

Anticorps anti-ADN et anticorps anti-nucléosomes

Pauline Reynaud^a, Benoit Nespola^b, Yannick Chantran^a, Chantal Desgruelles^a, Joëlle Goetz^b,
Eric Ballot^a, Catherine Johanet^{a,*}

1. Introduction

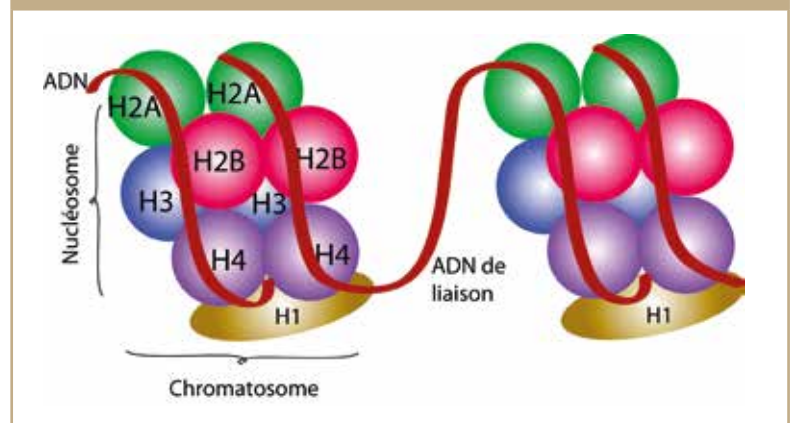
La présence d'anticorps (Ac) anti-acide désoxyribonucléique double brin (ADNdb) est un des critères biologiques de diagnostic du lupus érythémateux systémique (LES) retenu par l'American Rheumatic Association en 1982, puis révisés en 1997 par l'American College of Rheumatology (ACR) [1]. Les Ac anti-nucléosomes ont été décrits au début des années 90 [2], mais leur signification clinique reste toujours sujette à controverse [3]. L'hétérogénéité des techniques de détection et des antigènes utilisés pour leur recherche peuvent expliquer des données parfois contradictoires.

Dans un premier temps, nous traiterons des cibles antigéniques reconnues par ces Ac et de leurs techniques de détection. Le développement de technique multiplexe nous a amené pour les Ac anti-ADNdb, à comparer le test de Farr (considéré comme le gold standard) avec une technique multiplexe basée sur la fluorimétrie en flux. Nous terminerons par la signification clinique de la présence de ces Ac et de leur place dans la prise en charge du LES.

2. Cibles antigéniques

Les Ac anti-nucléosomes et les Ac anti-ADN font partie du groupe des Ac antinucléaires (ANA) de type anti-chromatine, groupe auquel appartiennent également les Ac anti-histones. Dès 1983, Hardin avait noté que les Ac anti-ADNdb étaient le plus souvent détectés chez des patients

Figure 1 – Représentation schématique d'un nucléosome et de la liaison entre 2 nucléosomes.



présentant aussi des Ac anti-histones [4]. On pouvait donc supposer que certains Ac étaient dirigés contre un seul et même antigène, composé à la fois d'ADNdb et d'histones : le nucléosome.

2.1. Déterminants antigéniques des Ac anti-nucléosomes

Le nucléosome constitue l'unité fondamentale de la chromatine et le premier niveau de compaction de l'ADN. Sa structure est détaillée figure 1. Il est constitué d'un noyau central composé d'octamère d'histones (2 H2A, 2 H2B, 2 H3 et 2 H4) et de 1,7 tour de spires d'ADN en double hélice (146 paires de bases). Une histone extranucléosomique, H1, qui permet le compactage de la chromatine, est accolée à la partie externe du nucléosome et ferme l'ensemble. L'association nucléosome et histone H1 est appelée chromatosome. Chaque chromatosome est relié à un autre chromatosome par une courte séquence d'ADN internucléosomique d'environ 20 à 80 paires de bases, formant le nucléofilament [5].

Cependant les nucléosomes diffèrent en fonction des tissus et des cellules et apparaissent comme des structures plastiques et dynamiques qui se modifient constamment en fonction de l'activité de la chromatine [3, 6]. Les cibles antigéniques reconnues par les Ac anti-nucléosomes restent de ce fait, mal définies : histones modifiées, protéines non histones, épitopes conformationnels présents sur les structures tertiaire et quaternaire des nucléosomes comme les complexes (H2A-H2B)-ADN ou (H3-H4)-ADN [3]. Les Ac anti-nucléosomes ne sont, par définition, pas dirigés contre les histones ou l'ADN pris individuellement.

a Unité d'Autoimmunité

Département d'Immunologie Biologique
hôpital Saint-Antoine AP-HP
184 rue du faubourg Saint-Antoine
75571 Paris cedex 12

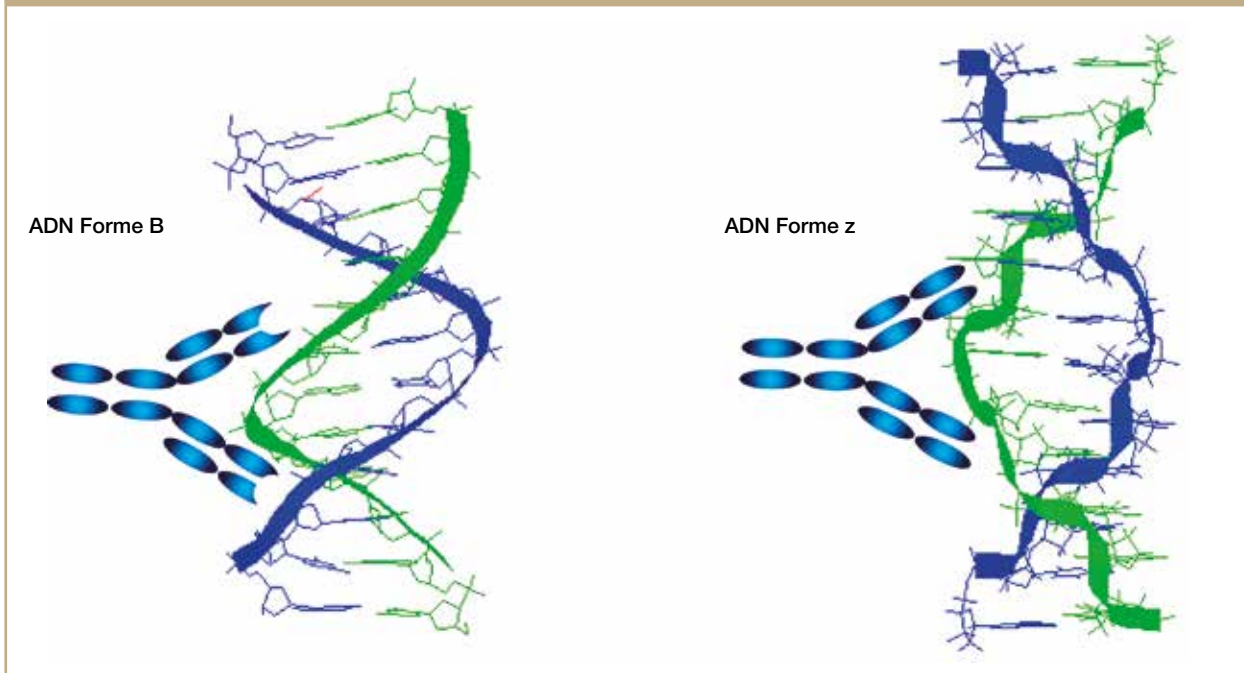
b Laboratoire d'Immunologie

Nouvel hôpital civil
1 place de l'hôpital
67098 Strasbourg cedex

* Correspondance

catherine.johanet@aphp.fr

Figure 2 – Différentes formes d'ADNdb reconnues par les auto-anticorps.



2.2. Déterminants antigéniques des Ac anti-ADN

Mis en évidence en 1957 dans le sérum de patients lupiques par quatre équipes indépendantes, les Ac anti-ADN peuvent être dirigés contre l'ADN monocaténaire ou bicaténaire [7-10]. Les Ac anti-ADN monocaténaire, souvent d'isotype IgM, appartiennent au répertoire des auto-Ac naturels, sont susceptibles de réactions croisées avec d'autres antigènes et peuvent être présents chez environ 20 % des sujets sains. Les Ac anti-ADNdb ont pour cible l'ADN double brin ou bicaténaire qui se présente sous une forme hélicoïdale droite appelée B-ADN ou gauche appelé Z-ADN [11] (figure 2). Ces Ac sont dirigés contre des épitopes seulement présents dans l'ADNdb, comme des sites de liaison entre bases complémentaires des deux brins d'ADN ou des structures conformationnelles de la double hélice. En fait, les Ac anti-ADN qui fixent exclusivement l'ADNdb sont relativement rares ; la plupart des Ac anti-ADNdb fixent aussi bien l'ADN double brin que simple brin. L'utilisation d'Ac monoclonaux combinée à une analyse informatique de leur séquence, a permis de mieux comprendre les interactions Ac anti-ADN et ADN [12] (figure 3). Une fréquence importante d'acides aminés basiques (arginine et lysine) et d'acides aminés polaires (asparagine) permettrait des interactions électrostatiques et des liaisons hydrogènes avec les groupements phosphates chargés négativement du squelette de l'ADN [12]. L'importance de l'arginine dans des positions clés de la chaîne variable légère est rapportée par d'autres auteurs [13]. Les Ac anti-ADNdb du LES sont essentiellement d'isotype IgG et de forte affinité.

Figure 3 – Interactions Ac anti-ADN et ADN.

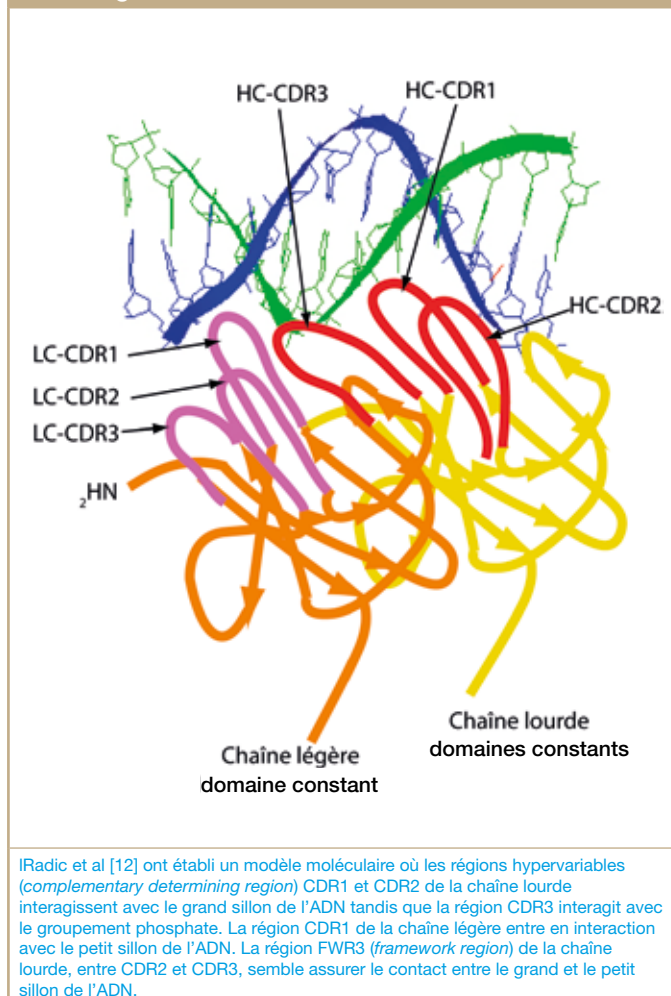


Tableau I – Caractéristiques des principales méthodes de détection des Ac anti-ADNdb.

	ADN	Affinité des Ac	méthode	Sensibilité/LES
IFI <i>Crithidia Lucilliae</i>	ADN K (ADN circulaire et ADNdb du kinétoplaste)	faible et haute	semi-quantitative	10 à 60 %
Test de Farr	ADNdb	haute	quantitative	85 %
ELISA	ADNdb (purifié, recombinant ou synthétique)	faible et haute	quantitative ou semi-quantitative	70 à 98 %
Multiplex chimiluminescence	ADNdb synthétique	Faible et haute	quantitative	40 à 72 %
Multiplex fluorimétrie en flux	ADNdb synthétique	Haute	quantitative	45 à 70 %

IFI: immunofluorescence indirecte; ADNdb: acide désoxyribonucléique bicaténaire ou double brin; LES: lupus érythémateux systémique; ELISA: enzyme-linked-immunosorbent assay

3. Méthodes de détection des Ac anti-nucléosomes et des Ac anti-ADNdb

3.1. Ac anti-nucléosomes

Ces Ac sont actuellement détectés par ELISA, par immunodot, ou par des systèmes automatisés basés sur la fluorimétrie en flux. Les tests disponibles sur le marché utilisent comme antigène des nucléosomes obtenus par extraction à partir de la chromatine provenant de lignées cellulaires (cellules HeLa) ou d'organes animaux (principalement thymus de veau).

Lorsque les nucléosomes sont extraits de la chromatine, selon le protocole utilisé, on peut obtenir une préparation de nucléosomes soit pure, soit plus ou moins contaminée par des subnucléosomes et des complexes d'histones. Bizzaro et al [14] ont montré que la spécificité diagnostique des Ac anti-nucléosomes pour le LES est plus élevée si l'antigène utilisé est dépourvu d'histone H1 (95,7 % vs 87,5 %). De même, Suer et al [15] ont mis en évidence que la réactivité des Ac anti-nucléosomes chez les patients atteints de sclérodémie systémique était due à la présence de l'histone H1 dans la préparation antigénique utilisée pour la recherche de ces Ac. Dans un travail non publié, le GEAI avait également fait cette constatation sur une cohorte de 43 patients sclérodermiques pour laquelle la prévalence des Ac anti-nucléosomes passait de 81 à 7 % si l'antigène utilisé était dépourvu d'histone H1. Cette positivité serait également due à la contamination de la préparation par la topoisomérase I, Ag cible des Ac anti-ScI70 retrouvés dans la sclérodémie [16].

3.2. Ac anti-ADNdb

Plusieurs techniques permettent de détecter les Ac anti-ADNdb (tableau I). Toutes utilisent comme antigène le B-ADN. Aux trois groupes de techniques classiques que sont l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur *Crithidia Lucilliae*, le test de Farr (radio-immunologie) et les techniques immunoenzymatiques (ELISA) s'ajoutent depuis la dernière décennie, les techniques multiplexes basées sur la chimiluminescence ou la fluorimétrie en flux [17-19]. Les résultats obtenus par toutes ces méthodes divergent parfois, ce qui est dû à la nature de l'antigène utilisé (ADNdb purifié, recombinant ou synthétique, ADN circulaire ou ADN K pour kinétoplaste), à l'isotype des Ac recherché (IgG ou IgG plus IgM) ainsi qu'à leur affinité (Ac de haute affinité ou Ac de haute et de faible affinité). Si le test de Farr reste la technique de référence, malgré les inconvénients de la radioactivité, les techniques froides multiplexes, plus

rapides et totalement automatisées se sont beaucoup développées ces dernières années. Nous présentons ici la comparaison du test de Farr avec une technique multiplexe de fluorimétrie en flux (BioPlex 2200, BioRad).

Les sérums de 557 patients (67 % de femmes) pour lesquels les dossiers cliniques ont pu être consultés ont été analysés par les deux techniques: 127 SLE (10 au diagnostic, 105 sous traitement et 12 suspicions), 105 autres connectivites, 15 cancers et 310 autres pathologies (rhumatismes inflammatoires, néphropathies, hépatopathies, maladies intestinales...).

La prévalence des Ac anti-ADNdb était de 22 % par le Farr vs 14 % par la technique BioPlex. Les résultats BioPlex appartenant à la zone indéterminée (n = 50) ont été inclus dans les négatifs car ils correspondent essentiellement à des résultats négatifs ou faiblement positifs en Farr. La concordance globale entre les 2 méthodes dans notre cohorte est de 80,4 %.

Dans la population lupique, la prévalence des Ac anti-ADNdb est de 90 % par le test de Farr vs 50 % par BioPlex au diagnostic et de 48 % vs 40 % en suivi (p = NS).

En suivi, quelle que soit la méthodologie, la prévalence des Ac anti-ADNdb est plus élevée dans la population lupique ayant une néphropathie (71 % par le test de Farr vs 68 % par BioPlex, p = NS).

Dix-sept patients présentent des résultats très discordants: 7 Farr > 25 UI /Bioplex négatif (6 LES, 2 au diagnostic et 4 en suivi et 1 hépatite autoimmune) et 10 Farr négatif / Bioplex 25 IA (1 LES traité, 2 sclérodermies, 1 Sjögren, 1 cancer et 5 pathologies autres).

S'il est nécessaire d'augmenter notre population lupique au diagnostic, nos résultats sont proches de ceux publiés [18,19] à l'exception de Bardin et al [17] qui montre une sensibilité du BioPlex au diagnostic de 70 %.

Nos résultats sont cependant en accord avec ceux de Bardin et al [17] dans le suivi des patients lupiques avec atteinte rénale où le BioPlex offre des performances similaires au test de Farr.

4. Signification clinique des Ac anti-nucléosomes et des Ac anti-ADNdb

4.1. Dans le LES

De nombreuses études se sont attachées à déterminer l'intérêt de la recherche des Ac anti-nucléosomes dans la prise en charge du LES. Toutefois, ces études

différent par les techniques utilisées ou par les critères d'évaluation de l'activité de la maladie, rendant leur comparaison parfois difficile. Les Ac anti-nucléosomes présentent au diagnostic une sensibilité de 45 à 100 % et une spécificité de 73 à 100 % [14, 20, 21].

Plusieurs études, toutes techniques confondues, ont montré une corrélation significative entre le titre des Ac anti-ADNdb et celui des Ac anti-nucléosomes [22, 23]. Ces Ac peuvent être présents chez les patients lupiques en l'absence d'Ac anti-ADNdb dans 11 à 51 % des cas [22-24]. Ils apparaîtraient donc probablement de façon plus précoce que les Ac anti-ADNdb. Toutefois, dans l'étude de Su [25] qui présente une prévalence d'Ac anti-nucléosomes sans Ac anti-ADNdb de 51 %, ces derniers sont détectés par IFI sur *Crithidia luciliae*, technique très spécifique mais pouvant manquer de sensibilité. La présence d'Ac anti-nucléosomes sans Ac anti-ADNdb a également été mise en évidence dans le LES juvénile [26].

Classiquement, le titre des Ac anti-nucléosomes est corrélé à l'activité de la maladie lupique évaluée par le score SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) [14, 25]. Cependant le seuil de score utilisé pour classer le LES comme actif est variable ou non précisé et des études utilisant les autres scores d'activité n'ont pas montré de corrélation entre le titre des Ac et l'activité de la maladie [23, 27]. En 2015, une étude strasbourgeoise sur une cohorte de 48 patients lupiques a montré que les titres des Ac anti-nucléosomes ne sont pas corrélés à l'activité du LES par le score SLEDAI alors que les titres des Ac anti-ADNdb le sont, suggérant l'intérêt limité de la recherche des Ac anti-nucléosomes au cours du LES [28]. Cependant, il s'agissait d'une population ayant majoritairement un lupus traité avec un SLEDAI inférieur à 10.

Le rash malaire, les arthralgies et les anomalies hématologiques apparaissent plus fréquents chez les patients ayant des titres élevés d'Ac anti-nucléosomes [23, 25, 27]. Enfin, l'association entre la présence de ces marqueurs et la néphropathie lupique reste controversée. Dans la méta analyse de Bizzaro en 2012, 13 études seulement sur 22 montraient une association significative entre la présence d'Ac anti-nucléosomes et l'atteinte rénale [14]. L'étude strasbourgeoise n'a pas mis en évidence de corrélation entre la positivité des Ac et l'atteinte rénale ainsi que les cytopénies [28]. À l'inverse pour Stinton et al, la présence d'Ac anti-nucléosomes serait un marqueur d'atteinte rénale sévère nécessitant une transplantation [29].

Peu d'études ont évalué l'intérêt des Ac anti-nucléosomes dans le suivi de la maladie lupique et les résultats observés sont discordants [27, 30].

Les Ac anti-ADNdb font partie des Ac les plus spécifiques du LES. Leur spécificité varie de 90 à 100 % et leur sensibilité au diagnostic de 60 à 100 %. Ils sont inclus depuis 1982 dans les critères diagnostiques de l'ACR (*American College of Rheumatology*) [31] revalidés en 2012 par le SLICC (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics*) [32]. Ces Ac peuvent être présents avant l'apparition des signes cliniques. Arbuckle et al, sur une cohorte de 130 patients lupiques, ont montré que dans

55 % des cas, les Ac anti-ADNdb étaient détectables en moyenne 2,7 ans avant le diagnostic [33].

Le titre d'Ac anti-ADNdb est corrélé à l'activité de la maladie et à la sévérité de l'atteinte rénale [33, 34]. La surveillance du titre des Ac anti-ADNdb est indispensable dans le suivi des patients car il permet souvent de prévoir les rechutes. Une augmentation brutale du titre des Ac anti-ADNdb au cours du suivi augmente le risque de survenue d'une poussée de la maladie (glomérulonéphrite ou vascularite principalement) dans les semaines qui suivent.

Le pouvoir pathogène des Ac anti-ADNdb dans la néphrite lupique peut s'expliquer de plusieurs façons [11].

- Les Ac anti-ADNdb se fixent sur les nucléosomes, eux-mêmes fixés sur la membrane basale glomérulaire. L'activation du complément serait la source des lésions tissulaires développées *in situ*. Les nucléosomes proviendraient de corps apoptotiques non éliminés.
- Les Ac anti-ADNdb, même d'affinité élevée, sont poly-réactifs, et peuvent entrer en interaction avec une molécule de la membrane nucléaire (α -actinine, laminaire) par réactivité croisée.

La pathogénicité de ces Ac a également été démontrée dans certaines formes de lupus cérébral (réactivité croisée avec les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDAR) pouvant induire la mort du neurone) [11].

4.2. Dans les autres maladies autoimmunes

Les Ac anti-nucléosomes ont été décrits dans de nombreuses maladies autoimmunes. Leur prévalence est de 5 à 10 % dans la polyarthrite rhumatoïde (PR) avant traitement et de 15 à 30 % dans la PR sous traitement par anti-TNF α [35], 7 % dans le syndrome primaire des anti-phospholipides (SAPL) [22] et le Gougerot-Sjögren [14], 8 à 45 % dans la connectivite mixte [25, 36]. Une étude du GEAI a montré une prévalence de 10 % dans la PR et de 13 % dans le Gougerot-Sjögren. Dans la sclérodermie, la prévalence est variable et dépend de la préparation antigénique [37]. En hépatologie, les Ac anti-nucléosomes ont essentiellement été étudiés dans les hépatites auto-immunes (HAI) où leur prévalence varie de 28 à 53 % [résultats personnels, 38]. Les taux baissent sous traitement par corticoïdes mais ne sont pas corrélés avec la réponse au traitement [38].

Bien que très spécifique du LES, Les Ac anti-ADNdb peuvent néanmoins être rencontrés au cours d'autres connectivites comme le Gougerot-Sjögren (10 %), la PR (0 à 10 %), ou la sclérodermie (10 %). Ces Ac apparaissent également comme des marqueurs diagnostiques de l'hépatite auto-immune de type I (HAI-1) et des formes mixtes associant l'HAI-1 à la cirrhose biliaire primitive (CBP). Dans l'étude de Muratori [39], les prévalences des Ac anti-ADNdb détectés par IFI sur *Crithidia luciliae* dans les CBP et les HAI-1 étaient respectivement 3 % et 26 %. Ces auteurs ont également montré que la présence simultanée d'Ac anti-mitochondries de type 2 et d'Ac anti-ADNdb pouvait aider au diagnostic des formes mixtes CBP/HAI. Des résultats similaires ont été obtenus en utilisant le test de Farr (prévalence des

Ac anti-ADNdb de 25 % dans les HAI-1, 23 % dans les formes mixtes et 4 % dans les CBP (résultats personnels, non publiés).

5. Conclusion

Les Ac anti-nucléosomes sont impliqués dans la physiopathologie du LES et sont fréquemment observés au cours de la maladie. Ces Ac semblent être un bon marqueur d'activité et sont corrélés à la néphrite lupique, aux cytopénies et à des manifestations cutanées dans quelques études. Ils pourraient également présenter un intérêt dans la maladie lupique sans Ac anti-ADNdb au diagnostic. Cependant, les techniques de détection de ces Ac doivent utiliser des antigènes parfaitement identifiés d'un point de vue structural ce qui n'est pas toujours le cas actuellement. Les résultats contradictoires observés dans les différentes études limitent l'intérêt de

la recherche des Ac anti-nucléosome au cours du LES. La présence d'Ac anti-ADNdb, surtout à taux élevé, constitue un solide argument diagnostique en faveur du LES même si ces Ac peuvent être présents au cours d'autres connectivites. Leur taux est corrélé à la sévérité de l'atteinte rénale et à l'apparition des rechutes. En hépatologie, ils peuvent également constituer des marqueurs diagnostiques dans l'HAI1 et les formes mixtes CBP/HAI. Les résultats restent cependant fonction de la méthodologie et de la source antigénique utilisées. Les techniques automatisées basées sur la chimiluminescence ou la fluorimétrie en flux devraient progressivement remplacer les techniques conventionnelles bien que le test de Farr soit encore aujourd'hui la technique de référence.

Déclaration d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40(9):1725
- [2] Burlingame RW, Rubin RL. Subnucleosome structures as substrates in enzyme-linked immunosorbent assays. *J Immunol Methods* 1990;134(2):187-99.
- [3] Rekvig OP, van der Vlag J, Seredkina N. Review: antinucleosome antibodies: A critical reflection on their specificities and diagnostic impact. *Arthritis Rheumatol* 2014;66(5):1061-9.
- [4] Hardin JA, Thomas JO. Antibodies to histones in systemic lupus erythematosus: localization of prominent autoantigens on histones H1 and h2B. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983;80(24):7410-4.
- [5] Kornberg RD, Lorch Y. Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. *Cell* 1999;98(3):285-94.
- [6] Van Steensel B. Chromatin: constructing the big picture. *EMBO J* 2011;30(10):1885-95.
- [7] Ceppellini R, Polli E, Celada F. A DNA reacting factor in serum of a patient with lupus erythematosus diffusus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957;96(3):572-4.
- [8] Robbins WC, Holman HR, Deicher H et al. Complement fixation with cell nuclei and DNA in lupus erythematosus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957;96(3):575-9.
- [9] Miescher P, Strassie R. New serological methods for the detection of the L.E. factor. *Vox Sang* 1957;2(4):283-7.
- [10] Seligman M. Serology-evidence in serum from patients with disseminated lupus erythematosus of a substance determining a precipitation reaction with desoxyribonucleic acid. *C.R. Hebd seances acad sci* 1957;245:243-5.
- [11] Rekvig OP. The anti-DNA antibody: origin and impact, dogmas and controversies. *Nat Rev Rheumatol* 2015;11(9):530-40.
- [12] Radic MZ, Weigert M. Genetic and structural evidence for antigen selection of anti-DNA antibodies. *Ann Rev Immunol* 1994;12:487-520
- [13] Haley J, Mason LJ, Nagl S et al. Somatic mutations to arginine residues affect the binding of human monoclonal antibodies to DNA, histones, SmD and Ro antigen. *Mol Immunol* 2004;40(11):745-58.
- [14] Bizzaro N, Villalta D, Giavarina D et al. Are anti-nucleosome antibodies a better diagnostic marker than anti-dsDNA antibodies for systemic lupus erythematosus? A systematic review and a study of metaanalysis. *Autoimmun Rev* 2012;12(2):97-106.
- [15] Suer W, Dähnrich C, Schlumberger W et al. Autoantibodies in SLE but not in scleroderma react with protein-stripped nucleosomes. *J Autoimmun* 2004;22(4):325-34.
- [16] Hmdia Y, Schmit P, Gilson G et al. Failure to detect antinucleosome antibodies in scleroderma: comment on the article by Amoura et al. *Arthritis Rheum* 2002;46(1):280-2.
- [17] Bardin N, Desplat-Jego S, Daniel L et al. BioPlex 2200 multiplexed system: simultaneous detection of anti-dsDNA and anti-chromatin antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 2009;42(1):63-8.
- [18] Op De Beeck K, Vermeersch P, Verschueren P et al. Antinuclear antibody detection by automated multiplex immunoassay in untreated patients at the time of diagnosis. *Autoimmun Rev* 2012;12(2):137-43.
- [19] Infantino M, Meacci F, Bentow C et al. clinical comparison of Quanta Flash dsDNA chemiluminescent immunoassay with four current assays for the detection of anti-ds-DNA autoantibodies. *J Immunol Res* 2015;2015:902821.
- [20] Mehra S, Fritzler MJ. The spectrum of anti-chromatin/nucleosome autoantibodies: independent and interdependent biomarkers of disease. *J Immunol Res* 2014;2014:368274.
- [21] Gomez-Puerta JA, Burlingame RW, Cervera R. Anti-chromatin (anti-nucleosome) antibodies: diagnostic and clinical value. *Autoimmun Rev* 2008;7(8):606-11.
- [22] Cervera R, Vinas O, Ramos-Casals M et al. Anti-chromatin antibodies in systemic lupus erythematosus: a useful marker for lupus nephropathy. *Ann Rheum Dis* 2003;62(5):431-4.
- [23] Cairns AP, McMillan SA, Crookard AD et al. Antinucleosome antibodies in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2003;62(3):272-3.
- [24] Min DJ, Kim SJ, Park SH et al. Antinucleosome antibody: significance in lupus patients lacking anti-double-stranded DNA antibody. *Clin Exp Rheumatol* 2002;20(1):13-8.
- [25] Su Y, Jia RL, Han L et al. Role of anti-nucleosome antibody in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol* 2007;122(1):115-20.
- [26] Campos LMA, Kiss MHB, Scheinberg MA et al. Antinucleosome antibodies in patients with juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2006;15(8):496-500.
- [27] Ghirardello A, Doria A, Zampieri S et al. Antinucleosome antibodies in SLE: a two-year follow-up study of 101 patients. *J Autoimmun* 2004;22(3):235-40.
- [28] Nespola B. Les anticorps anti-nucléosomes en pratique médicale, cinq années d'expérience aux hôpitaux universitaires

de Strasbourg. Mémoire du DES de Biologie Médicale tenant lieu de thèse d'exercice du diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Strasbourg, 2015.

- [29] Stinton LM, Barr SG, Tibbles LA et al. Autoantibodies in lupus nephritis patients requiring renal transplantation. *Lupus* 2007;16(6):394-400.
- [30] Li T, Prokopec SD, Morrison S et al. Anti-nucleosome antibodies outperform traditional biomarkers as longitudinal indicators of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol* 2015;54(3):449-57.
- [31] Tan EM, Cohen AS, Fries JF et al. The revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982;25(11):1271-7.
- [32] Petri M, Orbai AM, Alarcon GS et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2012;64(8):2677-86.
- [33] Arbuclle MR, James JA, Kohlhase KF et al. Development of anti-dsDNA autoantibodies prior to clinical diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol* 2001;54(1-2):211-9.
- [34] Sereckina N, van der Vlag J, Berden J et al. Lupus nephritis: Enigmas, conflicting models and an emerging concept. *Mol Med* 2013;19:161-9.
- [35] Benucci M, Saviola G, Baiardi P et al. Anti-nucleosome antibodies as prediction factor of development of autoantibodies during therapy with three different TNF α blocking agents in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2007;27(1):91-5.
- [36] Amoura Z, Koutouzov S, Chabre H et al. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases: antinucleosome antibodies of the IgG3 subclass are markers of renal pathogenicity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000;43(1):76-84.
- [37] Goetz J. Les anticorps anti-nucléosome dans le lupus systémique. *Pathologie biologie* 2002;50 :581-3.
- [38] Li L, Chen M, Huang DY et al. Frequency and significance of antibodies to chromatin in autoimmune hepatitis type I. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15(10):1176-82.
- [39] Muratori P, Granito A, Pappas G et al. The serological profile of the autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome. *Am J Gastroenterol* 2009;104(6):1420-5.