

UNIVERSITE DE LIMOGES  
FACULTE DE MEDECINE

---

ANNEE 2001

N° 108/1

**SECRETION D'IMMUNOGLOBULINES A ET  
POLYMORPHISME DE L'ACTIVATEUR  
TRANSCRIPTIONNEL HS1,2 DU GENE  $\alpha$ 1**



**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN  
MEDECINE**

**Obtenu après soutenance du**

**MEMOIRE  
Du Diplôme d'Etudes Spécialisées de Biologie Médicale**

Présenté et soutenu publiquement  
Le 27 Février 2001 à Limoges



Par

**Corinne MANGOUKA**  
Née le 01/04/69 à Paris

**JURY**

Monsieur le Professeur ALDIGIER Jean-Claude

Président

Monsieur le professeur BEDANE Christophe

Juge

Monsieur le Professeur BENEYTOU Jean-Louis

Juge

Monsieur le Professeur COGNE Michel

Juge

Madame le Docteur DROUET-MARTIN Mireille, Praticien Hospitalier

Membre invité

## REMERCIEMENTS

Mes remerciements à Monsieur le Professeur Michel Cogné pour m'avoir confié ce travail, pour la qualité de son encadrement, sa gentillesse et sa patience.

Je remercie le Docteur Mireille Drouet pour son accueil, sa disponibilité, son soutien permanent et chaleureux tout au long de ce stage. Je lui suis également reconnaissante pour sa gentillesse et sa patience même dans les moments difficiles.

J'adresse toute ma sympathie et mes sincères remerciements à Messieurs Aldigier, Bedane et Beynetout, pour avoir bien voulu accepter de prendre part à ce jury de thèse.

Je souhaite également exprimer ma gratitude aux techniciennes du laboratoire d'immunologie pour leur aide au quotidien et leur bonne humeur.

Mes profonds et sincères remerciements à mon père et ma mère pour m'avoir transmis l'envie d'apprendre et donné les moyens d'y parvenir. Je vous remercie pour avoir toujours cru en moi et pour votre soutien tout au long de ces années. Vos conseils m'ont constamment guidé et accompagné durant toutes ces années d'études.

Merci à mes frères et sœurs pour la complicité qui nous lie et pour leurs réconforts quotidiens.

Merci à Etienne pour ses encouragements, son soutien et son amour durant ces dernières années. Merci pour ta patience et ta compréhension.

Merci à ma petite fille Shanice pour ses calins et sa joie de vivre qui me comblent de bonheur un peu plus chaque jour.

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION</b> .....	5
<b>PREMIERE PARTIE</b>	
<b>IMMUNOGLOBULINES : NOTIONS FONDAMENTALES</b>	
A/ STRUCTURE DES IMMUNOGLOBULINES .....	9
B/ SYNTHÈSE DES CHAINES D'IMMUNOGLOBULINES .....	14
C/ LES IMMUNOGLOBULINES A	
1/ Rôle des IgA .....	18
2/ Régulation des IgA .....	21
<b>IMMUNOGLOBULINES A ET PATHOLOGIE</b> .....	29
A/ MALADIES A DEPOTS D'IGA	
1/ LES DERMATOSES BULLEUSES AUTO-IMMUNES A IGA .....	31
1-1/ La dermatose à IgA linéaires .....	33
1-2/ La dermatite herpétiforme .....	37
1-3/ Pemphigus à IgA .....	39
2/ LA MALADIE DE BERGER	
2-1/ Immuno et physiopathologie .....	43
2-2/ Clinique .....	47
2-3/ Aspects évolutifs .....	50
3/ PURPURA RHUMATOÏDE	
3-1/ Physiopathologie .....	53
3-2/ Clinique .....	54
3-3/ Purpura rhumatoïde de l'adulte .....	57
B/ MALADIES AVEC AUGMENTATION CONSTANTE DU TAUX SÉRIQUE DES IGA	
1/ ETHYLISME CHRONIQUE	
1-1/ Métabolisme de l'alcool .....	58
1-2/ Immunopathologie .....	60
1-3/ Physiopathologie de la cirrhose alcoolique .....	63
1-4/ Diagnostic positif .....	67
2/ LE SYNDROME INFLAMMATOIRE .....	73
C/ DEFICIT EN IGA .....	77
<b>OBJECTIF DE THESE</b> .....	81
<b>DEUXIEME PARTIE</b>	
MATERIELS ET METHODES .....	84
RESULTATS .....	92
DISCUSSION	
<b>CONCLUSION</b> .....	113
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	114
<b>ANNEXES</b> .....	120
<b>REFERENCES DES FIGURES</b> .....	127

# Introduction

Les classes d'immunoglobulines (Ig) sont déterminées par les régions constantes de leurs chaînes lourdes. Les gènes codant pour ces chaînes lourdes sont situés sur le chromosome 14 au niveau du locus IgH.

Il existe deux sous-classes d'IgA (IgA1 et IgA2), caractérisées par des chaînes lourdes distinctes  $\alpha 1$  et  $\alpha 2$  qui comprennent trois domaines constants. Il y a donc sur le locus IgH deux gènes ( $\alpha 1$  et  $\alpha 2$ ) codant pour les IgA.

Une région régulatrice du locus IgH localisée en 3' des gènes  $\alpha$  a été identifiée [1] [2] ; elle comporte des activateurs transcriptionnels de ces gènes appelés HS1,2, HS3 et HS4 (HS pour hypersensitive site ou site hypersensible à la Dnase) qui interviennent dans les commutations isotypiques, favorisant le switch vers les IgA.

L'activateur transcriptionnel HS1,2 du gène  $\alpha 1$  présente un intérêt particulier, car il comporte en nombre variable une unité de 53 pb appelée VNTR (variable number of tandem repeat), déterminant ainsi un polymorphisme allélique [1].

Ces VNTR ont des sites de fixation pour des facteurs nucléaires qui régulent l'activité de HS1,2. Trois allèles A, B et C du gène  $\alpha 1$  ont été identifiés en fonction du nombre de répétitions du motif de 53 pb au sein de son activateur transcriptionnel HS1,2.

Une étude récemment menée dans notre service a permis de mettre en évidence un rôle pronostic de l'allèle B dans la maladie de Berger [3]. Il a également été noté au cours de

cette étude, un lien entre le taux sérique des IgA et le polymorphisme de l'activateur transcriptionnel HS1,2, mais cela de façon non significative [4].

Sachant aussi que l'activateur transcriptionnel HS1,2 est susceptible de stimuler la synthèse des IgA, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à des patients ayant une augmentation polyclonale des IgA afin d'étudier leur génotype. Se dégage-t-il un profil particulier de HS1,2 au sein du gène  $\alpha 1$  chez ces patients ?

Après un rappel des notions fondamentales sur les immunoglobulines et des pathologies impliquant les IgA, nous présenteront les résultats de notre étude sur les sécrétions d'IgA et le polymorphisme de l'activateur transcriptionnel HS1,2 du gène  $\alpha 1$ .

# **PREMIERE PARTIE**

**Immunoglobulines : notions  
fondamentales.**

**Immunoglobulines A et pathologie.**

# Les Immunoglobulines : notions fondamentales

Les immunoglobulines (Ig) constituent une famille de glycoprotéines sécrétées par les lymphocytes B et les plasmocytes et sont présentes dans les liquides biologiques (sérum, liquides extra vasculaires, sécrétions muqueuses) ainsi qu'à la surface des lymphocytes B matures (Ig de membrane ou Igm).

Dans toute réponse immunitaire, il y a deux phases essentielles : la reconnaissance de l'antigène (Ag) et la réaction destinée à l'éliminer.

La reconnaissance des antigènes par le système immunitaire s'effectue grâce aux anticorps (Ac) ou immunoglobulines produits par les lymphocytes B, d'une part, et aux récepteurs d'antigènes exprimés par les Lymphocytes T, d'autre part. Les Ac agissent comme des adaptateurs flexibles permettant aux éléments du système immunitaire de reconnaître de façon spécifique des microorganismes ainsi que leurs produits.

Tous les anticorps ont la même structure de base, mais ils diffèrent au niveau de la région qui se lie à l'antigène.

## A/ Structure des immunoglobulines

Il existe cinq classes d'immunoglobulines (IgG, IgA, IgM, IgD et IgE), et des sous-classes pour les IgG et les IgA.

Les immunoglobulines sont constituées de chaînes polypeptidiques : 2 chaînes légères L ( $\kappa$  ou  $\lambda$ ) et 2 chaînes lourdes H ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$ ,  $\gamma_4$ ,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  et  $\epsilon$ ) identiques.  $\mu$  pour les IgM,  $\delta$  pour les IgD,  $\gamma$  pour les IgG,  $\alpha$  pour les IgA et  $\epsilon$  pour les IgE.

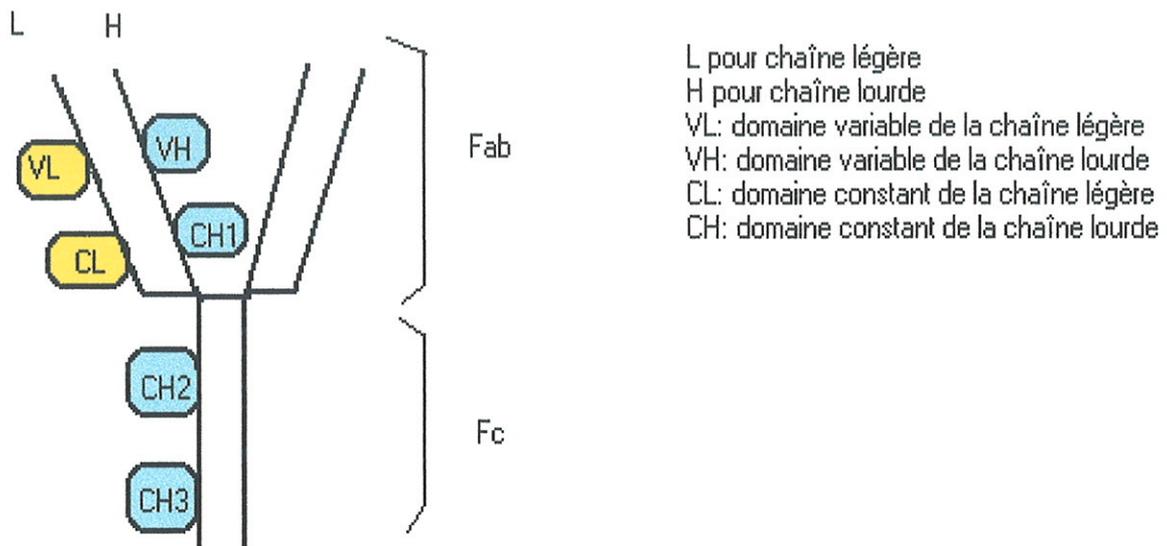
La chaîne légère (25 kDa) est commune à toutes les classes, tandis que la chaîne lourde (50 à 70 kDa), varie selon la classe et la sous-classe.

La région charnière des Ig peut être clivée par la papaine, une enzyme protéolytique, ce qui aboutit à la production de deux fragments identiques (Fab) qui fixent l'Ag et d'un troisième fragment (Fc) qui assure les propriétés effectrices de la molécule, différentes selon les classes et sous-classes d'Ig.

(Fab = Fragment liant l'Ag ou Ag binding. Fc = Fragment cristallisable).

Chaque chaîne possède deux régions distinctes : une variable et une constante. La région variable est constituée d'un seul domaine (VL ou VH), La région constante d'un domaine pour les chaînes légères, mais de trois à quatre domaines pour les chaînes lourdes en fonction de la classe de l'Ig.

**Figure 1: Structure d'une immunoglobuline**



Chacun des domaines variables possède trois zones hypervariables ou région déterminant la complémentarité.

Le paratope ou site de liaison (zone qui interagit de façon stéréospécifique avec la structure complémentaire appelée épitope ou déterminant antigénique sur la molécule d'antigène) est formé par la juxtaposition dans l'espace des zones hypervariables séparées par des régions plus conservées (régions charpentes).

Il existe trois principaux types de variabilité au niveau des Ig :

- La variabilité isotypique qui est due à la présence dans le génome de tous les individus d'une espèce donnée, des gènes codant pour les différentes chaînes lourdes et légères.
- La variabilité allotypique qui correspond à l'existence de différents allèles à l'intérieur d'une espèce.
- La variabilité idiotypique due à la diversité des sites de fixation de l'Ac (paratopes), et qui dépend de la structure des régions hypervariables.

Les deux caractéristiques de la liaison Ag – Ac sont la spécificité et la réversibilité.

Pratiquement tous les Ag naturels possèdent plusieurs épitopes, chacun d'eux pouvant provoquer l'apparition d'Ac spécifiques. Toutefois cette reconnaissance immunologique est partiellement dégénérée car un Ac peut reconnaître une famille d'épitopes (avec des affinités variables) et un épitope peut être reconnu par une famille d'Ac. Enfin un Ac peut reconnaître des Ag différents mais porteurs d'épitopes qui se ressemblent.

Les propriétés biologiques dépendantes du fragment Fab sont pour les IgG, IgM, et IgA circulantes, l'agglutination des germes et la neutralisation des toxines, et pour les IgM et IgD de membrane, la reconnaissance de l'Ag par le lymphocyte B.

Les propriétés biologiques du fragment Fc sont :

- La fixation du complément : les IgG1, IgG2, IgG3 et les IgM sont capables, après liaison de l'Ag au site Ac, de fixer, au niveau du domaine CH2, la fraction C1q du complément et donc d'activer le complément par la voie classique. Si une molécule d'IgM est suffisante, il faut deux molécules d'IgG conjointes pour

permettre la fixation du C1q. Les conséquences possibles sont la lyse de la cellule ou de la bactérie portant l'Ag par l'intermédiaire du complexe lytique C5b-9 et l'opsonisation (facilitation de la phagocytose du complexe Ag – Ac – complément par les cellules phagocytaires possédant un récepteur pour le C3b). Des Ig agrégées (IgG ou IgA ou IgE) sont capables d'activer le complément par la voie alterne au niveau de C3.

- La fixation cellulaire des Ig (Ac cytophiles).
- Le passage transplacentaire : les IgG sont les seules Ig capables de traverser le placenta et donc de passer dans le sang de l'enfant où on les retrouve après la naissance pendant les trois premiers mois (à un taux décroissant). Ce transfert est un phénomène actif lié à la présence sur les cellules placentaires de récepteurs au fragment Fc des IgG.
- Le catabolisme des Ig : la vitesse de catabolisme des Ig sériques, déterminant la demi-vie sérique, est une fonction réglée par le fragment Fc. Les IgG (à l'exception des IgG3) ont une demi-vie longue de 22 jours alors que les autres Ig ont une demi-vie variant de 2 à 8 jours ( par ordre croissant : IgE, IgD, IgA, IgM, IgG3).

Les Ac agissent donc de différentes façons :

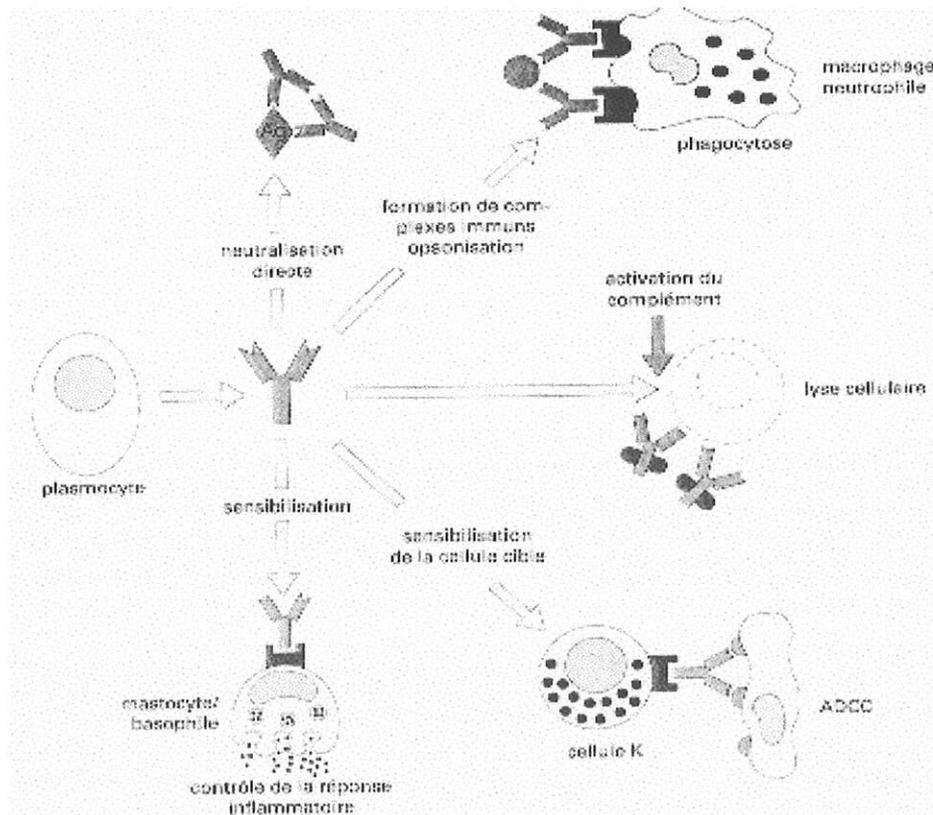
- par neutralisation directe de l'Ag
- par sensibilisation des mastocytes ou des Polynucléaires basophiles (entraînant leur dégranulation, pour intervenir dans le contrôle de la réponse inflammatoire) ou encore des cellules NK (natural killer)
- par activation du complément provoquant la lyse cellulaire

- par formation de complexes immuns qui vont opsoniser les cellules et provoquer leur phagocytose par les macrophages et les polynucléaires neutrophiles (PNN) [5].

(cf. figure 2).

La région charnière assure la flexibilité de la molécule dont les deux bras, portant les paratopes, sont mobiles dans l'espace.

**Figure 2 : mode d'action des anticorps**



Après avoir vu la structure générale des immunoglobulines, nous allons dans le chapitre suivant nous intéresser à la synthèse et à l'assemblage de leurs chaînes qui ont lieu dans les cellules de la lignée B.

## **B/ Synthèse des chaînes d'immunoglobulines**

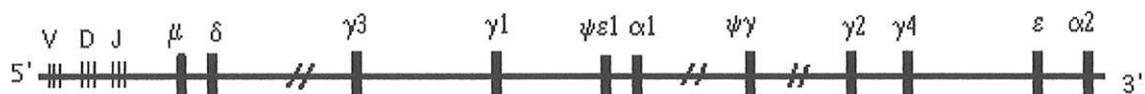
La synthèse et l'assemblage des chaînes d'immunoglobulines s'effectuent au niveau des cellules lymphoïdes de la lignée B, tout au long de leur différenciation dans les organes lymphoïdes centraux (moelle osseuse), puis de leur maturation dans les organes lymphoïdes périphériques.

Il y a en fait deux étapes dans la différenciation des lymphocytes B :

- la première étape a lieu dans les organes lymphoïdes centraux, en l'absence de stimulation par les Ag de l'environnement. Il s'agit d'une étape de multiplication, de différenciation et d'éducation des lymphocytes. La différenciation est caractérisée par des réarrangements génétiques aboutissant à l'expression d'un récepteur fonctionnel pour l'Ag, l'acquisition ordonnée de marqueurs de surface et un processus de sélection positive permettant d'éliminer les lymphocytes non fonctionnels.
- La deuxième étape se déroule dans les organes lymphoïdes périphériques (rate, ganglions, formations lymphoïdes associées aux muqueuses...). En réponse à une stimulation antigénique, les lymphocytes matures prolifèrent et forment un clone de cellules spécifiques de l'Ag.

Tout au long de cette différenciation, un processus de sélection négative permet également d'empêcher l'expression de récepteurs pour des auto antigènes.

Les gènes codant pour ces chaînes d'Ig se répartissent sur trois locus : deux locus pour les chaînes légères ( $\kappa$  localisé sur le chromosome 2 et  $\lambda$  sur le chromosome 22) et un pour les chaînes lourdes (IgH situé sur le chromosome 14. Cf. figure 3).



**Figure 3: Organisation du locus IgH**

Le locus IgH comporte les gènes codant pour les régions variables (V), de diversité (D), de jonction (J) ainsi que les gènes codant pour les régions constantes (C) des chaînes lourdes d'Ig réparties sur 350 Kb.

Ces régions constantes comprennent les gènes  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$  et  $\alpha$ .

Les gènes  $\gamma$ ,  $\epsilon$  et  $\alpha$  sont dupliqués en aval des gènes  $\mu$  et  $\delta$  constituant deux "demi locus" ( $\gamma_3, \gamma_1, \psi_{\epsilon}, \alpha_1$ ) et ( $\psi_{\gamma}, \gamma_2, \gamma_4, \epsilon, \alpha_2$ ) [6].  $\psi_{\epsilon}$  et  $\psi_{\gamma}$  sont des pseudogènes. 30 à 40% des gènes VH sont des pseudogènes par suite de mutations ponctuelles ou de délétions.

Chaque locus d'Ig comporte quelques dizaines de gènes V et un nombre limité de segments de jonction et de gènes constants fonctionnels.

Pour pouvoir être transcrits, ces gènes doivent subir un réarrangement qui a lieu dans les cellules de la lignée B, au stade initial de leur différenciation.

Ce réarrangement consiste à juxtaposer un gène V avec un segment J pour les chaînes légères et, pour les chaînes lourdes, un segment D avec un segment J puis un gène V avec

DJ. Cela se fait grâce à un complexe enzymatique, la recombinaise (endonucléase et ligase) qui reconnaît les signaux de recombinaison heptamère et nonamère, situés en 3' des gènes V, en 5' des segments J et de part et d'autre des segments D (l'examen des séquences nucléotidiques flanquant les segments génétiques V, D et J a mis en évidence de part et d'autre de ces segments des motifs très conservés. Ces motifs consistent en un heptamère palindromique *CAC-TGTG*, séquence de 7 nucléotides pouvant se lire dans les deux sens, séparé d'un nonamère également palindromique *ACAAAAACC*, par une séquence intercalaire. Le motif complexe associant un heptamère, l'intercalaire et le nonamère est désigné sous le terme de séquence signal de recombinaison). L'ADN intermédiaire est éliminé par délétion sous forme de boucle d'excision. L'exon VDJ est d'abord exprimé en association avec le gène constant  $C\mu$  situé immédiatement en aval.

Ces recombinaisons somatiques comportent un nombre élevé de réarrangements non fonctionnels, conduisant à la formation de codons stop qui arrêtent la transcription. L'expression d'une chaîne  $\mu$  fonctionnelle en surface inhibe en "trans" les recombinaisons sur l'autre chromosome (exclusion allélique) et initie les recombinaisons des gènes des chaînes légères dans l'ordre  $\kappa \lambda$ . Le premier réarrangement fonctionnel bloque les suivants. Grâce à ce mécanisme, chaque lymphocyte B n'exprime qu'une seule région variable de chaîne lourde et une seule région variable de chaîne légère et donc une seule spécificité Ac, conformément au principe de clonalité. Ces réarrangements définissent la séquence des régions variables et les propriétés de reconnaissance des Ig.

Un deuxième type de réarrangement appelé commutation isotypique peut survenir dans ce locus IgH. La commutation isotypique permet l'expression d'un nouveau gène constant associé à la même région variable réarrangée, après délétion du gène  $C\mu$  par un phénomène de recombinaison. L'Ig obtenue conserve les mêmes propriétés de

reconnaissance de l'Ag, mais le changement de région constante lui confère des fonctions effectrices différentes.

Cette commutation ne se produit ni au hasard ni en n'importe quel site de l'organisme. Certains Ag induisent préférentiellement la synthèse d'IgE par exemple ; ce sont les allergènes, tout comme certains parasites qui sont également la cible de réponse à IgE. Au niveau des muqueuses (intestinale ou nasale par exemple), c'est la production d'IgA qui prédomine.

Le nombre de spécificités Ac que le système immunitaire est susceptible de produire est considérable. Cette diversité est obtenue grâce à trois grands mécanismes. Le premier est de nature combinatoire : il résulte des nombreuses possibilités de recombinaison des différents segments V, D et J et d'associer de façon indépendante les régions variables de chaînes lourdes et de chaînes légères pour former un domaine variable d'Ig. Le second mécanisme est intrinsèque au processus de recombinaison V, D et J : c'est la diversité dite jonctionnelle avec la possibilité de varier la séquence nucléotidique à la jonction de ces segments qui code la troisième région hypervariable du domaine variable.

A côté de ces deux premiers mécanismes qui sont mis en jeu lors des toutes premières étapes de la différenciation lymphoïde B, le troisième mécanisme, l'hypermutation somatique, intervient sur les gènes de chaînes lourdes et légères déjà réarrangés pour y introduire des mutations ponctuelles.

L'état de la chromatine détermine l'accessibilité des locus aux enzymes de la recombinaison.

Cet état "d'ouverture" de la chromatine se traduit par l'apparition en faibles quantités de courts transcrits des segments destinés à se réarranger (ces courts transcrits reflétant l'accessibilité de ces segments aux facteurs de transcription) et est déterminé par l'expression dans les lymphocytes B, de protéines régulatrices spécifiques. Ces dernières se lient à des séquences activatrices situées dans l'intron JH-C $\mu$  et J $\kappa$ -C $\kappa$  et aussi dans les régions 3' de ces gènes.

Ces séquences longues d'une centaine de nucléotides, sont des mosaïques de motifs simples auxquels se lient des protéines, les unes ubiquitaires, telles que Oct-1, les autres spécifiques des lymphocytes B, telles que Oct-2, E12, ou NF- $\kappa$ B. C'est l'expression de ces protéines spécifiques qui, au cours du développement des lymphocytes B, contribue à déterminer la spécificité des réarrangements des gènes d'Ig des lymphocytes B, et dans ceux ci seulement.

Notre travail s'intéressant particulièrement aux IgA, nous allons leur consacrer le chapitre qui va suivre en insistant sur leur régulation.

## **C/ Les Immunoglobulines A**

### **1/ Rôle des IgA**

Les IgA représentent 15 à 20% des Ig sériques et forment la classe prédominante des Ig dans les sécrétions. C'est globalement la classe d'Ig la plus abondamment produite par

l'organisme. Les IgA des sécrétions (larmes, salive, sécrétions nasales, fluide du tractus gastro intestinal et lait maternel) sont sous la forme d'IgA sécrétoires, polymères composés de deux monomères d'IgA, d'une molécule de jonction appelée chaîne J et d'une glycoprotéine appelée pièce sécrétoire (cf. figure 4). La composante sécrétoire facilite le transport de l'IgA dans les sécrétions et la protège de la protéolyse.

Les IgA sont au contact des muqueuses correspondantes et ne sont pas les seules Ig présentes à ce niveau (on y trouve aussi des IgM sécrétoires).

Il existe deux sous-classes d'IgA : IgA1 et IgA2. Des deux sous-classes, l'IgA1 est prédominante dans le sérum et se présente sous forme monomérique, alors que l'IgA2 prédomine dans les sécrétions.

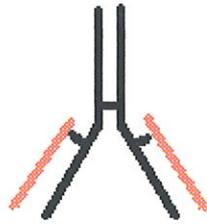
La fonction des IgA est de protéger l'organisme contre l'invasion d'Ag étrangers, d'origine alimentaire ou microbienne. Elles fixent le complément par la voie alterne et exercent une activité antivirale importante chez l'homme, en empêchant la fixation des virus aux cellules épithéliales des tractus respiratoire et gastro intestinal.

Elles constituent une première barrière de défense spécifique contre les agents infectieux bactériens ou viraux au niveau des différentes muqueuses (nasopharynx, arbre respiratoire, tube digestif, muqueuses génito urinaires).

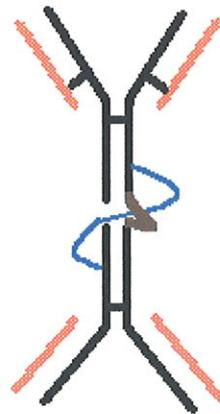
Le principal mécanisme d'action est, après fixation sur l'Ag bactérien ou viral, l'inhibition de l'adhésion du germe à l'épithélium de surface.

**Figure 4: Immunoglobuline A**

IgA forme monomérique



IgA sécrétoire: forme polymérique



- chaîne lourde
- chaîne légère
- chaîne J (molécule de jonction)
- pièce sécrétoire

## **2/ Régulation des IgA**

### **2-1/ Chez la souris**

La régulation de l'expression des IgA a été particulièrement bien étudié chez la souris.

Les phénomènes de réarrangement des gènes des chaînes lourdes d'immunoglobulines sont sous le contrôle de plusieurs éléments régulateurs [1] [2] [7] [8] [9]. En plus des promoteurs précédant chaque gène VH et CH, cinq activateurs transcriptionnels spécifiques de la cellule B ont été identifiés :

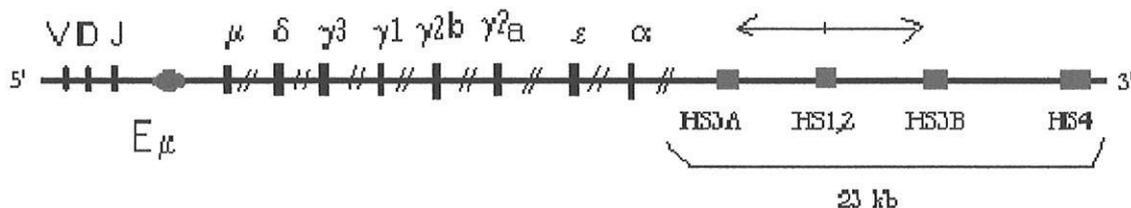
- E $\mu$  (“ enhancer ” intronique), séquence activatrice située entre les régions J et C du locus IgH et qui est active tôt dans le développement des lymphocytes B ; c'est à dire au moment des réarrangements V D J et de l'expression du gène  $\mu$  [2] [7] [8].
- Quatre activateurs localisés en 3' des gènes  $\alpha$  ( HS1,2 - HS3A - HS3B - HS4) qui agissent tard dans la différenciation des lymphocytes B [2] [7] [8].

HS3A et HS3B sont identiques, mais orientés en sens inverse de part et d'autre de HS1,2, formant ainsi une région symétrique (cf. figure 5). HS1,2 et HS3 interviennent au niveau de la commutation isotypique ainsi que dans l'augmentation de l'expression des gènes du locus IgH dans des cellules de plasmocytomes. HS4 est quant à lui efficace tout au long de la différenciation de la cellule, depuis le stade pré B [8].

Il existe une interaction entre les promoteurs de la région variable des chaînes lourdes et l'activateur transcriptionnel HS1,2 au moment de la différenciation terminale des cellules de la lignée B [9].

Une des conséquences du réarrangement est d'amener les promoteurs situés immédiatement en amont des gènes VH, à proximité des séquences activatrices. Il en résulte une augmentation importante du taux de transcription des gènes réarrangés.

**Figure 5 : région régulatrice du locus IgH chez la souris**



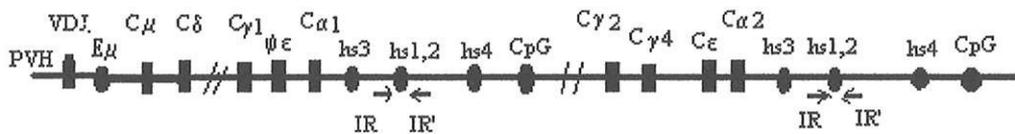
## 2-2/ Chez l'homme

Trois équipes ont identifié la région régulatrice du locus IgH humain située en 3', contenant les activateurs transcriptionnels HS3a, HS1,2 et HS4 [10].

L'organisation du locus est grossièrement similaire à celle décrite chez la souris, si ce n'est qu'il existe une duplication partielle de celui-ci, incluant les gènes  $\alpha$ . Seul l'activateur transcriptionnel intronique  $E_{\mu}$  est représenté une fois en 5'. Chez l'homme, on retrouve également des séquences répétitives disposées symétriquement de part et d'autre de HS1,2 et orientées en sens inverse [10].

En plus, des éléments CpG ont été mis en évidence en aval des deux activateurs HS4 et seraient des candidats potentiels pour un facteur régulateur qui n'a pas encore été déterminé [10].

**Figure 6 : locus IgH humain et ses activateurs transcriptionnels**



La région régulatrice du locus IgH humain située en 3' est dupliquée (y compris les gènes  $\alpha$ ) et se localise en aval des deux gènes  $\alpha$ . Elle se situe à environ 200 kb de l'activateur intronique  $E\mu$ . les activateurs transcriptionnels HS sont distants de quelques Kilobases les uns des autres, avec une structure palindromique (à l'exception de HS4).

IR pour inverted repeat ( séquences répétitives flanquant symétriquement HS1,2 et orientées en sens inverse) [10].

De nombreuses études ont mis en évidence une synergie entre les activateurs transcriptionnels[10]. En effet il existe une coopération entre  $E\mu$  et HS3a123b4 (combinaison de HS3a, HS1,2, HS3b et HS4) pour une activation maximale quelque soit le stade de différenciation des cellules de la lignée B. Ainsi, il semble que bien que les activateurs transcriptionnels situés en 3' soient par eux mêmes faibles, ils agissent comme de puissants coactivateurs lorsqu'ils se combinent à  $E\mu$ .

Le bon fonctionnement de la transcription à l'intérieur du locus IgH résulterait donc de l'équilibre et de l'effet synergique entre  $E\mu$  et les activateurs situés en 3' tout au long du développement de la cellule de la lignée B.

$E\mu$  et HS4 seraient les premiers à agir au stade préB. A un stade plus avancé, HS1,2, HS3a et HS3b deviendraient prédominants, mais agiraient quand même en synergie avec  $E\mu$  et HS4 pour atteindre une importante activité transcriptionnelle au stade plasmocytaire.

Ces activateurs transcriptionnels bénéficient comme nous pouvons le constater, d'une régulation fine durant le développement des cellules de la lignée B. Cette régulation est induite par des signaux extra cellulaires médiés par des facteurs nucléaires qui se lient à leurs sites de fixation situés au niveau même des activateurs transcriptionnels.

La région régulatrice en 3' du gène  $\alpha 1$  présente un polymorphisme principalement lié à l'activateur HS1,2.

En effet ; il y a au sein de cet activateur une insertion en nombre variable d'une unité de 53 pb appelée VNTR (variable number of tandem repeat), qui contribuerait à son activité.

Le nombre de répétitions varie selon le gène  $\alpha$  considéré :

- 4 motifs pour la région  $\alpha 2$ .
- 1, 2 ou 3 motifs pour la région  $\alpha 1$ , permettant ainsi de définir 3 allèles ;  $\alpha 1^A$  (A) lorsqu'il y a 1 seul motif,  $\alpha 1^B$  (B) lorsqu'il y a 2 motifs et  $\alpha 1^C$  (C) lorsqu'il y a 3 motifs.

Chaque activateur transcriptionnel présente des sites de fixation pour des facteurs nucléaires (Cf. figure 7). Un grand nombre de ces facteurs a été décrits au niveau de HS1,2, HS3 et HS4 [10] parmi lesquels nous citerons :

- la protéine de liaison NF- $\kappa$ B qui est un hétérodimère composé de différentes sous-unités
- la protéine NF- $\alpha$ P

- Oct-1 et Oct-2 ,des facteurs liant des sites octamères à l'intérieur de HS3a chez la souris. Ils sont spécifiques, mais ont une faible affinité pour leurs sites de fixation
- BSAP (B cell specific activator protein)
- G – rich, une zone riche en guanosine

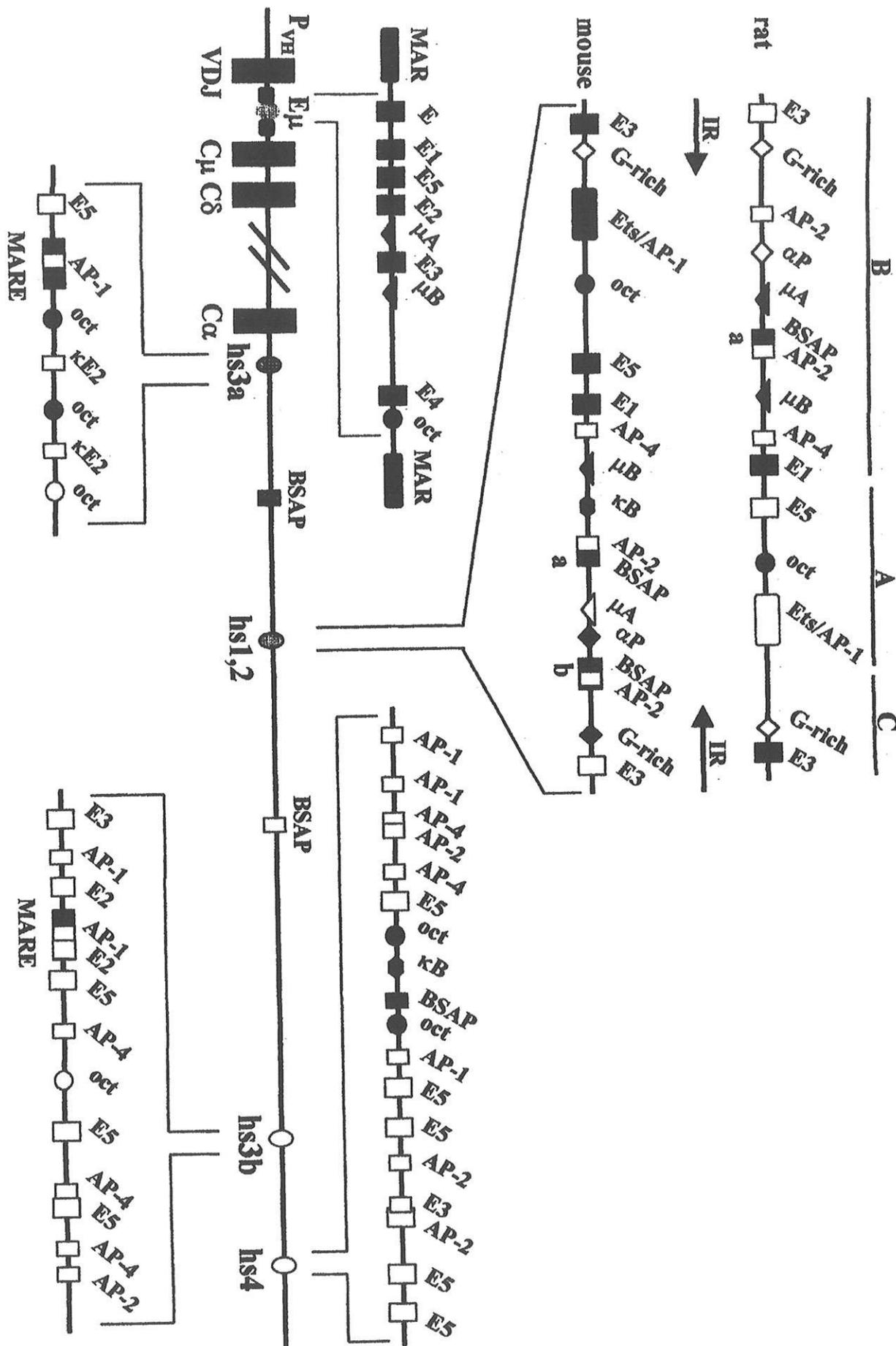
Parmi ces facteurs, certains ont des sites de fixation au sein des VNTR de l'activateur HS1,2. Ils peuvent donc se fixer avec une efficacité accrue lorsque le nombre de VNTR augmente. En effet, les VNTR comportent plusieurs sites de liaison pour les facteurs nucléaires régulant les activateurs transcriptionnels.

Cette région comprenant les VNTR joue donc un rôle dans la régulation de l'activateur HS1,2, en permettant la fixation de facteurs transcriptionnels positifs ou négatifs avec une efficacité dépendante du nombre de copies présentes.

L'allèle B qui contient deux répétitions porte une activité transcriptionnelle plus importante que l'allèle A qui n'a qu'un seul motif.

Ces facteurs nucléaires ont un rôle important dans la stimulation ou la répression des activateurs transcriptionnels HS1,2, HS3 et HS4 à différentes étapes de la maturation des cellules B [10].

Il existe une compétition entre BSAP et NF- $\alpha$ P : au début de la différenciation des cellules de la lignée B, BSAP empêche la liaison de NF- $\alpha$ P avec ses sites de fixation, réprimant ainsi l'activité de HS1,2. A ce stade, BSAP agit en corrélation avec d'autres facteurs tels que Oct-1 et G-rich. En l'absence de BSAP, HS1,2 est en fait activé par ces mêmes facteurs [10] [11].



A un stade plus tardif du développement des cellules de la lignée B, BSAP est inhibé et NF- $\alpha$ P se lie à ses sites de fixation exerçant alors une action positive sur HS1,2. La protéine  $\kappa$ B quant à elle, stimule l'activateur HS1,2 dans les cellules B au stade plasmocytaire, alors qu'elle participe à sa répression au moment de leur différenciation dans les organes lymphoïdes centraux [10] [11].

On constate que BSAP joue un rôle clé dans la répression de HS1,2 ; au début de la différenciation, BSAP empêche l'effet activateur d'autres protéines, assurant la répression de HS1,2, et au stade plasmocytaire, il est inhibé et les autres facteurs s'expriment et exercent un effet positif, probablement en interagissant avec leurs coactivateurs. En réalité, la répression de HS1,2 par BSAP est probablement plus compliquée que ce que l'on observe dans les études in vitro.

A l'inverse de HS1,2 et HS3, HS4 est actif tout au long de la différenciation des cellules de la lignée B [11].

De nombreux sites de fixation pour BSAP, 2 sites pour OCT et 1 site pour  $\kappa$ B ont été identifiés au niveau de HS4. Pour l'activateur HS4, il y a une stimulation par la protéine  $\kappa$ B et le facteur Oct-1 tout au long de la différenciation des cellules B, y compris au stade plasmocytaire, alors que BSAP en est un répresseur dans les cellules pré B et un activateur au stade de cellule B.

Ainsi, le mode de régulation des activateurs transcriptionnels par les facteurs nucléaires cités ci-dessus diffère totalement.

En effet, HS1,2 et HS4 exécutent des fonctions différentes durant la maturation des cellules B. A un stade précoce du développement des cellules B, des facteurs identiques apparaissent pour activer HS4 et réprimer HS1,2 de façon simultanée. De ce fait, les

événements régulés par HS4 sont favorisés. D'après la littérature, ce dernier pourrait potentiellement agir en coordination avec l'activateur transcriptionnel E $\mu$  au stade pré B, peut-être pour faciliter les étapes de recombinaison VDJ. Cependant au stade plasmocytaire, les mêmes facteurs peuvent être responsables de l'activation concomitante de HS1,2 et HS4 dans des événements tels que la commutation isotypique qui impliquerait également HS3 [11]. Notons que l'activité de BSAP est cruciale dans tous ces événements.

La régulation de l'activité de la région régulatrice 3' du locus IgH implique aussi bien des facteurs ubiquitaires que spécifiques de la lignée lymphoïde qui agissent comme des régulateurs positifs ou négatifs.

L'identification de nouveaux facteurs révèle une régulation plus complexe que celle établie par les diverses études menées. Cependant, il est certain que cette régulation est contrôlée par l'interaction entre des facteurs positifs et négatifs.

Afin de mieux nous situer sur un plan clinique, nous allons nous intéresser au lien qu'il peut y avoir entre les IgA et certaines pathologies comme les maladies à dépôts d'IgA, les autres maladies avec augmentation du taux sérique d'IgA ou encore les déficits en IgA.

# Immunoglobulines A et pathologie

Les IgA entrent en jeu dans de nombreuses pathologies. En principe, elles ont pour propriété la neutralisation des toxines et des virus.

Leurs valeurs sériques normales sont comprises dans une fourchette allant de 0,88 à 4,10g/l chez l'homme, de 0,7 à 3,7g/l chez la femme et de 0,4 à 3,1g/l chez l'enfant.

Les augmentations polyclonales des IgA sans réaction inflammatoire sont observées dans les cas suivants, sans explication physiopathologique précise : chez les sujets âgés, au cours de bronchites chroniques, lors de dilatation des bronches, sinusites, purpura rhumatoïde de l'enfant, certains cancers (sein, bronches, sphère ORL), lithiases, éthyliste chronique, maladie de Berger et certaines maladies auto-immunes.

En cas de syndrome inflammatoire, cette augmentation polyclonale des IgA peut s'associer à une augmentation des IgG ou des IgM ou alors dans certains cas rester isolée.

Dans des affections comme le déficit congénital ou acquis en IgA, la maladie de Biermer, le syndrome de Nézelof avec lymphopénie et IgE augmentées, il y a plutôt une diminution du taux sérique des IgA.

Cette diminution peut être inconstante dans la maladie cœliaque, la maladie de Crohn, et les rectocolites hémorragiques.

Comme nous pouvons le constater, les IgA sont impliquées dans un large éventail de pathologies. Nous allons par conséquent dans cette partie, traiter quelques-unes d'entre elles en les regroupant dans trois catégories différentes :

- **Les maladies auto-immunes à dépôts d'IgA** avec les dermatoses bulleuses auto-immunes à IgA (dermatose bulleuse à dépôt linéaire d'IgA, dermatite herpétiforme et pemphigus à IgA), la maladie de Berger, le purpura rhumatoïde.

- **Les autres maladies avec augmentation du taux sérique d'IgA**, dans lesquelles nous aborderons l'éthylisme chronique et le syndrome inflammatoire en général.

- **Les déficits en IgA.**

Pour ces différentes affections, nous allons successivement développer la physiopathologie et l'immunopathologie si elles sont connues, l'aspect clinique avec le diagnostic positif et enfin l'aspect histologique lorsqu'il s'agit d'une maladie de dépôt.

# **A/ LES MALADIES AUTO IMMUNES A DEPOT D'IGA**

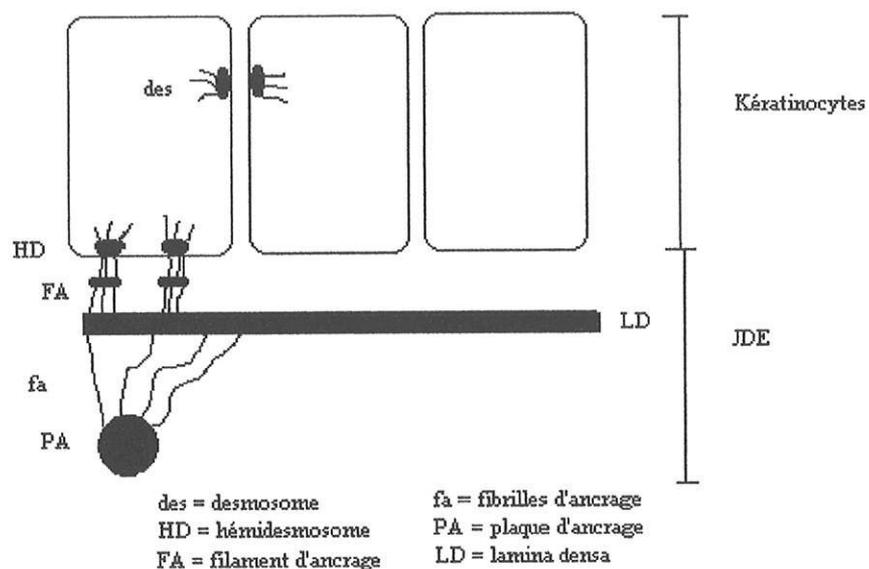
## **1/ LES DERMATOSES BULLEUSES AUTO IMMUNES A IGA**

La cohésion de l'épiderme est principalement assurée par les desmosomes qui permettent l'adhésion des kératinocytes entre eux.

La jonction dermo-épidermique (JDE) permet d'assurer une bonne cohésion entre l'épiderme et le derme sous-jacent. Elle constitue une région macromoléculaire complexe qui comprend en particulier, de la surface vers la profondeur les structures suivantes :

- Les hémidesmosomes des kératinocytes basaux.
- Les filaments d'ancrage.
- Les fibrilles d'ancrage. (cf. figure 8)

**Figure 8 : structure de la jonction dermo-épidermique**



Les dermatoses bulleuses auto immunes constituent un groupe de maladies acquises caractérisées par l'existence d'auto-Ac qui vont se fixer in vivo au niveau de structures assurant la cohésion interne de l'épiderme ou l'adhésion dermo-épidermique, avec comme traduction clinique majeure la formation de bulles cutanées.

On distingue deux grands groupes selon le type de clivage, lequel dépend des Ag cibles atteints par la réaction auto immune :

- Les dermatoses bulleuses auto-immunes intra-épidermiques (groupe des pemphigus) caractérisées par la perte de cohésion des kératinocytes entre eux, résultant généralement de l'altération des desmosomes par les auto-Ac.
- Les dermatoses bulleuses auto-immunes sous-épidermiques caractérisées par la perte de l'adhésion dermo-épidermique, résultant le plus souvent de l'altération d'une de ses structures par les auto-Ac.

La dermatose à dépôt linéaire d'IgA, la dermatite herpétiforme et le pemphigus à IgA sont trois dermatoses bulleuses auto-immunes à IgA. Les deux premières appartiennent au groupe des dermatoses bulleuses sous-épidermiques, tandis que le pemphigus à IgA rentre dans le cadre des dermatoses bulleuses intra-épidermiques.

### **1.1/ La dermatose à dépôt linéaire d'IgA**

Le concept de dermatose à dépôt linéaire d'IgA a été défini par Chorzelski en 1978 par le dépôt linéaire d'IgA au niveau de la JDE. Il s'agit d'une dermatose bulleuse chronique de l'enfant et de l'adulte [12].

#### **Signes cliniques**

Dans la forme typique de l'adulte, la dermatose à dépôt linéaire d'IgA atteint des sujets d'âge moyen (50 ans), sans prédominance de race ni de sexe.

Les lésions cutanées sont très polymorphes :

- Les bulles sont de taille variable, parfois en groupement herpétiforme. Elles apparaissent en peau saine ou sur une base érythémateuse.
- La topographie de l'éruption ne présente aucune particularité. Les lésions peuvent prédominer sur les zones d'extension, centrales ou de flexion. Il y a cependant une plus grande fréquence de l'atteinte du visage.
- Le prurit est variable, parfois intense.

L'éruption guérit habituellement sans cicatrice. Une atteinte muqueuse y est associée dans 20 à 30% des cas : ulcérations endobuccales, atteinte génitale ou oculaire avec risque de symblépharon.

Ce polymorphisme clinique doit faire évoquer le diagnostic devant toute maladie bulleuse.

Les formes cliniques sont multiples du fait de la grande diversité de la maladie :

- Forme vésiculeuse herpétiforme ou simulant un érythème polymorphe.
- Forme bipolaire avec atteinte du visage et des extrémités et/ou de la région périnéale.
- Forme muqueuse pure où l'atteinte isolée de la muqueuse buccale prédomine et est parfois de diagnostic difficile.

Chez l'enfant, l'aspect clinique est beaucoup plus stéréotypé. Cette dermatose est la plus fréquente des maladies bulleuses sous-épidermiques de l'enfant.

L'éruption débute habituellement dans la deuxième enfance, elle est le plus souvent vésiculeuse et disposée en rosettes ou en bouquets herpétiformes. Les bulles sont généralement de grande taille, tendues et à liquide clair.

Les sièges préférentiels sont la partie antérieure du tronc, les fesses, le périnée, les cuisses, plus rarement la région péri-orale, le cuir chevelu et le dos des pieds. L'atteinte muqueuse inconstante peut être sévère.

L'évolution est spontanément favorable en deux à trois ans parfois en quelques semaines seulement.

Cette maladie a été initialement considérée comme une variété de dermatite herpétiforme. Cependant, elle est actuellement une entité séparée et distincte [12].

Les patients avec une dermatose à dépôt linéaire d'IgA n'ont pas d'augmentation de fréquence de l'haplotype HLA- B8/ DRW3. L'association à une entéropathie au gluten est possible. Cette entéropathie est asymptomatique, mais des signes d'atrophie villositaire sont retrouvés dans plus de 20% des cas [13].

On retrouve une affection maligne dans 5% des cas, le plus souvent des hémopathies lymphoprolifératives qui semblent significativement associées à cette dermatose.

Quelques cas d'associations à des tumeurs solides ont été rapportés (cancer du sein, de l'estomac). Les associations à d'autres pathologies dysimmunitaires sont ponctuelles et fortuites. Quelques cas isolés d'induction médicamenteuse ont été notifiés (AINS, antibiotiques, notamment la vancomycine) avec réversibilité des dépôts à l'arrêt du traitement.

### **Paraclinique**

Sur les biopsies cutanées, l'aspect histopathologique montre dans les papilles dermiques, des bulles sous-épidermiques remplies de neutrophiles.

Les données de l'étude immunopathologique sont les suivantes :

- L'immunofluorescence (IF) directe met en évidence en peau péri bulleuse, les dépôts fins et linéaires d'IgA (IgA1) le long de la zone de la membrane basale (ZMB) de l'épiderme qui caractérisent la maladie. Dans 50% des cas, ces dépôts sont isolés, dans d'autres cas, ils sont associés à du C3, voire de l'IgG et sont beaucoup plus intenses. Les dépôts persistent longtemps même après évolution favorable de la maladie.
- Des Ac circulants anti ZMB de classe IgA sont mis en évidence par IF indirecte dans 15 à 20% des cas. On peut parfois retrouver des Ac de type IgG.
- Les examens immunopathologiques plus sophistiqués comme l'immunomicroscopie électronique et l'immunotransfert donnent en fait des résultats très variables dont la valeur diagnostique reste à démontrer. Ceci est en rapport avec l'absence de caractérisation précise des Ag cibles impliqués dans cette dermatose.

En immunomicroscopie électronique directe, la localisation des dépôts immuns est très variable. L'aspect le plus caractéristique correspond à une double localisation des dépôts en miroir de part et d'autre de la lamina densa. Cet aspect n'est retrouvé qu'au cours de la dermatose à IgA linéaire. L'aspect le plus fréquent, mais moins caractéristique, est constitué de dépôts situés sous la lamina densa, dans la zone des fibrilles d'ancrage. Leur caractère linéaire permet le plus souvent de les différencier des dépôts plus épais de l'épidermolyse bulleuse acquise.

En immunotransfert, certains sérums de patients atteints de dermatose à IgA linéaire présentent des Ac (de classe IgA) qui réagiraient avec un Ag de 97 kDa

sur extrait dermique et épidermique (l'Ag est probablement sécrété par les fibroblastes dermiques et migre ensuite dans l'épiderme) ou un Ag de 285 KDa sur extrait dermique, non encore caractérisé sur le plan moléculaire [13].

## **1.2/ La dermatite herpétiforme**

Cette dermatose plus vésiculeuse que bulleuse est rare en France et touche habituellement l'adulte jeune, plutôt de sexe masculin.

L'association à une entéropathie au gluten, en règle cliniquement asymptomatique et une prédisposition génétique (association à l'haplotype HLA B8, DR3 ou DQ2) en font une entité à part au sein des dermatoses bulleuses auto-immunes, malgré l'absence actuelle d'identification moléculaire précise des Ag cibles en cause [12][13].

C'est une maladie très prurigineuse caractérisée par une éruption papulovésiculeuse symétrique touchant avec prédilection les faces d'extension des membres, les coudes, les genoux et les fesses. Elle évolue sur un mode chronique.

Les vraies bulles sont rares, souvent de petite taille et à regroupement herpétiforme. L'atteinte buccale, à type de stomatite érosive, plus rarement vésiculeuse, est peu fréquente.

L'association à une entéropathie au gluten doit faire rechercher des signes cliniques de malabsorption (diarrhée chronique, douleur abdominale, amaigrissement) qui sont en fait rares [12].

L'examen histopathologique d'une lésion récente montre un infiltrat dermique superficiel dense fait de polynucléaires neutrophiles avec quelques éosinophiles, réalisant typiquement des micro abcès au sommet des papilles avec ébauche de décollement dermo-épidermique. En microscopie électronique, le décollement se situe sous la lamina densa. Des lésions plus anciennes peuvent montrer les signes non spécifiques d'une bulle sous-épidermique ou d'une papule excoriée [12].

L'étude immunopathologique apporte les résultats suivants :

- L'IF directe met en évidence en peau péri-lésionnelle et surtout en peau saine, des dépôts granuleux d'IgA (IgA1) situés au sommet des papilles dermiques, souvent associés à du C3.
- L'immunomicroscopie électronique directe n'a pas ici d'intérêt diagnostique (dépôts immuns dermiques, à distance de la lamina densa, sans lien avec les fibrilles d'ancrage).

Dans cette affection, l'exploration digestive systématique à la recherche d'une maladie cœliaque doit être réalisée (test au D-xylose, biopsie jéjunale). Cette entéropathie, cliniquement asymptomatique dans 95% des cas, est moins sévère que lorsque la maladie cœliaque est isolée. Des Ac anti gliadine, anti réticuline ou anti endomysium sont parfois retrouvés, et sont assez bien corrélés à l'intensité de l'entéropathie [13].

Les dépôts cutanés d'IgA ne sont pas modifiés lors du contrôle de la maladie par les médicaments. Cependant, ces immunoréactifs peuvent diminuer en intensité ou disparaître chez les patients maintenus pendant de longues périodes sous un régime strict sans gluten. Si ce régime est poursuivi pendant une période suffisamment longue, il peut permettre le contrôle de la maladie cutanée et par la suite, il peut ne plus être possible de mettre en évidence des IgA sur la membrane basale.

Chez ces patients, une exposition ultérieure au gluten modifie la morphologie de leur intestin grêle, favorise une poussée de la dermatose et est associée à la réapparition d'IgA au niveau de leur membrane basale épidermique.

### **1.3/ Pemphigus à IgA**

Le pemphigus à IgA peut être défini comme une maladie vésiculopustuleuse ou bulleuse, caractérisée histologiquement par la présence de pustules intra-épidermiques et de dépôts intra-kératinocytaires d'IgA en IF directe.

Cette maladie peut être divisée en deux sous types en fonction de la localisation des pustules et des dépôts d'IgA dans l'épiderme. Ebihara et Hashimoto distinguent le type SPD (subepidermal pustular dermatosis) caractérisé par des dépôts d'IgA et la présence de polynucléaires neutrophiles (PNN) dans la région sous cornée et la pustulose intra-épidermique décrite par Huff (type IEN : intra epidermal neutrophilic) dans laquelle les dépôts d'IgA et les pustules sont localisés sur toute la hauteur de l'épiderme.

#### **Physiopathologie**

Les mécanismes à l'origine de l'accumulation des PNN dans l'épiderme et du clivage intra-épidermique sont mal connus.

Quelques observations suggèrent le caractère directement pathogène des IgA [14].

L'hypothèse couramment avancée est celle d'une action chimiotactique directe ou indirecte (complément dépendante) des IgA sur les PNN [15].

Par leur capacité de liaison aux PNN, les IgA pourraient constituer un facteur chimiotactique de ces cellules dans l'épiderme, ce qui expliquerait la colocalisation fréquente des dépôts d'IgA et de l'infiltrat de PNN [16].

Le clivage intra-épidermique pourrait résulter de la libération d'enzymes lysosomiales et de dérivés de l'oxygène actif par les PNN [15].

Les Ag reconnus par les auto-Ac au cours du pemphigus à IgA ne sont pas encore tous individualisés.

Les différents Ag identifiés jusqu'à présent comme reconnus par les IgA sont: la desmocolline 1 et plus rarement, la desmogléine 1 et la desmogléine 3. Des Ac anti desmocollines sont le plus souvent détectés [15].

Les auto-Ac anti desmocolline 1 ne sont cependant pas pathognomoniques du pemphigus à IgA, puisque des Ac reconnaissant cette protéine peuvent être détectés dans des sérums de pemphigus superficiel sporadique ou endémique, ainsi que dans quelques sérums de pemphigus vulgaire [15].

La desmogléine 1 et la desmogléine 3 sont plus rarement reconnues par les sérums de pemphigus à IgA [15].

Il existe en fait vraisemblablement des formes de passage entre pemphigus classique et pemphigus à IgA.

### **Tableau clinique**

La maladie touche aussi bien les hommes que les femmes. L'âge de début des symptômes est très variable. Il ne semble pas exister de prédominance géographique ni raciale [17] [18].

Il existe un certain polymorphisme clinique, certains cas se rapprochant cliniquement d'un pemphigus superficiel ou d'un pemphigus herpétiforme.

Des lésions ulcérées proches du pyoderma gangrenosum ont été décrites dans un cas [19].

Une atteinte de la muqueuse buccale a été rapportée dans deux observations [20].

Dans la plupart des cas décrits, la lésion élémentaire est constituée d'une pustule de 0,5 à 1cm de diamètre qui fait parfois suite à une vésiculobulle fugace. Les pustules rondes ou ovales sont flasques et présentent de façon caractéristique un niveau de pus surmonté d'un liquide clair appelé hypopion. Elles s'assèchent en quelques jours et laissent place à une squame sèche ou à une croûte mélicérique.

Les pustules ont tendance à se regrouper pour former des plaques pustuleuses annulaires ou polycycliques à contour serpiginieux et à extension centrifuge.

Une pigmentation brune transitoire peut persister lorsque la croûte tombe, mais la guérison se fait habituellement sans cicatrice.

Les lésions intéressent préférentiellement le tronc, les plis axillaires et inguinaux, la région sous mammaire et les zones de flexion des membres. L'atteinte des paumes et des plantes est inhabituelle. L'extrémité céphalique et les muqueuses sont toujours respectées.

Un prurit modéré est parfois retrouvé . L'état général est conservé au cours des poussées qui ne sont habituellement pas fébriles.

L'évolution est chronique mais le plus souvent bénigne, malgré la survenue de poussées parfois responsables de lésions disséminées.

### **Paraclinique**

L'examen histologique des lésions montre le plus souvent une pustule uniloculaire sous-cornée siégeant sur un épiderme intact.

Les pustules sont parfois rencontrées à d'autres niveaux de l'épiderme soit de façon isolée, soit en association à des pustules sous-cornées [17].

Une acantholyse modérée est fréquemment présente.

En immunohistochimie, la présence de dépôts d'IgA en IF directe est caractéristique de la maladie.

Ces dépôts inter kératinocytaires sont parfois localisés aux couches superficielles de l'épiderme (Type SPD) ou intéressent l'ensemble de l'épiderme (type IEN).

Des dépôts intercellulaires d'IgG ou de C3 sont parfois associés aux dépôts d'IgA.

La recherche d'Ac anti épiderme circulants d'isotype IgA n'est positive que dans 50% des cas, donnant généralement un aspect de fluorescence superposable à celui obtenu en IF directe.

Des Ac circulants de classe IgG sont rarement retrouvés en association aux IgA et posent le problème du rapport de cette affection avec les pemphigus classiques.

Une étude en immunomicroscopie électronique a été réalisée dans quatre cas, montrant dans un cas des dépôts d'IgA prédominant sur les structures desmosales, et dans les trois autres, des IgA réparties uniformément le long de la membrane cytoplasmique des kératinocytes [21] [22] [23] [24].

## **2/ LA MALADIE DE BERGER**

La maladie de Berger ou néphropathie à IgA a été décrite pour la première fois par Berger et Hinglais en 1968. Elle est caractérisée par des épisodes récidivants d'hématurie macro ou microscopique.

Les dépôts d'IgA dans le tissu rénal ne sont pas pathognomoniques de la maladie de Berger qui ne représente que 50% de l'ensemble des néphropathies à IgA. En effet, ils sont également observés dans la cirrhose hépatique, le lupus érythémateux disséminé, le purpura rhumatoïde[25]. Par opposition, la maladie de Berger est une néphropathie idiopathique. Dans les pays européens, c'est la plus fréquente des néphropathies glomérulaires primitives.

Les dépôts d'IgA sont formés d'IgA1 avec une prédominance de chaîne  $\lambda$ , associée à la chaîne J, indiquant qu'il s'agit d'IgA polymères, mais sans composant sécrétoire.

Le rôle d'une réponse à IgA contre des Ag présents dans l'environnement ( en particulier dans l'alimentation telle la gliadine) a été étudié, sans qu'il soit possible de tirer des conclusions de ces travaux.

La maladie est fréquente chez les caucasiens, asiatiques et très rare chez les noirs.

L'élévation des IgA sériques a une valeur diagnostique positive lorsqu'elle est présente.

La ponction biopsie rénale est indispensable pour permettre le diagnostic de cette glomérulonéphrite.

Des études récentes ont mis en évidence un lien entre la maladie de Berger et le chromosome 6 (6q 22-23). Cette découverte indique pour la première fois l'existence d'un locus impliqué dans le développement de la pathologie [26].

## **2.1/ Immuno et physiopathologie**

Il existe de multiples mécanismes impliqués dans la maladie de Berger, cependant, sa pathogénie est encore mal connue.

Une infection de la sphère ORL précède souvent les épisodes d'hématurie. On note chez les patients au niveau des amygdales, une présence accrue de cellules synthétisant des IgA

et un dysfonctionnement immunitaire. Le taux des IgA et plus particulièrement des IgA1 est élevé dans les sécrétions nasales, pharyngées et salivaires.

On observe également chez ces patients, une augmentation de la perméabilité intestinale, favorisant l'entrée des Ag alimentaires et bactériens dans la circulation, entraînant la synthèse d'IgA. Au niveau de leur moelle osseuse, il y a un taux plus important de plasmocytes à IgA1 que dans la population normale, ainsi que chez certains membres de leur famille.

Cette production accrue d'IgA dans les systèmes muqueux et médullaire explique l'élévation du taux sérique d'IgA chez ces patients.

Les IgA sériques incriminés vont se lier aux Ag et former des immuns complexes qui vont se déposer au niveau des glomérules. Le dépôt mésangial des IgA n'est pas lié à un Ag donné, mais paraît impliquer une particularité non immunologique de la molécule, comme un changement d'AA, une variation de glycosylation avec déficit en résidu galactose, notamment au niveau de la charnière de l'Ac [25].

La glycosylation anormale de ces IgA pourrait dériver d'un déficit acquis ou congénital de l'activité de la  $\beta$  1-3 galactosyltransférase [27]. Ces IgA peuvent circuler sous forme monomérique ou participer à la formation d'immuns complexes ou d'autoagréats.

Ainsi liées, les IgA échappent à la clairance hépatique. Elles ne se lient pas aux asialoglycoprotéines (récepteurs aux IgA au niveau des hépatocytes) et présentent une affinité accrue pour les récepteurs Fc $\alpha$  des cellules mésangiales. Elles se déposent alors préférentiellement au niveau du mésangium.

Ce dépôt d'IgA dans le mésangium est suivi d'une activation des cellules mésangiales, conduisant à une augmentation du calcium cytosolique, à la contraction cellulaire, à la prolifération et à la sécrétion de médiateurs. Il y a un accroissement de la synthèse de différentes cytokines (IL-6, PDGF, IL-1, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ ) et de facteurs vasoactifs (prostaglandines, thromboxane, leucotriène, endothéline, PAF...).

En fait ces IgA ayant une glycosylation anormale modulent la réactivité des cellules mésangiales ; réactivité qui rentre en jeu dans le développement de la maladie de Berger [27].

Les cytokines synthétisées en quantité anormale jouent un rôle important dans la commutation isotypique. Elles interviennent dans le switch vers les IgA et les IgE, et par conséquent régulent leur synthèse.

Un taux élevé d'IL-4 et de TGF- $\beta$  participe au développement des lésions rénales.

L'augmentation d'IL-1 et d'IL-6 accroît l'expression de l'Ag HLA DR sur les cellules endothéliales et contribue à la glomérulosclérose [25].

Les IgA circulantes peuvent avoir des activités particulières : blocage in vitro et in vivo de l'activité phagocytaire des monocytes/macrophages circulants ou spléniques, blocage de l'activité phagocytaire des PNN circulants et activité Ac vis-à-vis d'Ag alimentaires (surtout la gliadine) ou aériens.

Les cellules mononuclées sont également impliquées dans les mécanismes immunopathologiques observés dans la maladie de Berger. En effet, on observe une modification du nombre absolu de lymphocytes T, avec une augmentation des lymphocytes T mémoires, une diminution des lymphocytes T suppresseurs et un

accroissement des cellules T auxiliaires. Il existe clairement une anomalie des lymphocytes T, peut-être génétique, dans la régulation de la réponse immunitaire IgA spécifique.

Sous l'influence des cytokines, les cellules CD4 stimulent les lymphocytes B et donc la production d'IgA. C'est pourquoi il existe une corrélation entre le taux élevé de lymphocytes T auxiliaires et le taux sérique d'IgA [28][29].

Tout comme les cytokines et les cellules mononuclées, le complément participe aussi aux phénomènes immunopathologiques. Son activation entraîne des lésions glomérulaires par deux types de mécanismes :

- En provoquant un afflux de cellules dans le glomérule (polynucléaires dont les enzymes libérés et les fragments cellulaires provoquent une protéinurie).
- Par effet direct du complexe d'attaque membranaire.

La fonction principale du complément est de maintenir en solution les immuns complexes circulants et les agrégats Ag-Ac.

Comme les IgA activent faiblement la voie classique du complément mais plutôt la voie alterne, les immuns complexes formés deviennent insolubles et développent alors un potentiel pathogène considérable, lié également à une diminution de l'activité phagocytaire qui nuit à leur dégradation.

Ces immuns complexes circulants sont retrouvés dans les zones de filtration de l'organisme, essentiellement au niveau du rein où leur clairance est difficile.

C3a et C3b stimulent la synthèse de cytokines, ce qui crée un cercle vicieux dans l'évolution de la pathologie. Le dépôt de C3b dans le rein est responsable de la survenue d'une insuffisance rénale.

Pour résumer, nous dirons que les phénomènes immunologiques impliqués dans la pathogénie de cette maladie sont multiples :

- hyperactivité des cellules B ou T
- rôle des cytokines impliquées dans la commutation vers les IgA
- rôle du complément
- rôle du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)
- rôle des Ag (viraux, bactériens et alimentaires)
- interaction de différents gènes ayant un effet additif entre eux, notamment au niveau des Ig
- Susceptibilité de la cellule mésangiale.

Deux principales hypothèses se dégagent :

- Anomalie de la glycosylation des IgA dont l'origine serait génétique [25] [27].
- Anomalie génétique du switch des Ig et plus précisément des IgA. Normalement, l'introduction dans l'organisme d'un Ag par voie systémique entraîne une réponse Ac spécifique de classe IgM avec un switch secondaire vers la classe IgG. L'introduction d'un Ag par voie muqueuse entraîne une réponse Ac spécifique IgA qui limite la pénétration de l'Ag avec un switch secondaire vers la classe IgG. Des études par biologie moléculaire ont montré une anomalie des gènes contrôlant le switch pour les sous-classes IgA1 et IgA2 [30].

## **2.2/ Clinique**

La maladie de Berger est la cause la plus fréquente d'hématurie récidivante d'origine glomérulaire.

Elle touche le plus souvent les adultes jeunes, surtout de sexe masculin.

Typiquement, les épisodes d'hématurie macroscopique accompagnent des infections de type grippal ou un exercice physique important. Ils peuvent être précédés d'une infection de la sphère ORL. L'hématurie peut aussi être microscopique, associée à une protéinurie d'intensité variable et de découverte fortuite lors d'un bilan systématique.

La protéinurie est généralement inférieure à 3,5g/24h ; l'excrétion protéique étant normale ou modérément accrue.

Le diagnostic repose sur la découverte en IF de dépôts essentiellement constitués d'IgA dans le mésangium. L'étude en IF est à la base de la définition de la maladie. Les dépôts d'IgA sont par définition constants.

La biopsie rénale montre toute une série d'anomalies, mais on constate le plus souvent une glomérulonéphrite proliférative segmentaire et focale.

Dans quelques cas, la morphologie glomérulaire peut être normale en microscopie optique. On retrouve plus rarement des croissants épithéliaux.

Le signe caractéristique est la constatation en IF de dépôts mésangiaux diffus d'IgA souvent accompagnés d'une quantité moins importante d'IgG et presque toujours de C3 et de properdine, mais pas de C1q ni de C4. Du fibrinogène est également souvent visible dans le mésangium ou dans les croissants s'ils existent.

La classification de Churg et Sobin distingue cinq stades (de I à V) selon les atteintes observées. Cette classification morphologique nécessite l'analyse d'au moins neuf glomérules rénaux en microscopie optique.

- Stade I : les glomérules sont en majorité normaux. On peut noter un discret épaissement du mésangium dans quelques glomérules. Il n'y a pas de prolifération cellulaire.
- Stade II : prolifération mésangiale dans moins de 50% des glomérules. Les lésions restent minimales. Il n'y a pas d'atteinte tubulaire interstitielle.
- Stade III : prolifération mésangiale diffuse, parfois associée à des œdèmes et à quelques infiltrats. Aspect général d'une glomérulonéphrite segmentaire et focale.
- Stade IV : prolifération extra capillaire marquée, entraînant le développement de croissants. Il y a moins de 50% de glomérules atteints. Ces lésions caractérisent une glomérulonéphrite mésangiale diffuse. On retrouve des signes d'atrophie tubulaire et une atteinte interstitielle.
- Stade V : stade similaire au stade IV, avec des lésions plus sévères, concernant plus de 50% des glomérules.

Les patients qui présentent une prolifération mésangiale diffuse ont un plus mauvais pronostic que ceux qui ont de faibles lésions ou une prolifération focale.

Sur le plan biologique, on note une augmentation du taux sérique des IgA totales chez 35 à 50% des patients. Il y a effectivement une synthèse accrue des Ac de la classe des IgA1.

Au cours de l'évolution de la maladie, le taux d'IgA peut rester stable ou diminuer pour revenir progressivement à des valeurs normales.

Dans la majorité des cas, les IgA1 sont fortement prédominantes, excepté chez les sujets afro américains où les IgA2 prévalent [31].

Dans 25% des cas, les IgA sont sous forme polymérique. On observe fréquemment la formation d'immuns complexes circulants.

### **2-3/ Aspects évolutifs**

Le pronostic est variable, mais la maladie a tendance à évoluer lentement. Initialement considérée comme bénigne, il est vite apparu que cette néphropathie conduisait à de graves désordres rénaux chez 10 à 30% des malades, entraînant dialyse et transplantation rénale [32] [33].

L'HTA et l'insuffisance rénale chronique (IRC) modifient le pronostic.

- L'HTA survient dans 50% des cas dans un délai de moins de 5 ans et dans 71% des cas, en moins de 10 ans. La maladie de Berger est une cause fréquente de développement d'une HTA.
- L'IRC est présente dans 2% des cas lors de la découverte de la maladie. Au cours de l'évolution sa fréquence atteint 21%. La difficulté est de définir à priori les sujets qui évolueront vers l'IRC, c'est l'objectif des facteurs de risque qui sont :

\_ des facteurs génétiques : le sexe masculin est associé à l'apparition d'une insuffisance rénale. D'autres facteurs génétiques entrent en compte, ce sont : le gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, le gène spécifique HLA DQB1 et le gène  $\alpha 1$  avec son activateur transcriptionnel HS1,2.

\_ des facteurs cliniques : une HTA initiale dès le début de la découverte est un facteur prédictif d'IRC. Une hématurie macroscopique initiale apparaît comme un facteur de bon pronostic. Cependant, les sujets avec hématurie macroscopique sont plus jeunes. En effet un meilleur pronostic est observé chez les enfants, alors qu'un âge avancé lors du diagnostic est défavorable.

Une protéinurie supérieure à 3g/24h et une créatinine élevée sont de mauvais pronostic.

Aucun facteur sérique n'a été associé au caractère évolutif. La valeur des IgA sériques et/ou le caractère augmenté des IgA sériques ne sont pas corrélés à l'évolution ultérieure éventuelle vers l'IRC.

Une étude récente menée au sein de notre service a démontré l'influence du polymorphisme HS1,2 dans la maladie de Berger. La région HS1,2 du gène  $\alpha 1$  aurait un rôle pronostic dans la maladie ; le facteur de risque calculé pour le phénotype BB étant plus important que celui conféré par l'allèle HLA-DQB1\*0301, considéré comme référence.

L'allèle A semble apporter un caractère protecteur ; il est plus souvent retrouvé chez les sujets dont l'évolution de la maladie reste stable. L'allèle B au contraire représente un facteur de risque, car il est significativement associé à une évolution défavorable de la néphropathie. Un sujet de phénotype BB présente trois fois plus de risque d'évoluer vers la transplantation rénale [3].

### **3/ PURPURA RHUMATOÏDE**

Le purpura rhumatoïde ou purpura de Henoch - Schönlein est une vascularite nécrosante d'étiologie inconnue, avec des dépôts d'immuns complexes à IgA. La nature de l'Ag et l'Ac réagissant avec l'IgA est inconnue. C'est la plus commune des vascularites de l'enfant. Il n'affecte que rarement l'adulte [34].

Il existe une discrète prédominance masculine (sex-ratio 1.2 à 1.5) et une fréquence accrue en automne et en hiver [34].

La race blanche est plus fréquemment concernée que la race noire, notamment vis-à-vis du risque de néphropathie. Dans 25 à 90% des cas, on retrouve un facteur déclenchant : le plus souvent, infection bactérienne (streptocoque, mycoplasma pneumoniae, clostridium difficile, staphylocoque) ou virale (parvovirus B19, virus d'epstein-Barr, adenovirus, virus ourlien, virus de l'immunodéficience humaine [VIH] ), plus rarement infection parasitaire, toxique (piqûre d'insecte, cocaïne) ou prise médicamenteuse (vaccination, antibiotiques, AINS, inhibiteurs de l'enzyme de conversion).

Toutefois, la relation de cause à effet est souvent difficile à établir et l'origine de la maladie demeure actuellement inconnue.

Un terrain particulier est parfois retrouvé : allergie, liaison à certains Ag d'histocompatibilité, déficit en complément (C2 et C4), déficit en sous-classes d'IgG

(IgG2 et IgG3), déficit en  $\alpha$ 1 antitrypsine. Par ailleurs des cas de purpura rhumatoïde ont été rapportés en association avec la maladie de Hodgkin, le syndrome de Wiskott-Aldrich, certaines hépatopathies, l'intolérance au gluten, la maladie de Crohn.

Plusieurs de ces affections comportent des anomalies quantitatives ou qualitatives des IgA.

### **3-1/ Physiopathologie**

Les anomalies à l'origine de cette vascularite à IgA, correspondent vraisemblablement à une cascade d'évènements secondaire à l'équivalent humain d'une maladie sérique, survenant à l'occasion de l'irruption brutale d'Ag de l'environnement (micro organismes, allergènes, virus, toxique) au sein des systèmes IgA1 muqueux et médullaires.

Le déclenchement de cette cascade semble favorisé par une déficience génétique de la clairance immune physiologique et par des anomalies constitutionnelles de la régulation des réponses inflammatoires.

Le purpura rhumatoïde fait partie des vascularites allergiques où un Ag inconnu, entraîne une hypersécrétion d'IgA avec formation d'immuns complexes à IgA ; ces immuns complexes étant responsables de lésions de vascularites.

Les désordres biologiques suivants peuvent contribuer à la compréhension de la maladie :

- **Anomalie des IgA** : augmentation des lymphocytes sécréteurs d'IgA, concentration sérique élevé d'IgA, présence d'IgA sous forme macromoléculaire, défaut de la O-glycosylation des IgA (activité  $\beta$  1-3 galactosyltransférase réduite), présence de cryoglobulines contenant IgA, C3 et properdine, présence de

complexes immuns contenant des IgA1 polymériques, présence de complexes immuns mixtes IgA-IgG-fibronectine, présence de facteur rhumatoïde à IgA1-K [35] [36] [37].

- **Agression endothéliale et activation de la fibrinolyse.**
- **Autres anomalies :** activation de la voie alterne du complément, augmentation des IgE et IgD, abaissement du facteur XIII, stress oxydant (peroxydation lipidique).

Ces anomalies, présentes à la phase active de la maladie, sont inconstantes et n'ont pas de valeur diagnostique. En pratique, il n'est jamais justifié de les rechercher.

### **3-2/ Clinique**

Le diagnostic est généralement facile à porter lorsque les signes cliniques typiques sont tous présents.

Le purpura rhumatoïde est une affection caractérisée par un purpura non thrombopénique, prédominant dans les zones déclives, volontiers accompagné d'arthralgies des grosses articulations (le plus souvent les chevilles), de douleurs abdominales et d'anomalie du sédiment urinaire.

Le purpura est de survenue brutale, se localisant au niveau des membres inférieurs de façon symétrique, avec un aspect pétéchial. Il est augmenté par l'orthostatisme et évolue par poussées.

L'état général est conservé et il n'y a ni adénopathies, ni hépatosplénomégalie.

Le début de la maladie peut ressembler à celui d'une glomérulonéphrite aiguë post infectieuse.

La biologie met en évidence une augmentation des IgA sériques à peu près chez la moitié des malades. Les taux sériques du complément sont généralement normaux.

Il n'existe aucun marqueur biologique spécifique et le diagnostic est avant tout clinique.

Un bilan rénal systématique doit être effectué, car l'atteinte rénale fréquente se manifeste essentiellement par des hématuries et une protéinurie. Dans certains cas, elle est grave, entraînant une glomérulonéphrite rapidement progressive ou un syndrome néphrotique.

La biopsie rénale lorsqu'elle est indiquée montre toute une série d'anomalies en relation avec la gravité des manifestations cliniques.

Une prolifération mésangiale diffuse modérée et/ou une glomérulonéphrite proliférative segmentaire et focale sont le plus souvent constatées quand les poussées d'hématurie macroscopique ne s'accompagnent que d'une protéinurie modérée.

Des glomérulonéphrites prolifératives plus importantes et plus diffuses, parfois associées à une prolifération extra capillaire (croissants) sont vues chez des patients qui ont une protéinurie abondante et/ou une diminution rapide de la filtration glomérulaire.

Typiquement, l'étude en IF révèle des dépôts granuleux d'IgA, d'IgG, de C3 et de fibrinogène dans le mésangium et les parois périphériques des capillaires, mais pas de C1q, de C4 ni d'IgA sécrétoire.

Les mêmes constatations d'IF sont faites dans les capillaires cutanés, que les biopsies soient réalisées en peau saine ou en peau lésée.

En microscopie électronique, on voit des dépôts électroniquement denses situés essentiellement dans le mésangium. Ces anomalies tendraient à prouver que le purpura de Henoch - Schönlein est dû à des complexes immuns circulants contenant de l'IgA.

On a retrouvé dans quelques cas des cryoglobulines et des complexes immuns circulants.

L'évolution est imprévisible, elle se fait par poussées et le traitement est avant tout symptomatique.

Dans la majorité des cas, la maladie dure un à trois mois.

La guérison spontanée est habituelle, mais il peut survenir des complications précoces et à long terme.

Les complications précoces sont d'ordre digestives, neurologiques et génitales :

- Digestives : avec l'apparition d'hématomes pariétaux (notamment au niveau du duodénum), d'une invagination intestinale aiguë iléo-iléale, de perforations intestinales, d'une sténose duodénale ou d'une entéropathie exsudative.
- Neurologique : avec la survenue d'une encéphalite ou encore de convulsions.
- Génitales : avec possible orchite aiguë.

Les complications à long terme concernent le rein et ses voies excrétrices, avec une sténose urétérale ou des néphropathies glomérulaires dans 25% des cas.

Les néphropathies sont à rechercher de façon systématique. Une protéinurie inférieure à 1g/l est en faveur d'une évolution favorable. Lorsqu'elle est supérieure cette valeur, il y a un risque d'insuffisance rénale s'il s'agit d'une glomérulonéphrite endo et extra capillaire avec croissants. Une ponction biopsie rénale est alors indiquée.

L'atteinte rénale conditionne le pronostic.

### **3-3/ Purpura rhumatoïde de l'adulte**

Le purpura rhumatoïde peut survenir à tout âge, avec les mêmes facteurs favorisants, mais il est environ 20 fois plus rare chez l'adulte que chez l'enfant.

La présentation clinique est sensiblement différente : fièvre souvent absente, mais syndrome inflammatoire biologique volontiers plus net, douleurs abdominales plus rares, manifestations articulaires plus exubérantes, évolution plus prolongée.

La néphropathie est plus fréquente, à l'origine d'une insuffisance rénale dans 10 à 15% des cas. Néanmoins, le pronostic est bon dans 85 à 90% des cas.

## **B/ AUTRES MALADIES AVEC AUGMENTATION DU TAUX SÉRIQUE DES IGA.**

Les maladies avec augmentation constante polyclonale du taux sérique des IgA sont nombreuses et variées. On peut les classer en deux principales catégories en fonction de la présence ou non d'un syndrome inflammatoire.

En effet, on retrouve une augmentation polyclonale isolée des IgA avec syndrome inflammatoire dans les maladies infectieuses localisées aux muqueuses respiratoires ou digestives, les connectivites et vascularites, dans certains cancers (en particulier ceux de la sphère ORL et des voies aérodigestives), la maladie cœliaque et la maladie de Crohn.

En cas d'éthylisme chronique, les IgA sériques sont élevées, mais sans notion de syndrome inflammatoire.

# 1/ ETHYLISME CHRONIQUE

L'alcoolisme ou syndrome de dépendance à l'alcool est défini par une alcoolodépendance et/ou une alcoolopathie (dommages somatiques secondaires à l'alcoolisation aiguë ou chronique ; alcoolodépendance : perte de la liberté de s'abstenir d'alcool).

L'alcoolodépendance comprend la dépendance physique et la dépendance psychique ou comportementale.

## 1-1/ Métabolisme de l'alcool

L'absorption digestive de l'alcool se fait par diffusion passive. Elle intervient au niveau de la première partie de l'intestin grêle essentiellement (duodénum et jéjunum).

Il existe des facteurs qui augmentent la vitesse d'absorption ; le jeûne ou la prise à jeun, la concentration d'alcool dans la boisson, les boissons gazeuses, et d'autres qui la ralentissent ; l'ingestion d'aliments, l'obésité.

Lors de l'ingestion d'alcool ou éthanol, 90% sont métabolisés et 10% éliminés.

L'éthanol subit une oxydation essentiellement hépatique en acétaldéhyde par différentes voies en fonction de la dose ingérée.

- Voie principale : voie de l'alcool déshydrogénase (ADH). Elle s'effectue au niveau du cytoplasme des cellules hépatiques, avec comme cofacteur le NAD (nicotinamide adénine dinucléotide). Cette voie est prépondérante chez les buveurs occasionnels.

- Voie secondaire : systèmes MEOS ("microsomial ethanol oxydation system") dans le réticulum endoplasmique. Cette voie est prépondérante chez les buveurs chroniques. C'est un système inductible, d'où les interactions médicamenteuses.
- Voies supplémentaires : voies accessoires au nombre de deux ; voie de la catalase et voie des radicaux libres.

L'acétaldéhyde est ensuite oxydé en acétate qui est à son tour catabolisé (transformation en acetyl-Co A métabolisé en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O et en énergie ; 7,1 calories /g d'alcool) dans le cycle tricarboxylique de Krebs.

L'excrétion des 10% de l'alcool ingéré se fait par voie rénale, pulmonaire, sudorale et salivaire.

L'éthanol absorbé par l'intestin grêle arrive directement au foie, où il devient le combustible de choix. Il y a accumulation de NADH (cofacteur NAD réduit) et accroissement de l'utilisation d'oxygène.

La néoglycogénèse est diminuée (avec pour résultat une chute de la quantité de glucose provenant du glycogène), la production d'acide lactique augmente et il y a diminution de l'oxydation des acides gras (AG) dans le cycle de Krebs et accumulation de ces derniers dans la cellule hépatique.

Ces changements sont réversibles chez l'individu sain ne prenant pas de médicaments, mais l'absorption répétée d'éthanol risque d'entraîner des modifications plus graves de la

fonction hépatique. Parmi celles ci, et à des stades variables mais qui se recouvrent en partie, l'accumulation de graisse avec stéatose hépatique, hépatite alcoolique et cirrhose.

Des études ont montré que la stéatose hépatique liée à l'alcool ne prédispose pas à la cirrhose, alors que l'hépatite alcoolique est sans doute une condition pré cirrhotique, bien que les taux de conversion soient très variés. Au cours de l'hépatite alcoolique, les hépatocytes lésés peuvent contenir des corps de Mallory ou hyaline alcoolique. Il s'agit d'amas de matière très éosinophile, péri nucléaires, correspondant à des agrégats de filaments intermédiaires.

L'évolution vers la cirrhose serait le résultat d'altérations dans l'activité immunologique d'un Ag comme la hyaline alcoolique.

Il a été montré que la hyaline alcoolique, mise au contact des lymphocytes de patients atteints d'hépatite alcoolique, causait une augmentation importante de l'index de stimulation et de production de facteurs inhibant la migration.

La présence de hyaline peut aussi stimuler la production d'Ac, car il est possible de détecter des Ac circulants anti hyaline alcoolique dans le sérum des patients [38].

En dehors de l'atteinte hépatique, l'alcool a également des effets sur le système nerveux central, l'œsophage, l'estomac, le pancréas, le système hématopoïétique, le système cardio vasculaire, le système génito urinaire, les muscles, le développement fœtal... etc.

## **1-2/ Immunopathologie**

Les taux sériques d'Ig sont fréquemment élevés au cours de l'éthylisme chronique, en particulier les IgG et les IgA, même en l'absence de cirrhose.

Le taux d'IgG reflète souvent l'activité générale de la maladie, mais l'augmentation du taux des IgA qui sont les plus touchées a lieu indépendamment de l'activité de la maladie ou de sa sévérité.

De nombreuses études ont montré l'effet toxique direct de l'alcool sur les cellules épithéliales intestinales ainsi que sur les hépatocytes. L'alcool entraîne la perte des cellules superficielles et des dommages au niveau de la muqueuse intestinale. Ces changements morphologiques sont retrouvés même en l'absence de cirrhose.

L'alcool augmente la perméabilité intestinale aux macromolécules quelque soit le degré de dysfonctionnement hépatique.

Le premier effet de l'alcool peut être la sécrétion de médiateurs pro inflammatoires comme le TNF- $\alpha$  et l'IL-6 qui peuvent augmenter la perméabilité intestinale et la sécrétion locale d'Ig.

L'altération de la barrière intestinale est responsable de l'invasion locale par des Ag de la lumière intestinale, incluant la flore bactérienne, qui stimule alors la production d'IgA par les lymphocytes de la muqueuse intestinale.

L'IL-6 cause l'activation des cellules B, entraînant leur différenciation en plasmocytes sécrétant des IgA. Il y a par conséquent une augmentation des IgA circulantes, d'origine intestinale.

La réponse à IgA peut également être déclenchée par des Ag hépatiques générés dans le foie par la production d'acétaldéhyde issu du métabolisme de l'alcool. L'acétaldéhyde est une molécule très réactive qui forme des liaisons covalentes avec les protéines des membranes cellulaires hépatiques, agissant ainsi comme des néoantigènes [39] [40].

Bien qu'il existe une augmentation de la synthèse d'IgA par les cellules B chez les patients alcooliques, d'autres mécanismes comme un défaut de clairance des IgA par leurs récepteurs ont été décrits [41].

Trois types de récepteurs d'IgA ont été identifiés :

- Le récepteur d'Ig- polymérique : il transporte les IgA polymériques et les IgM à travers les cellules épithéliales.
- Les asialoglycoprotéines : récepteurs exprimés par les hépatocytes et qui se lient aux IgA.
- Le récepteur Fc des IgA exprimé dans le sang et les cellules myéloïdes : monocytes, neutrophiles et éosinophiles.

Le récepteur d'Ig-polymérique est impliqué dans le transport et l'élimination des Ag présents dans les muqueuses.

Les asialoglycoprotéines et le récepteur Fc sont eux impliqués dans le catabolisme et la clairance des complexes immuns à IgA.

Les récepteurs des IgA au niveau des cellules phagocytaires des patients atteints de cirrhose alcoolique sont altérés. Normalement, l'endocytose de ces récepteurs est induite par la liaison avec un anti récepteur ou une IgA[41].

Les neutrophiles internalisent ces récepteurs plus vite que ne le font les monocytes. Une étude a montré qu'au niveau des monocytes de patients cirrhotiques, l'endocytose des récepteurs aux IgA était déficiente ; avec près de 50 à 60% de récepteurs détectés à leur surface, même après 90 mn d'incubation à 37°C [41].

Ce défaut d'internalisation des immuns complexes à IgA avec reflux d'IgA à la surface des cellules n'a pas été retrouvé avec des monocytes de sujets sains pré-incubés avec des plasmas de patients cirrhotiques. Ceci élimine donc un effet direct des IgA [41].

La corrélation entre le taux de récepteurs aux IgA des monocytes et le taux d'IgA dans le sérum associée à un défaut d'endocytose suggère que l'expression de récepteurs altérés contribue à l'augmentation plasmatique du taux d'IgA et des immuns complexes à IgA chez les patients cirrhotiques [41]. On retrouve d'ailleurs chez ces patients, des dépôts d'IgA dans le foie, les reins (au niveau des glomérules) et la peau. Ceci peut bien être secondaire à l'élévation du taux sérique des IgA.

La fréquence des dépôts d'IgA au niveau de la peau chez ces patients varie selon les équipes : 60 à 70% d'après Swerdlow et al, 71% d'après Hene et al et 18 à 25% d'après Smith et Hoy [42].

### **1-3/ Physiopathologie de la cirrhose alcoolique**

Tout d'abord, la cirrhose se définit comme un processus anatomique diffus associant fibrose mutilante et nodules de régénération hépatocytaires.

En France, la cirrhose alcoolique est la plus fréquente des cirrhoses.

#### **Toxicité de l'alcool**

La cirrhose alcoolique est due à l'action toxique de l'alcool sur le foie. On estime que le risque de cirrhose commence avec une ingestion quotidienne de 60g d'alcool pour l'homme et 40g pour la femme.

Il existe d'importantes différences individuelles ; en effet chez certains sujets, malgré une consommation importante d'alcool, la cirrhose ne se développe pas, alors que chez d'autres, une cirrhose survient à la suite d'une consommation relativement modérée.

Cette absence de corrélation entre la quantité d'alcool ingéré et les lésions du foie fait évoquer par certains auteurs une susceptibilité individuelle due à des facteurs génétiques.

La dégradation hépatique de l'alcool a pour conséquences :

- L'apparition de grandes quantités d'acétaldéhyde, corps extrêmement hépatotoxique
- L'induction du système MEOS c'est à dire du cytochrome P450 qui provoque l'apparition de métabolites intermédiaires hépatotoxiques
- L'apparition de radicaux libres ( $O_2$ ,  $H_2O_2$ , H) qui dénaturent les lipides membranaires des hépatocytes.

### **L'évolution cirrhogène**

Elle se fait schématiquement en plusieurs étapes. L'intoxication alcoolique peut provoquer plus ou moins rapidement une stéatose hépatique et/ou une hépatite alcoolique.

L'hépatite alcoolique peut disparaître sans laisser de séquelles, régresser et laisser des séquelles fibreuses ou s'aggraver et entraîner la mort.

Les hépatites alcooliques répétées conduisent à la cirrhose.

Cette stratification ne reflète pas toujours une progression chronologique, d'autant que ces lésions (stéatose, hépatite et cirrhose) sont souvent associées. Cependant, la maladie

alcoolique paraît le plus souvent progresser de la stéatose à l'hépatite alcoolique vers la cirrhose.

#### - **La stéatose hépatique**

Le foie est augmenté de volume, jaune, grasseux et ferme. Les hépatocytes sont distendus par des vacuoles lipidiques cytoplasmiques de grande taille qui poussent le noyau des hépatocytes contre la membrane cellulaire.

L'accumulation de lipides dans le foie de l'alcoolique résulte de la combinaison d'une diminution de l'oxydation des AG, d'une augmentation de leur captation et de leur estérification pour former des triglycérides et de la sécrétion des lipoprotéines.

Il s'agit d'une lésion réversible ; elle disparaît en deux à quatre semaines après le sevrage alcoolique.

#### - **L'hépatite alcoolique**

La destruction des hépatocytes entraîne le développement d'une quantité exagérée de tissu fibreux. Cette fibrose est initialement localisée à la région centrolobulaire puis s'étend (en particulier si l'alcoolisme n'est pas interrompu) pour devenir annulaire en réunissant les zones centrolobulaires entre elles.

On observe une infiltration par des polynucléaires (PN) et des lymphocytes. Les PN peuvent entourer les hépatocytes lésés qui contiennent des corps de Mallory.

#### - **La cirrhose alcoolique**

Avec la poursuite de l'ingestion d'alcool et la distension des hépatocytes, les fibroblastes (incluant les myofibroblastes avec des propriétés contractiles) apparaissent au niveau des

lésions et stimulent la formation de collagène. Des septa de tissu conjonctif apparaissent dans les zones péri portales et péri centrolobulaires.

Ce réseau de fin tissu conjonctif entoure les petites masses d'hépatocytes restants qui régénèrent et forment des nodules.

Cette régénération s'effectue lorsque la quantité d'hépatocytes restants devient insuffisante pour assurer les fonctions du foie.

La perte cellulaire est généralement supérieure à son remplacement. La destruction hépatocytaire et le dépôt de collagène continuant d'évoluer, le foie diminue de taille, prend un aspect nodulaire et devient dur, lorsque la cirrhose "terminale" apparaît.

La cirrhose est donc la résultante de l'extension de nombreuses plages de parenchyme accompagnée de la régénération nodulaire du parenchyme résiduel, du dépôt et du remodelage du tissu conjonctif.

L'extension correspondant à la perte d'hépatocytes adjacents, est le plus souvent le résultat d'une oblitération des branches de la veine porte et des voies sus hépatiques.

Le type de cirrhose (macronodulaire, micronodulaire, mixte) dépend de la distribution et de la sévérité de la maladie veineuse.

La thrombose des veines portes et des veines sus hépatiques est la conséquence de l'inflammation des tissus adjacents.

Une fois la cirrhose établie, une stase vasculaire se développe fréquemment, entraînant une thrombose secondaire des plus grosses branches de la veine porte et des veines sus hépatiques et une extinction de larges plages de parenchyme hépatique, indépendamment de l'activité de la maladie initiale.

## **1-4/ Diagnostic positif**

### **La Stéatose hépatique**

Dans une forme modérée, il n'y a pas de manifestations cliniques ou biologiques ; la découverte sera fortuite, par exemple à l'occasion d'une échographie.

Dans une forme importante, les manifestations cliniques, biologiques ou radiologiques sont plus éloquentes.

L'examen clinique met en évidence une douleur de l'hypochondre droit, une hépatomégalie ferme, parfois sensible, à bord inférieur épais. Il n'y a pas de signes d'insuffisance hépatocellulaire ou d'hypertension portale.

La biologie révèle parfois une augmentation des gamma GT (gamma glutamyl transférase), des phosphatases alcalines et des transaminases.

Sur le plan radiologique, l'échographie montre un foie de volume normal ou augmenté, hyperéchogène (aspect "brillant"). Ces modifications peuvent être diffuses ou de répartition hétérogène. La tomодensitométrie montre également un foie normal ou augmenté de volume avec une hypodensité homogène ou hétérogène.

Seule l'histologie permet d'affirmer le diagnostic avec une stéatose macrovésiculaire donnant des hépatocytes à cytoplasme vide et au noyau refoulé en périphérie. Cette stéatose est typiquement sans fibrose, nécrose ou infiltrat inflammatoire. Il a cependant été décrit dans des foies stéatosiques, une fibrose autour des veines centrolobulaires qui aboutirait à la cirrhose dans 10% des cas [43].

Les signes cliniques de la stéatose hépatique sont souvent minimes ou absents et la maladie peut ne pas être reconnue à moins qu'une autre affection ( fréquemment liée à l'alcool) amène le patient à consulter.

La stéatose peut s'associer à une hépatite alcoolique aiguë ou à une cirrhose alcoolique et donc enrichir leur symptomatologie.

### **L'hépatite alcoolique**

La sévérité clinique de l'hépatite alcoolique varie énormément, allant d'une affection asymptomatique ou discrète à une insuffisance hépatique fatale.

On distingue les formes isolées (rares), les formes associées à une stéatose et/ou une cirrhose (fréquentes), les formes majeures et asymptomatiques (rares) et les formes mineures à symptomatologie discrète (fréquentes).

#### **- Les formes majeures et isolées**

Elles sont rares, car en France, elles sont souvent associées à une cirrhose.

Sur le plan clinique, on observe la triade trompeuse douleur de l'hypochondre droit, fièvre, ictère. Il s'y associe souvent une anorexie, des nausées, des vomissements, des malaises et un amaigrissement. A l'examen, une hépatomégalie douloureuse est habituelle et une splénomégalie est notée dans environ un tiers des cas.

Les cas les plus sévères sont compliqués d'une ascite, d'œdèmes, d'hémorragie et d'encéphalopathie.

L'ictère, l'ascite et l'encéphalopathie peuvent disparaître avec l'abstinence. Cependant, l'absorption continue d'alcool en excès et les mauvaises habitudes alimentaires conduisent habituellement à des épisodes aigus répétés de décompensation hépatique.

Sur le plan biologique, il y a augmentation de la bilirubine, des transaminases (avec ASAT plus élevées que les ALAT), des phosphatases alcalines (inconstamment), des Gamma GT (de façon très importante). On note également une hyperleucocytose à PNN, une hypoalbuminémie et un TP bas s'il y a une insuffisance hépatocellulaire.

L'échographie permet d'éliminer une cause extra hépatique ; cholédocienne par exemple.

L'histologie affirme le diagnostic. On retrouve des anomalies prédominant dans la région centrolobulaire qui sont :

- des anomalies hépatocytaires avec ballonnisation et nécrose acidophile
- des corps de Mallory ; inclusions cytoplasmiques éosinophiles, très évocatrices d'hépatite alcoolique, mais non spécifiques
- un infiltrat inflammatoire de PNN
- une fibrose péri cellulaire, cernant les hépatocytes.

Ces anomalies peuvent s'associer à une stéatose ou une cirrhose.

L'évolution de ces formes majeures peut se faire soit vers la mort avec l'aggravation de l'insuffisance hépatocellulaire, soit vers l'amélioration en trois à six mois avec guérison, séquelles fibreuses ou constitution d'une cirrhose.

#### - **Les formes mineures**

Elles ne sont diagnostiquées que sur des anomalies biologiques et histologiques.

Il n'y a pas de manifestation clinique patente.

- **forme associée à une cirrhose**

C'est la forme la plus courante en France.

Aux signes cliniques, biologiques, échographiques, histologiques de l'hépatite alcoolique viennent s'ajouter ceux de la cirrhose.

L'hépatite alcoolique est souvent à l'origine d'une complication de la cirrhose alcoolique : hémorragies digestives, ascite, encéphalopathie, ictère.

### La Cirrhose alcoolique

La cirrhose alcoolique est le type de cirrhose le plus courant en France. Elle présente deux phases cliniques, une asymptotique de plusieurs mois ou années et une phase symptomatique qui associe une hépatomégalie dure à bord inférieur tranchant, des signes d'hypertension portale (splénomégalie, ascite, circulation veineuse collatérale) et des signes d'insuffisance hépatocellulaire (signes *cutanés* avec ictère d'intensité variable, angiomes stellaires, érythrose palmaire et ongles blancs, *signes endocriniens* avec hypogonadisme et féminisation chez l'homme, aménorrhée chez la femme, *un syndrome hémorragique* avec ecchymoses, gingivorragies et épistaxis).

La découverte peut être fortuite ou lors de complications.

Le bilan biologique objective des signes d'insuffisance hépatocellulaire (avec hypoalbuminémie, abaissement du TP, baisse des facteurs de la coagulation y compris le facteur V), un bloc  $\beta$ - $\gamma$ , une augmentation des transaminases et une hyperbilirubinémie mixte.

La NFS met en évidence une anémie, une leuconéutropénie et une thrombopénie.

L'échographie abdominale montre un foie augmenté de volume, à contours bosselés avec un aspect iso ou hyperéchogène, des signes d'hypertension portale (veine porte perméable et dilatée, reperméabilisation de la veine ombilicale, splénomégalie), une ascite qui peut passer inaperçue si elle est de faible abondance et recherche des complications de type carcinome hépatocellulaire ou lithiase.

La biopsie hépatique est indispensable au diagnostic de certitude, car le diagnostic de cirrhose est un diagnostic histologique.

Le fragment hépatique retiré est généralement morcelé.

Sur le plan microscopique, on observe un processus diffus caractérisé par : des nodules d'hépatocytes dits de régénération, de la fibrose prenant souvent une distribution annulaire et entraînant les nodules d'hépatocytes.

Ce tissu fibreux contient souvent des cellules inflammatoires.

Suivant la taille des nodules d'hépatocytes, on distingue :

- des cirrhoses micronodulaires où la plupart des nodules ont moins de 3mm de diamètre
- des cirrhoses macronodulaires où la plupart des nodules ont plus de 3 mm de diamètre
- des cirrhoses mixtes où il existe une proportion globalement égale de micronodules et de macronodules.

On peut également observer des lésions associées de stéatose et/ou d'hépatite alcoolique qui témoignent de la poursuite de l'intoxication alcoolique.

Selon la taille du foie, on distingue deux types de cirrhose :

- les cirrhoses hypertrophiques dans lesquelles l'augmentation du volume du foie est due au développement du tissu fibreux et des nodules d'hépatocytes
- les cirrhoses atrophiques où prédominent des lésions destructrices des hépatocytes.

Il est possible d'observer dans un même foie des zones atrophiques et des zones hypertrophiques (cirrhose atropho hypertrophique).

L'évolution de la maladie est variable. Les complications sont la conséquence de l'insuffisance hépatocellulaire, de l'hypertension portale, de la poursuite de l'intoxication alcoolique et de la survenue d'un carcinome hépatocellulaire.

La cirrhose est classiquement décrite comme irréversible. Toutefois, la littérature mentionne quelques cas de réversibilité de cirrhose, s'appuyant sur des arguments expérimentaux, biochimiques et moléculaires [44].

La cirrhose est considérée comme un état instable, avec des facteurs favorisant la fibrose (persistance de la cause, aggravation par des complications vasculaires), et des facteurs qui la font régresser (fibrolyse grâce à des enzymes relargués dans l'espace interstitiel).

Il faut des années pour constituer une cirrhose. Progression et réversibilité sont deux états qui coexistent dans le temps, pendant la mise en place mais aussi une fois la cirrhose constituée.

Les chances de régression seront d'autant plus grandes que la cirrhose est en voie de constitution par opposition à une cirrhose ancienne. Cependant, la notion de réversibilité ne rime pas nécessairement avec guérison [44].

## Diagnostic de l'origine alcoolique

Dans un premier temps, il y a les circonstances de découverte : bilan d'une intoxication alcoolique.

Ensuite, sur le plan clinique, il y a des éléments en faveur d'une intoxication alcoolique chronique :

Hypertrophie parotidienne, varicosités des pommettes, maladie de Dupuytren, polynévrite, pancréatite chronique...

Une grille appelée grille de le Gô dont le score variant de 0 à 30 permet de repérer systématiquement les signes d'imprégnation alcoolique chronique et de suivre leur évolution.

Cette grille prend en compte l'aspect du visage, des conjonctives, de la langue, le tremblement de la bouche et des extrémités en les cotant de 0 à 5.

Sur le plan paraclinique, une macrocytose sans anémie, une élévation des IgA, des calcifications pancréatiques et le diagnostic histologique permettent de confirmer l'origine alcoolique.

## **2/ LE SYNDROME INFLAMMATOIRE**

La réaction inflammatoire est un processus non spécifique de réponse à toute agression tissulaire.

Elle est définie cliniquement par les quatre signes cardinaux : rougeur, œdème, chaleur et douleur.

Sa physiopathologie est complexe du fait de multiples interactions.

Elle peut être déclenchée par un traumatisme, un agent physique (brûlure, irradiation ...), une réaction immunitaire, un corps étranger... etc.

Il existe différents types d'inflammations : l'inflammation aiguë, l'inflammation chronique et l'inflammation granulomateuse.

## **2-1/ L'inflammation aiguë**

Elle comprend trois phases ; une phase vasculaire, une phase cellulaire et une phase de réparation.

Durant la phase vasculaire, on observe une vasodilatation des petits vaisseaux se traduisant par une rougeur, un gonflement et une augmentation de la chaleur locale. On constate également une augmentation de la perméabilité vasculaire responsable de l'œdème.

La phase cellulaire fait intervenir les cellules phagocytaires circulantes (polynucléaires, monocytes, macrophages). Elles proviennent de la moelle osseuse et, en réponse à un signal approprié, pénètrent dans la circulation périphérique et sont distribuées à des tissus.

Les médiateurs humoraux influencent les structures locales de telle sorte que la capacité des phagocytes à atteindre des sites variés soit affectée. Ils guident également directement le déplacement des phagocytes : il s'agit du système du complément, de la cascade de l'acide arachidonique, du système des kinines et des produits des éléments cellulaires comme l'IL-1 et le TNF.

La phase de réparation se caractérise par la formation d'un tissu fibreux cicatriciel.

## **2-2/ L'inflammation chronique**

L'inflammation chronique se distingue par des infiltrats péri vasculaires de macrophages (avec cellules géantes ou épithélioïdes) et de lymphocytes, et par la survenue d'une fibrose.

Les immunoglobulines jouent un rôle important dans le contrôle du développement des réactions inflammatoires. Les lymphocytes sont présents en grand nombre et en état d'activation dans les phénomènes inflammatoires chroniques. Il s'agit en majorité de lymphocytes T auxiliaires (CD4), mais aussi de cellules suppressives/cytotoxiques (CD8). Ces cellules élaborent de nombreuses lymphokines incriminées dans l'auto-entretien des phénomènes inflammatoires. Les lymphocytes B se rassemblent pour former des centres germinatifs et/ou se différencient en plasmocytes qui élaborent des immunoglobulines de différentes classes.

De plus, en constituant des complexes immuns, les Ac activent la cascade du complément qui génère un certain nombre de médiateurs inflammatoires [5].

L'inflammation chronique est plus polymorphe que l'inflammation aiguë. Elle dure plus longtemps, de quelques semaines à plusieurs années. Les signes cliniques observés peuvent être identiques à ceux de l'inflammation aiguë, mais les atteintes fonctionnelles, conséquence d'une destruction tissulaire définitive, sont souvent au premier plan. Cet état survient si la réponse inflammatoire n'aboutit pas à l'élimination de l'agent agresseur ou si la cicatrisation tissulaire ne peut être réalisée.

Une forme particulière d'inflammation chronique est l'inflammation granulomateuse mise en évidence dans la tuberculose. Les composantes cellulaires et fibreuses y sont prédominantes et la nécrose est fréquente.

Quand elles restent d'intensité modérée, ces réponses inflammatoires jouent un rôle important dans les fonctions de défense de l'hôte. Par exemple, l'augmentation de la température corporelle accentue les réponses des lymphocytes et peut inhiber la réplication virale.

L'hyperhémie et la polynucléose favorisent la mise à disposition des phagocytes dans les sites de l'infection.

La diminution du taux sérique du fer prive certains microbes d'un nutriment nécessaire.

Les PNN attirés par chimiotactisme agissent par adhérence, opsonisation et phagocytose. Ils libèrent des médiateurs et des radicaux libres.

Les PNE également attirés par chimiotactisme entraînent la phagocytose de complexes immuns.

Les monocytes/macrophages agissent par phagocytose, sécrètent des enzymes, des composants du complément et de l'IL-1. Ils sont responsables d'une initiation de la réponse immune spécifique.

Les plaquettes jouent aussi un rôle dans la réponse inflammatoire en sécrétant des médiateurs tels que la sérotonine, le thromboxane et le PAF- acether.

Les maladies infectieuses sont depuis longtemps connues par les réponses de l'hôte qu'elles provoquent : la fièvre, les frissons, l'inflammation locale, la leucocytose et le catabolisme protéique.

La fièvre et les frissons souvent accompagnés de l'augmentation fréquente du pouls, sont habituellement annonciateurs d'une infection sévère.

Les signes de l'inflammation (chaleur, rougeur douleur et œdème) sont les signes caractéristiques de l'infection locale.

Lorsqu'il s'agit d'une infection viscérale, le diagnostic est approché par l'examen clinique, les modifications sériques traduisant l'inflammation (essentiellement la polynucléose) et éventuellement par des signes radiographiques ou d'altération de la fonction de l'organe.

## **C/ DEFICIT EN IGA**

Le déficit isolé en IgA est un déficit immunitaire observé chez environ 1 individu sur 700 d'origine européenne.

Il est beaucoup moins fréquent dans les populations d'origine asiatique et africaine.

Au Japon par exemple, l'incidence est d'environ 1/ 18500.

Bien que les bases génétiques précises de cette différence d'incidence soient inconnues, le déficit en IgA est fréquemment associé à certains haplotypes du CMH chez les caucasiens (HLA B8, SCO1, DR3) [45].

Le ou les gène(s) délétères dans le déficit en IgA peuvent être localisés dans la région du chromosome 6 codant pour le CMH de classe II.

Dans de rares exceptions, les deux sous-classes IgA1 et IgA2 sont déficientes dans le sérum et les sécrétions muqueuses.

Ce déficit ne doit être affirmé qu'après l'âge de 3 ans. Il peut être sporadique ou héréditaire et, dans ce dernier cas, les autres membres de la famille atteints présentent soit

un déficit en IgA, soit une hypogammaglobulinémie commune d'expression variable. Il est parfois associé à une délétion en anneau du chromosome 18.

Le déficit en IgA peut aussi être associé à des infections intra utérines congénitales comme la toxoplasmose, la rubéole et l'infection par le cytomégalovirus.

Il succède parfois à un traitement à la phénytoïne ou la penicillamine.

La pathogénie du déficit en IgA, qu'il soit transmis génétiquement ou causé par une agression de l'environnement, fait suite à un blocage lors de la différenciation terminale du lymphocyte B. Un défaut de production d'IL-5 chez des patients HLA B8, DR3 pourrait être impliqué dans la survenue d'un déficit asymptomatique en IgA [46].

Tous les patients ont des lymphocytes B porteurs d'IgA détectables, quoique leur nombre puisse être réduit.

Chez les enfants normaux et les adultes, la plupart des lymphocytes B porteurs d'IgA présentent seulement cette classe d'Ig à leur surface, alors que chez les patients déficients en IgA et les nouveau-nés normaux, les lymphocytes à IgA portent aussi à leur surface des IgM.

Quoiqu'il n'y ait pas jusqu'à présent de mécanisme pathogénique reconnu, on suspecte fortement un défaut primaire dans les interactions régulatrices essentielles entre les cellules B et T.

De nombreux adultes atteints d'un déficit isolé en IgA ne semblent pas souffrir de problèmes infectieux inhabituels. Néanmoins, ce déficit peut ne pas être bénin. Ces sujets déficients en IgA développent au cours de leur vie des infections respiratoires de plus en plus fréquentes, et de gravité variable ; certaines présentent des complications pulmonaires graves telles que la dilatation des bronches.

Les diarrhées chroniques compliquent aussi la maladie.

L'incidence de l'asthme et d'autres maladies atopiques, parmi ces patients, est élevée ; et inversement, l'incidence des déficits en IgA, parmi les enfants atopiques, a été retrouvée de 20 à 40 fois plus élevée que dans la population saine.

Le déficit en IgA est également associé de façon significative avec des maladies auto-immunes telles que la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé.

En plus du déficit en IgA sériques, il importe de rechercher un éventuel déficit en IgA sécrétoires et en pièce sécrétoire.

Les taux des autres Ig sont habituellement normaux.

On peut cependant noter dans certains cas un taux d'IgE très élevé, tandis que d'autres malades ont au contraire un déficit associé en IgE. Surtout, il apparaît qu'un groupe de malades avec des taux très réduits d'IgA a également un déficit dans la sous-classe 2 ou parfois la sous-classe 4 des IgG ; ces sujets, qui ne peuvent pas être identifiés par le simple dosage des IgG totales, semblent être beaucoup plus exposés aux complications infectieuses que les sujets ayant un déficit en IgA, sans anomalies des IgG2 ni des IgG4.

Sur le plan thérapeutique, les malades ayant un déficit associé en IgG2 ou 4 peuvent bénéficier d'un traitement par les immunoglobulines (à base d'IgG). Chez les autres sujets, le traitement par immunoglobulines ne semble pas apporter de bénéfice.

Les injections d'IgA ne sont ni efficaces ni bien tolérées ; Elles n'apportent pas d'IgA au niveau des muqueuses elles-mêmes, où le déficit se fait principalement ressentir et elles exposent les malades à la formation d'anticorps anti IgA, responsables dans certains cas de chocs sévères. Ce déficit est également important à reconnaître chez les malades

recevant des transfusions, car il peut être à l'origine de choc lors de l'injection de plasma ou de sang total chez des malades s'immunisant contre les IgA.

Il apparaît clairement que les IgA jouent un rôle important dans ces différentes pathologies, même si certains points de la physiopathologie sont encore inconnus.

Dans les dermatoses à IgA, au niveau du pemphigus à IgA, il y aurait un caractère directement pathogène des IgA. Ces dernières exerceraient aussi une action chimiotactique sur les PNN qui s'accumulent dans l'épiderme, expliquant la colocalisation fréquente des dépôts d'IgA et de PNN [14] [15] [16].

Dans la maladie de Berger, on note comme hypothèses principales une augmentation de la synthèse d'IgA1 liée à une anomalie génétique du switch des IgA et un défaut également d'ordre génétique de leur glycosylation [25] [27] [30].

En ce qui concerne le purpura rhumatoïde, l'hypersécrétion d'IgA serait causée par un Ag encore inconnu. On a observé dans cette maladie une augmentation de lymphocytes sécréteurs d'IgA [35] [37].

Pour l'éthylisme chronique, l'augmentation de la perméabilité intestinale causée par l'alcool, favorise l'entrée d'Ag alimentaires et bactériens dans la circulation, entraînant une hyperproduction d'IgA. D'autres mécanismes entrent également en jeu dans l'augmentation du taux d'IgA, notamment une réponse à IgA déclenchée par des Ag hépatiques et un défaut de la clairance des IgA [39] [40] [41].

Quant au déficit en IgA, on observe un blocage de la différenciation terminale du lymphocyte B [46].

Toutes ces maladies nombreuses et variées, faisant intervenir les IgA dans leur pathogénie, nous permettent de comprendre l'intérêt porté à cette classe d'immunoglobuline.

## Objectif de thèse

Nous savons maintenant qu'il existe sur le locus IgH une zone régulatrice située en 3' des gènes  $\alpha$  et que cette région, notamment l'activateur transcriptionnel HS1,2 qui s'y trouve joue un rôle dans la régulation de la synthèse des IgA.

Etant donné que l'activateur HS1,2 comporte des sites de fixation pour des facteurs nucléaires qui régulent son activité avec une efficacité d'autant plus grande que le nombre de VNTR augmente, nous pouvons émettre l'hypothèse qu'une activation accrue de HS1,2 entraînerait éventuellement une augmentation de la production d'IgA.

Ce lien entre le taux d'IgA et le polymorphisme de l'activateur transcriptionnel HS1,2 a pu être observé dans une étude portant sur la maladie de Berger, mais de façon non significative. Cette étude a permis essentiellement de démontrer le rôle pronostic que joue l'allèle B du gène  $\alpha 1$  dans cette maladie [4].

Cette observation a suscité l'intérêt de cibler une population de patients présentant une augmentation polyclonale du taux sérique des IgA.

L'objectif de notre travail est donc de comparer la fréquence des différents allèles et génotypes du gène  $\alpha 1$  (qui présente un polymorphisme au niveau de son activateur transcriptionnel HS1,2) dans trois populations : des patients avec augmentation polyclonale des IgA, des patients ayant une hypoproduction d'IgA et une population de témoins sains, ceci par méthode PCR.

Les principaux échantillons dont nous disposions étant des caillots sanguins, nous avons au préalable mis au point une technique d'extraction d'ADN sur caillot.

# **DEUXIEME PARTIE**

**Matériels et méthodes**

**Résultats**

**Discussion**

# DEUXIEME PARTIE

## MATERIELS ET METHODES

### A/ ECHANTILLONS

#### 1/ PATIENTS

Notre population patients concerne 52 sujets (17 femmes et 35 hommes) hospitalisés ou en consultation dans divers services du CHRU de Limoges et qui présentent un taux sérique d'IgA > 4g/l. (cf. Annexe).

Les échantillons utilisés pour notre étude sont issus de sang total prélevé sur tubes secs munis d'un gel séparateur.

Ces tubes secs ont servi après centrifugation, à doser le taux d'IgA dans le sérum et à extraire l'ADN à partir du caillot sanguin resté au fond du tube.

#### 2/ POPULATION CONTROLE

La population témoin est constituée de :

- 82 donneurs volontaires appartenant au panel lymphocytaire du laboratoire d'histocompatibilité du CHRU de Limoges (cf. Annexe).
  
- 19 Patients âgés de plus de 12 ans (pour éviter les hypogammaglobulinémies physiologiques de l'enfant) admis en hospitalisation ou en consultation dans divers services du CHRU de Limoges, pour lesquels il était demandé un dosage d'IgA

sérique et dont le taux était  $< 1\text{g/l}$  (en excluant les dysglobulinémies). (cf. Annexe).

## **B/ METHODES**

### **1/ DOSAGE DU TAUX SERIQUE D'IGA**

Le dosage des IgA est effectué par néphélométrie (automate Behring BNII) sur des sérums obtenus après centrifugation de tubes secs munis d'un gel séparateur.

### **2/ TRAITEMENT DES CAILLOTS SANGUINS AVANT EXTRACTION**

Après récupération des caillots sanguins dans les fonds de tubes secs, il a fallu les broyer immédiatement, ou alors, les conserver à  $- 80^{\circ}\text{C}$  pour éviter une perte d'ADN par dégradation. En effet, il y avait un délai de 1 à 2 jours entre la réception des échantillons et l'obtention des résultats du dosage sérique des IgA (critère d'inclusion dans l'étude).

La deuxième étape a consisté à broyer les caillots sanguins au mortier, après un passage dans de l'azote liquide. Ce dernier permettant une meilleure réduction des caillots sous forme de poudre, conditionnant la qualité de l'extraction.

Il s'agissait ensuite dans un troisième temps d'extraire l'ADN à partir des broyats de caillots par méthode de salting out avec 2 temps de lyse des hématies

### 3/ EXTRACTION D'ADN GENOMIQUE

Nous avons isolé de l'ADN génomique à partir de sang total prélevé sur EDTA, pour les donneurs volontaires sains et de caillots sanguins pour les deux autres populations, par la méthode de salting out (extraction saline).

Cette méthode d'extraction comprend les étapes suivantes :

- La lyse des hématies, à l'aide d'un tampon de lyse des globules rouges et d'une centrifugation de 2mn à 13000g. Le tampon de lyse utilisé est un tampon 1X constitué de sucrose (0.3M), de tris HCl pH 7.5 (10 mM), de MgCl<sub>2</sub>, de Triton et d'eau distillée.
- Après un lavage à l'eau bidistillée, la lyse des protéines est effectuée grâce à l'addition de 340µl de tampon d'extraction [composé de SDS à 20% (Sodium dodécyl sulfate), de tampon protéinase K et d'eau distillée] et de 30µl de protéinase K pour les prélèvements de sang sur EDTA, de 100µl pour les caillots sanguins. Il s'en suit une incubation d'une heure ou d'une nuit au bain-marie à 55°C, selon la nature du prélèvement (une heure pour les échantillons prélevés sur EDTA et une nuit pour les caillots sanguins). Le tampon protéinase K est constitué de NaCl, d'EDTA et d'eau distillée.
- La lyse des protéines terminée, l'étape suivante consiste à les précipiter. Par addition de 100µl chlorure de sodium 6M et centrifugation pendant 6 mn à 13000 g.
- L'ADN présent dans le surnageant est alors précipité par de l'éthanol pur, puis centrifugé pendant 2 mn à 13000 g. Le culot obtenu correspondant à l'ADN, est dissout dans du tampon TE 1X dont la constitution est la suivante : Tris HCl 1M pH 7.5, EDTA sodique.

## 4/ TECHNIQUE PCR

### a/ Principe

La technique de PCR (Polymerase Chain Reaction) est une technique d'amplification de l'ADN in vitro. Elle est basée sur la connaissance de la séquence d'une région qui doit être analysée. Des amorces oligonucléotidiques complémentaires du brin opposé de l'ADN, et séparées par une distance pouvant atteindre quelques centaines de paires de bases sont synthétisées. Ces amorces oligonucléotidiques sont incubées avec la cible d'ADN qui doit être amplifiée en présence d'une ADN polymérase qui synthétise le brin complémentaire dans le sens 5' vers 3'.

Le mélange est soumis à une série de variation de température comprenant :

- une étape de dénaturation pendant laquelle l'ADN double brin est dissocié en simple brin  
(incubation rapide à une température de 90°C à 95°C)
- puis une étape d'hybridation, pendant laquelle les amorces oligonucléotidiques s'hybrident avec la cible d'ADN (température inférieure de 1 à 10°C à la température moyenne de fusion des amorces ; habituellement entre 40° C et 60°C)
- et enfin une étape de polymérisation, pour la synthèse (généralement faite entre 70°C et 75°C).

L'incubation est effectuée en présence de Taq polymérase (de *thermus aquaticus*) qui est thermorésistante ; ainsi la polymérase reste active tout au long des cycles de température.

Après un certain nombre de tels cycles, en général 20 à 30, des centaines de milliers de copies de la séquence cible ont été synthétisés. Une migration sur gel du produit amplifié permet de visualiser la bande d'ADN et d'estimer sa taille.

### **b/ Protocole de la PCR HS1,2**

Le but de notre PCR, est d'amplifier des fragments d'ADN comportant la région VNTR de l'activateur transcriptionnel HS1,2 des gène  $\alpha$  ; à l'aide d'amorces spécifiques encadrant le motif de 53 pb (cf. figure : 9).

Ces amorces spécifiques sont les suivantes :

**5' : GGGTCCTGGTCCCAAAGATGGC (T<sub>m</sub> = 67°C)**

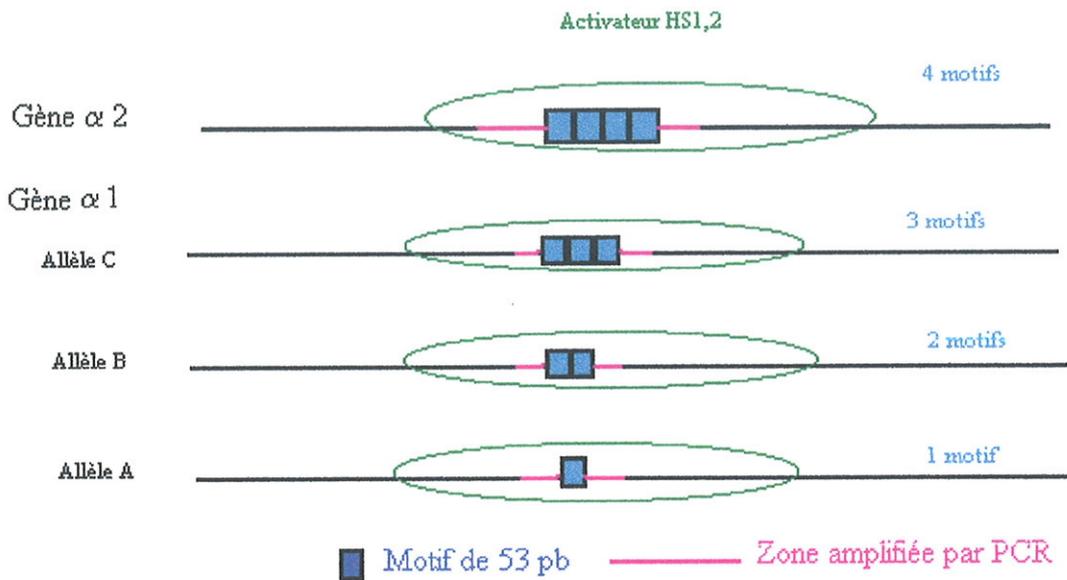
**3' : TTCCAGGGGTCCTGTGGGTCC (T<sub>m</sub> = 69°C)**

(T<sub>m</sub> pour température moyenne de fusion)

Les cupules de réaction comportent un mix de 25 $\mu$ l composé de : dNTP 0.2 mM, glycérol 7.5%, rouge crésol 75 $\mu$ g/ml, 0.1 $\mu$ M de chaque primer, tampon Taq 1X avec MgCl<sub>2</sub> 1.5mM, 2.5U/100 $\mu$ l de Taq polymérase (Pharmacia), et 2.5 $\mu$ l d'ADN.

A l'aide d'un thermocycleur (Perkin Elmer 9600 ou 9700), l'ADN est dans un premier temps dénaturé pendant 3 mn à 94°C, il est ensuite soumis à 10 cycles d'amplification comprenant une dénaturation de 30s à 94°C, une étape d'hybridation de 40s à 64°C et une étape d'élongation de 45s à 72°C, puis à 20 cycles d'amplification supplémentaires (30s à 94°C, 50s à 62°C), pour favoriser la spécificité et enfin à une élongation finale de 10 mn à 72°C.

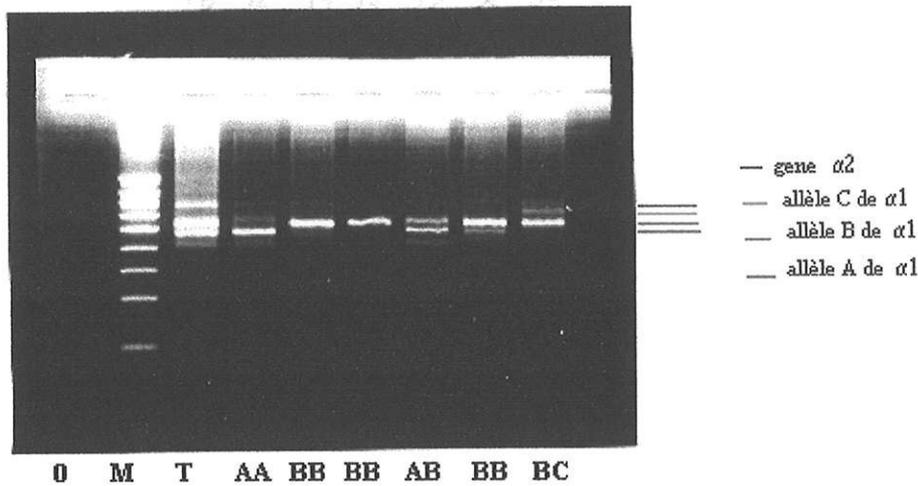
**Figure 9 : Région 3' des gènes  $\alpha$  amplifiée par PCR**



Le produit PCR ainsi obtenu est déposé sur un gel d'agarose de 1.5% imprégné de bromure d'éthidium (BET), pour une migration de 30 mn à 100V. Le gel est ensuite soumis à des ultra violets de 280 nm puis photographié afin de permettre la lecture des bandes d'ADN des échantillons étudiés (homozygotes AA, BB ou CC et hétérozygotes AB, AC ou BC).

Les tailles attendues sont les suivantes : 462 pb pour l'allèle  $\alpha 1^A$ , 515 pb pour l'allèle  $\alpha 1^B$ , 555 pb pour l'allèle  $\alpha 1^C$ , et 621pb pour le gène  $\alpha 2$ .

## Technique de PCR HS1, 2



La figure ci-dessus représente la photographie sous ultra violets d'un gel d'agarose sur lequel nous avons fait migrer sept produits PCR différents.

Le premier puits appelé 0 indique l'absence de contamination de nos réactions PCR (absence d'amplification car l'échantillon ne contenait pas d'ADN).

Dans le deuxième puits, nous avons fait migrer un marqueur de taille nous permettant d'identifier les bandes d'ADN. Ce marqueur de taille comporte neuf bandes dont la taille va de 100 à 1000 pb de bas en haut. La taille de chaque bande est multiple de 100 pb.

Le troisième puits appelé T contient un témoin hétérozygote AB et les six autres, les produits PCR de six patients différents. Le premier patient est homozygote pour l'allèle A, les deuxième, troisième et cinquième patients sont homozygotes pour l'allèle B, le quatrième est hétérozygote AB et le dernier, hétérozygote BC.

## C/ ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse statistique de notre étude a été réalisée à l'aide du logiciel Statviews (Alsym, Meylan, France). Les fréquences des allèles ont été comparées par la méthode du Chi deux ( $\chi^2$ ) ou la technique de Fischer pour les petits échantillons.

Le seuil de significativité est atteint pour un  $\chi^2 > 3,75$  et  $p < 0,05$ .

Nous avons ainsi comparé :

- la population malade, c'est à dire les patients ayant un taux sérique d'IgA  $> 4g/l$ , aux donneurs volontaires sains appartenant au panel lymphocytaire du laboratoire d'histocompatibilité du CHRU de Limoges et dont le taux d'IgA était normal
- Notre même population malade aux sujets présentant un taux sérique d'IgA  $< 1g/l$
- Puis les malades entre eux, en fonction des pathologies représentées.

# RESULTATS

L'étude s'est déroulée sur une période de 9 mois (de Mai 2000 à Janvier 2001), durant laquelle nous avons répertorié 115 patients ayant un taux sérique élevé d'IgA, ce qui correspond à 10% de la demande totale de dosages d'IgA sériques sur cette période et sur tout le CHU de Limoges.

Sur les 115 échantillons seuls 55 entraient dans nos critères d'inclusion ; c'est à dire des patients présentant une élévation polyclonale des IgA sériques. Les 60 autres échantillons correspondaient soit à une dysglobulinémie, soit à une augmentation monoclonale des IgA.

Les 55 échantillons retenus représentaient donc 4,93% de la demande totale de dosages d'IgA sur tout le CHU durant cette période de 9 mois.

Parmi les 55 échantillons dont nous disposions, nous avons eu 3 échecs d'extraction d'ADN (extraction sur caillot sanguin), équivalant à un taux de 5,45%.

Au total, nous avons pu exploiter 52 échantillons de patients présentant une augmentation polyclonale des IgA sériques.

## 1/ Comparaison des patients ayant une hyperproduction d'IgA à nos deux populations contrôles [donneurs volontaires du panel lymphocytaire (témoins sains) et sujets avec hypoproduction d'IgA (< 1g/l)]

L'étude par PCR du polymorphisme de l'activateur transcriptionnel hs1,2 du gène  $\alpha 1$  au sein de ces trois populations donne les résultats suivants :

Génotype	Témoins sains Nb (pourcentage)	Hyperproduction d'IgA (>4g/l) Nb (pourcentage)	Hypoproduction d'IgA(<1g/l) Nb (pourcentage)
AA	9 (10,97%)	5 (9,61%)	4 (21,05%)
AB	40 (48,78%)	25 (48,07%)	6 (32%)
BB	30 (36,58%)	22 (42,38%)	8 (42,11%)
BC	3 (3,65%)	1 (1,92%)	1 (5,26%)
Total	82	52	19
Allèles			
A	51 (62,10%)	30 (57,69%)	10 (52,63%)
B	70 (83,36%)	48 (92,30%)	16 (84,21%)
C	3 (3,65%)	1 (1,92%)	1 (5,26%)

On constate que l'allèle B est plus représenté que l'allèle A, et que l'allèle C est très rare quelque soit la population étudiée, patients ayant une hyperproduction d'IgA, témoins sains ou sujets avec hypoproduction d'IgA.

L'histogramme ci dessous (figure 10) montre une fréquence plus grande du génotype AA au sein de la population hypoproduction d'IgA que dans les deux autres populations (21,05% vs 9,61% pour le groupe hyperproduction d'IgA et 10,97% pour le groupe témoin sain). Cependant, d'après les tests statistiques, ces différences de fréquences ne sont pas significatives (Chi 2 = 1,39, p = 0,23 et probabilité exacte de Fischer = 0,25 pour la comparaison de fréquences du génotype AA entre les populations témoins sains et hypoproduction d'IgA. Chi 2 = 1,64, p = 0,19 et probabilité exacte de Fischer = 0,23 pour la comparaison de fréquences de ce même génotype entre les populations hypoproduction d'IgA et hyperproduction d'IgA).

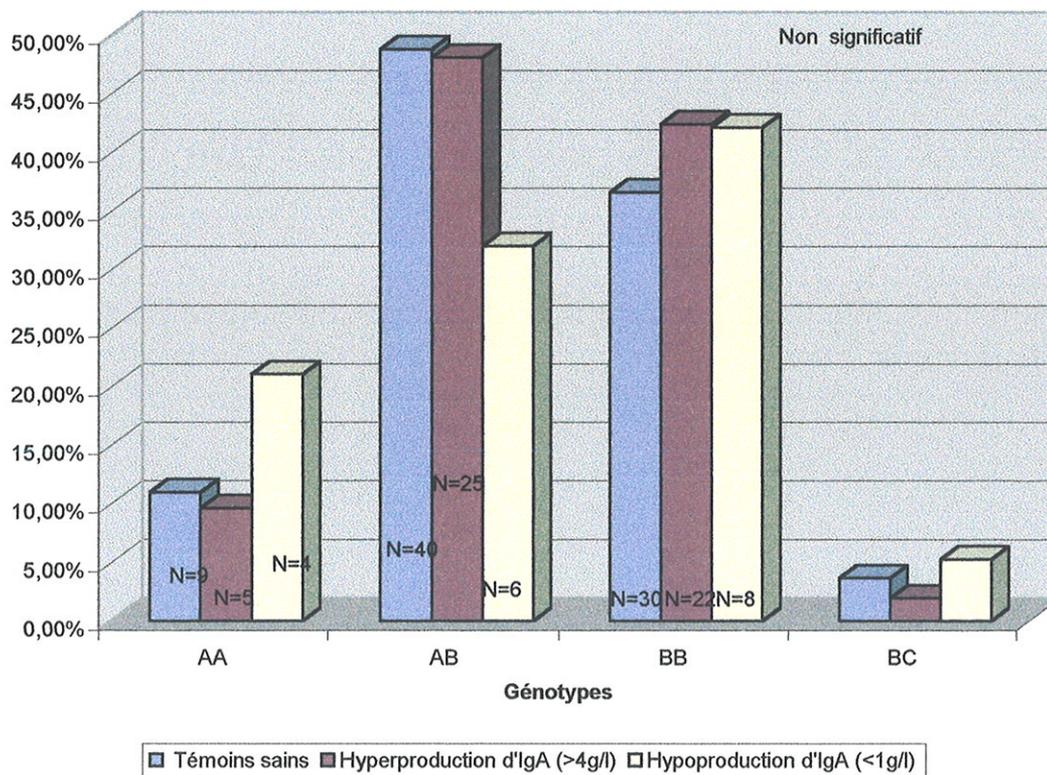
Cet histogramme montre également une fréquence plus importante du génotype AB dans la population hyperproduction d'IgA par rapport à la population hypoproduction d'IgA (48,78% vs 32%), mais cette différence n'est pas significative, car nous obtenons un  $\chi^2 = 1,54$ ,  $p = 0,21$  et probabilité exacte de Fischer = 0,28.

Pour la comparaison entre les populations hyperproduction d'IgA et témoins sains, le pourcentage obtenu pour chaque génotype est à peu près le même comme le confirment les tests statistiques.

	Chi 2	p	DDL	Probabilité exacte de Fischer
AA	0,063	0,8	1	> 0,99
BB	0,43	0,5	1	0,58
AB	0,006	0,93	1	> 0,99

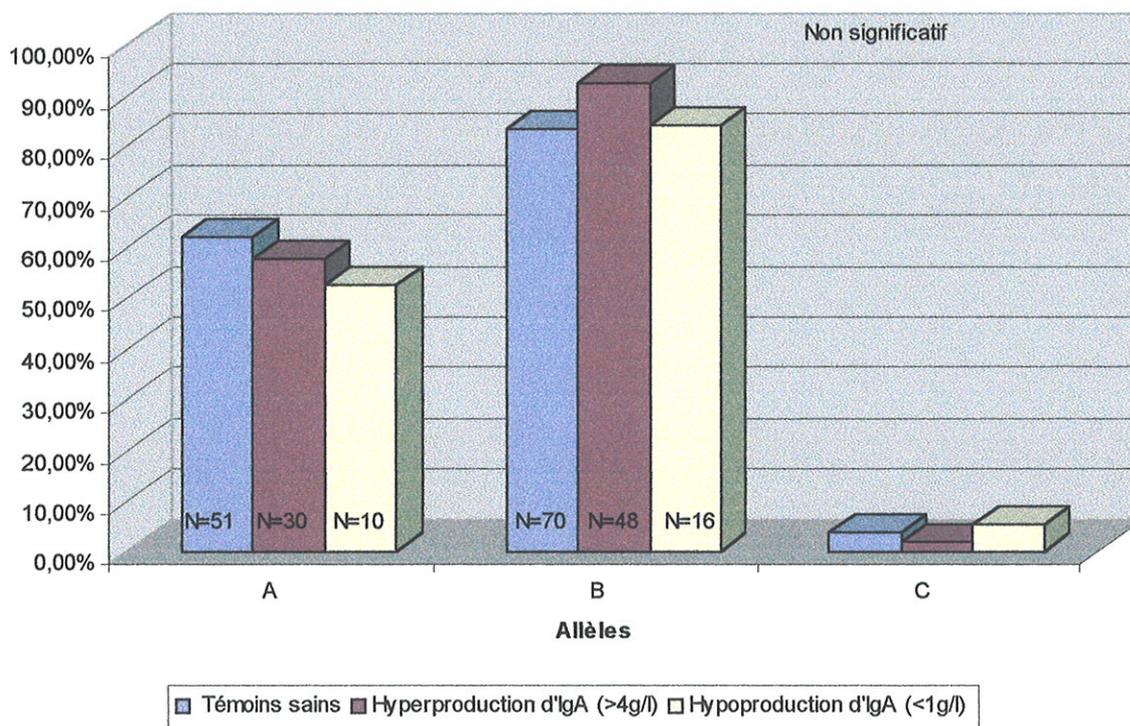
Le génotype BB est représenté de la même façon dans les trois groupes, quant au génotype BC, il est peu exploitable du fait de sa faible représentation.

**Figure 10: Distribution en fréquence des génotypes**



Lorsque l'on regarde le deuxième histogramme (figure 11 : distribution en fréquence des allèles), on se rend compte qu'il n'y a pas de différence de distribution des allèles A, B et C du gène  $\alpha 1$  entre ces trois populations.

**Figure 11: Distribution en fréquence des allèles**



Il semblerait donc, d'après les résultats obtenus, qu'il n'y ait pas de lien direct entre le taux sérique des IgA et les différents allèles de l'activateur hs1,2 du gène  $\alpha 1$ .

Cette absence de lien est confirmée par les tests statistiques :

-Comparaison témoins/ hypoproduction d'IgA

	Chi 2	p	DDL	Probabilité exacte de Fischer
A	0,59	0,44	1	0,44
B	0,016	0,89	1	> 0,99

- Comparaison témoins/ hyperproduction d'IgA

	Chi 2	p	DDL	Probabilité exacte de Fischer
A	0,27	0,6	1	0,71
B	1,45	0,22	1	0,28

- Comparaison Hyper/ hypoproduction d'IgA

	Chi 2	p	DDL	Prob. exacte de Fischer
A	0,14	0,7	1	0,78
B	1,027	0,31	1	0,37

## **2/ Polymorphisme de l'activateur hs1,2 du gène $\alpha$ 1 des sujets ayant une hyperproduction d'IgA et pathologie sous jacente**

N'ayant pas noté de différence quant à la distribution des allèles entre les populations contrôles et la population de patients présentant une hyperproduction d'IgA, nous nous sommes demandés s'il existait au sein même de cette population une différence par rapport à la pathologie sous jacente. Nous avons donc dans un deuxième temps, porté notre analyse sur les différentes catégories de pathologies rencontrées au sein de notre population de malades ayant un taux élevé d'IgA.

L'ensemble des 52 patients pour lesquels les IgA sériques sont  $> 4\text{g/l}$ , peut se répartir en quatre groupes selon les pathologies représentées :

- groupe de maladies auto-immunes : 4 patients
- groupe éthylisme chronique avec ou sans cirrhose : 15 patients
- groupe inflammation : 23 patients
- groupe appelé divers : 10 patients ayant des affections ne rentrant pas dans le cadre des groupes précédents. On y trouve des maladies variées comme les néphropathies diabétiques, des décompensations cardiaques ou encore la néphroangiosclérose.

Nous sommes conscients du faible nombre de patients inclus dans chaque groupe de pathologie. De ce fait, nous nous sommes intéressés uniquement aux deux groupes éthylisme chronique et inflammation, tout en gardant à l'esprit que nos conclusions ne peuvent être définitives. Les deux autres groupes ne sont pas exploitables d'un point de vue statistique.

## 2.1/ groupe éthyliste chronique

Si l'on compare à notre population de témoins sains, d'après les résultats obtenus, le génotype BB est légèrement moins fréquent dans le groupe éthyliste chronique (21,43% contre 36,58%). Cette différence n'est pas significative (Chi 2 = 0,54, p = 0,45 et probabilité de Fischer = 0,56).

Les autres génotypes et les différents allèles se répartissent de la même façon dans les deux groupes (cf. tableaux ci-dessous et figures 12 et 13).

Génotype	Ethyliste chronique Nb (pourcentage)	Témoins sains Nb (pourcentage)	Chi 2	P
AA	2 (14,29%)	9 (10,97%)	0,07 (NS)	0,79
AB	8 (57,15%)	40 (48,78%)	0,01 (NS)	0,74
BB	4 (21,43%)	30 (36,58%)	0,54 (NS)	0,45
BC	1 (7,15%)	3 (3,65%)		
Total	15	82		

Allèle	Ethyliste chronique Nb (pourcentage)	Témoins sains Nb (pourcentage)	Chi 2	P
A	10 (71,43%)	51 (62,1%)	0,1 (NS)	0,74
B	13 (85,7%)	70 (83,36%)	0,017 (NS)	0,89
C	1 (7,15%)	3 (3,65%)		

NS= Non significatif

Les résultats des tests statistiques réalisés montrent qu'il n'y a pas de différence significative.

## 2.2/ Groupe inflammation

Au sein de ce groupe, le génotype BB est plus représenté par rapport à la population de témoins sains (52,18% contre 36,58%), mais les tests statistiques donnent les résultats suivants :  $\chi^2 = 1,89$ ,  $p = 0,17$  et probabilité de Fischer = 0,22 ; ce qui implique une différence non significative.

L'allèle A est moins fréquent (47,83% contre 62,10%) (cf. tableau ci-dessous et figures 12 et 13). D'un point de vue statistique, ces différences de fréquence sont significatives ( $\chi^2 = 4,09$ ,  $p = 0,04$  et la probabilité exacte de Fischer = 0,053).

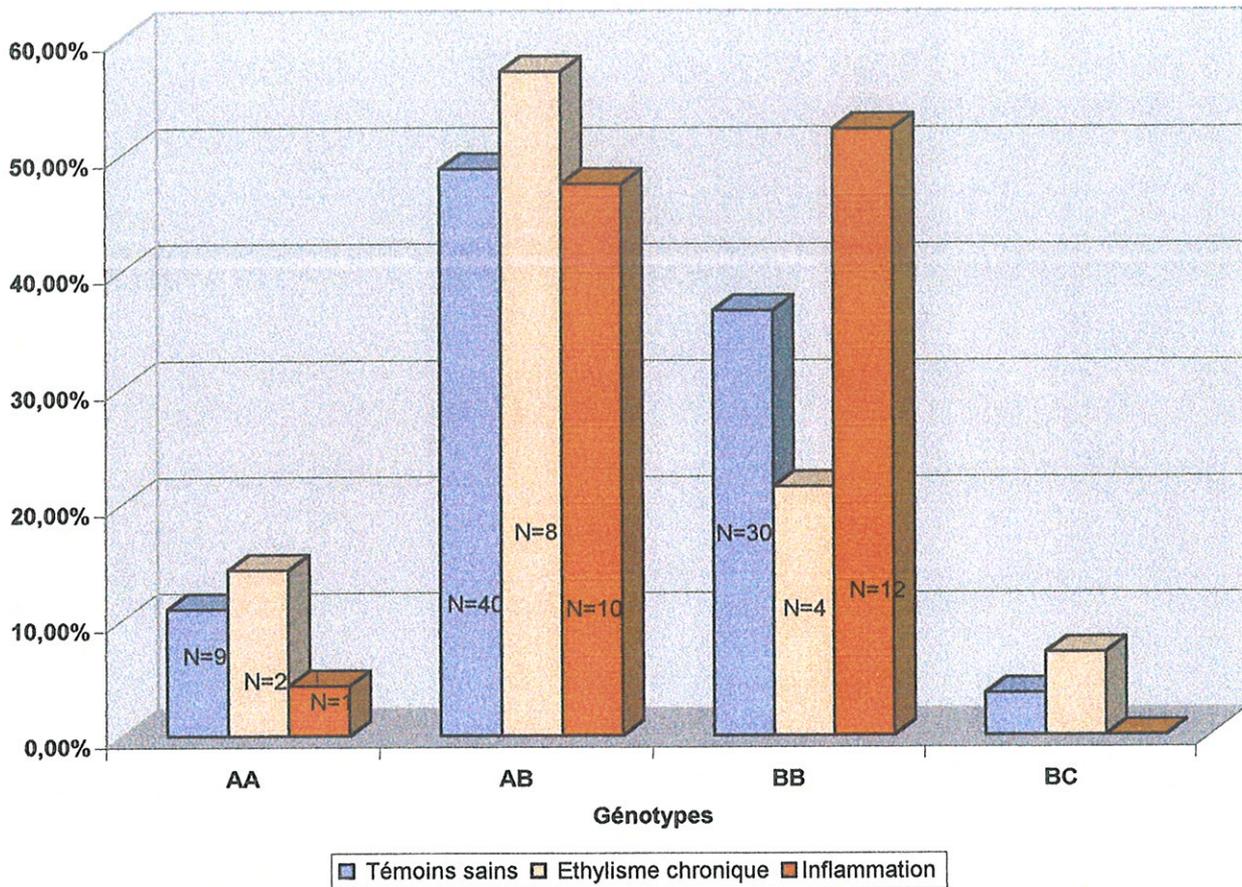
Génotypes	Inflammation Nb (pourcentage)	Témoins sains Nb (pourcentage)	Chi 2	P
AA	1 (4,35%)	9 (10,97%)	0,91 (NS)	0,33
AB	10 (47,48%)	40 (48,78%)	0,2 (NS)	0,65
BB	12 (52,18%)	30 (36,58%)		
BC	0	3 (3,65%)		
Total	23	82		
Allèles				
A	11 (47,83%)	51 (62,10%)	4,09 (S)	0,04
B	22 (95,66%)	70 (83,36%)	1,75 (NS)	0,18

NS = Non significatif

S= Significatif

Les génotypes AA et BB et l'allèle B se répartissent de la même façon dans les deux groupes, et les tests statistiques le montrent.

Figure 12: Distribution en fréquence des génotypes

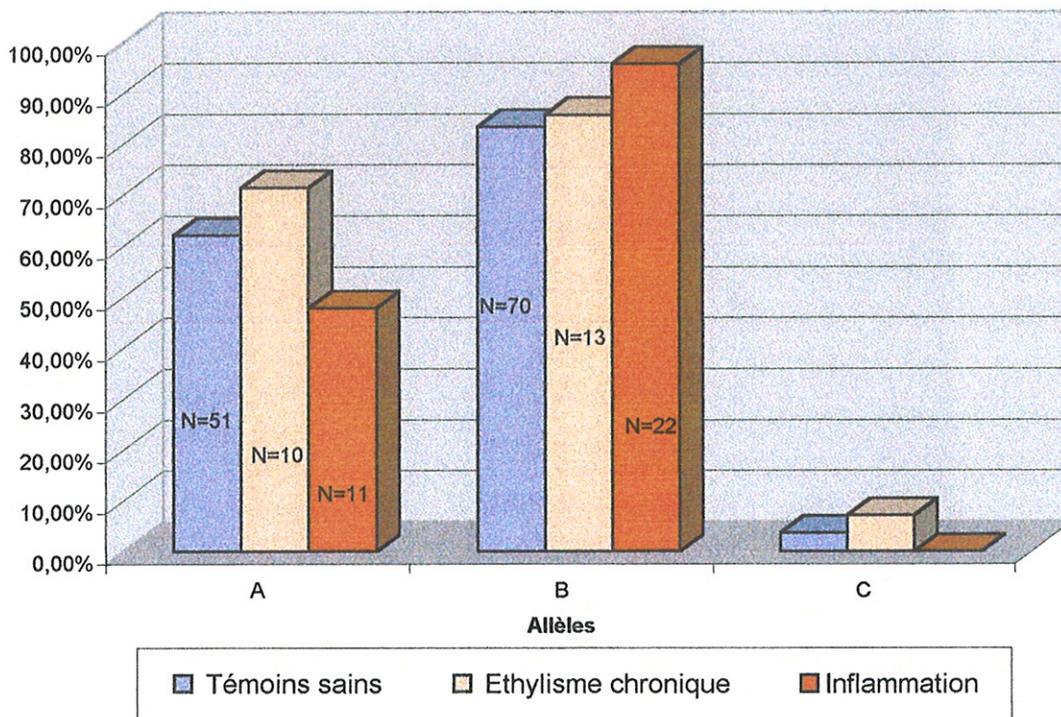


Résumé :

Le groupe éthyliste chronique ne montre pas de particularité par rapport à la population de témoins sains; la répartition des différents génotypes est pratiquement la même.

Il en est de même pour la comparaison de la fréquence des génotypes entre le groupe inflammation et la population de témoins sains; les différences observées sur l'histogramme ci-dessus (figure 12) ne sont pas significatives comme nous le montrent les tests statistiques. (cf. page précédente).

Figure 13: Distribution en fréquence des allèles



Pour la répartition des allèles, le groupe éthylisme chronique est similaire à la population de témoins sains.

Dans le groupe inflammation, l'allèle A est moins fréquent que dans la population de témoins sains, alors que l'allèle B est représenté de la même manière.

Le tableau ci-dessous représente le taux moyen d'IgA en fonction des différents génotypes dans les groupes éthylisme chronique, inflammation et les autres hyperproductions d'IgA.

	Ethylisme chronique	Inflammation	Hyperproduction d'IgA
AA	7,07+/- 3 g/l	7,39+/- 3 g/l	6,5 g/l
AB	5,47+/- 1,4 g/l	5,17+/-1 g/l	5,69+/- 1,63 g/l
BB	7,79+/-4 g/l	5,34+/- 1,21 g/l	4,98+/- 0,88 g/l

Au niveau des groupes éthylisme chronique et autres hyperproductions d'IgA, le taux sérique d'IgA varie peu en fonction des différents génotypes.

Dans le groupe inflammation, le taux d'IgA est plus élevé pour des patients qui ont le génotype AA, ce qui pourrait laisser penser qu'en cas d'inflammation, l'allèle A jouerait un rôle particulier.

# **DISCUSSION**

Avant de nous lancer dans la discussion proprement dite de nos résultats, nous allons dans un premier temps parler de l'intérêt de la technique PCR et de celui d'une extraction d'ADN sur caillots sanguins dans notre étude.

## **1/ Intérêt de la technique PCR dans cette étude**

L'étude du polymorphisme de l'activateur hs1,2 du gène  $\alpha 1$  peut être réalisée par des méthodes différentes de la PCR.

La région régulatrice en 3' des gènes  $\alpha$  du locus IgH a été mise en évidence en utilisant des techniques de southern blot et de champs pulsé.

La technique de southern blot consiste après digestion de l'ADN par des enzymes de restriction, migration et transfert sur des membranes, à visualiser des bandes d'ADN de tailles différentes par hybridation à l'aide de sondes radiomarquées spécifiques.

La technique de champs pulsé permet d'étudier des fragments de très grandes tailles (>50 kb).

Ces deux techniques sont longues, coûteuses en réactifs et en main d'œuvre, et surtout peu propices à l'automatisation. En plus, elles nécessitent la manipulation de produits radioactifs.

La technique PCR est avantageuse, car elle permet une meilleure adaptation de cette étude à la routine notamment, du fait de sa rapidité.

## **2/ Extraction d'ADN sur caillots**

L'utilisation de caillots sanguins, a permis d'éviter de reprélever des malades et de travailler sur des résidus biologiques (fonds de tubes), pour cette première approche de notre étude.

Cela a également permis de mettre au point une technique d'extraction d'ADN sur caillot, chose qui n'avait jamais été décrite auparavant.

Nous avons été des le début, confrontés à quelques difficultés : en effet, les éléments figurés du sang étant piégés à l'intérieur du réseau de fibrine, il a fallu trouver une méthode afin de les rendre plus accessibles pour extraire l'ADN des globules blancs. Après plusieurs tentatives d'extraction restées vaines, nous avons opté pour un broyage des caillots au mortier en s'aidant d'azote liquide.

Il s'est également posé un problème de conservation, avec dégradation de l'ADN. La qualité et la quantité d'ADN extractible diminuent avec le temps et dépendent des conditions de conservation des échantillons. Par conséquent, nous avons essayé des congélations à différentes températures ( -20° C et - 80°C) et dans de l'azote liquide.

La compaction des cellules à l'intérieur du réseau de fibrine constituant le caillot aurait pu les endommager. Cependant, malgré les difficultés rencontrées au départ, nous avons pu obtenir des extractions correctes, permettant une amplification d'ADN par PCR de bonne qualité.

## **3/ Influence des de l'activateur hs1,2 du gène $\alpha$ 1 sur la sécrétion d'IgA**

Au vu de nos résultats, il n'y a pas de différence de répartition allélique ni génotypique de l'activateur hs1,2 entre les groupes hyperproduction d'IgA, témoins sains et hypoproduction d'IgA.

Sur un total de 153 échantillons (population contrôle comprise), le taux sérique d'IgA semble faire intervenir d'autres facteurs que les allèles de l'activateur transcriptionnel hs1,2 du gène  $\alpha 1$ .

Les séquences stimulatrices (ou activateurs transcriptionnels) possèdent en commun une série de propriétés qui les définissent, dont la principale est d'augmenter considérablement le taux de transcription des gènes auxquels elles sont associées. Leur mécanisme d'action n'est pas encore bien connu, si ce n'est qu'elles agissent au moins en partie par l'intermédiaire de protéines. Le taux de transcription peut être modifié par les protéines se fixant à l'ADN.

L'activateur transcriptionnel hs1,2 du gène  $\alpha 1$  comporte un nombre variable de motifs de 53 pb incluant des sites de fixation pour des facteurs nucléaires de régulation de la transcription. L'allèle B qui contient deux fois ce motif de 53 pb présente une activité transcriptionnelle plus importante que l'allèle A qui n'en contient qu'un seul.

Comme cet activateur joue un rôle important dans la commutation isotypique [47], on pourrait s'attendre à ce que l'allèle B ou C favorise davantage le switch vers les IgA1, ce qui pourrait générer une augmentation du taux sérique des IgA.

Certains facteurs de régulation de la transcription peuvent nécessiter une activation. Dans certaines circonstances, la cellule doit pouvoir répondre de manière immédiate à un stimulus. Si cette réponse met en jeu l'activation de gènes, le facteur transcriptionnel nécessaire doit être disponible immédiatement. Pour cela, il est indispensable qu'il soit déjà présent dans la cellule mais sous forme inactive. De nombreux processus peuvent être responsables de cette activation. La phosphorylation par exemple peut modifier l'activité d'un facteur transcriptionnel.

D'autres facteurs de régulation de la transcription peuvent être séquestrés dans le cytoplasme du fait d'une liaison à un ligand. Bien que présent, le facteur ne peut exercer son effet puisqu'il ne peut atteindre sa cible sur l'ADN qui est nucléaire.

La dissociation du complexe à la suite d'un stimulus permet au facteur de migrer dans le noyau pour y jouer son rôle, et ceci en un temps très court.

Le facteur NF- $\kappa$ B mis en évidence dans les lymphocytes B et qui se fixe au niveau du motif de 53 pb de l'activateur hs1,2, est indispensable pour que les gènes  $\alpha$  soient correctement exprimés.

Ce facteur est localisé dans le cytoplasme et ce n'est qu'à la suite d'une stimulation (antigènes, interleukines, TNF...) qu'il est transloqué dans le noyau.

Dans le cytoplasme, ce dimère fixe une autre protéine I $\kappa$ B, ce qui a pour effet d'empêcher sa translocation dans le noyau. Etant séquestré dans le cytoplasme, il ne peut exercer son effet sur la transcription, il est alors inactif. La fixation d'un ligand sur un récepteur membranaire induit un stimulus qui provoque la dissociation du complexe. Les molécules de NF- $\kappa$ B libérées s'associent deux à deux pour constituer des dimères qui migrent vers le noyau et se fixent sur leur séquence cible.

Il faut donc noter qu'il peut exister des différences entre ce que l'on observe in vitro et ce qui se passe réellement in vivo.

Les études in vivo confirment parfois les hypothèses qui sont construites à partir de modèles in vitro simplifiés et plus propices aux expérimentations, mais il arrive que ces derniers modèles aient peu de similarité avec la réalité biologique in vivo, dont ils n'incluent pas toutes les variables.

Ainsi, pour la régulation de l'expression d'un gène, il peut y avoir in vivo, l'influence de différents éléments activateurs ou inhibiteurs, non considérés in vitro.

Il est certain que la simple interaction d'une série de facteurs de régulation de la transcription avec des séquences d'ADN n'est pas suffisante. La réalité biologique de la régulation d'un gène par une multiplicité de facteurs de transcriptions stimulateurs ou inhibiteurs se fixant de façon compétitive sur des séquences régulatrices multiples est probablement ainsi l'un des phénomènes naturels les plus difficile à modéliser. Concernant les gènes d'immunoglobulines, on notera de plus que cette régulation survient à la fois au niveau de la transcription et au niveau des recombinaisons.

Il est également important de signaler que l'on peut observer une augmentation du switch vers les IgA, sans traduction au niveau sérique, mais plutôt in situ, dans les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses.

En effet, certaines cytokines telles que l'IL-5, l'IL-6, l'IL-15 et le TGF- $\beta$  ont un rôle dans la régulation de la réponse immune à IgA au niveau des muqueuses. Ces cytokines favorisent la commutation isotypique vers les IgA, en particulier le TGF- $\beta$  et l'IL-15, avec pour conséquence une augmentation des IgA locales, alors qu'au niveau sérique, le taux d'IgA reste inchangé [48].

Des études ont montré que le TGF- $\beta$  agit comme un médiateur de l'activation de la transcription des gènes C $\alpha$ 1 et C $\alpha$ 2 dans les cellules de la lignée B chez l'homme [49].

Chez des patients déficients en IgA, il y a un taux sérique de TGF- $\beta$  diminué.

Le TGF- $\beta$  régule également l'expression des récepteurs à l'IL-5 à la surface des cellules B [49]. L'IL-5 n'a pas d'influence directe sur la commutation isotypique, mais elle stimule sélectivement les cellules B exprimant des IgA de surface.

Le TGF- $\beta$  est un facteur de commutation spécifique de l'isotype IgA. Il est produit dans tout l'organisme. Cette cytokine serait sécrétée sous forme inactive nécessitant un clivage protéolytique pour devenir active. La présence d'enzymes protéolytiques d'origine

bactérienne en quantité importante dans l'intestin permettrait localement de rendre cette cytokine active et donc contribuerait à la production d'IgA sélective au niveau de cet organe [49][50].

Dans la maladie de Berger, il y a bien un accroissement du switch vers les IgA1, pourtant au niveau sérique, l'augmentation des IgA n'est pas constante.

De plus, nos résultats concordent avec les hypothèses émises dans la littérature, selon lesquelles les gènes  $\alpha_1^A$  et  $\alpha_1^B$  sembleraient conserver une même capacité d'expression, avec des taux sériques d'IgA qui restent identiques quels que soient les profils étudiés [51] [52] [53].

#### **4/ Influence des allèles de l'activateur hs1,2 du gène $\alpha_1$ sur la pathologie**

Au sein même de notre population hyperproduction d'IgA, on peut observer des différences de distribution allélique de hs1,2 en fonction des pathologies.

L'allèle A est moins exprimé dans le groupe inflammation que dans la population de témoins sains. De plus, dans ce groupe inflammation, on note un taux sérique d'IgA plus élevé chez des patients qui ont le génotype AA. D'après notre étude, il n'y aurait pas de lien direct entre le taux sérique d'IgA et les allèles de l'activateur hs1,2 du gène  $\alpha_1$ .

Il y aurait peut être un rôle de ces allèles dans la physiopathologie de certaines complications de ces maladies impliquant les IgA (notamment complications rénales ?) ou même dans le pronostic, comme c'est le cas pour la maladie de Berger. L'allèle B dans cette maladie est associé à une évolution défavorable, c'est à dire une évolution plus rapide vers l'insuffisance rénale [4].

Concernant le groupe inflammation, il est difficile d'émettre des hypothèses par rapport au fait que l'allèle A de l'activateur hs1,2 y soit moins représenté. Cependant il est vrai que les immunoglobulines jouent un rôle important dans le contrôle du développement des réactions inflammatoires chroniques. Effectivement, lorsque la réponse inflammatoire n'aboutit pas à l'élimination de l'agent agresseur ou lorsque la cicatrisation tissulaire ne peut être observée, on peut voir apparaître des atteintes fonctionnelles. Au cours de la réaction inflammatoire, de nombreuses cytokines sont produites, dont le TGF- $\beta$  et l'IL-6. L'exacerbation de la réponse inflammatoire locale s'associe à un excès de production de cytokines. Le TGF- $\beta$  dans l'inflammation et la fibrose fait partie des cytokines à effet anti-inflammatoire et/ou fibrosant. Après une vague de cytokines pro-inflammatoires, et de façon contemporaine de la transformation du monocyte circulant en macrophage tissulaire, celui-ci a tendance à produire des cytokines anti-inflammatoires dont fait partie le TGF- $\beta$ . Les souris rendues déficientes en TGF- $\beta$  meurent de réaction inflammatoire incontrôlée. Le TGF- $\beta$  impliqué dans le switch vers les IgA, contribue à la genèse de la fibrose. Cette fibrose qui fait suite à la réaction inflammatoire, permet la cicatrisation, au prix de séquelles variables selon les circonstances et l'organe en cause [54].

Dans l'éthylisme chronique, il n'a pas été mis en évidence de différence particulière dans la répartition des allèles et des génotypes de l'activateur hs1,2 par rapport à la population de témoins sains, pourtant on note bien dans cette pathologie une augmentation de la synthèse des IgA, liée entre autre, au passage d'antigènes alimentaires et bactériens dans la circulation et à la présence de néoantigènes hépatiques.

Cette augmentation de la synthèse des IgA implique donc d'après les connaissances actuelles, une augmentation des événements de commutation isotypique vers les IgA. En effet, cette commutation isotypique vers les IgA correspond sur le plan génétique au

Cette augmentation de la synthèse des IgA implique donc d'après les connaissances actuelles, une augmentation des événements de commutation isotypique vers les IgA. En effet, cette commutation isotypique vers les IgA correspond sur le plan génétique au switch vers les gènes des chaînes lourdes  $\alpha$  [49]. Les résultats trouvés au sein de ce groupe confirment nos premières hypothèses par rapport au lien entre le taux sérique d'IgA et les allèles de l'activateur hs1,2.

Bien que chez ces patients, le problème principal soit situé au niveau hépatique, on pourrait aussi se poser des questions quant à la survenue d'une insuffisance rénale organique. Les maladies chroniques graves du foie comme la cirrhose peuvent être compliquées d'une glomérulosclérose diffuse. On retrouve dans ce cas peu de signes cliniques d'atteinte glomérulaire.

Des dépôts mésangiaux importants d'IgA de signification pathogénique inconnue ont été retrouvés au cours des cirrhoses[12]. De plus, nous savons que chez les patients éthyliques chroniques, il y a des dépôts d'IgA au niveau du rein [42]. En effet, il existe chez des patients atteints de cirrhose alcoolique des anomalies des asialoglycoprotéines intervenant dans la clairance des IgA, ces anomalies aboutissent à l'augmentation des dépôts d'IgA non seulement dans le foie, mais aussi dans le rein [55].

Au sein de notre groupe éthyliques chroniques, aucun ne présentait une altération de la fonction rénale. Cependant, une créatininémie normale chez un patient cirrhotique ne signifie pas que sa fonction rénale soit normale, car la dénutrition est habituelle au cours de la cirrhose et la masse musculaire est diminuée, ce qui entraîne une baisse du taux de créatinine (produit du métabolisme musculaire). Aussi une créatinine « normale » peut correspondre chez un cirrhotique à une insuffisance rénale ; il faudrait donc dans l'idéal se fonder sur la clairance de la créatinine.

On observe également dans ce groupe de patients une fréquence plus importante de l'allèle A chez les sujets ayant une évolution cirrhotique que chez ceux qui n'ont pas développé de cirrhose (respectivement 46.66% contre 20%). Sachant qu'il y a d'importantes différences individuelles face à l'évolution vers la cirrhose, on peut se demander si l'allèle A de l'activateur transcriptionnel hs1,2 du gène  $\alpha 1$  y contribue. Une étude comparant ces deux populations vis-à-vis du gène  $\alpha 1$  permettrait peut être d'apporter une réponse.

Dans les autres pathologies liées aux IgA abordées dans ce travail (purpura rhumatoïde, dermatoses à IgA et déficit en IgA), on peut tout aussi bien se poser la question du rôle qu'y jouent les différents allèles de l'activateur hs1,2 du gène  $\alpha 1$ .

Au cours du purpura rhumatoïde, c'est l'atteinte rénale qui conditionne le pronostic. Les néphropathies y sont recherchées de façon systématique. Dans certains cas, les atteintes rénales sont graves, entraînant une glomérulonéphrite rapidement progressive ou un syndrome néphrotique. On peut observer des dépôts granuleux dans le mésangium et les parois périphériques des capillaires, notamment chez l'adulte où la néphropathie est plus fréquente. D'après les données physiopathologiques, un antigène inconnu entraîne une hypersécrétion d'IgA avec formation d'immuns complexes à IgA. Une augmentation des IgA sériques est mise en évidence chez la moitié des malades. Les allèles du gène  $\alpha 1$  auraient-ils un rôle pronostic dans cette maladie ?

Dans les dermatoses à IgA et le déficit en IgA, l'intérêt pourrait résider dans une meilleure connaissance de leur physiopathologie.

# CONCLUSION

# CONCLUSION

Les mécanismes de régulation de la production d'IgA ne sont pas encore complètement élucidés. Cette régulation paraît présenter une grande complexité. L'accroissement du switch vers les IgA1 aurait pu s'expliquer par le rôle de l'activateur transcriptionnel hs1,2 du gène  $\alpha 1$ , celui ci intervenant dans la commutation isotypique.

Notre étude n'a pas pu mettre en évidence de lien direct entre l'augmentation de la production d'IgA et le polymorphisme de l'activateur transcriptionnel hs1,2, peut être parce que nous ne contrôlions pas l'ensemble des variables qui affectent la production des IgA chez ces patients. Cependant cette étude a permis de souligner de nombreuses questions quant au rôle de l'activateur hs1,2 dans les pathologies impliquant les IgA et surtout de mettre au point une technique d'extraction d'ADN à partir de caillots sanguins.

Un fait acquis est le rôle pronostic que joue l'allèle B dans la maladie de Berger. Cela encourage à poursuivre cette étude en ciblant plus la pathologie sous jacente que l'hyperproduction d'IgA, en augmentant le nombre d'échantillons et en incluant des patients selon des critères plus stricts.

Une bonne compréhension de la physiopathologie et de l'évolution des maladies permettent une meilleure adaptation des traitements et des conduites à tenir.

# Bibliographie

- [1]- **Eric Pinaud, Corinne Aupetit, Christine Chauveau and Michel Cogné**  
Identification of homolog of the C $\alpha$ 3'/ hs3 enhancer and of a an allelic Variant of 3' IgH/ hs1,2 enhancer downstream the human immunoglobulin  $\alpha$ 1 gene,  
Eur. J. Immunol. 1997 ; 27 :2981-2985.
- [2]- **Choqun Chen and Barbara K, Birshtein**  
Virtually Identical Enhancers Containing a Segment of Homology to Murine 3' IgH-E (hs1,2) Lie Downstream of Human Ig C $\alpha$ 1 and C $\alpha$ 2 Genes,  
The journal of Immunology, 1997 ; 159 : 1310-1318.
- [3]- **C. Aupetit, M. Drouet, E. Pinaud, Y. Denisot, JC. Aldigier, F. Bridoux, and M. Cogné**  
Alleles of the  $\alpha$ 1 immunoglobulin gene 3' enhancer control evolution of IgA Nephropathy toward renal failure.  
Kidney international 2000 – vol 58 pp 966-971.
- [4]- **C. Mingotaud-Aupetit**  
Polymorphisme de la région régulatrice 3' du locus IgH humain : Aoolication à l'immunopathologie. 107 p  
Thèse de docteur d'état en Pharmacie. Limoges 1998 – N° 98tou/3/2024.
- [5]- **Immunologie clinique**  
**J. Brostoff, G. Scadding. D. Male, I. M. Roitt**  
De Boeck université
- [6]- **Honjo**  
Immunoglobulin genes  
2<sup>nd</sup> édition (Ac. Press)
- [7]- **Christine Chauveau, Eric Pinaud and Michel Cogné**  
Synergies between regulatory elements of the immunoglobulin heavy Chain Locus and its palindromic 3' locus control region,  
Eur. J. Immunol. 1998 ; 28 : 3048-3056.
- [8]- **Shireen Saleque, Mallika Singh, and Barbara K, Birshtein**  
Ig Heavy Chain Expression and Class Switching In Vitro from an Allele Lacking the 3' enhancer Dnase I-Hypersensitive hs3A and hs1,2  
The Journal of Immunology, 1999 ; 162 : 2791-2803.
- [9]- **Tove Anderson, Christina Furebing, Carl A. K. Borrebaeck, Sven Petterson**  
Temporal expression of a VH promoter-C $\mu$  transgene linked to the IgH HS1,2 enhancer, The Journal of Immunology, 1996 ; 156 :2828-2839.

- [10]- KHAMLIHI et al.**  
 The 3' IgH Regulatory Region : A Complex Structure in a Search for a  
 A Function  
 Advances in immunology. Vol 75 pp 317-345.
- [11]- Jennifer S. Michaelson, Mallika Singh, Clifford M. Snapper, William  
 C. Sha, David Baltimore, and Barbara K. Birshtein**  
 Regulation of 3' IgH Enhancer by a Common Set of Factors, Including  
 $\kappa$ B-Binding proteins,  
 The Journal of Immunology, 1996 ; 156 : 2828-2839.
- [12]- The Harrison**  
 Principes de Médecine interne (5<sup>e</sup> édition)  
 Paris : J. D. Wilson et al – 1992 – 2208p (collection Flammarion).
- [13]- Immuno Dermatologie**  
 Ellipses.
- [14]- Suppana Chart N, Mutasim D. F**  
 The distribution of IgA pemphigus antigen in human skin and the role of  
 IgA anticell surface antibodies in the induction of intra epidermal  
 Acantholysis.  
 Arch Dermatol 1993 ; 129 : 605-608.
- [15]- Hashimoto T, Ebihara T, Dmochowski M, Kawamura K, Suzuki T,  
 Tsurufuji S et al.**  
 IgA antikeratinocyte surface autoantibodies from two types of intercellular  
 IgAI vesiculopustular dermatosis recognize distinct isoforms of  
 Desmocollin,  
 Arch Dermatol Res 1996 ; 288 : 447-452.
- [16]- Wang J, Kwon J, Ding X, Fairley JA, Woodley DT, Chan LS**  
 Non secretory IgA1 autoantibodies targeting desmoral component  
 Desmoglein 3 in intra epidermal neutrophilic IgA dermatosis,  
 Am J. Patholol 1997 ; 150 : 1901-1907.
- [17]- Wallach D**  
 Intra epidermal IgA pustulosis  
 Am. Acad Dermatol 1992 ;27 : 993-1000.
- [18]- Weston WL, Friednash M, Hashimoto T, Seline P, Huff JC, Morelli  
 JG**  
 A novel childhood pemphigus vegetants of intra epidermal neutrophilic  
 IgA dermatosis,  
 J. Am Acad Dermatol 1998 ; 38 : 635-638.
- [19]- Wallach D, Jansen F Vigon – Pennamen – MD, Lemarchand –  
 Venencie F, Cohenot F**  
 Atypical Neutrophilic Dermatitis with Subcorneal IgA Deposits,  
 Arch Dermatol 1987 ; 123 : 790-795.

- [20]- **Teraki Y, Amagain, Hashimoto T**  
Intracellular IgA dermatosis of childhood : selective deposition of monomer IgA1 in the intercellular space of the epidermis,  
Arch Dermatol 1991 ; 127 :221-224.
- [21]- **Stolz W, Bieber T, Meurer M**  
Is the atypical neutrophilic dermatosis with subcorneal IgA deposits  
A variant of pemphigus foliaceus,  
Br J Dermatol 1989 ; 121 :276-279.
- [22]- **Akiyama M, Hashimoto T, Sugiura M**  
Immunogold electron microscopic observation of intercellular IgA  
vesiculo pustular dermatosis and pemphigus antigen,  
J. Dermatol 1992 ; 19 : 977.
- [23]- **Kim SC, Won JH, Chung J, Bang DS**  
IgA pemphigus : report of case with immunoelectron localieation of bound IgA in the skin,  
J ; Am Acad Dermatol 1996 ; 34 : 852-854.
- [24]- **Prost C, Intralor L, Wechsler J, Lebbe C, Bagot M, Roujeau JC et al.**  
IgA autoantibodies bind to pemphigus vulgaris antigen in a case of intraepidermal neutrophilic IgA dermatosis,  
J. Am Acad Dermatol ; 25 : 846-848.
- [25]- **F. Paolo Schena**  
IgA Nephropathies
- [26]- **Ali. G Gharavi and al.**  
IgA Nephropathy, the Most Common Cause of Glomerulonephritis, is linked to 6q 22-23,  
Nature genetics - vol 26 – Nov 2000 : 354-357.
- [27]- **Alessandro Amore – Rosanna Coppo**  
Modulation of mesangial cell reactivity by aberrantly glycosylated IgA,  
Nephron 2000 ; 86 : 255-259.
- [28]- **B. Baskin and al.**  
Studies of the molecular basis of IgA production, subclass Regulation and class-switch recombination in IgA nephropathy patients,  
Clin exp immunol 1996 ; 106 : 509-517.
- [29]- **Lai KN and al.**  
Increase of both circulating TH1 and TH2 lymphocyte subsets in IgA nephropathy,  
Clin exp Immunol 1994 ; 96 :116-121.

- [30]- Moore RH, Hitman GA, Sinico RA et al.**  
Immunoglobulin heavy chain switch region gene polymorphism in glomerulonephritis,  
Kidney int 1990 ; 38 : 332-336.
- [31]- PA. Crowley-Nowick, R. Bull, A. W. L. Van der Wall Bake, L. Kulhavy, BA. Julian and S. Jackson**  
Immunological studies of IgA nephropathy in blacks reveal elevation of serum IgA2 as well IgA1,  
Nephrol Dial Transplant, 1994 ; 9 : 1324-1329.
- [32]- Llyods. Ibels, MD and Akos A. Györy, Dsc. MD**  
IgA nephropathy : analysis of the natural history, important factors in the progression of renal disease, and a review of the literature,  
Medecine, 1994 ; 73 (2) : 79-102.
- [33]- John H. Galla**  
IgA Nephropathies,  
Kidney int, 1995 ; 47 : 377-387.
- [34]- Gay C, Lavocat MP, Blanc JP**  
Incidence du purpura rhumatoïde de l'enfant et fréquence de la néphropathie associée dans le département de la Loire.  
Arch. Pediatr 1997 ; 4 : 486-488.
- [35]- Coppo R, Cirina P, Amore A, Sinico RA, Radice A, Rollino C**  
Properties of circulating IgA molecules in Henoch-Schönlein purpura nephritis with focus on neutrophilic cytoplasmic antigen IgA binding (IgA-Anca) : new insight into a debate issue,  
Nephrol Dial Transplant 1997 ; 12 : 2269-2276.
- [36]- Cederholm B, Linne T, Wieslander J, Bygren P, Heinegard D**  
Fibronectin-IgA complexes in the early course of IgA and Henoch-Schönlein nephritis,  
Pediatr Nephrol 1991 ; 5 : 200-204.
- [37]- Liu ZH, Cheng ZH, YU YS, Tang Z, Lils**  
Interleukin-1 receptor antagonist allele : is it a genetic link between Henoch-Schönlein nephritis and IgA nephropathy,  
Kidney int 1997 ; 51 : 1938-1942.
- [38]- Wright, Millward-Sadler Alberti-Karran**  
Liver and biliary disease – 2d edition – Bailliére Tindall.
- [39]- Dominique Meillet, Françoise Labrousse, M.O. Benoit, Alain Hernvann, Lucile Musset and Geneviève Van Amerongen**  
Increased serum concentration of IgA2 subclass and IgA2/IgA1 ratio : specific markers of chronic alcoholic abuse ?  
Eur J. clin chem clin biochem 1997 ; 35 (4) : 275-279.

- [40]- A.C Douds, DJ. M. Lewis, J.D. Maxwell and T.A. Poulton**  
 Serum IgA antibodies to human gut luminal aspirates and human liver in alcoholic liver disease,  
 Alcoholism : clinical and experimental research, vol 22 – No7, 1998 :  
 pp 1383-1388.
- [41]- Christine Silvain, Claire Patry, Pierre Launay, Agnès Lehuen and Renato C- Monteiro**  
 Altered expression of monocyte IgA Fc receptors is associated with defective endocytosis in patients with alcoholic cirrhosis,  
 The journal of Immunology, 1995 ; 155 : 1606-1618.
- [42]- Saklayen Mg, Schroeter AL, Nafz MA, Jalil K**  
 IgA deposition in the skin of patients with alcoholic liver disease.  
 J. cutan pathol 1996 ; 23 : 12-18.
- [43]- Yves Benhamou, William Berrebi-Dany Gargot, JP Marchand**  
 Hépatogastroentérologie – Medline.
- [44]- Paulette Bioulac-Sage, Jean Frédéric Blanc, Sébastien Lepreux, Charles Balabaud, Jean Rosenbaum, Alexis Desmoulière**  
 Cirrhose : toujours ?  
 Gastroenterol clin biol 2000 ; 24 : 877-882.
- [45]- C.A Alper and al**  
 Prospective analysis suggest susceptibility genes for deficiencies of IgA and several other immunoglobulins on the [HLA-B8, SCO1, DR3] Conserved extended haplotype,  
 Tissue antigens 2000 ; 56 : 207-216.
- [46]- Domenico Lio, Claudia D'Anna, Francesco Leone, Maria Francesca Curro, Giuseppina Candore and Calogero Aruso**  
 Hypothesis : interleukin-5 production impairment can be a key point in the pathogenesis of the MHC- Linked selective IgA deficiency,  
 Autoimmunity, vol 27. Pp 185-188.
- [47]- Cogné M, Lansford R, Bottaro A, Zhang J, Gorman J, Young F, Cheng HL, Alt FW**  
 A class switch control region at the 3' end of the immunoglobulin heavy chain locus,  
 Cell 1994 ; 77 : 737-747.
- [48]- Takachika Hiroi, Manabu Yanagita and al,**  
 IL-15 and IL-15 Receptor selectively Regulate Differentiation of Common Mucosal Immune System – Independent B-1 cells for IgA Responses,  
 The journal of Immunology, 2000, 165 ; 4329-4337.
- [49]- V Godding, JP Vaerman and Y. Sibille,**  
 Secretory mucosal immune mechanisms  
 Acta oto – rhino – laryngologia belg., 2000,54,255-261.

**[50]- Les Cytokines**  
**J.M. Cavaillon**  
Masson.

**[51]- Hodjattallah Rabani and al,**  
The influence of genes deletions and duplications within the IgHC locus  
on serum immunoglobulin subclass levels,  
Clinical Immunology and Immunopathology, 76, 3, S214-S218, (1995).

**[52]- Christine Silvain, and al,**  
A human myeloma IgA with a hybrid heavy chain resulting from putative  
somatic gene conversion,  
Eur. J. Immunol, 23 ; 364-368 (1993).

**[53]- Kjell Kett and al,**  
Different subclass distribution of IgA – producing cells in human lymphoid  
organs and various secretory tissues,  
Journal of Immunology, 136 ; 10, 3631-3635 (1996).

**[54]- Cytokines et medecine interne,**  
**P. Galanaud, D. Emilie**  
Masson.

**[55]- Abdalla Rifai, Kim Fadden, Sherie L. Morrison, and Koteswara R.**  
**Chintalacharuvu**  
The N-Glycans determine the differential blood clearance and hepatic  
Uptake of human immunoglobulin IgA1 and IgA2 isotypes,  
J. Exp. Med – vol 191, number 12, June 19, 2000.

# ANNEXES

## Patients ayant une hyperproduction d'IgA (>4g/l)

No	Code	Age	Sexe	Type d'échantillon	Taux d'IgA(g/l)	Génotype	Diagnostic
1	P1	60	F	Caillot	4.39	BB	Pseudopolyarthrite rhizomélique
2	P2	69	M	Caillot	6.42	AB	Erythroblastopénie
3	P3	9	M	Caillot	4.43	BB	Lymphadénite
4	P4	12	M	Caillot	4.18	AA	Adénopathies abdominales infectieuses
5	P5	78	M	Caillot	4.59	AB	Néphroangiosclérose
6	P6	81	F	Caillot	7.34	BB	Fibrose pulmonaire
7	P7	43	M	Caillot	15.2	BB	Cirrhose éthylique
8	P8	60	M	Caillot	4.62	AB	Néphropathie mixte diabétique ethypertensive
9	P9	91	F	Caillot	8.67	AB	Décompensation cardiaque
10	P10	45	M	Caillot	4.94	AB	Cirrhose éthylique
11	P11	75	F	Caillot	5.47	BB	AVC Ulcère de jambe
12	P12	62	M	Caillot	5.95	AB	Ethylisme chronique
13	P13	35	M	Caillot	4.59	AB	Méningite lymphocytaire
14	P14	59	M	Caillot	4.33	AB	Ethylisme chronique
15	P16	75	M	Caillot	4.16	BB	Divers

16	P17	70	F	Caillot	4.09	AB	Ostéoporose Tassement vertébral
17	P18	66	M	Caillot	4.76	BB	Ethylisme chronique
18	P19	23	M	Caillot	5.72	AB	Mucoviscidose
19	P20	75	M	Caillot	6.1	BB	Pseudopolyarthrite rhizomélique
20	P21	68	F	Caillot	4.86	BB	Cirrhose éthylique
21	P22	50	M	Caillot	8.09	AB	Cirrhose éthylique décompensée
22	P23	45	M	Caillot	4.39	AB	Cirrhose éthylique
23	P24	85	M	Caillot	4.21	AB	Syndrrome néphrotique
24	P25	13	M	Caillot	4.61	BB	Mastocytose cutanée
25	P26	50	M	Caillot	7.16	AB	Ethylisme chronique
26	P27	91	F	Caillot	5.13	AB	Tassement vertébral
27	P28	76	F	Caillot	5.85	BB	AVC
28	P29	57	M	Caillot	8.08	AB	Divers
29	P30	76	F	Caillot	4.54	BB	Diabète HTA
30	P31	88	M	Caillot	6.24	AB	Vascularite
31	P35	66	F	Caillot	4.61	AB	Cirrhose éthylique
32	P38	48	M	Caillot	6.63	BC	Cirrhose éthylique
33	P41	47	M	Caillot	6.69	AB	Maladie thrombo embolique
34	P42	52	F	Caillot	6.55	AA	Syndrôme de Goujerot sjogrén

35	P51	76	M	Caillot	4.13	AB	Maladie thrombo embolique
36	P52	89	M	Caillot	5.81	AB	Phlébite des membres inférieurs
37	P54	68	M	Caillot	4.82	AA	Cirrhose éthylique
38	P55	43	M	Caillot	5.11	AB	Rhumatisme inflammatoire

39	P56	40	M	Caillot	6,36	BB	Ethylisme chronique
40	P58	73	M	Caillot	4,59	BB	Lymphome T cutané
41	P61	82	M	Caillot	4,43	BB	Ulcère des membres inférieur. Pyoderma gangrenosum.
42	P62	70	M	Caillot	9,32	AA	Cirrhose éthylique
43	P63	78	F	Caillot	6,35	BB	Insuffisance rénale chronique. Péritonite. Choc septique.
44	P64	79	M	Caillot	10,60	AA	Maladie de Wegener
45	P65	71	M	Caillot	4,35	AB	Cirrhose éthylique
46	P66	77	M	Caillot	4,26	BB	Syndrome inflammatoire inexpliqué
47	P67	64	F	Caillot	5,42	AB	Leucémie myéloïde chronique
48	P68	21	F	Caillot	4,44	AB	Thyroïdite de Hashimoto. LED. Syndrome de Goujerot Sjögren.
49	P69	38	F	Caillot	5,02	BB	Asthénie Amaigrissement

50	P70	76	M	Caillot	4,41	BB	Hernie hiatale Embolie pulmonaire
51	P71	53	M	Caillot	4,17	BB	AVC
52	P72	78	F	Caillot	7,39	BB	Ulcère de jambe

**Patients ayant une hypoproduction d'IgA (<1g/l)**

No	Code	SEXE	AGE	Extraction ADN	IGA	GENOYPE
1	P73	F	71	Caillot	0,65	AA
2	P74	M	63	Caillot	0,94	BB
3	P75	F	60	Caillot	0,87	BB
4	P76	M	50	Caillot	0,76	AB
5	P77	F	65	Caillot	0,98	BB
6	P78	F	67	Caillot	0,7	AB
7	P79	F	90	Caillot	0,78	AB
8	P80	M	13	Caillot	0,36	AA
9	P81	F	73	Caillot	0,31	AA
10	P82	F	70	Caillot	0,85	BC
11	P83	F	41	Caillot	<0,23	BB
12	P84	F	75	Caillot	0,63	BB
13	P85	F	65	Caillot	0,94	BB
14	P86	M	66	Caillot	0,82	AA
15	P87	M	43	Caillot	0,96	AB
16	P88	F	47	Caillot	0,45	BB
17	P89	M	13	Caillot	0,84	AB
18	P90	F	41	Caillot	0,98	BB
19	P91	F	22	Caillot	0,67	AB

**Témoins sains (donneurs volontaires du laboratoire d'histocompatibilité du CHU de  
Limoges**

No	Code	Taux d'IgA(g/l)	Génotype
1	2701	1,37	AB
2	2702	3,07	BB
3	2703	1,66	AB
4	2706	1,03	AB
5	2707	1,29	BB
6	2708	3,57	AB
7	2709	0,99	AB
8	2710	1,81	BB
9	2711	2,64	BB
10	2712	1,51	AB
11	2713	2,7	BB
12	2714	2,36	AB
13	2715	2,79	AB
14	2716	1,47	AB
15	2717	2,88	BB
16	2718	2,85	BB
17	2719	1,48	BB
18	2720	1,93	BB
19	2722	2,66	AB
20	2723	1,72	BB
21	2724	3,16	AA
22	2725	1,34	AB
23	2726	1,51	BB
24	2728	2,31	AB
25	2729	2,82	AA
26	2730	1,58	AA
27	2731	2,05	AB
28	2733	3,55	AB
29	2734	3,2	BB
30	2735	1,56	BB
31	2736	1,37	AB
32	2737	1,17	AB
33	2738	1,38	AA
34	2739	1,54	BC
35	2740	1,66	AA
36	2741	0,92	BB

37	2742	2,76	AB
38	2743	1,41	BB
39	2744	2,19	BB
40	2745	1,28	AB
41	2747	2,83	AB
42	2748	2,18	AB
43	2749	3,95	AB
44	2750	3,91	AB
45	2751	2,59	BB
46	2752	1,71	BC
47	2753	0,78	BB
48	2754	3,21	BB
49	2755	1,06	BB
50	2756	2,84	BC
51	2757	2,17	AB
52	2758	2,6	AB
53	2760	3,01	AA
54	2761	2,4	AB
55	R1	1,87	AB
56	R3	1,91	BB
57	R4	1,39	AB
58	R5	1,59	AB
59	R7	2,97	AB
60	R11	2,13	AB
61	R12	3,06	AB
62	R13	1,01	AB
63	R15	1,57	AB
64	R16	1,78	AB
65	R17	1,29	AB
66	R48	1,85	AB
67	R53	3,28	AB
68	R55	2,8	AB
69	B7	1,24	AB
70	B8	1,13	AA
71	B9	2,7	AA
72	V1	2,89	BB
73	V2	1,98	BB
74	V3	1,62	BB
75	V4	2,23	BB
76	V8	2,21	BB
77	V9	1,44	BB
78	V10	0,72	BB
79	V18	1,62	BB
80	V19	2,59	BB
81	V23	1,56	BB
82	O1	2,97	AB

# ABREVIATIONS

**Ac** : Anticorps

**ADCC** : Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante d'anticorps

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**Ag** : Antigène

**AG** : Acides gras

**BET** : Bromure d'éthidium

**Chaîne H** : Chaîne lourde d'immunoglobuline

**Chaîne L** : Chaîne légère d'immunoglobuline

**dNTP** : Désoxyribonucléotide triphosphate

**EDTA** : Acide éthylènediamine tétraacétique

**IF** : Immunofluorescence

**IFI** : Immunofluorescence indirecte

**IL** : Interleukine

**LED** : Lupus érythémateux disséminé

**NAD** : Nicotinamide adénine dinucléotide

**PAF** : Platelet activating factor

**pb** : Paires de base

**PBR** : ponction biopsie rénale

**PDGF** : Platelet derived growth factor

**TE** : Tampon Tris/EDTA. (Tris pour Tris-(hydroxyméthyl) aminométhane)

**TGF**: Tumor growth factor

**Tm** : Température moyenne de fusion

**TNF** : tumor necrosis factor

**ZMB**: Zone de la membrane basale de l'épiderme

## REFERENCE DES FIGURES

- <b>Figure 1</b> : Structure d'une immunoglobuline .....	10
- <b>Figure 2</b> : Mode d'action des anticorps .....	13
- <b>Figure 3</b> : Organisation du locus IgH .....	15
- <b>Figure 4</b> : Immunoglobulines A .....	20
- <b>Figure 5</b> : Régions régulatrices du locus IgH chez la souris .....	22
- <b>Figure 6</b> : Locus IgH humain et ses activateurs transcriptionnels .....	23
- <b>Figure 7</b> : Sites de liaison des facteurs nucléaires régulant les les activateurs transcriptionnels chez la souris .....	26
- <b>Figure 8</b> : Structure de la jonction dermo-épidermique .....	32
- <b>Figure 9</b> : Région 3' des gènes $\alpha 1$ amplifiée par PCR .....	89
- <b>Figure 10</b> : Histogramme de distribution en fréquence des génotypes (comparaison Hyperproduction d'IgA/Témoins/Hypoproduction d'IgA) .....	94
- <b>Figure 11</b> : Histogramme de distribution en fréquence des allèles (Comparaison Hyperproduction d'IgA/Témoins/Hypoproduction d'IgA) .....	95
- <b>Figure 12</b> : Histogramme de distribution en fréquence des génotypes (Ethylisme chronique/Témoins/Inflammation) .....	100
- <b>Figure 13</b> : Histogramme de distribution en fréquence des allèles (Ethylisme chronique/Témoins/Inflammation) .....	101

## RESUME

Les gènes codant pour les chaînes lourdes d'immunoglobulines sont situés sur le chromosome 14 au niveau du locus IgH.

Ce locus présente en 3' des gènes  $\alpha$ , une région régulatrice qui comporte des activateurs de la transcription.

Parmi ces activateurs transcriptionnels, l'activateur hs1,2 du gène  $\alpha 1$  présente un intérêt particulier du fait de son polymorphisme. Il intervient dans la commutation isotypique et favoriserait le switch vers les IgA1.

Nous nous sommes intéressés à l'étude de ce polymorphisme dans les maladies avec hyperproduction d'IgA sériques, après avoir présenté les notions fondamentales sur les immunoglobulines (structure, synthèse, régulation) et les pathologies impliquant les IgA. D'après les résultats de notre étude, il n'y aurait pas de lien entre le polymorphisme de l'activateur transcriptionnel hs1,2 du gène  $\alpha 1$  et le taux sérique des IgA chez ces patients, par contre, les différents allèles de cet activateur pourraient jouer un rôle dans les complications des pathologies sous jacentes.

Mots clés :

Polymorphisme    Immunoglobulines A    Chaînes lourdes    Gènes    Allèles

Activateur

Transcription

PCR