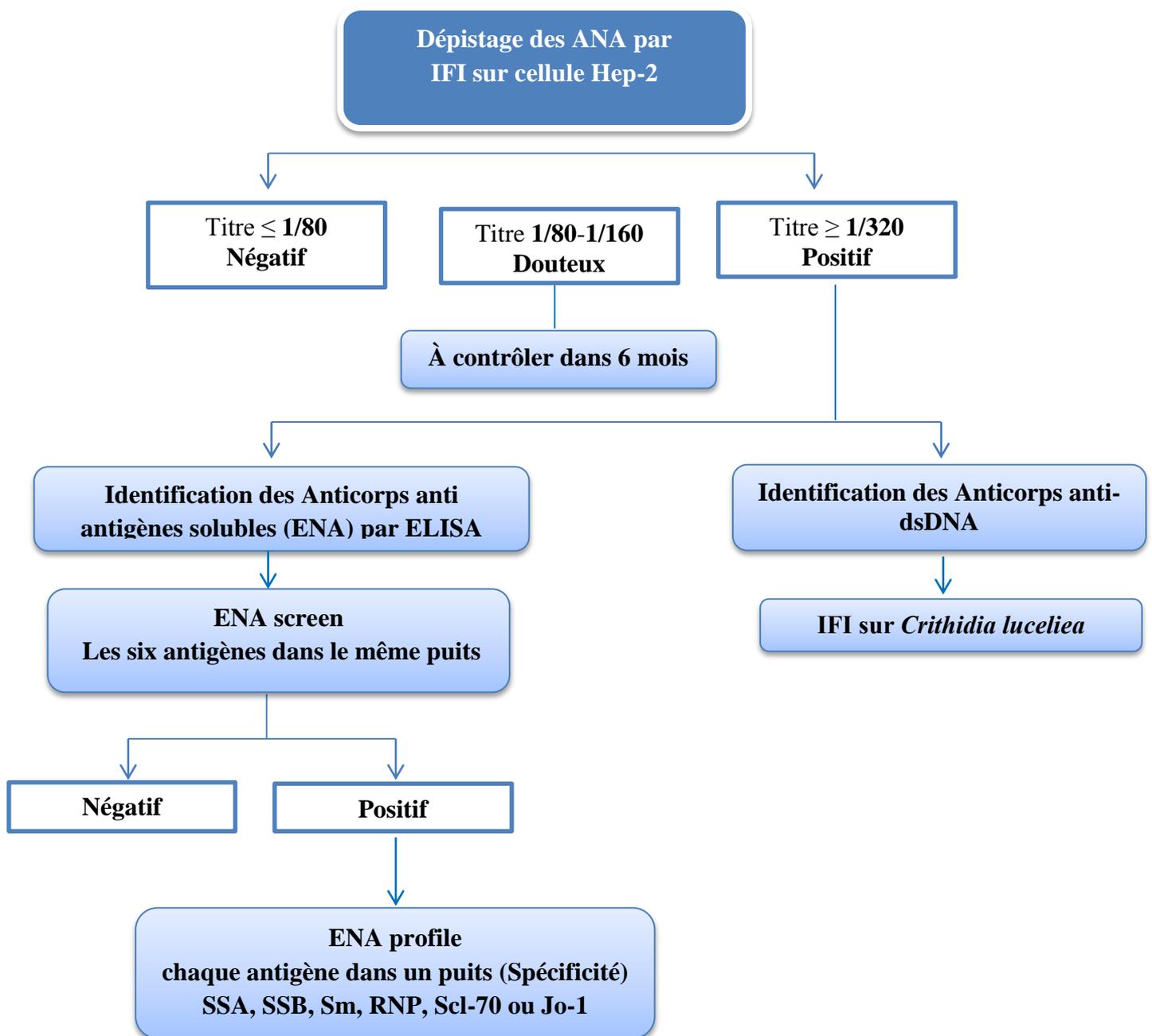


Figure 26 : l’algorithme utilisé pour la recherche d’anticorps antinucléaires (ANA) par IFI et ELISA dans le cas de dépistage d’un Lupus

2.2.1 Identification des ANA par immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule Hep-2 :

▪ Principe :

L'immunofluorescence indirecte est une technique de détermination semi-quantitative des anticorps anti-nucléaires (ANA) dans le sérum humain, elle permet de déterminer la localisation des antigènes dans un tissu donné. Les échantillons des patients à des dilutions croissantes sont incubés avec les cellules HEp-2 fixé sur les lames suivies par un lavage. Les anticorps fixés sur ces cellules sont ensuite révélés grâce à un conjugué couplé à un fluorochrome et les anticorps non liés sont éliminés au lavage. La lecture des lames et leur interprétation se font à l'aide d'un microscope à fluorescence. Les échantillons ayant une réaction positive aux autoanticorps afficheront une fluorescence vert pomme qui correspond aux zones de la cellule ou des noyaux où l'autoanticorps s'est lié.

▪ Mode opératoire :

1. Dilution des sérums des patients :

- a. Dépistage initial : diluer les échantillons des patients au 1:40 avec la solution tampon PBSII diluée
- b. Titrage : diluer en série en double à partir de la dilution de dépistage initiale pour tous les échantillons positifs en utilisant la solution tampon PBS II (1:80, 1:160,... 1:1000).

2. Préparation de la lame substrat : laisser la lame atteindre la température ambiante avant de la retirer de sa pochette. Étiqueter la lame à l'aide d'un crayon et la placer dans une chambre humide adéquate. Ajouter une goutte (20 à 25 µl) du contrôle positif non dilué et du Contrôle négatif respectivement dans les puits 1 et 2. Ajouter une goutte (20 à 25 µl) de l'échantillon du patient sur les puits restants.

3. Incubation de la lame substrat : incuber la lame pendant 30 minutes dans une chambre humide (un essuie-tout humide placé à plat au fond d'un récipient de plastique ou de verre fermé permet de maintenir les conditions d'humidité appropriées).

4. Lavage de la lame substrat : après l'incubation, utiliser une pissette en plastique ou une pipette pour éliminer le sérum en rinçant délicatement avec la solution tampon PBS II diluée (dilution à 1:40 en ajoutant le contenu de la bouteille de concentré PBS II à 975 ml d'eau distillée). Orienter la lame et le flot de solution tampon PBS II de façon à minimiser le débordement des échantillons entre les puits.

5. Addition du conjugué fluorescent : éliminer l'excès de la solution tampon PBS II en secouant la lame. Replacer la lame dans la chambre humide et recouvrir immédiatement chaque puits d'une goutte de conjugué fluorescent. Incuber la lame pendant 30 minutes.

6. Lavage de la lame substrat : répéter l'étape 3 fois avec la solution tampon PBS II diluée.



Figure 27 : Les lames d'immunofluorescences indirecte sur Hep-2

7. Montage de la lame substrat :

- a. Placer une lamelle sur un essuie-tout.
 - b. Appliquer le milieu de montage en une ligne continue sur le bord inférieur de la lamelle.
 - c. Éliminer l'excès de la solution tampon PBS II et placer la lame contre la lamelle.
- ✓ Dans le cas où la technique est automatisée, tous les étapes vont être réalisées par l'automate, la seule différence entre la technique automatisée et manuelle dans l'étape de lavage, l'automate lave puits par puits ce qui diminue le risque de contamination entre les puits.
 - ✓ Avant de lancer l'automate on doit :
 1. Remplir la solution du rinçage de l'automate par le PBSII
 2. Amorcer l'automate
 3. choisir la technique et identifier la liste des échantillons dans le système d'exploitation de l'automate
 4. placer le portoir des échantillons, la plaque des déluitions, le conjugué, les contrôles positif et négatif et les lames Hep2 étiqueter dans l'automate
 - **Réaction négative** : Un échantillon est considéré négatif si une coloration spécifique est égale ou inférieure au témoin négatif. Les échantillons peuvent afficher différents degrés de coloration de fond.

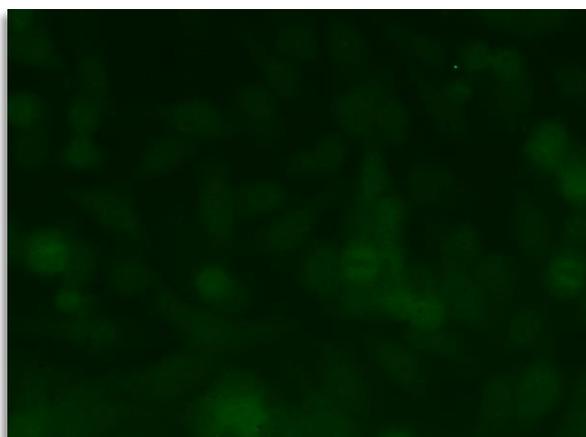


Figure 28 : aspect négatif d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule Hep-2 (Buchner et al., 2014)

- **Réaction positive** : Un échantillon est considéré comme étant positif si une coloration nucléaire spécifique est notée et est supérieure au contrôle négatif. En cas de résultat positif, la fluorescence observée peut avoir différents aspects : homogène, périphérique, moucheté nucléaire et aussi on peut observer des aspects mixtes regroupe plusieurs types de fluorescence (homogène et moucheté, homogène et nucléolaire...) le résultat est donné en titre qui correspond à la dernière dilution donnant une fluorescence positif (1/80 ; 1/160 ; 1/320 ...).
- **Les aspects** :

Au cours du LES, divers aspects de fluorescence, parfois associés, sont rencontrés :

- **Homogène** : défini par une fluorescence uniforme du noyau typiquement associé à la présence d'anticorps anti-dsDNA

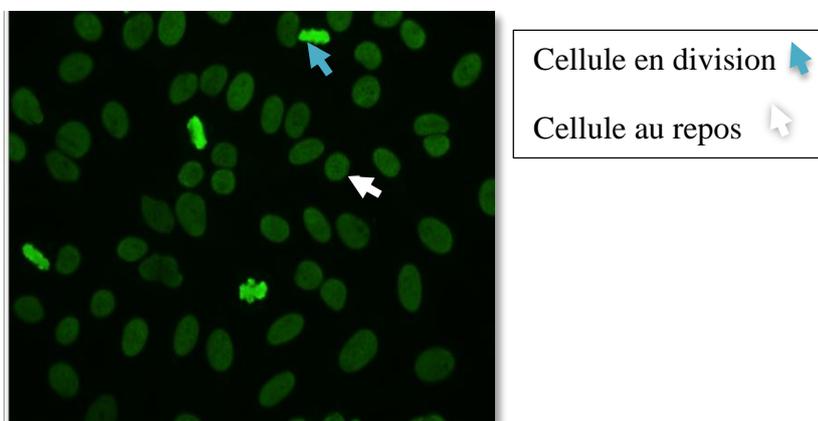


Figure 29 : aspect Homogène d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule Hep-2 (Buchner et al., 2014)

- **Moucheté** : correspond à la présence d'autoanticorps anti ENA , il s'agit d'images de type :
 - **Moucheté a gros grains** : évocatrices de la présence d'anticorps anti Splicéosome ou complexes d'épissage tels que les Ac anti-Sm et anti-U1 RNP

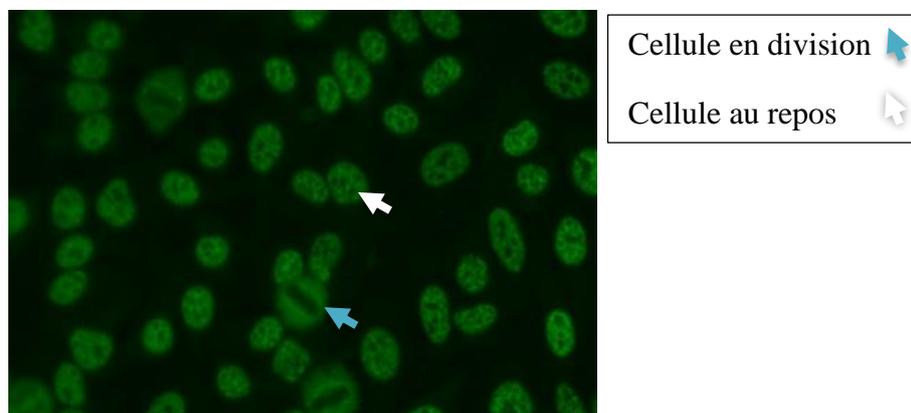


Figure 30 : aspect moucheté a gros grains d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur HEP-2 (Buchner et al., 2014)

- **Moucheté fin** : évocatrices de la présence d'Ac anti-Ro/SSA avec ou sans Ac anti-La/SSB

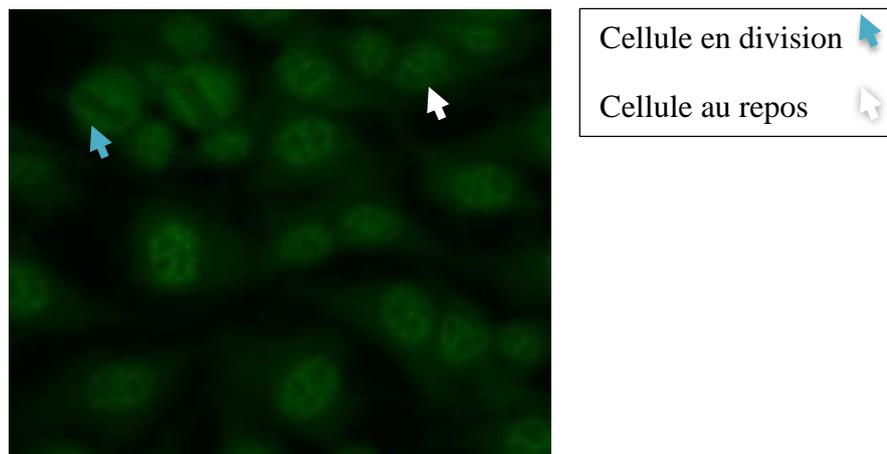


Figure 31 : aspect moucheté fin d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule Hep-2 (**Buchner et al., 2014**)

- **Homogène et Moucheté** : présente les caractéristiques des deux aspects en même temps évocateur de la présence des anticorps anti-dsDNA et anti-ENA.
- ✓ Tout résultat positif d'ANA sur cellules HEp-2 doit être interprété non seulement en fonction du titre des ANA, de la présence ou non de marqueurs (Ac anti-ENA, Ac anti-ADNdb) mais aussi, et surtout, en fonction des données cliniques.
 - ✓ Du fait de manque de spécificité de l'IFI sur Hep-2, il est recommandé que tous les échantillons ayant une réaction positive aux ANA soient titrés jusqu'à la dernière dilution et que des tests plus spécifiques soient effectués pour la détection des autoanticorps anti-ADN double brin (dsDNA) et des autoanticorps aux antigènes nucléaires solubles (ENA).

2.2.2 Identification des anticorps anti-DNA

L'utilisation combinée des méthodes IFI et ELISA pour la recherche d'anti-dsDNA est d'un apport majeur pour le diagnostic de LES.

❖ L'immunofluorescence indirecte (IFI) sur *Crithidia luciliae* :

Le même principe et mode opératoire comme l'Identification des ANA par immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule Hep-2 : La seule différence est aux niveaux de la culture cellulaire des lames la première technique c'est sur cellule Hep-2 et celle-là sur *Crithidia luciliae*

- **Réaction négative** : Un échantillon est considéré négatif si la coloration spécifique du kinétoplaste est moins forte que celle du contrôle négatif. La coloration d'autres structures telles que le corpuscule basal, le flagelle ou le noyau sans coloration concomitante du kinétoplaste devrait être considérée négative pour une réactivité à l'ADN double brin.

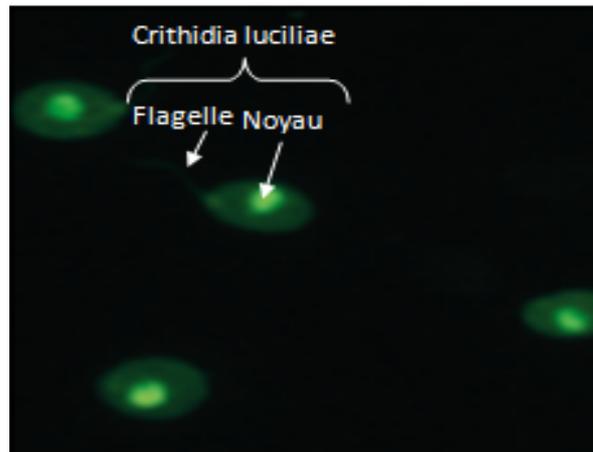


Figure 32 : immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule de *Crithidia luciliae* négatif (Lakos et al., 2016)

- **Réaction positive.** : Un échantillon de sérum est considéré comme positif si le kinétoplaste présente une fluorescence clairement visible, supérieure à celle du puits du contrôle négatif (si la fluorescence est $\geq 1/10$) Plus la dilution est importante, moins la fluorescence est marquée pour disparaître au-delà d'une dilution seuil

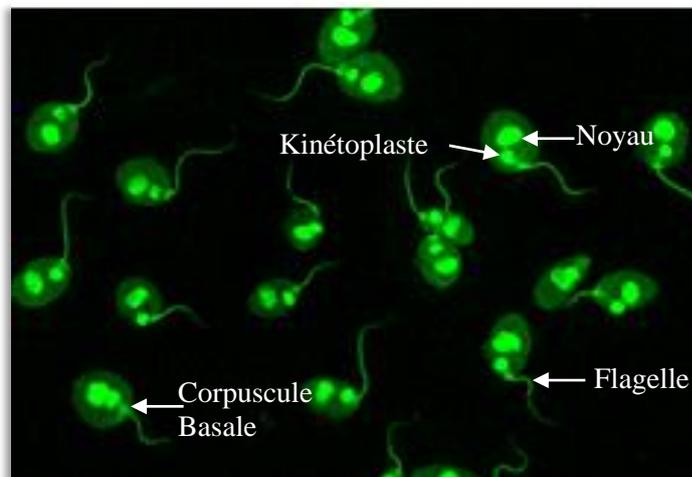


Figure 33 : immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellule *Crithidia luciliae* positif (Lakos et al., 2016)

2.2.3 Identification des anticorps anti-antigènes solubles (ENA) par ELISA :

L'identification des ENA se fait par deux ELISA successif la première ENA screen pour confirmer la présence des ENA dans le sérum en cas de positivité on passe à l'ENA profil pour déterminé le type des ENA présent dans l'échantillon.

❖ ENA screen :**▪ Principe :**

Cette technique ELISA permet la réalisation d'un dosage semi-quantitatif in vitro pour la détermination dans le sérum ou le plasma d'auto-anticorps humains de classe IgG dirigés contre six antigènes différents Sm, RNP, SSA, SSB, scl-70 et jo-1 regroupés dans le même puits. Ces derniers sont fixés dans les puits d'une plaque de micro-titration. Les contrôles pré dilués et les sérums de patients dilués sont ajoutés dans différents puits. Une étape d'incubation permet la liaison entre les anticorps anti Sm, RNP, SSA, SSB, scl-70 et /ou Jo-1 présents dans le sérum et l'antigène immobilisé dans le puits. Les molécules non liées aux antigènes sont éliminées par lavage. Un conjugué enzymatique anti-IgG humains est alors ajouté dans chaque puits pour révéler l'auto anticorps du patient. Après une étape d'incubation, le conjugué non fixé est éliminé par lavage. L'activité enzymatique résiduelle est quantifiée grâce à l'addition d'un substrat chromogène qui donne une coloration bleue qui vire au jaune après l'ajout d'une solution d'arrêt, suivie d'une étape de mesure de l'intensité de la coloration ainsi développée, la densité optique est lue à 450nm.

▪ Mode opératoire :**○ Préparation du test :**

1. Diluer 10µL de chaque échantillon avec 1000 µl de diluant (1:100).
2. Porter tous les réactifs et les échantillons à température ambiante (20-26 °C) avant de les utiliser. Placer le nombre nécessaire de micro puits ou de barrettes sur le portoirs.
3. Distribuer 100µl de chacun des contrôles positifs et négatif pré-dilués et de sérums de patients dilués dans les puits. Recouvrir les barrettes et laisser incuber pendant 30 minutes à température ambiante.
4. Lavage : Diluer la totalité de la solution de lavage avec 975 ml d'eau distillée (1/40), aspirer le contenu de tous les puits ajouter 200-300 µl de tampon dilué dans tous les puits et l'aspirer en suits complètement. Répéter cette opération deux fois supplémentaires pour un totale de trois lavages. Après le dernier lavage, retourner la plaque en la tapotant sur du papier absorbant. Pour enlever tout liquide de lavage résiduel.
5. Distribuer 100ul de conjugué HRP IgG dans chaque puits, recouvrir les barrettes et incuber pendant 30 minutes à température ambiante, comme décrit à l'étape 2.
6. Lavage : répéter la procédure décrite à l'étape 4.
7. Distribuer 100 µl de chromogène TMB dans chaque puits et laisser incuber à l'obscurité 30 minutes à température ambiante.

8. Ajouter 100 ul de solution d'arrêt HRP dans chaque puits .tapoter délicatement les plaques pour bien mélanger le contenu des puits. Ceci Induit un changement de couleur du bleu au jaune.
9. Lire la densité optique (DO) de chaque puits à 450 nm dans l'heure qui suit l'arrêt de la réaction

▪ **La réactivité des échantillons :**

La réactivité de chaque échantillon est calculée en divisant la DO moyenne de l'échantillon par la DO moyenne du contrôle faible et multiplier le résultat obtenu par la valeur (en unités) affectée au contrôle faible.

$$\text{Valeur de l'échantillon (unités)} = \frac{\text{DO de l'échantillon}}{\text{DO du contrôle faible}} \times \text{valeur du control faible (unités)}$$

Le test ELISA est une technique très sensible et peut en conséquence détecter de très faible différence au sein d'un groupe de patients. Les échantillons peuvent être interprétés comme négatifs, faiblement, modérément ou fortement positif selon les valeurs en unités détaillées ci-dessous :

	Unités
Négatif	<20
Faiblement positif	20 - 39
Modérément positif	40 - 80
Fortement positif	>80

- ✓ Tous les échantillons positifs devront être testés une deuxième fois avec des tests spécifiques pour Sm, RNP, SSA, SSB, Scl-70 et Jo-1 afin de déterminer la quantité et la spécificité des anticorps présents.
- ✓ un résultat négatif indique l'absence d'anticorps recherché dans le sérum ou bien un taux d'anticorps en dessous de la valeur seuil.
- ✓ Pour le dosage en double, utiliser la moyenne des deux valeurs obtenues pour l'interprétation des résultats.

❖ **ENA Profile :**

Le même principe et mode opératoire de l'ENA screen. Cette technique permet de dépister au maximum 12 échantillons où Chaque puits à l'intérieur d'une barrette de 8 puits est coaté avec l'un des antigènes suivants : SSA/Ro, SSB/La, Sm, RNP, Scl-70 ou Jo-1 comme indiqué dans le tableau suivant.

rangée	Antigène ENA	Contrôle/échantillon
A	Antigène de contrôle	Contrôle positive
B	Antigène de contrôle	Contrôle négative
C	SSA (52 et 60 kD)	Échantillon
D	SSB	Échantillon
E	Sm	Échantillon
F	RNP	Échantillon
G	Scl-70	Échantillon
H	Jo-1	Échantillon

▪ **La réactivité des échantillons :**

Pour calculer le résultat ENA de chaque échantillon, on a utilisé la formule suivante :

$$\frac{\text{DO controle positif ou de léchantillon}}{\text{DO controle seuil}} \times 10 = \text{valeur controle ou échantillon}$$

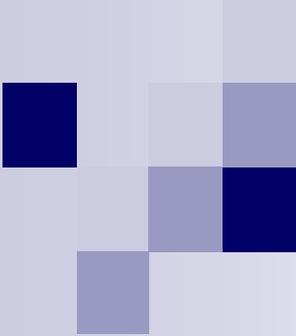
L'interprétation des résultats comme suit :

Résultat ENA	Interprétation
<8,0	Négatif
8-12	Douteux
>12,0	Positif

- ✓ Les échantillons donnant des résultats douteux doivent être confirmés avec le coffret ENA spécifique correspondant.

2.2.4 Étude statistique :

Les paramètres étudiés ont été analysés statistiquement par logiciel XLSTAT, Les moyenne ± écart-type ont été calculées pour l'âge. Le test du X2 a été utilisé pour chercher une différence statistiquement significative dans les tableaux comparatifs des autoanticorps antinucléaire des deux populations lupique néphrotique et non néphrotique. La significativité a été retenue pour des valeurs de $p < 0,05$ (**ANNEXE VIII**)



Chapitre III : Résultat et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

3.1 Résultats :

3.1.1 Données épidémiologiques :

3.1.1.1 Répartition des patients selon le sexe :

Comme représenté dans la **Figure 34** notre étude a porté sur un échantillon de 70 patients atteints d'un lupus néphrotique. Echantillon pour lequel une prédominance féminine a été observée, avec une fréquence de 84 % et un sexe ratio de 5F/1H.

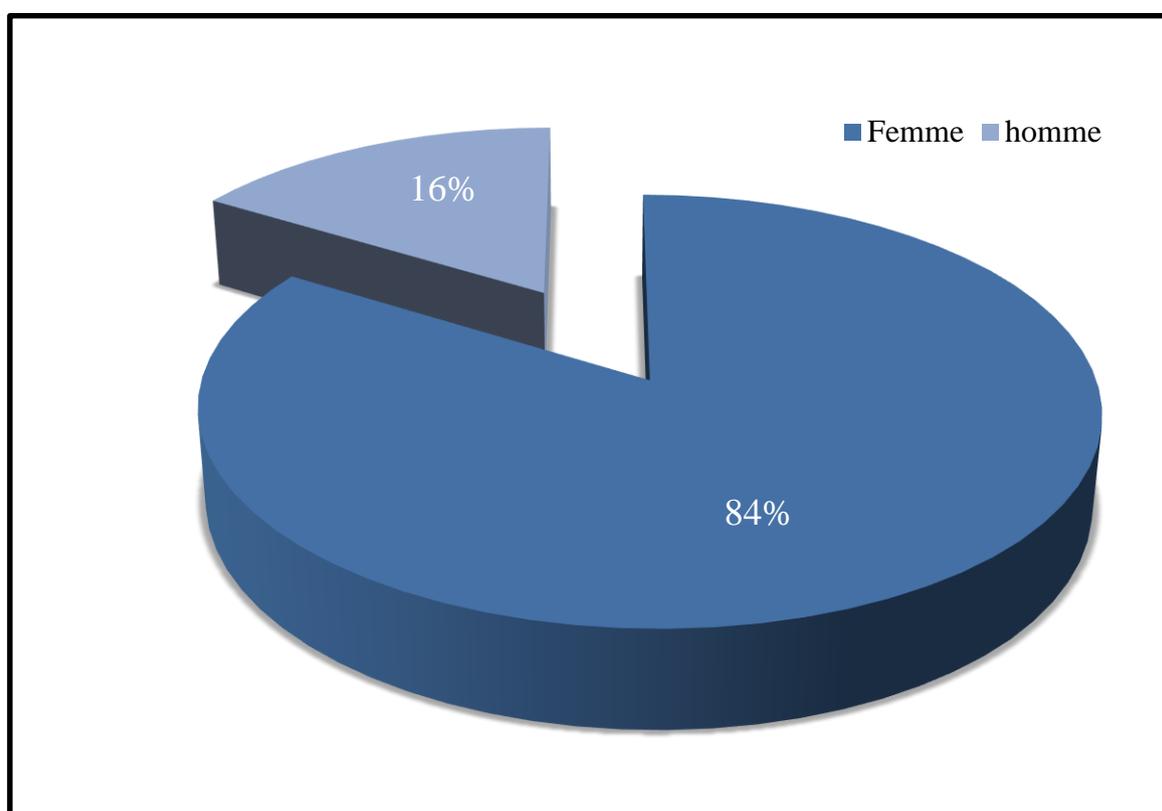


Figure 34 : répartition des patients atteints d'un Lupus Néphrotique selon leur sexe

3.1.1.2 Répartition des patients selon les tranches d'âge :

Nous avons étudié la répartition des patients selon 6 tranches d'âges (**Figure 35**). Les patients agé entre 20-40 ans étaient les plus affectés avec une nette prédominance féminine (**Figure 36**), pour des extrémités allant de 16 à 66 ans. L'âge moyen au moment du diagnostic était de 35 ± 8 ans

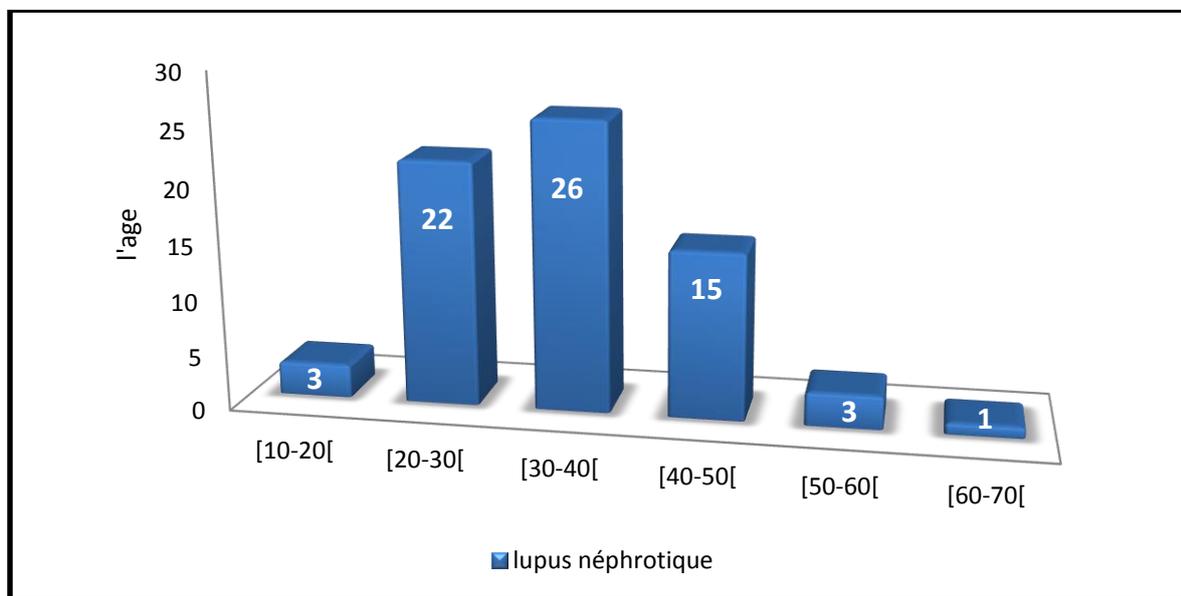


Figure 35 : La répartition des patients atteints d'un Lupus Néphrotique selon les tranches d'âge

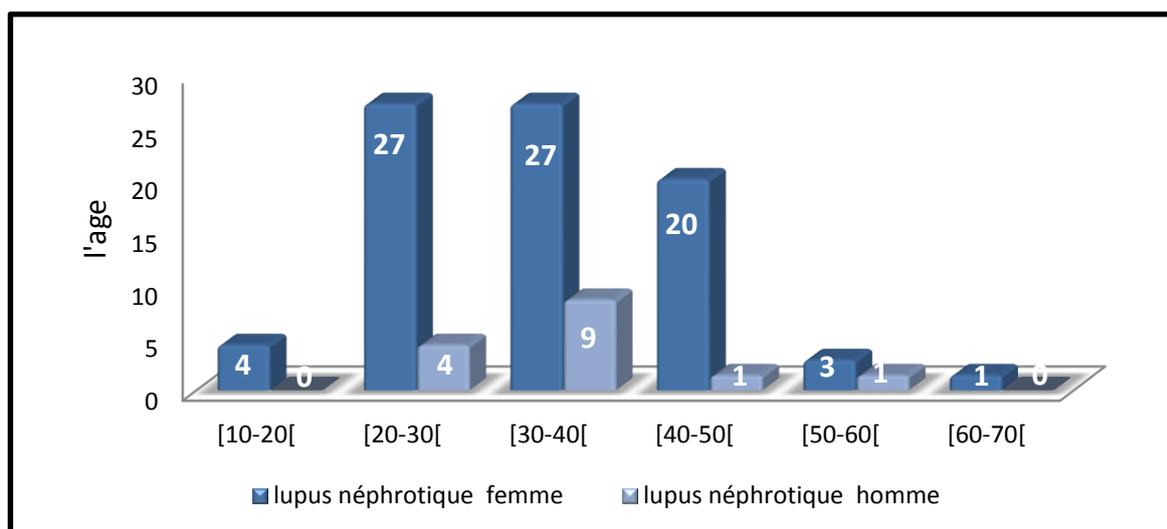


Figure 36 : La répartition du sexe des patients atteints d'un Lupus Néphrotique en fonction des tranches d'âge

3.1.2 Données cliniques :

3.1.2.1 Répartition des patients en fonction des manifestations cliniques :

Tous les patients répondaient à au moins quatre critères de l’American Collège de Rhumatologie (ACR). Ces atteintes multisystémiques sont dominées par l’atteinte Articulaire avec une fréquence de 83%, suivie par l’érythème malaire dans 44% des cas et une thrombose dans 43% des cas. Les autres signes cliniques sont moins fréquents (**Figure 37**)

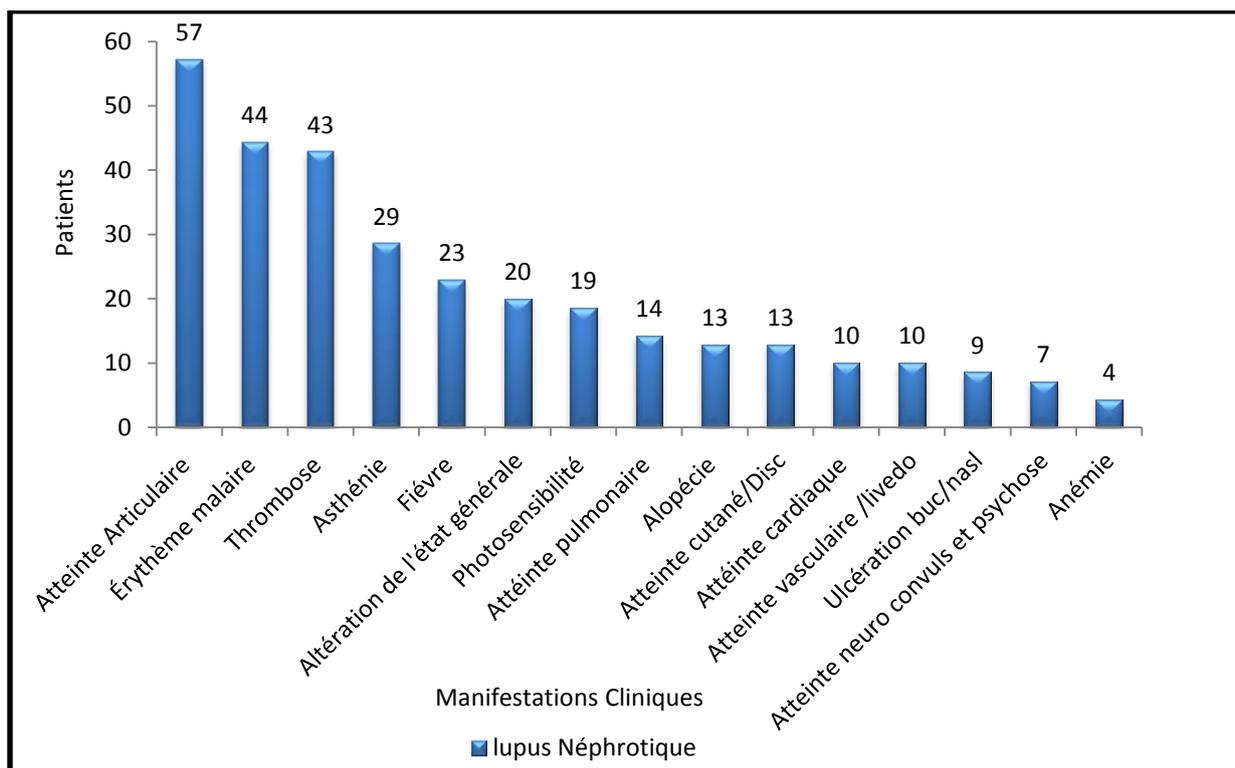


Figure 37 : Répartition des patients en fonction des manifestations cliniques

3.1.3 Donné immunologique :

3.1.3.1 Le titre et l'aspect d'immunofluorescence indirecte sur Hep-2 :

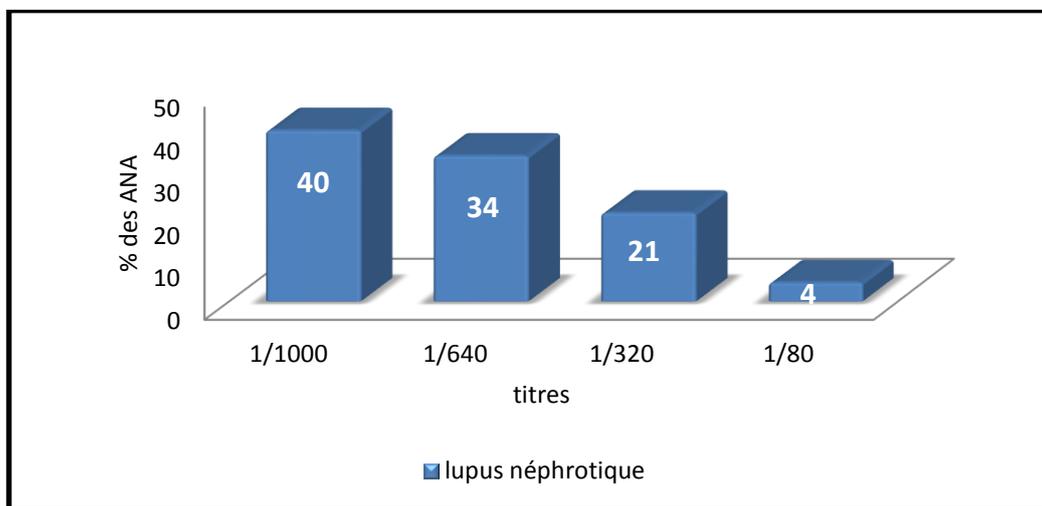


Figure 38 : les titres des ANA par immunofluorescence indirecte sur HEP-2

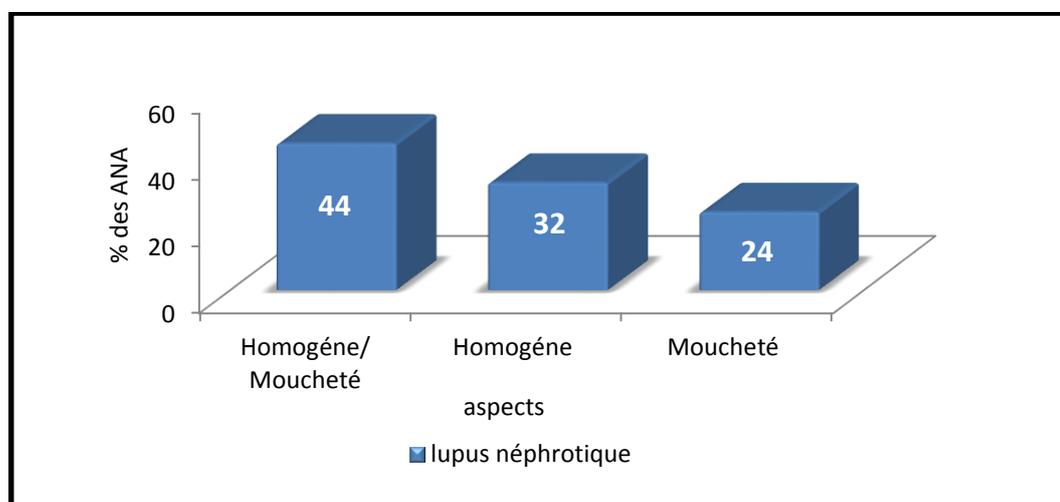


Figure 39 : les aspects des ANA par immunofluorescence indirecte sur HEP-2

Les autoanticorps anti-nucléaire ont été détectés par immunofluorescence indirecte sur HEP-2. Les résultats sont positifs chez tous les patients, avec une dominance d'aspect mixte Homogène moucheté (44%) et de titre 1/1000 (40%), suivie par l'aspect Homogène (32%) et de titre 1/640 (34%). une faible fréquence a été constatée concernant les titres 1/320 et 1/80 ainsi que l'aspect moucheté (**Figure 38**, **Figure 39**).

3.1.3.2 Les autoanticorps anti nucléaires :

Afin d'établir un profil d'autoanticorps antinucléaire dans le lupus néphrotique, nous avons effectué une étude comparative entre deux populations :

- population 1 : patients atteints d'un lupus néphrotique
- Population 2 : patients atteints d'un lupus non néphrotique

3.1.3.2.1 Les autoanticorps anti-DNA natifs et anti antigène soluble (ENA) :

La fréquence des anti-DNA natif et anti antigène soluble (ENA) positifs sont approximativement identique, au sein de la même population et aussi dans les deux populations (**Figure 40**) :

- Les anticorps anti DNA natifs : sont positif chez 42 patients atteints d'un lupus néphrotique soit 22 % de la population, et chez 31 patients affectée par un lupus non néphrotique soit 23% de la population (P=0.37)
- Les anticorps anti ENA : sont positif chez 33 patients atteints d'un lupus néphrotique soit 26 % de la population, et chez 51 patients affectée par un lupus non néphrotique soit 25 % de la population (p=0.36)

Nous n'avons pas constaté de différence significative entre les deux populations (P=0.95)

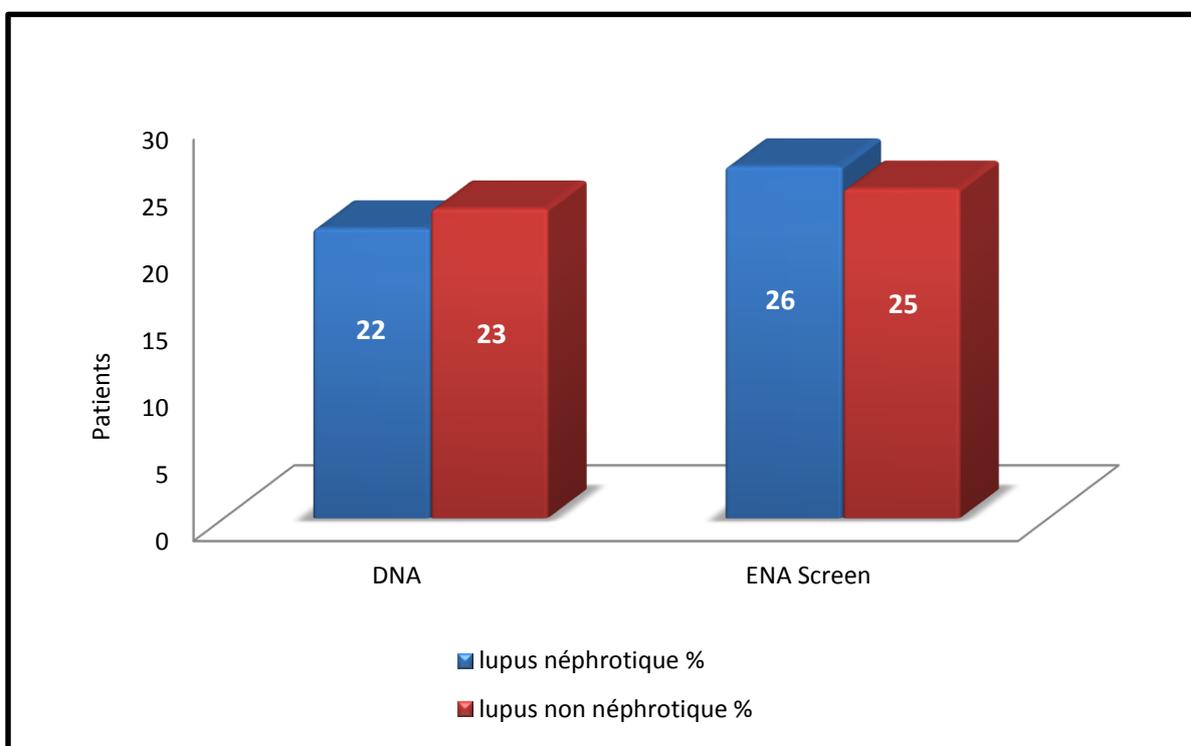


Figure 40 : La fréquence des autoanticorps anti-DNA et anti-ENA dans les deux populations lupique néphrotique et non néphrotique

3.1.3.2.2 Le profil d'anticorps anti ENA :

Les anticorps anti ENA ont été recherchés par la technique ELISA profil. Nous avons noté dans notre série de patients la présence des auto-anticorps anti-SSA, anti-SSB, anti-Sm, anti-RNP.

Une prédominance d'anticorps anti-SSA, dans les deux populations lupique, néphrotiques et non néphrotiques respective de 21% et 18%, suivie par les anti-RNP et anti-Sm avec des fréquences approximativement égaux au sein des deux populations (**Figure 41**).

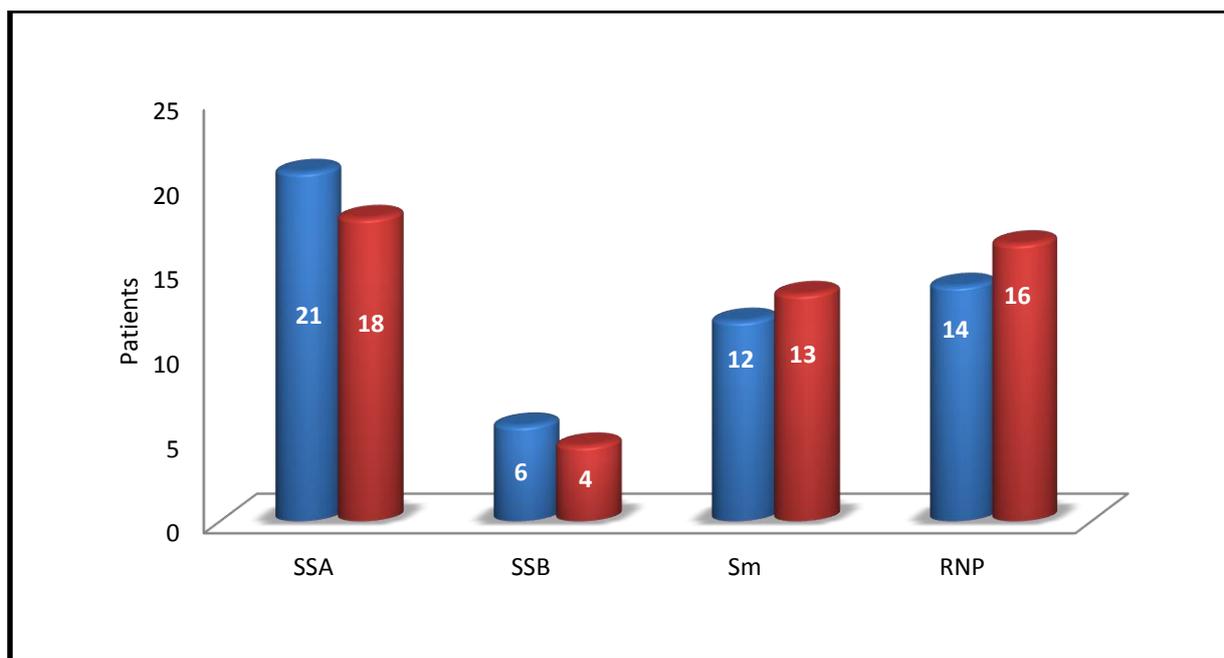


Figure 41 : profil des auto-anticorps anti ENA dans les deux populations lupique néphrotique et non néphrotique

Comparaison des auto-anticorps anti nucléaires entre les patients lupique néphrotique et non néphrotique.

anticorps Anti-nucléaire	Lupus néphrotique	Lupus non néphrotique	P valu
Anticorps anti-ADN	22%	23%	0.37
Anticorps anti-Sm	12%	13%	0.33
Anticorps anti-SSA	21%	18%	0.27
Anticorps anti-SSB	6%	4%	0.31
Anticorps anti-RNP	14%	16%	0.26

La comparaison du profil d'autoanticorps antinucléaire chez des patients atteints d'un lupus néphrotique par rapport à ceux atteints d'un lupus non néphrotique est représentée ci-dessus. Les résultats étaient statistiquement non significatifs : les anticorps anti-SSA (p = 0,27), les anticorps anti-SSB (p = 0,31), les anticorps anti-RNP (p = 0,26), les anticorps anti-Sm (p = 0,33), les anticorps anti-DNA (p = 0,37).

3.2 Discussion :

Dans notre série nous avons contribué à l'analyse des données épidémiologique, clinique et immunologique des patients qui présentent une néphropathie lupique. Afin d'établir le profil d'autoanticorps antinucléaire (anti-DNA, anti-ENA) nous les avons comparés avec une autre population atteinte d'un lupus non néphrotique.

Les résultats de la présente étude ont montré une nette prédominance féminine du lupus, cette même observation a déjà été rapportée par d'autres études réalisées sur des populations algériennes (**Bahamida et al., 2014 ; Baghdali et al., 2014**) . De plus nos résultats rejoignent également les conclusions des études marocaines (**En-Nasri et al., 2014**) et tunisienne (**Louzir et al., 2003**), ayant rapporté une prévalence nettement plus élevée chez les femmes avec des ratios respectifs de 20F/1H et 11F/1H .

Diverses hypothèses ont tenté d'expliquer cette prédominance. En effet, une intervention du facteur hormonal a été suggérée, en faveur du rôle délétère des estrogènes, les poussées lupiques sont déclenchées par la grossesse, le péri- et le post-partum, ainsi que par la pilule œstroprogestative. De plus, a été incriminé, une activité immunitaire différente entre l'homme et la femme lupique, due essentiellement à une expression différentielle des gènes de l'immunité portée par le chromosome X. Dont une large étude de réplication dans une population d'origine caucasienne européenne a permis de confirmer l'importance du locus IRAK1-MCEP2 localisé sur le chromosome X dans la susceptibilité au lupus érythémateux et parfois à une surproduction de l'INF α chez la femme. (**Grimaldi, 2006 ; Solal, 2006 ; Ferdinand et al., 2011 ; Bonnet, 2012 ; Piette et al., 2012 ; Humbel et al., 2013**) .

Bien que d'autres études ont confirmé la fréquence élevée et la gravité de la néphropathie lupique chez les hommes contrairement aux femmes (**Alba et al., 2003 ; Buján et al., 2003**). Une étude américaine des patients atteints d'un lupus rénal a révélé une prédominance des hommes avec 58% (**Jose et al., 1996**), mais cela n'était pas noté dans notre étude probablement vu le nombre d'hommes qui était très réduit (11 hommes).

Une explication possible pour cette hétérogénéité constatée entre les différentes études, peut-être l'appartenance ethnique et géographique, et les différences entre les races, qui peuvent avoir un rôle dans l'expression différentielle de la maladie (**Jose et al., 1996 ; Alba et al., 2003**).

Concernant l'âge, nos données sont comparables à celles publiées dans la littérature avec une nette prédominance des sujets jeunes, cela a été confirmé par différentes études. En l'occurrence, les études tunisiennes de **Ghedira et al., (2002)** et **Louzir et al., (2003)** avec des moyennes d'âges respectives de 33 ans, et 30,6 ans, et aussi **Béji et al.,(2005)** ont démontré que l'âge moyen au moment du diagnostic de la Néphropathie Lupique était de 28,8 ans.

Les études marocaines de **Baline et al., (2015)** et **En-Nasri et al., (2014)** les moyennes d'âge étaient de 35 ans , et $36,1 \pm 13,05$ ans respectivement.

Cette prédominance des sujets jeunes peut être expliqué par la grande activité hormonale durant cette période (de la puberté a la ménopause) (**Bonnet, 2012**).

Alba et al., (2003) ont noté que la néphropathie lupique est moins fréquente chez les sujet jeunes que dans l'âge adulte. D'après **Zulfiqar et al., (2015)** l'atteinte rénale étaient fréquentes dans le lupus à révélation tardive.

En outre, il a été rapporté que l'apparition de la maladie peut varier entre les patients âgés et les jeunes cela peut être due à la prédisposition génétique, aux différents mécanismes de déclenchement (l'exposition solaire entre les différents pays) (**Alba et al., 2003**), et surtout aux complications des traitements et aux comorbidités (**Zulfiqar et al., 2015**).

La répartition des signes cliniques au cours du lupus néphrotique est très variée d'une étude à une autre cela peut être due aux conditions d'étude dans les différentes séries, et l'hétérogénéité des services cliniques d'où proviennent les malades. Cependant notre étude est en accord avec plusieurs études au cours desquelles l'atteinte articulaire a été la plus décrite.

D'après **Béji et al., (2005)** les signes extra-rénaux les plus fréquents étaient les arthralgies, (93,2%) la chute des cheveux (76,9%) et le vespertilion 67,8%. Dans l'étude tunisienne de **Louzir et al.,(2003)** l'atteinte rhumatologique avait constitué la manifestation clinique la plus fréquente. Elle est observée chez 90 % des patients suivie par les rashes malaire dans 62 % des cas, Les principales manifestations cliniques dans l'étude de **Feki et al., (2012)** étaient les signes articulaires (50 %), les signes cutanéomuqueux (75 %).

Diverses études ont démontré que le signe extra rénal le plus dominant au cours de la néphropathie lupique est la thrombose (**Lu et Nossent 2015**). Une étude comparative des Patients présentant la glomérulonéphrite lupique et non-lupique a prouvé que le lupus était un facteur de risque de la thrombose artérielle surtaux dans le cas d'insuffisance rénale (**Mok,2016**). Cela peut être dû à une grande prédominance des facteurs vasculaires et tissulaire induite par l'activation du complément (**Song et al., 2013**).

Récemment, une étude a démontré que l'activation de la voie classique du complément pourrait être un facteur crucial dans le développement des Thromboses au cours de la néphropathie lupique, ainsi que la présence d'anticorps anti-phospholipides (APL) est considérée comme une indication d'un risque accru de thrombose au cours des néphropathies lupiques (**Lu et Nossent 2015**).

Pour l'analyse en immunofluorescence indirecte (IFI), depuis l'utilisation de substrat de plus en plus sensible sur les cellules humaines Hep-2, sur lesquelles on pourra distinguer de nombreux aspects de fluorescence en rapport avec le type d'anticorps détecté.

Nos résultats sont en accord avec l'étude de **Frodlund et al., (2013)**, dont les aspect d'IFI sur HEP-2 les plus dominant au court de l'atteinte rénal sont l'homogène/moucheté avec une fréquence de 29.2% , l'homogène 24.4% puis le moucheté 16.3 %. Et aussi d'après **Ghedira et al., (2002)** l'aspect moucheté (59%) et l'aspect homogène (36%) sont les plus fréquents, l'aspect mixte homogène/moucheté (4%) et l'aspect périphérique (1%) sont très rares.

Une étude suédoise a démontré que L'aspect homogène d'IFI sur HEP-2 est l'un des caractéristiques des maladies lupique qui a été inclus dans les critères de classification d'ACR. Pour l'aspect moucheté peut être associé aux atteintes systémiques et articulaires lupiques (**Frodlund et al., 2013**).

La confirmation d'une fluorescence d'aspect homogène correspondant à la présence d'anticorps anti-chromatine, à une dilution au moins égale au 1/160 en pratique, permet ensuite la recherche d'anticorps anti-ADNn (**Lemarié et al., 2011**). Divers études ont confirmé que l'aspect homogène se rapporte habituellement à des Anticorps, anti-histones, anti nucléosome (DNA/histone) et Anti-dsDNA ces derniers sont les plus révélateurs des néphropathies lupiques, alors que l'aspect moucheté correspond à la présence d'autoanticorps anti antigène soluble (ENA) plus précisément les anti-SSA, anti-SSB, anti-Sm, anti-RNP (**Bahon-Riedinger, 2004 ; Kaux et al., 2008 ; Petitpierre et al., 2009 ; Goetz, 2012 ; Frodlund et al., 2013**).

Toutefois, l'adéquation entre l'aspect de l'IFI et la nature de l'Ag est souvent inconstante, car les Ac anti-ADN par exemple donnent plus souvent un aspect moucheté qu'un aspect homogène. De plus, ces deux aspects peuvent se superposer quand plusieurs ANA coexistent dans le même sérum (**Renaudineau et al., 2008**).

Plusieurs études ont souligné la présence des FAN chez les sujets sains. Selon l'étude de **Tan et al., (1997)** sur une population de sujets sains de 20 à 60 ans, des ANA positifs ont été mis en évidence chez 32% des individus à une dilution de 1/40, 13% à une dilution de 1/80, 5% à une dilution de 1/160 et 3% à une dilution de 1/320. De plus, la prévalence augmente avec l'âge, particulièrement chez les femmes, ce qui fait que 10-15% des individus sains de plus de 65 ans ont des ANA positifs, en général à une dilution $\leq 1/160$.

Les résultats de notre étude immunologique ne révèlent pas de différence significative entre les anticorps anti-DNA (p=0.37) et les anticorps anti-ENA (p=0,36) dans les deux groupes avec ou sans néphrite lupique, Cela est en accord avec l'études comparative de **Živković et al., (2014)** qui ont établi un profil d'anticorps anti-nucléosome ,anti-C1q et anti-dsDNA, dans des patients qui présentent ou non une activité clinique de néphropathie lupique.

Diverses études ont mis en avant l'intérêt primordial des anticorps anti-DNA pour le diagnostic et le suivi de la néphropathie lupique.

D'après l'étude de **En-Nasri et al., (2014)** les anti-DNA étaient positifs chez (61%) des patients, Ces dernier sont plus susceptibles de développer une atteinte rénale au cours du lupus. Un excès d'anticorps anti-DNA précède une exacerbation, et la persistance de taux élevés signe d'une poussée de néphropathie lupique (**Baline et al., 2015**). D'après **Rekvig et al., (2012)** la néphropathie lupique est due à l'interaction *in situ* entre les autoanticorps et les composants de la chromatine, principalement les dsDNA , les nucléosomes, et les structures glomérulaires extracellulaires. **Feki et al., (2012)** ont suggéré que les anti-nucléosomes et l'anti-ADN natifs étant connus les plus prédictateurs de l'atteinte rénale au cours du lupus, et peuvent être induits par plusieurs infections, le plus souvent par mimétisme moléculaire entre l'ADN infectieux et cellulaire.

Pour mieux expliquer cette prédominance des anticorps anti-DNA dans les néphrites lupiques plusieurs études ont été réalisées dans ce contexte :

Des études récentes ont démontré le rôle fondamental des DNaseI dans le déclenchement de la néphropathie lupique, (**Zykova et al., 2010 ; Rekvig et al., 2012**). La diminution d'expression des DNaseI rénal favorise l'exposition massive de chromatine et augmente l'impact pathogène d'anticorps anti-dsDNA, ceci est définitivement déterminé dans les souris et l'Homme. Cette perte de DNaseI rénal est corrélée avec l'activité accrue de métalloprotéase (MMP) dans les reins, cela va conduire à une accumulation des fragments de la chromatine sur la membrane basale glomérulaire (MBG). Cet événement est fondamentalement suivie par la production d'anticorps anti-dsDNA (ou l'anti-chromatine) qui vont influencer d'une manière directe à l'initiation et la progression de la néphropathie lupique par la formation des complexes immuns et l'activation du complément (**Rekvig et al., 2012**). Dans d'autres études, il a été souligné le rôle fondamental des anticorps anti-dsDNA dans le diagnostic des néphropathies lupique, mais non suffisant il doivent être dépisté avec les anti-nucléosomes et les anti-C1q pour confirmer l'atteinte rénale (**Živković et al., 2014 ; Trad et al., 2013**).

En effet, d'autre auteurs ont aussi montré que les autres Ac anti-nucléaires peuvent apporter en absence des anticorps anti-DNA un élément de diagnostic et de surveillance des néphrite lupique (**Baline et al., 2015**). Les réactions antigène-anticorps impliquant les antigènes nucléaires extractibles ENA, (SSA, SSB, RNP, et Sm) peuvent également contribuer à la pathogenèse des néphropathies lupique (**Alba et al., 2003**).

D'après **Ghedira et al., (2002)** les anticorps anti-SSA sont notés dans 64% des cas, les anti-Sm dans 55,5%, les anti-RNP et les anti-SSB ont été retrouvés dans 49% et 33,6% respectivement.

Baline et al., (2015) et **Haddouk et al., (2005)** ont rapporté que l'apport des anticorps anti-SSA paraît fondamental en cas de lupus systémique avec atteinte rénale.

L'anticorps anti-SSB est présenté par 19,4% chez les patients lupique dans la série de **Al-kabeer et al., (1997)** et **Cervera R et al., (1993)**, 14,3% dans l'étude de **Haddouk et al., (2005)**, et de 11% dans l'étude de **Buján et al., (2003)**

Anaya et al., (2011) avait observé que les anticorps anti-SSA et anti-SSB étaient moins fréquemment observés au cours de lupus rénale que dans le lupus sans atteinte rénales.

La prévalence de la NL est faible chez les patients présentant de façon concomitante des anti-SSA et des anti-SSB. Par contre la prévalence de la NL est augmentée chez les patients présentant les anti-SSA seuls (**Alba et al., 2003 ; Wasicek et Reichlin 1982**).

Dans d'autres études les anti-SSA seuls (sans anti-SSB) sont moins souvent observés chez les patients avec NL par rapport aux patients lupiques sans atteinte rénale ce qui suggère leur rôle néphroprotecteur (**Eman, 2013**).

Pour ce qui est des anti-RNP, d'après le travail de **Anaya et al., (2011)** sont retrouvés chez 48% des patients avec lupus néphrotique et 13% des patient atteint d'un lupus non néphrotique, cette dernière fréquence se rapproche des résultats obtenus dans notre étude.

Dans la série de **Al-kabeer, (1997)** une faible proportion de patients avec NL ont des anti-RNP positifs. Les patients présentant de façon concomitante les anti-RNP et les anti-Sm ou les anti-RNP et les anti-SSA ou les anti-DNA natifs sont beaucoup plus prédisposés à la NL (**Gorgi et al., 2000**), en plus la prévalence des anticorps anti-RNP est élevée (60-70%) dans les populations noires avec NL, y compris les Afro-Américains (**Alarcon et al., 2001 ; Alba et al., 2003**) et les Africains (**Tikly et al., 1996**).

La présence des anticorps anti-Sm et la survenue de la NL reste un sujet de débat où les résultats changent d'une région à une autre. Une étude d'Abu-Dhabi a montré que la Néphropathie lupique n'est pas associée à la présence d'anticorps anti-Sm (**Haider M et al., 2000**). De plus, une autre étude réalisée au Bahreïn a montré que la fréquence des anti-Sm est significativement plus élevée chez les patients sans Néphropathie lupique par rapport à ce qui présente une Néphropathie lupique (**Eman, 2013**), par contre une étude européenne a rapporté que les patients qui présente des anticorps anti-Sm sont plus susceptible de développer une Néphropathie lupique (**Alba et al., 2003**).

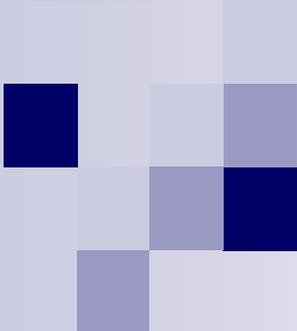
Cette divergence entre les différentes études peut être due aux différences ethniques qui peuvent influencer l'expression clinique de la maladie et la présence de profils d'auto-anticorps (**Alba et al., 2003**).

La présence d'Ac anti nucléaires (surtout à titre élevé) constitue un solide argument diagnostique en faveur de la maladie lupique même s'ils peuvent être retrouvés au cours d'autres connectivites, de plus chez les patients lupiques, la surveillance de la pathologie comprend le dosage de ces anticorps afin de prévoir une éventuelle rechute.

La caractérisation des cibles antigéniques après mise en évidence des anticorps antinucléaires (AAN) est une aide précieuse au diagnostic des différentes manifestations lupique, à l'évaluation de leur pronostic et à la surveillance de leur évolution.

De nombreuses recherches d'auto-Ac ont été développées et permettent le dépistage du lupus à un stade précoce mais on observe une diversité de la réponse d'anticorps au cours des différentes manifestations lupique. Depuis quelques années, plusieurs auto-Ac ont été qualifiés d'indices de l'atteinte rénale. Principalement les anticorps antinucléaire les anti-DNA.

Dans notre étude nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les deux populations lupique néphrotique et non néphrotique pour mettre en évidence le profil d'auto anticorps de lupus rénale. Certes, notre série se heurte au biais du faible échantillonnage, pour cela d'autres études sont nécessaires avec de plus grands effectifs pour mieux cerner cette forme de lupus.



ANNEXE

ANNEXE I

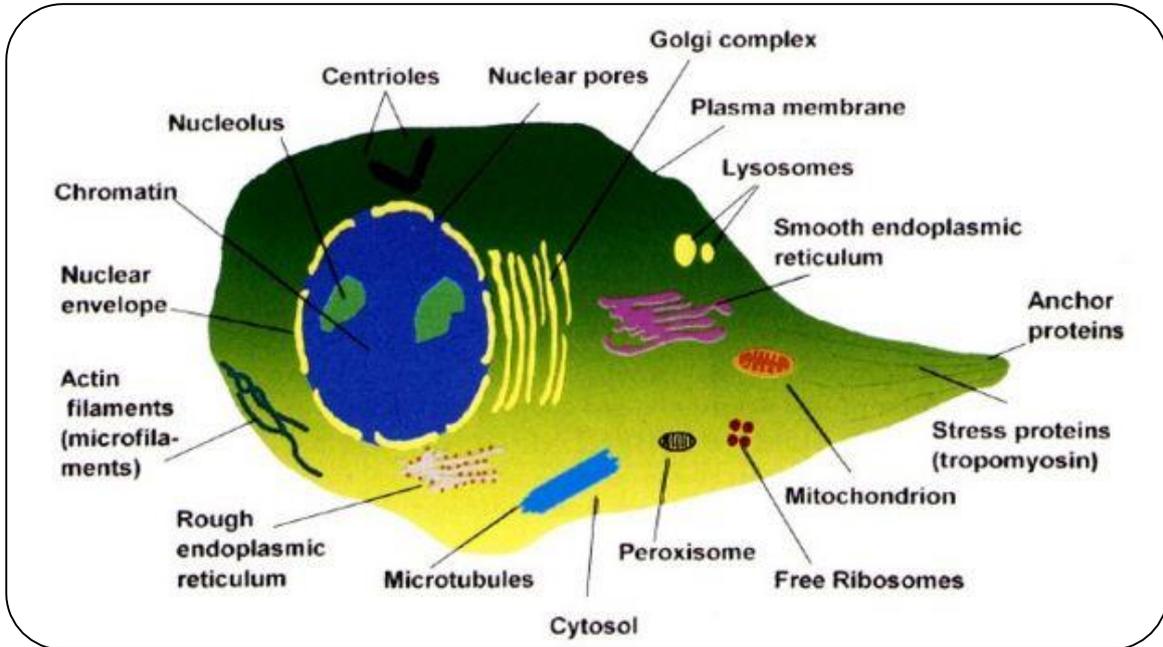


Figure I : schéma d'une cellule HEP-2 (Petitpierre et al., 2009)

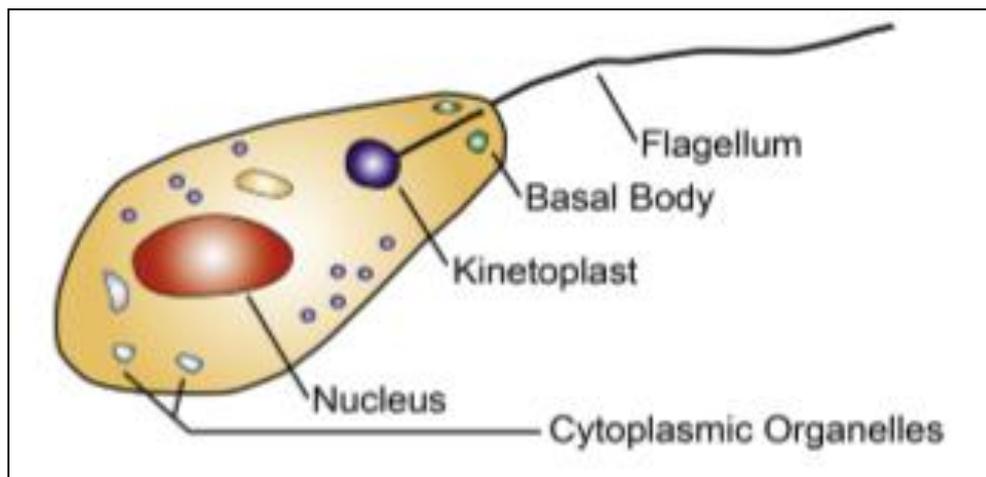


Figure II : schéma du trypanosome *Crithidia luciliae* (Lakos et al., 2016)

ANNEXE II

NOVA Lite® HEp-2 ANA Kits/Substrate Slides
Uniquement pour “Diagnostics *In-Vitro*”
Références : 708100, 708101, 508100.20, 508100.80, 508105.10

Contenants Du Coffret :

2. Lames HEp-2 (cellule épithéliale humaine) ; 12 puits/lame ou, avec dessiccateur
3. Conjugué anti-IgG-FITC humain (chèvre), fluorescéine marquée dans du tampon contenant du bleu Evans et 0,09 % d'azide de sodium, 15 ml
4. Contrôle positif ANA titrable, 1 flacon de solution tampon contenant 0,09 % d'azide de sodium et du sérum humain prédilué contenant des auto-anticorps anti-HEp-2, 0,5 ml
5. Contrôle Négatif, 1 flacon de solution tampon contenant 0,09 % d'azide de sodium et du sérum humain prédilué ne contenant aucun auto-anticorps anti-HEp-2, 0,5 ml
6. Concentré de PBS II (40x), suffisant pour 2 000 ml
7. Milieu de montage, 0,09 % d'azide de sodium, 7 ml
8. Lamelles couvre-objet

Matériel Fourni :

- 20 lames HEp-2 de 12-puit
- 1 15 ml Conjugué anti-IgG humain
- 1 0,5 ml Control positif ANA titrable
- 1 0,5 ml Control Négatif
- 2 25 ml Concentré de PBS II (40x)
- 1 7 ml de Milieu de montage
- 1 20 Lamelles couvre-objet



ANNEXE III

NOVA Lite® dsDNA *Crithidia luciliae* Kits/Substrate Slides
Uniquement pour “Diagnostics In-Vitro“
Références : 708200, 708205, 508200.10, 508205.20, 508205.80

Contenu Du Coffret :

1. Lames *Crithidia luciliae* (dsDNA), 6 ou 12 puits/lame, avec dessiccateur
2. Conjugué anti-IgG-FITC humain (chèvre) sans Evan's bleu, fluorescéine étiquetée dans le tampon contenant 0,09 % d'azide de sodium
3. ADN double brin positive 1 ampoule de solution tampon contenant 0,09 % d'azoture de sodium et des anticorps anti-ADN double brin de sérum prédilué
4. Control Négatif, 1 flacon de solution tampon contenant 0,09 % d'azide de sodium et du sérum humain prédilué ne contenant aucun auto-anticorps anti-AND double brin
5. Concentré de PBS II (40x)
6. Milieu de montage, 0,09 % d'azide de sodium
7. Lamelles couvre-objet

Matériel Fourni :

- 10 lames dsDNA *Crithidia luciliae* de 6-puit
- 1 4 ml Conjugué anti-IgG FITC humain
- 1 0,5 ml ADN double brin positive
- 1 0,5 ml contrôle négatif
- 1 25 ml Concentré de PBS II (40x)
- 1 7 ml de Milieu de montage
- 1 10 Lamelles couvre-objet



ANNEXE IV

QUANTA Lite™ ENA 6 ELISA SM, RNP, SS-A, SS-B, SCL-70 ET JO-1 Screening Test Uniquement pour "Diagnostics In-Vitro" Références : 708615

Contenu Du Coffret :

- 1- plaque de microtitration ELISA** revêtue d'antigène Sm, RNP, SSA, SSB, Scl-70 et Jo-1 purifier, portoir de 12 barrettes de 8 micros puits en polystyrène sécables, dans un sachet d'aluminium avec un dessiccant
- 2- contrôle négatif pré-dilue** ,1 flacon de 1,2 ml de sérum humain sans anticorps humains anti –ENA 6, dans du tampon avec du stabilisateur
- 3-control ELISA ENA 6 faiblement positif pré-dilue**, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti-RNP, dans du tampon avec du stabilisateur
- 4-contrôle ELISA ENA 6** fortement positif pré-dilue, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti –RNP, dans du tampon avec du stabilisateur
- 5-diluant d'échantillon HRP, teinté en rose** ,1 flacon de 50 ml contenant du tampon Tris salin, du Tween 20, des stabilisateurs de protéines et des conservateurs
- 6-tampon de lavage HRP** concentré 40x-tampon Tris salin avec du Tween 20, teinté de rouge ,1flacon de 25 ml. Consulter le paragraphe (méthode) pour la dilution.
- 7-conjugué IgG-HRP**, anticorps de chèvre anti-IgG humaines dans du tampon avec des stabilisateurs de protéines et des conservateurs, teinté en bleu, 1 flacon de 10ml
- 8-TMB chromogène**, avec stabilisateurs, 1 flacon de 10 ml
- 9-solution d'arrêt HRP**, acide sulfurique 0.344M, non teinte ,1 flacon de 10 ml

- 1 plaque microtitration ELISA ENA 6 (12-1 × 8 puits)
- 1 1,2ml contrôle ELISA négatif pré-dilue
- 1 1,2ml contrôle ELISA faiblement positif pré-dilue
- 1 1,2ml contrôle ELISA fortement positif pré-dilue
- 1 50ml diluant HRP pour échantillons
- 1 25ml tampon de lavage HRP concentre 40x1
- 1 10ml conjugué anti-IgG humaines de chèvre
- 1 10ml substrat TMB
- 1 10ml solution d'arrêt HRP (acide sulfurique 0.344M)



ANNEXE V

QUANTA Lite® Uniquement pour “Diagnostics In-Vitro“ ENA Profile EIA 704715

Contenu du coffret :

1-Puits recouverts d'ENA : 12 barrettes de 8 puits. Chaque puits est coaté avec les antigènes purifiés ENA. Chaque plaque est emballée dans un étui aluminium contenant 2 dessiccateurs

2-Diluant de l'échantillon type III : 1 flacon de 50mL de tampon prêt à l'emploi et coloré en jaune. Nécessaire à la dilution des échantillons.

3-Tampon de lavage HRP concentré : 1 flacon de 25mL de tampon concentré 40 fois pour le lavage des puits.

4-Seuil profil ELISA ENA : 1 flacon de 1,6mL de sérum humain dilué stabilisé. Le résultat ENA attendu est donné dans le certificat de contrôle qualité. Il est fourni prêt à l'emploi.

5-Contrôle positif profil ENA : 1 flacon de 1,6mL de sérum humain dilué stabilisé. Le résultat ENA attendu est donné dans le certificat de contrôle qualité. Il est fourni prêt à l'emploi.

6-HRP ENA Profil IgG Conjugué : 1 flacon de 10mL d'antisérum anti-IgG humaines purifié par affinité et conjugué à la peroxydase. Il est prêt à l'emploi et coloré en bleu.

7-Chromogène TMB : 1 flacon de 10mL de TMB prêt à l'emploi.

8-Solution d'arrêt HRP : 1 flacon de 10mL d'acide sulfurique 0,344M prêt à l'emploi.

- 1 plaque microtitration ELISA ENA profil (12-1 × 8 puits)
- 1 1,6ml contrôle seuil profil ELISA ENA
- 1 1,6ml contrôle ELISA positif pré-dilue
- 1 50ml diluant d'échantillons
- 1 25ml tampon de lavage HRP concentre 40x1
- 1 10ml conjugue anti-IgG humaines
- 1 10ml substrat Chromogène TMB
- 1 10ml solution d'arrêt HRP (acide sulfurique 0.344M)

ANNEXE VI

Matériels



Micropipettes pouvant distribuer un volume de 5 à 1000 μ l



Pissettes
D'eau distillée



Récipient de 1 l pour diluer le tampon (Bocal Coplin)



Microscope a fluorescence



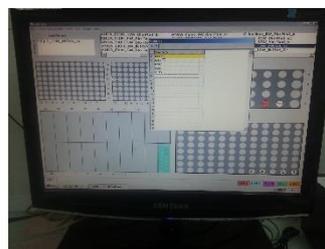
Cônes jetables et Tubes sec pour la dilution du sérum



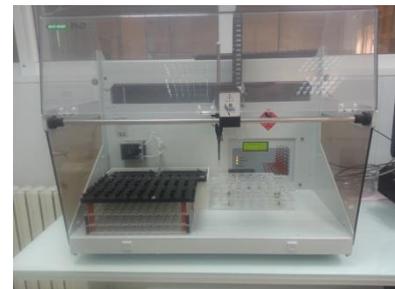
Lecture ELISA avec filtre de 450nm



Laveur automatique de plaque ELISA



Système d'exploitation de l'automate d'immunofluorescence indirecte IFI



Automate d'immunofluorescence indirecte IFI

ANNEXE VII

Tableau 1 : Les données épidémiologiques des patients atteints d'un lupus néphrotique

N	âge	sexe
137	30	F
298	66	F
476	21	H
623	27	F
925	49	H
930	43	F
958	40	F
980	17	F
996	34	H
1022	34	F
1083	40	F
1128	23	F
1161	51	F
1195	21	F
1962	43	F
2035	29	F
2147	26	F
2239	50	F
2307	32	H
2384	21	H
2390	22	F
2615	45	F
2621	40	F
2714	50	F
2762	38	F
2864	27	F
2881	42	F
2888	30	F
2889	39	F
2926	37	F
3093	26	F
3283	48	F
3472	45	F
3521	48	F
3623	43	F
3624	40	H
3640	25	H
3843	27	F
3924	36	F
3932	40	H
4125	35	F
4196	45	F
4287	42	F
4413	34	F
4488	45	F
4492	32	F
4594	33	F
4738	28	F
4788	34	F
5142	35	F
5198	34	F
5402	55	F
5444	33	H
5514	34	F
5691	17	F
5862	23	F
5968	26	F
6515	36	F
6910	55	H
7077	16	F
7227	24	F
7706	38	F
7983	34	F
8330	50	F
8578	34	H
8618	28	F
9008	26	F
9696	28	F
9901	35	F
9956	27	F

Tableau 2 : Les données épidémiologiques des patients atteints d'un lupus non néphrotique

Numéro	âge	sexe
18	47	F
90	27	H
474	87	H
477	45	F
753	31	H
980	17	F
1001	30	F
1043	14	F
1133	32	F
1954	23	F
2109	19	F
2266	45	F
2583	35	F
2709	39	F
2846	32	F
3395	30	F
3591	42	F
3624	50	F
3640	56	F
3670	30	F
3843	28	F
3924	18	F
3925	35	F
3932	22	F
3942	17	F
4125	50	F
4196	11	F
4287	12	F
4413	16	F
4474	36	F
4478	26	F
4488	11	F
4492	33	F
4594	54	F
4738	57	F
4788	50	F
4905	34	F
4907	56	F
5037	29	F
5142	55	F
5198	30	H
5402	28	F
5444	65	F
5514	43	F
5559	39	F
5646	44	F
5685	38	F
5691	37	F
5732	46	F
5862	32	F
7745	63	F
7863	45	F
8197	38	F
8451	25	F
8956	25	F
9234	50	F
9450	56	F
9673	34	F

Tableau 3 : Les données cliniques des patients atteints d'un lupus néphrotique

N	Fièvre	Asthénie	Photosensibilité	Altération de l'état générale	Érythème malin	Atteinte pulmonaire	Alopécie	Atteinte neuro	Atteinte Articulaire	Atteinte cutané/Disc	Anémie	Thrombose
137	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1
298	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1
463	2	2	2	2	2	2	1	1	2		2	2
476	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
623	2	2	1	2	1	2	2	2	2		2	1
654	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
925	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
930	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
958	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
980	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
996	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
1022	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
1083	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
1128	1	1	1	1	1	2	1	2	1	0	2	1
1161	1	1	2	1	1	1	1	2	2	0	1	2
1195	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
2035	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
2147	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2239	2	1	2	1	2	2	2	2	2	0	2	1
2307	2	2	2	2	2	2	1	1	2	0	2	1
2384	1	1	2	1	1	2	2	1	2	0	2	1
2615	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
2621	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	1
2714	2	2	1	2	1	2	2	2	2	0	2	1
2762	1	1	1	2	1	1	2	1	1	0	2	1
2864	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
2881	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
2888	2	1	2	2	1	2	2	2	2	0	2	1
2889	1	2	2	2	2	1	2	2	2	0	2	1
2926	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
3093	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
3283	1	1	2	1	1	1	1	1	2		2	1
3472	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3521	2	2	1	2	1	2	1	1	2	0	2	2
3623	1	2	1	2	1	2	2	2	1	0	2	1
3624	2	2	1	2	1	2	2	2	2	0	2	1
3640	1	1	1	1	1	2	2	2	1	0	2	1
3843	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
3924	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
3932	2	1	2	2	1	1	1	2	2	0	2	1
3962	1	2	2	2	1	2	2	2	2	0	2	1
4125	2	2	2	2	1	2	2	2	1	0	2	1
4196	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2
4287	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
4413	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4488	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2
4492	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
4594	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
4738	2	2	2	1	1	2	2	2	2	0	2	1
4788	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5142	2	1	2	2	2	2	2	2	2	0	2	1
5198	2	2	2	1	1	1	1	2	1	0	2	1
5402	2	1	2	2	2	2	1	2	2	0	2	1
5444	1	1	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2
5514	2	1	1	1	1	2	2	2	2	0	2	2
5691	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
5968	1	1	2	1	1	2	2	2	2	0	2	1
6515	2	1	2	2	1	2	2	2	1	0	2	1
6910	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	2	2
7077	1	1	2	2	1	2	2	2	2	0	2	1
7227	2	2	1	2	1	2	1	2	2	0	2	1
7706	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
7983	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
8330	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
8578	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
8618	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1
9008	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
9696	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
9901	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
9956	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1

Tableau 4 : Les données Immunologiques des patients atteints d'un lupus néphrotique

N	FAN	IFI	titre	anti-ADN		Anti-ENA screen	Anti-ENA profil			
		aspect		Positivité	titre		Anti-SSA	Anti-SSB	Anti-Sm	Anti-RNP
137	+	HM	1/320	0		1	1	1	1	1
298	+	M	1/80	0		0	0	0	0	0
476	+	HM	1/320	0		1	1	0	0	0
623	+	H	1/1000	1	1/40	1	0	0	0	0
925	+	HM	1/320	0		1	1	1	1	0
930	+	M	1/1000	0		1	1	0	1	1
958	+	HM	1/1000	0		1	1	1	0	0
980	+	HM	1/160	1	1/20	0	0	0	0	0
996	+	H	1/640	0		0	0	0	0	0
1022	+	HM	1/640	0		1	0	0	0	1
1083	+	HM	1/1000	1	1/20	1	1	1	0	0
1128	+	H	1/80	0		0	0	0	0	0
1161	+	H	1/640	1	1/40	0	0	0	0	0
1195	+	H	1/640	1	1/40	1	0	0	0	0
2035	+	H	1/320	1	1/100	0	0	0	0	0
2147	+	HM	1/640	1	539	1	1	0	1	1
2239	+	M	1/640	1	194	0	0	0	0	0
2307	+	H	180	0		0	0	0	0	0
2384	+	M	1/1000	1	145	1	1	0	1	0
2615	+	HM	1/640	1	1/20	1	0	0	douteux	1
2621	+	M	1/1000	1	1/100	1	0	0	0	0
2714	+	HM	1/640	1	1/40	1	1	0	1	1
2762	+	H	1/1000	1	1/100	1	1	0	0	1
2864	+	M	1/640	0		1	1	0	1	0
2881	+	HM	1/640	0		1	1	0	0	0
2888	+	HM	1/1000	1	1/40	1	1	1	0	0
2889	+	M	1/1000	0		1	1	0	1	1
2926	+	HM	1/640	0		1	1	0	0	0
3093	+	HM	1/640	0		1	1	1	0	0
3283	+	M	1/1000	1	1/100	1	1	0	1	1
3472	+	HM	1/640	1	1/160	1	1	0	0	0
3521	+	HM	1/1000	1	1/20	1	1	0	0	1
3623	+	HM	1/640	1	92	1	1	1	1	1
3624	+	H	1/320	1	666,9	1	1	0	0	0
3640	+	M	1/320	0		1	1	0	0	0
3843	+	M	1/640	0		1	1	1	1	1
3924	+	HM	1/1000	0		1	1	1	1	0
3932	+	H	1/320	1	153	0	0	0	0	0
3962	+	H	1/640	1	1/20	1	0	0	0	1
4125	+	HM	1/1000	1	666,6	1	0	0	1	1
4196	+	HM	1/1000	1	161	1	1	0	1	1
4287	+	HM	1/1000	1	1/100	1	1	0	1	1
4413	+	HM	1/640	1	1/40	0	0	0	0	0
4488	+	M	1/640	0	13,9	1	1	0	1	1
4492	+	M	1/320	0		1	0	0	1	1
4594	+	H	1/320	1	567	1	1	0	0	0
4738	+	H	1/1000	1	1/40	0	0	0	0	0
4788	+	HM	1/640	1	1/160	1	1	0	0	0
5142	+	H	1/640	1	88,8	0	0	0	0	0
5198	+	H	1/320	0		1	0	0	0	0
5402	+	M	1/1000	0		1	1	0	0	0
5444	+	HM	1/1000	1	666	1	1	1	0	1
5514	+	M	1/640	0		1	0	0	1	1
5691	+	HM	1/320	1	1/100	1	1	0	0	0
5968	+	H	1/320	0		0	0	0	0	0
6515	+	H	1/1000	1	147	1	1	0	0	0
6910	+	M	1/320	1	1/100	1	1	1	1	1
7077	+	H	1/1000	1	1/40	0	0	0	0	0
7227	+	H	1/1000	1	1/100	1	1	0	1	1
7586	+	H	1/640	1	1/40	0	0	0	0	0
7706	+	H	1/80	0		0	0	0	0	0
7983	+	HM	1/1000	1	49	0	0	0	0	0
8330	+	H	1/320	0		0	0	0	0	0
8578	+	HM	1/640	1	38,1	1	0	0	1	1
8618	+	HM	1/640	0		1	1	0	1	1

8653	+	H	1/80	0	0	0	0	0	0	0
9008	+	HM	1/640	1	80,2	1	1	0	0	1
9696	+	M	1/640	0		1	1	0	0	1
9901	+	HM	1/640	1	133	1	1	0	1	1
9956	+	H	1/1000	1	200	1	1	0	0	0

Tableau 5 : Les données Immunologiques des patients atteints d'un lupus non néphrotique

N	FAN	IFI	titre	anti-ADN		Anti-ENA screen	Anti-ENA profil			
		aspect		positivité	titre		Anti-SSA	Anti-SSB	Anti-Sm	Anti-RNP
18	+	HM	1/640	1	1/80	1	1	1	0	0
90	+	M	1/80	0		0	0	0	0	0
474	+	H	1/640	1	1/100	0	0	0	0	0
477	+	HM	1/1000	1	1/160	douteux	0	0	1	1
753	+	M	1/640	0		1	1	1	0	0
980	+	M	1/160	0		0	0	0	0	0
1001	+	M	1/1000	0		1	1	0	douteux	1
1043	+	H	1/1000	1	1/40	0	0	0	0	0
1133	+	M	1/640	0		1	1	1	0	1
1245	+	H	1/320	1	1/20	1	1	1	1	1
1452	+	M	1/1000	1	1/40	1	0	0	1	1
1452	+	M	1/320	0		1	1	2	2	1
1954	+	HM	1/1000	1	1/40	0	0	0	0	0
2109	+	H	1/320	0		0	0	0	0	0
2266	+	M	1/1000	0		1	0	0	1	1
2584	+	H	1/1000	1	1/20	1	1	0	0	0
2584	+	H	1/320	0		0	0	0	0	0
2709	+	HM	1/1000	1	1/160	1	1	0	1	1
2846	+	H	1/640	1	1000	1	0	0	0	0
3395	+	HM	1/1000	1	1/160	1	1	1	0	0
3591	+	H	1/1000	1	1/300	0	0	0	0	0
3670	+	HM	1/640	1	1/160	1	1	0	0	0
3688	+	M	1/1000	1	1/20	0	0	0	0	0
3925	+	HM	1/80	0		1	1	0	1	0
3942	+	M	1/1000	0		1	0	0	1	1
4474	+	HM	1/640	1	1/1000	1	1	0	1	1
4478	+	H	1/640	1	1/20	0	0	0	0	0
4563	+	H	1/1000	0	24,4	1	1	0	1	1
4563	+	H	1/320	0		0	0	0	0	0
4564	+	M	1/1000	1	1/40	1	1	0	1	1
4564	+	H	1/640	1	1/40	1	1	2	1	1
4568	+	H	1/320	0		0	0	0	0	0
4589	+	H	1/1000	0		1	0	0	0	1
4589	+	HM	1/640	1	1/100	1	1	1	1	1
4905	+	HM	1/320	1	1/160	1	1	0	0	0
4907	+	M	1/320	0		1	1	1	0	0
5037	+	H	1/1000	1	666	0	0	0	0	0
5423	+	M	1/1000	0		1	0	0	1	1
5434	+	M	1/640	0		0	1	0	1	1
5434	+	H	1/640	1	272	0	0	0	0	0
5559	+	H	1/1000	1	535	0	0	0	0	0
5685	+	HM	1/1000	1	1/40	1	1	1	1	1
5732	+	M	1/640	0		1	1	0	1	1
7745	+	HM	1/640	1	600	1	0	0	1	0
7845	+	M	1/1000	0		1	1	0	1	1
7845	+	H	1/1000	0	1/40	0	0	0	0	0
7852	+	M	1/320	0		0	0	0	0	0
8197	+	H	1/640	1	>20	1	0	0	0	0
8524	+	M	1/1000	0		1	1	0	1	1
8524	+	H	1/640	1	1/20	0	0	0	0	0
8654	+	H	1/80	0		0	0	0	0	0
8766	+	H	1/1000	1	42	0	0	0	0	0
8766	+	M	1/1000	1	1/100	1	0	2	1	1
9234	+	HM	1/640	1	45	1	1	0	0	1
9450	+	H	1/160	0		0	0	0	0	0
9632	+	H	1/320	0		0	0	0	0	0
9673	+	H	1/640	1	159	0	0	0	0	0
89685	+	H	1/640	0	<9,8	1	1	2	1	1

ANNEXE VIII

➤ Le résultat du teste statistique khi² réalisé par logiciel XLSTAT :

- **Comparaissent de l'ensemble des FAN des deux populations lupique néphrotique et non néphrotique :**

XLSTAT 2014.5.03 - Tests sur les tableaux de contingence (khi²...)

Tableau de contingence : 2 lignes et 6 colonnes

Test d'indépendance entre les lignes et les colonnes (Khi²) :

Khi ² (Valeur observée)	1,169
Khi ² (Valeur critique)	11,070
DDL	5
p-value	0,95
alpha	0,05

Interprétation du test :

H₀ : Les lignes et les colonnes du tableau sont indépendantes.

H_a : Il existe un lien entre les lignes et les colonnes du tableau.

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil alpha=0,05, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H₀.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H₀ alors qu'elle est vraie est de 94,78%.

- **Comparaissent du profil des FAN des deux populations lupique néphrotique et non néphrotique (exemple l'Anti- DNA) :**

XLSTAT 2014.5.03 - Tests pour deux proportions -

Effectif 1 : 31

Taille d'échantillon 1 : 134

Effectif 2 : 42

Taille d'échantillon 2 : 194

Différence supposée (D) : 0

Variance : $p_1q_1/n_1 + p_2q_2/n_2$

Niveau de signification (%) : 5

Test z pour deux proportions / Test unilatéral à droite :

Intervalle de confiance à 95% autour de la différence des proportions :

(-0,062 ; 1,000)

Différence	0,015
z (Valeur observée)	0,318
z (Valeur critique)	1,645
p-value (unilatérale)	0,375
alpha	0,05

Interprétation du test :

H₀ : La différence entre les proportions est égale à 0.

H_a : La différence entre les proportions est supérieure à 0.

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil alpha=0,05, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle H₀.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H₀ alors qu'elle est vraie est de 37,53%.

ANNEXE IX

Tableau I : le développement des Critères de diagnostique du lupus au cours des années (Yu, Gershwin, et Chang 2014)

	1971 ARA	1982 ARA	1997 ACR	2012 SLICC
Manifestation cutanée	-érythème facial (éruption en ail de papillon) -érythème discoïde - phénomène de Raynaud -Alopécie - Photosensibilité -ulcération Oral ou nasopharynx	-Érythème malaire -lésion LED -Photosensibilité -ulcération Oral	-Érythème malaire - érythème discoïde -Photosensibilité -ulcération Oral	-Lupus Cutané aigu - Lupus Cutané chronique -Ulcères oral -Alopécie non cicatrisante
Manifestation articulaire	-arthrite non déformante ≥ une articulation périphérique	-arthrite non érosive ≥ deux articulations périphériques	-arthrite non érosive ≥2 les articulations périphériques	-Synovite ≥ 2 les articulations périphériques
Sérite	-Sérite (pleurésie ou épaississement pleural, ou péricardite)	-Sérite (pleurésie ou péricardite)	-Sérite (pleurésie ou épaississement pleural, ou péricardite)	-Sérite (pleurésie ou épanchement pleurale, ou péricardite)
trouble rénal	-Protéinurie ≥ 3.5g / Jours -cylindre cellulaire	Troubles rénaux (protéinurie > 0.5 g/ jour ou cylindre cellulaire)	Troubles rénaux (protéinurie > 0.5g/ jour ou cylindre cellulaire)	troubles rénaux -le rapport protéinurie/créatinine ou protéinurie /24 h > 0,5 g -présence du sang dans les urines
trouble Hématologique	Trouble hématologique - anémie hémolytique, ou leucopénie (<4000 /mm ³), ou thrombocytopénie (<100 000 /mm ³)	Trouble hématologique -anémie hémolytique, ou leucopénie (<4000 /mm ³), ou thrombocytopénie (<100 000 /mm ³)	Trouble hématologique -anémie hémolytiques avec un taux élevée de réticulocyte, ou leucopénie <4000/mm ³ , lymphopénie <1500/mm ³ ou, thrombocytopénie <100.000/mm ³	-Anémie hémolytique -Leucopénie ou lymphopénie (<4000/mm ³ <1000/ mm ³ -Thrombocytopénie (<100.000 / mm ³)

Anomalie Immunologique	-cellules LE -Chronique faux positifs test sérologique de la syphilis	- cellule LE positif Préparation (anti-dsDNA ou anti-Sm ou faux-positif pour test sérologique de la syphilis) - ANA positif	- anti-dsDNA, anti-Sm ou des anticorps anti-phospholipides Positif (anticardiolipine et anticoagulant de type IgG et IgM) - ANA Positif	- ANA positif -Positive anti-dsDNA - Anti-Sm - anticorps antiphospholipides (y'a compris les anticoagulant, Anticardiolipine, anti-β2 glycoprotéine1) - complément (C3, C4 ou CH50) - test de Coombs Direct en absence d'anémie hémolytique
Diagnostic	Présence de 4 critères ou plus	Présence de 4 critères ou plus	Présence de 4 critères ou plus	Présence de 4 critères clinique avec un critère immunologique

Tableau II : Épidémiologie du lupus érythémateux systémique dans les pays en développement par rapport aux registres connus (Tazi Mezalek et Bono 2014)

Des pays	Années de publication	Taille d'échantillon	Incidence / prévalence	l'âge d'apparition moyenne	Ratio Femme/homme	Observation
MENA						
Tunisie (touloupe)	2013	749	-	30.66	9.26	la fréquence d'incidence et la prévalence ne peut être clarifié - -
Saudia	2007	86	-	24	10.1	
Turquie	2013	428	-	40,3	13.75	
Afrique						
Registre Barbade	2012	183	12.21 / 100 000 personnes-année	-	15.6	Une mortalité élevée
RSA	2007	226	-	34	18.1	
MENA : Moyen-Orient et Afrique du Nord ; RSA : République d'Afrique du Sud ;Touloupe : Lupus TUNISIEN.						

**Tableau III : Principaux facteurs génétique de susceptibilité au LES
(Humbel et al., 2013)**

Locus	Gène	Position	Fonction
TNFAIP3	Tumor necrosis factor-alpha-induced protein	6q23	Ubiquitination de la voie NFκB
TNIP1	TNFAIP3-interacting protein	1 5q32-q33, 1	
UBE2L3	Ubiquitin-conjugating enzyme E2L 3	22q11, 2- q13, 1	
IRAK1	Récepteur d'Interleukine-1 associé à une kinase	Xq28	
IRF5	Interféron régulateur factor 5	7q32	Voie INF. de type 1
IRF7	Interféron régulateur facteur 7	11p15, 5	
IRF8	Interféron régulateur factor 8	16q24, 1	
IFIH1	Interferon-induced helicase C domain containing protein 1	2q24	
TYK2	Tyrosine kinase 2	19p13, 2	
HLA-DRB1	HLA class II histocompatibility antigen	6p21, 3	Présentation antigénique
ITGAM	Integrin alpha M	16p11, 2	Apoptose
Fc_γR	Fc _γ receptors	Multiple	
ETS1	V-ETS avian erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 1	11q23, 3	
IKZF1	IKAROS family zinc finger 1	7p12	Développement lymphocytaire
BANK1	B-cell sca3 old protein with ankyrin repeats 1	4q22-q24	Signalisation et activation lymphocytaire B
BLK B	lymphoïde tyrosine kinase	8p23-p22	
LYN	V-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral-related oncogène homolog	8q13	
STAT4	Signal transducer and activator of transcription 4	2q32, 2-q32,3	Signalisation et activation des lymphocytaire T
TNFSF4	Tumor necrosis factor (ligand) superfamily member 4	1q25	
PTPN22	Protéine tyrosine phosphatase non-receptor type 22	1p13	Signalisation et activation lymphocytaire T et B

Tableau IV : Critères de classification du SLICC pour le lupus systémique (Costedoat-Chalumeau et al., 2014).

Critères de classification du SLICC (Systemic Lupus International Collaborating Clinics) pour le lupus systémique.

Critères cliniques

1. *Lupus cutané aigu (incluant au moins l'un des critères suivants) :*

Érythème malaire (ne compte pas si lupus discoïde)

- Lupus bulleux
- Nécrolyse toxique épidermique lupique
- Éruption maculo-papuleuse lupique
- Éruption lupique photosensible
- en l'absence de dermatomyosite

OU Lupus cutané subaigu (lésions psoriasiformes ou polycycliques non indurées résolutives sans cicatrices, ou parfois avec une dépigmentation post inflammatoire ou des télangiectasies)

2. *Lupus cutané chronique (incluant au moins l'un des critères suivants) :*

Lupus discoïde classique

- Localisé (au-dessus du cou)
- généralisé (au-dessus et en dessous du cou)
- Lupus hypertrophique ou verruqueux
- Panniculite lupique ou lupus cutanéprofundus
- Lupus chronique muqueux
- Lupus tumidus
- Lupus engelure
- Forme frontière lupus discoïde / lichen plan

3. *Ulcères buccaux*

- Palatins
- bouche
- langue
- OU ulcérations nasales
- en l'absence d'autre cause telle que vascularite, maladie de Behçet, infection (herpès virus), maladie inflammatoire chronique intestinale, arthrite réactionnelle, et aliments acides

4. *Alopécie non cicatricielle*

- (éclaircissement diffus de la chevelure ou fragilité capillaire avec mise en évidence de cheveux cassés) en l'absence d'autres causes comme une pelade, des médicaments, une carence martiale et une alopécie androgénique

5. *Synovite impliquant plus de deux articulations, caractérisée par un gonflement ou un épanchement*

OU Arthralgies de plus de 2 articulations avec dérouillage matinal de plus de 30 minutes

6. *Sérites*

- Pleurésie typique > 24 h
- OU Épanchement pleural
- OU Frottement pleural

Douleur péricardique typique (aggravée par le décubitus et améliorée en antéflexion) > 24 h

ou épanchement péricardique

ou frottement péricardique

ou signes électriques de péricardite en l'absence d'autre cause telle qu'une infection, une insuffisance rénale ou un syndrome de Dressler

7. Atteinte rénale

Rapport protéinurie / créatinine urinaire (ou protéinurie des 24 h) représentant une protéinurie > 500 mg/24 h (la bandelette urinaire est supprimée)

OU Cylindres hématiques

8. Atteinte neurologique

Convulsions

Psychose

Mononévrite multiple en l'absence d'autre cause connue comme une vascularite primitive

Myélite

Neuropathie périphérique ou atteinte des paires crâniennes en l'absence d'autre cause connue comme une vascularite primitive, infection et diabète

Syndrome confusionnel aigu en l'absence d'autres causes (toxique, métabolique, urémique, médicamenteuse. . .)

9. Anémie hémolytique

10. Leucopénie (< 4000/mm³, un épisode suffit) en l'absence d'autre cause connue (syndrome de Felty, médicaments, hypertension portale. . .)

OU Lymphopénie (< 1000/mm³ un épisode suffit) en l'absence d'autre cause (corticothérapie, médicaments, infections. . .)

11. Thrombopénie (< 100 000/mm³ un épisode suffit) en l'absence d'autre cause (médicaments, hypertension portale, PTT. . .)

Critères immunologiques

1. Titre d'anticorps antinucléaires supérieurs à la norme du laboratoire

2. Anticorps anti-ADN natif supérieurs à la norme du laboratoire

(> 2 fois la dilution de référence si test ELISA)

3. Présence d'un anticorps dirigé contre l'antigène Sm

4. Anticorps antiphospholipides positifs déterminés par :

Présence d'un anticoagulant circulant

Sérologie syphilitique faussement positive

Anticorps anticardioline (IgA, IgG, or IgM) à un titre moyen ou fort

Anticorps anti-2-glycoprotéine1 (IgA, IgG, or IgM)

5. Diminution du complément

C3 bas

C4 bas

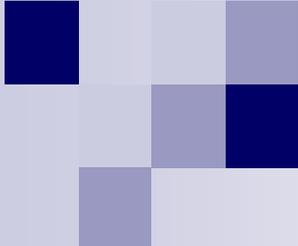
CH50 bas

6. Test de Coombs direct positif (en l'absence d'anémie hémolytique)

Tableau V : Classification internationale de l'ISN/RPS des glomérulonéphrites lupiques (Humbel et al., 2013).

Classification internationale de l'ISN/RPS des glomérulonéphrites lupiques.	
Classe I	Glomérulonéphrite mésangiale à dépôts minimes Glomérule normal en microscopie optique, avec dépôts mésangiaux en immunofluorescence.
Classe II	Glomérulonéphrite proliférative mésangiale Hypercellularité mésangiale pure ou expansion de la matrice mésangiale en microscopie optique avec dépôts mésangiaux immuns. Quelques dépôts sous-épithéliaux ou sous-endothéliaux peuvent être visibles en microscopie électronique, mais pas en IF.
Classe III	Glomérulonéphrite focale Atteinte, active ou inactive, focale segmentaire ou globale, extracapillaire ou endocapillaire typiquement avec des dépôts immuns sous-endothéliaux, avec ou sans altérations mésangiales, touchant moins de 50 % des glomérules.
Classe III (A)	Lésions actives : glomérulonéphrite focale proliférative.
Classe III (A/C)	Lésions actives et chroniques : glomérulonéphrite focale proliférative et scléreuse.
Classe III (C)	Lésions chroniques inactives avec cicatrice glomérulaire : glomérulonéphrite focale scléreuse.
Classe IV	Glomérulonéphrite diffuse Glomérulonéphrite diffuse active ou inactive, segmentaire ou globale, endo ou extracapillaire touchant > 50 % des glomérules avec dépôts diffus immuns subendothéliaux, avec ou sans altérations mésangiales. Cette classe est divisée en : – glomérulonéphrite diffuse segmentaire (IV- S) quand > 50 % des glomérules touchés ont des lésions segmentaires ; – glomérulonéphrite diffuse globale (IV- G) quand > 50 % des glomérules touchés ont des lésions globales. Le terme segmentaire (S) définit des lésions glomérulaires qui intéressent moins de la moitié du flocculus glomérulaire. Cette classe inclut les cas avec des dépôts de complexes immuns diffus en « wire-loop » mais avec peu ou pas de prolifération glomérulaire.
Classe IV-S(A)	Lésions actives : glomérulonéphrite diffuse segmentaire proliférative.
	Lésions actives : glomérulonéphrite diffuse globale proliférative.

Classe IV-G (A)	
Classe IV-S (A/C)	Lésions actives et chroniques : glomérulonéphrite diffuse segmentaire proliférative et scléreuse.
Classe IV-G (A/C)	Lésions actives et chroniques : glomérulonéphrite diffuse globale proliférative et scléreuse.
Classe IV-G (C)	Lésions inactives et chroniques cicatricielles : glomérulonéphrite diffuse globale scléreuse.
Classe IV-S (C)	Lésions inactives et chroniques cicatricielles : glomérulonéphrite diffuse segmentaire scléreuse.
Classe V	<p style="text-align: center;">Glomérulonéphrite extra membraneuse</p> <p>Dépôts sous- endothéliaux, globaux ou segmentaires, en microscopie optique ou en immunofluorescence ou en microscopie électronique, avec ou sans altérations mésangiales. Les dépôts sous- épithéliaux doivent toucher plus de 50 % de la surface glomérulaire dans plus de 50 % des glomérules. La classe V peut s'associer à une classe III ou IV. La classe V peut comporter des signes de sclérose avancée.</p>
Casse VI	<p style="text-align: center;">Sclérose glomérulaire avancée</p> <p>90 % ou plus des glomérules sont globalement scléreux, sans activité résiduelle</p>



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÈRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ✚ Abdnasser, R., et Mansour, B. O. (2014). La prise en charge thérapeutique de la néphropathie lupique. Abou Beker Belkaid.
- ✚ Alarcon, G., Bartolucci, A., Roseman, J., Lisse, J., Bastian, M., Reveille, D., ... Friedman, B. (2001). Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups. IX. Differences in damage accrual. *Arthritis Rheum*, 44(12), 2797–2806.
- ✚ Alba, P., Bento, L., Cuadrado, M., Karim, Y., Tungekar, M., Abbs, I., ... Hughes, G. (2003). Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: significant factors associated with lupus nephritis. *Rheumatic Diseases*, 62, 556–560.
- ✚ Al-kabeer, M. (1997). Serological characteristics of systemic lupus erythematosus from a hospital-based rheumatology clinic in Kuwait. *Revue Du Rhumatisme*, 668–674.
- ✚ Anaya, J. M., Cañas, C., Mantilla, R., Pineda-Tamayo, R., Tobón, G., Herrera-Diaz, C., ... Uribe, M. (2011). Lupus nephritis in colombians: Contrasts and comparisons with other populations. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 40(3), 199–207.
- ✚ Antico, A., Platzgummer, S., Bassetti, D., Bizzaro, N., Tozzoli, R., et Villalta, D. (2010). Diagnosing systemic lupus erythematosus: new-generation immunoassays for measurement of anti-dsDNA antibodies are an effective alternative to the Farr technique and the *Crithidia luciliae* immunofluorescence test. *Lupus*, 19, 906–912.
- ✚ Baghdali, F., Arzour, H., Boudrifa, N., Gaouar, A., Haddoum, F., et Kalem, K. (2014). Lésions histologiques rénales au cours du lupus : étude descriptive de 366 patients. *Néphrologie et Thérapeutique*, 10(5), 338.
- ✚ Bahamida, B., Saidani, M., Slimani, M., Kadoum, M., Foura, K., et Benabadji, M. (2014). Atteinte rénale du lupus : étude descriptive à propos de 445 cas. *Néphrologie et Thérapeutique*, 10(5), 345.
- ✚ Bahun-Riedinger, I. (2004). Détection des anti-ENA anti-SSA (52 et 60 kDa): Expérience d'un laboratoire d'auto-immunit. *Medecine Interne*, 25(6), 421–428.
- ✚ Baline, K., Zaher, K., Fellah, H., et Benchikhi, H. (2015). Systemic lupus and kidney disease: contribution of anti-SSA. *Pan African*, 20, 20–39.
- ✚ Belot, A., et Cimaz, R. (2012). Le lupus de l'enfant à travers les ages. *Rhumatisme Monographies*. Elsevier Masson.
- ✚ Bennett, L., Palucka, K., Arce, E., Cantrell, V., Borvak, J., Banchereau, J., et Pascual, V. (2003). Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood. *Experimental Medicine*, 197(6), 711–723.
- ✚ Bonnet, J.-M. (2012). Item 117 - Lupus érythémateux disséminé. Syndrome des antiphospholipides. *Annales de Dermatologie et de Venereologie*, 139, 102–111.
- ✚ Bontoux, D. (2015). le livre de l'interne de Rhumatologie (Lavoisier). *Medecine science*.

- # Bouras, M., Hali, F., Khadir, K., Benchikhi, H., et Bouras, N. (2014). Lupus érythémateux systémique: mortalité et facteurs de mauvais pronostic dans une série marocaine de 129 cas. *Annales de Dermatologie et de Venereologie*, 49(2), 141-143.
- # Buchner, C., Bryant, C., Eslami, A., et Lakos, G. (2014). Anti-nuclear antibody screening using HEp-2 cells. *Visualized Experiments*, 1-8.
- # Buján, S., Ordi-Ros, J., Paredes, J., Mauri, M., Matas, L., Cortés, J., et Vilardell, M. (2003). Contribution of the initial features of systemic lupus erythematosus to the clinical evolution and survival of a cohort of Mediterranean patients. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 62(9), 859–65.
- # Cervera, R., Khamashta, M., Font, J., Sebastiani, G., Gil, A., Lavilla, P., ... de Ramón, E. (1993). Systemic lupus erythematosus: clinical and immunological patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. *The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus.*, 72, 113–24.
- # Chan, T. M. (2015). Treatment of severe lupus nephritis: the new horizon. *Nature Reviews. Nephrology*, 11(1), 46–61.
- # Chatenoud, L. (2013). Diagnostic d'une maladie auto-immune. *Francophone Des Laboratoires*, 449, 28–29.
- # Claessens, Y., et Mouthon, L. (2013). *Maladies rares en médecine d'urgence (SFMU)*. Springer.
- # Combe, B. (2007). Des maladies auto-immunes aux «IMID» en passant par les syndromes auto-inflammatoires. *Rhumatisme*, 74(8), 711-713.
- # Corapi, K. M., Dooley, M. A., et Pendergraft, W. F. (2015). Comparison and evaluation of lupus nephritis response criteria in lupus activity indices and clinical trials. *Arthritis Research and Therapy*, 17(110), 1–13.
- # Costedoat-Chalumeau, N., Francés, C., Pouchot, J., et Piette, J. C. (2014). Les nouveaux critères de classification du lupus systémique (SLICC). *Medecine Interne*, 35(8), 487–490.
- # Dall'Era, M., Chakravarty, E., Wallace, D., Genovese, M., Weisman, M., Kavanaugh, A., ... Salmon, E. (2007). Reduced B lymphocyte and immunoglobulin levels after ataccept treatment in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheumatism*, 56(12), 142.
- # Daugas, E. (2008). Traitement des glomérulonéphrites lupiques prolifératives . Évolution des idées et situation en 2008. *Médecine Interne*, 29(9), 710–717.
- # Davidson, A. (2015). What is damaging the kidney in lupus nephritis? *Nature Reviews Rheumatology*, 12(3), 143–153.
- # Diallo, M., Ka, E. F., Cisse, M. M., Lemrabott, A. T., Fall, S., Diallo, S., ... Diouf, B. (2013). Néphropathie lupique chez les sujets génétiquement pigmentés vivant au Sénégal : à propos de quarante-trois cas. *Médecine et Santé Tropicales*, 23, 328–331.
- # Eggleton, P., Ukoumunne, O., Cottrell, I., Khan, A., Maqsood, S., Thornes, J., ... Isenberg, D. (2014). Autoantibodies against C1q as a Diagnostic Measure of Lupus Nephritis: Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical and Cellular Immunology*, 5(2), 1–23.

- ✚ Eman, M. (2013). Kidney Diseases and Transplantation Renal Data from the Arab World Pattern of Glomerular Disease in the Saudi Population, 24(6), 1265–1270.
- ✚ En-Nasri, S., Essaadouni, L., Laouad, I., Fouad, Z., Fadili, W., Hassani, S., et Amal, S. (2014). La néphropathie lupique : fréquence, formes histologiques et facteurs prédictifs de l'atteinte rénale. *La Tunisie Médicale*, 92(10), 626–630.
- ✚ Fabreguet, I. (2013). Les connectivites : progrès thérapeutiques et place de la biothérapie. *Médicale Suisse*, 6, 556-560.
- ✚ Fakhouri, F., et Lesavre, P. (2007). Traitements actuels des néphropathies lupiques. *Rhumatisme*, 74, 759–764.
- ✚ Feki, S., Frikha, F., Ben Hadj Hmida, Y., Abed, S., Ben Ayed, M., Turki, H., ... Masmoudi, H. (2012). Prévalence et valeur diagnostique des anticorps antinucléaires de spécificité antigénique indéterminée : étude rétrospective à propos d'une série de 90 patients. *Medecine Interne*, 33(9), 475–481.
- ✚ Ferdinand, D., Koffi, G., Monde, A., Niamke, G., Kouadio, L. D., Tiahou, G., ... Sess, D. (2011). Interest of microalbuminuria in preventing kidney damage during systemic lupus erythematosus (SLE) under corticoid therapy. *Annales de Biologie Clinique*, 69(3), 285–288.
- ✚ Fournel, S., et Muller, S. (2000). Les auto-anticorps dans le lupus. *Médecine Thérapeutique*, 6(7), 537–546.
- ✚ Fraud, A. (2011). Les anticorps anti-ADN. *Biologie Médicale Spécialisée*.
- ✚ Frodlund, M., Dahlström, O., Kastbom, A., Skogh, T., et Sjöwall, C. (2013). Associations between antinuclear antibody staining patterns and clinical features of systemic lupus erythematosus: analysis of a regional Swedish register. *BMJ Open*, 3(10), 1–9.
- ✚ Fusaro, M., et Musset, L. (2016). Autoanticorps antinucléaires : cibles antigéniques et méthodes d'identification. *EMC - Biologie Médicale*, 11(3), 1–10.
- ✚ George, B., Dimitrios T, B., et Ricard, C. (2012). Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis and Clinical Features. In *EULAR Textbook on Rheumatic Diseases* (pp. 476–505).
- ✚ Ghedira, I., Sakly, W., et Jeddi, M. (2002). Caractéristiques cliniques et sérologiques du lupus érythémateux systémique : à propos de 128 cas. *Pathologie Biologie*, 50(1), 18–24.
- ✚ Goetz, J. (2012). Conduite à tenir devant la mise en évidence d'anticorps antinucléaires sur HEp-2. *Francophone Des Laboratoires*, (444), 7–11.
- ✚ Golbus, J., et Mccune, W. J. (1994). Lupus nephritis. Classification, prognosis, immunopathogenesis, and treatment. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, 20(1), 213–42.
- ✚ Gougoux, A. (2005). *Physiologie des Reins et des liquides corporels (MultiMonde)*.

- # Grimaldi, C. M. (2006). Sex and systemic lupus erythematosus: the role of the sex hormones estrogen and prolactin on the regulation of autoreactive B cells. *Current Opinion in Rheumatology*, 18(5), 456–461.
- # Grosshans, É., et Sabilia, J. (2005). Le lupus érythémateux : son histoire et son polymorphisme. *Revue Du Rhumatisme*, 72(2), 114–116.
- # Guerrier, T., Jousse, S., Dueymes, M., Youinou, P., et Renaudineau, Y. (2007). Anticorps anti- α -actinine et anticorps anti-C1q: deux nouveaux «marqueurs» pour la glomérulonéphrite lupique. *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée*, 22(3), 195–201.
- # Gueutin, V., Deray, G., et Isnard-Bagnis, C. (2011). Physiologie rénale. *Bulletin Du Cancer*, 99(3), 237–249.
- # Guillvin, L. (2014). le livre de l'interne Médecine interne (Lavoisier). *Medecine sciences*.
- # Hachulla, E. (2012). Traitement du lupus érythémateux systémique en 2012 en-dehors du syndrome des antiphospholipides. *La Lettre Du Rhumatologue*, 1–6.
- # Haddouk, S., Ben Ayed, M., Baklouti, S., Hachicha, J., Bahloul, Z., et Masmoudi, H. (2005). Autoanticorps dans le lupus érythémateux systémique : profil et corrélations cliniques. *Pathologie Biologie*, 53(6), 311–317.
- # Haider, M., et Attia, A. (2000). Lupus Nephritis among Arabs - Differences with other Races; Emphasis on Clinicopathological and Serological Perspectives. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, 11(3), 370–380.
- # Hopkinson, N. D. (2000). Racial group, socioeconomic status, and the development of persistent proteinuria in systemic lupus erythematosus. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 59(2), 9–16.
- # Houssiau, F. A. (2007). Néphropathie du lupus. *Médecine Interne*, 28(4), 304–305.
- # Humbel, R.-L., Lachapelle, J., Lipsker, D., Dieudé, P., Lazaro, E., Richez, C., et Meyer, O. (2013). *Lupus érythémateux*. Elsevier Masson.
- # Ighe, A., Dahlström, Ö., Skogh, T., et Sjöwall, C. (2015). Application of the 2012 Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria to patients in a regional Swedish systemic lupus erythematosus register. *Arthritis Research and Therapy*, 17(3), 1–8.
- # Jallouli, M., Frigui, M., Marzouk, S., Feki, H., Kaddour, N., et Bahloul, Z. (2008). Mortalité et facteurs de mauvais pronostic au cours du lupus érythémateux systémique dans une série de 146 cas du Sud tunisien. *Presse Medicale*, 37(12), 1711–1716.
- # Johanna, R. (2013). Exploration des difficultés dans la prise de traitements au long cours chez le patient transplanté rénal : comment le rendre acteur de sa santé. Angers.
- # Jose, F. M., Cristina, D., Javier, M., et Maroi H, C. (1996). Systemic Lupus Erythematosus in Males A Study of 107 latin American Patients. *Medicine*, 75(3), 124–130.

- ✚ Jourde-Chiche, N., Chiche, L., Mancini, J., Daniel, L., Bardin, N., Burtey, S., ... Daugas, É. (2014). Prise en charge des glomérulo néphrites lupiques prolifératives: enquête de pratique du Groupe coopératif sur le lupus rénal auprès des néphrologues et internistes français. *Néphrologie et Thérapeutique*, 10(3), 170–176.
- ✚ Kanfer, A., Peraldi, M., Combe, C., et Olivier, K. (2014). *Néphrologie et troubles hydroélectrolytiques* (Copyright). Elsevier Masson.
- ✚ Karras, A. (2011). Atteinte rénale du lupus érythémateux disséminé. *Presse Medicale*, 41(3), 260–266.
- ✚ Karras, A. (2015). La néphropathie lupique: Le point en 2014. *Medecine Interne*, 36(2), 98–106.
- ✚ Kaux, J. F., Chapelle, J. P., Lutteri, L., et Le Goff, C. (2008). Comment j ’ explore ... *Revue des principaux auto-anticorps. Médicale de Liège*, 63(1), 43–49.
- ✚ Lacour, B. (2013). Physiologie du rein et bases physiopathologiques des maladies rénales. *Rein et Pathologies*, (451), 25–37.
- ✚ Lakos, G., Gonzalez, M., Flaherty, D., Bentow, C., Ibarra, C., Stimson, D., ... Dervieux, T. (2016). Detection of anti-dsDNA antibodies by computer-aided automated immunofluorescence analysis. *Immunological Methods*, 02(019), 1–6.
- ✚ Lemarié, R., Jacomet, F., Goutte, B., Bonnafoux, C., Tridon, A., et Evrard, B. (2011). Les anticorps anti-ADN natif : Validation d’une stratégie originale de détection en deux temps. *Annales de Biologie Clinique*, 69(1), 47–53.
- ✚ Lok, C. (2015). Item 190–UE 7 Lupus érythémateux disséminé. Syndrome des anti-phospholipides. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 142, 167–173.
- ✚ Louzir, B., Othmani, S., Ben Abdelhafidh, N., Ayari, M., Bahri, F., Bahri, M., ... Zakraoui, L. (2003). Le lupus érythémateux systémique en Tunisie. étude multicentrique nationale. à propos de 295 observations. *Medecine Interne*, 24(12), 768.774.
- ✚ Lu, C., et Nossent, J. (2015). Thrombopoietin levels in systemic lupus erythematosus are linked to inflammatory cytokines , but unrelated to thrombocytopenia or thrombosis. *Lupus*, 24, 18–24.
- ✚ Mahfoudh, A., Khaled, A., Chtourou, O., Kharfi, M., Zeglaoui, F., Fazaa, B., et Kamoun, M. R. (2010). Le lupus erythemateux chronique: 104 cas Tunisiens. *Tunisie Medicale*, 88(10), 742–745.
- ✚ Mathian, A., Arnaud, L., et Amoura, Z. (2014). *Physiopathologie du lupus systémique: Le point en 2014*. Medecine Interne. Elsevier Masson SAS.
- ✚ Meyer, O. (2005). Lupus érythémateux systémique. *EMC-Rhumatologie-Orthopedie*, 2(1), 1–32.
- ✚ Mok, C. C. (2016). Towards new avenues in the management of lupus glomerulonephritis. *Nature Reviews. Rheumatology*, 10(74), 1–14.
- ✚ Mouthon, L. (2012). Physiopathologie du lupus érythémateux disséminé. *La Lettre Du Rhumatologue*, 1–5.

- # Petitpierre, S., Aubert, V., Eimgruber, A. L., Spertini, F., et Bart, P. A. (2009). Utilité de la recherche des autoanticorps dans la pratique quotidienne. *Medicale Suisse*, 5(199), 823–831.
- # Pickering, M. C., et Botto, M. (2010). Are anti-C1q antibodies different from other SLE autoantibodies? *Nature Reviews. Rheumatology*, 6(8), 490–493.
- # Piette, J., Amoura, Z., Hachulla, E., et Véronique Le Guern, J. S. (2012). - Le lupus - 100 questions pour mieux gérer la maladie. *Santé - bien-être*.
- # Pisetsky, D. S. (2015). Anti-DNA antibodies — quintessential biomarkers of SLE. *Nature Reviews Rheumatology*, 1–9.
- # Rekvig, O. P., Putterman, C., Casu, C., Gao, H. X., Ghirardello, A., Mortensen, E. S., ... Doria, A. (2012). Autoantibodies in lupus: Culprits or passive bystanders? *Autoimmunity Reviews*, 11(8), 596–603.
- # Renaudineau, Y., Renaudineau, E., Le Meur, Y., Chauveau, A., et Youinou, P. (2008). Intérêt des nouveaux examens sérologiques pour la néphropathie lupique. *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée*, 23(3), 137–142.
- # Robert, G., et Lahita, M. (2011). *Systemic Lupus (FIFTH)*.
- # Ségalen, I., Renaudineau, Y., Hillion, S., Hanrotel, C., Le Meur, Y., et Youinou, P. (2011). Quels auto-anticorps pour le diagnostic et le suivi de la néphropathie lupique ? *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée*, 26(3), 113–117.
- # Sibilia, J., et Sordet, C. (2005). Immunothérapies du lupus systémique : innovations et perspectives. *Rhumatisme*, 72(6), 572–591.
- # Solal, C. (2006). Sex hormones and SLE: influencing the fate of autoreactive B cells. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 305, 67–88.
- # Song, D., Wu, L.-H., Wang, F.-M., Yang, X.-W., Zhu, D., Chen, M., ... Zhao, M.-H. (2013). The spectrum of renal thrombotic microangiopathy in lupus nephritis. *Arthritis Research and Therapy*, 15(1), 2–12.
- # Stéphane Batigne, S. D. (2015). *Le Corps humain Comprendre notre organisme et son fonctionnement (Québec Amé)*.
- # Stohl, W. (2013). Future prospects in biologic therapy for systemic lupus erythematosus. *Nature Reviews. Rheumatology*, 9(12), 705–720.
- # Stohl, W., Metyas, S., Tan, S. M., Cheema, G. S., Oamar, B., Xu, D., ... Hilbert, D. M. (2003). B Lymphocyte Stimulator Overexpression in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis and Rheumatism*, 48(12), 3475–3486.
- # Subra, J.-F., Druet, P., et Fournié, G. J. (2000). Physiopathologie des maladies lupiques. *Médecine Thérapeutique*, 6(7), 529–536.
- # Tan, E. M., Feltkamp, T. E. W., Smolen, J. S., Butcher, B., Dawkins, R., Fritzler, M. J., ... Koziol, J. A. (1997). Range of antinuclear antibodies in “healthy” individuals. *Arthritis and Rheumatism*, 40(9), 1601–1611.

- ✚ Tazi Mezalek, Z., et Bono, W. (2014). Challenges for lupus management in emerging countries. *Presse Medicale*. Elsevier Masson SAS.
- ✚ Tikly, M. (1996). Autoantibodies in black South Africans with systemic lupus erythematosus: spectrum and clinical associations. *Clinical Rheumatol*, 15(11), 261–265.
- ✚ Trad, B., Ben Hassine, H., Khalifa, M., Idriss, N., Slama, F., Bahri, F., ... Report, E. (2013). Anti-C1q antibodies and systemic lupus erythematosus in the Tunisian population. *Clinical Immunology*, 61(3), 113–116.
- ✚ Tsao, B. P. (1998). Genetic susceptibility to lupus nephritis. *Lupus*, 7(9), 585–90.
- ✚ Wasicek, C. A., et Reichlin, M. (1982). Clinical and serological differences between systemic lupus erythematosus patients with antibodies to Ro versus patients with antibodies to Ro and La. *Clinical Investigation*, 69(4), 835–843.
- ✚ Weening, J. J., D'Agati, V. D., Schwartz, M. M., Seshan, S. V, Alpers, C. E., Appel, G. B., ... Nagata, M. (2004). The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *Kidney International*, 65(2), 521–530.
- ✚ Yu, C., Gershwin, M. E., et Chang, C. (2014). Diagnostic criteria for systemic lupus erythematosus: A critical review. *Autoimmunity*, 48, 10–13.
- ✚ Živković, V., Stanković, A., Cvetković, T., Mitić, B., Kostić, S., Nedović, J., et Stamenković, B. (2014). Anti-dsDNA, Anti-nucleosome and anti-C1q antibodies as disease activity markers in patients with systemic lupus erythematosus. *Celokupno Lekarstvo*, 142(7), 431–436.
- ✚ Zulfiqar, A., Courtel, T., Novella, J., et Pennaforte, J. (2015). Le lupus érythémateux systémique survenant après 65 ans : étude rétrospective de 18 cas. *Geriatr Psychol Neuropsychiatr*, 13(2), 157–168.
- ✚ Zykova, S. N., Tveita, A. A., et Rekvig, O. P. (2010). Renal Dnase1 enzyme activity and protein expression is selectively shut down in murine and human membranoproliferative lupus nephritis. *PLoS ONE*, 5(8), 1–10.