

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA BOUMERDES

جامعة امحمد بوقرة بومرداس

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et pathologies moléculaires

SUJET

**Profil cytokinique du lupus érythémateux
chez la femme enceinte**

Présenté par :

HAMOUNI Khadidja et TALEB Meriem

Membres de jury :

Mr. ZERGOUN.A

MCB/UMBB

Président

Mme. CHAABANE.I

MAA/UMBB

Examinatrice

Mr. MESSAOUDENE.D

MCB/UMBB

Promoteur

Mme. GHOZALL.N

DOCTORANTE/UMBB

Co-promotrice

Année universitaire 2019-2020

Remerciements

Nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir donné la force et la patience de mener à terme ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à notre promoteur **Monsieur D. MASSAOUDENE**, d'avoir accepté de nous encadrer durant la réalisation de ce travail ainsi que pour son professionnalisme et sa disponibilité.

Nous tenons également à remercier notre co-promotrice **Madame N. GHOZALI**, pour sa disponibilité et ses judicieux conseils pour mener ce travail à bien.

Par ailleurs, nous tenons à exprimer notre reconnaissance aux membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail. Nous adressons nos remerciements les plus respectueux à :

Monsieur A. ZERGOUN, Maître de Conférences classe B, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara, Boumerdes, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Madame I. CHAABANE, Maître assistante classe A, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara, Boumerdes, d'avoir aimablement accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions nos familles pour leurs soutiens, leurs aides et leurs encouragements.

Nous adressons nos remerciements à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Nous dédions ce travail en guise de gratitude et de reconnaissance à :

Nos très chers parents et chers grands parents qui nous ont soutenus tout le long de notre cursus et qui ont toujours été là pour nous.

Nos chers frères et sœurs pour leurs soutiens.

Nos chers enfants que l'on aime tant

Nos chers maris pour leurs encouragements durant nos années d'études.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

INTRODUCTION 1

RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE 2

I. Lupus érythémateux 2

I.1. Définition 2

I.2. Historique..... 2

I.3. Epidémiologie..... 2

I.4. Etiologie..... 3

I.5. Physiopathologie du lupus 3

I.6. Manifestations cliniques 5

I.6. Diagnostic. 5

I.7. Traitement..... 7

I.8. Lupus érythémateux chez la femme enceinte 8

III. Cytokines dans la réaction immunitaire 9

III.1. Définition 9

III.2. Origines des cytokines 10

III.3. Classifications 10

III.3.1. Classification en famille 10

III.3.2. Classification selon l'activité biologique 10

III.4. Caractéristiques des cytokines 11

IV. Rôles des cytokines dans la réaction immunitaire au cours de la grossesse

IV.1. Rôle bénéfique des cytokines pendant la grossesse	13
IV.2. Rôle délétère des cytokines sur la grossesse	14
IV.3. Quelques cytokines importantes au cours de la grossesse	15
PROTOCOLE EXPERIMENTALE THEORIQUE	20
RESULTATS	25
DISCUSSION	36
CONCLUSION ET PESPECTIVES	38
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	39

Résumé arabe -anglais

Liste des abréviations

AAN : Anticorps Anti-Nucléaires

ABTS : 3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique

AC : Anti Corps

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADNdb : Acide Désoxyribonucléique double brin

ASR : Avortement Spontané à Répétition

BLyS : B-lymphocyte stimulator

C : Celsius

CD : Cluster de Différentiation

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

COX2 : Cyclooxygenase 2

CXCL : C-X-C Motif Chemokine Ligand

DCi : Cellules Dendritiques immatures

ECLAM : European Consensus Lupus Activity Measurement

ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

Fg 12 : Fibrinogen Like protein 2

GM-CSF : Granulocyte Monocytecolony Stimulating Factor

GN : Glomérulonéphrite

H₂O₂ : Eau oxygéné

hCG : human Chorionique Gonadotropes

HLA : Human Leucocyte Antigen

IDO : Indolamine 2,3 Dioxygenase

IFN : Interféron

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

iNOS : Inducible Nitric Oxide Synthase

IP-10 : Interferon gamma-induced Protein 10

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LAK : Lymphokine-Activated killer cell

LB : Lymphocyte B

LE : Lupus Erythémateux

LED : Lupus Erythémateux Disséminé

LIF : Leukemia Inhibitory Factor

LPS : Lipopolysaccharides

LT : Lymphocyte T

MBL : Mannan-binding lectin (lectine liant le mannose)

MCP1 : Monocyte Chemoattractant Protein 1

MIG : Monokine Induced by Gamma interferon

Min : Minute

ml : Millilitre

NK : Natural Killer

NKT : Natural Killer T

NO : Oxyde Nitrique , monoxyde d'azote

ns : Non Significatif

PBS : Phosphate Buffered Saline

PGE2 : Prostaglandine E2

PGF : Prostaglandine F synthase

RLR : RIG-I-Like Receptors

SLE : **Systemic lupus erythematosus** (Lupus Erythémateux Systémique)

TA : Température Ambiante

TGF : Transforming Growth Factor

Th : Lymphocytes T helpers

TLR : Récepteurs Toll Like

TMB : Tétraméthylbenzidine

TNF : Tumor Necrosis Factor

TNFR : Tumor Necrosis Factor Receptor

Treg : Lymphocyte T régulatrice

uNK : Natural killers utérine

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

µg : Microgramme

µl : Microlitre

° : Degré

Liste des tableaux

Tableau I Principales familles d'auto-anticorps rencontrées au cours des maladies auto-immunes.....	6
Tableau II Recherche d'anticorps anti-nucléaires	6
Tableau III Quelques biothérapies utilisées dans le traitement les maladies auto-immunes.....	7
Tableau IV Taux sériques d'IL-10, d'IL-6 et de TNFR avant, pendant et après la grossesse	26
Tableau V Taux de cytokines pendant la grossesse chez 56 femmes en bonne santé et 46 patientes atteintes de lupus	29
Tableau VI Taux de cytokines au cours du 1 ^{er} et 3 ^{ème} trimestre chez les patientes atteintes de lupus avec / sans glomérulonéphrite avant la grossesse	30
Tableau VII Taux sériques de cytokines th1 et th2 pendant la grossesse chez 28 femmes en bonne santé contre 26 patientes lupiques.....	32
Tableau VIII Réponse de l'organisme dans la grossesse normales et grossesse lupique	35

Liste des figures

Figure 1 Réponse immunitaire chez une personne saine.....	4
Figure 2 Réponse immunitaire chez une personne lupique.....	5
Figure 3 Réseau cytokinique dans le lupus érythémateux systémique	9
Figure 4 Différents modes d'action des cytokines	10
Figure 5 Caractéristiques des cytokines	12
Figure 6 Phases immunologiques de la grossesse	13
Figure 7 Dichotomie Th1/Th2.....	14
Figure 8 Représentation schématique du mécanisme d'activation classique du macrophage pro-inflammatoire	16
Figure 9 Représentation schématique d'ELISA directe	21
Figure 10 Représentation schématique d'ELISA indirecte	22
Figure 11 Représentation schématique d'ELISA sandwich.....	23
Figure 12 Profils dans le temps des valeurs moyennes des taux sériques d'IL-10 et d'IL-6 pendant la grossesse et le post-partum chez les patientes atteintes de LED, les témoins sains, les patientes atteintes de LED active et patientes avec LED inactive, évaluée par analyse de variance pour des mesures répétées	26
Figure 13 Profils dans le temps des valeurs moyennes du facteur de nécrose tumorale soluble , Taux sériques de α p55 (sTNFR I) et p75 (sTNFR II) pendant la grossesse et le post-partum chez les patientes atteintes de LED, des témoins sains, de patientes atteintes de LED actives et patients atteints de LED inactive, évaluée par l'analyse de la variance pour des mesures répétées	27
Figure 14 Taux d'IL-10 au cours des premier et troisième trimestres de la grossesse chez les témoins et les patients atteints de lupus	29
Figure 15 Rapport $IFN\gamma/IL-6$ chez les témoins et les patients SLE: comparaison entre le premier et le troisième trimestre de la grossesse	30
Figure 16 Taux sériques d'IL-8 chez les témoins et les patientes SLE au cours des premier et troisième trimestres de la grossesse	32

Figure 17 Taux sériques d'IFN- γ chez les témoins et les patientes lupique au cours des premier et troisième trimestres de la grossesse33

Figure 18 Pathogenèse du lupus dans la grossesse normale et la grossesse lupique.....33

RESUME

Le lupus érythémateux est une maladie auto-immune chronique et multi-systémique qui survient principalement chez les femmes en âge de procréer. Les cytokines ont un rôle primordial dans cette maladie car la régulation du système immunitaire en dépend.

Un large panel de cytokines impliquées dans la régulation immunitaire pendant la grossesse chez les patientes atteintes de lupus érythémateux tel que IL-1- β , IL-2, IL-6 , IL-10, TNF ont été détectés dans des sérums obtenus au premier et au troisième trimestre de la grossesse par un ELISA.

Les résultats des études ont montré que les taux sériques d'IL-6 sont restés faibles et n'ont pas augmenté au troisième trimestre de la grossesse, comme ils l'ont fait chez les témoins, l'IL-10 a augmenté progressivement pendant la grossesse chez les femmes en bonne santé en revanche, les taux d'IL-10 étaient déjà significativement plus élevés à la conception chez les femmes enceintes lupiques et sont restés élevés tout au long de la grossesse et du post-partum , les taux sériques de TNFR I soluble étaient significativement plus élevés chez les patients que chez les témoins mais ils sont pas significativement différent pendant la grossesse. L'IL-10, l'IL-6 et le TNFR semblent être impliqués dans la pathogenèse du lupus dans la mesure où ils sont en corrélation avec l'activité de la maladie.

Mots clés: Maladie auto-immune, Lupus érythémateux, Femmes enceintes lupiques, Cytokines, IL-10.

INTRODUCTION

Le lupus érythémateux est une maladie auto-immune multi-systémique complexe d'origine inconnue qui affecte principalement les femmes en âge de procréer. Une des caractéristiques de cette maladie est l'hyperactivation polyclonale des lymphocytes B auto-réactives (**Mallavaapu, 2007**).

Une grossesse chez les femmes lupiques est considérée comme période à risque qui nécessite un bon suivi et une coordination entre un immunologiste et un obstétricien (**Benyettou, 2011**) du fait du taux accru des avortements spontanés, de la mort fœtale intra-utérine et de la naissance prématurée. De plus, la grossesse peut être associée à des poussées de maladies nécessitant un traitement immunosuppresseur (**Clowse, 2007**).

Les cytokines sont des médiateurs cellulaires importants agissant de concert avec d'autres facteurs pour favoriser une grossesse réussie. Ils ont également un rôle important dans la pathogenèse du lupus érythémateux. En effet dans le lupus érythémateux, les cytokines induisent une stimulation en excès des lymphocytes B, qui va induire à leur activation et leur différenciation en cellules productrices d'auto-anticorps. La production d'auto-anticorps joue un rôle central dans la pathogenèse. Effectivement, le profil cytokinique semble affecter l'activité de la maladie (**Doria et al., 2004**).

Notre travail concerne l'étude du profil cytokinique du lupus érythémateux chez la femme enceinte. A cause de la pandémie du COVID-19 et les conditions du confinement, notre étude sera basée sur une synthèse bibliographique.

Le but de cette étude est de faire le point sur l'état des connaissances scientifiques sur le profil cytokinique des femmes enceintes en bonne santé et le profil cytokinique des femmes enceintes atteintes de lupus érythémateux afin de comparer les fluctuations d'un large panel de cytokines sériques pendant la grossesse et de déduire les mécanismes impliqués dans la pathogenèse du lupus érythémateux .

La technique la plus utilisée pour détecter et doser les cytokines est l'ELISA «Enzyme Linked Immuno Sorben Assay» Cette dernière permet d'avoir des concentrations sériques précis de Cytokines dosées.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. LUPUS ERYTHEMATEUX

I.1.Définition

Le lupus érythémateux est une maladie auto-immune multi systémique complexe d'origine inconnue. il affecte pratiquement tous les organes du corps humain et qui peut provoquer une inflammation de la peau, des articulations et de divers organes (**Davis et al., 2011**).

Ce sont des attaques de l'organisme par son propre système immunitaire, faisant intervenir les complexes immuns circulants (anticorps anti-ADN/ADN) (**Davis et al., 2011**).

I.2.Historique

Le terme lupus qui signifie « loup » en latin est apparu pour la première fois dans la littérature médicale en 916 après J.C. Il est employé pour décrire des lésions cutanées de la

En 1828, Laurent Biett dermatologue suisse a décrit une dermatose localisée sur la face ressemblant à un érythème centrifuge mais il ne l'a pas publiée. En 1851, son élève Pierre Louis Alphée Cazenave a proposé l'appellation de lupus érythémateux (**Mallavaapu, 2007**).

En 1948, le médecin américain Malcolm Hargraves a qui revient le mérite de décrire le premier auto anticorps antinucléaire responsable de la formation in vitro des cellules LE « cellules du lupus érythémateux » (**Mallavaapu, 2007**).

A la fin du XXe siècle grâce au développement des connaissances en immunologie, on démontrera que la maladie lupique est une maladie auto-immune. Des tests immunologiques ont été développés qui permettent un diagnostic précis du lupus systémique. (**Mallavaapu , 2007**).

I.3.Epidémiologie

Les maladies auto-immunes affecteraient 5 à 6 % de la population mondiale et constitueraient le troisième processus pathologique après les maladies cardio-vasculaires et les cancers.

Le lupus touche surtout les femmes en âge de procréer (15-44 ans), période au cours de laquelle le statut hormonal joue un rôle important (**Mazozzi , 2014**).

La fréquence de la maladie lupique est de 1/10000 femmes de la population générale

Toutefois, les hommes, les enfants, les adolescents peuvent également développer un lupus.

I.4.Etiologie

La cause exacte de l'apparition du lupus reste à ce jour inconnue ; néanmoins on sait qu'il est causé par des altérations du système immunitaire, ce dernier ne reconnaissant plus les constituants du corps de la personne, commence à produire des auto-anticorps dirigés contre les constituants du noyau des cellules (acides Nucléiques et protéines) mais aussi par la production dérégulée de cytokines ce qui aboutit au dysfonctionnement immunitaire (**Bouchheb , 1982**). Les chercheurs proposent de multiples facteurs favorisant l'apparition de la maladie dont l'hérédité ; certains facteurs environnementaux ; la lumière du soleil ; les infections virales, le stress ; parfois la grossesse et certains médicaments..

I.5.Physiopathologie du lupus

Les études des mécanismes immunologiques ont montré qu'il existe deux éléments majeurs dans la physiopathologie de la maladie lupique : d'abord l'induction des auto-anticorps et ensuite les mécanismes pathogènes mis en jeu par ces auto anticorps (**Mazozzi , 2014**).

En effet la présence d'auto-anticorps anti-nucléaires est quasi constante chez les patientes atteintes d'un LES, ces auto-anticorps caractéristiques et spécifiques de la maladie ont une haute affinité pour l'ADN natif. Ils sont d'isotype G et comportent de nombreuses mutations somatiques, signatures indirectes d'une activation lymphocytaire B sous influence d'un antigène et de lymphocytes T (**Hahn, 1998**) ; d'autres part certains auto anticorps peuvent causer directement, par leur simple fixation sur la cible antigénique, le dysfonctionnement, voire la destruction de la cible moléculaire ou cellulaire (**Kowal et al., 2006**).

I.5.1.Mécanismes lésionnels

le lupus érythémateux résulte d'interactions entre des gènes de susceptibilité et des facteurs d'environnement, ayant pour conséquence une réponse immune anormale comportant une hyper réactivité lymphocytaire T et B qui n'est pas réprimée par les circuits habituels d'immunorégulation., la phase initiale serait médiée par le matériel antigénique des cellules en apoptose capté par un type particulier de cellules dendritiques fournissant des antigènes et stimulant la production de cytokines « d'interféron ». Une fois le processus initié, la production d'interféron provoque l'activation des cellules Lymphocytes B et T auto-réactives).Les auto-anticorps produits forment des complexes immuns constitués de molécules dérivées des cellules apoptotiques. Ces effets combinés aboutissent au « cercle vicieux » du processus auto-immun (**Mazozzi , 2014**).

I.5.2. Développement des lésions

Le développement des lésions cellulaires ou tissulaires peut faire appel à plusieurs mécanismes. Il est admis que les auto-anticorps jouent un rôle pathogène au cours des maladies lupiques soit directement soit par l'intermédiaire de la formation de complexes immuns, les anticorps anti-phospholipides pourraient jouer un rôle pathogène dans le développement des lésions vasculaires et des autres manifestations pathologiques associées au syndrome des anticorps anti-phospholipides. En plus de ces mécanismes physiopathologiques concernant la régulation de l'activation lymphocytaire et la production d'auto-anticorps, un autre axe de recherche concerne l'hypothèse d'un défaut de fonctionnement des macrophages dans le lupus érythémateux, une élimination trop lente ou insuffisante des cellules ayant subi le processus d'apoptose ou de leur débris pourrait entraîner la persistance prolongée d'antigènes nucléaires (auto-antigènes) exposés à la surface de ces cellules, par la suite leur prise en charge par des cellules dendritiques avec production de cytokines pro-inflammatoires mais aussi la stimulation d'une réponse lymphocytaire auto-immune. Un défaut d'élimination par les macrophages de complexes immuns formés entre les auto-antigènes et des auto-anticorps aurait également un rôle délétère (Mazozzi, 2014).

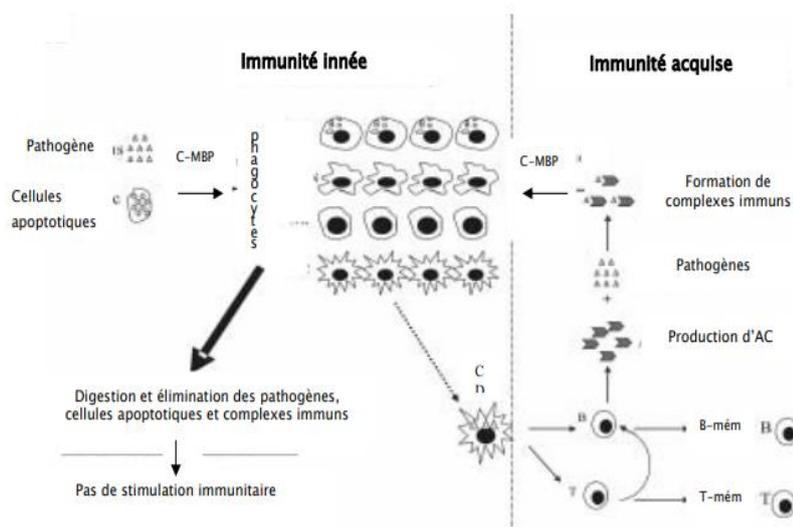


Figure 1. Réponse immunitaire chez une personne saine (Bouchhab, 1982)

Chez une personne saine les phagocytes impliqués dans l'immunité innée sont capables de capturer, digérer et éliminer les pathogènes /auto-antigènes dès leur rencontre. Ce processus est en partie médié par les divers composants du complément et la lectine liant le mannose. Si les phagocytes ne parviennent pas à éliminer immédiatement tous les agents pathogènes, le système immunitaire adaptatif est activé grâce à la présentation antigénique par les cellules dendritiques. Cependant, une fois les agents pathogènes éliminés, il n'y aura plus d'activation du système immunitaire acquis.

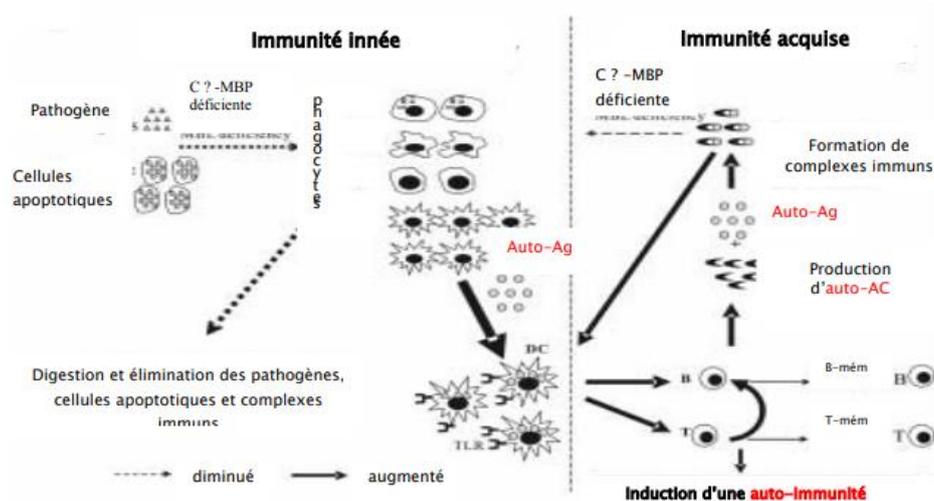


Figure 2. Réponse immunitaire chez une personne lupique (Bouchhab , 1982)

Chez une personne lupique la fonction altérée des phagocytes associés à une apoptose accrue, entraînent un apport excessif d'auto-antigènes. Les auto-antigènes sont présentés par les cellules dendritiques aux cellules T et B et conduisent au développement de l'auto-immunité. En outre, les complexes immuns auto-anticorps-auto-antigène ne peuvent pas être éliminés efficacement en raison des déficiences fonctionnelles de la phagocytose et de l'insuffisance des compléments / lectine liant le mannose; ces complexes immuns fournissent une stimulation supplémentaire aux cellules dendritiques et provoquent une perpétuation du processus de la maladie. .

1.6. Manifestations cliniques

Le lupus peut être léger ou grave, il peut causer toute une variété de symptômes :

- Des éruptions cutanées, particulièrement le long du nez et des joues, appelées « érythème en papillon » ;
- La fièvre ;
- Une sensibilité aux rayons du soleil qui peut parfois se manifester en dépit de l'emploi d'un écran solaire ;
- Une fatigue inexplicée.

1.7. Diagnostic

En pratique, le diagnostic du lupus repose sur l'association de manifestations cliniques et/ou biologiques évocatrices et de la mise en évidence d'une auto-immunité.

L'analyse la plus importante pour diagnostiquer le lupus est la recherche d'anticorps antinucléaires (AAN) par immunofluorescence car la plupart des personnes atteintes du lupus présenteront un taux élevé d'anticorps antinucléaires dans le sang. On peut aussi avoir recours à des analyses de laboratoire en dosant les cytokines dans le sang (Armes , 1958).L'analyse

des antécédents médicaux et un examen physique contribueront de façon importante au diagnostic final. D'autres examens tels que des épreuves de la fonction rénale, des radiographies des articulations et un examen d'imagerie par résonance magnétique (IRM) aideront à préciser l'étendue de l'atteinte (Cofer , 2017).

Tableau I. Principales familles d'auto-anticorps rencontrées au cours des maladies auto-immunes (Cofer , 2017)

Principales familles d'autoanticorps	Principal intérêt diagnostique
Anticorps anti-(antigènes) nucléaires (ANA, FAN)	Marqueurs des maladies auto-immunes non spécifiques
Anticorps anti-tissus (ou anti-cellules)	Marqueurs des maladies auto-immunes spécifiques d'organes
Anticorps antiphospholipides	Marqueurs du syndrome des anti phospholipides, qui peut être primaire ou secondaire

Anticorps anti-nucléaires

En présence de manifestations cliniques et/ou biologiques évocatrices, la recherche des anticorps anti-nucléaires est nécessaire.

Tableau II. Recherche d'anticorps anti-nucléaires (Cofer , 2017)

Étapes	Technique	Intérêt
1. Dépistage	Immunofluorescence indirecte	Observer la présence de fluorescence et voir son aspect
2. Caractérisation des anticorps détectés	Nombreuses techniques possibles (ELISA, Luminex®, immunodots, Bio-Plex®)	Selon l'aspect de la fluorescence :- homogène : recherche d'anticorps anti-ADN double brin , d'anticorps anti-histones et anti-nucléosome mouchetée : recherche d'anticorps anti-ENA (extractable nuclear antigens).

I.7.Traitement

Avec les progrès thérapeutiques et l'allongement de l'espérance de vie, la prise en charge thérapeutique ne se réduit plus au simple contrôle de l'activité de la maladie et à la prévention des poussées. Le traitement des maladies auto-immunes comporte dorénavant de nombreux objectifs : contrôler l'activité de la maladie ;prévenir les poussées ;limiter les séquelles liées à la maladie ;faciliter la conception et la maternité ;préserver la qualité de vie.En l'absence de traitement étiologique, le traitement du lupus fait généralement appel à un traitement de fond par des agents immunomodulateurs dont les principaux objectifs sont le contrôle l'activité de la maladie, la prévention des rechutes, et l'épargne cortisonique.(Benyettou, 2011).

I.7.1.Traitement symptomatique

Le recours à un traitement symptomatique, notamment à l'aide de médicaments antalgiques ou anti-inflammatoires(les corticoïdes demeurent un des piliers du traitement) peut être nécessaire au cours des poussées de la maladie. (Cofer , 2017).

I.7.2.Traitements immunomodulateurs et immunosuppresseurs

De nombreux agents immunomodulateurs et immunosuppresseurs peuvent être utilisés au cours du traitement lorsque les traitements symptomatiques ou de fond s'avèrent insuffisants pour contrôler l'activité de la maladie et/ou à visée d'épargne cortisonique.

Tableau III. Quelques biothérapies utilisées dans le traitement les maladies auto-immunes (Cofer , 2017)

Mécanisme d'action	Biothérapie	Principales indications (selon l'AMM)
Anti-TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α)	Infliximab Étanercept Adalimumab Golimumab	Polyarthrite rhumatoïde Spondylarthrite ankylosante Rhumatisme psoriasique Maladie de Crohn
Anti-CD20 (Cluster of Différenciation 20)	Rituximab	Polyarthrite rhumatoïde Vascularites
Anti-BLyS (B-lymphocyte stimulator)	Belimuma	Lupus systémique

I.8.Lupus érythémateux chez la femme enceinte

L'activité du lupus est difficile à évaluer au cours de la grossesse. La principale raison est que la définition de la poussée lupique n'est pas interprétée de la même façon selon les auteurs.

I.8.1.Femme lupique désirant une grossesse

chez laquelle la grossesse est une période particulièrement risquée ce qui justifie la délivrance d'une autorisation par la gynécologue uniquement pendant les périodes de quiescence de la maladie (depuis au moins 6 mois) avec la poursuite du traitement en cours et la proposition d'un traitement préventif mais également une surveillance clinique et biologique mensuelle maternelle et fœtale pendant la grossesse (**Bouchhab , 1982**).

I.8.2.Lupus qui apparaît au cours de la grossesse

Dans ce cas-là, les chercheurs supposent que le facteur incriminé est les hormones sexuelles féminines plus particulièrement les œstrogènes, augmentent au cours de la grossesse et surtout durant le dernier trimestre. (**Bouchhab , 1982**).

I.8.3.Risques

Chez la femme enceinte atteinte de lupus ; il existe des risques materno-fœtaux sui sont :

Une poussée évolutive de la maladie, surtout au cours du dernier trimestre et dans les semaines qui suivent l'accouchement (rôle favorisant des œstrogènes).

Le risque de pré-éclampsie et de toxémie gravidique ; le risque d'avortements répétés surtout liés aux auto-anticorps ; le risque d'hypotrophie fœtale lié à différents phénomènes vasculaires et aussi parfois à une corticothérapie excessive ; le risque de lupus néonatal, lésions cutanées, cytopénies.... (**Benyettou , 2011**).

III.CYTOKINES DANS LA REACTION IMMUNITAIRE

III.1.Définition

Les cytokines sont des protéines ou des glycoprotéines de faible poids moléculaire qui peuvent être membranaires ou sécrétées suite à une stimulation, elles agissent sur leurs cibles via des récepteurs spécifiques. Ces molécules de communication ont un rôle important dans la réponse immunitaire innée et adaptative mais aussi dans l'hématopoïèse.

Les cytokines sont des molécules qui ne sont pas produites par des cellules au repos ; leur synthèse nécessite un signal activateur. Bien qu'elles soient sécrétées en réponse à une stimulation antigénique spécifique, elles n'ont intrinsèquement aucune spécificité antigénique.

Le nom cytokine vient du grec *cyto* (cavité ou cellule) et *kine* (mouvement).

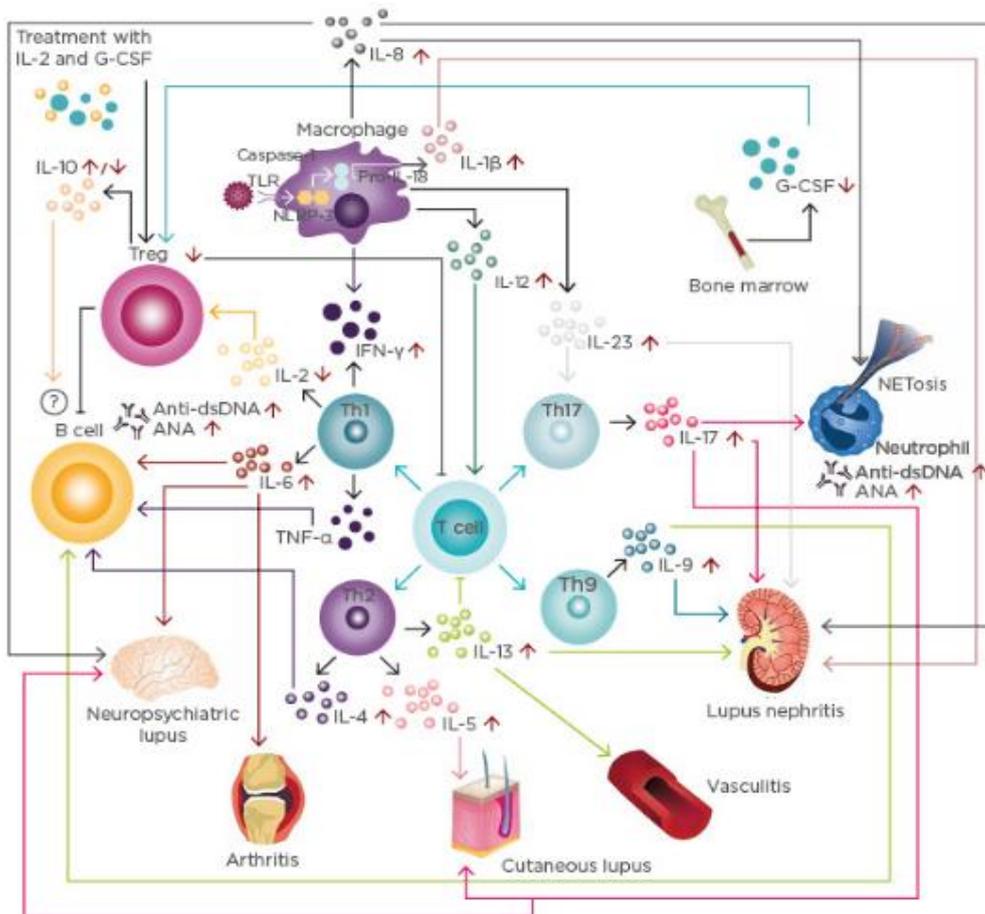


Figure 3. Réseau cytokinique dans le lupus érythémateux systémique (Manuel et al., 2018)

III.2.Origines des cytokines

Chaque cytokine peut être synthétisée par plusieurs types de cellules et agir sur un grand nombre de cellules cibles sur lesquelles elle aura des actions variées. Les cytokines agissent selon différents modes d'action : autocrine (agissent sur la cellule même qui les a synthétisés à travers des récepteurs de la membrane cellulaire), paracrine (un mode de signalisation cellulaire impliquant des messagers chimiques qui agissent dans le voisinage de la cellule qui les a synthétisés) et endocrine (agissent à distance de la cellule sécrétrice et qui doivent passer par la circulation sanguine pour atteindre leur cible) (Dinarelo , 2007).

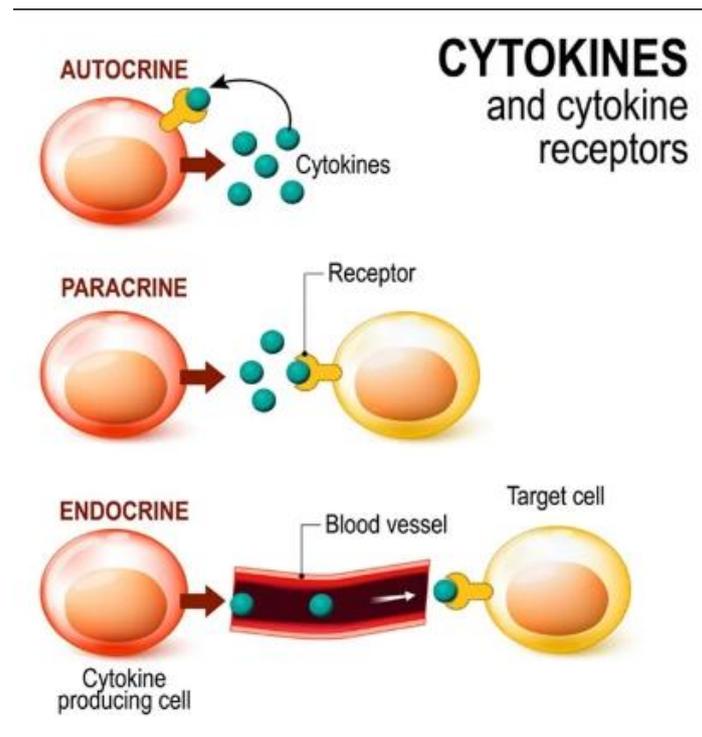


Figure 4. Différents modes d'action des cytokines (Image: Designua / Shutterstock)

III.3.Classifications

Les cytokines peuvent être classées selon plusieurs critères

III.3.1.Classification en famille

III.3.1.1.Famille des interférons « IFN »

Les interférons sont des cytokines dont la production est induite suite à une infection virale, une infection bactérienne, une infection parasitaire ou à la présence de cellule tumorales,

et ceci en réponse à la présence d'acide nucléique étranger à l'organisme. Ils ont pour action principale d'interférer avec la réplication virale, mais ils ont également une action antibactérienne, antiproliférative et d'activation d'autres cellules immunitaire telles que les cellules NK, les macrophages et les lymphocytes. On distingue deux groupes d'interférons suivant les récepteurs qu'ils activent : les interférons de type 1 (les interférons α et interférons β), jouent un rôle dans la réponse immunitaire innée. les interférons de type 2 (interférons γ), joue un rôle lors de la réaction immunitaire adaptative (Mosman et al., 1996).

III.3.1.2.Familles des interleukines « IL »

Sont un groupe de cytokines, ainsi nommées car les premières observations semblaient montrer qu'elles étaient exprimées par les globules blancs (leucocytes, d'où *-leukin*) en guise de moyen de communication. Plusieurs interleukines existent d'IL-1 à IL-35 (Mosman et al., 1996).

III.3.1.3.Famille des chimiokines « CXC »

Sont de toutes petites cytokines qui ont pour rôle d'activer les cellules immunitaires, ainsi que de les recruter au site de l'inflammation (Mosman et al., 1996).

III.3.1.4.Famille du facteur de croissance hématopoïétique «CSF »

Sont des hormones glycoprotéiques qui contrôlent le fonctionnement de l'hématopoïèse en agissant sur le couple prolifération différenciation des cellules souches médullaires jusqu'aux stades les plus matures des cellules sanguines (Mosman et al., 1996).

III.3.1.5.Famille du facteur de nécrose « TNF »

La plus importante des cytokines pro-inflammatoires. Elle induit la synthèse de molécules de la phase aigüe de l'inflammation et agit également au niveau de l'endothélium vasculaire en induisant la synthèse de protéines membranaires qui seront indispensables à la diapédèse des cellules immunitaires (Mosman et al., 1996).

III.3.2.Classification selon l'activité biologique

Les cytokines peuvent être classées selon leur mode d'action en :

- **Cytokines pro-inflammatoires** : c'est-à-dire qu'ils activent la réaction inflammatoire de l'organisme ex :TNF, IL-1, IL-6, chimiokines....
- **Cytokines amplificatrices** : initiateur d'immunité communiquée par les cellules ex : IL-2, IFN- γ , IL-12....

- **Cytokines modulatrices** : c'est-à-dire qu'ils régulent la réaction inflammatoire de l'organisme ex :IL-10, TGF- β , IL-4, IL-13.....

III.4. Caractéristiques des cytokines

Les cytokines peuvent agir sur une cible cellulaire par différents moyens :

- **Pléiotropie** : une même cytokine peut avoir des effets différents sur des cibles cellulaires variées (Kindt et al., 2006).
- **Redondance** : des cytokines différentes peuvent avoir des activités biologiques voisines sur une cellule (Kindt et al., 2006).
- **Synergie** : phénomène par lequel plusieurs cytokines agissant ensemble pour créer un effet global (Kindt et al., 2006).
- **Antagonisme** : deux cytokines s'opposent dans leurs effets, une cytokine inhibe ou bloque l'effet de l'autre (Kindt et al., 2006).

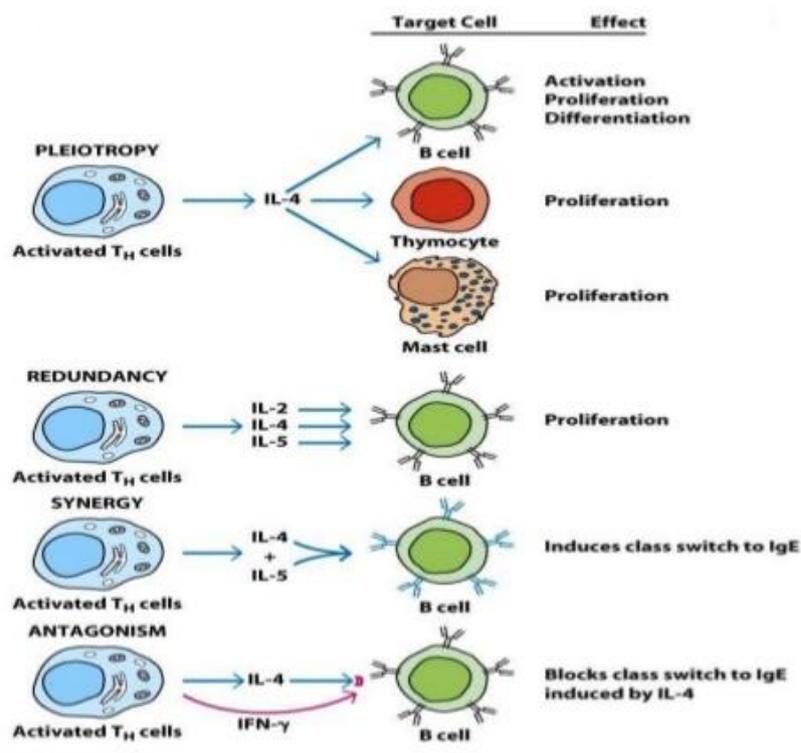


Figure 5. Caractéristiques des cytokines (Kindt et al., 2006, adapté par Taleb)

IV. ROLES DES CYTOKINES DANS LA REACTION IMMUNITAIRE AU COURS DE LA GROSSESSE

IV.1. Rôle bénéfique des cytokines pendant la grossesse

L'interaction entre le système immunitaire de la femme enceinte et son fœtus est extraordinairement complexe, mais il est d'une importance cruciale.

la grossesse est le résultat d'un équilibre complexe et évolutif des réponses pro-inflammatoires et anti-inflammatoires mettant en jeu de nombreux acteurs cellulaires et moléculaires, Parmi ces molécules, les cytokines qui jouent un rôle primordial au cours de la grossesse car une grande partie de la régulation du système immunitaire pendant cette période est sous la dépendance de ces cytokines. Ces molécules multifonctionnelles interviennent dans la migration, la différenciation et le trafic des leucocytes. Ces molécules qui font le relais entre immunité cellulaire et humorale, peuvent en plus d'interférer au niveau du système immunitaire de la mère, avoir certains effets sur les cellules embryonnaires ou fœtales en cours de la formation et de la maturation (Mor et al., 2011).

Les tissus placentaires et décidaux d'une grossesse normale expriment les deux polarisations de cytokines, pro-inflammatoires et anti-inflammatoires dépendamment du stade de grossesse.

Au cours du premier trimestre qui est une phase pro-inflammatoire-Th1 : requise pour assurer la réparation adéquate de l'épithélium utérin et l'élimination des débris cellulaires.

Au cours du deuxième trimestre qui est une phase anti-inflammatoire-Th2 : requise pour assurer une croissance et un développement fœtal optimal et rapide; durant cette phase, il règne une symbiose entre le fœtus et le placenta.

Au cours du troisième trimestre qui est une phase pro-inflammatoire-Th1 : requise pour déclencher l'accouchement par la promotion des contractions utérines, l'expulsion du bébé et le rejet du placenta (Mor et al., 2011).

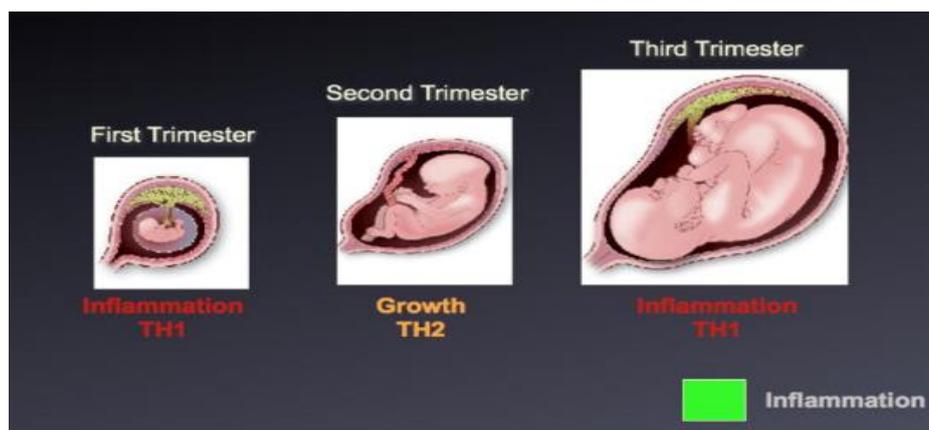


Figure 6. Phases immunologiques de la grossesse (Mor et al., 2011)

- Importance des cytokines dans la différenciation des lymphocytes Th0 au cours de la grossesse

La différenciation de ces lymphocytes Th0 en lymphocytes Th1 ou Th2 dépend de la nature des cytokines présentes dans l'environnement. Si l'IL-12 et l'IFN- γ sont majoritairement présents, les lymphocytes se différencient en Th1. En revanche, si l'IL-4 est majoritairement présente, les lymphocytes Th0 se différencient en Th2, il a été montré que l'embryon produit de l'IL-10 et du TGF- β et inhibe la production de TNF- α et d'IFN- γ , favorisant localement une polarisation de la réponse immune vers un état Th2. Ces deux types de cellules CD4+ diffèrent par le spectre des cytokines qu'elles peuvent produire. Les lymphocytes Th1 produisent principalement l'IL-2, l'IFN- γ et le TNF- β , les Th2 sécrètent l'IL-4, l'IL-5, l'IL-6, l'IL-10 et l'IL-13 (Abehsira *et al.*, 1992).

La période péri-implantaire est caractérisée par la présence d'un environnement très varié en cytokines, comme : l'IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-11, IL-15 et INF- γ . L'environnement pro-inflammatoire joue un rôle vital dans le maintien d'une grossesse saine du début à la fin en influençant les fonctions et en modulant les systèmes immunitaire et endocrinien (Abehsira *et al.*, 1992).

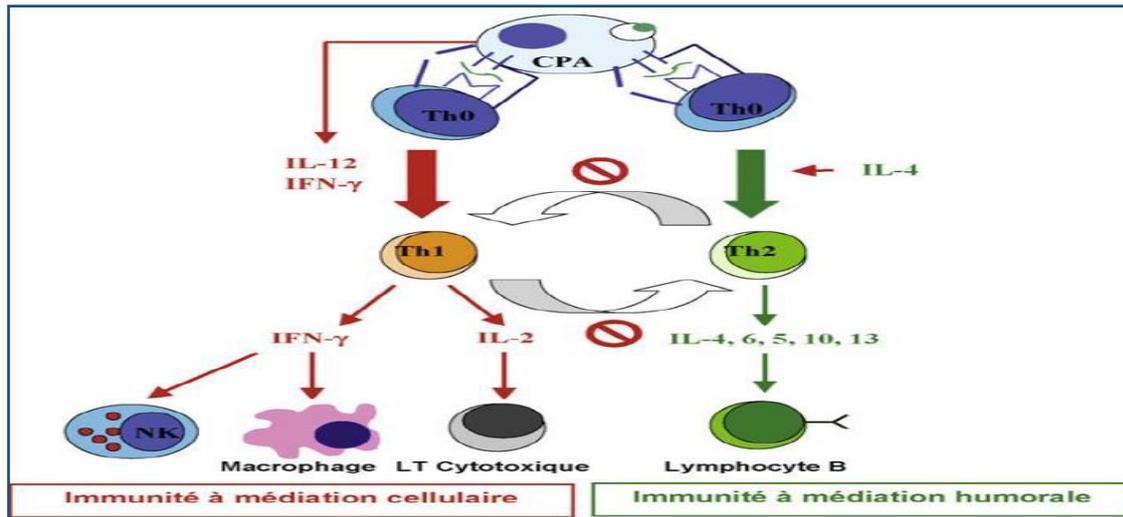


Figure 7. Dichotomie Th1/Th2 (Mosman *et al.*,1996)

IV.2.Rôle délétère des cytokines sur la grossesse

Étant donné que le début de l'implantation est facilité par des processus inflammatoires, il est possible que la sur-sollicitation ou la dérégulation de cette même réponse puisse activer des mécanismes nuisibles pour la survie embryonnaire. Dans une certaine mesure, cette réponse

joue un rôle majeur dans le déclenchement de la perte précoce de l'embryon, la restriction de la croissance intra-utérine et la pré-éclampsie.

En général, une inflammation provoquée par des agents pathogènes ou des dommages tissulaires peut activer les macrophages résidents pour initier ou amplifier la production de cytokines pro-inflammatoires : l'IFN- γ , TNF- α , l'IL-12, l'IL-1 et l'IL-6 causant des dommages aux tissus, et de chimiokines nécessaires au recrutement des cellules Th1, des cellules T cytotoxiques et des cellules NK. Ces cytokines sont capables aussi de stimuler la production d'autres médiateurs de l'inflammation tels que : l'acide nitrique, les radicaux libres, NO, les prostaglandines et métalloprotéases à l'origine d'un accouchement prématuré.

Les facteurs dits « embryo-toxiques », mis en évidence en cas d'antécédents d'ASR (avortement spontané à répétition), sont des cytokines qui possèdent une activité dirigée contre les antigènes de la reproduction (sperme et/ou trophoblaste), dénotant une réponse cellulaire aberrante. Une production accrue par les cellules T circulantes et déciduales de cytokines type Th1 (IL-2, IFN- α , IFN- γ , TNF- α , TNF- β) associée à une production réduite de cytokines type Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) et agissant indépendamment des facteurs hormonaux a été rapportée en cas d'ASR (**Raghupathy, 1997**).

IV.3. Quelques cytokines importantes au cours de la grossesse

IV.3.1. Cytokines pro-inflammatoires

IV.3.1.1. Le facteur de nécrose α « TNF- α »

Le TNF- α est l'une des principales cytokines produites chez les macrophages en réponse à l'IFN γ et/ou le lipopolysaccharide (LPS). Le TNF- α est détectable tout au long de la grossesse dans le placenta, le liquide amniotique et la décidue. Sa présence est essentielle au tout début de la grossesse ; à faible concentration physiologique, le TNF- α est requis à l'interface foeto-maternelle pour réussir l'implantation embryonnaire puisqu'il favorise la formation du syncytium et augmente la faculté invasive des cellules trophoblastiques, stimule entre autres la synthèse d'hormones, l'architecture placentaire, le développement folliculaire et embryonnaire et la différenciation. A hauts niveaux de la concentration du TNF- α joue un rôle dans différentes complications de grossesse (augmente la probabilité des avortements précoces par l'activation des cellules NK ou des macrophages. Seul ou en combinaison avec l'IFN- γ , le TNF- α est hautement cytotoxique pour le trophoblaste. Dans certaines circonstances, plusieurs (**Jaattela et al., 1998**).

IV.3.1.2.L'interferons γ « IFN- γ »

Cette se compte parmi les cytokines pro-inflammatoires les plus abondantes dans l'utérus en début de grossesse. Les cellules NK en sont les principales productrices surtout en réponse à l'IL-12 sécrétée par les macrophages activés. L'IFN- γ agit sur les NK d'une manière autocrine les stimulant à en produire davantage en même temps que d'autres molécules telles le VEGF, l'angiotensine II et la PGF, ce qui contribue à créer un milieu pro-angiogénique sur le site d'implantation. La signalisation de l'IFN- γ est une voie centrale dans l'initiation du remodelage de la vascularisation endométriale, dans l'angiogenèse sur le site d'implantation, dans le maintien de la composante déciduale et placentaire ainsi que dans la promotion de l'adhésion cellulaire et de la prolifération des muscles lisses. L'IFN- γ induit la résorption fœtale par ischémie ; résultat de la stimulation de l'expression du pro-coagulant fg 12 (Fibrinogen Like protein 2), La protéine fg 12 est une prothrombinase sécrétée par les cellules endothéliales dont l'activation causerait le blocage du flux sanguin maternel vers l'embryon en cours d'implantation, ce qui provoquerait inévitablement l'avortement de l'embryon (Mueller-Eckhardt et al., 1994).

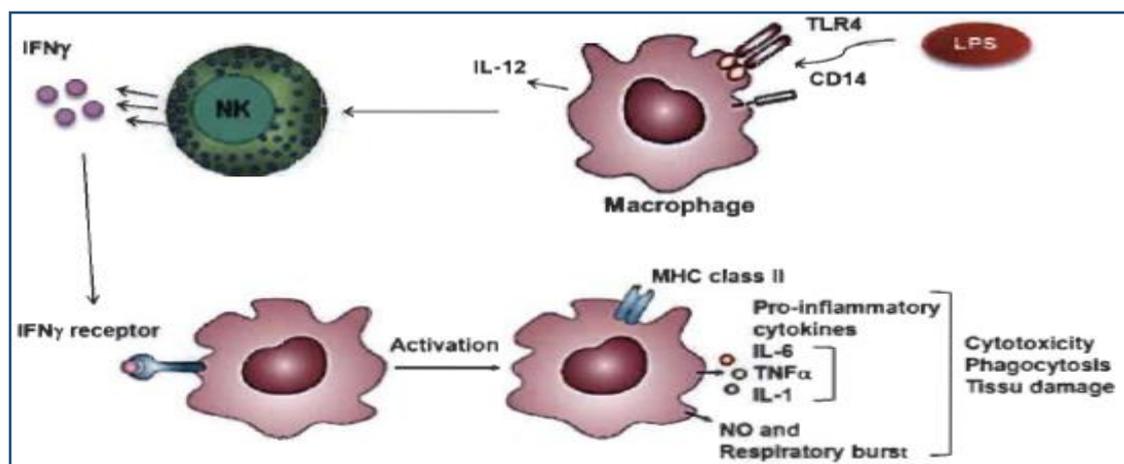


Figure 8. Représentation schématique du mécanisme d'activation classique du macrophage pro-inflammatoire (Boehm et al., 1997)

IV.3.1.3.L'interleukine 1 « IL-1 »

L'IL-1 est présent à diverses étapes de l'implantation embryonnaire. Cette cytokine est impliquée dans de nombreux processus physiologiques, dont l'angiogenèse et le remodelage tissulaire. Elle induit l'expression de nombreuses molécules clés de la préparation de l'endomètre à l'implantation embryonnaire tel que l'IL-6, l'IL-8, LIF, COX2, l'intégrine

$\alpha_v\beta_3$, et la chimiokine MCP1/CCL2. Il a été démontré que l'IL-1 était à l'origine de la vasodilatation locale des artères spiralées *via* l'induction de la prolifération des cellules endothéliales, et la production de VEGF, de NO et de PGE2 (prostaglandin E2) par les cellules de l'endomètre. Cette vasodilatation est primordiale pour l'invasion du compartiment vasculaire maternel par les cellules de l'embryon. En outre, la réaction inflammatoire secondaire à la présence de sperme augmente fortement le taux utérin d'IL-1, ce qui a pour effet d'activer la sécrétion d'IFN- γ par les cellules uNK (Natural killers utérins). L'adhérence de l'embryon à l'endomètre requiert une réaction de type pro-inflammatoire. Cette réaction de type Th1 active une cascade moléculaire déclenchée par l'IL-1, et favorise l'apposition et l'adhérence de l'embryon aux cellules épithéliales de l'endomètre, ainsi que la vasodilatation des artères spiralées sous l'influence de l'IFN- γ . Parallèlement à cette réponse inflammatoire en réaction à la présence de sperme, les cellules de l'endomètre accroissent leur expression de récepteurs leurres et d'antagonistes des agonistes du système IL-1. Cette réaction anti-inflammatoire est, en partie, contrôlée par l'action de faibles doses d'hormones chorioniques gonadotropes (hCG) synthétisées très précocement lors de la grossesse.

La source majeure d'IL-1 β est l'embryon, ce qui permet de considérer localement cette cytokine comme un signal embryonnaire précoce (Mor *et al.*, 2011).

IV.3.1.4.L'interleukine 8 « IL-8 »

Les cytokines de type Th1 parallèlement à des stimulations mécaniques stimulent la production d'IL-8 et de prostaglandines qui sont directement impliquées dans la dilation du col et les contractions utérines (Mor *et al.*, 2011).

IV.3.1.5.L'interleukine 18 «IL-18 »

L'IL-18 occupe une place majeure dans la préparation de l'endomètre à l'implantation de l'embryon., cette cytokine, dont l'action peut être soit de type Th2 (à dose physiologique), soit de type Th1 (concentration en excès), elle est principalement sécrétée par les NK et joue un rôle physiologique essentiel dans la déstabilisation des artères spiralées, mais elle est aussi un facteur pro-angiogénique direct et indirect *via* la stimulation de facteurs favorables à l'angiogenèse. L'IL-18 favorise aussi la production d'IFN- γ par les cellules NK. Lors de la réaction anti-inflammatoire secondaire à la réaction inflammatoire post-fécondation, les cellules NK vont exhiber des marqueurs de réponse immunitaire de type Th2 et devenir une source majeure de cytokines anti-inflammatoires (LIF, IL-4, IL-6 et IL-18).

En outre, l'IL18 produite en excès favorise un déséquilibre pro-Th1 susceptible d'entraîner une activation immunitaire délétère pour la grossesse et peut s'accompagner de pré-éclampsie, d'accouchement prématuré ou d'avortement spontané. (Dimitriadis et al., 2005).

IV.3.2.cytokines modulatrices

IV.3.2.1.l'interleukine 10 « IL-10 »

L'IL-10 semble être la molécule anti-inflammatoire et immunosuppressive la plus puissante sur le site de l'implantation. Elle émerge comme la plus importante cytokine de type Th2 impliquée dans le maintien d'une grossesse normale. Dans le contexte de la grossesse, le rôle d'IL-10 réside dans son pouvoir modulateur de l'immunité maternelle pour permettre la tolérance de l'allogreffe fœtale. Elle induit en plus, au niveau du trophoblaste et des monocytes humains, l'expression sélective de la molécule HLA-G, consolidant encore plus le maintien de la tolérance maternelle au fœtus.

L'IL-10 est sécrétée abondamment par plusieurs cellules locales incluant les macrophages, les cellules NK, les lymphocytes, les trophoblastes et les DC myéloïdes périphériques qui jouent un rôle dans la mise en place de la tolérance pendant la grossesse en activant les lymphocytes T régulateurs (par la sécrétion d'IDO). Chez la femme, le niveau de l'IL-10 augmente remarquablement en grossesse précoce et demeure élevé jusqu'au début du travail ce qui témoigne de l'importance de son rôle (Chaouat et al., 1996).

IV.3.2.2.Le transforming growth factor β « TGF- β »

Le TGF- β présent dans le liquide séminal, agissent sur les cellules épithéliales utérines imprégnées d'œstrogène ; ces dernières sécrètent alors le « granulocyte monocytecolony stimulating factor » (GM-CSF), l'IL-6 et d'autres cytokines qui induisent une diminution transitoire de la réponse de type Th1 de la mère aux antigènes HLA de classe I du père (Mor et al., 2011).

IV.3.2.3.L'interleukine 4 « IL-4 »

L'IL-4 stimule la production du LIF par le tissu endométrial, ce qui favorise avec le TGF- β la décidualisation de l'endomètre, l'invasion trophoblastique et le contrôle de l'angiogenèse au niveau des villosités trophoblastiques. L'IL-4 augmente progressivement au cours de la grossesse (Mor et al., 2011).

IV.3.2.4.L'interleukine 6 « IL-6 »

L'IL-6 joue un rôle dans la synthèse des Ac asymétriques. Ces Ac, retrouvés dans le sérum ou fixés aux antigènes paternels au niveau du placenta des femmes gravides, sont incapables d'activer les mécanismes effecteurs de la réponse immune et auraient ainsi un rôle bénéfique sur la grossesse (Mor et al., 2011).

IV.3.2.5. Le facteur inhibiteur de leucémie « LIF »

Le facteur inhibiteur de leucémie est un facteur de croissance pléiotropique de la famille de l'IL-6. Il possède une étendue remarquable de fonctions biologiques et représente un facteur clé dans l'implantation embryonnaire. Il est détectable au niveau de la granulosa, de l'endomètre humain, de la décidue et du cytotrophoblaste, mais pas au niveau du syncytiotrophoblaste qui exprime plutôt l'IL-6. Durant la grossesse, la protéine et l'ARNm de LIF sont exprimés au cours du premier trimestre et l'endomètre humain l'exprime d'une manière dépendante du cycle menstruel. Son niveau augmente de façon spectaculaire dans la phase mi- sécrétoire du cycle menstruel, à la fois dans l'épithélium luminal et glandulaire de l'utérus, ce qui coïncide avec le moment supposé de la fenêtre implantatoire où l'utérus est prêt pour recevoir un blastocyste en voie d'implantation. C'est pourquoi LIF est connu également comme marqueur potentiel de la réceptivité de l'endomètre. Certaines stérilités inexplicables et avortements précoces à répétition peuvent être dus à un déficit quantitatif ou qualitatif de LIF par l'endomètre humain (Paiva et al., 2009).

IV.3.2.6.L'interleukine 12 « IL-12 »

Les cellules dendritiques immatures (iDC) peuvent sécréter des facteurs anti-angiogéniques, qui vont inhiber le processus de néovascularisation (Mor et al., 2011).

IV.3.3.Cytokine amplificatrice

IV.3.3.1.L'interleukine 2 « IL-2 »

L'embryon est capable de sécréter de l'IL-2 qui stimule les cellules NK. Celles-ci, en coopération avec les macrophages qui produisent de l'INF- γ , du TNF- α et de l'IL-12, induisent une apoptose des cellules trophoblastiques et permettent de restreindre la profondeur de l'invasion trophoblastique (Dimitriadis et al., 2005).

PROTOCOLE EXPERIMENTAL
THEORIQUE

!

Vue les conditions du confinement à cause de la pandémie COVID-19, la réalisation de la stage pratique n'a pas eu lieu. En temps normal nous devions :

- Recueillir les données de patientes enceintes lupiques et les classée en profils

Profil épidémiologique (fréquence de l'association du lupus)

- ✓ Selon l'âge des patientes.
- ✓ Selon les antécédents médicaux, chirurgicaux, obstétricaux, gestités.
- ✓ Selon les antécédents familiaux (antécédent de lupus dans la famille).

Profil clinique (durée d'évolution de la maladie)

- ✓ Faire un examen général, examen obstétrical.
 - ✓ Lister les manifestations cliniques liées au lupus.
-
- Mettre en place des critères d'inclusion (critères pris en compte dans l'étude) et des Critères d'exclusion.
 - Citer le type de l'étude (étude rétrospective (étude dossier) /prospective (recueil des données) , le lieu et durée de l'étude.
 - Faire des analyses biologiques et immunologiques : hémogramme , sérologie, ELISA.
 - Faire une étude comparative du profil cytokinique chez les patientes enceintes en bonne santé et chez les patientes enceinte atteintes de lupus.

IV. Analyse des cytokines par technique ELISA

IV.1.Définition

L'ELISA est une technique de dosage immunologique qui permet de quantifier les concentrations de diverses molécules présentes dans les liquides biologiques. Elle est très utilisée pour le dosage des cytokines, des facteurs de croissances, et de certaines hormones présentes à de très faibles concentrations (du nanogramme au picogramme / ml). L'ELISA dispose d'une grande fiabilité et d'une grande reproductibilité car elle repose sur le principe de fixation spécifique d'un antigène à son anticorps.

Ce test immunologique se présente soit sous forme de kits prêts à l'emploi (plaques pré-coatées livrées avec tous les réactifs nécessaires), soit sous forme de kits à préparer (les paires d'anticorps de capture et de détection, l'enzyme et parfois le chromogène sont livrées), soit peuvent se monter en autonomie. De nombreux fournisseurs sont présents sur le marché.

IV.2.Différents types de kits ELISA

IV.2.1.ELISA directe

L'antigène « coaté » sur une plaque multi-puits est détecté par un anticorps directement conjugué à une enzyme. Le principal avantage de ce kit est la rapidité (**OZYME, en ligne**).

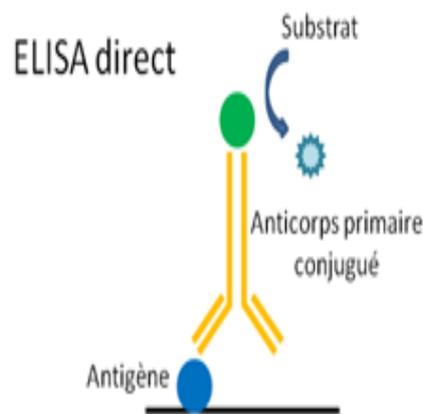


Figure 9. Représentation schématique d'ELISA directe (**OZYME, en ligne**)

IV.2.2.ELISA indirect

L'antigène est détecté en 2 étapes :

Capture : un anticorps primaire non marqué et spécifique de l'antigène est appliqué.

Détection : un anticorps secondaire couplé à une enzyme est ensuite ajouté.

L'avantage de ce kit est une meilleure sensibilité.

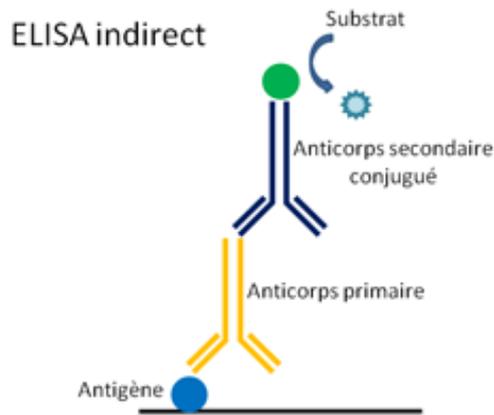


Figure 10. Représentation schématique d'ELISA indirecte (**OZYME, en ligne**)

IV.2.3.ELISA Sandwich

L'antigène-cible est lié à l'anticorps de capture « coaté » et à l'anticorps primaire de détection.

Si l'anticorps de détection est conjugué à une enzyme, on parle d'ELISA Sandwich directe.

Si l'anticorps de détection n'est pas conjugué, un second anticorps de détection est alors nécessaire et on parle alors d'ELISA Sandwich indirecte.

Les tests ELISA sandwich réservés aux cytokines sont des dosages immunoenzymatiques sensibles qui peuvent spécifiquement détecter et quantifier la concentration de cytokine et de chimiokines solubles. La méthode ELISA sandwich de cytokines de base utilise des anticorps anti-cytokines hautement purifiés (anticorps de capture) qui sont adsorbés de manière non covalente («enrobés» - principalement à la suite d'interactions hydrophobes) sur des plaques de micropuits en plastique. Après le lavage des plaques, les anticorps immobilisés servent à capturer spécifiquement les protéines cytokines solubles présentes dans les échantillons qui ont été appliqués sur la plaque. Après avoir éliminé le matériel non lié, les protéines cytokines capturées sont détectées par des anticorps anti-cytokines conjugués à la biotine (anticorps de détection) suivis d'un stade d'avidine ou de streptavidine marqué par une enzyme. Suite à l'ajout d'un substrat chromogène, le niveau de produit coloré généré par les réactifs de détection liés enzymatiques peut être mesuré de manière appropriée par spectrophotométrie en utilisant un lecteur de plaque ELISA à une densité optique (DO) appropriée (**OZYME, en ligne**).

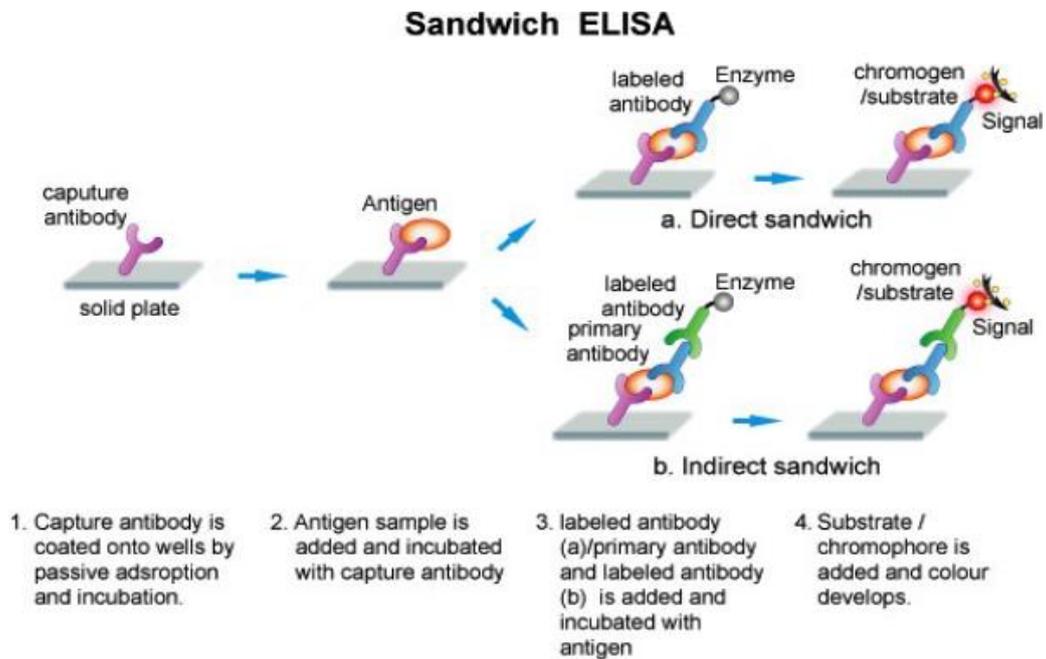


Figure 11. Représentation schématique d'ELISA sandwich (OZYME, en ligne)

IV.3.Procédure générale du protocole ELISA

IV.3.1.Capturer les anticorps

Diluer l'anticorps de capture anti-cytokine purifié à 1-4 $\mu\text{g} / \text{ml}^a$ dans la solution de liaison. Ajouter 100 μl d'anticorps dilué dans les puits d'une plaque ELISA de liaison aux protéines améliorée (par exemple, Falcon cat. N ° 353279 ou Nunc Maxisorb cat. N ° 446469) Sceller la plaque pour éviter l'évaporation. Incuber une nuit à 4 ° C (OZYME,en ligne).

IV.3.2.Blocage

- Amener la plaque à température ambiante (TA), retirer la solution d'anticorps de capture et bloquer la liaison non spécifique en ajoutant 200 μl de tampon de blocage par puits.
- Sceller la plaque et incuber à température ambiante pendant 1 à 2 heures.
- Laver ≥ 3 fois^d avec du PBS / Tween®.

IV.3.3.Normes et échantillons

- Ajouter les standards^c et les échantillons (dilués dans Blocking Buffer / Tween®^h) à raison de 100 μl par puits.
- Sceller la plaque et incuber pendant 2 à 4 heures à température ambiante ou toute une nuit à 4 ° C.
- Laver ≥ 4 fois avec du PBS / Tween®.

- Anticorps de détection.
- Diluer l'anticorps de détection anti-cytokine biotinylé à 0,5-2 µg / ml dans Blocking Buffer / Tween®. ^h Ajouter 100 µl d'anticorps dilué dans chaque puits.
- Sceller la plaque et incuber pendant 1 heure à température ambiante.
- Laver ≥ 4 fois ^d avec du PBS / Tween®.
- Avidine-Peroxydase de raifort (Av-HRP).
- Diluer le conjugué Av-HRP (cat. N ° 554058) ou la streptavidine-HRP (cat. N ° 554066) ou un autre conjugué enzymatique ^{c, f} à sa concentration optimale pré-titrée dans Blocking Buffer / Tween®. Ajouter 100 µl par puits.
- Sceller la plaque et incuber à température ambiante pendant 30 min.
- Laver ≥ 5 fois ^d avec du PBS / Tween®.

IV.3.4.Substrat

- Utiliser TMB (réf. 555214) selon les instructions ou ABTS comme substrat. Décongeler la solution de substrat ABTS ^{c, f} dans les 20 minutes suivant l'utilisation. Ajouter 100 µl de 3% H₂O₂ pour 11 ml de substrat et vortexer. Distribuer immédiatement 100 µl dans chaque puits. Incuber à température ambiante pendant une période de 5-80 min pour le développement de la couleur.
- Lire la densité optique (DO) pour chaque puits avec un lecteur de microplaques réglé à 405 nm.

IV.4. Différents résultats obtenus avec les kits ELISA

IV.4.1. Données quantitatives : les données ELISA peuvent être interprétées en comparaison avec une courbe pour calculer précisément les concentrations de l'antigène dans divers échantillons.

IV.4.2. Données qualitatives : les tests ELISA peuvent aussi être utilisés pour indiquer la présence d'un antigène particulier dans un échantillon, en comparant avec un puits blanc ne contenant pas d'antigène ou un antigène de contrôle sans rapport.

IV.4.3. Données semi-quantitatives : il est possible de comparer les taux relatifs d'un antigène dans des échantillons, puisque l'intensité du signal est directement corrélée à la concentration de l'antigène.

RESULTATS

Résultats des recherches précédentes

Résultat 1. Doria et ses collègues (2004)

Dans cette étude les concentrations sériques de cytokines ont été dosées par la méthode ELISA. IL-10 :Amersham Pharmacia Biotech (Uppsala, Sweden ; IL-6 : Tell Sciences (Needham, MA) ;sTNFR I et sTNFR II : Bender MedSystems (Vienna,Austria), Ces dosages ont été réalisés selon les instructions des fabricants.

Les valeurs moyennes d'IL-10, d'IL-6 et de TNFR, avant et après la grossesse sont rapportées dans le **tableau IV**.

Les taux sériques d'IL-10 ont été trouvés de manière significative et persistante plus élevés chez les patientes lupique que chez les femmes en bonne santé, tant avant ou pendant la période gestationnelle. Les taux d'IL-10 n'ont pas varié tout au long de la grossesse chez les patientes atteintes de LES, alors que chez les témoins, ils étaient significativement plus élevés au troisième trimestre qu'avant la conception ($P=0,029$) ou le premier trimestre ($P 0,038$), suggérant une influence exercée par l'augmentation physiologique des hormones stéroïdes. Pendant la grossesse, les taux sériques d'IL-10 étaient significativement plus élevés ($F_G 5,25$; $P = 0,03$) chez les patients lupique avec une maladie active que chez ceux avec maladie inactive.

Il est intéressant de noter que les patientes lupique n'ont pas montré d'augmentation de l'IL-6 au troisième trimestre, ce qui est un résultat caractéristique d'une grossesse normal ($P = 0,006$) Les profils de niveau d'IL-6 étaient similaires chez les patients atteints d'une maladie active et inactive.

Les taux sériques de TNFR I soluble étaient significativement plus élevés chez les patients que chez les témoins avant la conception ($P = 0,043$) et post-partum ($P = 0,040$), mais ils n'ont pas significativement différent pendant la grossesse, même si des différences significatives dans la cinétique de TNFR I ont été observées entre patients et témoins ($F_T 22,4$, $P < 0,0001$; $F_{GXT} 3,9$, $P = 0,02$). Aucune différence n'a été notée dans les deux TNFR II (concentration sérique ou profil avant la grossesse, pendant la gestation ou après l'accouchement.

Comme pour l'IL-10, les taux sériques de TNFR I ont été trouvés significativement plus élevés chez les patients atteints d'une maladie active par rapport à une maladie inactive . Nous n'avons observé aucune corrélation entre IL-10, IL-6, TNFR I ou TNFR II et score ECLAM, nombre de leucocytes et de lymphocytes, gammaglobuline, IgG, IgA, IgM ou ANA au cours d'une période de gestation distincte.

Tableau IV . Taux sériques d'IL-10, d'IL-6 et de sTNFR avant, pendant et après la grossesse (Doria et al., 2004)

	IL-10 (pg / ml)		IL-6 (pg / ml)		sTNFR I (ng / ml)		sTNFR II (ng / ml)	
	SLE	contrôles	SLE	contrôles	SLE	contrôles	SLE	Contrôles
Pré-grossesse	3.00±	0.91 ±	2.95 ±	1.29 ±	0.26 ±	0.19 ±	0.61 ±	0.65 ±
	0.90	0.43	3.55	0.73	0.08	0.04	0.28	0.46
1^{er} trimestre	3.02 ±	0.92 ±	2.67 ±	1.55 ±	0.26 ±	0.27 ±	0.77 ±	0.65 ±
	1.06	0.50	2.91	0.83	0.10	0.05	0.41	0.23
2^{er} trimestre	2.87 ±	1.33 ±	1.86 ±	2.91 ±	0.29 ±	0.31 ±	0.93 ±	0.75 ±
	1.04	0.64	1.58	2.89	0.08	0.03	0.63	0.29
3^{er} trimestre	3.27 ±	1.46 ±	2.32 ±	13.82 ±	0.34 ±	0.42 ±	0.82 ±	0.89 ±
	1.38	0.68	1.95	15.83	0.09	0.11	0.32	0.42
post-partum	3.21 ±	1.43 ±	1.72 ±	6.10 ±	0.26±	0.21 ±	0.75 ±	0.70 ±
	1.25	0.78	1.29	13.71	0.06	0.03	0.38	0.57

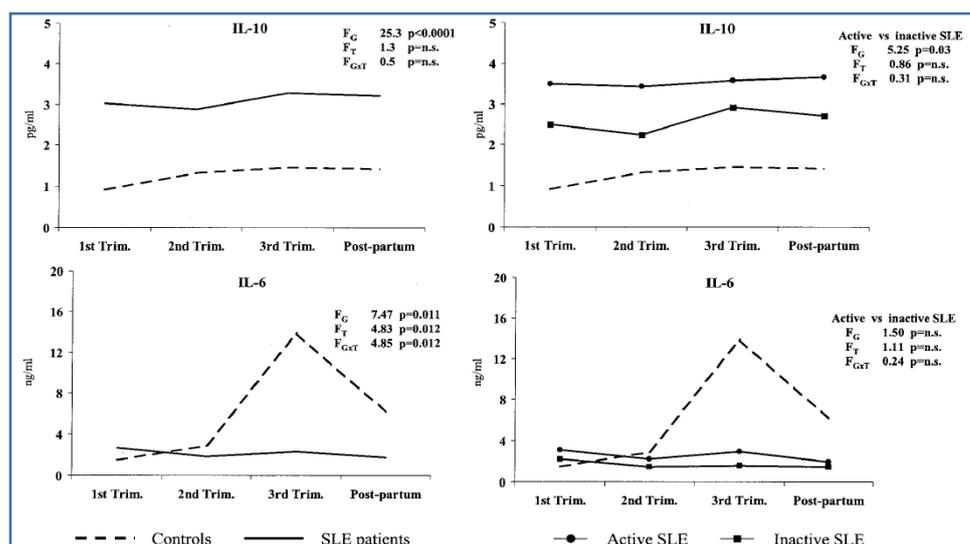


Figure 12 . Profil dans le temps des valeurs moyennes des taux sériques d'IL-10 et d'IL-6 pendant la grossesse et le post-partum chez les patientes atteintes de LED, les témoins sains, les patientes atteintes de LED active et patientes avec LED inactive, évaluée par analyse de variance pour des mesures répétées (Doria et al., 2004)

G : grouping factor; **FT** : time factor; **FGXT** : interaction between time and grouping factors; **ns** :not significant; **Trim.** : trimester.

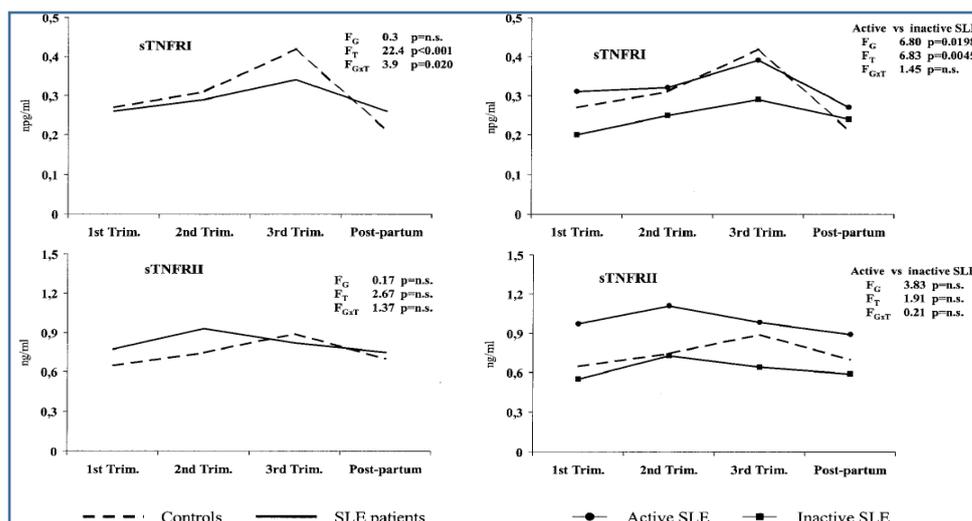


Figure 13. Profils dans le temps des valeurs moyennes du facteur de nécrose tumorale soluble, Taux sériques de α p55 (sTNFR I) et p75 (sTNFR II) pendant la grossesse et le post-partum chez les patientes atteintes de LED, des témoins sains, de patientes atteintes de LED actives et patients atteints de LED inactive, évaluée par l'analyse de la variance pour des mesures répétées (Doria et al., 2004)

Résultat 2. Doria et ses collaborateurs (2012)

Les caractéristiques cliniques les plus fréquentes chez les patientes au moment de la conception sont des atteintes hématologiques et articulaires.

Dans cette étude la technique utilisée étudie les concentrations sériques de cytokines ont été dosées par la méthode ELISA sandwich conçu avec une technologie multiplex (Search Light Human Inflammatory Cytokine Array by Pierce Biotechnology, Rockford, IL, USA). La procédure de test a été réalisée selon les instructions du fabricant.

Les taux médians de cytokines au cours du premier et troisième trimestre de la grossesse chez les femmes en bonne santé et chez les patientes lupiques sont rapportés dans le **tableau IV**.

Chez les femmes en bonne santé, les taux sériques de cytokines de type Th1 ont montré une réduction significative au troisième trimestre par rapport au premier trimestre de la gestation, alors qu'aucun changement significatif n'a été observé dans les taux sériques d'IL-6 et d'IL-10 entre le premier et le troisième trimestre de la grossesse chez les patientes lupiques.

IL-1- α était la seule cytokine Th1 dont les taux étaient significativement diminués au troisième trimestre par rapport à ceux observés au premier trimestre ($P = 0,006$). Les taux

sériques de toutes les autres cytokines Th1 testées et des cytokines Th2 IL-6 et IL-10 n'ont pas changé de manière significative entre le premier et le troisième trimestre de la grossesse.

Les taux sériques d'IL-10 étaient plus élevés chez les patientes atteintes de lupus que chez les témoins au troisième trimestre de la grossesse ($P = 0,001$). De plus, au troisième trimestre, la différence des taux sériques d'IL-10 entre les patientes lupiques dont le lupus était actifs et les témoins ($P = 0,004$) était plus élevée qu'entre les patientes lupiques dont le lupus était inactif et les témoins ($P = 0,015$, ce qui n'est pas significatif lorsque il est corrigé par le test de Bonferroni comparaisons multiples).

Tant chez les patients lupiques que chez les femmes en bonne santé, les taux sériques de cytokines ne sont pas corrélés avec l'âge au moment de la conception.

Au premier trimestre, IL-2, IL-12, IFN- γ et les taux sériques d'IL-6 sont en corrélation avec le score ECLAM (IL-2 $r = 0,524$ $P = 0,005$, IL-12 $r = 0,549$ $P = 0,007$, IFN- γ $r = 0,492$ $P = 0,017$, IL-6 $r = 0,515$ $P = 0,02$) chez les femmes SLE. La médiane (25^{ème} à 75^{ème} centiles) les taux sériques de cytokines étaient similaires chez les patientes avec et sans glomérulonéphrite au premier et au troisième trimestre de la grossesse.

Aucune différence dans les taux sériques de cytokines chez les patientes lupiques ayant des antécédents de fausses couches par rapport à celles qui n'en ont pas été observée; de plus, les taux de cytokines n'étaient pas corrélés avec le nombre de fausses couches antérieures. Le rapport entre IFN- γ et les taux sériques d'IL-6 (IFN- γ /IL-6) était significativement plus faible au troisième trimestre par rapport au premier trimestre (médiane 0,43, intervalle de 0,04 à 220,20, vs 0,71, plage de 0,08 à 41,00, $P = 0,033$) chez les témoins sains, mais pas chez les patients atteints de SLE (médiane 0,34, intervalle de 0,01 à 30,00, contre 0,43, plage de 0,01 à 4,63, $P = ns$). Le rapport entre IFN- γ et les taux sériques d'IL-10 (IFN- γ /IL-10) était plus élevée chez les femmes en bonne santé que chez les patients lupiques dans les deux premiers (médiane 1,88, intervalle de 1,30 à 3,67, contre 0,97, entre 0,44 et 1,93, $P = 0,001$) et le troisième trimestre de grossesse (médiane 2,00, intervalle de 0,90 à 3,10, vs 0,83, intervalle de 0,35 à 1,48, $P = 0,001$).

Trois valeurs P (probability value) indiqué dans le **tableau V** sont douteuses d'une part les valeurs de P citées pour le TNF- α tant pour les femmes en bonne santé que Patientes lupiques et d'autre part la valeur de P citées pour IL-1 α Patientes lupiques.

Tableau V. Taux de cytokines pendant la grossesse chez 56 femmes en bonne santé et 46 patientes atteintes de lupus (Doria et al., 2012)

	Femmes en bonne santé			Patientes SLE		
	1 ^{er} trimestre	3 ^{ème} trimestre	P=	1 ^{er} trimestre	3 ^{ème} trimestre	P=
TNF-α	11,5 (1,4 à 104,6)	10,2 (0,7 à 72,9)	0,001	13,5 (0 à 210,5)	11,0 (0 à 174,5)	ns
IFN-γ	3,4 (0 à 29,0)	2,0 (0,1 à 55,5)	0,001	2,8 (0 à 75,0)	3,0 (0 à 38,2)	ns
IL-1α	1,1 (0 à 13,2)	0,9 (0 à 12,8)	0,003	1,0 (0 à 56,6)	1,0 (0 à 27,5)	0,006
IL-1β	1,0 (0 à 10,3)	0,6 (0 à 70,8)	0,018	0,8 (0 à 35,2)	0,5 (0 à 18,4)	ns
IL-2	3,5 (0 à 39,8)	3,0 (0 à 206)	0,018	4,5 (0 à 122,4)	4,1 (0 à 40,3)	ns
IL-8	5,2 (0,9 à 112,6)	4,4 (0,9 à 145,9)	0,053	7,4 (0 à 910,9)	4,6 (0 à 717,1)	ns
IL-12	5,6 (0,1 à 70,6)	4,9 (0 à 29,4)	0,018	6,0 (0 à 186,5)	4,2 (0 à 105,7)	Ns
IL-10	1,3 (0 à 45,0)	1,1 (0 à 19,1)	ns	2,9 (0 à 124,1)	3,1 (0 à 73,6)	Ns
IL-6	5,5 (1,8 à 10,4)	4,8 (2,2 à 9,2)	ns	6,3 (3,5 à 22,6)	7,3 (3,7 à 23,1)	Ns

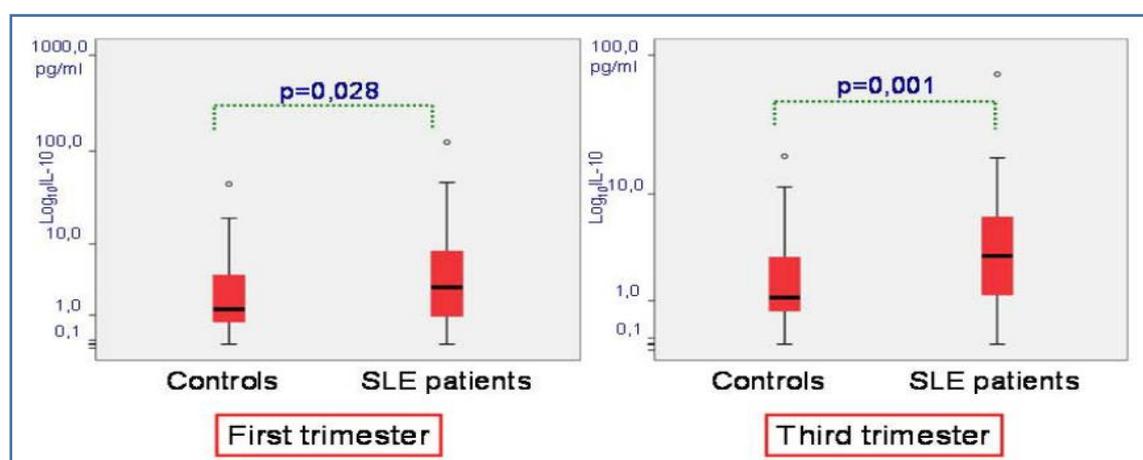


Figure 14. Taux d'IL-10 au cours des premier et troisième trimestres de la grossesse chez les témoins et les patients atteints de lupus (Doria et al., 2012)

Tableau VI. Taux de cytokines au cours du 1^{er} et 3^{ème} trimestre chez les patientes atteintes de lupus avec/sans glomérulonéphrite avant la grossesse (Doria et al., 2012)

	1 ^{er} trimestre			3 ^{ème} trimestre		
	Patients SLE avec GN	Patients SLE sans GN	P=	Patients SLE avec GN	Patients SLE sans GN	P=
TNF-α	14,90(6,50à41,00)	10,90 (5,30 à 25,82)	ns	25,90 (8,20 à 38,80)	10,10 (5,97 à 30,25)	ns
IFN-γ	4,40 (2,20 à13,00)	3,20 (0,25à4,67)	ns	5,60 (1,50 à 15,80)	2,95 (1,52 à 6,95)	ns
IL-1α	3,00 (0,50 à10,00)	0,85 (0,27 à 1,37)	ns	1,50 (0,40 à 6,60)	1,10 (0,12 à 2,20)	ns
IL-1β	1,10 (0,37à 10,025)	1,95 (1,15 à 4,30)	ns	0,70 (0,32 à 3,37)	1,80 (0,60 à 9,30)	ns
IL-2	6,20 (1,50 à15,20)	2,15 (1,57 à 4,05)	ns	6,50 (1,10 à 12,80)	2,50 (1,35 à 6,12)	ns
IL-8	8,75 (6,70 à40,75)	27,15(8,72 à 52,37)	ns	7,40 (4,70 à 29,30)	24,85(4,22 à 197,40)	ns
IL-12	6,40(2,00 à 22,70)	4,05(1,77 à 18,02)	ns	4,20 (1,70 à 25,50)	3,30(2,02 à 20,65)	ns
IL-10	3,25(0,90 à 12,12)	2,50 (1,95 à 4,40)	ns	4,20 (1,55 à 11,65)	4,60(2,50 à 5,80)	ns
IL-6	8,10(3,50 à 38,10)	5,50 (2,90 à 6,50)	ns	11,25(1,55 à 25,57)	9,40(5,20 à 12,90)	ns

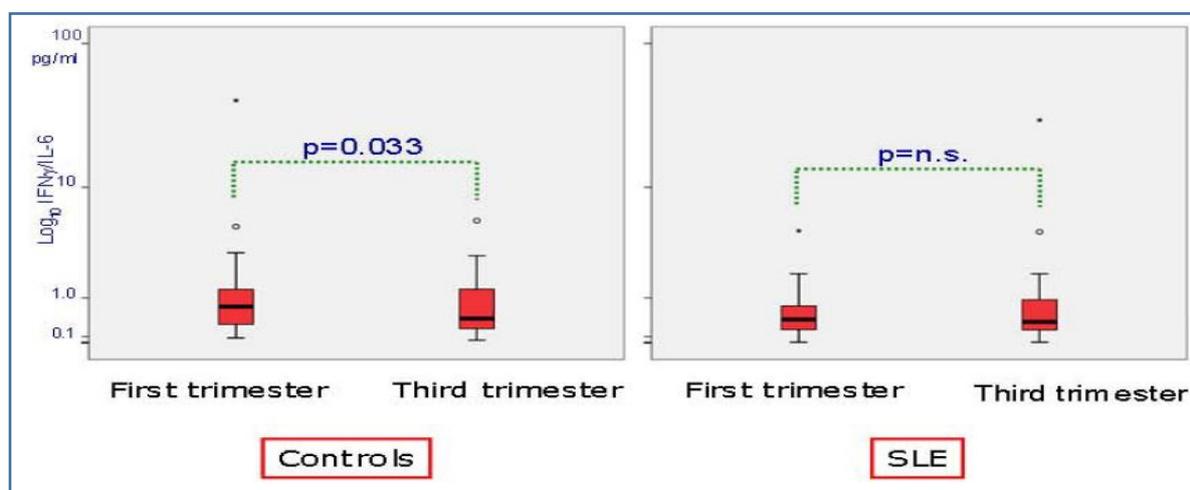


Figure 15. Rapport IFN- γ /IL-6 chez les témoins et les patients SLE: comparaison entre le premier et le troisième trimestre de la grossesse (Doria et al., 2012)

Résultat 2. Iaccarino et ses coauteurs (2012)

Les caractéristiques cliniques les plus fréquentes chez les patientes au moment de la conception sont des atteintes hématologiques cutanées et articulaires.

Dans cette étude la technique utilisée étudie les concentrations sériques de cytokines ont été dosées par la méthode ELISA sandwich conçu avec une technologie multiplex (Search Light Human Inflammatory Cytokine Array by Pierce Biotechnology, Rockford, IL, USA). La procédure de test a été réalisée selon les instructions du fabricant.

Les niveaux médians de cytokines chez les patientes atteintes de lupus et les témoins sains au cours des premier et troisième trimestres de la grossesse sont indiqués dans le **tableau VII**.

Par rapport aux témoins, les patientes atteintes de lupus avaient des taux sériques d'IL-10 plus élevés au cours du premier ($P = 0,055$) et du troisième ($P < 0,0001$) trimestres de la grossesse, des taux sériques d'IL-8 au premier ($P < 0,0001$) et au troisième ($P = 0,003$) trimestres, et INF- γ taux sériques au troisième trimestre ($P = 0,009$).

Les taux sériques de cytokines suivants étaient en corrélation avec le score ECLAM chez les patientes lupiques au cours du premier trimestre de la grossesse: IL-2 $r = 0,524$, $P = 0,010$; IL-12 $r = 0,549$, $P = 0,007$; IFN- γ $r = 0,492$, $P = 0,017$; IL-6 $r = 0,515$, $P = 0,020$. Le profil des cytokines était similaire chez les patientes avec et sans néphrite lupique tant au cours du premier que du troisième trimestre de la grossesse.

Les taux sériques d'IL-8 étaient inférieurs chez les patients ayant déjà reçu un diagnostic de syndrome des anticorps antiphospholipides par rapport à ceux qui n'en avaient pas, tous deux dans le premier (4,40 (intervalle de 1,00 à 10,750) contre 8,70 (intervalle 4,05- 39,850) $P = 0,045$) et au troisième trimestre de la grossesse (1,90 (intervalle de 0,25 à 4,050) contre 6,40 (1,65-29,200), $P = 0,008$). Il n'y avait aucune différence dans les taux sériques de cytokines chez les patientes recevant une corticothérapie à faible et à forte dose au cours du premier ou du troisième trimestre de la gestation. De plus, il n'y avait aucune différence dans les taux sériques de cytokines chez les patients traités avec ou sans antipaludéens ou azathioprine.

Tableau VII. Taux sériques de cytokine th1 et th2 pendant la grossesse chez 28 femmes en bonne santé contre 26 patientes lupiques (**Iaccarino et al., 2012**)

Valeurs médianes (25 e- 75 e percentile) sont exprimés en pg / ml.

	Femmes en bonne santé			patientes lupiques		
	1 ^{er} trimestre	3 ^{ème} trimestre	P=	1 ^{er} trimestre	3 ^{ème} trimestre	P=
TNF-α	11,0 (5,8à26,9)	7,6(4,5à15,0)	0,003	13,5(6,5à38,9)	18,2 (6,8à36,5)	Ns
IFN-γ	3,4 (1,7à6,1)	1,5 (1,0à 3,3)	0,001	4,1(1,5à11,1)	3,8 (1,5 à11,0)	Ns
IL-1α	1,5 (0,4à2,9)	0,9 (0à 2,2)	0,003	1,0 (1,0à 6,9)	1,2 (0,4à4,6)	0,044
IL-1β	0,8 (0,5à1,4)	0,5 (0,3à0,9)	0,026	1,4 (0,6 à4,3)	1,1 (0,4à3,7)	Ns
IL-2	4,0 (1,6à7,3)	3,4 (0,5 à6,4)	0,012	3,1(1,5à12,5)	4,7 (1,3 à 9,7)	Ns
IL-8	5,3 (3,4à7,7)	4,5 (2,2 à6,5)	Ns	14,2(7,0à43,3)	12,2(4,3 à45,7)	Ns
IL-12	4,5 (2,0 à9,1)	3,0 (1,5 à7,2)	0,016	6,0 (2,0-20,8)	4,1 (2 à25,5)	Ns
IL-10	1,3 (0,8 à 3,1)	1,0 (0,4à1,7)	Ns	2,9 (1,5 à6,1)	4,4 (1,9à6,3)	Ns
IL-6	6,0 (2,2à11,8)	4,8 (2,9 à9,5)	Ns	6,3 (3,5 à24,5)	9,4 (3,0 à25,3)	Ns

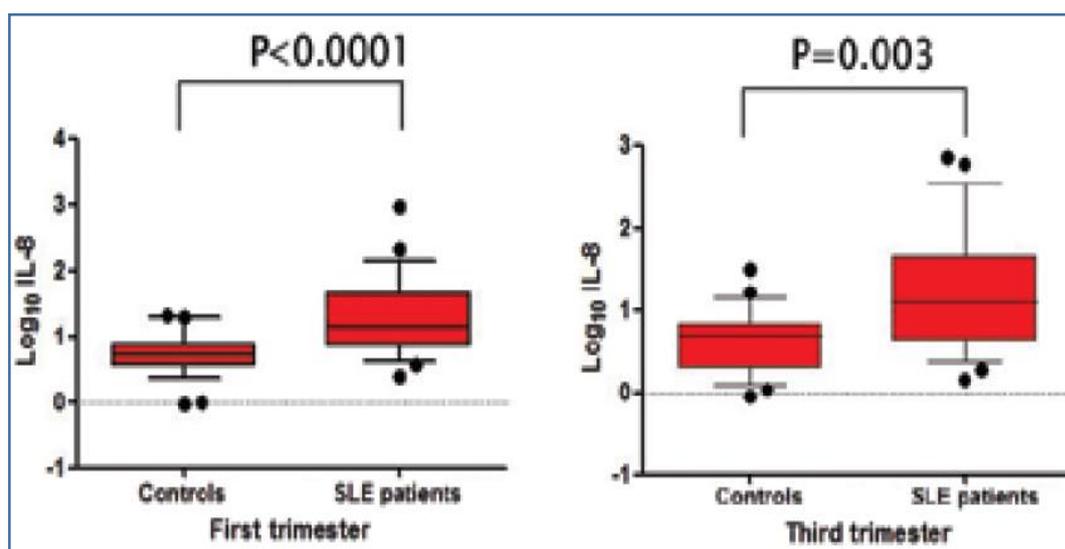


Figure 16. Taux sériques d'IL-8 chez les témoins et les patientes SLE au cours des premier et troisième trimestres de la grossesse (**Iaccarino et al., 2012**)

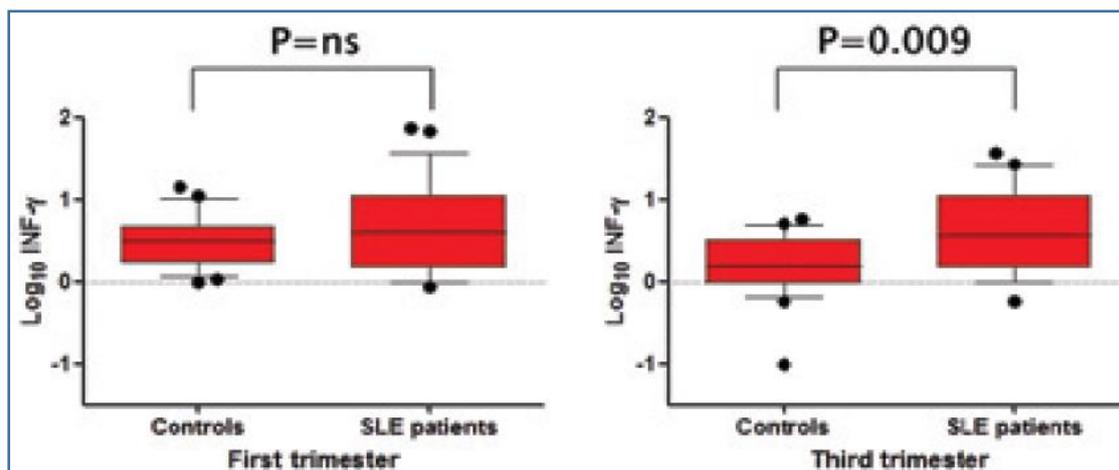


Figure 17. Taux sériques d’IFN-γ chez les témoins et les patientes lupiques au cours des premier et troisième trimestres de la grossesse (Iaccarino et al., 2012).

Résultat 4. De Jesus et ses associés 2015

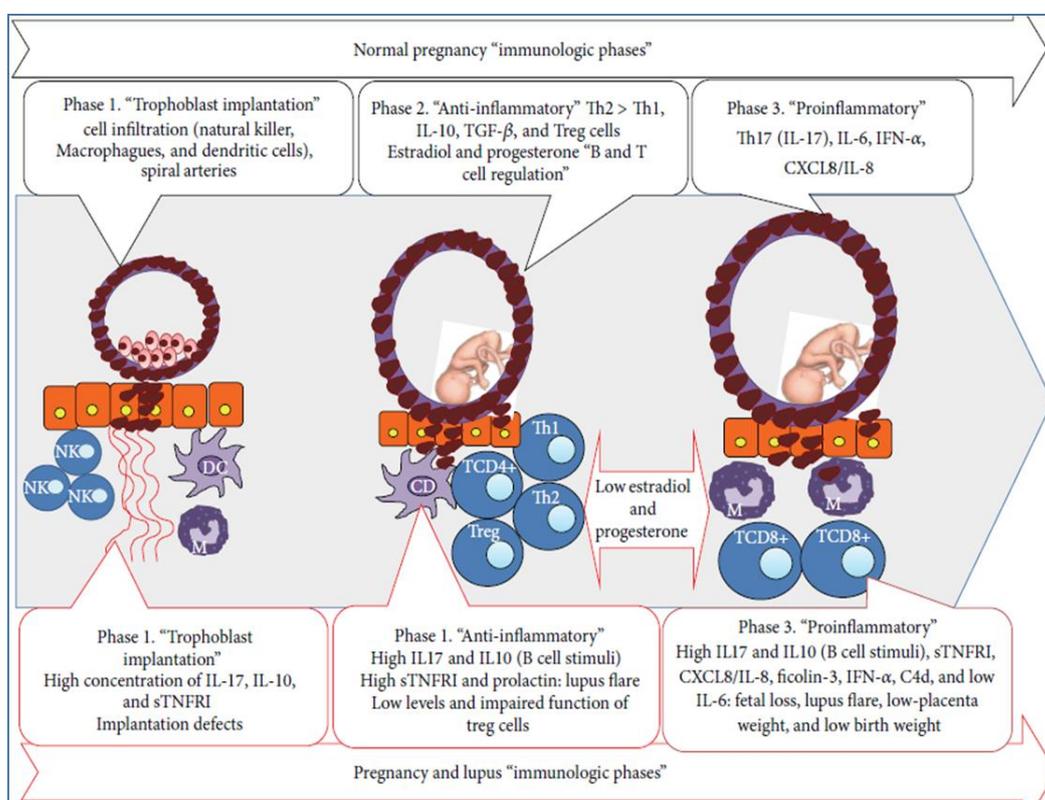


Figure 18 . Pathogénèse du lupus dans la grossesse normale et la grossesse lupique (De Jesus et al., 2015)

La figure montre les principaux éléments interagissant dans le lupus et la grossesse ; on remarque que l'activité des cellules immunocompétentes est régulée par des cytokines et des

chimiokines avec des cellules T auxiliaires comme effecteurs clés. Les cytokines sont des médiateurs importants agissant de concert avec d'autres facteurs pour favoriser une grossesse réussie. L'une des modifications immunologiques les plus importantes pendant la grossesse est la polarisation Th1 / Th2.

Cette revue fait une synthèse bibliographique des articles abordant comme sujet le lupus pendant la grossesse, des résultats importants sont cités dans cette dernière.

Les taux plus faibles d'œstrogènes, de progestérones et de cytokines Th2 ont été trouvés au cours du troisième trimestre de la grossesse chez les patientes SLE par rapport aux femmes enceintes en bonne santé (**Doria et al., 2004**).

Outre les cellules Th1 et Th2, il existe un troisième sous-ensemble de cellules CD4 + T auxiliaires, les cellules Th17, qui activent le système immunitaire et la famille des interleukines 17 (IL-17), ce dernier a un effet pro-inflammatoire et stimule le développement des cellules Th17, tandis que l'environnement de tolérance favorise le développement des cellules Treg (**Østensen et al., 2006**).

Un nombre accru de cellules Th17 se trouve également dans des conditions liées à la grossesse, telles que la pré-éclampsie et les fausses couches récurrentes (**Bettelliet al., 2007**).

Pendant et après la grossesse, les femmes atteintes de LED ont des concentrations sériques accrues de chimiokines CXCL8 / IL-8, CXCL9 / MIG, CXCL10 / IP-10 et IL-10 par rapport aux grossesses normales, en particulier pendant la maladie active (**Björkander et al., 2012**).

Une étude pilote (**Tower et al., 2011**) indique qu'il existe un déséquilibre entre les nombres de Treg et de Th17 chez les patientes enceintes atteintes de lupus.

Une étude récente (**Andrade D et al., 2015**) a identifié un nouveau mécanisme par lequel l'IFN- α induit un milieu antiangiogénique, augmentant la sensibilité des cellules endothéliales au facteur de croissance endothéliale vasculaire soluble (VEGF), et suggérant que l'IFN- α peut contribuer à la pathogenèse de la pré-éclampsie dans certaines grossesses lupiques.

Le **tableau VIII** résume les principales réponses hormonales et immunitaires qui sont présentes dans la grossesse normale et la grossesse lupique.

Tableau VIII. Réponse de l'organisme dans la grossesse normales et grossesse lupique (De Jesus et al., 2015)

Réponse de l'organisme	Grossesse normale	Lupus et grossesse	Manifestation clinique associée
Th17/ IL-17	Concentration élevée	Concentration plus élevée	Prè-éclampsie et perte de grossesse
Œstradiol et progestérone	Concentration plus élevée en 2 ^{ème} et 3 ^{ème} trimestre	Concentration plus basse en 2 ^{ème} et 3 ^{ème} trimestre	Fonction placentaire altérée et perte foetale
IL-6	Concentration basse au premier 1 ^{er} trimestre mais élevé au 3 ^{ème} trimestre	Concentration basse au cours des trois trimestres	Altération de la régulation immunitaire de cellules T/cellules B
IL-10	Concentration basse au 1 ^{er} trimestre mais élevé au 3 ^{ème} trimestre	Concentration élevée depuis la préconception et pendant toute la grossesse et post-partum	Stimulation continue des cellules B
Cellules Treg	Nombre élevée	Nombre bas + fonction altérée	Activité lupique
Chimiokines CXCL8 / IL-8 CXCL9 / MIG CXCL10 / IP-10	Concentration basse	Concentration élevée	Augmentation des complications de la grossesse et poussées de lupus
Ficoline-3	Concentration basse	Concentration élevée	Hémolyse
IFN-α	Concentration basse	Concentration élevée	Contribution à la prè-éclampsie
C4d	Concentration basse	Concentration élevée	Faible poids du placenta et faible poids à la naissance
Prolactine	Concentration basse	Concentration élevée	Activité lupique

DISCUSSION

La grossesse chez une femme lupique est une grossesse à risque qui nécessite un suivi particulier. Afin de mieux gérer cette maladie et ces effets les chercheurs ont tenté d'étudier le profil immunologique et surtout cytokinique de la femme enceinte lupique et d'expliquer les résultats obtenus.

Doria et ses collègues (2004) ont analysé les altérations de certaines cytokines impliquées dans l'activation immuno-inflammatoire chez les patientes enceintes lupique. Ils ont trouvé que L'IL-10, l'IL-6 et le TNFR sont impliqués dans la pathogenèse du SLE dans la mesure où ils sont considérés comme des marqueurs de l'activité de la maladie, Conformément aux données antérieures (**Piccinni et al., 1995**) sur la production d'IL-10 pendant la grossesse normale, les taux d'IL-10 ont progressivement augmenté chez les femmes enceintes en bonne santé. À l'inverse, les taux sériques ont été anormales et persistants d'IL-10 chez les patientes atteintes de lupus, avant ou pendant la grossesse, semblent soutenir l'idée que la surproduction d'IL-10 dans le LE est principalement constitutive plutôt que modulée par les hormones gonadiques (stéroïdes). Les taux sériques d'IL-10 étaient constamment plus élevés chez les patients atteints d'une maladie active que chez ceux atteints d'une maladie inactive . Dans une autre étude **Andrade et ses coopérateurs (2015)** , les taux sériques d'IL-10 chez les patientes enceintes lupique étaient plus élevés pendant toute la grossesse.

L'étude réalisée par **Iaccarino et ses cosignataires (2012)** les taux sériques l'IL-10 était plus élevée chez les patients lupiques que chez les femmes en bonne santé. Ces données sont comparables à celles publiées par **Torricelli et ses collaborateurs (2011)** qui ont trouvé des taux sériques d'IL-10 plus élevés chez les patientes enceintes lupiques par rapport aux femmes enceintes en bonne santé, et les taux sériques d'IL-10 augmentaient progressivement pendant la grossesse. De même, **Muñoz-Valle et ses associés (2003)** , ont montré des taux d'IL-10 plus élevés chez les patientes enceintes LE que chez les femmes enceintes en bonne santé, en particulier pendant le dernier trimestre de la grossesse ,d'autre part L'IL-6 favorise la différenciation Th2 et inhibe simultanément la polarisation Th1. Ainsi, une polarisation Th2 plus faible a été observée pendant la grossesse chez les patientes de lupus par rapport aux témoins enceintes en bonne santé, en particulier au troisième trimestre de la gestation. Cette caractéristique peut s'expliquer par les taux d'œstrogène et de progestérone plus faibles que prévu au cours des deuxième et troisième trimestres de la grossesse, qu'ils ont rapportés. Puisque la polarisation Th2 est considérée comme importante pour que le trophoblaste envahisse et s'ancre dans les décidues, assurant le maintien de la grossesse, on peut expliquer

pourquoi les patientes ont réussi à mener à bien leurs grossesses. Une explication potentielle est que les profils de cytokines pourraient être différents à l'interface foeto-maternelle par rapport à ceux mesurés dans la circulation systémique, et les faibles niveaux d'oestrogène et de progestérone produits par le placenta pourraient au moins être suffisants pour induire une polarisation Th2 localisée à ce niveau, permettant une tolérance maternelle aux antigènes paternels et donc une gestation réussie (**Andrade et al., 2015**).

Dans l'étude **Doria et ses collègues (2004)**, ils ont trouvés que chez les patients atteints de lupus, une augmentation de la production d'IL-6, les taux d'IL-6 augmentent de manière significative au deuxième et encore plus au troisième trimestre, les taux sériques d'IL-6 inférieurs aux attentes observés chez nos patients au troisième trimestre pourraient être dus aux faibles taux sériques d'oestrogènes et / ou de progestérone. Ces données concordent avec celles **d'Opsjln et ses associés (1993)**.

Selon **Tower et ses collaborateurs (2011)** l'augmentation des concentrations de cortisol, de progestérone et d'œstradiols observés pendant la grossesse chez la femme en bonne santé a été associée à une augmentation des cytokines principalement produites par les cellules Th2 et à une diminution de celles principalement produites par les cellules Th1.

Les taux sériques de TNFR sont augmentés chez les patients atteints de SLE par rapport aux sujets sains, et les deux récepteurs (TNFR I et TNFR II) peuvent être en corrélation avec l'activité de la maladie. Il a été observé, bien que dans un nombre relativement restreint de cas, qu'une grossesse normale s'accompagnait d'une production accrue de TNFR, ce qui pourrait en quelque sorte altérer l'activité biologique du TNF. Aucune donnée antérieure n'est disponible sur les profils de TNFR pendant la grossesse et le post-partum chez les patientes lupiques.

Il a été démontré par **Aringer et ses collègues (2003)** que le TNF- α conduit à une hypo-réactivité des lymphocytes T et contrôle l'auto réactivité induisant l'apoptose des lymphocytes T dans le sang périphérique. D'autre part, le TNF- α a été trouvé dans des biopsies rénales et cutanées dans le SLE et serait responsable de lésions tissulaires..

CONCLUSION

Le lupus est une maladie auto-immune caractérisé par une perte de tolérance à la fois dans les compartiments des cellules T et des cellules B.

Pendant la grossesse, la réponse immunitaire maternelle est caractérisée par une polarisation Th2 :« IL-4(rôle dans l'invasion trophoblastique et le contrôle de l'angiogenèse au niveau des villosités trophoblastiques, IL-10 (dont le rôle réside dans son pouvoir modulateur de l'immunité maternelle pour permettre la tolérance de l'allogreffe fœtale), TGF- β (induit sécrétion de l'IL-6 par cellules épithéliales utérines aboutissement a une diminution transitoire de la réponse de type Th1 de la mère aux antigènes HLA de classe I du père). et IFN- γ (une voie centrale dans l'initiation du remodelage de la vascularisation endométriale) ».

Cette polarisation supprime simultanément la production de TNF- α « cytokine Th1».

Les résultats des études ont montré que les taux sériques d'IL-6 sont restés faibles et n'ont pas augmenté au troisième trimestre de la grossesse, comme ils l'ont fait chez les témoins, l'IL-10 a augmenté progressivement pendant la grossesse chez les femmes en bonne santé en revanche, les taux d'IL-10 étaient déjà significativement plus élevés à la conception chez les femmes enceintes lupiques et sont restés élevés tout au long de la grossesse et du post-partum les taux sériques de TNFR I soluble étaient significativement plus élevés chez les patients que chez les témoins mais ils sont pas significativement différent pendant la grossesse. . L'IL-10, l'IL-6 et le TNFR semblent être impliqués dans la pathogenèse du lupus dans la mesure où ils sont en corrélation avec l'activité de la maladie.

Les taux sériques de cytokines ne sont pas corrélés avec l'âge au moment de la conception.

Aucune différence dans les taux sériques de cytokines chez les patientes lupiques ayant des antécédents de fausses couches par rapport à celles qui n'en ont pas été observée; de plus, les taux de cytokines n'étaient pas corrélés avec le nombre de fausses couches antérieures.

L'étude du profil cytokinique chez la femme enceinte lupique nécessite d'être poursuivie dans le but de déterminer les causes d'apparition ou de l'aggravation du lupus mais aussi pour spécifier les cytokines impliquées dans la physiopathologie et cela pour mieux gérer la maladie.

Références bibliographiques

A

Abehsira A O., Gibert M., Jolij M., Theze J., Jankovic D L. (1992). IL-4 plays a dominant role in the differential development of Tho into Th1 and Th2 cells. *The Journal of Immunology*, 148 (12) , 3820-3829.

Andrade D., Kim M., Blanco L., Karumanchi A., Koo G., Redecha P., Kirou K., Alvarez A., Mulla M., Crow M., Abrahams V., Kaplan M., Salmon J. (2015). Interferon- α and angiogenic dysregulation in pregnant lupus patients destined for pre-eclampsia. *Arthritis & Rheumatology* , 67(4), 977–987.

Aringer M., Smolen J S. (2003).SLE - Complex cytokine effects in a complex autoimmune disease, tumor necrosis factor in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research and Therapy*, 5, 172-177.

Armas-Cruz R., Harnecker J ., Ducach G., Jalil J., Gonzalez F. (1958). Clinical diagnosis of systemic lupus erythematosus. *The American Journal of Medicine*, 25 (3) , 409-419.

B

Benyettou F. (2011). Lupus et Grossesse. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en médecine générale : Université ABOU BAKER BELKAID de Tlemcen.

Bettelli E., Oukka M., Kuchroo V K .(2007).TH-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity. *Nature Immunology*, 8 (4), 345–350.

Björkander S., K. Bremme, Persson J O., Vollenhoven R F., Sverremark-Ekström E., Holmlund U. (2012).Pregnancy associated inflammatory markers are elevated in pregnant women with systemic lupus erythematosus. *Cytokine*, 59 (2), 392–399.

Boehm U., Klamp T.,Groot M., J Howard C. (1997). Cellular responses to interferon-gamma. *Annual review of immunology*, 15, 749-795.

Bouchhab A. (1982). Les manifestations systémiques du lupus érythémateux disséminé. Thèse de Doctorat en Médecine : Université CADI AYYAD faculté de médecine et de pharmacie Marrakech.

C

Chaouat, G., Menu E., Delphin S.,Khrihnan L., Hui L., Meliani A A., Martal J., Raghupathy R., Wegmann T G. (1996).The emerging role of IL-10 in pregnancy. *American journal of Reproductive Immunology*, 35 (4), 325-329.

Clowse M E B.(2007).Lupus activity in pregnancy.*Rheumatic Disease Clinics of North America*, 33(2), 237–252.

COFER, Collège Français des Enseignants en Rhumatologie ,Pathologies auto-immunes : aspects épidémiologiques, diagnostiques et principes de traitement, Disponible sur < <http://www.lecofer.org/item-cours-1-15.php>>, 27/10/2020.

D

Davis L. S., Hutcheson J., Mohan C.(2011). The Role of Cytokines in the Pathogenesis and Treatment of Systemic Lupus Erythematosus. *the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 31(1), 781–789.

De Jesus G R., Mendoza-Pinto C., de Jesus N R., Dos Santos F C., Klumb E M., Carrasco M G., Levy R A. Understanding and Managing Pregnancy in Patients with Lupus. *Autoimmune diseases*, 2015, 943490.

Dimitriadis E., White C A., Jones R L., Salamonsen L A.(2005). Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Human reproduction update* ,11(6) , 613-30

Dinarello A C.(2007). Historical Review of Cytokines. *European Journal of Immunology* . 37 (1) , 34-45.

Doria A., Ghirardello, A., Iaccarino, L., Zampieri, S., Punzi, L., Tarricone, E., Ruffatti, A., Sulli, A., Sarzi-Puttini, P. C., Gambari, P. F., & Cutolo, M. (2004). Pregnancy, cytokines, and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism*, 51(6), 989–995.

Doria, A., Cutolo, M., Ghirardello, A., Zen, M., Villalta, D., Tincani, A., Punzi, L., Iaccarino, L., & Petri, M. (2012). Effect of pregnancy on serum cytokines in SLE patients. *Arthritis research & therapy*, 14 (2, R66), 2-7.

H

Hahn B.H. (1998). Antibodies to DNA. *New England Journal of Medicine* , 338 , 1359-1368.

I

Iaccarino L., Ghirardello A., Zen M., Villalta D., Tincani A., Punzi L. et Doria A. (2012). Polarization of TH2 response is decreased during pregnancy in systemic lupus erythematosus : Division de rhumatologie, Université de Padoue, Italie. *Reumatismo*, 64 (5) , 314-320.

J

Jaattela M., Kuusela P., Saksela E. (1988) .Demonstration of tumor necrosis factor in human amniotic fluids and supernatants of placental and decidual tissues. *Laboratory investigation*, 58(1) , 48-52.

K

- Kindt T J., Goldsby R., Osborne B. IMMUNOLOGIE. 6^e édition. DUNOD, 2006. 684.
- Kowal C., Degiorgio L A., Lee J Y., Edgar M A., Huerta P T., Volpe B T. (2006). Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 103, 19854-19859.

M

- Mallavaapu R K., Grimsley E W. (2007). *The History of Lupus Erythematosus. Southern medical journal*, 100 (10) , 896-898.
- Mazozi F. (2016). Lupus et grossesse (A propos de 15 cas dans l'hôpital militaire Mouley Ismail de Meknès). Thèse pour obtenir le grade de Doctorat en médecine : Université SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH.
- Mor G., Cardena I., Abrahams V., Guller S.(2011,) .Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1221 (1), 80-87.
- Mosman T S., Sad S. (1996). The expanding universe of T-cell subsets Th1,Th2 and more. *Immunology Today*. 17(3), 138-146.
- Mueller-Eckhardt, G., Mallmann P., Neppert J., Lattermann A., Melk A., Heine O., Pfeiffer R., Zingsem J., Domke N., Mohr-Pennert A.(1994).Immunogenetic and serological investigations in non pregnant and in pregnant women with a history of recurrent spontaneous abortions. German RSA/IVIG Study Group . *Journal of reproductive immunology*, 27 (2) ,95-109.
- Muñoz-Valle J., Vázquez-Del Mercado M., García-Iglesias T., Orozco-Barocio G., Bernard-Medina G., Martínez-Bonilla G., Bastidas-Ramírez B E., Navarro A D., Bueno M., Martínez-López E., Best-Aguilera C R., Kamachi M., Armendáriz-Borunda J. (2003). T(H)1/T(H)2 cytokine profile, metalloprotease-9 activity and hormonal status in pregnant rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus patients. *Clinical and experimental immunology* , 131(2), 377-384.

O

- Opsjln S L., Wathen N C., Tingulstad S., Wiedswang G., Sundan A., Waage A., Austgulen R. (1993). Tumor necrosis factor, interleukin-1, and interleukin-6 in normal human pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology* , 169 (2 Pt 1), 397-404.

Østensen M., Förger F., Villiger P M. (2006). Cytokines and pregnancy in rheumatic disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1069, 353–363.

OZYME, équipements et services les laboratoires de recherche en biologie moléculaire biologie cellulaire et immunologie, Les outils pour quantifier les cytokines, Disponibles sur : <<https://www.ozyme.fr/ressources/cyberlettres/techozyme/techozyme16-quantification-cytokines.asp>>, 26/10/2020.

P

Paiva P., Menkhors E., Salamonsen L., Dimitriadis E. (2009). Leukemia inhibitory factor and interleukin-11: critical regulators in the establishment of pregnancy. *Cytokine and growth factor reviews*, 20 (4), 319-328.

Piccinni M P., Giudizi M G., Biagiotti R., Beloni L., Giannarini L., Sampognaro S., Parronchi P., Manetti R., Annunziato F., Livi C. (1995). Progesterone favors the development of human T helper cells producing Th2-type cytokines and promotes both IL-4 production and membrane CD30 expression in established Th1 cell clones. *The Journal of Immunology*, 155 (1), 128–33.

R

Raghupathy R. (1997). Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunology Today*, 18 (10), 478-82.

Rojas M., Rodríguez Y., Leon K J., Pacheco Y., Acosta-Ampudia Y., Monsalve D M., Ramírez-Santana C, Anaya J.(2018). Cytokines and inflammatory mediators in systemic lupus erythematosus. *European Medical Journal Rheumatology*, 5, 83-92.

S

Shutterstock, microstock des photographies disponible sur :< <https://www.shutterstock.com/fr/image-vector/cytokines-cytokine-receptor-signal-transduction-between-690614386> 21/12/2020>, 21/12/2020

T

Torricelli M., Bellisai F., Novembri R. (2011). High levels of maternal serum IL-17 and activin a in pregnant women affected by SLE. *American journal of reproductive immunology*, 66 (2), 84-9.

Tower C., Crocker I., Chirico D., Baker P., Bruce I. (2011). SLE and pregnancy: the potential role for regulatory T cells. *Nature Reviews Rheumatology*, 7 (2), 124–128.

ملخص

الذئبة الحمامية هي مرض مزمن من أمراض المناعة الذاتية ومتعدد الأجهزة يحدث بشكل رئيسي في النساء في سن الإنجاب. تلعب السيتوكينات دورًا أساسيًا في هذا المرض لأن تنظيم الجهاز المناعي يعتمد عليه.

تم اكتشاف مجموعة كبيرة من السيتوكينات المشاركة في تنظيم المناعة أثناء الحمل في المرضى الذين يعانون من الذئبة الحمامية مثل IL-1- β و IL-2 و IL-6 و IL-10 و TNF في الأمصال التي تم الحصول عليها في البداية وفي الثلث الثالث من الحمل بواسطة ELISA.

أظهرت نتائج الدراسات أن مستويات IL-6 في الدم ظلت منخفضة ولم تزداد في الثلث الثالث من الحمل ، كما فعلت في الشواهد ، زاد IL-10 تدريجيًا خلال على النقيض من ذلك ، كانت مستويات IL-10 أعلى بشكل ملحوظ عند الحمل عند النساء الحوامل المصابات بمرض الذئبة الحمراء وظلت مرتفعة طوال فترة الحمل وبعد الولادة ومستويات المصل كان TNFR I القابل للذوبان أعلى بشكل ملحوظ في المرضى منه في الضوابط لكنهم لم يختلفوا بشكل كبير أثناء الحمل. يبدو أن IL-10 و IL-6 و TNFR تستخدم في التسبب في مرض الذئبة لأنها ترتبط بنشاط المرض.

الكلمات المفتاحية: أمراض المناعة الذاتية ، الذئبة الحمامية ، الذئبة الحامل ، السيتوكينات ، IL-10.

summary

Lupus erythematosus is a chronic, autoimmune, multisystem disease that occurs primarily in women of childbearing age. Cytokines play an essential role in this disease because the regulation of the immune system depends on it.

A large panel of cytokines involved in immune regulation during pregnancy in patients with lupus erythematosus such as IL-1- β , IL-2, IL-6, IL-10, TNF were detected in sera obtained at the first and in the third trimester of pregnancy by an ELISA.

The results of the studies showed that serum IL-6 levels remained low and did not increase in the third trimester of pregnancy, as they did in controls, IL-10 gradually increased during pregnancy in healthy women by contrast, IL-10 levels were already significantly higher at conception in pregnant women with SLE and remained high throughout pregnancy and postpartum, serum levels soluble TNFR I were significantly higher in patients than in controls but they were not significantly different during pregnancy. IL-10, IL-6 and TNFR appear to be used in the pathogenesis of lupus as they correlate with disease activity.

Keywords: Autoimmune disease, Lupus erythematosus, Lupus pregnant women, Cytokines, IL-10.