

Facteurs Anti-Nucléaires " Non-Identifiés " dans la sclérodermie systémique

Non-identified antinuclear antibodies in systemic sclerosis

A. Margot¹, J. Smet², S. Soyfoo³

¹Post Gradué en Radiodiagnostic, ²Laboratoire de Biologie Clinique, ³Service de Rhumatologie et Médecine Physique, Hôpital Erasme

RESUME

Introduction : La sclérodermie systémique est une maladie auto-immune rare caractérisée par une atteinte cutanée locale ou diffuse ainsi qu'une atteinte viscérale variable. On retrouve des facteurs anti-nucléaires (FAN) chez environ 95 % des malades, dont les plus fréquents sont les anti-topoisomérase I (ou anti-Scl 70) et les anti-centromères. D'autres auto-anticorps ont été décrits mais ceux-ci ne sont pas classiquement recherchés en pratique clinique, on les dénomme alors " FAN non identifiés ".

Objectif : Rechercher les anticorps " non identifiés " chez les patients sclérodermiques de l'hôpital Erasme, établir leur prévalence dans cette cohorte et corrélér leur présence avec les caractéristiques cliniques.

Méthodes : Quatre-vingt-neuf patients issus de la cohorte des patients sclérodermiques de l'hôpital Erasme ont été étudiés. Leurs données cliniques et biologiques ont été relevées, puis une détection d'anticorps a été effectuée d'une part par une technique d'immunodot (topoisomérase I, centromères, ARN polymérase III, fibrillarine, Pm/Scl 75 et 100, PDGFR, NOR 90, Ku et Ro 52) et d'autre part par une technique EliA (topoisomérase I, centromères, ARN polymérase III, fibrillarine et PmScl).

Résultats : Dix-sept des 89 patients de notre cohorte avaient des FAN " non identifiés ". Parmi ceux-ci, l'immunodot a identifié des anticorps chez 11 patients dont 7 anti-PmScl 75 et/ou 100, 3 anti-ARN pol III et 1 anti-fibrillarine. La technique EliA a permis d'identifier des anticorps chez 10 patients dont 5 anti-PmScl, 2 anti-ARN pol III, 2 anti-fibrillarine et 1 anti-centromère.

Conclusion : Des auto-anticorps autres que les anti-topoisomérase I et anti-centromères ont été retrouvés chez les patients sclérodermiques de notre cohorte. Il existe certains liens entre la présence d'un anticorps donné et la clinique

ABSTRACT

Introduction : Systemic sclerosis is a rare auto immune disease characterized by a local or diffuse skin condition and a variable visceral impairment. Anti nuclear antibodies (ANA) can be found in 95 % of patients. The most frequent are the anti topoisomerase 1 or anti Scl 70 and the anti-centromeres. Other antibodies have been reported but they are not conventionally sought in clinical practice. They are referred to as " non identified " ANA.

Objective : To seek the " non identified " antibodies in patients with scleroderma at Erasme Hospital, to assess their prevalence in this cohort and to correlate their presence with the clinical characteristics.

Methods : 89 patients out of the cohort of Erasme hospital patients with scleroderma have been looked at. Their clinical and biological data have been identified and a detection of antibodies have been performed by first an immunodot technique and second an EliA technique.

Results : 17 out of the 89 patients of our cohort had " non identified " ANA. Among them, antibodies in 11 patients have been identified by the immunodot, among which 7 anti-PmScl 75 and/or 100, 3 RNA polymerase III and 1 anti-fibrillarine. The EliA technique identified antibodies in 10 patients among which 5 anti-PmScl, 2 anti RNA polymerase, 2 anti-fibrillarine and 1 anti-centromere.

Conclusion : Auto antibodies other than the anti-topoisomerase and anti-centromere have been found in patients with scleroderma in our cohort. Certain links exist between the presence of a given antibody and clinical features. We still have to define whether there exist other auto antibodies of which we still are unaware since in some patient no antibodies were detected.

associée. Il reste à définir s'il existe d'autres auto-anticorps qui ne sont pas encore connus puisque chez certains patients, aucun anticorps n'a été mis en évidence.

Rev Med Brux 2016 ; 37 : 401-7

Key words : systemic sclerosis, auto antibodies, non identified, RNA polymerase, anti-PmScl

Rev Med Brux 2016 ; 37 : 401-7

INTRODUCTION

La sclérodémie systémique (ScS) est une maladie systémique auto-immune, caractérisée par une atteinte cutanée et organique variable, due à une dysfonction vasculaire et une fibrose progressive de la peau et des organes. Il s'agit d'une maladie rare, dont la prévalence est de 1 à 48 pour 100.000 habitants et l'incidence de 1 à 12 pour 100.000 habitants/an, plus fréquente chez la femme (3 femmes pour 1 homme avec des extrêmes allant de 1 à 15) avec un pic de fréquence entre 45 et 60 ans. La prévalence est plus élevée en Australie et aux Etats Unis, qu'en Europe ou au Japon¹. On distingue différentes formes cliniques de la maladie selon le degré d'atteinte cutanée et le type d'affections organiques qu'elle provoque. Classiquement, on décrit 3 formes de la maladie : une forme cutanée limitée, de meilleur pronostic mais conférant toutefois un risque élevé d'hypertension artérielle pulmonaire, une forme cutanée diffuse, avec atteinte systémique importante et précoce, et une forme dépourvue d'atteinte cutanée dite " *sine scleroderma* "2.

Les anticorps anti-nucléaires sont retrouvés chez 95 % des patients touchés par la maladie³. Les nouveaux critères ACR/EULAR 2013 pour le diagnostic de sclérodémie accordent un poids important à la présence d'auto-anticorps spécifiques. Ceux-ci doivent donc être recherchés lors du bilan initial devant toute suspicion de sclérodémie. Parmi tous les anticorps connus, seuls deux d'entre eux sont couramment dosés en pratique clinique dans la recherche d'une sclérodémie systémique : les anti-centromères (associés à la forme cutanée limitée et au CREST Syndrome) et les anti-topoisomérase I (associés à une forme diffuse). Pourtant il en existe au moins 6 autres spécifiques de la sclérodémie et qui seraient associés à une forme clinique particulière³. Les nouveaux critères ACR/Eular incluent en plus des anti-topoisomérase-I et des anticentromères, les anti-ARN polymérase III. Des études sur la caractérisation des anticorps non " classiquement " identifiés ont déjà été réalisées sur des cohortes de patients plus ou moins importantes. La majorité conclut à une bonne corrélation biologico-clinique³⁻⁷, mais ces études relevaient parfois la rareté ou le manque de spécificité de ces anticorps. En Belgique, aucune étude n'a été menée sur la cohorte des patients sclérodermiques évaluant la prévalence de tous les anticorps existant dans la maladie.

OBJECTIF

Le but de l'étude était de rechercher la présence d'auto-anticorps (anti-ARN polymérase III, anti-PM-Scl 75, anti-PM-Scl 100, anti-Ku, anti-NOR 90, anti-fibrillarine, anti-Th/To, anti-PDGFR, anti-Ro 52) chez les patients sclérodermiques avec FAN " non identifiés " afin d'établir leur prévalence dans la cohorte de l'hôpital Erasme et de déterminer s'il existait une corrélation clinico-biologique.

MATERIELS ET METHODES

Population d'étude

La population d'étude était constituée de la cohorte des patients sclérodermiques de l'hôpital Erasme dont l'élaboration a débuté en 2006 ; les patients inclus répondaient aux critères de classification de Leroy *et al* de 2001⁸ : il s'agissait donc d'une étude rétrospective. D'un point de vue démographique, les patients étaient issus majoritairement d'Europe de l'Ouest et en partie d'Afrique du Nord. En excluant les patients pour lesquels aucun sérum n'était disponible, 89 patients ont été inclus. Tous les patients avaient des FAN positifs, par immunofluorescence indirecte et 17 d'entre eux n'avaient ni anticorps anti-topoisomérase I, ni anti-centromères. Les patients ont été classés selon le profil d'auto-anticorps (" identifiés " à savoir : anti-topoisomérase I et anti-centromères ou " non identifiés ") puis leurs données cliniques, biologiques ainsi que les traitements instaurés ont été relevés. Cette analyse de dossiers a été conduite via le logiciel " *medical viewer* ".

Le comité d'éthique de l'hôpital Erasme a approuvé cette étude (n° P2014/049).

Tests biologiques

Les *sera* étudiés sont conservés à moins 20 degrés Celsius, congelés après réalisation des tests biologiques.

La recherche des FAN par immunofluorescence indirecte a été faite sur lames Hep 2000 (Immunoconcept, Sacramento, USA) à une dilution de départ de 1/80.

Les anticorps anti-centromères, reconnus par immunofluorescence indirecte, ont été confirmés par un test spécifique CENP-B sur Unicap 250 (test EliA CENP Well ThermoFisher Scientific, Waltham, USA).

Brièvement, il s'agit d'un dosage immunoenzymatique par fluorescence (FEIA) conçu comme un immunodosage " en sandwich ". Le puits est recouvert de l'antigène d'intérêt (centromère B recombinant humain) qui est spécifiquement reconnu par les anticorps cibles. Un anticorps secondaire, conjugué à la α -galactosidase se lie ensuite à l'anticorps cible lié à l'antigène. L'enzyme transforme un substrat ajouté en produit fluorescent et l'intensité de la fluorescence permet de déterminer la concentration en anticorps dans l'échantillon.

Les anticorps anti-topoisomérase I ont également été identifiés par un test spécifique par technique fluoro-immunoenzymatique (test EliA Scl-70 well, *ThermoFisher Scientific*).

Les autres auto-anticorps ont été recherchés par 2 techniques en parallèle : les anti-fibrillarine, anti-ARN-polymérase III et anti-PM-Scl ont été détectés par technique Elia (*ThermoFisher Scientific*).

Par ailleurs, les séra ont également été testés par une technique d'immunodot (*Systemic Sclerosis Euroline, Euroimmun, Lubeck, Allemagne*) permettant le screening simultané des séra pour 11 auto-anticorps différents (anti-topoisomérase I, anti-centromères, anti-ARN polymérase III, anti-PM-Scl 75, anti-PM-Scl 100, anti-Ku, anti-NOR 90, anti-fibrillarine, anti-Th/To, anti-PDGFR, anti-Ro 52). Le sérum du patient est incubé avec des bandelettes couvertes par les antigènes. Si l'anticorps fixant l'antigène est présent, il s'ensuit une réaction par bande colorée. La lecture des bandes colorées se fait via le programme EurolineScan qui classe l'intensité de la réaction obtenue en trois catégories : négatif, borderline ou positif. La recherche de ces anticorps a également été menée chez deux groupes contrôles : 20 patients sains et 20 patients atteints de syndrome de Sjögren.

Revue de littérature

Une recherche d'articles dans " Medline " via le site de recherche " Pubmed " et le site " Science Direct " a été effectuée. Les mots clefs utilisés étaient : " *systemic sclerosis* ", " *autoantibodies* ", " *antibodies* ", " *pathogenesis* ", " *epidemiology* ", " *treatment* ", " *prognosis* ". La recherche a été filtrée afin d'obtenir des articles parus ces 15 dernières années.

RESULTATS

Quatre-vingt-neuf patients parmi toute la cohorte des patients sclérodermiques de l'hôpital Erasme ont été étudiés, leurs caractéristiques cliniques, biologiques et démographiques sont représentées dans le tableau 1. Les anti-topoisomérase I et les anti-centromères ont été retrouvés par les 2 méthodes évaluées chez les patients déjà connus pour présenter ces anticorps à l'exception d'1 anti-centromère et 1 anti-topoisomérase non retrouvés par l'EliA. Chez ces mêmes patients,

seul 1 auto-anticorps additionnel a été retrouvé chez une patiente positive pour un anti-centromère, il s'agissait d'un anti-PmScl retrouvé par les 2 méthodes. Aucun de ces auto-anticorps n'a été identifié dans les 2 groupes contrôles (Sjögren et patients sains) (tableau 2). Parmi les patients chez qui les FAN n'avaient pas été identifiés par les antigènes " classiques ", des anti-ARN polymérase III ont été identifiés par la technique d'immunodot et d'EliA chez 3 patients (3,4 %) et 2 patients respectivement (2,2 %), des anti-PM/Scl 75/100 chez 7 (7,9 %) et 5 patients (5,6 %), des anti-fibrillarine (U3-RNP) chez 1 (1,1 %) et 2 patients (2,4 %) (tableau 3). Aucun anticorps n'a été identifié chez 5 patients (5,6 %) par l'immunodot et chez 4 patients (4,5 %) par l'EliA (l'EliA a retrouvé un anticentromère non retrouvé par l'immunodot). Ces identifications étaient compatibles à l'image retrouvée en fluorescence puisque les patients ayant des anti-ARN polymérase III présentaient une fluorescence mouchetée et nucléolaire, Tous les patients avec anti-PM/Scl avaient une fluorescence mouchetée et nucléolaire ou nucléolaire et les patients avec anticorps anti-fibrillarine présentaient une fluorescence nucléolaire.

D'un point de vue clinique, parmi les 3 patients positifs pour l'ARN polymérase III, 2 présentaient une atteinte cutanée diffuse avec atteinte pulmonaire interstitielle, 1 présentait une péricardite, 2 présentaient du RGO. Tous les 3 présentaient des arthrites, une sclérodactylie et de la dysphagie (tableau 3).

Parmi les patients avec anticorps anti-PM/Scl 75/100, 5 avaient une atteinte cutanée diffuse, 4 avaient une atteinte pulmonaire interstitielle, 4 présentaient des arthrites, 3 présentaient des symptômes de RGO, 2 présentaient des ulcérations digitales et 3 avaient une sclérodactylie, 1 patient avait une hypertension artérielle pulmonaire (HTAP). Tous les patients présentaient une atteinte musculaire (myalgies ou faiblesse musculaire et augmentation des créatines phosphokinases (CPK) sanguines).

Les 2 patients présentant un anticorps anti-fibrillarine (U3-RNP) présentaient soit une atteinte cutanée diffuse avec ulcérations digitales, RGO et arthrites soit une atteinte cutanée limitée avec atteinte digestive.

Parmi les patients chez lesquels aucun auto-anticorps n'a pu être mis en évidence, la majorité présentait une atteinte cutanée diffuse avec pneumopathie interstitielle.

DISCUSSION

L'étude a permis de mieux caractériser la cohorte des patients sclérodermiques de l'hôpital Erasme et en particulier ceux ne présentant ni anticorps anti-topoisomérase I, ni anti-centromères. Nonante cinq pour cent des malades sclérodermiques possèdent des auto-anticorps et il est bien connu que ceux-ci offrent une bonne corrélation avec la clinique et le pronostic

Tableau 1 : Caractéristiques démographiques, cliniques et biologiques de la cohorte des patients sclérodermiques de l'hôpital Erasme.

Nombre de patients total	N = 89
Sexe M/F	13/76
Age moyen au diagnostic	58 ± 14
Atteinte vasculaire Raynaud Ulcères digitaux	70 (78,7) 9 (10,1)
Atteinte pulmonaire Pneumonie interstitielle diffuse HTAP	33 (37,1) 13 (14,6)
Péricardite	1 (1,1)
Atteinte articulaire et cutanée Atteinte cutanée diffuse Arthrites Sclérodactylie Calcinose sous cutanée	16 (15,5) 28 (31,5) 29 (32,6) 7 (6,8)
Atteinte digestive RGO Dysphagie Ballonnement Constipation	36 (40,4) 23 (25,8) 8 (7,8) 6 (5,8)
Atteinte rénale Augmentation créatinémie Protéinurie	4 (4,5) 2 (2,2)
Facteurs anti nucléaires retrouvés Anti Scl 70 Anti centromères Non identifiés	14 (15,7) 58 (65,2) 17 (19,1)
Traitement de fond Antagonistes calciques Aspirine Naftidrofuryl Bosentan Plaquenil Pantomed	27 (30,3) 17 (19,1) 4 (4,5) 3 (3,4) 11 (12,4) 34 (38,2)
Immunosuppresseurs Azathioprine Cyclophosphamide Méthylprednisolone	2 (2,2) 3 (3,4) 15 (16,9)

L'âge est exprimé en moyenne +/- écart type.
Les valeurs entre parenthèses sont exprimées en pourcentage (pourcentage de la cohorte totale).
L'augmentation de la créatinémie a été considérée positive si supérieure à 1 mg/dl chez la femme et 1,2 mg/dl chez l'homme. La protéinurie a été évaluée positive si supérieure à 300 mg/24 heures.

des sujets³. Ils sont pour la plupart mutuellement exclusifs et le profil d'auto-anticorps ne change pas au cours de la maladie. Les deux anticorps les plus connus et les plus étudiés sont les anti-topoisomérase I et les anti-centromères. Ainsi, à l'hôpital Erasme où l'étude a été menée, le laboratoire effectue en routine le dosage de ces deux auto-anticorps dans une recherche de sclérodermie. Certains centres ajoutent l'anti-ARN polymérase III à leur screening, mais il n'existe pas actuellement en Belgique de centre recherchant l'entièreté du panel d'auto-anticorps décrit dans cette maladie. Dans notre cohorte de 89 patients, on retrouvait ces anticorps chez 72 d'entre eux (81 %), 17 avaient donc des anticorps différents, soit 19 % de la cohorte. Il n'y avait pas d'autres anticorps retrouvés chez les patients présentant des anti-topoisomérase I et anti-centromères hormis 1 anti-PmScl chez une patiente positive pour un anti-centromère confirmant le caractère exclusif des anticorps. Parmi les 17 autoanticorps " non identifiés ", 11 et 10 anticorps ont été identifiés respectivement par les méthodes immunodot et EliA et tous présentaient une fluorescence nucléolaire. La prévalence des auto-anticorps varie d'un pays à l'autre. Si en Europe Occidentale les anti-topoisomérase I et anti-centromères sont les deux auto-anticorps les plus fréquemment rencontrés, en Malaisie, ce sont les anti-topoisomérase I et anti-Ro 52 qui sont préférentiellement retrouvés⁹. En Italie, les anti-Th/To sont surreprésentés dans la population⁵ et en Iran, les anti-centromères sont par contre très peu retrouvés¹⁰. Ceci soutient les hypothèses génétiques et environnementales dans la physiopathologie de la ScS.

Dans notre série, des anticorps dirigés contre l'ARN polymérase de type III ont été retrouvés chez 3 et 2 patients (immunodot et EliA respectivement) soit environ 2,8 % de la cohorte. Deux des trois patients avaient une atteinte cutanée diffuse avec pneumopathie interstitielle. Dans une étude de 2005 menée à Pittsburg sur 1.432 sujets, ces anticorps étaient présents dans 12 % de la cohorte. Ceux-ci avaient une atteinte cutanée diffuse dans 85 % des cas mais aucune association avec une pneumopathie interstitielle n'a été mise en évidence³. Par contre, 28 % des patients avaient présenté une crise rénale sclérodermique. Une de nos patientes avait une élévation de la créatinémie sans réelle crise rénale. Une méta-analyse reprenant 30 études internationales a montré que cet anticorps est détecté de manière très variable allant de 0 à

Tableau 2 : Résultats quantitatifs obtenus par les méthodes immunodot et EliA, chez les patients sclérodermiques ainsi que chez les groupes contrôles.

	Anti-centromères et anti-topo I Immunodot	Autres auto-anticorps Immunodot	Anti-centromères et anti-topo I EliA	Autres auto-anticorps EliA
FAN " classiquement identifiés " (n=72)	72	1	70	1
FAN non classiquement identifiés (n=17)	0	11	1	9
Contrôles sains (n=20)	0	0	0	0
Contrôles Sjögren (n=20)	0	0	0	0

Tableau 3 : Caractérisation immunologique et données cliniques chez les patients avec FAN « non identifiés »

Patients	Sexe	Aspect et titre anticorps	Immunodot	ELiA	Principales caractéristiques cliniques
1	F	1/640 moucheté/nucléolaire	PmScl 100	PmScl	Sclérodémie diffuse Atteinte pulmonaire Atteinte musculaire
2	F	1/160 moucheté	PmScl 75	Négatif	Sclérodémie limitée Raynaud Atteinte musculaire
3	F	1/1.280 moucheté/nucléolaire	PmScl 100	PmScl	Sclérodémie limitée Raynaud Atteinte musculaire
4	M	1/160 moucheté	PmScl 75	Négatif	Sclérodémie diffuse HTAP Atteinte articulaire RGO Atteinte musculaire
5	F	1/1.280 moucheté/nucléolaire	PmScl 75 et 100	PmScl	Sclérodémie diffuse Atteinte pulmonaire Ulcères Atteinte articulaire Atteinte musculaire
6	F	1/1.280 nucléolaire	PmScl 100	PmScl	Sclérodémie diffuse Atteinte pulmonaire Atteinte articulaire Atteinte musculaire
7	F	1/640 moucheté/nucléolaire	PmScl 100	PmScl	Sclérodémie diffuse Atteinte pulmonaire Atteinte articulaire Atteinte musculaire
8	M	1/560 moucheté	ARN pol III	ARN pol III	Sclérodémie limitée Sclérodactylie RGO Arthrites
9	F	1/10.000 moucheté/nucléolaire	ARN pol III	ARN pol III	Sclérodémie diffuse Atteinte pulmonaire Arthrites Sclérodactylie
10	F	1/1.280 moucheté/nucléolaire	ARN pol III douteux	Négatif	Sclérodémie diffuse Atteinte pulmonaire Arthrites Sclérodactylie
11	M	1/640 nucléolaire	FAN Non Id	Fibrillarine	Sclérodémie limitée Atteinte digestive
12	F	1/5.000 nucléolaire	Fibrillarine	Fibrillarine	Sclérodémie diffuse Arthrites Ulcérations
13	F	1/10.000 moucheté/nucléolaire	FAN Non Id	FAN Non Id	Sclérodémie diffuse Atteinte pulmonaire
14	F	1/10.000 moucheté	FAN Non Id	FAN Non Id	Sclérodémie diffuse Atteinte pulmonaire HTAP
15	F	1/640	FAN Non Id	FAN Non Id	Sclérodémie limitée RGO
16	F	1/2.560 moucheté/nucléolaire	FAN Non Id	FAN Non Id	Sclérodémie diffuse Atteinte pulmonaire
17	M	1/1.280 nucléolaire	FAN Non Id	Centromères	Sclérodémie diffuse Atteinte pulmonaire Atteinte digestive

41 %, avec une moyenne de 11 %⁷. Cette hétérogénéité semble être expliquée par des facteurs géographiques et génétiques, rappelons en effet que l'ARN polymérase est plus fréquente aux Etats Unis et en Australie qu'en Europe⁷. Par rapport à l'étude de Steen qui retrouvait des arthrites et une sclérodactylie chez 88 % de ses patients, nous avons retrouvé ces manifestations chez nos 3 patients positifs pour des anti-ARNpol III. Les anti-ARN polymérase ont récemment été associés à un risque accru de survenue de cancers en particulier gynécologiques, hématologiques et gastro-intestinaux¹¹. Il s'est avéré que 2 de nos 3 patients avaient une maladie néoplasique : l'une pulmonaire, l'autre colique. Ceci souligne donc l'importance du dépistage et du suivi attentifs des patients porteurs d'un tel auto-anticorps.

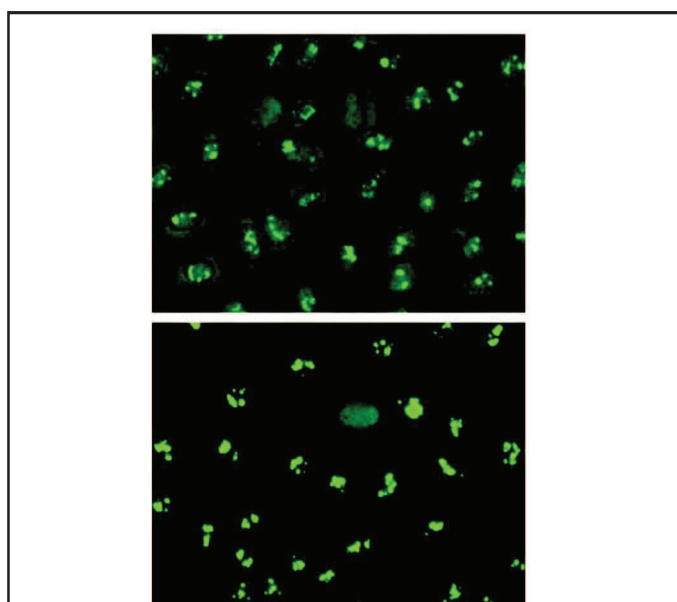
Des anticorps anti-Pm/Scl 75 et 100 ont été retrouvés chez 5 et 7 patients (EliA et Immunodot respectivement), soit 5,6-7,9 % de notre cohorte, ce qui coïncide avec le pourcentage retrouvé dans la série de Pittsburg (4 %)³. Dans une étude multicentrique canadienne de 763 patients, les anti-Pm/Scl étaient retrouvés chez 7,2 % des sujets¹². Ces deux dernières études concluaient à une association clinique avec atteinte musculo-squelettique, de la calcinose, des arthrites et des syndromes de chevauchement. Chez nos patients, la majorité avait une atteinte cutanée diffuse ainsi qu'une pneumopathie interstitielle. Par contre, nous avons relevé une fréquence importante d'arthrites et de sclérodactylie, tout comme ce qui a été montré dans la série de Pittsburg (75 % d'atteinte articulaire)³. De plus, tous nos patients présentaient une atteinte musculaire (myalgies ou faiblesse musculaire et augmentation des CPK), ce qui est caractéristique en présence de ces anticorps^{3,12}. Des stigmates de syndrome de Sjögren se retrouvaient chez certains, tels que la kératoconjonctivite sèche et la xérostomie. Les anti-Pm/Scl seraient donc de bons marqueurs d'atteinte musculaire et signeraient la présence de syndromes de chevauchement de type scléromyosite.

Un anticorps anti-fibrillarine (U3RNP) a été retrouvé par immunodot chez un patient, 2 par EliA, ce qui représente un peu moins de 2 % de notre cohorte. L'étude de Pittsburg les retrouve dans 5,8 % des cas³, celle de Cerebelli et al dans la cohorte italienne n'en retrouve pas⁵ et l'étude de Tormey et al en Angleterre en retrouve 4,1 %¹⁴. Un des patients possédait une atteinte cutanée diffuse avec ulcérations digitales, arthrites, RGO, ce qui correspond bien aux résultats des trois études citées plus haut qui décrivaient les mêmes atteintes avec en plus un risque augmenté de développer une HTAP. L'autre patient ne présentait pas d'atteinte spécifique de cet anticorps.

Finalement, 5 FAN n'ont pu être identifiés par l'immunodot et 4 par l'EliA (1 sur les 5 ayant été identifié comme anti-centromère par l'ELiA). Parmi ceux-là, 3 avaient une image nucléolaire à la fluorescence. Les anticorps habituellement associés à ce type de fluorescence sont les ARN polymérase, les Pm/Scl, les

U3RNP, les NOR 90, les Th/To (figures). Nous avons en plus de ceux-ci recherché les anti-Ku et anti-PDGFR. Les patients étaient donc négatifs pour l'ensemble de ces anticorps. Une des explications possibles à cela tiendrait à la faible prévalence de ces anticorps, environ 5% pour les Th/To (qui sont néanmoins spécifiques de la sclérodermie), les anti-Ku et NOR 90 sont rarement retrouvés et ne sont pas spécifiques de la sclérodermie. Une autre explication pourrait venir de l'existence potentielle d'autres auto-anticorps, n'ayant pas encore été découverts ou étudiés à ce jour. Une troisième explication tiendrait à la méthode de dosage employée dans notre étude : l'immunodot est une technique pratique car elle permet de rechercher plusieurs anticorps en même temps, ce qui constitue un avantage dans la mise au point d'une connectivité, mais elle ne serait pas adaptée à la recherche des anticorps les plus rares. Dans une étude qui comparait la technique d'immunodot aux techniques conventionnelles de détection, une sensibilité globale de 76 % a été retrouvée pour la recherche des anticorps. Cette technique permettait une bonne détection des anti-centromères, anti-topoisomérase I, anti-ARN polymérase III et Pm/Scl, par contre elle ne constituait pas une bonne méthode pour la détection des anti-Th/To et anti-fibrillarine¹⁵. Hudson et al ont plus facilement retrouvé les anti-Th/To via des techniques d'immunoprécipitation¹⁶. De plus, dans ses résultats, il conclut à un pronostic plus favorable chez les porteurs de FAN chez lesquels aucun anticorps n'est retrouvé¹⁶. De notre côté, nous ne pouvons pas conclure à un tel résultat, les patients sans anticorps présentant une clinique très variée, avec une majorité d'atteinte cutanée diffuse, des cas de péricardite et d'HTAP.

Enfin, nous avons pu observer que certaines de nos données ne correspondaient pas toujours à ce qui est habituellement décrit dans la sclérodermie : parmi nos patients, 20 % ne présentaient pas de phénomène



Figures : Exemples d'immunofluorescence indirecte sur cellules Hep-2. Ces images correspondent à des fluorescences de type nucléolaire. En haut : représente un anti Th/To. En bas : représente un anti U3.

de Raynaud, ceci pourrait être imputé à un biais de transcription. Les données ayant été récoltées à partir d'un logiciel propre aux médecins de l'hôpital Erasme et non pas à partir des données de la SRBR (*Belgian Royal Society for Rheumatology*), certaines données ont pu être manquantes dans l'analyse des dossiers.

CONCLUSION

Cette étude avait pour but de caractériser les anticorps anti-nucléaires non recherchés habituellement en pratique et de voir s'il y avait une utilité à les rechercher. Dix-neuf pour cent des patients de la cohorte correspondaient à ces critères, ce qui n'est pas négligeable. Il existait parfois des absences de concordance entre nos résultats et ceux d'autres études, cela tient sûrement à la taille de notre cohorte, relativement petite, mais globalement, nous avons pu mettre en évidence certains liens entre la présence d'auto-anticorps donnés et leur clinique associée. Nous avons ainsi pu observer comme pour d'autres études que la plupart des patients avec anti-ARN polymérase III présente une sclérodémie cutanée diffuse avec atteinte pulmonaire interstitielle. Nous avons retrouvé une très bonne corrélation entre la positivité des anti-Pm/Scl et la présence de syndromes de chevauchement avec myosite. Les anti-fibrillarine semblent bien associés à une atteinte diffuse avec HTAP. Il reste à essayer de définir les caractéristiques des patients chez lesquels aucun anticorps n'a été retrouvé. Est-ce une limitation liée à la méthode de laboratoire utilisée ou existerait-il d'autres anticorps non encore découverts ? Il serait donc intéressant d'élargir cette étude afin de confirmer nos résultats et éventuellement de mettre en évidence d'autres auto-anticorps.

Conflits d'intérêt : néant.

BIBLIOGRAPHIE

1. Chiffot H, Fautrel B, Sordet C, Chatelus E, Sibilia J : Incidence and prevalence of systemic sclerosis : a systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum* 2008 ; 37 : 223-35
2. Frech TM, Shanmugam VK, Shah AA *et al.* : Treatment of early diffuse systemic sclerosis skin disease. *Clin Exp Rheumatol* 2013 ; 31 : 166-71
3. Steen VD : Autoantibodies in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2005 ; 35 : 35-42
4. Hamaguchi Y : Autoantibody profiles in systemic sclerosis: predictive value for clinical evaluation and prognosis. *J Dermatol* 2010 ; 37 : 42-53

5. Ceribelli A, Cavazzana I, Franceschini F *et al.* : Anti-Th/To are common antinucleolar autoantibodies in Italian patients with scleroderma. *J Rheumatol* 2010 ; 37 : 2071-5
6. Aggarwal R, Lucas M, Fertig N, Oddis C V, Medsger TA : Anti-U3 RNP autoantibodies in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2009 ; 60 : 1112-8
7. Sobanski V, Dauchet L, Lefèvre G *et al.* : Prevalence of anti-RNA polymerase III antibodies in systemic sclerosis : New data from a French cohort and a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheumatol (Hoboken, NJ)* 2014 ; 66 : 407-17
8. LeRoy EC, Medsger TA Jr : Criteria for the classification of early systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2001 ; 28 : 1573-6
9. Sujau I, Ng CT, Sthaneshwar P *et al.* : Clinical and autoantibody profile in systemic sclerosis: baseline characteristics from a West Malaysian cohort. *Int J Rheum Dis* 2014 ; 18 : 459-65
10. Poormoghim H, Moghadam AS, Moradi-Lakeh M *et al.* : Systemic sclerosis: demographic, clinical and serological features in 100 Iranian patients. *Rheumatol Int* 2013 ; 33 : 1943-50
11. Moizadeh P, Fonseca C, Hellmich M *et al.* : Association of anti-RNA polymerase III autoantibodies and cancer in scleroderma. *Arthritis Res Ther* 2014 ; 16 : R53
12. D'Aoust J, Hudson M, Tatibouet S *et al.* : Clinical and serological correlates of anti-PM/Scl antibodies in systemic sclerosis : A multicenter study of 763 patients. *Arthritis Rheumatol* 2014 ; 66 : 1608-15
13. Hanke K, Brückner CS, Dähnrich C *et al.* : Antibodies against PM/Scl-75 and PM/Scl-100 are independent markers for different subsets of systemic sclerosis patients. *Arthritis Res Ther* 2009 ; 11 : R22
14. Tormey VJ, Bunn CC, Denton CP, Black CM : Anti-fibrillarin antibodies in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 2001 ; 40 : 1157-62
15. Bonroy C, Van Praet J, Smith V *et al.* : Optimization and diagnostic performance of a single multiparameter lineblot in the serological workup of systemic sclerosis. *J Immunol Methods* 2012 ; 379 : 5-60
16. Hudson M, Satoh M, Chan JYF *et al.* : Prevalence and clinical profiles of " autoantibody-negative " systemic sclerosis subjects. *Clin Exp Rheumatol* 2014 ; 32 : S-127-32

Correspondance et tirés à part :

A. MARGOT
Hôpital Erasme
Route de Lennik 808
1070 Bruxelles
Mail : amargot@ulb.ac.be

Travail reçu le 11 août 2015 ; accepté dans sa version définitive le 19 janvier 2016.