

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB - Blida 1 -
Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire
Laboratoire d'immunologie médicale, CHU ISSAAD Hassani Beni Messous



MÉMOIRE

En Vue de l'obtention du Diplôme de Master

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

L'ataxie télangiectasie, à propos de dix-neuf patients

Soutenu publiquement le : 01 / 07 / 2018

Par : GOUROU Linda et KOUDIA Wissem

Devant le jury composé de :

Mme RAHIM .I	MCB	USDB1	Présidente
Mme BENCHABANE.S	MCB	USDB1	Examinatrice
Mr BELAID.B	Maître assistant	CHU ISSAAD Hassani	Promoteur
Mme MATAOUL.H	MCB	USDB1	Co-promotrice
Dr SAADI Leila	MCA	USDB1	Chef d'option

Promotion 2017/2018

RÉSUMÉ

L'ataxie-télangiectasie est une maladie autosomique récessive rare provoquée par la mutation du gène ATM (Ataxia télangiectasia Mutated), affectant le système neurologique et immunitaire. Elle est caractérisée cliniquement par l'association d'un syndrome cérébelleux, de télangiectasies conjonctivales et de troubles immunitaires. Notre travail se résume en une étude rétrospective et prospective d'une période de 8 ans. Nous avons effectué un immunophénotypage par cytométrie en flux, un dosage des immunoglobulines (IgG, IgA et IgM) par immunonéphélométrie laser ainsi qu'un dosage des IgE et de l'alpha-foetoprotéine par chimiluminescence. Ce qui nous a permis de colliger 19 cas d'ataxie-télangiectasie appartenant à 17 familles. L'âge moyen de début des troubles était de 3,38 ans. Le syndrome cérébelleux était présent à 94,7 %, alors que les télangiectasies oculaires étaient présentes à 100%. Les infections à répétition (78,94 %), la diminution des taux des immunoglobulines (IgG, IgA et IgE), la surexpression des immunoglobulines IgM et de l'alpha-foetoprotéine, les lymphopénies T (84,2 %) et B (78,9 %) témoignaient une déficience du système immunitaire.

Les mots clés : Ataxie télangiectasie, ATM, Immunodéficiences

ABSTRACT

Ataxia-telangiectasia is a rare autosomal recessive disorder caused by the mutation of the ATM gene (Ataxia telangiectasia mutated), affecting the neurological and immune system. It is clinically characterized by the association of a cerebellar syndrome, conjunctival telangiectasia and immune disorders. Our work is summarized in a retrospective and prospective study of a period of 8 years. We have performed immunophenotyping by flow cytometry, immunoglobulin (IgG, IgA and IgM) assay by laser immunonephelometry, and IgE and alpha-fetoprotein assay by chemiluminescence. Which allowed us to collect 19 cases of ataxia-telangiectasia belonging to 17 families. The average age of onset was 3.38 years. The cerebellar syndrome was present at 94.7%, while ocular telangiectases were present at 100%. Repeated infections (78.94%), decreased levels of immunoglobulins (IgG, IgA and IgE), overexpression of IgM immunoglobulin and alpha-fetoprotein, T (84.2%) and B (78.9%) lymphopenia showed a deficiency of the immune system.

Keywords : Ataxia telangiectasia, ATM, Immunodeficiency

ملخص

الرّنج و توسع الشعيرات هو اضطراب جسدي نادر متّحي يحدث بسبب طفرة الجين ATM ويؤثر على الجهاز العصبي والجهاز المناعي. يتميز سريريًا بمتلازمة المخيخ ، توسع الشعيرات الملتحمة والاضطرابات المناعية. يلخص عملنا دراسة استرجاعية ومحتملة لمدة 8 سنوات. قمنا بإجراء تحديد النمط الظاهري للخلايا اللمفاوية باستخدام تقنية التدفق الخلوي، مقيسة مستويات الجلوبيولين المناعي (IgG, IgA, IgM) عن طريق الليزر و كذلك الـ IgE و الـ الالفافيتوبروتين بواسطة تقنية التوهج مما مكنا من جمع 19 حالة من الرّنج وتوسع الشعيرات التي تنتمي إلى 17 عائلة بقدّر متوسط عمر بداية الاختلال بمعدل 38,3 سنوات. كانت متلازمة المخيخ موجودة في 94,7 بالمائة من الحالات في حين كان معدل توسع الشعيرات الدموية في العين مقدر بنسبة 100 بالمائة. أمّا الالتهابات المتكررة، فكانت مقدر بنسبة 94,78 بالمائة ، إضافة إلى نقص مستويات الجلوبيولين المناعي (IgG , IgA , و IgE) و زيادة في مستويات كل من الـ IgM و الالفافيتو بروتين، كما سجل انخفاض في أعداد الخلايا اللمفاوية (84,2 بالمائة في الخلايا T و 78,9 بالمائة في الخلايا B) ، ما يفسر ضعف جهاز المناعة.

الكلمات المفتاحية : الرّنج و توسع الشعيرات، ATM، ضعف جهاز المناعة.

REMERCIEMENTS

Nous profitons par le biais de ce mémoire, pour exprimer nos vifs remerciements à toute personne contribuant de près ou de loin à l'élaboration de cet humble travail.

Nous tenons à remercier dans un premier temps, Le professeur **Réda DJIDJIK**, qui nous a permis d'effectuer notre stage au sein du laboratoire d'immunologie médicale au CHU ISSAAD Hassani.

Nous remercions également notre encadreur **Mr Brahim BELAID** pour son suivi, ses orientations ainsi que ses généreuses contributions dans la réalisation de ce travail.

Nous présentons aussi nos remerciements à notre co-promotrice **Mme Houria MATAOUI** pour son suivi et ses précieux conseils.

Nous souhaitons remercier tous nos professeurs et le chef de département de notre établissement **Mme Leila SAADI**, de nous avoir formés avec rigueur et patience.

Un merci bien particulier à **Mlle Zineb LARAB** pour l'aide et les conseils qu'elle nous a apportés.

Nous sommes profondément reconnaissantes envers nos chères familles qui ont appuyés nos efforts et nous ont encouragées et soutenues sans cesse tout au long de notre parcours.

Table des matières

INTRODUCTION.....	1
I. Bibliographie.....	3
1. Généralités sur l'Ataxie télangiectasie	3
1.1 Rappel historique.....	3
1.2 Définition.....	3
1.3 Epidémiologie.....	4
1.4 Étiologie	4
1.5 Les variantes de l'Ataxie télangiectasie.....	5
1.5.1 L'Ataxie-télangiectasie like-disorder (ATLD).....	5
1.5.2 L'ataxie avec apraxie oculomotrice type 1 (AOA-1).....	5
1.5.3 L'Ataxie avec apraxie Oculomotrice type 2 (AOA-2).....	5
1.5.4 Syndrome de Nijmegen (NBS).....	5
2. Diagnostic de l'ataxie télangiectasie.....	7
2.1. Diagnostic clinique.....	7
2.2 Diagnostic immunologique	7
2.3 Diagnostic génétique.....	8
2.4 Diagnostic différentiel	9
3. Physiologie et physiopathologie.....	10
3.1 ATM, du gène à la protéine	10
3.2 La voie de signalisation d'ATM	10
3.3 Physiologie du cervelet et neurodégénérescence dans l'ataxie télangiectasie.....	12
3.3.1 Physiologie du cervelet	12

3.3.2 La neurodégénérescence dans l'ataxie télangiectasie.....	13
3.4 Lymphopoïèse et immunodéficience	14
3.4.1 Lymphopoïèse.....	14
3.4.2 Immunodéficience dans l'ataxie télangiectasie	15
4. Ataxie télangiectasie et cancer	17
5. Prise en charge.....	17
5.1 Approches thérapeutiques.....	18
II Matériel et méthodes	19
1. Matériel.....	19
1.1 Matériel biologique	19
1.2 Matériel non biologique	19
2. Méthodes	20
2.1 Prélèvements	20
2.2 Dosage pondéral des immunoglobulines IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA et IgM par immunonéphélométrie laser.....	21
2.2.1 Principe de l'immunonéphélométrie laser	21
2.3 Dosage sérique des IgE et de l'alpha-fœtoprotéine par technique de Chimiluminescence.....	21
2.3.1 Principe de chimiluminescence	21
2.3.2 Mode opératoire	22
2.4 Immunophénotypage lymphocytaire par cytométrie en flux.....	22
2.4.1 Mode opératoire	24
2.4.2 La cytométrie en flux (CMF).....	24
2.4.2.1 Définition et principe	25

2.4.2.2 Les composants d'un cytomètre en flux.....	27
2.4 Analyse statistique	28
III Résultats et discussion.....	28
1. Répartition des patients	28
1.1 Répartition des patients selon le sexe	29
1.2 Répartition des patients selon l'âge	29
2. Analyse des caractéristiques cliniques.....	30
3. Analyse des caractéristiques immunitaires	34
3.1 Les immunoglobulines.....	36
3.2 L'alphafoeto-protéine (AFP).....	37
3.3 Numération des cellules lymphocytaires	38
Conclusion et perspectives.....	42

Glossaire

Ataxie : c'est une pathologie neuromusculaire qui consiste en un manque de coordination fine des mouvements volontaires. Elle est liée à une atteinte du système nerveux.

Les télangiectasies : désignent différentes formes de dilatation de petits vaisseaux sanguins situés près de la surface de la peau, des muqueuses ou du blanc de l'œil, quand cette « dilatation vasculaire » est anormale par sa taille (0,5 à 1 millimètre de diamètre) et sa permanence.

Apraxie oculomotrice : c'est une incoordination entre les mouvements oculaires et céphaliques. Elle peut être congénitale ou acquise.

Syndrome dysmorphique : c'est une maladie mentale caractérisée par des préoccupations persistantes et intrusives concernant un défaut imaginaire ou mineur de l'apparence physique.

Microcéphalie : La notion de microcéphalie désigne toutes les formes de croissance anormalement faible de la boîte crânienne et du cerveau. Elle se manifeste par des mesures crâniennes : périmètre et diamètre de la tête, inférieurs à la normale. Ce trouble peut être congénital ou apparaître dans les premières années de la vie.

Dysarthrie : est un trouble de l'articulation de la parole, d'origine centrale et périphérique (nerfs crâniens). C'est le système nerveux qui est lésé.

Hyperviscosité : Le syndrome d'hyperviscosité est un syndrome clinique dû à une augmentation de la viscosité sanguine entraînant une résistance à l'écoulement du flux sanguin dans les vaisseaux.

Dystrophie : désigne toute altération cellulaire ou tissulaire acquise, liée à un "trouble nutritionnel" (vasculaire, hormonal, nerveux, métabolique). Elle correspond à des phénomènes d'adaptation cellulaire, et les transformations de la structure cellulaire correspondent à l'ajustement de son activité en fonction des modifications durables que lui impose son environnement.

L'alpha-foetoprotéine (AFP) : est une glycoprotéine fœtale qui n'est normalement produite que par le fœtus au cours de son développement. Elle est associée à certains néoplasmes malins et à des anomalies fœtales au cours de la croissance et de la différenciation ontogénique. Pendant la grossesse, l'AFP joue un rôle dans le développement de l'embryon et du fœtus et a été utilisé comme biomarqueur dans les troubles fœtaux, prénataux et pédiatriques tels que l'ataxie télangiectasie.

Hypomimie faciale : c'est la réduction de l'expressivité du visage. Ce symptôme est principalement causé par des lésions du système nerveux pyramidal (maladie de Parkinson) ou par des problèmes de dépression.

Thalamotomie : Intervention chirurgicale consistant à supprimer certaines connexions du thalamus (noyau volumineux de la base du cerveau servant de relais des voies sensibles sensorielles vers le cortex (partie superficielle) du cerveau), parfois même une partie du thalamus lui-même.

Alopécie : désigne l'accélération de la chute des cheveux ou des poils. On parle généralement d'alopécie lorsque la perte de cheveux dépasse 100 cheveux par jour sur une longue période.

La liste des abréviations

A-T : Ataxie Téléangiectasie

Ig : Immunoglobuline

ATM : Ataxie téléangiectasie muté

CDB : Cassure double brins

ATLD : Ataxia Telangiectasia like Disorder

AFP : Alpha-fœtoprotéine

AOA1 : Ataxie-Apraxie Oculomotrice type 1

AOA2 : Ataxie-Apraxie Oculomotrice type 2

NBS: Nijmegen breakage syndrome

MDC1 : Médiateur du point de contrôle des dommages de l'ADN 1

SNC : Système nerveux central

TCR : T Cell Receptor

BCR : B Cell Receptor

CD : Cluster de différenciation

LB : Lymphocyte B

LT : Lymphocyte T

ALL : Leucémie lymphocytaire aigue

T-PLL: Leucémie prolymphocytaire à lymphocyte T

FITC : Isothiocyanate de fluorescéine

PE : Phycoérythrine

PE-Cy 7 : Phycoérythrine-Cyanine7

PBS : Phosphate Buffered Saline

FSC : Forward scatter

SSC : Side scatter

PMT : Photomultiplicateurs

FCS : Flow cytometry standard

DDB : Dilatation des bronches

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie

RTE : Recent timing emergent

ROS : Reactive Oxygen Species

T $\gamma\delta$: Lymphocyte T de type gamma-delta

HO : Hème oxygénase

BRCA1 : breast cancer 1

CHK1 : Checkpoint kinase 1

NBS1 : Nijmegen breakage syndrome 1

MRE11 : Meiotic recombination 11

BD : Becton Dickinson

La liste des figures

Figure 1 : La localisation du gène ATM.....	10
Figure 2 : La voie de signalisation MRN-ATM.....	11
Figure 3 : Les niveaux d'expression de la protéine ATM dans les différents tissus	12
Figure 4 : Schéma des éléments cellulaires du cortex cérébelleux	13
Figure 5 : Les stades du développement des cellules B.....	15
Figure 6 : Les stades du développement des cellules T	15
Figure 7 : Le rôle de l'ATM dans la recombinaison de commutation de classes	16
Figure 8 : Les étapes de la récupération du sérum.....	20
Figure 9 : Les longueurs d'ondes d'excitation/émission des fluorochromes utilisés dans le marquage par cytométrie en flux.....	24
Figure 10 : Principe simplifié d'un cytomètre en flux	25
Figure 11 : La focalisation hydrodynamique.....	25
Figure 12 : Le système optique et électronique d'un cytomètre en flux	26
Figure 13 : La répartition des patients selon le sexe	28
Figure 14 : La répartition des patients selon l'âge.....	29
Figure 15 : La répartition des manifestations cliniques selon le nombre d'apparition.....	32
Figure 16 : Les moyennes des déficiences en immunoglobulines (IgG, IgA et IgE) et leur écart type.....	37

La liste des tableaux

Tableau 1 : Les gènes impliqués dans l'Ataxie télangiectasie et ses variantes.....	6
Tableau 2 : Les différents anticorps marqués aux fluorochromes / Clusters de différenciation utilisés.....	23
Tableau 3 : Les caractéristiques cliniques des 19 patients atteints d'Ataxie télangiectasie...	33
Tableau 4 : Les rapports CD4/CD8 évalués par cytomètre en flux.....	38
Tableau 5 : Les taux des immunoglobulines et de l'alphafoeto-protéine des 19 patients atteints d'ataxie télangiectasie	
Tableau 6 : La numération des cellules lymphocytaires évaluées par cytomètre en flux chez les 19 patients	
Tableau 7 : La numération des cellules lymphocytaires évaluées par cytomètre en flux chez quatre patients	
Tableau 8 : Les normes des cellules lymphocytes	

INTRODUCTION

À ce jour, plus de 150 types différents de déficits immunitaires primitifs ou héréditaires ont été identifiés. Théoriquement, tout composant important pour la fonction immunitaire peut induire une forme de déficit immunitaire lorsqu'il est défectueux. Les déficits immunitaires primitifs (DIP) ont aidé les immunologistes à apprécier l'importance d'évènements cellulaires ou de protéines nécessaires aux fonctions immunitaires. La plupart de ces désordres sont monogéniques et sont extrêmement rares (**Owen *et al.*, 2013**). L'ataxie téléangiectasie (A-T) fait partie des déficits immunitaires primitifs qui peuvent être globalement classés comme touchant soit l'immunité innée soit l'immunité adaptative ou les deux ensembles (**Owen *et al.*, 2013**).

L'ataxie téléangiectasie est une maladie qui se transmet sur un mode autosomal récessif, complexe, multi-systémique provoquée par des mutations du gène ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated) (**Perlman *et al.*, 2003**).

L'A-T est caractérisée par un trouble neuro-dégénératif progressif. Cette maladie se manifeste par une triade clinique progressive et cumulative : L'ataxie cérébelleuse est le premier signe clinique qui apparaît. Elle est suivie par des téléangiectasies oculaires bilatérales, limitées au tissu conjonctif bulbaire et apparaissent généralement vers l'âge de 4-5 ans. Le déficit immunitaire se manifeste par des infections à répétition qui apparaissent généralement entre 3 et 6 ans. Une fois que la triade soit complète, elle permet de poser le diagnostic de l'ataxie téléangiectasie (**Jeddane, 2013**).

L'objectif de notre étude est de déterminer l'aspect clinique et immunologique de l'ataxie téléangiectasie chez 19 patients, recrutés au sein du CHU ISSAAD Hassani Beni Messous, afin de poser un diagnostic qui oriente vers une approche thérapeutique précise.

Le présent travail est subdivisé en trois chapitres. Le premier consiste en un rappel bibliographique sur l'ataxie téléangiectasie. Le second chapitre résume le matériel et les méthodes par lesquels nous avons procédé. Ensuite, l'analyse et la discussion des résultats sont abordées dans le troisième chapitre. Enfin, ce mémoire est clôturé par une conclusion et des perspectives qui pourront être appliquées dans de futures études.

I. Bibliographie

1. Généralités sur l'Ataxie télangiectasie

1.1. Rappel historique

Bien que la maladie d'Ataxie télangiectasie (A-T) a été décrite pour la première fois en 1926 par Syllaba & Henner, l'appellation du syndrome de Louis Bar ne fut mentionnée qu'en 1941, lorsque Madame Louis Bar, neurologue Belge, a rapporté un cas d'ataxie cérébelleuse progressive et de télangiectasies oculo-cutanées étendues chez un enfant de 9 ans (**Smith *et al.*, 1985**). Enfin le nom "Ataxie-télangiectasie", a été inventé par Elena Boder et Robert Sedgwick dans la première description complète de la maladie publiée en 1958 (**Boder et Sedgwick, 1958 ; Shiloh *et al.*, 2017**).

En 1961, Thieffry et ses associés ont décrit un défaut immunologique spécifique; une absence d'IgA sérique et une déficience à médiation cellulaire due à une aplasie thymique (**Cunningham-Rundles *et al.*, 2001**). Boder et Sedgwick, dans une revue de 101 cas (1963), ont suggéré l'association d'A-T avec la malignité. Depuis lors, de nouvelles techniques de diagnostic ont élargi la connaissance de ce syndrome et de sa relation avec l'immunologie clinique (**Smith *et al.*, 1985**).

1.2. Définition

L'ataxie-télangiectasie ou syndrome de Louis-Bar, est une maladie neurodégénérative autosomique récessive rare (**Jacquemin *et al.*, 2012**). Elle est provoquée par la mutation du gène ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated), altérant le cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et l'apoptose (**Ruiz-Botero *et al.*, 2017**). Ce syndrome est caractérisé par un dysfonctionnement neurologique progressif, avec atteinte multi-systémique et prédisposition aux cancers (**Teive *et al.*, 2018**). Les caractéristiques de cette maladie comprennent une ataxie cérébelleuse, une apraxie oculomotrice, des télangiectasies oculo-cutanées (**Annexe 1**) (**Syllaba *et al.*, 1926 ; Boder *et al.*, 1958**), une élévation du taux sérique d'alpha-fœtoprotéine (**voir glossaire**) et des translocations acquises des chromosomes 7 et 14 dans le caryotype lymphocytaire ce qui explique le déficit immunitaire (**Jacquemin *et al.*, 2012**).

1.3. Epidémiologie

À l'exception des populations consanguines, tous les individus sont affectés à parts égales par l'A-T. À l'échelle mondiale, la prévalence est estimée à $<1-9 / 100\ 000$, cependant des incidences aussi élevées que 1 sur 40 000 et aussi faibles qu'environ 1 sur 300 000 aient été rapportées (**Rothblum-Oviatt et al., 2016**).

L'A-T survient chez 1 des 88 000 naissances vivantes aux États-Unis avec apparition de symptômes dans la petite enfance, en particulier entre 2 et 5 ans (**Teive et al., 2015**). En Europe, son incidence est de l'ordre de 1/150 000. Cette valeur est cohérente avec le nombre de diagnostics moléculaires positifs réalisés en France annuellement : 8 à 10 (pour 800 000 naissances) (**Stoppa-Lyonnet et al., 2009**). En Algérie, aucune étude épidémiologique n'a été rapportée jusqu'à présent.

1.4. Étiologie

L'A-T est causée par des mutations bi-alléliques dans le gène ATM (**figure 1**) sur le chromosome 11q22.3 (**Teive et al., 2018**). Ce gène dont l'expression est ubiquitaire, code pour une protéine kinase jouant un rôle clé dans le contrôle de la réparation des cassures double-brin (CDB) de l'ADN, notamment dans les cellules cérébelleuses de Purkinje (**figure 4**) et dans les cellules endothéliales (cérébrales, cutanées et conjonctivales) (**Stoppa-Lyonnet et al., 2016**).

La majorité des patients A-T sont hétérozygotes composés (héritent des mutations différentes de chaque parent) et chez lesquels, les mutations du gène ATM, dépassent l'ordre de 400 (**Chun et al., 2004**) entraînant le plus souvent une perte complète de la protéine (**Uziel et al., 1996**). Environ 85% de ces mutations sont de type non-sens (codon STOP prématuré) ou d'épissage induisant des décalages de cadres de lectures (**Chun et al., 2004**). Une mutation du gène, selon sa localisation, pourrait affecter plus ou moins une fonction ou une autre de la protéine ATM. Cela expliquerait la variabilité de la sévérité des atteintes neurologiques, immunitaires et pulmonaires d'un sujet à l'autre (**Bott et al., 2006**).

1.5 Les variantes de l'Ataxie télangiectasie

1.5.1 L'Ataxie-télangiectasie like-disorder (ATLD)

Etant plus rare que l'A-T, l'ATLD est une variante provoquée par la mutation du gène MRE11 (**Tableau 1**) dont le produit intervient aussi dans la réparation des cassures doubles brins (CDB) (**"Ataxie-Télangiectasie chez l'enfant guide de diagnostic et soin," 2015**).

Les patients atteints présentent des signes neurologiques, une instabilité chromosomique et des réarrangements spécifiques au niveau lymphocytaire similaires à ceux de l'A-T. En revanche, ces patients ne présentent ni de télangiectasies ni de déficits immunitaires, avec des taux d'immunoglobulines sérique et d'AFP normaux (**Stoppa-Lyonnet et al., 2009**). Cette variante possède une symptomatologie similaire à celle de l'A-T classique mais dont la progression semble plus lente avec une prédominance de l'ataxie (**"Ataxie-Télangiectasie chez l'enfant guide de diagnostic et soin," 2015**).

1.5.2 L'ataxie avec apraxie oculomotrice type 1 (AOA-1)

L'AOA-1 est provoquée par des mutations du gène APTX (**Tableau 1**). Comme l'A-T, cette maladie se développe généralement dans l'enfance et provoque les mêmes problèmes moteurs et visuels (**Stoppa-Lyonnet et al., 2009**). Cependant, il n'y a pas, en général, de problèmes immunologiques associés et les télangiectasies se développent rarement (**Taylor et al., 2004**).

1.5.3 L'Ataxie avec apraxie Oculomotrice type 2 (AOA-2)

L'AOA-2 présente une gamme de symptômes similaires à ceux de l'AOA-1 (problèmes moteurs, absence de déficit immunitaire et de rares télangiectasies). Cependant, cette maladie tend à se développer plus tard, typiquement à la fin de l'adolescence. Elle résulte de mutations du gène SETX (**Tableau 1**) et semble être un peu plus fréquente qu'AOA1 (**"Ataxie-Télangiectasie chez l'enfant guide de diagnostic et soin," 2015**).

1.5.4 Syndrome de Nijmegen (NBS)

Le NBS est une pathologie symptomatologiquement exceptionnelle, due à une mutation du gène NBS1 (**Tableau 1**). Elle est caractérisée par un syndrome dysmorphique avec microcéphalie et visage en tête d'oiseau, un retard de croissance, un déficit immunitaire clinique et biologique analogue à celui de l'A-T, un risque important d'hémopathies et de développement tumoral (**Chrzanowska et al., 2012**).

Tableau 1 : Les gènes impliqués dans l'Ataxie télangiectasie et ses variantes (**Original**)

Gène	Localisation du gène et de la protéine	Protéine	Fonction	Absence de la protéine
ATM (Bott et al., 2006)	11q22.3 Nucléaire dans les lymphocytes/ fibroblastes. Intra-cytoplasmique dans les cellules de Purkinje et les cellules endothéliales.	ATM	Régulation du cycle cellulaire, maintien de la stabilité du génome. Transduction de messages de cyto-protection contre les agressions extérieures.	Diminution des thymocytes et des pré-B/Excès d'apoptose des fibroblastes. Neurodégénérescence / Anomalies vasculaires cérébrales, télangiectasies oculocutanées
MRE11 (by www.proteinatlas.org) (Buis et al., 2008)	11q21	MRE11	Recombinaison homologue, maintien de la longueur des télomères et la réparation de la rupture de l'ADN double brin.	Instabilité génomique
APTX (Chabrol et al., 2010)	9p21.1	Aprataxine	Réparation des cassures simples brin / doubles brins et réparation d'excision de bases	Apoptose des neurones du cervelet par accumulation des lésions oxydatives
SETX (chabrol et al., 2010)	9q 34.13	Sénataxine	Régulation de la transcription et de l'épissage	Instabilité génomique
NBS1 (McKinnon et al., 2006)	8q21.3	Nibrine	Réparation des cassures doubles brin d'ADN	Déficiences des cellules lymphocytaires

2. Diagnostic de l'ataxie télangiectasie

Un diagnostic d'A-T repose globalement sur les données cliniques, immunologiques et génétiques (Cabana *et al.*, 1998).

2.1 Diagnostic clinique

L'A-T est caractérisée par une triade clinique progressive et cumulative : une ataxie cérébelleuse progressive, des infections à répétition et des télangiectasies oculo-cutanées (Jeddane *et al.*, 2013). Le diagnostic d'A-T est plus évident lorsque les résultats cliniques de l'ataxie et des télangiectasies oculo-cutanées sont présents (Cabana *et al.*, 1998). Cependant, le diagnostic peut être posé plus tôt, avant l'apparition de télangiectasies, si une confirmation préalable ait été obtenue par certains tests de laboratoire (exemple : Dosage des immunoglobulines) (Jason *et al.*, 1979). Ceci servira à l'établissement de conseil génétique, des soins médicaux appropriés, et à éviter les tests inutiles et coûteux (Cabana *et al.*, 1998).

Une ataxie de la marche survient au cours des deux ou trois premières années de la vie d'un patient, tandis que les signes oculomoteurs et la dysarthrie apparaissent dès le début de l'année scolaire. Par la suite, divers troubles du mouvement, aggravation de l'ataxie des membres, hypomimie faciale (faciès masqué), incoordination de la déglutition, neuropathie périphérique et télangiectasie oculaire complètent le phénotype distinctif (Cabana *et al.*, 1998).

En revanche, chez les jeunes enfants, le diagnostic peut être décelé et à confondre avec une légère paralysie cérébrale, une ataxie aigue infectieuse ou épisodique, une ataxie avec malignité oculomotrice, ou même, d'autres troubles génétiques ou mitochondriaux rares (Perlman *et al.*, 2003).

2.2 Diagnostic immunologique

Deux tests de routine sont disponibles afin de soutenir un diagnostic immunologique d'A-T chez un jeune enfant : le dosage sérique de l'alpha-fœtoprotéine (AFP) et l'immunophénotypage des lymphocytes (Jason *et al.*, 1979). L'AFP est élevée chez 95% des patients A-T (Chun *et al.*, 2003). Les résultats faussement positifs sont rares. Cependant, les taux de cette protéine ne commencent à diminuer qu'après 32 semaines de gestation (Adigun *et al.*, 2017).

Les diminutions des taux de lymphocytes T et B, la surexpression de cellules T à TCR $\gamma\delta$ et le déficit en immunoglobulines sériques (IgA, IgE, IgG2 et IgG4) sont caractéristiques de l'ataxie télangiectasie. Aucun de ces paramètres ne change avec la progression de cette maladie (Marx *et al.*, 1998). En revanche, les taux sériques d'IgM sont très variables et peuvent changer pendant la progression de la maladie et parfois atteindre des niveaux nécessitant un traitement de l'hyperviscosité (Marx *et al.*, 1998).

2.3 Diagnostic génétique

La mise en évidence du gène ATM a amélioré le diagnostic de l'ataxie télangiectasie. Du fait de sa grande taille, les mutations pathogènes de l'ATM sont uniques, ce qui rend l'évaluation génétique de chaque patient hautement laborieuse et le diagnostic génétique plus spécifique que sensible (Cabana *et al.*, 1998).

L'analyse Western blot permet d'évaluer l'expression de la protéine ATM, sa relation avec la radiosensibilité et la manifestation clinique de l'A-T (Cabana *et al.*, 1998 ; Becker-Catania *et al.*, 2000).

La présence des mutations faux-sens permet la production soit d'une quantité réduite de protéine ATM active, soit d'une protéine mutante manifestant une activité kinase. Dans ce cas, les patients sont susceptibles de présenter un phénotype atténué, avec des symptômes qui se développent plus lentement (Stoppa-Lyonnet *et al.*, 2016).

Les mutations sont détectées principalement par haplotypage qui détermine la combinaison spécifique de polymorphismes (variants de séquence) le long d'un chromosome. Selon Perlman *et al* (2003), l'haplotypage se base sur la détermination des haplotypes dans la région ATM, par le biais de marqueurs microsatellites, dont les allèles sont standardisés de sorte que les haplotypes peuvent être comparés à une base de données mondiale d'haplotypes affectés provenant de 600 patients A-T (Mitui *et al.*, 2003). Si un haplotype affecté est reconnu, la mutation associée est rapidement vérifiée par séquençage direct de l'ADN (Perlman *et al.*, 2003). L'augmentation de la fréquence des ruptures chromosomiques spontanées et induites par l'irradiation X est également associée au diagnostic d'A-T (Taylor *et al.*, 1975 ; Heppell *et al.*, 1988).

2.4 Diagnostic différentiel

D'une manière générale, l'ataxie télangiectasie, l'ATLD et le syndrome de Nijmegen (NBS) partagent des caractéristiques communes : l'instabilité chromosomique, l'immunodéficience et la prédisposition aux malignités (**Van et al., 1996 ; Digweed et al., 2004**).

D'un point de vue clinique, le NBS diffère de l'A-T par l'absence de neurodégénérescence (**Digweed et al., 2004 ; Taylor et al., 2004**), un visage ressemblant à un oiseau, une petite taille, un retard de croissance et une microcéphalie progressive sévère affectant largement le cerveau au cours du premier mois de la vie (**Bekiesinska-Figatowska et al., 2000 ; Digweed et al., 2004**).

Les caractéristiques cliniques de l'ATLD sont similaires à celles de l'A-T, bien qu'un patient avec ATLD n'a pas de télangiectasies et a un phénotype d'ataxie plus tardif avec une progression plus lente de la neurodégénérescence (**Taylor et al., 2004**). Par ailleurs, sur le plan immunologique, les individus avec NBS présentent une sévère immunodéficience humorale et cellulaire (**Digweed et al., 2004**) comme dans l'A-T (une agammaglobulinémie ou des déficiences variables en IgA, IgG2 et IgG4 et une lymphopénie légère à modérée) (**Frappart et al., 2006**). Ainsi les patients avec NBS sont sensibles aux infections des voies respiratoires et également à risque de développer des tumeurs malignes lymphoïdes T et B (**Digweed et al., 2004**).

Une déficience immunitaire mineure est présente dans l'ATLD, mais beaucoup moins frappante que celle de l'A-T et du NBS (**Taylor et al., 2004**). Les lymphocytes T des patients avec ATLD, comme ceux des patients A-T, montrent un niveau accru de translocations des chromosomes 7 et 14 impliquant des gènes du système immunitaire, mais aucune prédisposition au cancer n'a été signalée (**Frappart et al., 2006**). De même, le diagnostic différentiel peut inclure l'AOA1 et l'AOA2, qui sont également associées à une légère élévation de l'AFP (**Jacquemin et al., 2012**), mais avec une immunodéficience moins sévère et des télangiectasies encore plus rares que dans l'ATLD (**Stoppa-Lyonnet et al., 2016**).

Le diagnostic différentiel entre ces différents syndromes repose essentiellement sur les examens cytogénétiques et sur l'analyse western blot d'extraits protéiques cellulaires avec des anticorps spécifiques (**Taylor et al., 2005**).

3. Physiologie et physiopathologie

3.1 ATM, du gène à la protéine

Le gène ATM (**Figure 1**) s'étend sur environ 150kb d'ADN génomique sur le locus 11q22.3. Il contient 66 exons et produit un transcrit épissé de 13kb (**Mckinnon *et al.*, 2004**).

chr11 (q22.3)

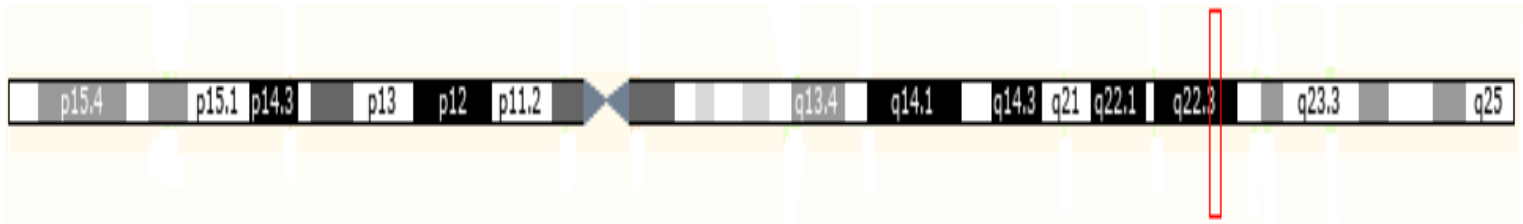


Figure 1 : Localisation du gène ATM (by www.archive.ensembl.org)

La protéine ATM possède 3056 acides aminés pour un poids de 350 kDa, c'est une **sérine-thréonine kinase** qui subit une autophosphorylation suite à une lésion de l'ADN pour initier ensuite une cascade de signalisation impliquant la phosphorylation de plusieurs substrats. La réponse à l'altération de l'ADN semble être la fonction principale, sinon définitive, de cette kinase (**Mckinnon *et al.*, 2004**).

3.2 La voie de signalisation d'ATM

L'ATM joue un rôle clé dans la surveillance de l'intégrité du génome (**Tanaka *et al.*, 2006**). En réponse à l'induction des cassures double brin de l'ADN (CDB), ATM phosphoryle divers substrats qui contrôlent l'apoptose, la réparation de l'ADN et la régulation du cycle cellulaire. Collectivement, ces substrats servent à médier la réponse cellulaire aux ADN-CDB (**Frappart *et al.*, 2008**). Cependant, la signalisation ATM est spécifique aux tissus (**Figure 3**), et les nombreux substrats reflètent cela (**Mckinnon *et al.*, 2012**).

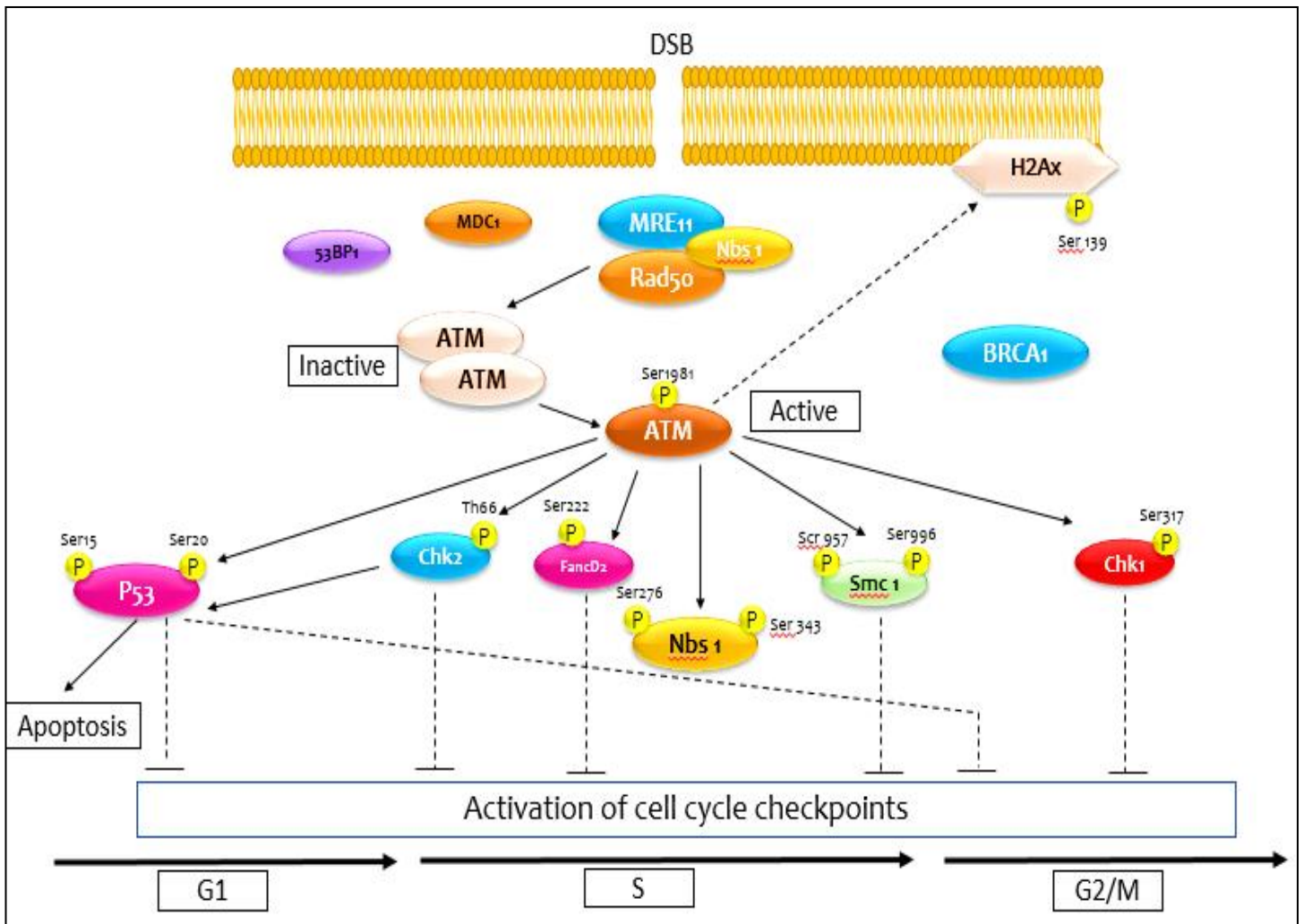


Figure 2 : La voie de signalisation MRN-ATM (Frappart *et al.*, 2006).

L'activation de l'ATM après une cassure double brins d'ADN dépend du complexe MRN (MRE11, RAD50 et NBS1) (Morales *et al.*, 2005). Les effecteurs clés de la réponse CDB dépendant de l'ATM incluent l'histone H2AX, 53BP1, le médiateur du point de contrôle des dommages 1 (MDC1) et le BRCA1 (Ward *et al.*, 2004). Après endommagement de l'ADN, ces facteurs se mobilisent rapidement sur les sites endommagés, initient et participent à une cascade de signalisation ATM-dépendante qui conduit à la résolution de la rupture de l'ADN, ou de mort cellulaire après des dommages excessifs à l'ADN (Van *et al.*, 2003).

De nombreux substrats ATM sont des régulateurs du cycle cellulaire qui ont des fonctions de point de contrôle essentielles dans la réponse cellulaire aux dommages à l'ADN et comprennent p53, BRCA1 et la kinase de point de contrôle CHK2 (Figure 2). Par exemple, p53 est nécessaire pour le point de contrôle G1 et CHK2 pour G2, alors que les protéines telles que BRCA1 influencent le point de contrôle de la phase S (Mckinnon *et al.*, 2004).

Ainsi, en activant l'arrêt du cycle cellulaire ou l'apoptose, l'ATM maintient l'intégrité du génome, ce qui contribue à la prévention du spectre des défauts observés dans l'A-T (Mckinnon *et al.*, 2012). Cependant, l'inactivation de la protéine kinase ATM serait à l'origine de ce syndrome (Frappart *et al.*, 2006).

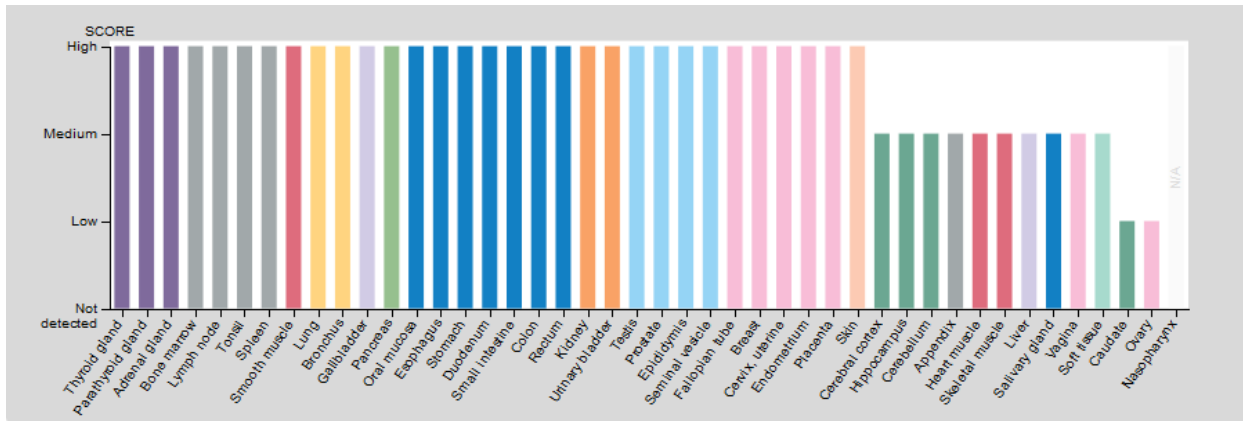


Figure 3 : Niveaux d'expression de la protéine ATM dans les différents tissus (D'après www.proteinatlas.org).

La figure ci-dessus montre clairement que la protéine kinase ATM est exprimée avec des niveaux variés, dans différents organes, notamment les poumons, la moelle osseuse, les ganglions lymphatiques, le cortex cérébelleux ainsi que la peau et les muqueuses. Ce qui confirme l'implication de cette protéine dans la physiopathologie de l'A-T.

3.3 Physiologie du cervelet et neurodégénérescence dans l'ataxie télangiectasie

3.3.1 Physiologie du cervelet

Le cervelet joue un rôle essentiel dans le contrôle moteur, notamment pour le maintien de l'équilibre et de la posture, le contrôle du tonus musculaire et la coordination de la motricité volontaire. Il communique avec l'ensemble du système nerveux, en récupérant et traitant les informations provenant des différentes parties du cerveau, ainsi que de la moelle épinière (PasseportSanté, 2014). Il est composé de :

- Un cortex cérébelleux : enveloppe grise entourant le cervelet et contenant les cellules de Purkinje et les cellules granulaires (**Figure 4**).
- Une substance interne blanche, contenant des fibres nerveuses myélinisées, aussi bien afférentes, provenant notamment de la moelle épinière, du tronc cérébral ou du cerveau, qu'efférentes, provenant des cellules de Purkinje.
- Trois paires de noyaux (**PasseportSanté, 2014**).

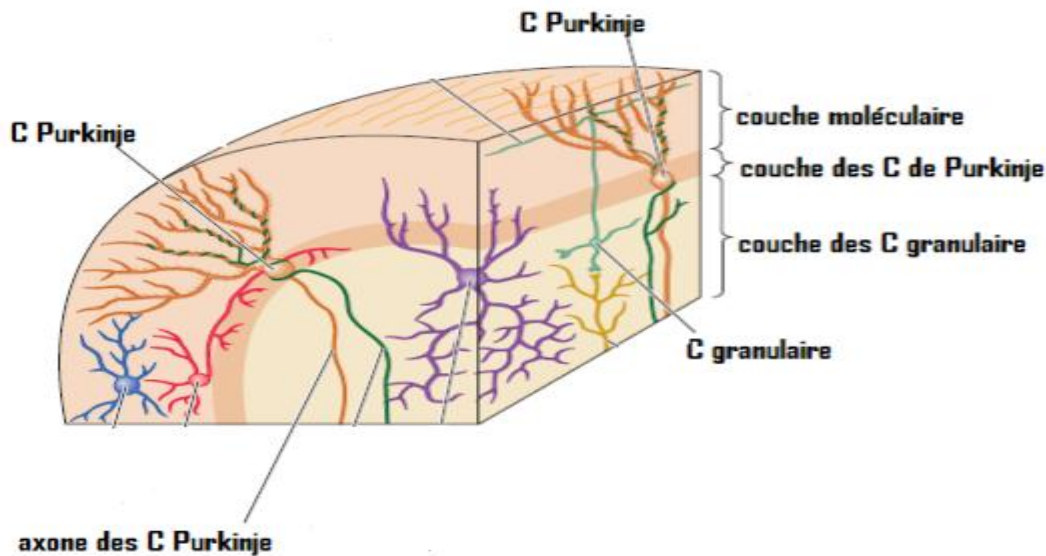


Figure 4 : Schéma des éléments cellulaires du cortex cérébelleux (Benmezroua, 2013).

3.3.2 La neurodégénérescence dans l'ataxie télangiectasie

L'A-T est caractérisée principalement par une dégénérescence cérébelleuse qui se manifeste par des changements dystrophiques impliquant les dendrites et les axones des cellules de Purkinje (Mckinnon *et al.*, 2012). Il a été démontré que le rôle d'ATM dans la réparation de l'ADN est à la base de la neurodégénérescence (Jeddane, 2013).

Dans cette maladie, les cellules de Purkinje (neurones qui transmettent l'information jusqu'aux noyaux cérébelleux) ont des arborisations moins complexes et sont souvent localisées ectopiquement dans la couche moléculaire du cervelet (Gatti *et al.*, 1985). Leur localisation anormale suggère un défaut de développement précoce (Goldowitz *et al.*, 1998). Par ailleurs, la perte de cellules granulaires est également très étendue et est une raison sous-jacente importante de l'atrophie cérébelleuse (Paula-Barbosa *et al.*, 1983).

La protéine ATM aurait un rôle dans la régulation du système des Hèmes oxygénases (HO) 1 et 2 cytoplasmiques. Le système des HO est à l'origine de la synthèse d'agents antioxydants luttant contre le stress oxydatif et la neurodégénération (Barlow *et al.*, 1999). Par ailleurs, ATM serait un transducteur du message de survie cellulaire médié par les récepteurs IGF (Insulin growth factor). Une anomalie de la protéine ATM entraîne un défaut de réponse cellulaire à l'IGF et une insulino-résistance. L'IGF-1 serait un messager au sein des neurones qui pourrait ralentir la dégénérescence neuronale (Gatei *et al.*, 2000).

L'atrophie du cervelet est une caractéristique clé de l'A-T et est évidente sur l'imagerie par résonance magnétique et l'imagerie par tomographie par ordinateur (Farina *et al.*, 1994). La sévérité du phénotype neurologique dans l'A-T peut être influencée par des gènes qui fonctionnent à plusieurs niveaux physiologiques, affectant probablement différentes parties du système nerveux central (Biton *et al.*, 2008).

3.4 Lymphopoïèse et immunodéficiences

3.4.1 Lymphopoïèse

Les lymphocytes B, T et NK proviennent d'une sous population de cellules souches, dérivées de la cellule souche hématopoïétique primitive. La lymphopoïèse est caractérisée par des étapes de différenciation successives. La phase principale de la différenciation lymphoïde se déroule dans la moelle osseuse pour la lignée B (Figure 5), et dans le thymus pour la lignée T (Figure 6). Au sein du microenvironnement de ces organes lymphoïdes centraux, les progéniteurs lymphoïdes subissent un phénomène de différenciation irréversible, caractérisé par les réarrangements des gènes qui codent pour les chaînes des immunoglobulines, ou pour les chaînes du récepteur T, qui sont exprimés au niveau des membranes des lymphocytes B et T. La phase secondaire de la lymphopoïèse a lieu dans les organes lymphoïdes périphériques : les ganglions, la rate, les amygdales, les formations lymphoïdes annexées aux muqueuses. Elle résulte d'un signal activateur induit par l'interaction du récepteur immunoglobulinique pour les lymphocytes B avec l'épitope antigénique ou du TCR avec un peptide dérivé de l'antigène exprimé sur la membrane d'une cellule présentatrice, associé à une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), pour les lymphocytes T. Les lymphocytes B activés subissent une expansion clonale et une différenciation, soit en lymphocytes mémoires, soit en plasmocytes, étape ultime de la différenciation B. Les lymphocytes T activés, après la phase d'expansion, se différencient en lymphocytes T à mémoire, en lymphocytes effecteurs cytotoxiques (CTL), ou sécréteurs de cytokines, permettant la régulation de la réaction immunitaire, l'activation des macrophages et la génération d'une réaction inflammatoire ('Lymphocytes', 2008).

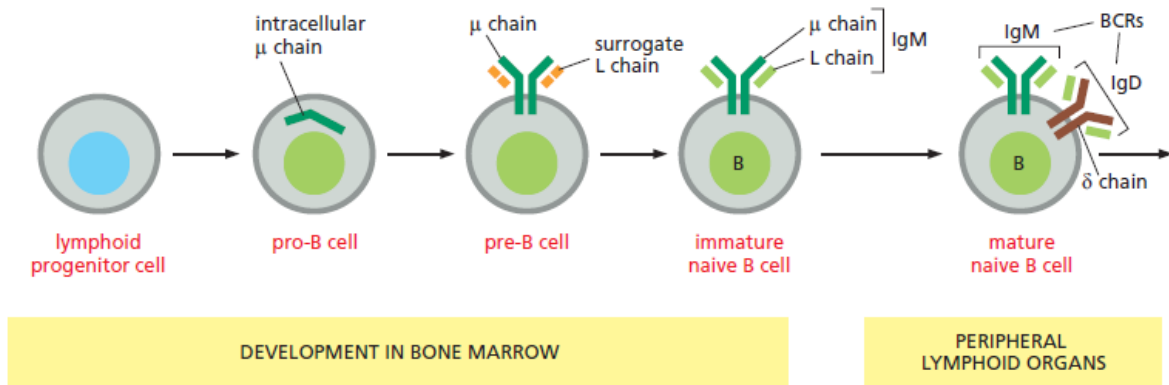


Figure 5 : Les stades du développement des cellules B (Alberts *et al.*, 2015).

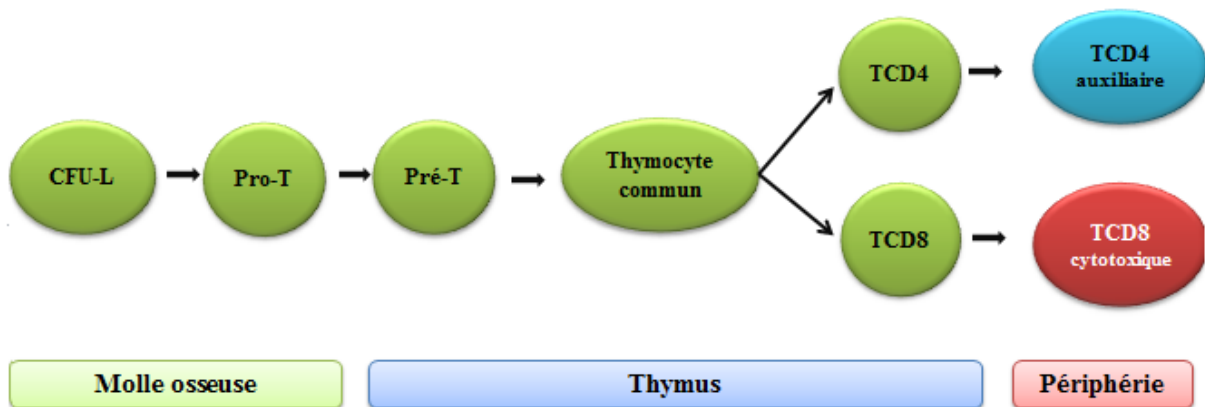


Figure 6 : Les stades du développement des cellules T (Original).

3.4.2 Immunodéficience dans l'ataxie télangiectasie

L'A-T est caractérisée par une immunodéficience très variable, impliquant à la fois une immunité cellulaire et humorale (Voss *et al.*, 2014). Le déficit cellulaire porte sur les lymphocytes CD4 et CD8. Le déficit humoral inclut une réduction des taux d'IgA et d'IgE ainsi que des anomalies dans les sous-classes d'IgG (IgG2 et IgG4) (Bott *et al.*, 2006).

Des études menées sur des souris ont montré que le gène ATM a un rôle-clé dans le maintien de l'expression des TCR et dans la maturation des lymphocytes T (CD4+CD8+) (Lavin, 2008). Par ailleurs, la déficience en ATM affecte la commutation isotypique des immunoglobulines (Figure 7). En effet, le réarrangement pour les régions variables des chaînes lourdes des Immunoglobulines s'effectue pendant la phase G0-G1, dont le blocage est contrôlé par la protéine ATM (Bott *et al.*, 2006).

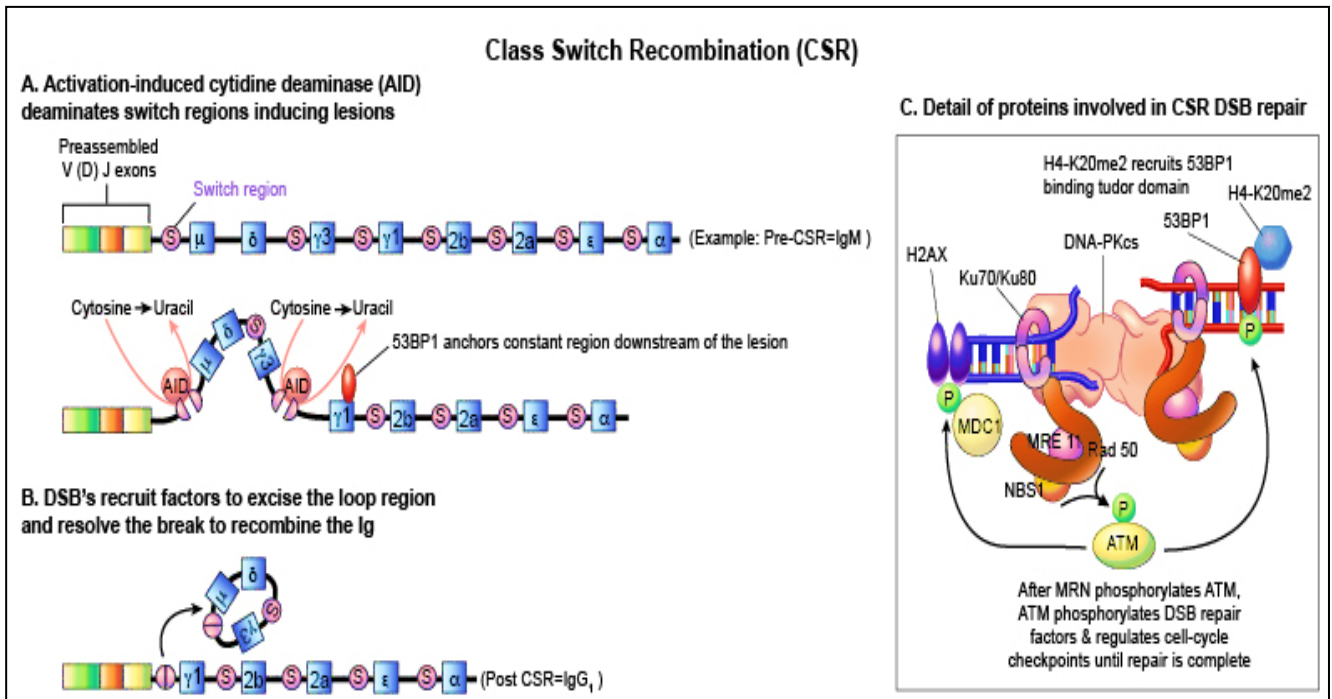


Figure 7 : Rôle de l’ATM dans la recombinaison de commutateur de classe (**Fitzgerald *et al.*, 2009**).

Le développement défectueux du thymus est très caractéristique de l’A-T (**Mcfarlin *et al.*, 1972**). Le thymus est reconnu microscopiquement comme une collection dispersée d’éléments réticulaires thymiques avec une pénurie marquée de thymocytes et l’absence des corpuscules de Hassell et des démarcations cortico-médullaires. Ces anomalies semblent refléter un défaut de développement plutôt qu’une atrophie du thymus (**Peterson *et al.*, 1964**).

Le rapport CD4/CD8 chez les patients A-T est inversé par rapport aux témoins en raison d’une diminution du nombre total de lymphocytes TCD4+. De plus, les patients atteints d’ataxie télangiectasie présentent une augmentation relative des lymphocytes T à TCR γ/δ par rapport à ceux porteurs de TCR α/β (**Lavin *et al.*, 2007**).

4. Ataxie télangiectasie et cancer

Environ 35 % des patients A-T développent au cours de leur vie une lésion tumorale (**Chun et al., 2004 ; Byrd et al., 1996**). Des tumeurs malignes hématopoïétiques lymphoïdes se développent chez 10 à 30% des patients A-T, principalement des lymphomes non hodgkiniens (**Lavin et al., 2007**). Le phénotype du cancer implique généralement des lymphocytes de la lignée B chez les jeunes enfants, soit sous forme de leucémie lymphocytaire aiguë (LAL), soit sous forme de lymphome à cellules B. Chez les adolescents, les lymphomes à lymphocytes T et la leucémie prolymphocytaire à lymphocytes T (T-PLL) surviennent plus fréquemment. Les tumeurs malignes non lymphoïdes sont observées principalement chez les patients A-T plus âgés (**Chun et al., 2004**).

Les patients A-T présentent dans 10 % des cas une expansion T clonale porteuse d'un remaniement unique, translocation chromosomique (14;14), inversion (14), translocation (X;14) (**Stern et al., 1993 ; Virgilio et al., 1993**). Des remaniements additionnels sont contemporains du passage au stade leucémique : inversion (8q), délétion (13q), délétion (22q) (**Stoppa-Lyonnet et al., 2009**). Après l'âge de 20 ans, persiste le risque d'hémopathie et apparaît le risque de carcinome, principalement thyroïdien et mammaire, avec un risque de tumeurs cérébrales (**Stoppa-Lyonnet et al., 2009**).

5. Prise en charge

L'A-T est une maladie invalidante, chronique et grave. L'espérance de vie moyenne des patients est d'une vingtaine d'années (**Stoppa-Lyonnet et al., 2009**). Malgré les résultats révolutionnaires qu'ont apporté les recherches en génétique moléculaire à la compréhension de la physiopathologie de l'A-T, il n'y a, cependant, aucune thérapie neuroprotectrice ou neurorestauratrice efficace (**Perlman et al., 2003**). Par contre, il est possible d'atténuer certains des symptômes associés à l'immunodéficience et aux infections pulmonaires (**Lavin et al., 2007**).

La prise en charge de l'A-T n'est aujourd'hui que symptomatique : kinésithérapie, psychomotricité, psychothérapie, antibiothérapie, perfusion d'immunoglobulines (**Stoppa-Lyonnet et al., 2009**). Les troubles neuro-dégénératifs caractéristiques de l'A-T, peuvent répondre aux dérivés de la L-DOPA, aux agonistes de la dopamine et aux anticholinergiques. Ces derniers agissent sur le dysfonctionnement des ganglions de la bave et font en sorte de minimiser la bave (**Perlman et al., 2003**).

Il existe des thérapies chirurgicales pour le tremblement ; la thalamotomie et la stimulation thalamique ; cette dernière étant mieux tolérée, mais avec un taux de risque potentiellement élevé (**Perlman et al., 2003**). Concernant le déficit immunitaire et les infections récidivantes qui en résultent, une thérapie substitutive d'immunoglobulines est nécessaire (habituellement associées à un taux bas d'IgG) (**'Ataxie-Télangiectasie chez l'enfant guide de diagnostic et soin,' 2015**). Les infections sinopulmonaires répondent généralement bien aux antibiotiques (**Lavin et al., 2007**).

En raison de leur hypersensibilité aux radiations ionisantes, les patients A-T touchés par la malignité doivent être éloignés de la radiothérapie ainsi que de la chimiothérapie (**Lavin et al., 2007**). Enfin, il est possible de minimiser d'autres manifestations cliniques de l'A-T, par l'administration de médicaments, par exemple; la Leucovorine pour réduire la toxicité gastro-intestinale (**Sandlund et al., 2006**).

5.1 Approches thérapeutiques

Le Dr Gerald Berry, a mené la première étude clinique sur l'A-T pour étudier les effets du Myo-inositol sur les fonctions neurologiques et immunitaires, et a abouti à des changements prometteurs dans certaines cellules immunitaires chez certains enfants A-T, mais l'étude n'était pas assez grande pour avoir le pouvoir statistique de tirer des conclusions sur l'efficacité de cette approche (**Yorek et al., 1999**).

Il a été rapporté que la capacité antioxydante est réduite dans le sérum des patients A-T et que les cellules en culture montrent une augmentation du stress oxydatif (**Barzilai et al., 2004**). Le stress oxydatif pourrait alors entraîner des dommages macromoléculaires, l'instabilité du génome, le cancer et la neurodégénérescence. Ainsi, pour traiter l'A-T, il semble que l'utilisation des antioxydants serait très prometteuse (**Lavin et al., 2007**).

La thérapie ciblée repose sur le principe de correction de la fonction du gène ATM par lecture de codon STOP prématuré. **Lai et al (2004)** ont employé des aminoglycosides pour obtenir l'expression de la protéine ATM fonctionnelle. Ces derniers se lient à la boucle interne de l'hélice 44 de la sous-unité ARN ribosomique 16S, le site de décodage, induisant un changement conformationnel local qui compromet l'intégrité de la relecture codon-anticodon et permet la traduction par un codon se terminant autrement (**Lai et al., 2004**).

II. Matériel et méthodes

Cette étude a été effectuée sur une durée de 4 mois (Février – Juin 2018), au sein du CHU ISSAAD Hassani, laboratoire d'immunologie médicale, Beni Messous- Alger. Il s'agit d'une étude rétrospective et prospective, à visée descriptive, portant sur un échantillon de 19 patients atteints d'ataxie téléangiectasie (A-T).

L'objectif de ce travail consiste à déterminer le profil clinique et immunologique chez 19 patients atteints d'un déficit immunitaire primitif de type Ataxie téléangiectasie (syndrome de Louis-Bar).

1. Matériel

1.1 Matériel biologique

Nous avons travaillé sur le sang de 19 patients atteints d'ataxie téléangiectasie provenant de différentes régions algériennes. Les critères d'inclusion des patients reposaient principalement sur la présence d'au moins une des deux manifestations cliniques majeures (une ataxie et/ou des téléangiectasies). De plus, certaines manifestations infectieuses ainsi que d'autres caractéristiques telles que la consanguinité, les antécédents familiaux et les taux élevés d'AFP sérique ont été prises en considération. Les données nécessaires pour chaque sujet ont été recueillies par l'intermédiaire d'une fiche clinique (**Annexe 2**).

1.2 Matériel non biologique

- Tubes EDTA, tubes secs et tubes BD.
- BN Prospec® System (**Annexe 3**).
- Vortex.
- Centrifugeuse.
- Micropipettes.
- L'automate IMMULITE 2000 XPi (**Annexe 4**).
- Cytomètre en flux BD FACSCanto II (**Annexe 5**).
- Les réactifs.

1. Méthodes

Les 19 patients A-T recrutés dans l'unité d'immunologie cellulaire et de cytométrie en flux du laboratoire d'immunologie médicale, ont bénéficié d'un phénotypage lymphocytaire, d'un dosage des immunoglobulines (IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM, IgE) et de l'Alpha-foetoprotéine sérique (AFP).

2.1 Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués par ponction veineuse au niveau du pli du coude. Le sang prélevé a été recueilli dans des tubes contenant l'anticoagulant EDTA (éthylène diamine tétra acétique). Puis 5 ml du sang ont été récupérés dans des tubes BD (Becton Dickinson), afin d'effectuer l'immunophénotypage lymphocytaire.

Pour le dosage des immunoglobulines (IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgM et IgE) et de l'AFP, 50 µl de sérum ont été récupérés dans des tubes secs, après centrifugation du sang total (4500 tours/minute pendant 5 minutes) (**Figure 8**). La fibrine présente dans le sang peut engendrer de faux résultats. Pour cela, il est nécessaire de laisser le sang coaguler (formation du caillot de fibrine) à température ambiante, environ 1 à 2 heures avant la centrifugation des échantillons.

Enfin, la conservation du sérum se fait à 4° C pendant 5 à 7 jours, ou à une température plus basse (-80° C) pour une durée plus longue.

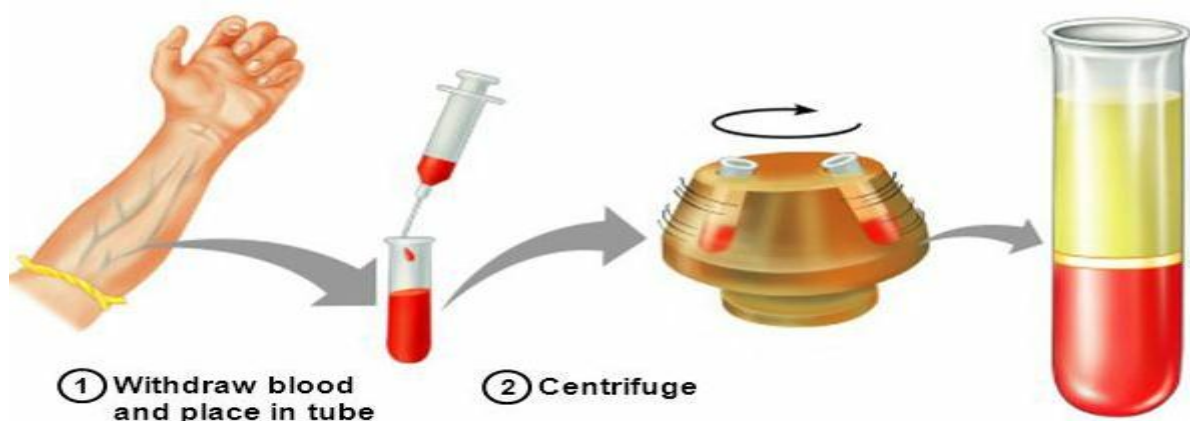


Figure 8 : Les étapes de récupération du sérum

2.2 Dosage pondéral des immunoglobulines IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA et IgM par immunonéphélométrie laser

2.2.1 Principe de l'immunonéphélométrie laser

L'immunonéphélométrie laser est une technique automatisée ayant pour but de doser en particulier les Immunoglobulines. Son principe repose sur la mesure de la lumière dispersée au contact des particules de complexes immuns. Le rayon laser (une diode laser) émet sur la solution indique la quantité de complexes Antigènes-Anticorps (Ag-Ac), car il a la propriété de se diffracter en leur présence. La lumière dispersée est donc recueillie après focalisation sur un photo-détecteur et le signal électrique est directement proportionnel à la quantité des complexes immuns. Les résultats sont directement affichés sur l'écran de l'ordinateur lié à l'automate (BN Prospec System).

2.3 Dosage sérique des IgE et de l'alpha-fœtoprotéine par technique de chimiluminescence

2.3.1 Principe de chimiluminescence

Le test IMMULITE 2000 XPi est un dosage quantitatif, chimiluminescent, immunométrique, enzymatique en phase solide, qui utilise une cinétique en phase liquide sur un format de billes. La phase solide (billes) est revêtue par des anticorps monoclonaux anti-IgE ou anti-AFP humains sériques. Tandis que la phase liquide, comporte de la phosphatase alcaline associée à d'autres anticorps anti-IgE ou anti-AFP humains sériques. Cette enzyme hydrolyse un substrat (ester d'adamentyldioxétane phosphate) en un anion intermédiaire instable. La production continue de cet anion au cours de l'hydrolyse permet une émission prolongée de la lumière. L'intensité lumineuse est donc proportionnelle à la concentration d'IgE ou de l'AFP dans le sérum du patient.

2.3.2 Mode opératoire

Afin d'effectuer le dosage des IgEs ou de l'AFP, il faut changer les paramètres suivants dans l'appareil :

- Les sérums des patients à doser sur : le carrousel d'échantillons.
- La cartouche de billes IgE ou de l'AFP : dans le carrousel des billes.
- La cartouche de réactif IgE ou AFP : dans le carrousel des réactifs (anticorps monoclonaux anti IgE ou anti-AFP humaines sériques marqués à la phosphatase alcaline).

- Dans le godet réactionnel, on retrouve des billes revêtues par des anticorps monoclonaux anti-IgE ou anti-AFP.
- Le sérum du patient contenant la molécule d'intérêt (IgE ou AFP) est ajouté.
- Des anti-IgE ou anti-AFP marqués à la phosphatase alcaline sont ensuite ajoutés.
- Incubation pendant 30 minutes.
- Le conjugué non-lié est éliminé ensuite par lavage utilisant le principe de la centrifugation axiale.
- L'ajout du substrat (ester d'adamentyldioxytane phosphate) dans le godet réactionnel.

2.4 Immunophénotypage lymphocytaire par cytométrie en flux

Nous avons effectué l'immunophénotypage lymphocytaire par CMF dans le but de mettre en évidence:

- Les lymphocytes T(CD3+), T4 (CD4+), T8 (CD8+), B (CD19+) et NK (CD16+/CD56+) par le test TBNK, chez les 19 patients.
- Les lymphocytes Recent timing emergent 'RTE' (CD4+CD45RA+CD31+), LT naïfs et mémoires (CD4+CD45RA+/CD4+CD45RO+, CD8+CD45RA+/CD8+CD45RO+), T actifs (HLA-DR), B non commutés (LBCD19+CD27+IgD+) et B commutés (LBCD19+CD27+IgD-) chez trois patients.
- Les lymphocytes à TCR gamma/delta chez un seul patient.
- Un seul patient a bénéficié du test complémentaire RARO (LT naïfs et mémoires (CD4+CD45RA+/CD4+CD45RO+, CD8+CD45RA+/CD8+CD45RO+)).

2.4.1 Mode opératoire

Afin de réaliser l'immunophénotypage, nous avons effectué le protocole suivant :

- 3ml de la solution de lavage ont été ajoutés au 50 µl du sang total déjà prélevés dans un tube BD.
- Centrifugation (4500 tours/minute) pendant 5 minutes.
- Jet du surnageant.

- 2µl du réactif BD Multitest TBNK (les anti-CD fluorescents ; **Figure 9**) ont été ajoutés.

Les anticorps marqués utilisés et les molécules de surfaces (clusters de différenciation) qui leur sont spécifiques sont résumés dans (**Tableau 2**).

- 15 à 20 minutes d’incubation du mélange à l’abri de la lumière.
- 2ml de la solution de lyse ont été ajoutés.
- Incubation pendant 10mins.
- Centrifugation (4500 tours/minute pendant 5 minutes) puis jet de la solution.
- Enfin, 500ml du PBS (**Phosphate Buffered Saline**) ont été ajoutés à la solution qui sera conservée à l’abri de la lumière jusqu’au moment de la lecture par le cytomètre.

L’analyse par cytométrie en flux a été réalisée à 10000 évènements (cellules/minute).

Tableau 2 : Les différents fluorochromes utilisés/ Cluster de différenciation marqués (**original**).

Manip Fluorochromes	Longueur d’onde (nm)	TBNK	RARO	RTE	LB	TCR
FITC	519	CD3	CD45RA	CD45RA	/	/
PE-Cy7	785	CD4	/	/	CD19	/
APC-H7	785	CD8	/	/	/	/
APC	660	CD19	CD8/CD4	CD4	/	/
PE	578	CD16/ CD56	CD45RO	CD31	CD27	TCRγδ
PercP	678	CD45	CD3	CD3	IgD	/

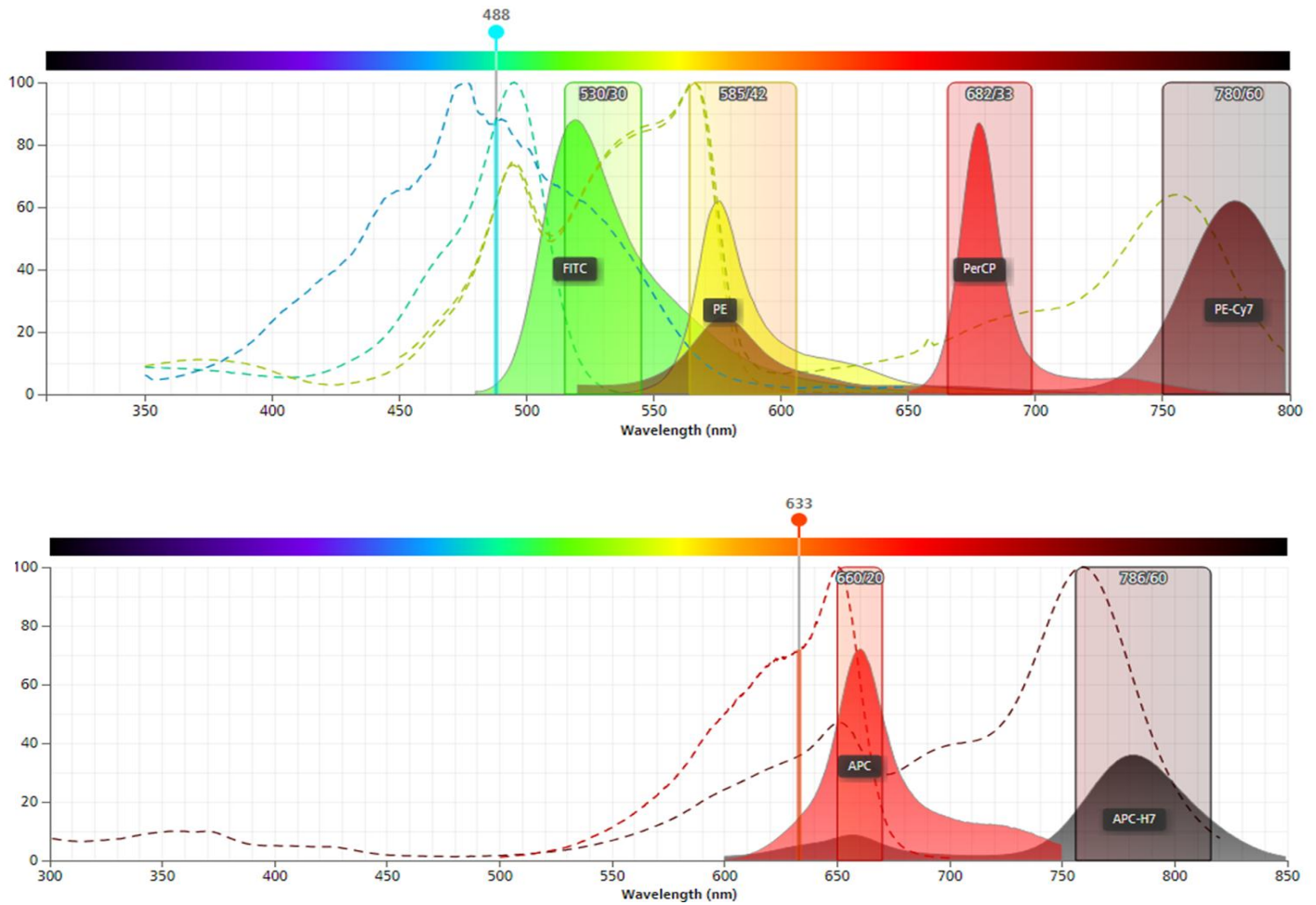


Figure 9 : les longueurs d'ondes d'excitation/émission des fluorochromes utilisés dans le marquage par cytométrie en flux (D'après www.bdbiosciences.com)

2.4.2 La cytométrie en flux (CMF)

2.4.2.1 Définition et principe

La cytométrie en flux est une technique d'analyse quantitative et qualitative des cellules individuelles au sein d'une population hétérogène. Ces cellules en suspension sont entraînées par un flux liquide (**Recktenwald, 1993**). Elle consiste à analyser les signaux optiques ou physiques émis par une particule coupant le faisceau lumineux d'un laser. Les propriétés mesurées par le cytomètre en flux incluent la taille relative de la cellule, sa granularité ou sa complexité interne relative et enfin son intensité relative de fluorescence (**Recktenwald, 1993**). L'apport majeur de la cytométrie en flux est de pouvoir aborder les populations cellulaires dans leur grande diversité et complexité (**Figure 10**).

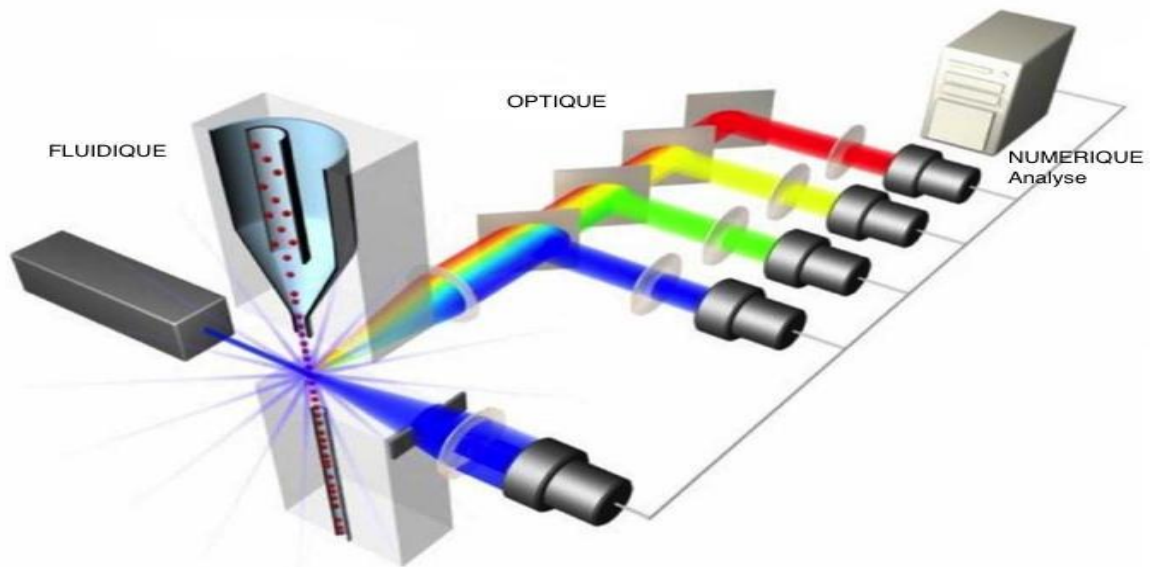


Figure 10 : Principe simplifié d'un cytomètre en flux (Duperray, 2014)

2.4.2.2 Les composants d'un cytomètre en flux

Le cytomètre en flux est un automate qui comporte une combinaison de 3 grands systèmes :

- **Le système fluidique** : qui introduit et canalise les cellules à analyser (Figure 11).

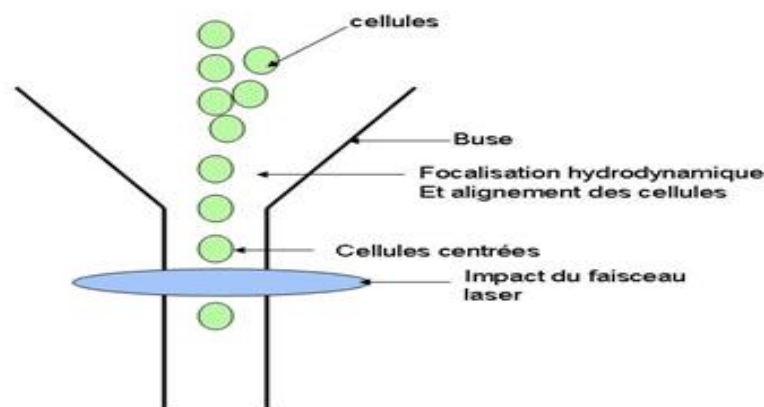


Figure 11 : La focalisation hydrodynamique

Les cellules doivent être mises en suspension pour pouvoir être analysées. Par le biais du liquide de gaine qui s'écoule à une vitesse constante, les cellules seront amenées au centre de la buse et alignées les unes derrière les autres afin d'être excitées une à une avec le faisceau lumineux et émettront de la lumière qui sera récoltée par le système optique.

- **Le système optique** : comporte les lasers, une source de lumière et les filtres optiques qui captent la lumière émise par la cellule et la dirigent vers les détecteurs (Recktenwald, 1993) (Figure 12).

Le passage des cellules devant le faisceau laser entraîne une diffusion de la lumière en fonction de leurs caractères physiques. Le signal est capturé par deux photodiodes. La première est disposée dans le prolongement du laser (Forward scatter Chanel, FSC) à faible angle. Le signal capté reflète approximativement la taille de la cellule. La seconde est placée latéralement, à 90 ° (Side Scatter Chanel, SS). Le signal capté reflète l'hétérogénéité des cellules (granularité du cytoplasme). Les cellules éventuellement marquées avec des fluorochromes émettent des signaux de différentes longueurs d'onde, triés par des jeux de miroirs sélectifs (dichroïques) et filtres (en ligne ou en étoile) et capturés par des photomultiplicateurs (PMT). Le signal fluorescent émis par les cellules marquées est relatif (El hantati *et al.*, 2009).

- **Le système électronique :** convertit les signaux optiques en signaux électroniques puis en chiffres, les données seront par la suite stockées dans l'ordinateur sous forme de fichier FCS (Flow Cytometry Standard) (Recktenwald, 1993) (Figure 12).

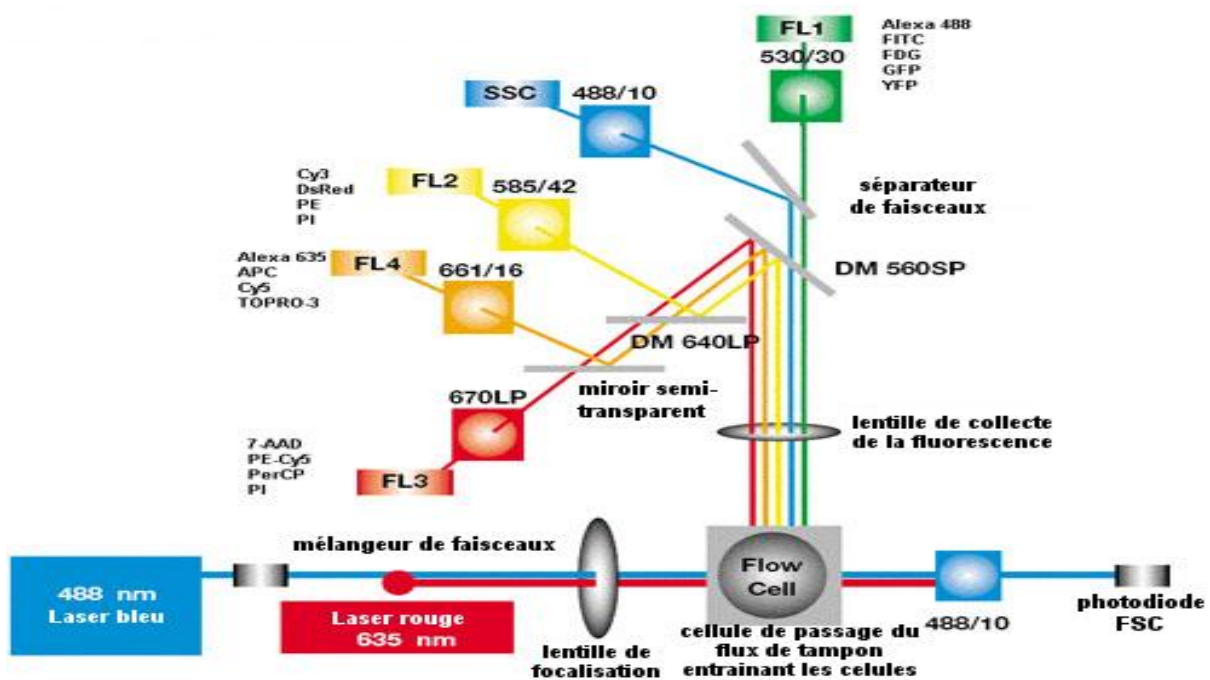


Figure 12 : Système optique et électronique d'un cytomètre en flux (Journo., 2015)

2.5 Analyse statistique

Les données recueillies ont été saisies sur le logiciel Microsoft **Excel version 2010**, afin d'obtenir des moyennes et des pourcentages ainsi que les histogrammes appropriés.

III. Résultats et discussion

Les résultats et les discussions sont subdivisés en trois parties. Dans la première, nous avons effectué une répartition des patients selon le sexe, l'âge et l'origine de provenance, suivie par une discussion pour l'ensemble de ces paramètres. Dans la deuxième, une répartition des patients est présentée selon les caractéristiques cliniques suivie par une discussion des données. Enfin, une répartition selon les caractéristiques immunologiques (elle-même subdivisée en trois ; les immunoglobulines, l'AFP sérique et la numération des cellules lymphocytaires, chacune suivie par une discussion). Nous avons réalisé pour l'ensemble des patients une étude rétrospective et dans la mesure du possible, une étude prospective.

1. Répartition des patients

1.1 Répartition des patients selon le sexe

Cette étude a été réalisée sur 19 patients dont 8 garçons et 11 filles, soit respectivement 42,11% et 57,89% avec un sexe ratio de 0,72 (8 M/11F) (**Figure 13**).

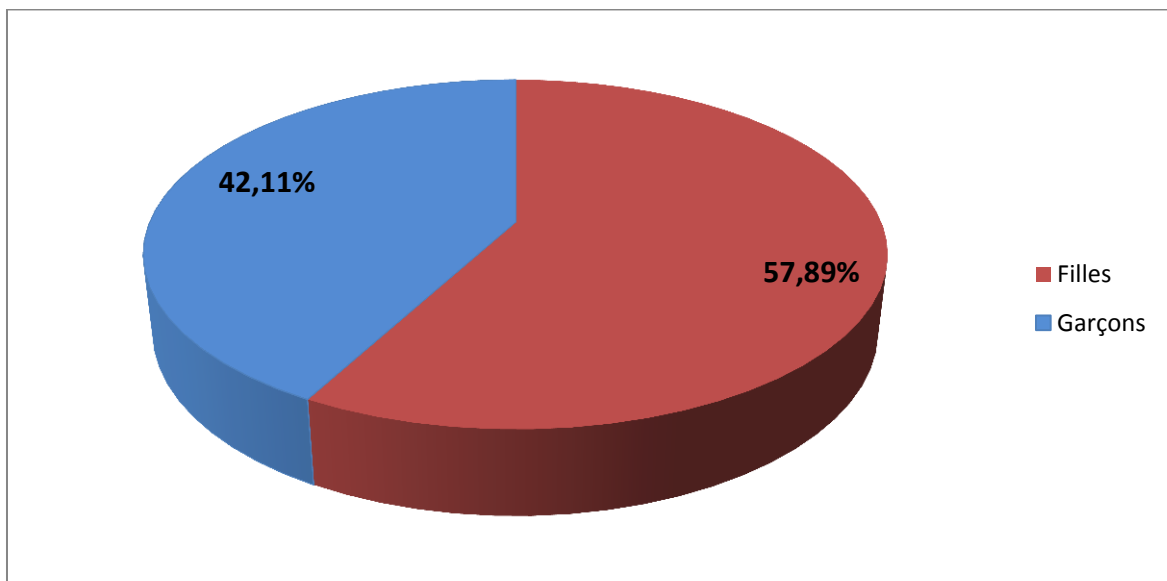


Figure 13 : La répartition des patients selon le sexe

1.2 Répartition des patients selon l'âge

La moyenne d'âge des patients est de 8,15 ans avec des extrêmes allant de 18 mois à 17 ans (**Figure 14**). L'âge moyen de début des troubles est de 3,38 ans avec des extrêmes allant de 3 mois à 6 ans.

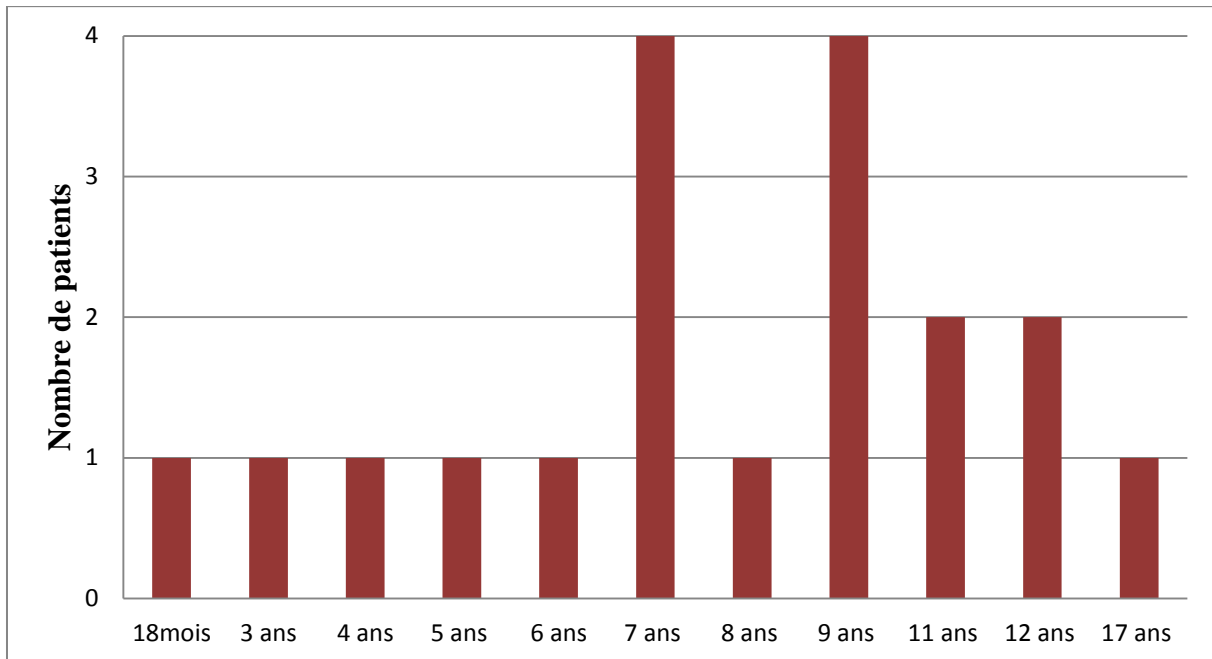


Figure 14 : La répartition des patients selon l'âge

Dans notre étude, le sexe féminin est le plus représenté (57,89 %), soit un sexe ratio de 0,72. La prédominance féminine a été retrouvée dans plusieurs études, notamment celle d'**Esptein et al (1966)** et celle de **Jeddane et al (2013)** qui ont rapportés respectivement un sexe ratio de 0,9 et 0,59. Etant donné que l'ataxie télangiectasie suit un mode de transmission autosomal récessif, elle atteint donc autant les hommes que les femmes. De ce fait, la prédominance féminine rapportée reste inexplicée à ce jour.

L'âge moyen au diagnostic a été de 8,15 ans (allant de 18mois à 17ans). Alors que, l'étude de **Jeddane et al (2013)** qui a été effectuée au Maroc, a rapporté un retard d'âge moyen au diagnostic estimé à 5,51 ans. Par contre, la majorité des auteurs (**Stoppa-Lyonnet et al., 2016**) rapportent un âge moyen au diagnostic compris entre 3-4 ans. Ce retard de diagnostic de l'ataxie télangiectasie en Algérie serait probablement dû soit à l'accessibilité aux soins médicaux qui demeure difficile, soit à l'absence du suivi prénatal et pédiatrique des maladies surtout face à des pathologies génétiques si rares que l'A-T. **Mandigers et al (2011)** a considéré qu'un diagnostic tardif de l'A-T avait un impact important sur l'espérance de vie.

L'âge moyen de début des troubles estimé à 3,38 ans rejoint les résultats d'une étude clinique et génétique sur 11 patients A-T, menée par **Ali Pacha *et al* (2013)**, rapportant un âge moyen de début des troubles inférieur à 4 ans. Alors que la plupart des auteurs ont rapporté un âge moyen de début des troubles plus précoce (entre 2 et 3 ans en général), notamment **Triki *et al* (2000)**, qui a effectué une étude sur 24 patients atteints d'ataxie télangiectasie au sud tunisien, a rapporté un âge moyen de début des troubles de $2,9 \pm 1,8$ ans. Ces valeurs confirment que l'atteinte par l'ataxie télangiectasie reste en une grande proportion juvénile et congénitale, et que son apparition à des âges tardifs soit très rare.

2. Analyse des caractéristiques cliniques

Les 19 patients de notre étude provenaient de 17 familles différentes. Nous avons constaté 4 cas (21,05 %) ayant des antécédents familiaux de l'ataxie télangiectasie avec 7 liens de consanguinité (41,17 %). Parmi ceux-ci, nous dénombrons :

- Un patient ayant 2 frères atteints et une sœur décédée (3 liens).
- Un patient ayant une sœur atteinte et un frère décédé (2 liens).
- Deux patientes étaient sœurs (2 liens).

Nous avons constaté un taux relativement élevé de consanguinité ; soit 41,17 % (7/17) avec 21,05% d'antécédents familiaux. Cela rejoint les données bibliographiques dénonçant que les troubles autosomiques récessifs sont fortement associés à la consanguinité (**Jaouad *et al.*, 2009**). 94,7 % de nos patients étaient ataxiques. Alors que des télangiectasies ont été retrouvées chez tous les patients (100 %). Ainsi, d'une manière générale, l'apparition des signes neurologiques parvient à un âge précoce contrairement aux télangiectasies, qui se manifestent plus tard. En effet, une grande portion de notre population d'étude (18/19) présentait les deux signes (Ataxie et télangiectasies) au moment du diagnostic à l'exception d'une patiente âgée de 7 ans n'ayant pas d'ataxie. Ceci pourrait être dû au fait que ce symptôme n'a pas été signalé dans la fiche clinique de cette patiente ou probablement, que les cellules de Purkinje ne soit pas encore altérées (une localisation normale) et/ou le nombre de cellules granulaires soit normal ; comme il est expliqué dans le premier chapitre (**Goldowitz *et al.*, 1998**) .

Pour les manifestations infectieuses récidivantes (**Figure 15**), elles ont été signalées chez 15 patients (78,94 %), incluant en grande partie, des infections ORL (rhinopharyngites, sinusite et otite aigüe) et/ou pulmonaires (bronchites, pneumopathies) à répétition.

Une infection urinaire et une infection cutanée ont également été signalées. Un patient (5,26 %) présentait une manifestation digestive qui se résume en une diarrhée chronique.

Deux patients (10,5 %) exploitaient des manifestations auto-immunes dont une alopecie et une hypothyroïdie. Cependant, aucune manifestation tumorale n'a été indiquée (**Tableau 3**). Ces résultats s'accordent avec ceux de l'étude tunisienne menée par **Triki et al (2000)** révélant la présence d'une large variété d'infections récidivantes dues à un défaut immunitaire, principalement des déficits en immunoglobulines. De même, la littérature a rapporté notamment la présence d'infections ORL telles que des otites chroniques ainsi que des infections broncho-pulmonaires, causées par des bactéries encapsulées entre autre, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* conduisant à une destruction du parenchyme pulmonaire et à une dilatation des bronches (DDB). En effet **Jeddane et al (2013)** a accusé les infections respiratoires comme étant la première cause de décès chez les patients atteints d'ataxie téléangiectasie.

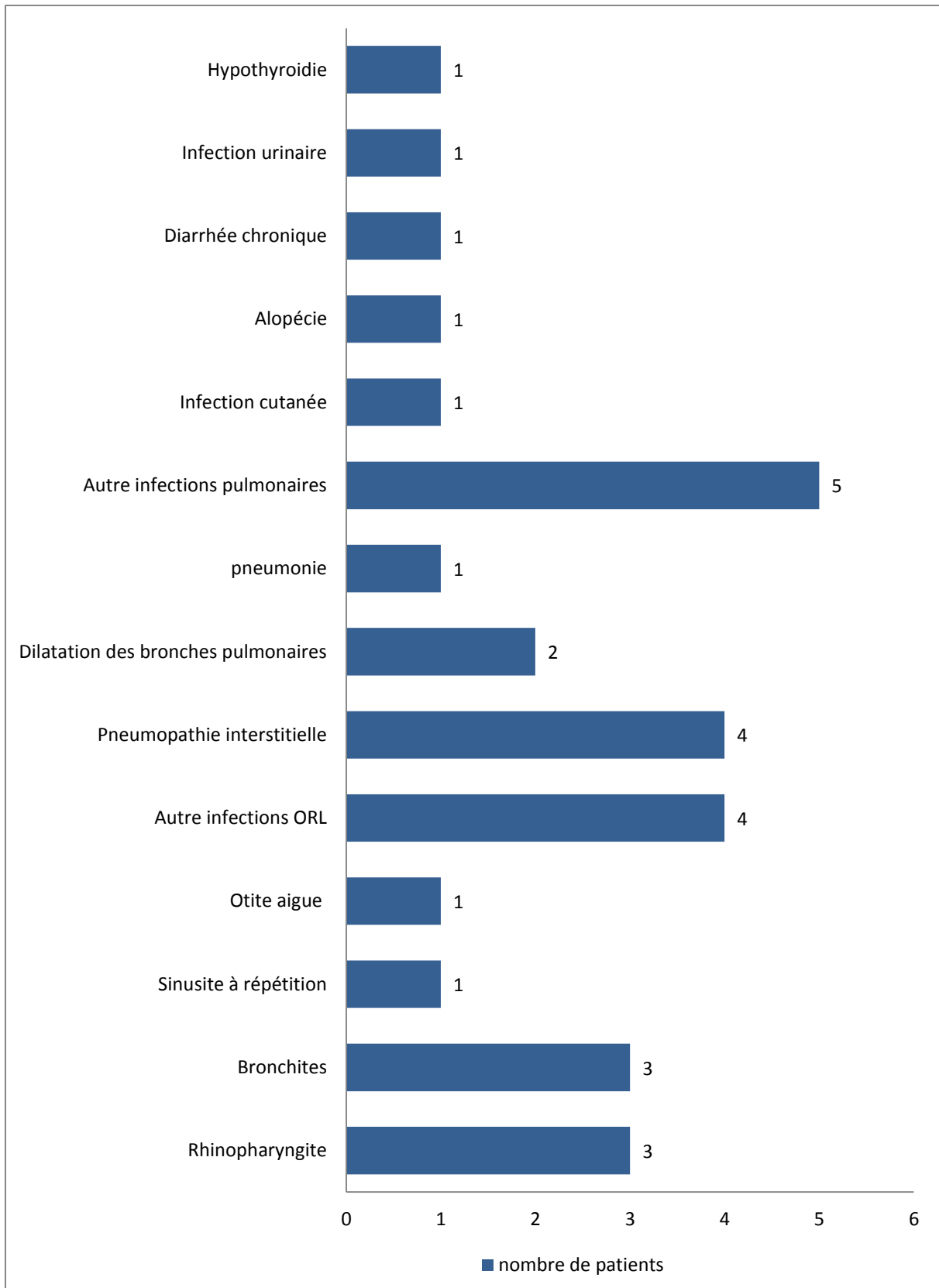


Figure 15 : La répartition des infections récidivantes selon le nombre d'apparition.

Tableau 3 : Les caractéristiques cliniques des 19 patients atteints d'ataxie télangiectasie.

Patient	Sexe/Âge	Manifestations infectieuses	Manifestations digestives	Manifestations auto-immunes	A	T
1	M/1.5	Rhinopharyngite, Bronchites			+	+
2	M/4	Rhinopharyngite, Bronchites, infection urinaire			+	+
3	F/6	Infection cutanée			+	+
4	F/3				+	+
5	F/5				+	+
6	M/7	Sinusites à répétition		Alopécie	+	+
7	F/7	Infection ORL et Pulmonaire, pneumopathie interstitielle			-	+
8	F/7				+	+
9	M/7	Infection pulmonaire à répétition			+	+
10	F/8	Rhinopharyngite, Bronchites			+	+
11	F/9	DDB			+	+
12	M/9.5	Infection ORL, DDB, pneumopathie interstitielle			+	+
13	F/9			Hypothyroïdie	+	+
14	F/9	Otite aigue, pneumonie, pneumopathie interstitielle			+	+
15	M/11	Infection pulmonaire	Diarrhée chronique		+	+
16	F/11	Infection ORL et pulmonaire, pneumopathie interstitielle			+	+
17	M/12	Infection ORL			+	+
18	F/12				+	+
19	M/17	Infection pulmonaire			+	+

A : Ataxie **T** : Télangiectasies **DDB** : Dilatation des bronches pulmonaires

(+) : Présence (-) : Absence

3. Analyse des caractéristiques immunitaires

Les taux des immunoglobulines et de l'alpha-foetoprotéine des 19 patients A-T sont résumés dans l'**annexe 6** (avec les normes).

3.1 Les immunoglobulines

3.1.1 Immunoglobulines IgG et leur sous-classes

➤ Immunoglobulines IgG

Dans la présente étude, les dosages des immunoglobulines chez les 19 patients atteints d'A-T ont révélé des taux d'IgG normaux chez 8 patients (42,1%), de faibles taux d'IgG chez 7 patients (36,8 %) et des taux d'IgG élevés chez 4 patients (21,05 %).

➤ Sous Classes IgG

Le dosage des sous classes des immunoglobulines IgG a été effectué pour 15 patients. Pour les IgG1, nous avons noté 53,33 % de taux normaux, 33,33 % de taux bas et 13,33% de taux élevés. Pour les IgG2, une forte diminution a été enregistrée chez 60% des patients, un taux normal chez 33,33% et une surexpression chez seulement 6,66%. Pour les IgG3, les taux étaient normaux pour la majorité des patients (73.33%) et bas chez 4 patients (26,66%). Pour les IgG4, 46,66 % des patients présentaient des déficits, 40% présentaient des taux normaux et environ 6% avec un taux excessivement élevé.

Environ 37% de déficits en immunoglobulines IgG ont été marqués dans notre étude. Ce taux s'approche à celui de l'étude algérienne d'**Ali Pacha et al (2013)** effectuée sur 11 patients, qui a noté 45% de déficits en IgG.

Pour les sous classes d'IgG, la majorité de nos patients présentaient des taux normaux d'IgG1 et IgG3. Ceci coordonne avec les travaux d'**Oxelius et al (1982)**, dans lesquels les déficits en IgG1 étaient peu élucidés. Cependant, un grand nombre de nos patients (60%) présentait des déficits en immunoglobulines IgG2. Ce résultat rejoint celui de **Jeddane et al (2013)**, qui a rapporté 75% de déficits en IgG2 chez les patients atteints d'ataxie télangiectasie. Pour les IgG4, un taux assez important (46,66 %) de déficit a été noté au sein de notre échantillon d'étude. Ce résultat diffère de celui de l'étude de **Rivat-Pearson et al (1981)**, qui a marqué une diminution significative de la sous-classe IgG4 (89%). Ainsi, dans l'ataxie télangiectasie, il a été remarqué que la déficience en IgG2 et en IgG4 peut être associée à des infections récurrentes dans le tractus vestibulaire (**Oxelius et al., 1982**). Il convient de noter que le traitement par prophylaxie des immunoglobulines IgG2 est utile contre l'infection par

déficience en IgG2 (*Oxelius et al., 1982*). *Peterson et al (1966)* a expliqué le déficit en immunoglobulines par la présence d'anomalies dans les organes lymphoïdes secondaires, en observant les coupes histologiques des ganglions lymphatiques de sa série de 8 patients A-T. Parmi ces derniers, certains avaient également une absence de cellules du centre germinal et des cellules plasmatiques.

3.1.2 Immunoglobulines IgA

Concernant les immunoglobulines IgA, nous avons constaté que les taux étaient exprimés à la baisse chez 12 patients sur 19 (66,6 %), des taux normaux chez 5 patients (27,7 %), élevés chez 1 patient (5,5 %) et 1 cas non mentionné.

Ce taux important (66,6%) de déficience en IgA rejoint les résultats de l'étude d'*Ammann et al (1969)*, réalisée sur une série de 16 patients atteints d'A-T, et qui a rapporté 56% de déficit sélectif en IgA. De ce fait, il a supposé que le manque en IgA et en IgE serait à l'origine des infections sinopulmonaires récidivantes. D'après *South et al (1968)*, l'absence d'IgA sécrétoire est corrélée avec la sensibilité aux infections respiratoires récurrentes, chronique et progressive. Ceci conforte l'hypothèse que les IgA ; qui prédominent normalement dans les sécrétions des muqueuses, servent à la défense de ces surfaces, en particulier des muqueuses respiratoires.

Etant donné que les IgA sériques (circulants) diffèrent des IgA de surfaces (muqueuses), il est clair qu'il soit impossible de les remplacer par injection, comme dans le cas des IgG. Par conséquent, les patients atteints d'A-T continuent à souffrir des infections sinopulmonaires récidivantes, qui seraient la première cause de mortalité dans ce syndrome (*South et al., 1968*).

3.1.3 Immunoglobulines IgM

Dans notre série, les taux des immunoglobulines IgM étaient normaux chez 26,3 % des patients. Une partie majeure de ces derniers (63,1 %), possédait un profil IgM élevé, alors qu'aucun cas de déficit sélectif en IgM n'a été signalé.

Le taux considérable (63,1%) de surexpression des IgM enregistré dans notre échantillon, corrobore avec les résultats d'un grand nombre d'auteurs. Des patients atteints d'A-T avec des niveaux élevés d'IgM sériques décrits dans l'étude de *Noordzij et al (2009)*, ont montré une évolution remarquablement plus sévère de ce syndrome.

Dans la présente étude, l'expression à la hausse des taux d'IgM pourrait être due à l'absence de l'ATM dans le Switch des classes des immunoglobulines, bien qu'il soit possible que

d'autres facteurs tels que les infections récentes aient provoqué cette surexpression d'IgM. Selon **Staples *et al* (2008)**, si le mécanisme de la déficience en IgG et en IgA était un défaut dans le changement de classe, on pourrait s'attendre à ce que des taux élevés d'IgM soient présents chez les patients présentant ces déficiences.

3.1.4 Immunoglobulines IgE

Les taux des immunoglobulines IgE ont été calculés pour 15 patients de notre échantillon. Une diminution accrue des IgE totaux a été notée chez 11 cas (73.33%). Des taux d'IgE normaux ont été enregistrés pour deux patients (13.33%) et légèrement élevés pour deux autres (13.33%).

Les déficiences en IgA, IgE et parfois en IgG (**Figure 16**) sont des anomalies humorales bien connues dans l'ataxie télangiectasie. La réponse d'anticorps à des antigènes viraux et bactériens spécifiques est également souvent déficiente. Ce niveau de déficience en IgE totaux assez important (73%) est en accord avec la série d'**Ammann *et al* (1969)**, décrivant 68% de déficits sélectifs en IgE. Ce groupe de chercheurs a supposé que la présence de plusieurs défauts immunitaires; cellulaires et/ou humoraux, peuvent amplifier le déficit en IgE.

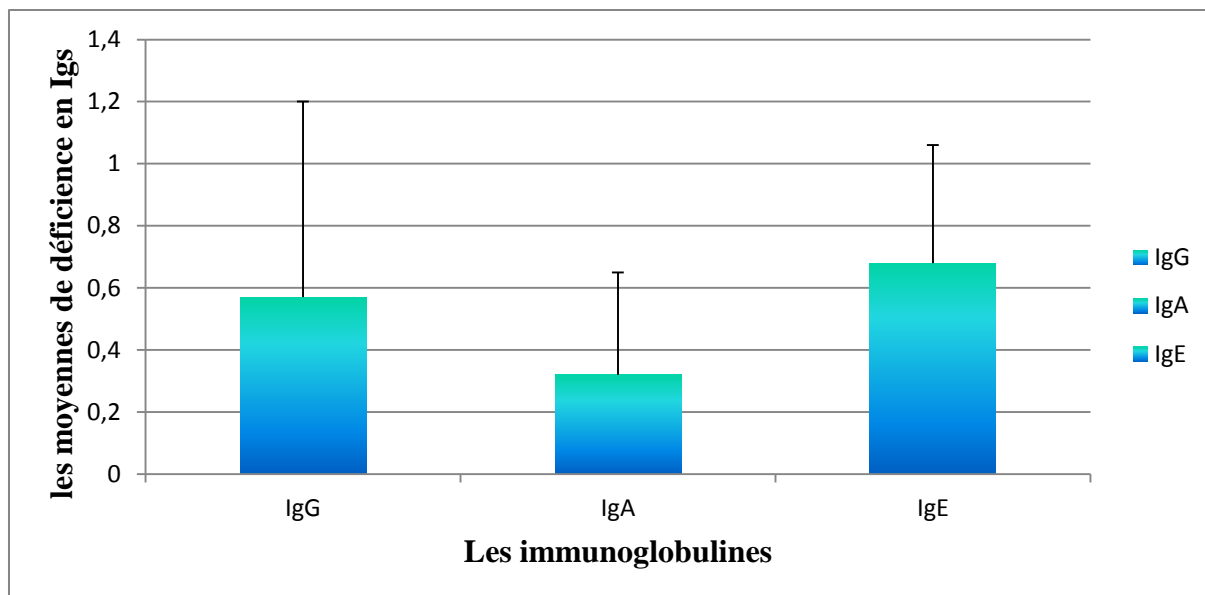


Figure 16 : Les moyennes des déficiences en immunoglobulines et leur écart types.

3.2 L'alphafoeto-protéine (AFP)

L'alpha-foetoprotéine est une glycoprotéine fœtale. Pendant la grossesse, elle joue un rôle dans le développement du fœtus. Cependant, il a été remarqué que la persistance du taux élevé de cette glycoprotéine au cours de la grossesse et après la naissance, est associée aux tumeurs et à des anomalies fœtales, cette protéine est ainsi utilisée comme biomarqueur dans les troubles fœtaux, prénataux et pédiatriques comme l'ataxie télangiectasie (**Mizejewsk, 2012**).

Le dosage de l'alphafoeto-protéine a été effectué sur 16 patients de notre échantillon d'étude. Nous avons noté une élévation modérée de l'AFP chez 13 cas (81,25%). Cette dernière était légèrement diminuée chez deux patients (12,5%) et dans les normes pour un seul patient (6,25%). Il a été rapporté dans la littérature qu'un taux élevé d'AFP sérique est observé chez plus de 90% des patients A-T (**Perreault et al., 2012**). Ce qui est en accord avec les 81,25 % d'AFP élevé dans notre échantillon. Le dosage de l'AFP sérique semble être utile et constituerait un marqueur diagnostique important.

Une analyse par ordinateur utilisant un logiciel d'interaction protéine-protéine menée par **Mizejewsk (2014)**, suggère que l'AFP peut potentiellement interagir avec la kinase ATM. Cette analyse n'est qu'une hypothèse et ne fournit qu'une preuve indirecte jusqu'à ce que des expériences *in vitro* et / ou *in vivo* puissent prouver ces interactions.

3.3 Numération des cellules lymphocytaires

D'après les résultats obtenus de l'immunophénotypage par cytométrie en flux (**Annexe 7 et 8 avec les normes**), nous avons dénombré une variété de troubles dans le nombre des cellules lymphocytaires (LTCD3+, LTCD4+, LTCD8+, RTE, LT naïfs et mémoires, LT actifs, LT TCR $\gamma\delta$, LB19+CD27+IgD+ et LB19+CD27+IgD-) au sein de notre échantillon. Ces derniers se résument en :

a- Des lymphopénies B, T et NK

Nous avons enregistré 15 cas de lymphopénie B (78,9 %), 16 lymphopénies T (84,2 %) dont certaines TCD4+ et/ou TCD8+.

Nous avons complété les bilans par les tests (RARO, RTE, HLA-DR, TCR $\gamma\delta$ et LB19+CD27+IgD+/LB19+CD27+IgD-) pour trois patients. Ces derniers révélèrent une lymphopénie TCD4+ naïfs (CD4+ CD45RA+), une diminution accrue des LTCD8+ mémoires et naïfs, une surexpression du HLA-DR et des taux élevés des LB mémoires non commutés. Le TCR $\gamma\delta$ a été complété et surexprimé chez un seul patient seulement. Un quatrième patient n'a bénéficié que du test complémentaire RARO (LT naïfs et mémoires), qui a révélé un défaut de LTCD8 mémoires (CD8+ CD45RO+). Une profonde diminution des lymphocytes NK a été notée chez un seul malade.

b- Lymphocytose B, T et NK

Aucune lymphocytose B n'a été signalée. Cependant, une lymphocytose TCD4+, une lymphocytose TCD8+ et 9 expansions lymphocytaires NK ont été enregistrées.

Enfin, le bilan lymphocytaire d'un seul patient était normal (sans lymphopénies ni lymphocytoses).

c- Rapport CD4+/CD8+

Afin de confirmer le défaut lymphocytaire T, le rapport CD4+/CD8+ est calculé. Ainsi, nous avons noté une perturbation de ce rapport chez 15 cas (78,94 %) (**Tableau 4**).

Tableau 4 : les rapports CD4/CD8 évalués par le cytomètre en flux.

Rapport CD4+/CD8+	< 1	1 < CD4/CD8 < 1.6	>1.6
Nombre de patients	9	4	6
Pourcentage	47,36%	21,03%	31,57%

Il a été rapporté dans la littérature que le syndrome de Louis-Bar est étroitement lié à une immunodéficience variable, impliquant à la fois l'immunité cellulaire et humorale (**Voss et al., 2014**). Le déficit cellulaire porte sur les lymphocytes TCD4 et CD8 tandis que, le déficit humoral inclut une réduction des taux d'IgA et d'IgE ainsi que des anomalies dans les sous-classes d'IgG (**Bott et al., 2006**).

En effet, des taux élevés de lymphopénies T (84,2 %) et B (78,9 %) ont été retrouvés au sein de notre série d'étude. Les déficits en lymphocytes T incluent principalement des diminutions des sous populations TCD4+ et TCD8+. Cela pourrait être dû à un défaut de genèse touchant soit les cellules souches hématopoïétiques soit la production des progéniteurs ou des précurseurs T/B. De plus, **South et al (1968)** a confirmé que la déficience du système cellulaire lymphocytaire thymique et du système produisant des immunoglobulines chez les patients atteints d'A-T, serait probablement due à un défaut génétique impliquant une anomalie de différenciation d'une cellule souche. Aussi, **Mateil et al (2007)** a suggéré que le défaut de production des lymphocytes T ou des lymphocytes B soit secondaire à un réarrangement défectueux du gène codant pour le TCR ou le BCR respectivement chez les individus atteints de l'ataxie télangiectasie. En plus, **Vacchio et al (2007)** a rajouté qu'un défaut d'ATM soit associé à un déficit en cellules T naïves induit par une production thymique réduite. Ceci a été confirmé par des travaux menés sur des souris, démontrant que le gène ATM a un rôle-clé dans le maintien de l'expression des TCR et dans la maturation des lymphocytes T double positifs (CD4+CD8+) (**Lavin, 2008**). Les résultats du rapport CD4/CD8 perturbé (78.93 %) confirment les lymphopénies TCD4.

Concernant les tests complémentaires (RARO, RTE, HLA-DR, TCR $\gamma\delta$ et LB19+CD27+IgD-/LB19+CD27+IgD-) effectués chez 4 patients :

Une légère diminution des LT4 naïfs a été trouvée chez le patient qui n'a bénéficié que du test RARO. Pour ce même patient, le déficit en TCD8 mémoire (CD8+CD45RO) serait probablement dû à un défaut de différenciation du clone TCD8+ naïfs (au niveau des organes lymphoïdes) en mémoires (dans la périphérie) suite à une signalisation défectueuse. Cependant, des diminutions des cellules RTE et une lymphopénie TCD4 naïfs agressive ont été notées chez trois patients. Cette dernière pourrait être due soit à une aplasie thymique ou à un défaut de maturation. En effet, la lymphopénie TCD4 naïfs est confirmée par le nombre quasi absent des lymphocytes RTE (**Recent Timing Emergent**).

Selon **Celiksoy et al (2015)**, les lymphocytes RTE pourraient être importants pour comprendre l'étiopathogénie de l'immunodéficience dans l'ataxie télangiectasie. Les lymphocytes RTE (CD31 + CD45RA + RO-) contiennent un nombre élevé de (TREC ; petits fragments d'ADN dans le cytoplasme, générés lors des réarrangements). La quantification de ces molécules sert donc, à déduire l'activité thymique (**Junge et al., 2007**).

Par ailleurs, chez ces mêmes patients, seuls les LTCD4 mémoires sont présents (CD4+ CD45RO+), ce qui est probablement dû à une réponse immunitaire antérieure (une mémoire à long terme). De plus, la surexpression du HLA-DR (marqueur d'activation des lymphocytes T), suggère une hyper activation des lymphocytes T. Dans une étude antérieure menée par **Reichenbach et al (1999)**, cette surexpression des lymphocytes T et des CD45RO+ a été accompagné par des niveaux accrus d'Espèces Réactives d'Oxygène (ROS), avec une diminution des enzymes anti-oxydantes, chez 10 patients A-T. Ceci a mené ce groupe de chercheurs à supposer que l'hyper activation des LT serait la conséquence ou la cause de la surexpression des ROS.

La surexpression des LB mémoires non commutés (CD19+CD27+IgM+IgD+) signifie l'absence de commutation isotypique, ce qui explique le déficit en immunoglobulines (IgG, IgA et IgE) chez ces même patients. Cependant, selon **Celiksoy et al (2015)**, le déficit en anticorps serait dû à une perturbation homéostatique des cellules T et B naïves aboutissant à la formation d'un répertoire immunitaire diminué et un nombre diminué de LB mémoires. Une autre étude a révélé que la diminution du nombre des LB naïfs représente un déséquilibre homéostatique des cellules B naïves observée chez tous les patients atteints d'A-T (**Carney et al., 2012**).

Les LT à TCR $\gamma\delta$ (effectués pour l'un de ces trois patients) été surexprimés signifiant un déséquilibre au niveau du réarrangement en faveur du TCR $\gamma\delta$, ce qui explique les lymphopénies TCD4 et TCD8. Nous avons également noté un taux important des expansions lymphocytaires NK, qui seraient probablement dues aux infections récidivantes. En effet, l'immunodéficience affecte les cellules T et B mais pas les NK (**Romagnani et al., 2007**).

Une patiente présentant une lymphopénie B avec des taux des immunoglobulines normaux. Ce déséquilibre toucherait probablement la différenciation du LB mature en LB mémoire mais pas en plasmocyte.

Aucun déficit immunitaire n'a été signalé pour un seul patient âgé d'un an et demi. On suggère que ce dernier pourrait être atteint d'un sous-type de l'ataxie télangiectasie, appelé ataxie avec apraxie oculomotrice- 1 (**AOA-1**), car cette variante provoque les mêmes problèmes moteurs et visuels que l'A-T mais n'inclut aucun problème immunologique associé (**Taylor et al., 2004**). L'apraxie oculomotrice- 1 est provoquée par des mutations du gène **APTX** qui produit une protéine appelée Aprataxine (**'Ataxie-Télangiectasie chez l'enfant guide de diagnostic et soin,' 2015**). Par ailleurs, ce même patient pourrait présenter une **ATLD** (Ataxie télangiectasie like-disorder), qui est une variable provoquée par la mutation du gène **MRE11** avec une symptomatologie similaire à celle de l'A-T, mais dont la progression semble être plus lente. Cependant cette maladie n'inclut pas de déficit immunitaire (**Stoppa-Lyonnet et al., 2009 ; 'Ataxie-Télangiectasie chez l'enfant guide de diagnostic et soin,' 2015**). Pour confirmer cela, des examens cytogénétiques et l'analyse Western blot ; afin d'évaluer l'expression du gène **APTX** ou du gène **MRE11**, pourront être effectués.

Conclusion et perspectives

Ce travail décrit l'aspect clinique et immunologique de 19 patients atteints d'Ataxie-Télangiectasie, recrutés au laboratoire d'immunologie médicale- CHU ISSAAD Hassani de Béni Messous.

Les différents tests effectués pour ces patients, notamment l'analyse des sous populations lymphocytaires, les dosages des immunoglobulines et de l'alpha-foetoprotéine, nous ont permis de retirer les conclusions suivantes : Le diagnostic de l'A-T ; que nous considérons très tardif en Algérie, implique la difficulté d'accès aux soins et probablement la méconnaissance de la pathologie par la population algérienne. Les manifestations infectieuses chez les individus A-T sont variées (ORL, pulmonaires, auto-immunes) avec une prédominance en faveur des infections pulmonaires qui seraient la principale cause de mortalité. La variété des troubles immunitaires retrouvés chez nos patients confirment que le déficit immunitaire cellulaire et/ou humoral, soit une caractéristique majeure du syndrome de Louis-Bar.

En perspectives, nous souhaiterons enrichir cette étude par l'élaboration de différents points : tout d'abord, il serait possible de tenter à augmenter la taille de notre échantillon, permettant ainsi d'effectuer une étude épidémiologique à l'échelle nationale.

Par ailleurs, différents tests moléculaires peuvent être envisagés, tel que la mise au point de la technique de Western Blot dans le but d'évaluer la présence de la protéine ATM.

Encore plus loin, il serait intéressant d'envisager un séquençage direct du gène ATM, ainsi que pour les gènes MRE11, APTX, SETX et NBS sur leurs séquences codantes. Ceci semble être suffisant pour détecter les mutations dans les individus A-T.

De plus, nous pouvons éventuellement effectuer des dosages des enzymes anti-oxydantes (tels que les hèmes oxygénases HO) pour vérifier la présence d'une relation entre le stress oxydatif et l'hyperactivité des lymphocytes T retrouvée chez les patients A-T.

Concernant le traitement, nous proposons d'effectuer une greffe autologue des cellules souches hématopoïétiques, offrant ainsi des perspectives de guérison aux déficits immunitaires primitifs et cela par remplacement de la moelle osseuse anormale avec de la moelle osseuse normale ou du sang périphérique.

Références bibliographiques

ADIGUN, O. et BHIMJI, S. Alpha Fetoprotein (AFP). 2017.

ALBERTES, Bruce et al. The Innate and Adaptive Immune Systems. **In**: Molecular biology of the cell. New York : Garland Science, 2015, p 1317. (ISBN 978-0-8153-4432-2).

ALI PACHA, L et al. L'Ataxie-Télangiectasie : Analyse de 11 patients : EL HAKIM (numéro 9, volume III), février 2018.

AMMANN, A. J., CAIN, W. A., ISHIZAKA, Kimishige, et al. Immunoglobulin E deficiency in ataxia-telangiectasia. *New England Journal of Medicine*, 1969, vol. 281, no 9, p. 469-472.
Ataxie-Télangiectasie chez l'enfant guide de diagnostic et soin. [En ligne]. 2015. Disponible sur : http://www.aprat.fr/wa_files/Guide_20AT.pdf (Consulté le 04/03/2018).

BARLOW, Carrolee, DENNERY, Phyllis A., SHIGENAGA, Mark K., et al. Loss of the ataxia-telangiectasia gene product causes oxidative damage in targetorgans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1999, vol. 96, no 17, p. 9915-9919.

BARZILAI, Ari et YAMAMOTO, Ken-Ichi. DNA damage responses to oxidative stress. *DNA repair*, 2004, vol. 3, no 8, p. 1109-1115.

BECKER-CATANIA, Sara G., CHEN, Gang, HWANG, MeeJeong, *et al.* Ataxia-telangiectasia: phenotype/genotype studies of ATM protein expression, mutations, and radiosensitivity. *Molecular genetics and metabolism*, 2000, vol. 70, no 2, p. 122-133.

BEKIESIŃSKA-FIGATOWSKA, M., CHRZANOWSKA, K. H., SIKORSKA, J., *et al.* Cranial MRI in the Nijmegen breakage syndrome. *Neuroradiology*, 2000, vol. 42, no 1, p. 43-47.

BENMEZROUA, Mohammed. Neurophysiologie: cervelet. [en ligne]. Telemcen: faculté de médecine, cours, 2013, 7p. Disponible sur : <http://univ.encyeducation.com/uploads/1/3/1/0/13102001/physio2an13-vi6cervelet.pdf> (consulté le 20/06/2018).

BITON, Sharon, BARZILAI, Ari, et SHILOH, Yosef. The neurological phenotype of ataxia-telangiectasia: solving a persistent puzzle. *DNA repair*, 2008, vol. 7, no 7, p. 1028-1038.

BODER, Elena et SEDGWICK, Robert P. Ataxia-telangiectasia: a familial syndrome of progressive cerebellar ataxia, oculocutaneous telangiectasia and frequent pulmonary infection. *Pediatrics*, 1958, vol. 21, no 4, p. 526-554.

BOTT, L., THUMERELLE, C., CUVELLIER, J. C., et al. Ataxie-télangiectasie: de la clinique à la physiopathologie. *Archives de pédiatrie*, 2006, vol. 13, no 3, p. 293-298.

BUIS, Jeffrey, WU, Yipin, DENG, Yibin, et al. Mre11 nuclease activity has essential roles in DNA repair and genomic stability distinct from ATM activation. *Cell*, 2008, vol. 135, no 1, p. 85-96.

BYRD, P. J., MCCONVILLE, C. M., COOPER, P., et al. Mutations revealed by sequencing the 5' half of the gene for ataxia telangiectasia. *Human molecular genetics*, 1996, vol. 5, no 1, p. 145-149.

CABANA, Michael D., CRAWFORD, Thomas O., WINKELSTEIN, Jerry A., et al. Consequences of the delayed diagnosis of ataxia-telangiectasia. *Pediatrics*, 1998, vol. 102, no 1, p. 98-100.

CARNEY, Ellen F., SRINIVASAN, Venkataramanan, MOSS, Paul A., et al. Classical ataxia telangiectasia patients have a congenitally aged immune system with high expression of CD95. *The Journal of Immunology*, 2012, vol. 189, no 1, p. 261-268.

CELIKSOY, M. H., TOPAL, E., et YILDIRAN, A. Comparison of major lymphocyte subpopulations and recent thymic emigrants in patients with ataxia telangiectasia and age-matched healthy groups. *Allergologia et immunopathologia*, 2015, vol. 43, no 5, p. 477-481.

CHABROL, Brigitte, MANCINI, Josette, DULAC, Olivier, et al. *Neurologie pédiatrique*. Flammarion médecine-sciences, 2010.

CHRZANOWSKA, Krystyna H., GREGOREK, Hanna, DEMBOWSKA-BAGIŃSKA, Bożenna, et al. Nijmegenbreakage syndrome (NBS). *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2012, vol. 7, no 1, p. 13.

CHUN, Helen H. et GATTI, Richard A. Ataxia-telangiectasia, an evolving phenotype. *DNA repair*, 2004, vol. 3, no 8, p. 1187-1196.

CHUN, Helen H., SUN, Xia, NAHAS, Shareef A., et al. Improved diagnostic testing for ataxia-telangiectasia by immunoblotting of nuclearlysates for ATM protein expression. *Molecular genetics and metabolism*, 2003, vol. 80, no 4, p. 437-443.

CUNNINGHAM-RUNDLES, Charlotte. Physiology of IgA and IgA deficiency. *Journal of clinical immunology*, 2001, vol. 21, no 5, p. 303-309.

DIGWEED, Martin et SPERLING, Karl. Nijmegen breakage syndrome: clinical manifestation of defective response to DNA double-strand breaks. *DNA repair*, 2004, vol. 3, no 8, p. 1207-1217.

DUPERRAY, Christophe. Principe simplifié d'un cytomètre en flux. [En ligne]. (13 avril 2014). In : La science pour la santé. Disponible sur : <http://cytobase.montp.inserm.fr/Cours/Cours.html#mozTocId92938> (Consulté le 25/04/2018).

EL HENTATI, Fatima-Zahra, IOBAGIU, Cristina, et LAMBERT, Claude. Cytométrie et ses applications en immunologie clinique. *Revue Francophone des laboratoires*, 2009, vol. 2009, no 410, p. 23-32.

EPSTEIN, Wm L., FUDENBERG, H. H., REED, W. B., et al. Immunologic studies in ataxia-telangiectasia. *International Archives of Allergy and Immunology*, 1966, vol. 30, no 1, p. 15-29.

FARINA, Laura, UGGETTI, Carla, OTTOLINI, Alberto, et al. Ataxia-telangiectasia: MR and CT findings. *Journal of computer assisted tomography*, 1994, vol. 18, no 5, p. 724-727.

FITZGERALD, Jennifer E., GRENON, Muriel, et LOWNDES, Noel F. 53BP1: function and mechanisms of focal recruitment. 2009.

FRAPPART, Pierre-Olivier et MCKINNON, Peter J. Ataxia-telangiectasia and related diseases. *Neuromolecular medicine*, 2006, vol. 8, no 4, p. 495-511.

GATEI, Magtouf, SCOTT, Shaun P., FILIPPOVITCH, Igor, et al. Role for ATM in DNA damage-induced phosphorylation of BRCA1. *Cancer research*, 2000, vol. 60, no 12, p. 3299-3304.

GATTI, R. A. et VINTERS, H. V. Cerebellar pathology in ataxia-telangiectasia: the significance of basket cells. *Kroc Foundation Series*, 1985, vol. 19, p. 225-232.

GOLDOWITZ, Dan et HAMRE, Kristin. The cells and molecules that make a cerebellum. *Trends in neurosciences*, 1998, vol. 21, no 9, p. 375-382.

HEPPELL, A., BUTTERWORTH, S. V., HOLLIS, R. J., et al. Breakage of the T cell receptor α chain locus in non malignant clones from patients with ataxia telangiectasia. *Humangenetics*, 1988, vol. 79, no 4, p. 360-364.

JACQUEMIN, Virginie, RIEUNIER, Guillaume, JACOB, Sandrine, et al. Underexpression and abnormal localization of ATM products in ataxia telangiectasia patients bearing ATM missense mutations. *European Journal of Human Genetics*, 2012, vol. 20, no 3, p. 305.

JAOUAD, I. Cherkaoui, ELALAOUI, S. Chafäï, SBITI, Aziza, et al. Consanguineous marriages in Morocco and the consequence for the incidence of autosomal recessive disorders. *Journal of Biosocial science*, 2009, vol. 41, no 5, p. 575-581.

JEDDANE, L., AILAL, F., DUBOIS-D'ENGHIEN, C., et al. Molecular defects in Moroccan patients with ataxia-telangiectasia. *Neuromolecular medicine*, 2013, vol. 15, no 2, p. 288-294.

JEDDANE, Leïla. Déficiences immunitaires primitives au Maroc: Epidémiologie et exemple d'étude sur le syndrome d'ataxie télangiectasie, 2013.

JOURNO, Chloé. Système optique. [En ligne]. (14 janvier 2015). In : institut français de l'éducation. Disponible sur : <http://acces.ens-lyon.fr/acces/logiciels/e-librairie/immunité-et-vaccination/la-cytométrie-en-flux-1> (Consulté le 25/04/2018).

JUNGE, Sonja. KLOECKENER-GRUISSEM, Barbara. ZUFFEREY, Romain, et al. Correlation between recent thymic emigrants and CD31+ (PECAM-1) CD4+ T cells in normal individuals during aging and in lymphopenic children. *European journal of immunology*, 2007, vol. 37, no 11, p. 3270-3280.

LAI, Chih-Hung, CHUN, Helen H., NAHAS, Shareef A., et al. Correction of ATM gene function by aminoglycoside-induced read-through of premature termination codons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, vol. 101, no 44, p. 15676-15681.

LAVIN, Martin F. Ataxia-telangiectasia : from a rare disorder to a paradigm for cell signaling and cancer. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2008, vol. 9, no 10, p. 759.

LAVIN, Martin F., GUEVEN, Nuri, BOTTLE, Stephen, et al. Current and potential therapeutic strategies for the treatment of ataxia-telangiectasia. *British medical bulletin*, 2007, vol. 81, no 1, p. 129-147.

Lymphocytes : Différenciations des lignées lymphoïdes B et T. [En ligne]. 2008. Disponible sur : <https://tenma123.files.wordpress.com/2008/10/08-lymphocytes.pdf> (Consulté le 04/05/2018).

MAACHI, M., FELLAHI, S., DIOP, M.-E., et al. Apport du dosage pondéral par immunonéphélométrie de différentes protéines urinaires pour l'interprétation des protéinuries. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, 2005, vol. 20, no 5, p. 315-319.

MARX, S. J., VOGELSTEIN, B., et KINZLER, K. W. Genetic Basis of Human Cancer. *Eds B Vogelstein & KW Kinzler. New York: Mc Graw Hill*, 1998, p. 489-506.

MATEI, Irina R., GLADDY, Rebecca A., NUTTER, Lauryl MJ, et al. ATM deficiency disrupts Tera locus integrity and the maturation of CD4+ CD8+ thymocytes. *Blood*, 2007, vol. 109, no 5, p. 1887-1896

MCFARLIN, D. E., STROBER, W., et WALDMANN, T. A. Ataxia-telangiectasia. *Medicine*, 1972, vol. 51, no 4, p. 281-314.

MCKINNON, Peter J. ATM and ataxia telangiectasia: second in molecular medicine review series. *EMBO reports*, 2004, vol. 5, no 8, p. 772-776.

MCKINNON, Peter J. ATM and the molecular pathogenesis of ataxia telangiectasia. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 2012, vol. 7, p. 303-321.

MITUI, Midori, CAMPBELL, Catarina, COUTINHO, Gabriela, *et al.* Independent mutational events are rare in the ATM gene: haplotypeprescreening enhances mutation detection rate. *Human mutation*, 2003, vol. 22, no 1, p. 43-50.

MIZEJEWSKI, G. J. Alpha-Fetoprotein as a Biomarker in Immunodeficiency Diseases: Relevance to Ataxia Telangiectasia and Related Disorders. *J Immunodeficiency Disorders* 3: 1. of, 2014, vol. 12, p. 2.

MIZEJEWSKI, Gerald. Congenital Deficiency versus Hereditary Persistence of Human Alpha-fetoprotein: A Meta-analysis and Overview of Potential Biomedical Consequences. *Journal of Pediatric Sciences*, 2012, vol. 4, no 2, p. 1-19.

MORALES, Monica, THEUNISSEN, Jan-Willem F., KIM, Carla F. Bender, *et al.* The Rad50S allele promotes ATM-dependent DNA damage responses and suppresses ATM deficiency: implications for the Mre11 complex as a DNA damage sensor. *Genes & development*, 2005, vol. 19, no 24, p. 3043-3054.

National Eye Institute. Télangiectasie. **In** : Wikipédia [En ligne]. (Modifié le 28/02/2018). Disponible sur : <<https://fr.wikipedia.org/wiki/Télangiectasie>> (consulté le 20/06/2018).

NOORDZIJ, Jeroen G., WULFFRAAT, N. M., HARALDSSON, Ásgeir, et al. Ataxia-telangiectasia patients presenting with hyper-IgM syndrome. *Archives of disease in childhood*, 2009, vol. 94, no 6, p. 448-449.

OXELIUS, Vivi-Anne, BERKEL, A. Izzet, et HANSON, Lars Å. IgG2 deficiency in ataxia-telangiectasia. *New England Journal of Medicine*, 1982, vol. 306, no 9, p. 515-517.

PAULA-BARBOSA, M. M., RUELA, C., TAVARES, M. A., et al. Cerebellar cortex ultrastructure in ataxia-telangiectasia. *Annals of neurology*, 1983, vol. 13, no 3, p. 297-302.

Passeport Santé. Index des parties du corps de A à Z [En ligne]. (Mise à jour en 2014). Disponible sur : <<https://www.passeportsante.net/fr/parties-corps/Fiche.aspx?doc=cervelet>> (consulté le 20/06/2018).

PERLMAN, Susan, BECKER-CATANIA, Sara, et GATTI, Richard A. Ataxia-telangiectasia: diagnosis and treatment. In : *Seminars in pediatric neurology*. Elsevier, 2003. p. 173-182.

PERREAULT, Sébastien, BERNARD, Geneviève, LORTIE, Anne, et al. Ataxia-telangiectasia presenting with a novel immunodeficiency. *Pediatric neurology*, 2012, vol. 46, no 5, p. 322-324.

PETERSON, Raymond DA, COOPER, Max D., et GOOD, Robert A. Lymphoid tissue abnormalities associated with ataxia-telangiectasia. *The American journal of medicine*, 1966, vol. 41, no 3, p. 342-359.

PETERSON, Raymond D A., KELLY, William D, et GOOD, Robert A. Ataxia-telangiectasia association with a defective thymus, immunological-deficiency disease, and malignancy. *The Lancet*, 1964, vol. 283, no 7344, p. 1189-1193.

RECKTENWALD, DIETHER J. Introduction to flow cytometry: principles, fluorochromes, instrument set-up, calibration. *Journal of hematotherapy*, 1993, vol. 2, no 3, p. 387-394.

REICHENBACH, J., SCHUBERT, R., SCHWAN, C., et al. Anti-oxidative capacity in patients with ataxia telangiectasia. *Clinical and experimental immunology*, 1999, vol. 117, no 3, p. 535.

RIVAT-PERAN, Liliane, BURIOT, Diego, SALIER, Jean-Philippe, et al. Immunoglobulins in ataxia-telangiectasia: evidence for IgG4 and IgA2 subclass deficiencies. *Clinical immunology and immunopathology*, 1981, vol. 20, no 1, p. 99-110.

ROMAGNANI, Chiara, JUELKE, Kerstin, FALCO, Michela, et al. CD56brightCD16- killer Ig-like receptor- NK cells display longer telomeres and acquire features of CD56dim NK cells upon activation. *The Journal of Immunology*, 2007, vol. 178, no 8, p. 4947-4955.

ROTHBLUM-OVIATT, Cynthia, WRIGHT, Jennifer, LEFTON-GREIF, Maureen A., et al. Ataxia telangiectasia: a review. *Orphanet journal of rare diseases*, 2016, vol. 11, no 1, p. 159.

RUIZ-BOTERO, Felipe et RODRÍGUEZ-GUERRERO, Juliet T. New mutation in ATM gen in patient whith Ataxia Telangiectasia. Clinical case. *Revistachilena de pediatria*, 2017, vol. 88, no 4, p. 524-528.

SANDLUND, John T., KASTAN, Michael B., KENNEDY, Wren, et al. A subtle t (3; 8) results in plausible juxtaposition of MYC and BCL6 in a child with Burkitt lymphoma/leukemia and ataxia-telangiectasia. *Cancer genetics and cytogenetics*, 2006, vol. 168, no 1, p. 69-72.

SHILOH, Yosef et LEDERMAN, Howard M. Ataxia-telangiectasia (AT): an emerging dimension of prematureageing. *Ageing research reviews*, 2017, vol. 33, p. 76-88.

SMITH, Larry L. et CONERLY, Stephen L. Ataxia-telangiectasia or Louis-Bar syndrome. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1985, vol. 12, no 4, p. 681-696.

SOUTH, Mary Ann, COOPER, Max D., WOLLHEIM, Frank A., et al. The IgA system: II. The clinical significance of IgA deficiency: Studies in patients with agammaglobulinemia and ataxia-telangiectasia. *The American journal of medicine*, 1968, vol. 44, no 2, p. 168-178.

STAPLES, E. R., MCDERMOTT, E. M., REIMAN, A., et al. Immunodeficiency in ataxia telangiectasia is correlated strongly with the presence of two null mutations in the ataxia telangiectasia mutated gene. *Clinical & Experimental Immunology*, 2008, vol. 153, no 2, p. 214-220.

STERN, M. H., SOULIER, Jean, ROSENZWAJG, M., et al. MTCP-1: a novel gene on the human chromosome Xq28 translocated to the T cell receptor alpha/delta locus in mature T cell proliferations. *Oncogene*, 1993, vol. 8, no 9, p. 2475-2483.

STOPPA-LYONNET, Dominique, DEBRÉ, Marianne, MICOL, Romain, *et al.* Ataxie-télangiectasie et syndromes apparentés. In : *Épidémiologie des cancers de l'enfant*. Springer Paris, 2009. p. 219-228.

STOPPA-LYONNET, Dominique. Ataxie télangiectasie. In : *Ophranet*. Edition Experts, 2016.

SYLLABA, L. Contribution a l'indépendance de l'athetose double idiopathique'et congenitale. Atteinte faniliate, syndrome dystrophique, signe du resean vasculaire conjonctival, integrite psychique. *Rev. neurol.*, 1926, vol. 1, p. 541-562.

TANAKA, T., KUROSE, A., HUANG, Xuan, *et al.* ATM activation and histone H2AX phosphorylation as indicators of DNA damage by DNA topoisomerase I inhibitor topotecan and during apoptosis. *Cell proliferation*, 2006, vol. 39, no 1, p. 49-60.

TAYLOR, A. M. R. et BYRD, P. J. Molecular pathology of ataxia telangiectasia. *Journal of clinical pathology*, 2005, vol. 58, no 10, p. 1009-1015.

TAYLOR, A. M. R. Harnden, DG, Arlett, CF. *Harcourt, S. A., Lehmann, A. R., Stevens, S., Bridges, BA Nature*, 1975, vol. 258, p. 427.

TAYLOR, A. M. R., GROOM, A., et BYRD, P. J. Ataxia-telangiectasia-like disorder (ATLD) its clinical presentation and molecular basis. *DNA repair*, 2004, vol. 3, no 8, p. 1219-1225.

TAYLOR, A. M. R., HARNDEN, D. G., ARLETT, C. F., *et al.* Ataxiat elangiectasia: a human mutation with abnormal radiation sensitivity. *Nature*, 1975, vol. 258, no 5534, p. 427.

TEIVE, Hélio Afonso Ghizoni, CAMARGO, Carlos Henrique Ferreira, et MUNHOZ, Renato Puppi. More than ataxia—Movement disorders in ataxia-telangiectasia. *Parkinsonism & related disorders*, 2018, vol. 46, p. 3-8.

TEIVE, Hélio AG, MORO, Adriana, MOSCOVICH, Mariana, *et al.* Ataxia-telangiectasia—A historical review and a proposal for a new designation: ATM syndrome. *Journal of the neurological sciences*, 2015, vol. 355, no 1, p. 3-6.

The Human Protein Atlas. Gene/Protein. [En ligne]. (2003). Disponible sur : <https://www.proteinatlas.org/> (consulté le 04/06/2018).

TRIKI, C., FEKI, I., MEZIOU, M., *et al.* L'ataxie-télangiectasie. Etude clinique, biologique et génétique de 24 cas du sud tunisien. *Revue neurologique*, 2000, vol. 156, no 6-7, p. 634-637.

UZIEL, Tamar, SAVITSKY, Kinneret, PLATZER, Matthias, *et al.* Genomic organization of the ATM gene. *Genomics*, 1996, vol. 33, no 2, p. 317-320.

VACCHIO, Melanie S., OLARU, Alexandru, LIVAK, Ferenc, *et al.* ATM deficiency impairs thymocyte maturation because of defective resolution of T cell receptor α locus coding end breaks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007, vol. 104, no 15, p. 6323-6328.

VAN DEN BOSCH, Michael, BREE, Ronan T., et LOWNDES, Noel F. The MRN complex: coordinating and mediating the response to broken chromosomes. *EMBO reports*, 2003, vol. 4, no 9, p. 844-849.

VAN DER BURGT, Ineke, CHRZANOWSKA, Krystyna H., SMEETS, D. F. C. M., *et al.* Nijmegen breakage syndrome. *Journal of medical genetics*, 1996, vol. 33, no 2, p. 153-156.

VIRGILIO, Laura, ISOBE, Masaharu, NARDUCCI, Maria Grazia, *et al.* Chromosome walking on the TCL1 locus involved in T-cell neoplasia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1993, vol. 90, no 20, p. 9275-9279.

VOSS, Sandra, PIETZNER, Julia, HOCHÉ, Franziska, *et al.* Growth retardation and growth hormone deficiency in patients with Ataxia telangiectasia. *Growth Factors*, 2014, vol. 32, no 3-4, p. 123-129.

WARD, Irene M., REINA-SAN-MARTIN, Bernardo, OLARU, Alexandru, *et al.* 53BP1 is required for class switch recombination. *J Cell Biol*, 2004, vol. 165, no 4, p. 459-464.

YOREK, Mark A., DUNLAP, Joyce A., MANZO-FONTES, Arturo, et al. Abnormalmyo-
inositol and phospholipid metabolism in cultured fibroblasts from patients wit hataxia
telangiectasia. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*,
1999, vol. 1437, no 3, p. 287-300.

Annexes

Annexe 1



Télangiectasies oculaire (D'après www.wikipédia.org).

Annexe 2



BN Prospec Siemens de l'unité « Allergologie-service immunologie-CHU Beni Messous »

Annexe 3



Immulite 2000 XPI Siemens de l'unité « Allergologie-service immunologie-CHU Beni Messous »

Annexe 4



Cytomètre BD FACS Canto II de l'unité « cytométrie et déficit immunitaire-service immunologie-CHU Beni Messous »

Annexe 5

Fiche clinique des patients

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE ISSAAD HASSANI DE BENI MESSOUS
Laboratoire d'immunologie médicale
Chef de service : **Professeur DJIDJIK Réda**
Unité d'immunologie cellulaire et de cytométrie en flux
Responsable d'unité : **Dr BELAID. B**

Rendez-vous le :

...../...../.....

A 8h00, A jeun

Fiche de renseignement d'exploration des déficits immunitaires

Nom : Prénom(s) : Sexe : F M
Age : Date prélèvement : N° de Tél :
Hôpital/Service :

« IMPORTANT »

- Prière de remplir correctement la fiche (**une fiche mal remplie sera refusée**)
- Seul un résumé d'un compte-rendu médical peut remplacer cette fiche.
- L'analyse est effectuée sur **Rendez-vous**.
- Une **FNS** récente est indispensable.
- Prélèvements nécessaires : **2 tubes EDTA, 1 tube à héparine et un tube à vis en verre (sec)**
- Transport à température ambiante (pas dans des glacières ou poches de glace).

↳ SEROLOGIES VIRALES :

HIV : Positif Négatif Autres sérologies :

↳ ANTECEDANTS FAMILIAUX :

Parents consanguins : **Oui** (**2^{ème}** degré ou^{ème} degré); **Non**

Cas évocateurs de déficit immunitaire dans la famille : **Oui** ; **Non**

Décès dans la famille fratrie en bas âge : **Oui** ; **Non**

(Si **oui** joindre l'arbre généalogique)

↳ MANIFESTATIONS CLINIQUES :

Age de début des troubles :

◆ En cas d'infection, préciser la **nature**, la **récidive** et le **germe isolé** :

- Infections ORL :
- Infections pulmonaires :
- Infections cutanées :
- Infections urinaires :
- Diarrhée :
- Septicémie :
- Méningite :

Candidose buccale	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Candidose digestive	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Pneumopathie interstitielle	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Eczéma	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Ataxie	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Télangiectasie	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Albinisme partiel	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Retard de la chute du cordon ombilical	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Hypertrophie gingivale	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Gingivite	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Anémie	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Adénopathies	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Splénomégalies	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Accidents vaccinaux BCGite	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>

Manifestations auto-immunes : oui Non

Si oui la(s)quelle(s) préciser :

Autres manifestations :

- Neurologiques :
- Faciès particulier :
- Autres :

➤ EXAMENS BIOLOGIQUES :

➤ Formule numération sanguine (FNS) : date :(Indispensable.):

GR:

Hb :

VGM :

CCMH :

Plaquettes :

VPM :

GB :

Neutrophiles :%

Monocytes :%

Lymphocytes :%

Eosinophiles :%

➤ **EXAMENS RADIOLOGIQUE (TDM / Rx Thorax) :**

Ombre thymique	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Pneumopathie interstitielle	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>

Autres anomalies :

➤ **TRAITEMENT :**

- IVIG (dernière perfusion) :
- Corticoïdes, Biothérapie et/ou immunosuppresseurs depuis :

➤ **EXAMENS DEMANDES :**

- Phénotypage lymphocytaire T, B et NK (**CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56**)
- Etude des lymphocytes T naïfs / mémoires (**CD45RA, CD45RO, CD31, CD197, CD62L**)
- Etude des lymphocytes B naïfs et mémoires (**CD27, IgD/IgM, CD21, CD38**)
- Etude de la bactéricidie : **test à la DHR (Dihydrorhodamine)**
- Etude phénotypique de l'expression des molécules d'adhérence : **CD18, CD11, CD15**
- Etude de l'axe **IL-12 / IFN-γ** (Interféron Gamma).
- Etude de l'expression des molécules **HLA-DR** et **HLA-ABC**
- Etude de l'expression de la **BTK**
- Etude de l'expression de la protéine **WASp**
- Etude de l'expression de la **perforine**.
- Etude de l'expression du **CD132** (chaîne γ commune) et **CD127** chaîne α d'IL-7R
- Tests de transformation lymphoblastique (TTL) : **CD25, CD40L, CD71, CD69, HLA-DR**
- Phénotypage lymphocytaire **Th1, Th2** et **Th17**.
- Etude des lymphocytes T régulateurs (**CD4, CD25+, Foxp3**).

➤ **DIAGNOSTICS SUSPECTES :**

.....
.....
.....
.....

Médecin traitant

Annexe 6

Tableau 5 : Les taux des immunoglobulines et de l'alpha-foetoprotéine des 19 patients A-T

Patients	IgG	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA	IgE	AFP
1	4,91	/	/	/	/	0,711	0,409	/	/
2	9,05	6,82	0,72	0,17	0,16	1,01	< 0,02	<1	112
3	12,14	11,16	0,39	0,59	<0,003	2,89	<0,002	<1	53,4
4	<0,167	<0,158	<0,02	<0,006	<0,003	0,809	<0,2	<1	54,1
5	5,68	1,025	0,329	0,15	12,437	0,316	0,585	88,4	0,683
6	11,04	8,1	1,79	0,65	0,5	0,67	1,01	130	<0,200
7	0,179	<0,15	<0,02	<0,006	<0,003	5,69	<0,02	<1	50,1
8	8,72	/	/	/	/	2,67	0,928	/	/
9	9,77	7,205	0,468	0,417	0,015	4	/	<1	52
10	7,12	5,21	0,56	0,66	0,003	2,68	1,83	4	130
11	7,97	8,304	0,28	0,242	0,045	1,25	<0,0606	<1	374,5
12	3,913	3,42	0,08	0,41	<0,003	2,04	2,01	153	> 300
13	11,8	6,585	3,221	0,688	0,835	0,86	1,31	83,3	0,341
14	0,567	0,319	<0,02	0,012	0,003	9,496	<0,022	<1	109,4
15	20,61	17,81	0,89	0,42	0,045	4,697	<0,002	<1	55,4
16	10,76	5,78	4,35	0,33	0,3	0,43	0,27	2,15	115
17	14,4	/	/	/		1,77	<0,244	/	/
18	1,45	/	/	/		0,147	0,214	/	249,1
19	10,84	7,582	0,359	0,47	0,169	0,7	<0,02	<1	231

IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA et IgM sont exprimés en g/l

IgE et AFP en UI/ml

L'expression des résultats du dosage des immunoglobulines et de l'AFP

Les valeurs normales sont résumées comme suit :

IgGs : 5.6 – 9.6 g/l de 13 à 24 mois, 7.1 - 10.5 g/l de 25mois à 3ans, 7 - 11.6 g/l de 4 à 5ans, 6.80 – 11.8g/l de 6 à 8 ans, 6.9 – 11.5 g/l de 9 à 11ans, 8.3 – 10.7 g/l de 12 à 17 ans.

IgG1 : 3,15-9,45 g/l de 2 à 6 ans, 4,23-10,60 g/l de 7 à 11 ans.

IgG2 : 0,76- 3,55 g/l de 2 à 6 ans, 0,36-2,25 g/l de 7 à 11 ans.

IgG3 : 0,17- 1,73 g/l de 2 à 6 ans, 0,173-0,676 g/l de 7 à 11 ans.

IgG4 : 0,016- 1,15 g/l de 2 à 6 ans, 0,01-0,537 g/l de 7 à 11 ans.

IgAs : 0.26 – 0.74 g/l de 13 à 24 mois, 0.66 – 1.2 g/l de 25mois à 3ans, 0.79 – 1.69 g/l de 4 à 5ans, 0.70 – 1.90 g/l de 6 à 8 ans, 0.68 – 1.94 g/l de 9 à 11ans, 0.85 – 2.11 g/l de 12 à 17 ans.

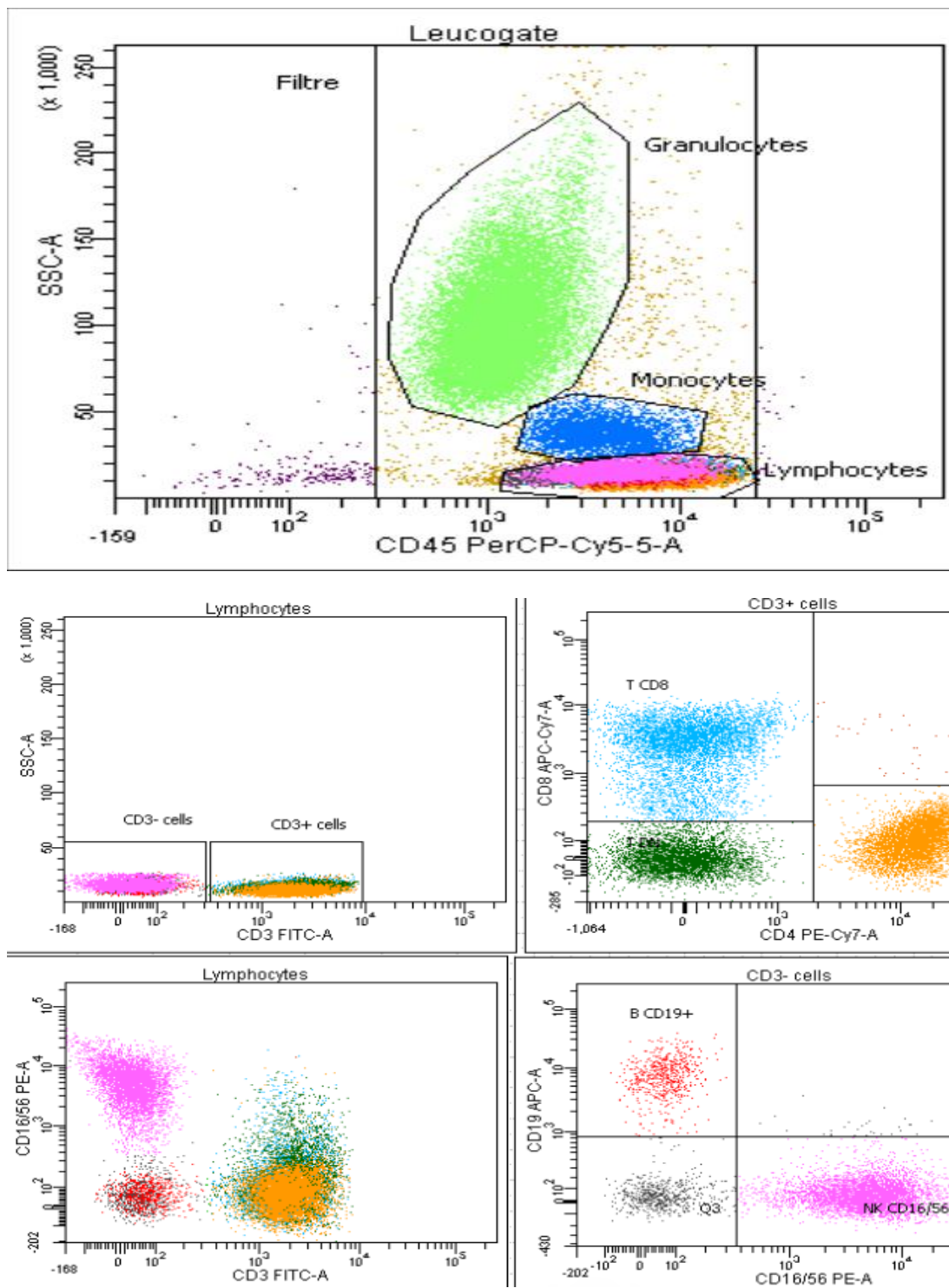
IgMs : 0.35 – 0.81 g/l de 13 à 24 mois, 0.48 – 0.75 g/l de 25mois à 3ans, 0.40 – 0.90 g/l de 4 à 5ans, 0.32 – 0.98 g/l de 6 à 8 ans, 0.39 – 0.79 g/l de 9 à 11ans, 0.62 – 1.09 g/l de 12 à 17 ans.

IgEs : 29 UI/ml de 0 à 1 an, 49UI/ml de 1 à 2ans, 45UI/ml de 2 à 3ans, 52UI/ml de 3 à 9ans, 87UI/ml pour plus de 9ans.

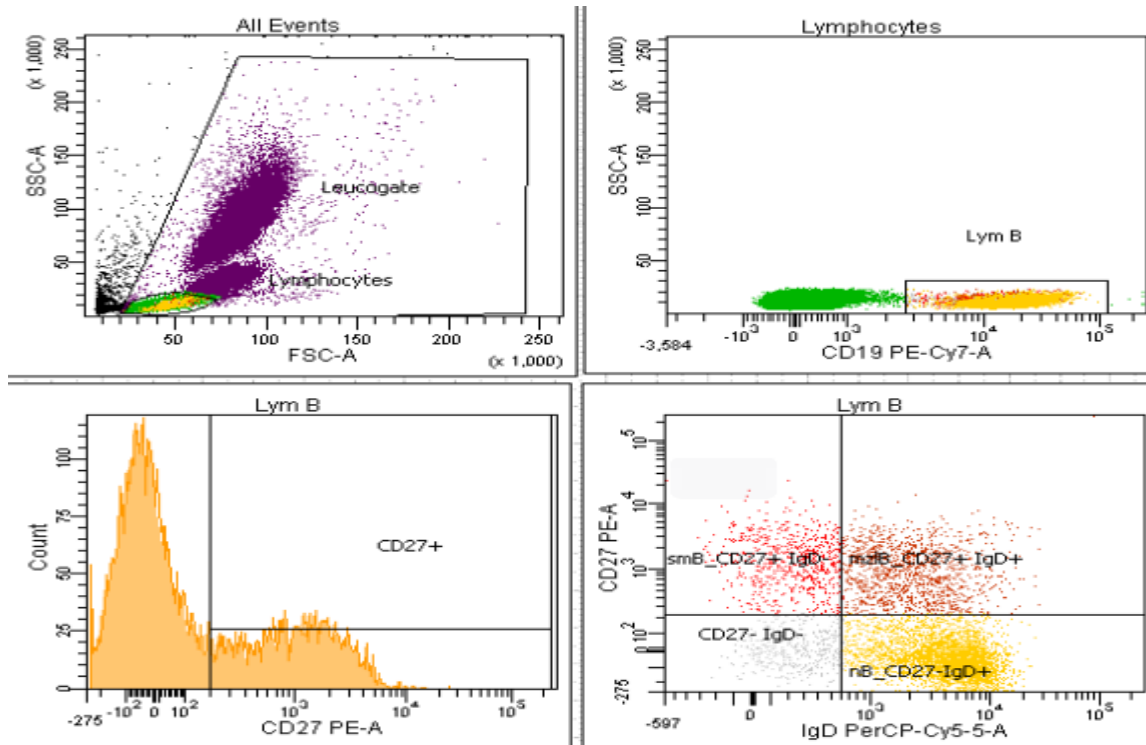
AFP : entre 0.5 à 5.5 UI/ml.

Annexe 7

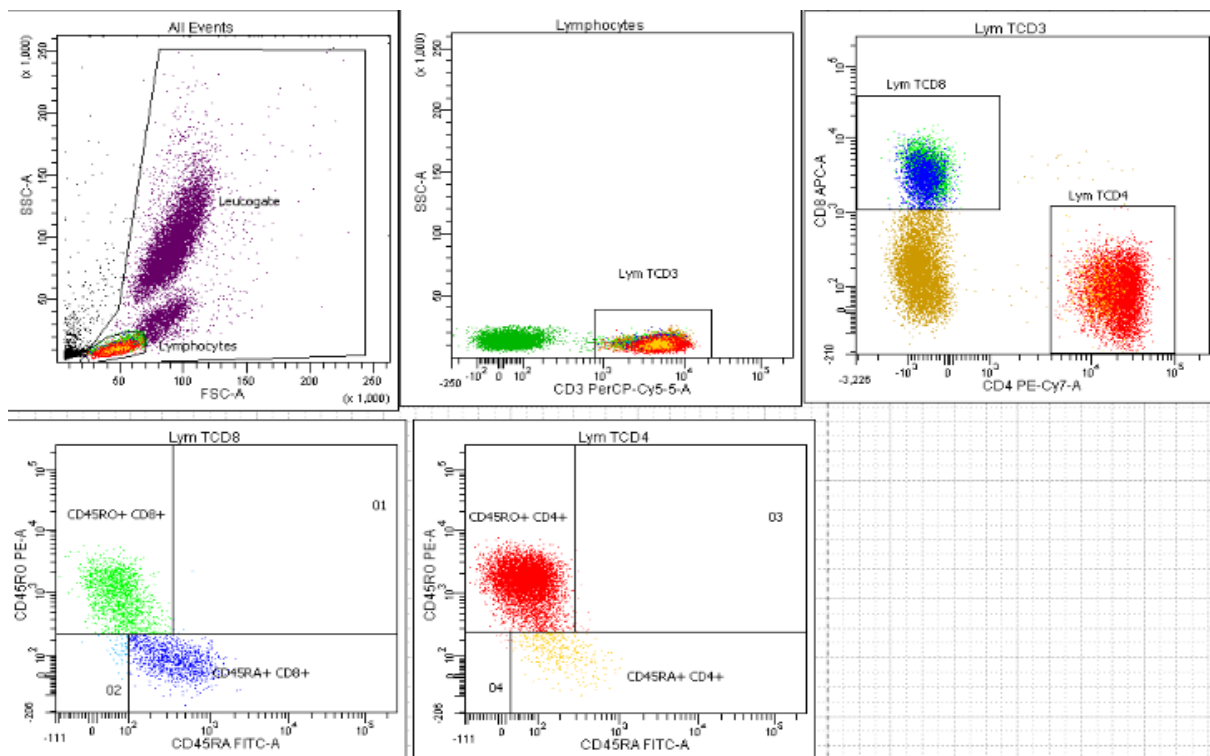
Un résultat du marquage par cytomètre en flux d'un des 19 patients



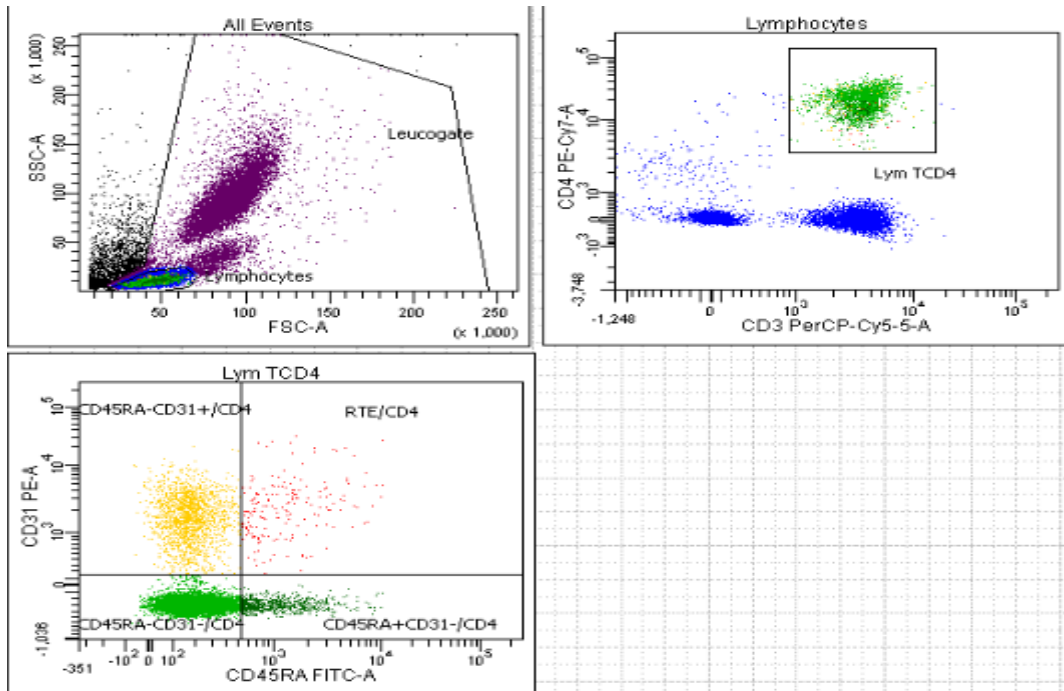
LT, LB et NK



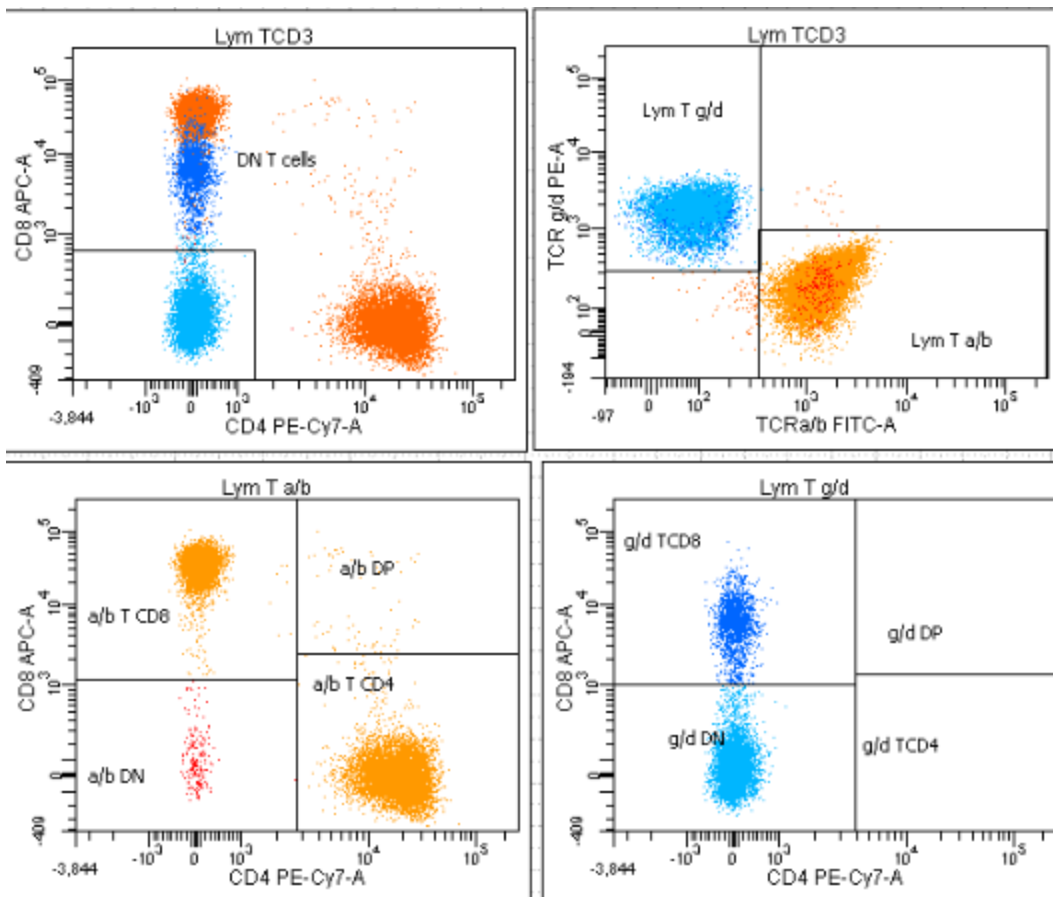
LB



RARO (LTCD4+CD45RA+/CD4+CD45RO+ et LTCD8+CD45RA+/CD8+CD45RO+)



RTE (CD4+CD45RA+CD31+)



TCR

Annexe 8

Tableau 6 : La numération des cellules lymphocytaires évaluées par cytomètre en flux chez les 19 patients

Patients	LTCD3+	LTCD4+	LTCD8+	CD4+/CD8+	LBCD19+	NKCD16+/56+
1	62	28	32	0,88	20	18
2	36,5	12,5	32	0,74	3,5	60
3	33	19,5	32	1,56	20	46
4	59	24	32	0,67	6	35
5	72	32	32	0,91	16	10
6	72	41	32	1,78	15	11
7	74	27,4	32	1,33	3	22
8	37	22	32	1,83	13	17
9	53	21	24	0,88	6	39
10	39,5	19	17	1,12	6	54,5
11	39	15	24	0,63	2	56
12	37	15,5	19	0,82	14	47
13	68	0	29	1,17	10	7
14	57	21	33	0,64	3	27
15	78	28	36	0,78	10	9
16	72	50	19	2,63	0,2	7
17	38	21	11	1,9	5	39
18	35	25	7	3,6	8	13
19	67,5	39	18,5	2,11	4	28,5

Les rapports CD+/CD8+ sont exprimés en **Éléments/mm³**

Les cellules sont exprimées en (%)

Tableau 7 : La numération des cellules lymphocytaires évaluées par cytomètre en flux chez quatre patients

Patients	LTCD4CD45RA+	LTCD4CD45RO+	RTE(CD4 CD45RA CD31+)	LTCD8CD45RA+	LTCD8CD45RO+	LB19+CD27+ IgD+	LB19+CD27+ IgD-	HLA-DR	LT TCR γ δ
1	8,5	91.5	2.5	60	40	21	11	+++	1447
2	3	97	0.6	44	56	60	10	+++	
3	1,5	98.5	0.1	30	70	12.5	13.5	+++	
4	43	57		70	30				

Les cellules sont exprimées en (%)

LT TCR γ δ est exprimé en **Éléments/mm³**

Tableau 8 : Les normes des cellules lymphocytaires

Les cellules	Normes (de 1 à 6ans) en %	Normes (de 6 à 17 ans) en %
LTCD3+	62-69	66-76
LTCD4+	30-40	33-41
LTCD8+	25-30	27-35
LBCD19+	21-28	12-22
NKCD16/56+	8-15	9-16
CD4+CD45RA	/	46-77
CD4+CD45RO	/	46-77
CD8+CD45RA	/	63-92
CD8+CD45RO	/	63-92
LB19+CD27+IgD+	4,2-6,9	7,5-12,4
LB19+CD27+IgD-	1,5-4,1	5,2-12,1

