

É D I T O R I A L

Maladies auto-immunes des glandes endocrines

René-Louis HUMBEL, *Président du GEAI*
Laboratoire de Biochimie et Immunopathologie
Centre Hospitalier – 4, rue Barblé – L-1210 Luxembourg

LE DIABÈTE AUTO-IMMUN

Le diabète est connu depuis la plus haute Antiquité grâce à la constatation d'urines sucrées attirant les mouches, urines mielleuses dans lesquelles le biochimiste français Eugène Chevreul identifia, en 1815, le glucose. Le rôle joué par le pancréas dans le métabolisme du glucose est démontré en 1889, à Strasbourg, par Josef von Mehring et Oskar Minkowski qui observent que l'ablation du pancréas chez le chien entraîne l'apparition d'un diabète. L'origine auto-immune du diabète de type I (insulino-dépendant, juvénile) est précisée en 1974 par Gian Franco Bottazzo et Deborah Doniach dans le laboratoire d'Yvan Roitt à Londres. Ces chercheurs montrent par immunofluorescence que les immunoglobulines des malades se fixent sélectivement sur les îlots de Langerhans du pancréas. En 1990, le premier antigène cible est identifié par Steinunn Baekkeskov, la glutamate-décarboxylase (GAD). Par la suite, d'autres cibles antigéniques seront identifiées.

Le diabète de type I est associé à une réponse auto-immune chronique contre les cellules β du pancréas. Cette auto-immunité débute très tôt dans la vie et un diabète apparaît quelques années après. Les marqueurs d'auto-immunité anti-pancréas précèdent de plusieurs années la survenue du diabète clinique. Leur recherche dans le sang permet donc le dépistage précoce des sujets à risque. Ce dépistage s'adresse en premier lieu aux apparentés de diabétiques de type I qui constituent un groupe à risque accru. Les stratégies de dépistage les plus efficaces associent la recherche des ICA par immunofluorescence et celle des anti-GAD et anti-IA2 par radio-immunoprécipitation. Chez les enfants, la destruction des cellules β du pancréas est la plus souvent rapide. En revanche, chez l'adolescent et l'adulte, le phénomène est généralement plus lent et la maladie peut apparaître plus tardivement. Les patients atteints de diabète non-insulinodépendant constituent également un groupe à risque, car ils peuvent également évoluer vers une insulino-dépendance. Le repérage de ces patients peut se faire grâce à la recherche des ICA et par la détermination des anti-GAD. La présence de ces anticorps est indicatrice de l'installation silencieuse d'un DID.

Le risque et la durée d'apparition du diabète chez les sujets avec anticorps anti-pancréas sont corrélés avec le titre des anticorps et leur diversité. L'extension de l'immunisation à

(suite page 2)

Les glandes endocrines semblent particulièrement exposées à une attaque auto-immune comme le démontre la fréquence des maladies auto-immunes endocrinologiques. Les mécanismes immunopathologiques font intervenir aussi bien l'immunité cellulaire que l'immunité humorale. Ils peuvent agir à différents niveaux du métabolisme hormonal. L'atteinte de la cellule productrice de l'hormone est la plus fréquente et se situe le plus souvent au niveau des enzymes responsables de la synthèse hormonale. L'action d'anticorps sur les récepteurs hormonaux se traduit par une stimulation ou un blocage de la sécrétion hormonale. Plus rarement les autoanticorps neutralisent les hormones circulantes. L'auto-immunité peut toucher une seule glande endocrine, mais il n'est pas rare qu'elle affecte plusieurs glandes chez un même malade réalisant un syndrome polyendocrinien.

SOMMAIRE

- ▶ *Éditorial*
Maladies auto-immunes des glandes endocrines
page 1
- ▶ *Les marqueurs immunologiques du diabète insulino-dépendant*
page 7
- ▶ *Autoanticorps anti-thyroïde*
page 9
- ▶ *Les autoanticorps anticortico-surrénale dans la maladie d'Addison auto-immune*
page 16
- ▶ *Les autoanticorps anti-parathyroïde*
page 21

des déterminants multiples provoque une destruction avancée des cellules β et le tarissement de la sécrétion insulinaire. Plusieurs études visant à apprécier la valeur prédictive des différents marqueurs quant à la survenue d'un diabète de type I chez les sujets à risque ont été menées. Celles-ci ont permis d'attribuer à certains anticorps une valeur prédictive élevée. Plus le titre des ICA est élevé, plus le risque de développer un DID est grand. La présence d'ICA chez un enfant à un titre supérieur à 20 unités JDF annonce la survenue d'un diabète dans un délai de 7 ans. La détection d'anti-IA-2 conférerait une valeur prédictive positive de 75 à 100 % sur les 5 ans à venir dans les populations à risque. Le risque est également lié au nombre d'anticorps circulants.

LES THYRÉOPATHIES AUTO-IMMUNES

Dans les contrées où la consommation d'iode est suffisante, les désordres auto-immuns représentent la cause essentielle des maladies thyroïdiennes. La pathologie thyroïdienne auto-immune comprend des phénomènes allant de l'hyperthyroïdie à l'hypothyroïdie, du goitre à l'atrophie du corps thyroïde. Ces manifestations sont sous la dépendance d'anticorps anti-thyroïde très variés qui peuvent être destructeurs, comme les anticorps anti-microsomes, ou au contraire, activateurs comme les anticorps anti-récepteurs de la TSH.

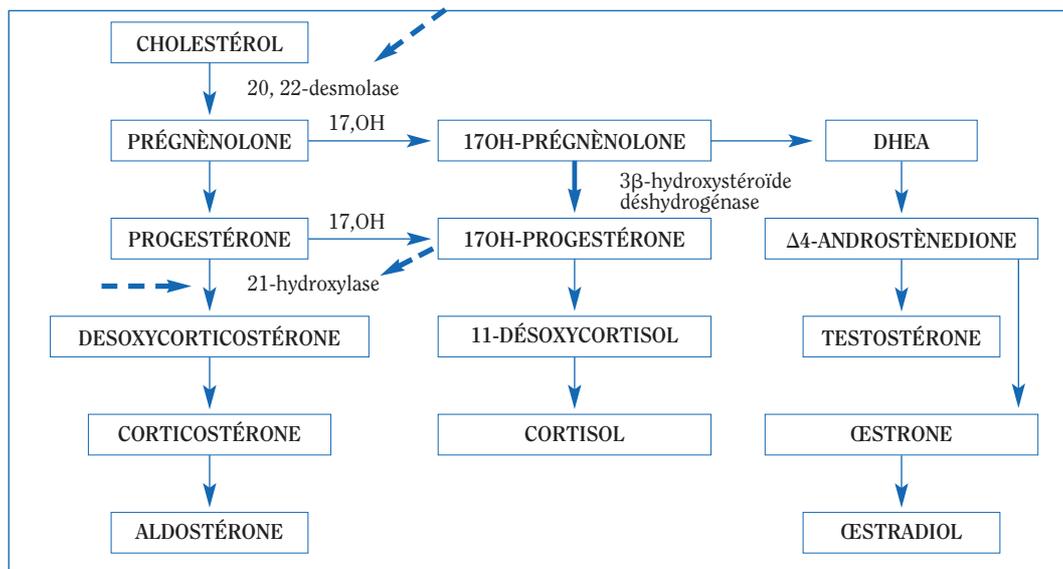
Le goitre exophtalmique résultant d'une hyperthyroïdie est décrit par Caleb Parry en 1736, mais c'est Graves qui en donne la description détaillée dans un cours donné à la Faculté de Médecine à Paris en 1835. D'autres cas sont rapportés par Carl Adolph Basedow en 1840 en Allemagne. L'hypothyroïdie entraînée par une réaction inflammatoire et destructive de la thyroïde est décrite par le médecin japonais Hakaru Hashimoto en 1912. Les premières constatations sur l'existence d'anticorps antithyroïdiens sont faites par le chercheur roumain Georges Marinesco en 1908. Des précipitines anti-thyroglobuline

sont mises en évidence en 1925 par l'Anglais Robert Hektoen. Mais c'est incontestablement à Deborah Doniach et Yvan Roitt que revient le mérite d'avoir clairement identifié ces autoanticorps : ceux qui se lient aux microsomes du cytoplasme de thyrocytes et ceux qui réagissent avec la thyroglobuline concentrée dans la colloïde. L'antigène microsomial est la thyroperoxidase, enzyme clé dans l'iodination de la thyroglobuline et des iodotyrosines. Dans la maladie de Basedow, les anticorps antithyroïdiens sont dirigés contre les récepteurs de la TSH exposés à la surface des cellules thyroïdiennes. Les plus fréquents provoquent une stimulation de la glande thyroïde aboutissant à un goitre et une hyperthyroïdie.

Le tableau clinique des thyroépathies auto-immunes peut être très variable. Le diagnostic est aisé en présence de signes cliniques évocateurs comme la présence d'un goitre, ou d'une exophtalmie, ou des signes moins spécifiques, asthénie et fatigue, tachycardie, amaigrissement, tremblements, excitabilité neuropsychique, anxiété. La recherche des anticorps antithyroïdiens est à la base du diagnostic des thyroépathies. L'évolution vers la thyroïdite de Hashimoto ou le myxoœdème est possible. Les thyroïdites asymptomatiques sont très fréquentes, atteignant d'après certaines études 5 % de la population avec une prévalence de 15 % chez la femme de plus de 60 ans. Il est bien établi que les dysthyroïdies augmentent avec l'âge, mais elles se traduisent souvent de façon fruste et peu évocatrice dans le cadre de la pathologie habituelle du grand âge. Une élévation de la TSH au-dessus de 4 mU/l peut être observée. La découverte d'anticorps chez ces sujets à risque permet d'instaurer précocement un traitement substitutif qui évitera l'évolution vers une hypothyroïdie définitive.

Les thyroïdites silencieuses, encore appelées thyroïdites indolores, constituent une entité souvent méconnue, sous l'expression emprunte des signes aux thyroïdites subaiguës et aux thyroïdites chroniques. Les symptômes révélateurs sont discrets. Elles débutent par une brève

Tableau 1 / Cibles antigéniques des autoanticorps dans la biosynthèse des stéroïdes



phase d'hyperthyroïdie qui fait place en quelques semaines à une hypothyroïdie transitoire. Il existe un goitre, mais il est indolore. Les anticorps antithyroïdiens sont mis en évidence à des taux élevés dans le sang.

LA MALADIE D'ADDISON

En 1948, Thomas Addison, célèbre médecin anglais, décrit trois patients chez lesquels l'autopsie révèle une atrophie des capsules surrénales. Six années après, il publie ses observations classiques d'insuffisance surrénalienne qui deviendra synonyme de la "maladie d'Addison". Pendant longtemps, la tuberculose représentait la cause majeure de maladie d'Addison, mais avec l'éradication de cette maladie infectieuse, la cause principale est devenue une atteinte auto-immune. Celle-ci fut prouvée en 1957 par la mise en évidence dans le sérum des malades d'autoanticorps anti-corticosurrénale, d'abord par la réaction de fixation du complément et plus tard par immunofluorescence.

La corticosurrénale sécrète les corticostéroïdes, l'aldostérone et les androgènes surrénaliens. De nombreuses enzymes permettent la biosynthèse des hormones stéroïdes à partir du cholestérol. Quatre enzymes de la famille des P450 interviennent, en particulier la desmolase 20, 22 qui élimine la chaîne latérale du cholestérol, les 11, 17, 18 et 21-hydroxylases (Tableau 1). En 1991, les chercheurs suédois ont montré que les anticorps anti-surrénale reconnaissent la 21-hydroxylase, l'enzyme qui assure la synthèse de l'aldostérone et du cortisol. C'est donc bien une inhibition enzymatique par les autoanticorps qui est responsable de l'hypocorticisme.

INSUFFISANCE GONADIQUE AUTO-IMMUNE

Certaines cellules glandulaires sécrétant des hormones stéroïdes sont communes à divers organes. La synthèse des androgènes dans l'ovaire, les cellules de Leydig du testicule et les cellules du trophoblaste du placenta débute par la rupture de la chaîne latérale du cholestérol conduisant à la prégnénolone. Cette réaction est placée sous l'action de la 20, 22-desmolase. Une réponse auto-immune dirigée contre celle-ci entraîne une anomalie de la biosynthèse de toutes les hormones stéroïdes.

Ces anticorps se lient aux zones fasciculée et réticulée de la surrénale, aux cellules de la granulosa de l'ovaire, aux cellules de Leydig des testicules et au cytoplasme des

cellules du syncytio trophoblaste du placenta (Tableau 2). On observe une insuffisance corticosurrénalienne et gonadique.

De rares observations d'insuffisance ovarienne isolées ont été rapportées en association avec des anticorps dirigés contre la β 3 hydroxystéroïde déshydrogénase.

HYPOPARATHYROÏDIE AUTO-IMMUNE

Les glandes parathyroïdes ont d'abord été décrites chez le rhinocéros en 1850 et seulement trois années plus tard chez l'homme par Rudolph Virchow. Elles sécrètent l'hormone parathyroïdienne (ou parathormone), isolée en 1959, qui intervient de façon importante dans le métabolisme phosphocalcique. Les premières causes d'hypoparathyroïdie ont été le fait d'ablation chirurgicale de thyroïde, entraînant aussi les parathyroïdes. Elles se caractérisent par des crises de tétanie, liées à une chute importante du calcium ionisé. Une origine auto-immune de certaines hypoparathyroïdies a été évoquée. Des autoanticorps dirigés contre les cellules glandulaires endocrines de la parathyroïde ont été rapportés. Des anticorps dirigés contre les récepteurs sensibles au calcium ont été mis en évidence chez certains malades, en 1996 par Li. Ceci a pu être confirmé par l'équipe de Nicole Fabien et de Jean-Claude Monier de Lyon.

INSUFFISANCE HYPOPHYSAIRE D'ORIGINE AUTO-IMMUNE

L'adénohypophyse (lobe antérieur de l'hypophyse) contient diverses variétés de cellules hormonogènes dont les cellules somatotropes sécrétant l'hormone de croissance, les cellules à prolactine, les cellules corticotropes sécrétant l'ACTH, les cellules thyrotropes (TSH) et les cellules gonadotropes (FSH et LH). En 1975, Gian Franco Bottazzo et Deborah Doniach décrivent la présence d'anticorps se fixant sur les cellules à prolactine dans le sérum des patients atteints de stérilité primaire (Figure 1). Ce sont les anticorps anti-hypophyse les plus fréquemment observés. Des anticorps contre les cellules à hormone de croissance ont également été identifiés chez certains enfants avec nanisme. Wernher A. Scherbaum a signalé en 1985 la présence d'anticorps anti-ACTH dans le sérum d'un patient atteint de maladie de Cushing.

La posthypophyse (neurohypophyse) sécrète l'ocytocine et la vasopressine. Des anticorps réagissant avec les

Tableau 2 / Caractéristiques des anticorps anti-cellules stéroïdes en immunofluorescence

TISSUS DE PRIMATE						
Ag CIBLE	SURRENALE			OVAIRE	TESTICULE	PLACENTA
	Zone glomérulée	Zone fasciculée	Zone réticulée	Cellules de la granulosa	Cellules de Leydig	Cellules du trophoblaste
21-hydroxylase	+++	++	+++	-	-	-
17-hydroxylase	+	++	++	-	-	-
20, 22-desmolase	+	++	++	++	++	++
β 3-hydroxystéroïde déshydrogénase	-	+	+	++	+	-

cellules à vasopressine ont été identifiés chez un patient atteint de diabète insipide par Wernher A. Scherbaum.

LES POLYENDOCRINOPATHIES

Le concept de polyendocrinopathie est ancien puisqu'il est créé par Henri C.J. Claude et Henri Gougerot en 1908 sous le terme d'insuffisance pluriglandulaire endocrinienne. En 1916, Luksh et col. rapportent un cas de maladie d'Addison associée à une thyroïdite de Hashimoto et en 1929, Thorpe et col. décrivent une association de candidose et d'hypoparathyroïdie chronique. Par la suite, les publications relatives à ces polyendocrinopathies se sont multipliées. À côté des manifestations principales intéressant la surrenale, la thyroïde et la parathyroïde, de nombreuses associations seront progressivement décrites, comme le diabète sucré et l'anémie de Biermer. S'y associent également des atteintes non endocriniennes, une infection à candida, un vitiligo, une hépatite. En 1980, Mary Neufeld, Noel MacLaren et William Blizzard proposent une première classification des polyendocrinopathies auto-immunes, qui comporte 3 types différents (Tableau 3). Les endocrinopathies auto-immunes se caractérisent par divers autoanticorps que l'on peut mettre en évidence dans le sérum. Ceux-ci sont spécifiques pour les tissus atteints et leur présence constitue un élément important pour le diagnostic.

POLYENDOCRINOPATHIE DE TYPE I

Ce syndrome polyglandulaire est rare, affectant essentiellement les enfants en bas âge. Les signes majeurs sont une candidose mucocutanée chronique, une hypoparathyroïdie, une insuffisance surrénalienne. Les signes mineurs incluent d'autres endocrinopathies (hypogonadisme, diabète insulino-dépendant, thyroépathie auto-immune) et des maladies gastro-intestinales (atrophie gastrique, anémie pernicieuse), une hépatite chronique, une maladie auto-immune de la peau (vitiligo, alopecie), une dystrophie ectodermale (défaut de l'émail dentaire, dystrophie des ongles). Les premières manifestations débutent dans l'enfance et l'évolution vers la polyendocrinopathie s'installe durant les 20 premières années de la vie. Les signes mineurs peuvent se développer jusqu'à 50 ans. Dans la majorité des cas, la candidose est la première manifestation, apparaissant avant l'âge de 5 ans. Elle est suivie de l'hypoparathyroïdie vers 10 ans, puis de l'insuffisance surrénalienne vers 15 ans. Ces trois mani-

festations majeures du syndrome surviennent dans la chronologie précise indiquée, mais ils sont présents au moment du diagnostic dans 1/3 des cas. Le syndrome polyendocrinien de type I est aussi dénommé syndrome de Blizzard ou syndrome de Whittaker. Pëkka Ahonen, en 1990, l'a appelé APECED (Auto-immune PolyEndocrinopathy Candidosis Ectodermal Dystrophy). Il s'agit d'une maladie génétique autosomique récessive dont le locus a été identifié sur le chromosome 21q22,3 et appelé gène AIRE (Auto-immune Regulator). Divers autoanticorps peuvent être mis en évidence dans les sérums des malades, à commencer par ceux réagissant avec les enzymes de la stéroïdogénèse (20, 22-desmolase, 17-hydroxylase, 21-hydroxylase). D'autres autoanticorps spécifiques d'organes peuvent aussi être mis en évidence dans le sérum des malades et ceux-ci correspondent aux manifestations extraglandulaires. Des anticorps dirigés contre les hydrolases qui catalysent le catabolisme de la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane, ont été décrits. Ces enzymes ont des séquences homologues si bien qu'il existe des réactions croisées avec les anticorps. Les plus intéressants sont les anti-tryptophane, hydroxylase (TPH) responsables de la voie de synthèse de la sérotonine. La TPH est fortement exprimée dans les cellules sérotoninergiques du SNC et de l'intestin. La présence d'anticorps anti-TPH est couplée à un dysfonctionnement gastro-intestinal. Les anticorps anti-tyrosine-hydroxylase sont quant à eux associés au vitiligo, vraisemblablement par leur intervention au niveau de la synthèse de la L-DOPA (Tableau 4).

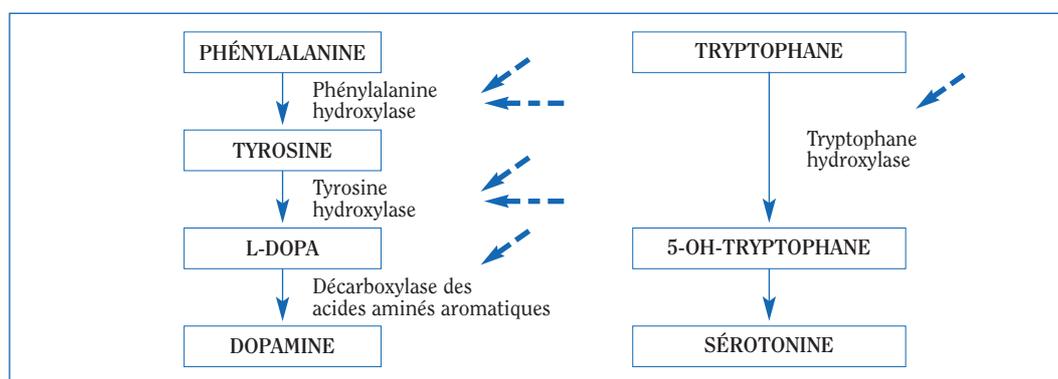
POLYENDOCRINOPATHIE DE TYPE II

C'est une polyendocrinopathie de l'adulte. Elle est définie par l'association d'une insuffisance surrénalienne primaire avec une maladie thyroïdienne (le syndrome de Schmidt) et souvent d'un diabète insulino-dépendant. La maladie d'Addison débute après l'âge de 20 ans chez la moitié des patients. Cependant, le diabète peut être présent avant l'insuffisance surrénalienne. La fréquence de l'atteinte thyroïdienne peut atteindre 70 % en tenant compte des formes infracliniques qui sont fréquentes dans les thyroépathies auto-immunes. Ces atteintes thyroïdiennes sont soit une maladie de Basedow ou une thyroïdite de Hashimoto. L'insuffisance gonadique est plus rare. On observe aussi plus rarement un vitiligo, une alopecie et une anémie de Biermer. Le sérum des malades renferme des anticorps anti-20, 22-desmolase.

Tableau 3 / Principales manifestations cliniques des syndromes polyendocriniens

SYNDROMES POLYENDOCRINIENS				
I	II	IIIa	IIIb	IIIc
Hypoparathyroïdie M. d'Addison Candidose Dystrophie ectodermale	Maladie d'Addison Thyroépathie Diabète Hypogonadisme	Thyroépathie Diabète M. coeliaque Sarcoïdose	Thyroépathie Anémie Biermer	Thyroépathie Vitiligo Alopecie
Hypogonadisme Alopecie Anémie Biermer Diabète	Vitiligo Alopecie Anémie Biermer M. coeliaque			

Tableau 4 / Cibles antigéniques des autoanticorps pouvant être observés dans le syndrome polyendocrinien I



POLYENDOCRINOPATHIE DE TYPE III

Elle associe une atteinte thyroïdienne auto-immune (qui est le maître symptôme) et un diabète insulino-dépendant (type IIIa), un vitiligo et/ou une alopécie (type IIIc). Il n'y a pas d'insuffisance surrénalienne.

Le syndrome polyglandulaire de type IIIa peut également associer une maladie coeliaque et une sarcoïdose (K.I. Papadopoulos, 1994). La sarcoïdose est par ailleurs assez fréquemment associée à une endocrinopathie, en particulier une thyrotoxicose, une thyroïdite, une maladie

d'Addison. Sous la dénomination de "TASS syndrome", Paul Seinfeld et Sarah Sharma (1983) ont décrit l'association de thyroïdite, maladie d'Addison, de syndrome de Sjögren et de sarcoïdose.

RECHERCHE ET IDENTIFICATION DES AUTOANTICORPS

Un grand nombre d'autoanticorps doit être recherché dans les endocrinopathies auto-immunes. La recherche débute généralement par un examen du sérum par immunofluorescence indirecte sur des coupes d'organes.

Tableau 5 / Méthodes de détection des autoanticorps associés aux endocrinopathies

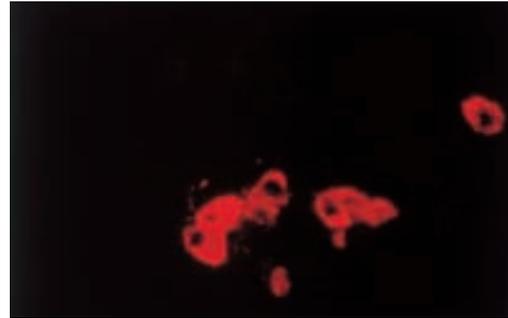
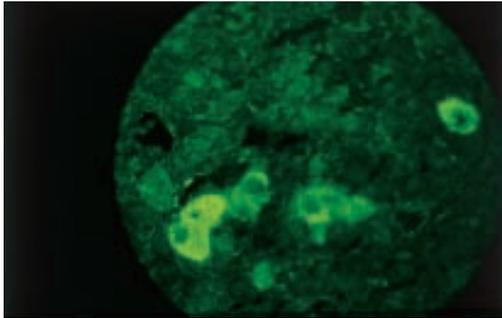
MALADIES	IMMUNOFLUORESCENCE			IDENTIFICATION	
	Anticorps	Coupes de tissus	Dilution du sérum		
Diabète insulino-dépendant	Îlots de Langerhans du pancréas	Pancréas de primate	1/3	GAD, IA2	RIA
Maladie de Basedow	Thyroïde	Thyroïde de primate	1/10	TPO, TG	RIA, ELISA
Thyroïdite de Hashimoto	Épithélium thyroïdien		1/10		
Maladie d'Addison	Cortico-surrénale	Surrénale de primate	1/5	21-hydroxylase	RIA, ELISA
Insuffisance gonadique	Cellules stéroïdes	Surrénale de primate ovaire, testicule, placenta de primate	1/5	20, 22-desmolase	RIA, ELISA
Gastrite	Cellules pariétales de l'estomac	Estomac de rat	1/10		
Anémie de Biermer				Facteur intrinsèque	RIA, ELISA, DOT
Maladie coeliaque	Intestin grêle	Œsophage de primate ou cordon ombilical	1/5	Transglutaminase tissulaire	ELISA, DOT
Vitiligo		Follicule pileux	1/5	Tyrosine-hydroxylase	RIA
		Mélanocytes	1/5	Tyrosinase	ELISA
Dysfonctionnement intestinal (Polyendocrinopathie de Type I)	Intestin	Intestin grêle ou estomac de primate ou de rat	1/10	Tryptophane-hydroxylase	RIA
Insuffisance hypophysaire	Hypophyse	Hypophyse de primate	1/5		
- Stérilité		- cellules à prolactine			
- Nanisme		- cellules à hormone de croissance			

L'identification précise sera obtenue par l'utilisation des techniques radio-immunologiques, l'ELISA et l'immunodot, basées sur l'utilisation des antigènes recombinés

(Tableau 5). Ce tableau reprend également des autoanticorps qui réagissent avec des tissus non endocriniens mais qui sont fréquemment associés aux polyendocrinopathies.

Figure 1 / Identification des anticorps anti-cellules à prolactine sur coupes d'hypophyse de singe

Le sérum est incubé avec le sérum du patient, puis avec un monoclonal de souris anti-prolactine. La révélation se fait avec un conjugué mixte, anti-humain marqué à la FITC et anti-souris marqué à la TRITC. La fluorescence verte correspond aux anticorps du sérum, la fluorescence rouge à celle des cellules à prolactine. Dans le cas présenté, le marquage des cellules est superposable, confirmant que le sérum renferme bien des anticorps réagissant avec les cellules productrices de prolactine.



Références

[1] D. DONIACH, G.F. BOTTAZZO
Autoimmune endocrine disorders. *Hospital Update* 1983; 9 : 1-10 (excellente revue sur l'immunofluorescence).

[2] J.R. BACKER
Autoimmune endocrine disease.
JAMA 1997; 278 : 1931-1937.

[3] Y.H. SONG, Y. LI, N.K. MACLAREN
The nature of autoantigens targeted in autoimmune endocrine diseases. *Immunology Today* 1996; 17 : 232-238.

[4] R.L. HUMBEL
Les polyendocrinopathies auto-immunes.
Revue ACOMEN 1999; 5 : 271-275.

Les marqueurs immunologiques du diabète insulino-dépendant

René-Louis HUMBEL, *Laboratoire de Biochimie et Immunopathologie
Centre Hospitalier – 4, rue Barblé – L-1210 Luxembourg*

Le diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète de type I est une maladie auto-immune qui résulte de la destruction progressive des cellules β du pancréas aboutissant à une carence totale en insuline. L'origine auto-immune du DID a été établie en 1974 lorsque Gian Franco Bottazzo a pu mettre en évidence, dans le sérum des malades, d'autoanticorps réagissant avec les îlots pancréatiques. Par la suite, de nombreux antigènes cibles ont été identifiés dans le pancréas contre lesquels des autoanticorps peuvent être recherchés.

L'émergence clinique du diabète est précédée d'une période "asymptomatique" appelée prédiabète, qui peut être plus ou moins longue, de quelques mois à quelques années. Les anticorps anti-pancréas sont présents dans le sang dès la phase préclinique et leur recherche permet donc le dépistage précoce du DID chez les sujets à risque. Ce dépistage s'adresse en premier lieu aux apparentés de diabète de type I qui constituent un groupe à risque accru. Les patients adultes atteints de diabète non insulino-dépendant constituent également un groupe à risque, car ils peuvent également évoluer vers une insulino-dépendance.

LES AUTOANTICORPS ANTI-PANCRÉAS

Les anticorps anti-îlots pancréatiques peuvent être mis en évidence par immunofluorescence indirecte sur coupes de pancréas humain ou de primate. Cette technique conserve tout son intérêt malgré l'introduction des techniques d'immunoprécipitation décrites plus loin. Pour atteindre une sensibilité maximale, le sérum est dilué au 1/3 dans un tampon composé d'albumine bovine (1 g), de Tween20 (0,05 g), d'Aprotinine (10 000 U.), d'azide de sodium (0,1 g) pour 100 ml de PBS. L'incubation avec la coupe de pancréas est de 18 heures. L'antiglobuline fluorescente est une anti-IgG humaine de haute avidité. Le titrage des ICA est obtenu par l'examen de dilutions successives du sérum, comparativement à celle d'un sérum de référence préparé par la *Juvenile Diabetes Foundation*. Les résultats peuvent alors être exprimés en unités JDF. Les ICA sont des marqueurs sensibles de l'auto-immunité anti-pancréas et leur valeur prédictive pour le DID est d'autant plus élevée que le titre en unités. JDF est fort (sup. à 20 U.).

Plusieurs antigènes cibles ont été identifiés dans les extraits pancréatiques par immunoprécipitation et immunoblotting et, plus récemment, par criblage de bibliothèques d'expression de cDNA. Les autoanticorps correspondants reconnaissent ces antigènes dans leur configuration native, ce qui impose l'utilisation de la technique d'immunofixation, en phase liquide, de la GAD radio-

marquée. Les principaux anticorps anti-pancréas pouvant être recherchés dans le sérum sont indiqués dans le *Tableau 1*, ainsi que les méthodes utilisées.

UTILISATION RATIONNELLE DES MARQUEURS

Devant le nombre croissant d'autoanticorps dont la recherche est proposée dans le cadre du DID, il faut savoir faire un choix judicieux. Il n'est ni techniquement, ni financièrement possible, ni justifié, de multiplier continuellement le nombre des anticorps recherchés.

Actuellement il est conseillé de rechercher trois anticorps : les anticorps anti-îlots pancréatiques par immunofluorescence indirecte, les anticorps anti-glutamate décarboxylase et soit les anticorps anti-insuline ou les anticorps anti-IA₂. L'intérêt des autres marqueurs immunologiques est très limité et les techniques nécessaires ne sont pas du ressort du laboratoire de routine.

DÉPISTAGE ET PRÉDICTION DU DIABÈTE DE TYPE I

1. CIBLER LES INDIVIDUS À RISQUE

Les stratégies de dépistage les plus efficaces associent la recherche des ICA par immunofluorescence et celle des anti-GAD par radio-immunoprécipitation. La recherche des anti-IA₂ n'améliore pas le score du dépistage. Les anti-IA₂ sont d'autant plus fréquents que le sujet est jeune. Par contre, comme il sera discuté plus loin, la mesure des anti-IA₂ présenterait d'autres avantages, en particulier pour la prédiction du diabète. Chez les enfants, la destruction des cellules β du pancréas est le plus souvent rapide. En revanche, chez l'adolescent et l'adulte, le phénomène est généralement plus lent et la maladie peut apparaître plus tardivement. Les patients atteints de diabète non-insulinodépendant constituent également un groupe à risque, car ils peuvent également évoluer vers une insulino-dépendance. Le repérage de ces patients peut se faire grâce à la recherche des ICA et mieux encore, par la détermination des anti-GAD. La présence de ces anticorps est indicatrice de l'installation silencieuse d'un DID.

2. PRÉDIRE L'APPARITION D'UN DIABÈTE

Le développement du diabète peut être mis sur le compte de la maturation et de l'extension de la réponse auto-immune. Le risque et la durée d'apparition du diabète chez les sujets avec anticorps anti-pancréas sont corrélés avec le titre des anticorps et leur diversité. L'extension de l'immunisation à des déterminants multiples provoque une destruction avancée des cellules β et le tarissement

Tableau 1 / Autoanticorps associés au diabète de type I

ANTIGÈNES CIBLES	NATURE BIOCHIMIQUE	TECHNIQUE	FRÉQUENCE DANS LE DID (%)
<i>TROUSSES COMMERCIALES DISPONIBLES</i>			
ICA	Antigènes cytoplasmiques des îlots pancréatiques	Immunofluorescence indirecte	70-90
GAD 65	Glutamate-décarboxylase	Radio-immunoprécipitation	65-90
INSULINE	Hormone	Radio-immunoprécipitation	20-70
IA ₂	Protéine-tyrosine-phosphatase	Radio-immunoprécipitation	40-80
<i>ANTICORPS DONT L'UTILITÉ CLINIQUE N'EST PAS DÉMONTRÉE</i>			
PHOGRIN	Protéine-Tyrosine-Phosphatase (IA ₂ b)	Radio-immunoprécipitation (PAGE)	30-60
GLIMA	Protéine membranaire des granules sécrétoires	Radio-immunoprécipitation	19-35
GANGLIOSIDES GM2-1	Ganglioside spécifique du pancréas	Chromatographie	70
GANGLIOSIDES GT-3	Trisialoganglioside	Chromatographie	30
SULFATIDES	Galactocérebroside-3-sulfate	Chromatographie	88
CPH	Carboxypeptidase-H	Radio-immunoprécipitation (PAGE)	25

de la sécrétion insulinique. Plusieurs études visant à apprécier la valeur prédictive des différents marqueurs quant à la survenue d'un diabète de type I chez les sujets à risque ont été menées. Celles-ci ont permis d'attribuer à certains anticorps une valeur prédictive élevée. Plus le titre des ICA est élevé, plus le risque de développer un DID est grand chez les apparentés du premier degré d'un sujet atteint de diabète de type I. La présence d'ICA à un

titre supérieur à 20 unités JDF annonce la survenue d'un diabète dans un délai de sept ans. Par contre, les anti-GAD n'ont pas de valeur prédictive. La détection d'anti-IA2 confère une valeur prédictive positive de 75 à 100 % sur les cinq ans à venir dans les populations à risque. Le risque est également lié au nombre d'anticorps circulants.

Références

[1] LARGER E, DUBOIS-LAFORGUE D, TIMSIT Y et al. Diabète de type I. *Presse Médicale* 1999; 28: 1895-1903.

[2] HUMBEL RL, GILSON G
Les marqueurs immunologiques du diabète insulino-dépendant 1. *Immunoal Biol Spec* 1999; 14: 159-165.

[3] HUMBEL RL, GUILLAUME AC et al.
Étude de différentes méthodes pour la mise en évidence des autoanticorps anti-GAD associés au développement du DID. *Immunoal Biol Spec* 1997; 12: 275-279.

Autoanticorps anti-thyroïde

Pascale CHRÉTIEN, *Service Hématologie et Immunologie. CHI, Créteil*

Nils-Olivier OLSSON, *Laboratoire d'Immunologie. Hôpital du Bocage, Dijon*

Les pathologies thyroïdiennes sont fréquentes et très souvent d'origine auto-immune. La prévalence de ces maladies auto-immunes de la thyroïde est de l'ordre de 5 % dans la population générale, avec une large prédominance féminine. Le rôle de l'auto-immunité dans ces affections a été démontré dans les années 50, avec la mise en évidence d'anticorps anti-thyroïde dans le sérum des malades [10]. Depuis, les spécificités de ces anticorps ont été identifiées, leurs techniques de détection se sont perfectionnées, leurs rôles et leur intérêt clinique ont été précisés. Avant d'aborder ces différents points, nous ferons un bref rappel sur les thyroïdites auto-immunes.

I/ MALADIES AUTO-IMMUNES DE LA THYROÏDE

Les manifestations cliniques de ces maladies sont très diverses, tant sur le plan anatomique, où elles vont de l'atrophie au goitre, que sur le plan fonctionnel, où elles couvrent tous les degrés de l'hypothyroïdie à l'hyperthyroïdie.

I.1 HYPERTHYROÏDIÉS

Les hyperthyroïdies se caractérisent par des taux élevés d'hormones thyroïdiennes associés à des titres effondrés de TSH (à l'exception des très rares adénomes hypophysaires sécrétant de la TSH).

La cause la plus fréquente d'hyperthyroïdie est la maladie de Graves-Basedow. Sa prévalence dans la population générale est de 2 %. Elle touche 10 femmes pour 1 homme, et survient préférentiellement chez la femme jeune. Il existe une prédisposition génétique pour cette maladie, caractérisée par la fréquence des phénotypes HLA-B8 et DR3 (risques relatifs respectivement de 2,5 et 3,7). Elle est fréquemment associée à d'autres affections auto-immunes : maladie de Biermer, diabète de type I, syndrome de Gougerot-Sjögren, vitiligo. Aux signes cliniques habituels d'hyperthyroïdie s'ajoutent des manifestations particulières : un goitre homogène, vasculaire et indolore ; une ophtalmopathie, inconstante mais spécifique, associant exophtalmie, rétraction palpébrale et œdème des paupières ; une dermopathie, également spécifique mais rare : le myxœdème pré tibial.

I.2. HYPOTHYROÏDIÉS

Dans ces affections, les taux d'hormones thyroïdiennes sont abaissés de façon variable, et la concentration sérique de la TSH est augmentée.

Dans les pays occidentaux, leur prévalence est de l'ordre de 1 %, avec une très forte prépondérance féminine (10 femmes pour 1 homme), et l'étiologie auto-immune est la plus fréquente. Les hypothyroïdies auto-immunes ont souvent un caractère familial. Plus souvent encore que la maladie de Graves-Basedow, elles peuvent faire partie de syndromes polyendocriniens auto-immuns où elles sont associées à des atteintes auto-immunes d'autres glandes endocrines : diabète de type I, vitiligo, ménopause précoce, maladie d'Addison... Mais elles peuvent également être associées à d'autres maladies auto-immunes : lupus érythémateux disséminé, polyarthrite rhumatoïde, syndrome de Gougerot-Sjögren, hépatite chronique...

Elles réalisent deux tableaux principaux : la thyroïdite de Hashimoto et le myxœdème primitif. La thyroïdite de Hashimoto touche la femme d'âge moyen (40-50 ans) et se caractérise par un goitre ligneux avec infiltration lymphoplasmocytaire. Le myxœdème primitif touche la femme plus âgée et se traduit par une atrophie de la glande thyroïde.

Des tableaux plus rares d'hypothyroïdie auto-immune peuvent être rencontrés :

- autoanticorps bloquant le récepteur de la TSH ;
- après thyroïdectomie subtotale pour maladie de Graves-Basedow ;
- après irradiation cervicale pour maladie de Hodgkin ou cancer ORL ;
- après traitement par des cytokines (interférons, interleukine 2).

I.3. AUTRES THYRÉOPATHIES AUTO-IMMUNES

Les thyroïdites asymptomatiques se définissent par la présence d'anticorps anti-thyroïde en l'absence de signes de dysthyroïdie. Leur fréquence est élevée et augmente avec l'âge, avec une prévalence de 15 % chez la femme de plus de 60 ans. Leur évolution est variable : elles peuvent rester silencieuses ou frustes, avec parfois une élévation

isolée de la TSH, ou déboucher sur une thyroïdite de Hashimoto ou un myxœdème.

Les thyroïdites du post partum sont fréquentes : leur prévalence est de 5 à 10 %. Elles sont en général paucisymptomatiques. Lorsqu'ils sont présents, les signes de dysthyroïdie débutent souvent, dans le premier trimestre de la grossesse, par une thyrotoxicose, pour évoluer vers l'hypothyroïdie au cours du deuxième trimestre. Elles sont généralement spontanément régressives, mais les risques de récurrence lors d'une nouvelle grossesse sont élevés, et elles peuvent déboucher sur une hypothyroïdie définitive avec atrophie.

II/ANTICORPS ANTI-THYROÏDE : PRINCIPALES VARIÉTÉS

En pratique courante, trois types d'anticorps anti-thyroïde sont recherchés : ils sont dirigés soit contre le récepteur de la TSH, soit contre la thyroperoxydase, soit contre la thyroglobuline.

II.1. ANTICORPS ANTI-RÉCEPTEUR DE LA TSH

Dès 1948, Purves et Griesbach avaient montré que le sérum de malades atteints de maladie de Graves-Basedow, injecté au cobaye, provoque une hypertrophie thyroïdienne. En 1956, Adams et Purves mettent au point un test biologique de détection du facteur sérique responsable de ce phénomène, et qui diffère de la TSH [1]. En raison du caractère prolongé de son action, cette substance fut appelée "long-acting thyroid stimulator" (LATS) par Mc Kenzie [16]. Sa nature immunoglobulinique fut démontrée quelques années plus tard [26, 27], et l'étude des effets de ces immunoglobulines sur la fixation de la TSH radiomarquée à son récepteur membranaire permit de démontrer qu'il s'agissait bien d'anticorps anti-récepteur de la TSH [15].

Le récepteur de la TSH (RTSH), cloné en 1990 [19], est une grosse protéine de 764 acides aminés (90 kDa). Il appartient à la famille des récepteurs couplés aux protéines G, qui comportent 7 segments transmembranaires. Il est exprimé sur les faces basolatérales des thyrocytes mais aussi sur le tissu orbitaire rétrobulbaire, sur des lymphocytes et sur des cellules adipeuses. L'expression du RTSH par des fibroblastes préadipocytaires rétrobulbaires est probablement à l'origine de l'ophtalmopathie basedowienne [32]. Une forme soluble du récepteur a également été mise en évidence dans le sérum [18].

Les autoanticorps anti-RTSH sont surtout des IgG1. Ils reconnaissent essentiellement des épitopes conformationnels répartis le long du domaine extracellulaire responsable de la fixation de l'hormone. En fonction de leurs effets, mesurés dans des tests d'activité biologique, ils ont été désignés par différents acronymes. Les anticorps les plus fréquents, qui stimulent l'activité des

thyrocytes, initialement appelés LATS (Long-Acting Thyroid Stimulator), sont aujourd'hui désignés par les termes de TSAb (Thyroid Stimulating Antibodies) ou TSI (Thyroid Stimulating Immunoglobulins). Ils reconnaissent le plus souvent des épitopes localisés vers l'extrémité N-terminale (autour des acides aminés 34-37, 40, 42-45 et 52-56) [21]. Les anticorps bloquants sont appelés TBAb (Thyroid Blocking Antibodies) ou TSBAb (Thyroid Stimulation Blocking Antibodies). Ils reconnaissent plutôt des épitopes proches de l'extrémité C-terminale (acides aminés 296-306 et 387-395) [21]. La mise au point de tests d'inhibition de liaison de la TSH à son récepteur a permis de détecter des anticorps se liant au RTSH sans distinction de leurs effets activateurs ou inhibiteurs de la fonction thyroïdienne : ce sont des TBII (Thyroid Binding Inhibitory Immunoglobulins), encore appelés TBIAb (Thyroid Binding Inhibitory Antibodies). Des anticorps bloquants et des anticorps stimulants sont parfois mis en évidence chez un même malade, de façon concomitante [5] ou successive [33].

► Méthodes de détection

Les tests fonctionnels constituent les méthodes de référence. Pour détecter des TSI, les immunoglobulines sont extraites du sérum et incubées avec des cellules thyroïdiennes. Différents substrats ont été proposés : fragments de tissu thyroïdien humain normal, thyrocytes isolés à partir de thyroïde humaine, de porc ou de cobaye, ou lignées de cellules thyroïdiennes d'origine humaine ou de rat. L'activité biologique est en général mesurée par la production d'AMP cyclique (qui est amplifiée par la stimulation du RTSH) ; elle est comparée à l'effet produit par des quantités croissantes de TSH. Les anticorps bloquants sont mis en évidence par une inhibition de la production d'AMP cyclique en présence de TSH. Lourdes et difficiles à standardiser, ces méthodes biologiques ne sont pas utilisables en routine, mais elles seules permettent de différencier anticorps bloquants et anticorps stimulants.

Les TBII ou TBIAb sont détectés par des tests de liaison où les anticorps entrent en compétition avec de la TSH radiomarquée pour se fixer sur des RTSH. Les premières techniques utilisaient des préparations semi-purifiées de membranes plasmiques extraites de thyroïde humaine, et la radioactivité finale liée à ces membranes était mesurée. En 1984, une technique utilisant comme source de RTSH des membranes thyroïdiennes de porc, et de la TSH bovine marquée à l'iode 125 a été proposée [28]. Le sérum est incubé avec les membranes thyroïdiennes, sans extraction préalable des immunoglobulines, et la TSH marquée est ajoutée dans un deuxième temps. On mesure la radioactivité liée aux RTSH précipités par le polyéthylène glycol. Cette technique est connue sous l'acronyme "TRAK" pour TSH Receptor Antikörpern. Elle a été améliorée en 1999 par l'utilisation de RTSH d'origine humaine préparée à partir d'une lignée cellulaire surexprimant ce récepteur [7]. Cette modification permet d'atteindre une sensibilité de 98 % pour le diagnostic de maladie de Graves-Basedow. Ces techniques TRAK

utilisent comme préparation de référence soit le standard MRC B65/122, initialement élaboré pour le dosage de LATS, soit le standard WHO TSAb 90/672.

Enfin, une méthode "froide" de détection des TBII sur l'automate Kryptor (B.R.A.H.M.S) devrait être bientôt disponible en France. Reposant sur le principe fluorimétrique "TRACE" (Time Resolved Amplified Cryptate Emission), cette technique utilise du RTSH recombinant humain.

II.2. ANTICORPS ANTI-THYROPEROXYDASE ET ANTI-THYROGLOBULINE

► Anticorps anti-thyroperoxydase

L'utilisation de coupes au cryostat de thyroïde humaine ou de primate a permis de mettre en évidence, par immunofluorescence indirecte dans le sérum de malades atteints de diverses pathologies thyroïdiennes, des anticorps marquant le cytoplasme des thyrocytes (*Figure 1*). Les antigènes reconnus sont retrouvés dans la fraction microsomale de ces cellules, et ces anticorps ont longtemps été désignés par le terme d'anti-microsomes thyroïdiens. En 1985 la thyroperoxydase (TPO) a été identifiée comme la cible majeure de ces anticorps [8] et, depuis, on ne s'intéresse plus qu'à ces anticorps anti-TPO.

La TPO est une protéine transmembranaire localisée essentiellement au pôle apical des thyrocytes. C'est une enzyme clé de la synthèse des hormones thyroïdiennes : elle assure l'oxydation de l'iodure capté dans le sang par les thyrocytes, sa fixation sur les résidus tyrosines de la thyroglobuline (organification de l'iode), et le couplage de résidus iodotyrosines en iodothyronines. Son activité enzymatique est catalysée par un groupement hémique. Deux formes différentes de la TPO sont produites par épissage alternatif : TPO1 (101 kDa) et TPO2 (107 kDa). Toutes deux sont reconnues par les autoanticorps. Elles présentent deux à six épitopes linéaires ou conformationnels [17, 30].

Les anticorps anti-TPO sont essentiellement des IgG. Ils reconnaissent un nombre limité d'épitopes. Ils peuvent exercer un effet toxique direct en inhibant l'activité de l'enzyme, ou entraîner la lyse des thyrocytes soit en activant le complément soit par un mécanisme d'ADCC (cytotoxicité à médiation cellulaire dépendant des anticorps). En revanche les anticorps maternels anti-TPO n'ont généralement pas d'effet pathogène sur le fœtus.

► Anticorps anti-thyroglobuline

La thyroglobuline (Tg) est une macro-molécule (660 kDa) qui sert de support à la synthèse des hormones thyroïdiennes. Produite uniquement par les thyrocytes, elle est également retrouvée dans la substance colloïde dont elle est le constituant essentiel. Son immunoréactivité est conditionnée par sa glycosylation et son degré d'iodation. Elle comporte une quarantaine d'épitopes potentiels regroupés en six domaines [23].

Les anti-Tg ont été les premiers autoanticorps anti-thyroïde identifiés par immunofluorescence indirecte

(*Figure 2*) [10]. Ce sont surtout des IgG. Ils n'ont pas d'effet cytotoxique et ne sont pas responsables de pathologies transitoires chez le nouveau-né. Ils peuvent former avec la Tg des complexes immuns fixés in situ ou circulants, mais leur rôle pathogène n'est pas clairement établi [29]. Ils reconnaissent en général un nombre limité d'épitopes qui diffèrent de ceux qui sont utilisés dans les dosages immunologiques de la Tg. Selon le statut du patient (âge, sujet sain ou porteur de telle ou telle pathologie thyroïdienne ou d'une autre maladie auto-immune), la spécificité de ces anticorps peut différer, et des cartes épitopiques associées à ces différentes pathologies ont été décrites [6, 13]. Enfin des anticorps reconnaissant des déterminants antigéniques communs à la Tg et à la TPO (anticorps "anti-TGPO") ont été décrits [25].

► Méthodes de détection

Les anticorps anti-Tg et anti-TPO ont été mis en évidence initialement par immunofluorescence indirecte. Les anti-Tg marquent fortement la colloïde (*Figure 2*), alors que les anti-TPO donnent un marquage homogène du cytoplasme des thyrocytes (*Figure 1*). Cependant cette méthode, mal adaptée aux grandes séries, se heurte également aux difficultés d'approvisionnement en thyroïde : elle nécessite des coupes de thyroïde de primate, ou, de préférence, de thyroïde humaine. Elle est aujourd'hui peu utilisée.

Les techniques d'agglutination passive qui lui ont succédé ont été pendant longtemps les plus répandues. Elles utilisaient soit des globules rouges (de mouton ou de dinde), soit des particules artificielles (gélatine, latex) sensibilisées avec de la thyroglobuline ou un extrait microsomal de thyroïde d'origine animale ou humaine. Peu onéreuses, ces techniques n'étaient pas très précises, sensibles au phénomène de zone, et mal adaptées aux grandes séries.

Elles ont pratiquement disparu au profit de techniques d'immunoanalyse plus sensibles et plus précises. La radio-immunologie a été rapidement supplantée par des techniques plus faciles à automatiser : ELISA, immunochimiluminescence, immunofluorimétrie. L'immunoblot, très sensible également, est parfois utilisé en recherche pour analyser la spécificité de ces anticorps [22]. Cependant ces méthodes ont également leurs difficultés et leurs limites [14]. Outre le type de marqueur utilisé, les techniques disponibles à l'heure actuelle diffèrent par de nombreux paramètres : origine de l'antigène (TPO purifiée ou recombinante), type de réaction (liaison directe, compétition ou sandwich, en phase homogène ou hétérogène), marquage direct ou indirect (anticorps marqué fixé sur la TPO)... De plus, malgré l'existence de préparations de référence (MRC 66/387 et MRC 65/93), toutes les troupes de réactifs ne permettent pas d'exprimer les résultats en UI/ml, et les domaines de mesure et les valeurs seuils diffèrent considérablement d'un fabricant à un autre. De ce fait il est très difficile de comparer les résultats, et le programme "Thyroïde" du Contrôle National de Qualité de 1998 [2] a mis en évidence de nombreuses discordances (259 résultats positifs, 75 négatifs et 35 douteux

pour un même échantillon !). Des efforts de standardisation s'imposent donc pour aboutir à une meilleure homogénéité des résultats [11].

Dans notre expérience, il existe peu de différences, en terme de signification des résultats, entre des méthodes utilisant un extrait microsomal ou de la TPO purifiée. En revanche des différences sensibles sont observées avec des techniques utilisant un antigène recombinant. De façon générale, le choix d'une technique devra reposer sur une analyse approfondie des corrélations entre les résultats et les pathologies présentées par les patients.

II.4. AUTRES ANTICORPS

► Anticorps anti-T3, anti-T4

Ces anticorps, très rares, peuvent être responsables d'artefacts dans les dosages des analytes correspondants (dans un sens ou dans l'autre : surestimation ou sous-estimation). Ils ne semblent pas avoir d'effet sur l'activité biologique de ces hormones. Leur présence est suspectée devant des discordances entre le bilan hormonal et la clinique [9]. Ils sont mis en évidence par des tests de liaison avec des hormones marquées à l'iode 125. Les complexes formés sont précipités par le polyéthylène glycol, la radioactivité est mesurée sur le culot, et les résultats sont exprimés en pourcentages de liaison.

► Anticorps anti-symporteur

Le symporteur de l'iodure ou symporteur Na⁺/I⁻ (NIS) est une grosse protéine membranaire exprimée au pôle basal des thyrocytes, mais aussi dans d'autres tissus (muqueuse gastrique, glandes salivaires, glandes mammaires). Des autoanticorps anti-NIS peuvent inhiber le captage de l'iode [24]. Ils ont été retrouvés, avec des fréquences variables, dans le sérum de patients atteints de maladie de Graves-Basedow ou de thyroïdite de Hashimoto [4, 20].

III/INTÉRÊT CLINIQUE DE LA RECHERCHE DES ANTICORPS ANTI-THYROÏDE

III.1. AC ANTI-RTSH

Ces anticorps sont retrouvés dans plus de 90 % des cas de maladie de Graves-Basedow, et dans seulement 10 % des thyroïdites de Hashimoto. Néanmoins l'intérêt clinique de leur dosage est limité.

En cas de maladie de Graves-Basedow typique, ils ne sont pas nécessaires au diagnostic. Ils ont en revanche un intérêt diagnostique en cas de présentation clinique atypique, notamment d'ophtalmopathie uni- ou bilatérale isolée. Dans quelques rares cas d'hypothyroïdie, ces Ac sont présents à des taux élevés : il s'agit alors d'anticorps bloquants qui doivent être caractérisés par des tests biologiques.

Les Ac anti-RTSH peuvent avoir une valeur prédictive :

- de dysthyroïdie néonatale : les anti-RTSH doivent être régulièrement mesurés chez une femme enceinte atteinte de maladie de Graves-Basedow ;
- de dysthyroïdie chez un enfant né de mère présentant une pathologie auto-immune thyroïdienne ;
- du risque de rechute de maladie de Graves-Basedow après thyroïdectomie : leur taux diminue rapidement après l'opération ; la rechute est quasi certaine en cas de réascension ;
- du risque de récurrence après traitement par antithyroïdiens de synthèse : un taux faible au début du traitement ou après 6 mois de traitement est en faveur de l'absence de récurrence ultérieure ; lorsqu'ils restent élevés à la fin du traitement médical, la rechute est quasi inéluctable et précoce [3].

III.2. AC ANTI-TPO ET ANTI-TG

Selon les techniques utilisées et les valeurs seuils adoptées, les prévalences de ces anticorps varient. Ils sont le plus souvent associés, mais les anti-TPO sont plus fréquents, apparaissent volontiers plus précocement, et leurs titres sont en général plus élevés. De plus la détection des anti-Tg peut être perturbée par la présence concomitante de Tg dans le sérum. Aussi la préférence est-elle donnée à la recherche des anti-TPO. L'Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé (ANAES) exclut les anti-Tg de ses recommandations pour le diagnostic et la surveillance biologiques de l'hyperthyroïdie et de l'hypothyroïdie de l'adulte [3]. La recherche des anti-Tg trouve son intérêt d'une part dans les rares cas de thyroïdite sans anti-TPO, d'autre part et surtout chez les patients porteurs de cancer de la thyroïde. Ils sont en effet présents chez 20 à 25 % de ces malades et leur présence rend impossible l'interprétation des dosages de Tg ; d'autre part la diminution de leur titre après chirurgie et iode radioactif est de bon pronostic alors que la persistance de taux élevés indique la présence de résidus thyroïdiens.

Les anticorps anti-TPO sont retrouvés chez presque tous les malades atteints de thyroïdite de Hashimoto ou de myxoédème primitif, et chez environ 80 % des patients atteints de maladie de Graves-Basedow. La recherche des anti-TPO est recommandée par l'ANAES comme examen de deuxième intention (après le dosage de la TSH) pour le diagnostic de l'hypothyroïdie de l'adulte [3].

Ces anticorps sont également présents chez 5 à 15 % des sujets adultes en bonne santé, sans dysthyroïdie clinique (thyroïdites auto-immunes asymptomatiques ou silencieuses).

La présence d'anti-TPO en début de grossesse a une forte valeur prédictive (50 %) d'une thyroïdite du post partum. La question du bilan thyroïdien systématique (TSH, T4 libre et anti-TPO) en début de grossesse a été posée : il semble qu'une hypothyroïdie même modérée à ce stade s'accompagne statistiquement d'un retard de développement neuropsychique de l'enfant [12].

Un certain nombre de traitements peuvent induire l'apparition d'anticorps anti-thyroïde et/ou une dysthyroïdie clinique (hypothyroïdie le plus souvent). C'est le cas de médicaments iodés comme l'amiodarone (Cordarone®), du carbonate de lithium, et de cytokines comme les interférons α et γ , l'interleukine 2 et le GM-CSF. Il semble que ces traitements révèlent le plus souvent une thyropathie auto-immune sous-jacente. Les anti-TPO et anti-RTSH doivent être recherchés avant et en cours de traitement pour dépister ces thyroïdites silencieuses.

Enfin les anticorps "anti-TGPO", qui reconnaissent à la fois la Tg et la TPO, paraissent assez fréquents chez les malades porteurs d'une thyroïdite de Hashimoto, mais ils ne semblent pas avoir de signification clinique particulière [25].

III.3. AUTRES ANTICORPS

Les anticorps anti-T3, anti-T4 et anti-TSH sont très rares (fréquence de l'ordre de 1%). En dehors de leur influence bien connue sur les résultats des dosages hormonaux, ils peuvent avoir des répercussions cliniques lors de traitements substitutifs, soit en nécessitant des doses très élevées pour normaliser le bilan, soit en entraînant des difficultés d'équilibration au cours du traitement [31].

La prévalence des Ac anti-NIS paraît faible : sans doute moins de 10 % des maladies de Graves-Basedow et des thyroïdites de Hashimoto. Leur mise en évidence ne semble pas utile pour la prise en charge de ces malades.

IMMUNOFLOUORESCENCE INDIRECTE SUR COUPE DE THYROÏDE DE SINGE FIXÉE À L'ACÉTONE

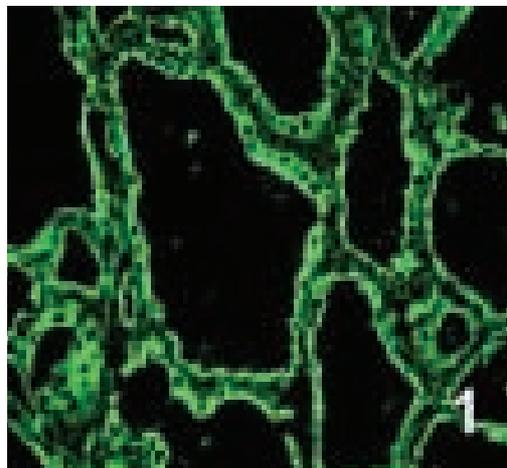


Figure 1 / Anticorps marquant le cytoplasme des cellules des follicules thyroïdiens correspondant majoritairement aux anticorps anti-TPO.

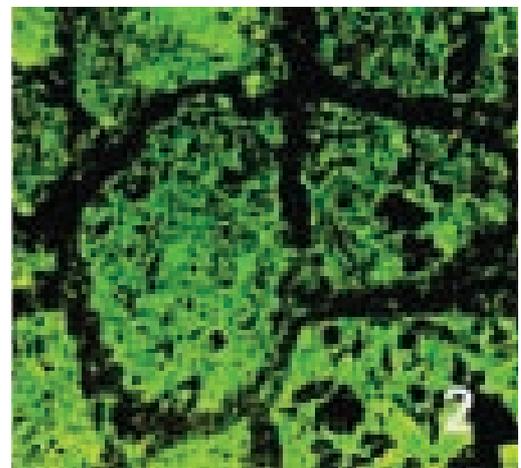


Figure 2 / Anticorps marquant la colloïde. Il s'agit d'anticorps majoritairement anti-thyroglobuline.

RÉSUMÉ

Les maladies auto-immunes de la thyroïde sont fréquentes et les anticorps antithyroïdiens font partie des auto-anticorps le plus souvent recherchés. Les anticorps dirigés contre la thyroperoxydase (TPO) ou contre le récepteur de la TSH (RTSH) ont des effets pathogènes et sont en grande partie responsables des dysthyroïdies observées.

Souvent associés aux anti-TPO mais moins fréquents, les anticorps anti-thyroglobuline (Tg) n'ont pas d'effet pathogène bien établi. Les anti-TPO sériques sont des marqueurs très sensibles de la thyroïdite de Hashimoto et du myxoédème primitif. Leur recherche a remplacé celle des anti-microsomes thyroïdiens. Les anti-RTSH sont retrouvés dans la plupart des maladies de Graves-Basedow. Leur recherche est surtout utile pour le diagnostic des formes atypiques, ou pour prédire une rechute après traitement, ou en cas de grossesse chez une basedowienne où ils signent un risque de dysthyroïdie néonatale.

Enfin la recherche des anti-Tg, nécessaire pour interpréter les dosages de Tg, est également utile pour la surveillance des cancers thyroïdiens.

Bien que des progrès aient été réalisés durant ces dernières années, en particulier par l'utilisation d'antigènes recombinants, les recherches de ces anticorps ne sont pas exemptes de difficultés et requièrent une meilleure standardisation.

Références

- [1] ADAMS DD, PURVES HD.
Abnormal responses in the assay for thyrotropin.
Proc Univ Otago Med School 1956 ; 34 : 11-2.
- [2] AGENCE FRANCAISE DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES PRODUITS DE SANTÉ
Annales du Contrôle National de Qualité, Juin 2000 ; 19 :
59-88.
- [3] AGENCE NATIONALE D'ACCREDITATION ET
D'ÉVALUATION EN SANTÉ
Recommandations pour la pratique clinique. Diagnostic et
surveillance biologiques de l'hyperthyroïdie de l'adulte.
Diagnostic et surveillance biologiques de l'hypothyroïdie
de l'adulte. Février 2000.
www.anaes.fr
- [4] AJJAN RA, FINDLAY C, METCALFE RA, et al.
The modulation of the human sodium iodide symporter
activity by Grave's disease sera.
J Clin Endocrinol Metab 1998 ; 83 : 1217-21.
- [5] AKAMIZU T, KOHN LD, HIRATANI H, SAJO M,
TAHARA K, NAKAO K.
Hashimoto's thyroiditis with heterogeneous antithyrotropin
receptor antibodies : unique epitopes may contribute to
the regulation of thyroid function by the antibodies.
J Clin Endocrinol Metab 2000 ; 85 : 2116-21.
- [6] BOUANANI M, BATAILLE R, PIECHACZYK M, SALHI SL,
PAU B, BASTIDE M.
Autoimmunity to human thyroglobulin. Respective epitopic
specificity patterns of anti-human thyroglobulin
autoantibodies in patients with Sjögren's syndrome
and patients with Hashimoto's thyroiditis.
Arthritis Rheum 1991 ; 34 : 1585-93.
- [7] COSTAGLIOLA S, MORGANTHALER NG,
HOERMANN R, et al.
Second generation assay for thyrotropin receptor antibodies
has superior diagnostic sensitivity for Graves' disease.
J Clin Endocrinol Metab 1999 ; 84 : 90-7.
- [8] CZARNOCKA B, RUF J, FERRAND M, CARAYON P,
LISSITZKY S.
Purification of the human thyroid peroxidase and its
identification as the microsomal antigen involved
in autoimmune thyroid disease.
FEBS Lett 1985 ; 190 : 147-52.
- [9] DESPRES N, GRANT AM.
Antibody interference in thyroid assays: a potential for
clinical misinformation.
Clin Chem 1998 ; 44 : 440-54.
- [10] DONIACH D, ROITZ IM, CAMPBELL PN, HUDSON RV.
Auto-antibodies in Hashimoto's disease.
Lancet 1956 ; ii : 820-1.
- [11] FELDT-RASMUSSEN U.
Analytical and clinical performance goals for testing
autoantibodies to thyroperoxidase, thyroglobulin and
thyrotropin receptor.
Clin Chem 1996 ; 42 : 160-3.
- [12] HADDOW JE, PALOMAKI GE, ALLAN WC, et al.
Maternal thyroid deficiency during pregnancy and
subsequent neuropsychological development of the child.
N Engl J Med 1999 ; 341 : 549-55.
- [13] HENRY M, MALTHIERY Y, ZANELLI E, CHARVET B.
Epitope mapping of human thyroglobulin.
Heterogeneous recognition by thyroid pathologic sera.
J Immunol 1990 ; 145 : 3692-8.
- [14] IZEMBART M.
Réflexions sur les problèmes posés par le dosage
des autoanticorps thyroïdiens.
Immunoanal Biol Spéc 2001 ; 16 : 350-2.
- [15] MANLEY SW, BOURKE JR, HAWKER RW.
The thyrotropin receptor in guinea pig thyroid homogenate:
interaction with the long-acting thyroid stimulator.
J Endocrinol 1974 ; 61 : 437-45.
- [16] Mc KENZIE JM.
Delayed thyroid response to serum from thyrotoxic patients.
Endocrinology 1958 ; 62 : 865-8.
- [17] McLACHLAN SM, RAPOPORT B.
The molecular biology of thyroid peroxidase : cloning,
expression and role as autoantigen in autoimmune thyroid
disease.
Endocr Rev 1992 ; 13 : 192-206.
- [18] MISRAHI M, COUET J, MILGROM E.
Mécanismes de relargage d'une forme soluble du récepteur
de la TSH.
Ann Endocrinol 1997 ; 58 : 365-9.
- [19] MISRAHI M, LOOSFELT H, ATGER M, SAR S,
GUIOCHON-MANTEL A, MILGROM E.
Cloning, sequencing and expression of human TSH receptor.
Biochem Biophys Res Commun 1990 ; 166 : 394-403.
- [20] MORRIS JC, BERGERT ER, BRYANT WP.
Binding of immunoglobulin G from patients with autoimmune
thyroid disease to rat sodium-iodide symporter peptides:
evidence for the iodide transporter as an autoantigen.
Thyroid 1997 ; 4 : 527-34.
- [21] NAGAYAMA Y, WADSWORTH HL, RUSSO D,
CHAZENBALK GD, RAPOPORT B.
Binding domains of stimulatory and inhibitory thyrotropin
(TSH) receptor autoantibodies determined with chimeric
TSH-lutropin/chorionic gonadotropin receptors.
J Clin Invest 1991 ; 88 : 336-40.
- [22] PEOC'H K, DUBEL L, CHAZOULLÈRES O,
OCWIEJA T, DURON F, POUPON R, JOHANET C.
Polyspecificity of antimicrosomal thyroid antibodies
in hepatitis C virus-related infection.
Am J Gastroenterol 2001 ; 96 : 2978-83.
- [23] PIECHACZYK M, BOUANANI M, BASTIDE M,
BASTIDE JM, PAU B.
Cartographie antigénique de la thyroglobuline humaine.
Intérêt dans la compréhension des mécanismes auto-immunes.
Immunoanal Biol Spéc 1990 ; 21 : 29-32.

- [24] RASPE E, COSTAGLIOLA S, RUF J, MARIOTTI S, DUMONT JE, LUDGATE M.
Identification of the Na⁺/I⁻ cotransporter as a potential autoantigen in thyroid autoimmune disease.
Eur J Endocrinol 1995; 132 : 399-405.
- [25] RUF J, FELDT-RASMUSSEN U, HEGEDÛS L, FERRAND M, CARAYON P.
Bispecific thyroglobulin and thyroperoxydase autoantibodies in patients with various thyroid and autoimmune diseases.
J Clin Endocrinol Metab 1994; 79 : 1404-8.
- [26] SMITH BR, DORRINGTON KJ, MUNRO DS.
The thyroid-stimulating properties of long-acting thyroid stimulator gamma G-globulin subunits.
Biochim Biophys Acta 1969; 192 : 277-85.
- [27] SMITH BR, MUNRO DS, DORRINGTON KJ.
The distribution of the long-acting thyroid stimulator among gamma G-immunoglobulins.
Biochim Biophys Acta 1969; 188 : 89-100.
- [28] SOUTHGATE K, CREAGH F, TEECE M, KINGSWOOD C, REES SMITH B.
A receptor assay for the measurement of TSH receptor antibodies in unextracted serum.
Clin Endocrinol (Oxf) 1984; 20 : 539-48.
- [29] TOMER Y.
Anti-thyroglobulin autoantibodies in autoimmune diseases: cross-reactive or pathogenic?
Clin Immunol Immunopathol 1997; 82 : 3-11.
- [30] TONACCHERA M, CETANI F, COSTAGLIOLA S, et al.
Mapping thyroid peroxidase epitopes using recombinant protein fragments.
Eur J Endocrinol 1995; 132 : 53-61.
- [31] VALOGNES A, IZEMBART M.
Fréquence des anticorps anti-T3 et anti-T4. Intérêt de leur dépistage.
Presse Méd 1992; 21 : 217.
- [32] WEETMAN AP.
Determinants of autoimmune thyroid disease.
Nature Immunology 2001; 2 : 769-70.
- [33] YOSHIDA S, TAKAMATSU J, KUMA K, OHSAWA N.
Thyroid-stimulating antibodies and thyroid stimulation-blocking antibodies during the pregnancy and postpartum period: a case report.
Thyroid 1992; 2 : 27-30.

Les autoanticorps anticortico-surrénale dans la maladie d'Addison auto-immune

N. FABIEN, J.-C. MONIER,

Centre Hospitalier Lyon Sud, Unité fonctionnelle "Auto-immunité", Laboratoire d'Immunologie, 69495 Pierre-Bénite Cedex

La maladie d'Addison est la conséquence d'une destruction progressive du cortex surrénalien, avec déficit en hormones adrénocorticales, due à la destruction des cellules productrices de ces hormones. Cette affection est soit secondaire à une tuberculose, à une infection par le HIV, soit primitive. Ce dernier cas correspond à la majorité des maladies d'Addison dites "idiopathiques" dont l'origine est en fait auto-immune. En effet, des autoanticorps (aAc) dirigés contre les glandes corticosurrénales ont été découverts dès 1957 chez la majorité des sujets atteints de maladie d'Addison [1, 2].

Il est ensuite apparu que la présence de ces auto-Ac avait une très bonne valeur diagnostique pour différencier les maladies d'Addison auto-immunes des insuffisances cortico-surrénales tuberculeuses [3].

Cette maladie auto-immune rare (30 à 60 personnes /million d'habitants) est plus fréquente dans la quatrième décennie de vie avec une prépondérance chez la femme [4].

Ces formes auto-immunes peuvent être isolées ou associées à des endocrinopathies comme l'insuffisance gonadique ou d'autres endocrinopathies décrites dans les syndromes de "polyendocrinopathies auto-immunes" de type I ou II (PEA I ou PEA II) (cf. article du Pr Humbel). Dans ces cas d'association, les cibles des aAc peuvent aussi être localisées dans des cellules productrices d'hormones stéroïdes situées dans des tissus autres que les corticosurrénales tels que les ovaires, les testicules et le placenta [2, 3, 5 à 10].

A. NATURE ET LOCALISATION DES ANTIGÈNES CIBLES

Les surrénales sont des glandes endocrines formées de deux parties, la cortico-surrénale et la médullo-surrénale. Le cortex surrénalien est divisé en trois zones : la zone glomérulée, la zone fasciculée et la zone réticulée. La zone glomérulée sécrète les hormones minéralo-corticoïdes, essentiellement l'aldostérone. La zone fasciculée, la plus épaisse des trois couches, produit des hormones glucocorticoïdes, essentiellement le cortisol et de petites quantités d'androgène. La zone réticulée, la couche la plus mince, est le siège de la sécrétion de petites quantités d'androgène et de glucocorticoïdes.

Avec les techniques d'immunofluorescence indirecte, on constate que les aAc de la maladie d'Addison se fixent sur les trois zones de la corticosurrénale avec souvent une prédominance au niveau de la zone glomérulée (Figure 1) [11, 12].

L'antigène, cible majoritaire, a un poids moléculaire apparent de 54 kDa sur immunotransfert réalisé avec une fraction microsomiale surrénalienne. Cette protéine de 496 acides aminés a été identifiée au cytochrome P450 21-hydroxylase (P450c21). La 21-hydroxylase est présente dans le cortex surrénalien, principalement dans la zone glomérulée, et absente des ovaires, des testicules et du placenta [9, 12, 13]. C'est une enzyme intracellulaire située dans le réticulum endoplasmique, dont l'activité dépend de la NADPH et d'une flavoprotéine, la réductase P450. Elle transforme la 17-hydroxyprogestérone en 11-désoxycortisol dans la voie de synthèse des glucocorti-

coïdes et transforme la progestérone en 11-désoxycortisol dans la voie des minéralo-corticoïdes. Deux gènes de la 21-hydroxylase ont été localisés sur le chromosome 6 dans la région de la classe III du complexe HLA [14]. Bien qu'une activité 21-hydroxylase ait été mise en évidence en dehors de la surrénale, l'absence d'ARNm de cette enzyme dans le testicule humain, les ovaires ou le placenta, suggère que l'activité 21-hydroxylase est assurée, dans ces tissus, par d'autres systèmes d'hydroxylation [15].

Les aAc anti-21-hydroxylase réagissent avec un épitope conformationnel en majorité formé par la partie centrale et la partie C terminale de la 21-hydroxylase [16, 17].

D'autres cibles au sein de la cortico-surrénale ont été découvertes, correspondant à différentes enzymes des voies de la biosynthèse stéroïdienne passant par les cytochromes P450. Cette biosynthèse fait intervenir la 17 α -hydroxylase (P450c17), l'enzyme de clivage de la chaîne latérale du cholestérol (20, 22-desmolase ou P450 Scc) et la 11 β -hydroxylase. Les PM de ces enzymes sont de 57 kDa pour la 17 α -hydroxylase [18, 19], 54 kDa pour l'enzyme de section de la chaîne latérale [20], 51 et 49 kDa pour les deux isoenzymes de la 11 β -hydroxylase [21]. En terme de localisation, la 17 α -hydroxylase est située dans les zones fasciculées et réticulées de la cortico-surrénale et dans les gonades ; la P450 scc est présente dans toutes les zones des cortico-surrénales, dans les gonades et le placenta.

La 21-hydroxylase et la 17 α -hydroxylase sont des cytochromes avec 30 % d'homologie, surtout au voisinage du site de liaison résumé aux stéroïdes, près de l'acide aminé 350 [22].

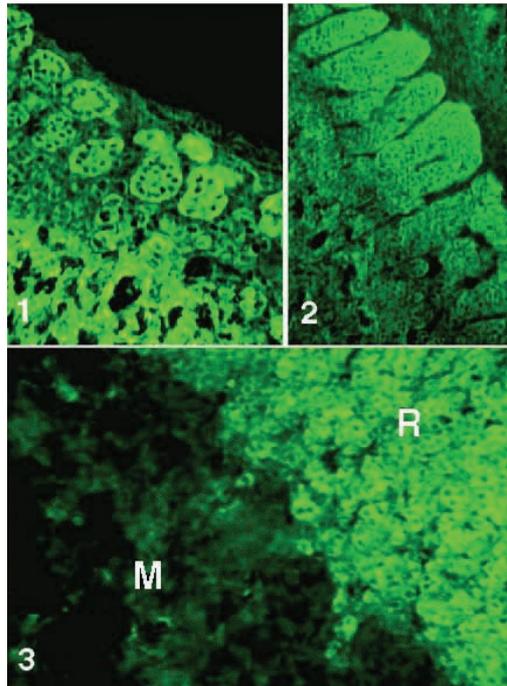


Figure 1 / Coupe de surrénale de singe.
1. AutoAc fixés sur glomérulée et fasciculée.
2. AutoAc marquant surtout la glomérulée.
3. Ac fixés sur la réticulée (R) à la jonction médullaire.

Un autre antigène, de 51 kDa, découvert dans les îlots de Langerhans, les cellules granuleuses de l'ovaire et dans le placenta est une cible d'aAc présents dans les PEA de type I [23].

B. MÉTHODES DE DÉTECTION

► Immunofluorescence indirecte

Les aAc anti-corticossurrénale se recherchent essentiellement par immunofluorescence indirecte sur coupes en congélation non fixées de surrénale de primate. La dilution initiale du sérum est de 1:4.

Dans la maladie d'Addison, les aAc se fixent sur les trois zones avec une prédominance sur la zone glomérulée du fait de la localisation prédominante de la 21-hydroxylase dans cette région.

En présence d'Ac anti-17-hydroxylase et anti-20, 22-desmolase (P450scc) les cellules de Leydig de testicule humain, les cellules de la thèque interne ovarienne et les

cellules du syncytiotrophoblaste du placenta sont marquées de façon intense (Figure 2) [24]. Les Ac anti-17 α -hydroxylase ne se localisent pas sur la zone glomérulée alors que les anti-P450 Scc la marquent (Tableau 1).

Des aAc ne se localisant que sur la zone glomérulée ont été rapportés dans un état d'hypoaldostéronisme primaire. La cible de ces Ac pourrait être la 18-hydroxylase, enzyme nécessaire à la synthèse de l'aldostérone (25).

► Autres techniques

En utilisant un extrait de fraction de microsomes de surrénale humaine ou des antigènes recombinants, les trois enzymes ayant été clonées, des techniques d'immuno-transfert, de radio-immunoprécipitation et ELISA ont été mises au point [14, 26, 27].

Les méthodes les plus sensibles semblent être la radio-immunoprécipitation et la technique immuno-enzymatique de type ELISA [28, 29]. Seuls les Ac anti-21-hydroxylase peuvent être recherchés en routine grâce à une technique commercialisée (Cis Bio International).

La question d'un test de dépistage recherchant les aAc anti-21-hydroxylase en RIA peut être posée. Cependant, dans quelques cas, le test de dépistage par immunofluorescence indirecte est positif et le test RIA négatif [30].

C. PATHOLOGIES ASSOCIÉES ET POUVOIR PATHOGÈNE

► Sensibilité (Tableau 2)

Par immunofluorescence indirecte les aAc anti-corticossurrénales sont présents dans environ 80 % des maladies d'Addison idiopathiques isolées [30-33].

Concernant les aAc anti-21-hydroxylase détectés par RIA ou immuno-transfert, 64 % à 86 % des maladies d'Addison isolées sont positives [30, 31, 34]. La sensibilité chez les patients atteints de PEA de type I avec ou sans maladie d'Addison est respectivement de 85 et 39 %.

Les aAc anti-17 α -hydroxylase, les aAc anti-20, 22-desmolase ou P450 scc sont retrouvés dans 5 % des maladies d'Addison isolées [30, 31], alors que les aAc anti-3 β -hydroxystéroïde deshydrogénase (3 β HSD) n'ont pas été détectés [35].

100 % des patientes avec aménorrhée primaire et une maladie d'Addison ont des aAc anti-cellules synthétisant des stéroïdes. Ce chiffre est plus faible (60 %) chez des patientes avec aménorrhée secondaire et maladie d'Addison [36].

Tableau 1 / Marquage des tissus par les aAc anti-corticossurrénales

AUTOANTICORPS	ANTI-CORTICOSURRENALES			Ovaire (thèque)	Testicule (cellule de Leydig)
	G	F	R		
P450 c21: 21OH	++	+	+	-	-
P450 c17: 17OH	-	+	+	+	+
P450 scc	+	+	+	++	++

G: zone glomérulée. F: zone fasciculée. R: zone réticulée.

Tableau 2 / Prévalence (en %) des aAc anti-cellules stéroïdes (ACTS) dans les maladies d'Addison isolées ou associées à des polyendocrinopathies

	21-OH	17 α -OH	P450 Scc
Addison	64-91	5	9
PEAI	64-92	55	45
- avec Addison	85		
- sans Addison	39		
PEAII	85-96	33	36

[Références 26, 29, 32]

► Spécificité

Moins de 2 % des sujets normaux et moins de 10 % des sujets souffrant d'une maladie d'Addison d'origine tuberculeuse ou d'une adrénoleucodystrophie présentent des aAc anti-corticosurrénales [26, 29].

Il existe une faible prévalence des aAc anti-21-hydroxylase au cours des maladies auto-immunes sans atteinte surrénale, notamment dans les thyroïdites auto-immunes (2 %), l'hypoparathyroïdite chronique idiopathique (10 %) et dans les gastrites atrophiques (3 %). Leur absence est signalée dans le lupus érythémateux disséminé, la myasthénie, la polyarthrite rhumatoïde [14, 26].

Dans le DID, Brewer et col. [37] observent 11 sérums positifs en aAc anti-21-hydroxylase sur une population de 629 patients. Parmi ces 11 patients, 3 avaient une insuffisance surrénale patente, 5 n'avaient aucun dysfonctionnement surrénal et 3 n'ont pas été explorés.

Dans les PEA de type I, sans maladie d'Addison on peut retrouver des Ac anti-P450 c17, anti-P450 Scc et anti-3 β -HSD spécifiques des cellules stéroïdes ainsi que des Ac anti-P450 c21.

► Valeur pronostique et prédictive

Le taux des aAc anti-21-hydroxylase est corrélé avec le degré d'insuffisance cortico-surrénalienne [38]. Ce taux diminue progressivement dans le temps avec disparition des aAc après destruction totale du cortex surrénalien [29].

La découverte de ces aAc sans insuffisance surrénale a permis de suivre certains patients et a permis de démontrer qu'ils pouvaient correspondre à un marqueur précoce et spécifique d'une atteinte surrénale latente [39]. Ce caractère prédictif est encore plus élevé chez l'enfant que chez l'adulte [40]. Chez les femmes, également atteintes d'une maladie d'Addison et positives pour ces aAc anti-cortico-surrénales, un déficit ovarien peut se développer dans environ 40 % des cas, 10 à 15 ans après la découverte des aAc.

► Pouvoir pathogène des autoanticorps

Le rôle pathogène des lymphocytes T dans la maladie d'Addison est bien démontré, celui des lymphocytes B via les aAc est encore mal connu.

Les sérums de patients avec maladie d'Addison et PEA de type I, positifs pour des aAc anti-corticosurrénale et anti-cellules stéroïdiennes hors cortico-surrénales, sont cytotoxiques pour les cellules de la granulosa en culture en présence de complément [41].

Il a été également démontré que certains aAc pouvaient inhiber l'activité de la 21-hydroxylase au niveau de la conversion de la progestérone en dioxyprogesterone [42], de même pour les aAc anti-17-hydroxylase et P450 Scc qui peuvent inhiber l'activité enzymatique dans les cellules gonadiques [43]. Cependant l'accessibilité des aAc aux enzymes intracytoplasmiques dans les cellules vivantes n'a pas été encore démontré.

CONCLUSION

Les aAc anti-corticosurrénale ont une très bonne valeur diagnostique avec notamment les aAc anti-21-hydroxylase pour les maladies d'Addison auto-immunes. Leur valeur prédictive semble être également très élevée pour la maladie d'Addison chez des sujets à risque comme les DID et les polyendocrinopathies. Une étude est actuellement en cours pour préciser l'intérêt de doser ces aAc chez tout patient présentant deux maladies auto-immunes associées.

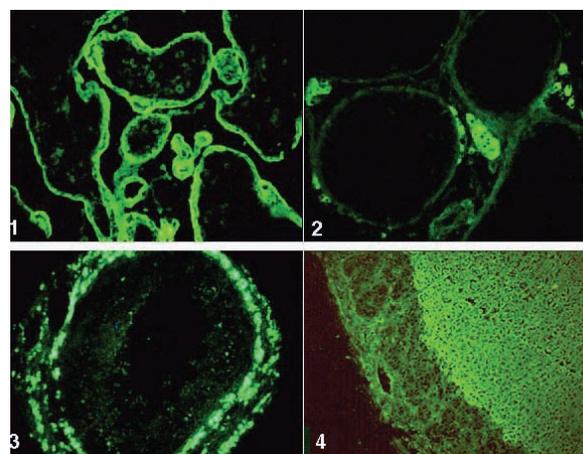


Figure 2 / Coupe de surrénale de singe.

1. Syncytiotrophoblaste.
2. Cellules de Leydig du testicule.
3. Thèque de l'ovaire.
4. Corticosurrénale dont la glomérulée est négative et la fasciculée marquée.

Références

- [1] ANDERSON JR, GOUDIE RB, GRAY KG, TIMBURY GC. Autoantibodies in Addison's disease. *Lancet* 1957; i: 1123-4.
- [2] BLIZZARD RM, KYLE M. Studies of the adrenal antigens and antibodies in Addison's disease. *J Clin Invest* 1963; 42: 1653-60.
- [3] KAMP P, PLATZ P, NERUP J. "Steroid-cell" antibody in endocrine diseases. *Acta Endocrinol* 1974; 76: 729-740.
- [4] DE BELLIS A, BIZZARRO A, FIORELISI F, MUCCITELLI VI, SINISI AA, DI MARTINO PERRRINO S, BELLASTELLA A. Autoimmune Addison's disease. Current Knowledge and prospective. *Minerva endocrinol* 1996; 21: 1-6.
- [5] GOUDIE RB, ANDERSON JR, GRAY KG, WHYTE WG. Autoantibodies in Addison's disease. *Lancet* 1966; i: 1173-76.
- [6] GOUDIE RB, MCDONALD E, ANDERSON JR, GRAY KG. Immunological features of idiopathic Addison's disease: characterization of the adrenocortical antigens. *Clin Exp Immunol* 1968; 3:119-31.
- [7] ANDERSON JR, GOUDIE RB, GRAY K, STUART-SMITH DA. Immunological features of idiopathic Addison's disease: an antibody to cells producing steroid hormones. *Clin Exp Immunol* 1968; 3:107-17.
- [8] SOTSIOU F, BOTTAZZO GF, DONIACH D. Immunofluorescence studies on autoantibodies to steroid-producing cells, and to germline cells in endocrine disease and infertility. *Clin Exp Immunol* 1980; 39: 97-111.
- [9] FURMANIAK J, TALBOT D, REINWEIN D, BENKER G, CREAGH FM, SMITH BR. Immunoprecipitation of human adrenal microsomal antigen. *FEBS Lett* 1988; 231: 25-28.
- [10] MUIR A, MAC LAREN NF. Autoimmune diseases of the adrenal glands, parathyroid glands, gonads and hypothalamic-pituitary axis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1991; 20: 619-645.
- [11] BRIGHT GM, SINGH I. Adrenal autoantibodies bind to adrenal subcellular fractions enriched in cytochrome c reductase and 5'nucleotidase. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 95-99.
- [12] WINQVIST O, KARLSSON FA, KÄMPE O. 21-Hydroxylase, a major autoantigen in idiopathic Addison's disease. *Lancet* 1992; 339: 1559-62.
- [13] BEDNAREK J, FURMANIAK J, WEDLOCK N, et al. Steroid 21-hydroxylase is a major autoantigen involved in adult onset autoimmune Addison's disease. *FEBS Lett* 1992; 309: 51-5.
- [14] COLL J, BETTERLE C, VOLPATO M, PRENTICE L, REES-SMITH B, FURMANIAK J. Immunoprecipitation assay for antibodies to 21-hydroxylase in autoimmune adrenal diseases. *Clin Chem* 1995; 41: 375-80.
- [15] VOUTILAINEN R, MILLER WL. Developmental expression of genes for the steroidogenic enzymes P450 scc (20, 22-desmolase), P450c17 (17-hydroxylase/17, 20-lyase) and P450c21 (21-hydroxylase) in human foetus. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63: 1145-50.
- [16] WEDLOCK N, ASAWA T, BAUMANN-ANTCZAK A, REES SMITH B, FURMANIAK J. Autoimmune Addison's disease : analysis of autoantibody binding sites on human steroid 21-hydroxylase. *FEBS Lett* 1993; 332: 123-126.
- [17] VOLPATO M, PRENTICE L, CHEN S, BETTERLE C, REES SMITH B, FURMANIAK JA. Study of the epitopes on steroid 21-hydroxylase recognized by autoantibodies in patients with or without Addison's disease. *Clin Exp Immunol* 1998; 111: 422-428.
- [18] ZUBERT MX, JOHN ME, OKAMURA T, SIMPSON ER, WATERMAN MR. Bovine adrenocortical cytochrome P450 17-hydroxylase. *J Biol Chem* 1986; 261: 2475-82.
- [19] KROHN K, UIBO R, AAVIK E, PETERSON P, SAVILAHTI K. Identification by molecular cloning of an autoantigen associated with Addison's disease as steroid 17 α -hydroxylase. *Lancet* 1992; 339: 770-73.
- [20] MOROHASHI K, FUJII-KURIYRINA Y, OKADA Y, et al. Molecular cloning and nucleotide sequence of cDNA for mRNA of mitochondrial cytochrome P-450 (scc) of bovine adrenal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 4647-51.
- [21] MULLER J, SCHMID C, BÖNI-SCHNETZLER M, LAUBER M. Two forms of cytochrome P450 11 β in rat zona glomerulosa cells: a short review. *Endocr Res* 1991; 17: 165-84.
- [22] PICARDO-LEONARD J, MILLER WL. Cloning and sequence of the human gene for P450c17 (steroid 17 α -hydroxylase / 17, 20-lyase): similarity with the gene for P450c21. *DNA* 1987; 6: 439-48.
- [23] VELLOSO LA, WINQVIST O, GUSTAFSSON J, KÄMPE O, KARLSSON FA. Autoantibodies against a novel 51 kDa islet antigen and glutamate decarboxylase isoforms in autoimmune polyendocrine syndrome type I. *Diabetologia* 1994; 37: 61-69.
- [24] UIBO R, AAVIK E, et al. Autoantibodies to cytochrome P450 enzymes P450 Scc, P450c17, and P450c21 in autoimmune polyglandular disease types I and II and in isolated Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78: 323-8.

- [25] HUMBEL RL. Autoanticorps et maladies auto-immunes, endocrinopathies auto-immunes 1997 Elsevier, collection Option Bio, p. 197-206.
- [26] TANAKA H, PEREZ MS, POWELL M, et al. Steroid 21-hydroxylase autoantibodies: measurements with a new immunoprecipitation assay. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 ; 82 : 1440-6.
- [27] PETERSON P, UIBO R, PERANEN J, KROHN K. Immunoprecipitation of steroidogenic enzyme autoantigens with autoimmune polyglandular syndrome type I (APS I) sera; further evidence for independent humoral immunity to P450c17 and P450c21. *Clin Exp Immunol* 1997 ; 107 : 335-340.
- [28] FALORNI A, NIKOSHKOV A, LAURETI S, et al. High diagnostic accuracy for idiopathic Addison's disease with a sensitive radiobinding assay for autoantibodies against recombinant human 21-hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab* 1995 ; 80 : 2752-5.
- [29] LAURETI S, AUBOURG P, CALCINARO F et al. Etiological diagnosis of primary adrenal insufficiency using an original flowchart of immune and biochemical markers. *J Clin Endocrinol Metab* 1998 ; 83 : 3163-8.
- [30] SODERBERGH A, WINQWIST O, NORHEIM I, RORSMAN F, HUSEBYE ES, DOLVA O, KARLSSON FA, KAMPE O. Adrenal autoantibodies and organ-specific autoimmunity in patients with Addison's disease. *Clin Endocrinol* 1996 ; 54 : 453-60.
- [31] CHEN S, SAWICKA J, BETTERLE C, POWELL M, PRENTICE L, VOLPATO M, REES SMITH B, FURMANIAK J. Autoantibodies to steroidogenic enzymes in autoimmune polyglandular syndrome, Addison's disease, and premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 ; 81 : 1871-1876.
- [32] DEGROS V, PONS L, GHULAM A, RACADOT A. 21-hydroxylase autoantibodies as a marker of adrenal involvement in patients with autoimmune endocrinopathy. *Ann Biol Clin* 1999 ; 57 : 705-9.
- [33] SEISSLER J, SCHOTT M, STEINBRENNER H, PETERSON P, SCHERBAUM WA. Autoantibodies to adrenal cytochrome P450 antigens in isolated Addison's disease and autoimmune polyendocrine syndrome type II. *Exp Clin Endocrinol. Diabetes* 1999 ; 107 : 208-213.
- [34] FALORNI A, LAURETI S, NIKOSHKOV A et al. 21-Hydroxylase autoantibodies in adult patients with endocrine autoimmune diseases are highly specific for Addison's disease. Belgian diabetes registry. *Clin Exp Immunol* 1997 ; 107 : 341-6.
- [35] ARIF S, VALLIAN S, FARZANEH F, ZANONE MM, JAMES SL, PIETROPAOLO M, HETTIARACHCHI S, VERGANI D, CONWAY GS, PEAKMAN M. Identification of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase as a novel target of steroid cell autoantibodies : association of autoantibodies with endocrine autoimmune disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 ; 81 : 4439-4445.
- [36] BETTERLE C, ROSSI A, DALLA PRIAT S, ARTIFONI A, PEDINI B, GAVASSO S, CARETTO A. Premature ovarian failure: autoimmunity and natural history. *Clin Endocrinol* 1993 ; 39 : 35-43.
- [37] BREWER KW, PARZIALE VS, EISENBARTH GS. Screening patients with insulin-dependant diabetes mellitus for adrenal insufficiency. *N Engl J Med* 1997 ; 337 : 202.
- [38] LAURETI S, DE BELLIS A, MUCCITELLI VI, CALCINARO F, BIZZARRO A, ROSSI R, BELLASTELLA A, SANTEUSANIO F, FALORNI A. Levels of adrenocortical autoantibodies correlate with the degree of adrenal dysfunction in subjects with preclinical Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1998 ; 83 : 3507-3511.
- [39] BETTERLE C, VOLPATO M, REES SMITH B et al. I. Adrenal cortex and steroid 21-hydroxylase autoantibodies in adult patients with organ-specific autoimmune diseases: markers of low progression to clinical Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 ; 82 : 932-8.
- [40] BETTERLE C, VOLPATO M, REES SMITH B et al. II. Adrenal cortex and steroid 21-hydroxylase autoantibodies in children with organ-specific autoimmune diseases: markers of high progression to clinical Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 ; 82 : 939-42.
- [41] MC NATTY KP, SHORT RV, BARNES EW, IRVINE WJ. Inherited susceptibility to autoimmune Addison's disease is linked to human leukocyte antigens - DR3 and/or DR4, except when associated with type I autoimmune ovarian failure on human granulosa cells in culture. *Clin Exp Immunol* 1975 ; 22 : 378-384.
- [42] FURMANIAK J, KOMINAMI S, ASAWA T, WEDLOCK N, COLLS J, REES SMITH B. Autoimmune Addison's disease : evidence for a role of steroid 21-hydroxylase autoantibodies in adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1994 ; 79 : 1517-1521.
- [43] WINQWIST O, GUSTAFSSON J, RORSMAN F, KARSLON FA, KÄMPE O. Two different cytochrome P450 enzymes are the adrenal antigens in autoimmune polyendocrine syndrome type I and Addison's disease. *J Clin Invest* 1993 ; 92 : 2377-2385.

Les autoanticorps anti-parathyroïde

N. Fabien, J.-C. Monier, Centre Hospitalier Lyon Sud, Unité fonctionnelle "Auto-immunité",
Laboratoire d'Immunologie, 69495 Pierre-Bénite Cedex

Des autoanticorps (aAc) dirigés contre le tissu parathyroïdien ont été décrits chez des patients atteints d'hypoparathyroïdie isolée ou associée à d'autres manifestations endocrines auto-immunes au cours des syndromes polyendocrininiens de type I (PEA de type I) (cf. article du Pr Humbel) [1 à 4]. Une des cibles antigéniques reconnues par ces aAc antiparathyroïdiens est le récepteur sensible au calcium ou calcium sensing receptor (CaSR) [5, 6].

A. NATURE DES CIBLES RECONNUES PAR LES AUTOANTICORPS ANTI-PARATHYROÏDE

Les glandes parathyroïdes sont des glandes endocrines en rapport anatomique étroit avec la thyroïde. Elles régulent les taux sériques de calcium et de phosphate grâce à l'hormone parathyroïdienne (parathormone ou PTH). La sécrétion de la parathormone, qui est le régulateur le plus puissant de la calcémie, est stimulée par l'abaissement de cette dernière. La glande parathyroïde contient deux types de cellules sécrétoires : les cellules principales nombreuses qui produisent la parathormone, et les

cellules oxyphiles, de plus grande taille mais moins nombreuses, associées en amas.

Les aAc antiparathyroïdiens reconnaissent des cibles dans le cytoplasme des cellules principales, non encore identifiées, mais aussi sur la membrane plasmique. Grâce à une technique d'immunotransfert utilisant des extraits membranaires de parathyroïde humaine, une des cibles membranaires a été identifiée au récepteur senseur du calcium ou récepteur sensible au calcium (CaSR). Ce récepteur, de PM de 120 à 140 kDa, appartient à la famille des récepteurs composés de sept domaines trans-membranaires couplés à des protéines G. Son gène a été caractérisé et

COUPE DE PARATHYROÏDE DE PRIMATE

(Flèches rouges : cellules oxyphiles – Flèches bleues : cellules principales)

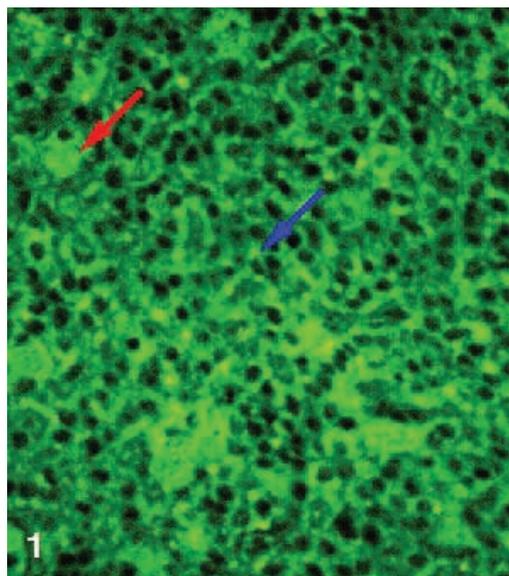


Figure 1 / Autoanticorps antimitochondriens

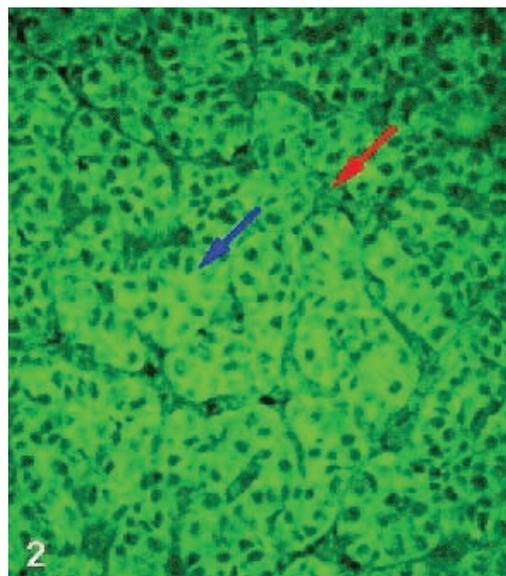


Figure 2 / Autoanticorps anti-parathyroïde

cloné [5]. Les épitopes reconnus par les aAc sont exclusivement localisés sur le domaine extracellulaire du récepteur [6].

Des aAc anti-hormone parathyroïdienne (aAc antiPTH) ont également été décrits [7, 8].

B. MÉTHODES DE DÉTECTION

► *Autoanticorps anti-parathyroïde*

L'immunofluorescence indirecte, sur coupes au cryostat de parathyroïde de primate, commercialisées par différents fournisseurs, ou d'adénome parathyroïdien humain, est utilisée pour la détection de ces aAc. La difficulté est d'obtenir du tissu correct et non de la thyroïde sans parathyroïde.

Un marquage des cellules principales de la parathyroïde est observé alors que les cellules oxyphiles sont négatives (*Figure 2*). La présence d'aAc anti-mitochondries et d'aAc anti-ribosomes est recherchée sur estomac/rein de rat pour éviter une interprétation faussement positive en aAc antiparathyroïdiens (*Figure 1*).

► *Récepteur sensible au calcium ou calcium sensing receptor (CaSR)*

Différentes techniques peuvent être utilisées :

Une technique d'immunotransfert utilisant des extraits membranaires de parathyroïde humaine a permis de montrer que les aAc réagissent avec un antigène de 120 à 140 kDa. Avec cette méthode 20 % (5/25), des patients atteints d'hypoparathyroïdisme acquis sont retrouvés positifs.

En remplaçant les extraits précédents par des extraits membranaires de cellules HEK-293 transfectées avec un ADNc codant pour le récepteur du calcium senseur, l'immunotransfert révèle un pourcentage de sérums positifs plus élevé, soit 32 % (8/25). La meilleure sensibilité de cette technique serait due à la quantité de récepteurs obtenue plus importante par rapport aux extraits membranaires humains [6].

Enfin, une technique de traduction *in vitro*, à partir de l'ADNc du récepteur du calcium senseur faisant appel à un lysat de réticulocytes marqué à la méthionine, a été également utilisée pour obtenir l'antigène. Une réaction d'immunoprécipitation par la protéine A du récepteur ayant fixé les aAc du sérum des malades est employée. L'addition de microsomes pancréatiques peut être utilisée pour obtenir les formes glycosylées du récepteur. Cependant la traduction de l'ADNc codant pour le domaine extracellulaire (1-613) montre que les sérums réagissent surtout avec les formes non glycosylées de 60 kDa du domaine extracellulaire. Avec cette technique, 56 % (14/25) des patients atteints d'hypoparathyroïdisme acquis sont positifs [6].

C. PATHOLOGIES ASSOCIÉES ET POUVOIR PATHOGÈNE

L'hypoparathyroïdisme est caractérisé par une diminution du taux de PTH et apparaît plutôt chez les enfants jeunes et les femmes. Des signes neuromusculaires et des

signes d'hypocalcémie avec tétanies sont observés, avec hyperphosphatémie.

L'hypoparathyroïdie se manifeste chez 80 % des patients atteints de PEA de type I, pour la plupart des enfants et adolescents [2]. Les patients atteints de PEA de type II sont en général exempts d'hypoparathyroïdie [2, 3].

En 1966, les premiers travaux montrent un fort pourcentage de positivité en autoanticorps antiparathyroïdiens chez des patients atteints d'hypoparathyroïdisme (28/74, soit 38 %) en comparaison de 6 % chez les sujets contrôles [4]. Toutefois il semble que ce fort pourcentage était en fait dû à une interprétation faussement positive en raison de la présence simultanée d'aAc anti-mitochondries [9].

Une étude plus récente, sur 25 patients avec hypoparathyroïdie acquise, a montré que 20 à 56 % des patients possèdent des autoanticorps dirigés contre le domaine extracellulaire du CaSR. Les différents pourcentages observés dépendent de la technique de détection utilisée (cf. chapitre B). Sur ces 25 patients : 17 présentaient un PEA de type I et 8 un hypoparathyroïdisme auto-immun isolé. Les contrôles comprenant 50 patients atteints d'autres maladies auto-immunes et 22 sujets sains se sont révélés négatifs [6].

Nous avons étudié la prévalence des aAc anti-parathyroïde dans une population de 70 patients présentant une hypoparathyroïdie isolée ou associée à un PEA de type I ou de type II. Les aAc antiparathyroïdiens ont été recherchés par immunofluorescence indirecte sur parathyroïde de primate et sur adénome parathyroïdien humain, les aAc anti-Ca SR par RIA en utilisant le cDNA du CaSR. Sept des 70 patients (10 %) sont positifs en aAc CaSR. Cette faible sensibilité peut s'expliquer par l'utilisation de l'ADNc codant pour la molécule entière. Seuls deux sont positifs en aAc anti-parathyroïde (immunofluorescence indirecte). Sur les sept patients positifs, deux patients ont une hypoparathyroïdie isolée et cinq présentent un PEA de type II sans signe clinique d'hypoparathyroïdie (résultats personnels). La présence des aAc pourrait donc être due à un processus auto-immun généralisé au cours des PEA mais pourrait être également un marqueur prédictif d'une hypoparathyroïdie.

Le rôle pathogène de ces aAc n'est pas encore connu mais il a été démontré que certains aAc anti-parathyroïde se lient à la surface des cellules parathyroïdiennes humaines et inhibent la sécrétion d'hormone parathyroïdienne *in vitro* par des suspensions de cellules parathyroïdiennes humaines [10]. Il pourrait s'agir des aAc anti-CaSR qui, en se fixant sur les CaSR, réduiraient, comme le calcium lui-même, la production de parathormone. Les mutations géniques de ce récepteur ont été décrites avec, selon les cas, association à un hypo- ou hyperfonctionnement du récepteur [12, 11]. Un modèle de souris déficitaires en CaSR et hyperparathyroïdiennes et hypercalcémiques montre le rôle des CaSR qui contrôlent la production de parathormone.

Des auto-Ac anti-PTH ont été décrits dans des cas d'hypoparathyroïdisme, associés à des taux circulants de PTH augmentés et à une hypocalcémie persistante [7, 8].

Références

- [1] NEUFELD M, MACLAREN NK, BLIZZARD R. Autoimmune polyglandular syndromes. *Pediatr Ann* 1980, 9 : 154-162.
- [2] VOLPE R. 1985. Autoimmunity in endocrine disease. New-York: Marcel Dekker, p. 473.
- [3] VOLPE R. Autoimmune endocrinopathies: aspects of pathogenesis and the role of immune assays in investigation and management. *Clin Chem* 1994, 40/11 (B), 2132-2145.
- [4] BLIZZARD RM, CHEE D, DAVIS W. The incidence of parathyroid and other antibodies in the sera of patients with idiopathic hypoparathyroidism. *Clin Exp Immunol* 1996, 1 : 119-128.
- [5] BROWN EM, GAMBA G, RICCARDI D, LOMBARDI M, BUTTERS R, KIFOR A, SUN A, HEDIGER MA, LYTTON J, HEBERT SC. Cloning and characterization of an extracellular Ca^{2+} -sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature (Lond)* 1993, 366 : 575-580.
- [6] LI Y, SONG YH, RAIS N, CONNOR E, SCHATZ D, MUIR A, MACLAREN N. Autoantibodies to the extracellular domain of the calcium sensing receptor in patients with acquired hypoparathyroidism. *J Clin Invest* 1996, 97, 4 : 910-914.
- [7] WILKINSON M, MC ELDUFF A, WILSON J, HABER P, FREEMAN A, ROBERTSON M, MATHEWS P. Spontaneously occurring antibodies to parathyroid hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1990, 70 : 1744-1749.
- [8] MC ELDUFF A, LACKMANN M, WILKINSON M. Anti-idiotypic PTH antibodies as a cause of elevated immunoreactive parathyroid hormone in idiopathic hypoparathyroidism a second case : another manifestation of autoimmune endocrine disease? *Calcif Tissue Int* 1992 ; 51 : 121-126.
- [9] BETTERLE C, CARETTO A, MZEVIANI, PEDINI B, SALVIATI C. Demonstration and characterization of anti-human mitochondria autoantibodies in idiopathic hypoparathyroidism and in other conditions. *Clin Exp Immunol* 1985, 62 : 353-360.
- [10] POSILLICO JT, WORTSMAN J, SRIKANTA S, EISENBARTH GS, MALETTE LE, BROWM EM. Parathyroid cell surface autoantibodies that inhibit parathyroid hormone secretion from dispersed human parathyroid cells. *J Bone Miner Res* 1986, 1 : 475-483.
- [11] HO C, CONNER DA, POLLAK MR, LADD DJ, KIFOR O, WARREN HB, BROWN EM, SEIDMAN JG, SEIDMAN CE. A mouse model of human familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. *Nat Genet* 1995, 11 : 389-394.
- [12] HOFBAUER LC, HEUFELDER AE. Antibodies targeting the calcium sensing receptor: acquired hypoparathyroidism - an autoimmune disease at last? *Eur J Endocrinol* 1996, 135 : 172-173.

REFERENCES

15 membres du GEAI

Association GEAI
CHU Hôpital Larrey
Laboratoire d'Immunologie et d'Immunopathologie
49033 ANGERS Cedex 01

René-Louis HUMBEL

Président du GEAI
CH Luxembourg
Laboratoire Biochimie et Immunopathologie
4, rue Barblé - L-1210 LUXEMBOURG
Luxembourg
Tél. : 00 352 44 11 21 78 - Fax : 00 352 45 77 94
E.mail : humbel.rl@chl.lu

Chantal ANDRÉ

Vice-Présidente du GEAI
CHU Henri Mondor
Service d'Immunologie Biologique
51, av. du Mal de Lattre de Tassigny - 94010 CRÉTEIL
Tél. : 01 49 81 28 86 ou 01 49 81 22 98 (sec)
Fax : 01 49 81 28 97
E.mail : chantal.andre@hmn.ap-hop-paris.fr

Alain CHEVALLER

Trésorier du GEAI
CHU Hôpital Larrey
Laboratoire d'Immunologie et d'Immunopathologie
49033 ANGERS Cedex 01
Tél. : 02 41 35 47 89 ou 02 41 35 35 77
Fax : 02 41 35 47 83
E.mail : alchevallier@chu-angers.fr

Pascale CHRÉTIEN

CHI
Service Hématologie et Immunologie
49, avenue de Verdun - 94000 CRÉTEIL Cedex
Tél. : 01 45 17 53 88 ou 01 45 17 53 33 (sec)
Fax : 01 45 17 53 49
E.mail : pascale.chretien@chicreteil.fr

Andrée ESCANDE

CHU Saint Eloi
Laboratoire d'Immunologie
Avenue Bertin Sens - 34295 MONTPELLIER Cedex
Tél. : 04 67 33 71 35 - Fax : 04 67 33 71 29
E.mail : a-escande@chu-montpellier.fr

Joëlle GOETZ

CHU Hautepierre
Laboratoire d'Immunologie
Avenue Molière - 67098 STRASBOURG Cedex
Tél. : 03 88 12 75 26 - Fax : 03 88 12 81 34
E.mail : joelle.goetz@chru-strasbourg.fr

Catherine JOHANET

CHU Saint Antoine
Laboratoire Central d'Immunologie
184, faubourg St-Antoine - 75571 PARIS Cedex 12
Tél. : 01 49 28 20 11 - Fax : 01 49 28 22 92
E.mail : catherine.johanet@sat.ap-hop-paris.fr

Bruno LARIDA

Secrétaire du GEAI
BIO-RAD
3, bd R. Poincaré - 92430 MARNES LA COQUETTE
Tél. : 01 47 95 62 56 - Fax : 01 47 95 62 20
E.mail : bruno.larida@bio-rad.com

Jean-Claude MONIER

20, rue de l'Oratoire - 69300 CALUIRE
Tél. et fax : 04 78 29 66 86 (personnel)
ou 04 78 86 66 81 (hôpital)
Fax : 04 78 87 26 17 (école vétérinaire)
E.mail : moniersurf@aol.com

Françoise OKSMAN

Hôpital Rangueil
Laboratoire d'Immunologie
Avenue Jean Poulhes - 31403 TOULOUSE Cedex 4
Tél. : 05 61 32 34 25 (direct) ou 05 61 32 34 31 (sec)
Fax : 05 61 32 34 30
E.mail : oksman.f@chu-toulouse.fr

Nils Olivier OLSSON

Hôpital du Bocage
Laboratoire d'Immunologie
2, bd du M. de Lattre de Tassigny - BP 77908 - 21079 DIJON Cedex
Tél. : 03 80 29 33 72 ou 03 80 29 32 26 (labo)
ou 03 80 29 30 31 (standard)
Fax : 03 80 29 37 87
E.mail : nils.olsson@chu-dijon.fr

Marielle SAN MARCO

Hôpital de la Conception - Pavillon Cornil
Laboratoire d'Immunologie
147, boulevard Baille - 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tél. : 04 91 38 39 70 ou 04 91 38 39 08 ou 39 07 (sec)
Fax : 04 91 38 36 33
E.mail : msanmarco@mail.ap-hm.fr

Jean SIBILIA

CHU Hautepierre
Service Rhumatologie
67098 STRASBOURG
Tél. : 03 88 12 79 53 ou 03 88 12 79 55
Fax : 03 88 12 81 50
E.mail : jean.sibilia@wanadoo.fr

Marie-France TAILLEFER

Laboratoire BIOCENTRE
9, rue d'Hespel
59910 BONDUES
Tél. : 03 20 23 23 52 - Fax : 03 20 23 23 52
E.mail : mftaillefer@nordnet.fr

Laurent TESTE

Secrétaire adjoint du GEAI
BIO-RAD
3, bd R. Poincaré - 92430 MARNES LA COQUETTE
Tél. : 01 47 95 62 56 - Fax : 01 47 95 62 20
E.mail : laurent.teste@bio-rad.com

CALENDRIER DES MANIFESTATIONS

- **RÉUNION ANNUELLE DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'IMMUNOLOGIE (SFI)**
27-29 novembre 2002, Strasbourg, France
- **CONGRÈS ANNUEL DE LA SOCIÉTÉ ANGLAISE D'IMMUNOLOGIE (BSI)**
02 - 06 décembre 2002, Harrogate, UK
- **CONGRÈS MONDIAL D'IMMUNOPATHOLOGIE**
02 - 06 décembre 2002, Singapour
- **2^e JOURNÉE SCIENTIFIQUE DU CLUB RHUMATISME ET INFLAMMATION : « BIOTHÉRAPIE DE LA PR ET DES MALADIES SYSTEMIQUES ALTERNATIVES AUX ANTI-TNF »**
25 avril 2003
- **RÉUNION ANNUELLE DE L'ASSOCIATION AMÉRICAINE DES IMMUNOLOGISTES (AAI)**
06 - 10 mai 2003, Denver, Colorado, USA
- **15^e CONGRÈS EUROPÉEN D'IMMUNOLOGIE (EFIS)**
08 - 12 juin 2003, Rhodes, Grèce
- **18^e CONGRÈS INTERNATIONAL D'ALLERGOLOGIE ET D'IMMUNOLOGIE CLINIQUE**
07 - 12 septembre 2003, Vancouver, Canada
- **12^e CONGRÈS INTERNATIONAL D'IMMUNOLOGIE (IUIS)**
18 - 23 juillet 2003, Montréal, Québec, Canada
- **NATIONAL SYMPOSIUM ON AUTOIMMUNITY AND AUTOIMMUNE DISEASES-ROMANIAN SOCIETY OF LABORATORY MEDICINE**
22 - 24 avril 2003, Poiana Brasov, Roumanie



Parution bisannuelle

RÉDACTEUR EN CHEF : Jean-Claude MONIER - **ÉQUIPE DE RÉDACTION :** Chantal ANDRÉ, Alain CHEVALLER, Pascale CHRÉTIEN, Andrée ESCANDE, Joëlle GOETZ, René-Louis HUMBEL, Catherine JOHANET, Françoise OKSMAN, Nils Olivier OLSSON, Marielle SAN MARCO, Jean SIBILIA, Marie-France TAILLEFER

BIO-RAD, 3 bd R. Poincaré 92430 Marnes-la-Coquette
Directeur de publication : Laurent TESTE
Secrétariat du GEAI : tél : 01 47 95 62 56 - fax : 01 47 95 62 20
Email : benedicte.guyot@bio-rad.com
Conception et réalisation GRAPHIC WAY : 01 58 04 90 90

BIO-RAD