



*Université Lille 2
Droit et Santé*

UNIVERSITÉ DU DROIT ET DE LA SANTÉ - LILLE 2
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG

Année 2014

**THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

**Intérêt du dosage des chaînes légères libres des immunoglobulines
dans la sclérodémie systémique : étude prospective contrôlée
chez 134 malades.**

Présentée et soutenue publiquement le 24 février 2014

par Aurélia Lanteri

Jury

Président : Monsieur le Professeur Pierre-Yves Hatron

Assesseurs : Monsieur le Professeur Éric Hachulla

Monsieur le Docteur Sylvain Dubucquoi

Directeur de Thèse : Monsieur le Professeur David Launay

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	3
RÉSUMÉ.....	5
INTRODUCTION.....	7
PATIENTS ET MÉTHODES.....	14
1. PATIENTS.....	14
2. TEMOINS.....	14
3. PROTOCOLE.....	15
4. TESTS BIOLOGIQUES.....	17
5. ANALYSE STATISTIQUE.....	18
RÉSULTATS.....	20
1. DESCRIPTION DES POPULATIONS.....	20
1.1 <u>Sujets contrôles</u>	20
1.2 <u>Patients atteints de sclérodermie systémique</u>	20
1.2.1 <u>Caractéristiques démographiques</u>	20
1.2.2 <u>Activité et sévérité de la sclérodermie</u>	22
1.3 <u>Traitements</u>	23
2. COMPARAISON DU TAUX DES sFLC ENTRE SUJETS TÉMOINS ET CONTROLES.....	26
3. ÉTUDE DES sFLC CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE SCLÉRODERMIE SYSTÉMIQUE.....	27
3.1 <u>Corrélation entre les sFLC et les caractéristiques cliniques de la sclérodermie</u>	27
3.2 <u>L'élévation des sFLC est corrélée aux autres marqueurs</u>	

<u>d'activation lymphocytaire B et d'inflammation chronique</u>	31
3.3 <u>Les sFLC sont un marqueur d'activité de la maladie</u>	35
3.4 <u>sFLC et gravité de la maladie</u>	39
3.4.1 <u>Gravité globale</u>	39
3.4.2 <u>sFLC et gravité de l'atteinte pulmonaire</u>	43
3.5 <u>sFLC et atteinte cutanée</u>	46
3.6 <u>Facteurs indépendants de la sclérodemie modifiant les sFLC</u>	47
3.7 <u>Association à d'autres maladies auto-immunes</u>	48
3.8 <u>Détermination d'un seuil de sFLC significatif sur le plan clinique</u>	48
DISCUSSION	55
ANNEXE 1 : Critères de classification de la SSc de l'American Rheumatism Association (ARA), 1980	65
ANNEXE 2 : Critères de classification des formes débutantes de Sclérodemie systémique (Leroy et Medgser, 2001)	66
ANNEXE 3 : SCORE DE RODNAN MODIFIÉ	67
ANNEXE 4 : SCORE D'ACTIVITÉ EUSTAR	68
ANNEXE 5 : SCORE DE GRAVITÉ MEDGSER	69
ANNEXE 6 : QUESTIONNAIRE QUALITÉ DE VIE HAQ	70
ANNEXE 7 : BIOLOGIE DES CHAINES LÉGÈRES LIBRES ET IMPLICATION EN PATHOLOGIE HUMAINE	72
BIBLIOGRAPHIE	102

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Ac : Anticorps

ACA : Anti-Centromere Antibodies

ACR : American College of Rheumatology

Ag : Antigène

Anti-ccp : anti-cyclic citrullinated peptid

APRIL : Proliferation-inducing-ligand

BAFF : B-cell Activating Factor of the TNF Family

BCMA : B cell activation antigen

BCR : B-cell Receptor

BlyS : B Lymphocyte Stimulator

BPCO : Broncho-pneumopathie Chronique Obstructive

CMH : Complexe majeur d'Histocompatibilité

CRP : C-reactive proteine

dcSSc : diffuse cutaneous systemic sclerosis

DMARDs : Disease modifying antirheumatic drugs

FLC : Free Light Chains

FR : Facteur Rhumatoïde

HLA : Human Leucocyte Antigen

HTAP : Hypertension artérielle pulmonaire

Ig : Immunoglobuline

IgA : Immunoglobuline A

IgG : Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobuline M

LB : Lymphocyte B

LBA : Liquide Broncho-Alvéolaire

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

IcSSc : limited cutaneous systemic sclerosis

LES : Lupus Erythémateux Systémique

LLC : Leucémie lymphoïde chronique

LMNH : Lymphome malin non Hodgkinien

ISSc : limited systemic sclerosis

LT : Lymphocyte T

MH : Maladie de Hodgkin

MICI : Maladie inflammatoire Chronique Intestinale

MMF : Mycophénolate Mofétil

PID : Pneumopathie interstitielle diffuse

PR : Polyarthrite Rhumatoïde

RGO : Reflux gastro-oesophagien

SAPL : Syndrome des Anti-Phospholipides

SD : Standard Deviation

SEP : Sclérose en Plaque

sFLC : serum free light chains

SGS : Syndrome de Gougerot-Sjögren

SSc : Sclérodémie systémique

TACI : Transmembrane activator and CAML interactor

TNF : Tumor Necrosis Factor

VS : Vitesse de sédimentation

RÉSUMÉ

Contexte

La synthèse des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines par les lymphocytes B (LB) se fait avec un excès de chaînes légères, libérées dans la circulation sanguine sous forme libre (serum Free Light Chains, sFLC). Leur étude dans les situations de stimulation immunitaire chronique polyclonale est en plein essor. Dans le lupus, la polyarthrite rhumatoïde, et le syndrome de Gougerot-Sjögren, il a été démontré que leur taux est plus élevé que chez les sujets sains, et qu'il est corrélé à l'activité de ces maladies. Aucune donnée n'existe à ce sujet dans la sclérodémie systémique (SSc),

Méthode

134 patients SSc ont été inclus prospectivement. Les données suivantes ont été recueillies : date de diagnostic, forme clinique, atteintes viscérales, score d'activité et association à d'autres maladies auto-immunes. Le dosage des sFLC (Combylite®, The Binding Site, Birmingham, RU), et des autres marqueurs d'activation lymphocytaire B (taux de gammaglobulines, facteur rhumatoïde, β 2-microglobuline, B-cell Activating Factor of the TNF Family BAFF) ont été réalisés à l'inclusion. Les taux de sFLC des patients ont été comparés à ceux de 401 sujets donneurs de sang appariés par le sexe et par tranche d'âge.

Résultats

Les taux moyens et médians de sFLC sont significativement plus élevés chez les patients SSc (médiane 19,99 mg/l, moyenne 24,03 mg/l) comparativement aux contrôles (médiane 15,43 mg/l, moyenne 17,50 mg/l). En analyse univariée, il existe une corrélation

significative entre le taux de sFLC et le score de Rodnan modifié ($p=0,0099$), les antécédents d'ulcérations digitales (UD) ($p=0,0426$), la pression artérielle pulmonaire systolique ($p=0,0369$), la DLCO ($p=0,0063$), ainsi qu'avec les scores d'activité EUSTAR ($p=0,009$) et de gravité MEDGSER ($p=0,0001$), la vitesse de sédimentation ($p<0,0001$), la CRP ($p=0,0002$), et tous les marqueurs d'activation B. L'analyse multivariée a mis en évidence une relation forte et indépendante entre le taux de sFLC et l'existence d'une atteinte pulmonaire interstitielle et sa sévérité, les antécédents d'UD, et tous les marqueurs B à l'exception du taux d'IgM.

Conclusion

Notre étude montre pour la première fois que le taux des sFLC est plus élevé chez les patients SSc que chez les sujets sains. Ce taux est corrélé à la présence d'atteintes fibrosantes de la SSc, à leur sévérité et à l'activité de la maladie. Ces résultats constituent des arguments supplémentaires pour évoquer la participation active des LB à la physiopathologie de la SSc.

INTRODUCTION

La sclérodermie systémique (SSc) est une pathologie chronique à composante autoimmune caractérisée par une fibrose cutanée et viscérale pouvant engager le pronostic fonctionnel et vital des patients, Plus de 90% des patients ont des anticorps (Ac) anti-nucléaires, en particulier des Ac anti topoisomérase 1 et anticentromère (ACA) (1). Ces anticorps sont le plus souvent mutuellement exclusifs et sont associés à des formes cliniques distinctes de la maladie, avec un spectre d'atteintes viscérales et un pronostic différents. Cependant, leur rôle direct dans le développement de la fibrose et des anomalies micro-vasculaires observées est incertain (2,3). Encore récemment, on considérait la SSc comme une maladie principalement médiée par les Lymphocytes T (LT), les auto-anticorps détectés étant plutôt considérés comme un résultat de l'activation des LB par les LT spécifiques.

Ainsi, les LT auto-réactifs sont au centre des interactions avec les cellules de l'immunité innée et avec les LB spécifiques qu'ils activent et dont ils amplifient la réponse dans les centres germinatifs. Ils sont à l'origine de la synthèse de cytokines pro-inflammatoires et pro-fibrosantes (TGF-béta, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-13, IL-17A), via une polarisation Th2 et l'activation des monocytes et des fibroblastes. Cette polarité Th2 favorise également l'activation de l'immunité humorale (4,5). Les LT contribuent aussi aux anomalies micro-vasculaires observées dans la maladie *via* leur action sur les cellules endothéliales. Cependant, toutes les thérapeutiques immunosuppressives classiquement utilisées dans les formes graves de la maladie et visant les LT n'ont pas une efficacité totale (6).

Fortes des données disponibles dans le lupus érythémateux systémique (LES) et la polyarthrite rhumatoïde (PR), deux pathologies auto-immunes systémiques dans

lesquelles le traitement anti-lymphocytaire B (Ac anti-CD20) a montré une réelle efficacité (7,8), des équipes se sont intéressées à l'implication des LB dans le développement de la SSc en dehors de leur rôle de précurseur des plasmocytes, sécréteurs d'auto-Ac (9).

Il existe tout d'abord une infiltration lymphocytaire B dans la peau et les poumons des sujets atteints de SSc, et l'expression de leurs gènes est augmentée (10,11). Il est également suggéré depuis longtemps que les LB des patients présentent un niveau d'activation polyclonale anormal, à l'origine de l'hypergammaglobulinémie que l'on peut observer (12). Ceci a pu être confirmé récemment : les LB mémoire des patients SSc expriment des molécules de co-stimulation (CD80 et CD86), et de signalisation de l'apoptose (CD95), signant leur état d'activation (13). Cette hyperactivation chronique et constitutionnelle est secondaire en particulier à des anomalies dans l'expression de molécules impliquées dans la régulation positive ou négative de la transduction du signal engendré par la reconnaissance et la liaison d'un antigène (Ag) par le BCR. Le CD19 est une de ces molécules clé activatrice (14) ; il est spécifique de la lignée B (du stade pré-B avec réarrangement de la chaîne lourde des immunoglobulines au stade de plasmocyte mature), et régule également un niveau d'activation cellulaire basal indépendant de l'Ag (15). Ainsi, une augmentation de 29% de sa densité membranaire chez la souris conduit à l'auto-immunité (16,17). A l'inverse, sa délétion a pour conséquence de stopper la synthèse d'auto-Ac spécifiques, d'abolir l'hypergammaglobulinémie (18) et de diminuer la sclérose cutanée de 40% chez la souris TSK (modèle génétique spontané de SSc, associant sécrétion d'auto-Ac très similaires à ceux retrouvés dans la maladie et sclérose cutanée) (19). Le CD19 n'est pas surexprimé chez cette souris, mais son fonctionnement est constitutionnellement augmenté. Les mêmes effets que ceux observés après sa déplétion sont observés après administration d'Ac anti-CD20 (20), et d'antagonistes de BAFF (B cell Activating Factor of the TNF Family). BAFF est molécule membre de la

superfamille des TNF, dont le rôle dans la survie et la maturation des LB à tous les stades de leur développement est bien démontré (21,22). Chez la souris traitée par Bléomycine (inducteur de fibrose notamment pulmonaire et d'auto-immunité), le déficit en CD19 diminue la sévérité de la fibrose pulmonaire (23).

Chez les patients SSc, la densité membranaire en CD19 des LB est supérieure de 20% à celle des sujets sains (13), et il semble exister un polymorphisme des gènes d'expression associé à une susceptibilité accrue pour la maladie (24). Un polymorphisme du CD22, molécule régulatrice négative, inhibant notamment le CD19, a aussi été mis en évidence. Il est associé à une diminution de l'expression à la surface des LB et à une susceptibilité pour la SSc de forme cutanée limitée (25). Il existe des Ac anti-CD22 chez la souris TSK (26).

L'homéostasie du compartiment B circulant est également perturbée chez les malades (13), avec un excès de LB naïfs, compensant un déficit en LB mémoire et en plasmablastes, secondaire sans doute à un excès d'apoptose. Bien qu'en nombre diminué, ces LB mémoire sont hyperactivés, responsables d'une synthèse accrue d'immunoglobulines (Ig), et surexpriment le CD19. Ces LB hyper-réactifs ont sans doute un rôle dans l'initiation du processus d'auto-immunité, en permettant la rupture de la tolérance au soi, et donc la synthèse d'auto-Ac.

Indépendamment de cette synthèse d'Ig, les LB activés sont également de très bonnes cellules présentatrices d'antigène, et peuvent donc activer les LT spécifiques. Cette activation va se faire vers une polarité Th2, via la synthèse d'IL-6 et d'IL-10 par le LB (27,28). Ils ont également à l'état physiologique un rôle immunomodulateur, via l'IL-10, capable d'inhiber les LT effecteurs (29). Un rôle pathogène direct dans la genèse de la fibrose est aussi suspecté, puisque l'IL-6 synthétisée par les LB activés est une cytokine pro-fibrosante, dont l'élévation dans le sérum et la peau des malades est corrélée au

score de Rodnan (30). Les LB synthétisent également du TGF- β (Transforming Growth Factor- β) *in vitro* (31), autre molécule pro-fibrosante.

L'intensité de cette activation chronique LB est cependant difficile à mesurer et à interpréter. En effet, le titre des auto-Ac spécifiques de la maladie ne constitue pas un facteur pronostic, et ses fluctuations dans le temps ne sont pas, ou peu, associées à son activité ou au contraire à une amélioration. Si l'administration de RITUXIMAB (Ac anti-CD20) a pu donner des résultats encourageants sur l'atteinte pulmonaire et cutanée chez des malades atteints de formes diffuses sévères (études ouvertes), la réponse au traitement ne s'accompagne pas de diminution significative du titre des auto-Ac, alors que l'infiltration cutanée et pulmonaire LB tend à diminuer (32–34).

Très peu de données sont disponibles quant à la signification du taux de gammaglobulines dans la SSc. Une hypergammaglobulinémie est décrite dans le modèle murin TSK et disparaît avec la délétion du CD19 (18). Chez l'homme, une étude japonaise réalisée chez 97 patients SSc a montré qu'il existe une élévation plasmatique significative des IgG dans la SSc compliquée de fibrose pulmonaire, et que cette élévation est corrélée négativement à la capacité vitale fonctionnelle (CVF) et à la capacité de diffusion libre du CO (DLCO), et positivement avec l'IL-6 (35). Les variations de la DLCO et de la CVF sont corrélées avec celles des IgG (36). Leur taux est augmenté dans le liquide bronchiolo-alvéolaire (LBA) des patients avec atteinte pulmonaire active (37), faisant des IgG un possible marqueur de l'atteinte pulmonaire et d'activité de la maladie, et un témoin de l'activation lymphocytaire B. Cette idée est renforcée par la présence d'un infiltrat précoce de plasmocytes dans les poumons atteints (38). Le taux d'IgG n'est par contre pas corrélé au score de Rodnan (35).

Quelques données existent également sur les facteurs de survie cellulaire B : BAFF voit

son expression augmenter dans la SSc, particulièrement dans les formes diffuses (39), et est corrélé au score de Rodnan. Le niveau de synthèse d'APRIL (A Proliferation Inducing Ligand, appartenant à la même superfamille des TNF que BAFF) par les cellules sanguines mononucléées semble aussi corrélé à la sévérité de la maladie (40).

Aucune étude à notre connaissance, ne s'est intéressée aux autres marqueurs d'activation polyclonale B. Aux vues des données disponibles sur le phénotype particulier des LB dans la maladie et de ces résultats, on peut émettre l'hypothèse que ces marqueurs d'activation B sont augmentés, et peut être corrélés avec la gravité et/ou l'activité de la SSc.

Les molécules d'Ig synthétisées par les LB différenciés sont constituées de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères kappa ou lambda identiques entre elles. Chacune comprend un domaine constant porteur des fonctions effectrices pour les chaînes lourdes, et déterminant l'isotype de l'Ig (IgA, E, G, M, ou D), ainsi qu'un domaine variable, porteur de la spécificité antigénique. Les chaînes légères des Ig sont synthétisées de façon asynchrone et en excès comparativement aux chaînes lourdes. Une partie de celles-ci est libérée dans la circulation sanguine sous forme libre (serum Free Light Chain, sFLC) (cf ANNEXE sFLC) (41). Des FLC polyclonales sont donc présentes à l'état physiologique dans le sérum, et peuvent être considérées comme un reflet de la synthèse d'Ac. Leur élimination est rénale, avec une demi-vie très courte de 2 à 6 heures, alors qu'elle est beaucoup plus longue pour les Ig complètes (de 20 à 25 jours pour les IgG, 5 jours pour les IgM et 6 jours pour les IgA). Leur taux plasmatique dépend donc de la balance entre leur production et leur élimination (42).

Depuis l'avènement de méthodes de dosage immunonéphélométriques, utilisant des Ac spécifiques d'épitopes des FLC masqués dans la structure intègre des Ig (43), l'étude des sFLC est en plein essor. Elle fait à présent partie des recommandations dans le diagnostic, la stratification pronostique et le suivi des patients atteints de myélome multiple et dans d'autres pathologies plasmocytaires clonales (44). Une seule technique de dosage était jusqu'à peu commercialisée (*Freelite*, The Binding Site, Birmingham, UK) et permettait le dosage séparé des chaînes kappa et lambda ainsi que le calcul de leur ratio (modifié dans les situations d'excès de synthèse monoclonale). Des normes ont été déterminées avec cette technique, 3,3-19,4 mg/l pour les chaînes libres *kappa*, 5,7-26,3 mg/L pour les chaînes *lambda*. Le ratio *kappa/lambda* ainsi déterminé est de 0,26-1,65 (45). On s'est progressivement aperçu que leur taux augmente également en situation d'activation chronique polyclonale du système immunitaire, sans modification du ratio *kappa/lambda* dans ce cas. Ainsi, dans le lupus (46), la PR et le syndrome de Gougerot-Sjögren primaire (47–49), il a été montré qu'il existe une élévation des sFLC comparativement aux sujets sains, et qu'elles constituent un marqueur d'activité de ces maladies. Notamment, dans le lupus, leur pertinence semble équivalente à celle de la baisse du C3 et, leur taux est corrélé à la CRP et la VS dans la PR.

Dans la SSc, on sait que les formes récentes, diffuses, avec Ac antitopoisomerase 1 ou anti ARN polymérase III sont à fort potentiel d'évolutivité et de complications viscérales graves notamment pulmonaires et rénales (2). Chez ces patients, seul le suivi clinique et paraclinique régulier permet un dépistage précoce des complications, il n'existe pas d'outil d'évaluation du risque d'évolutivité à l'échelle individuelle.

Compte tenu du phénotype B activé qui semble exister dans la SSc, et des données disponibles dans d'autres maladies auto-immunes systémiques, nous nous sommes donc intéressés dans cette étude aux niveaux de sFLC chez les patients SSc.

L'objectif primaire a été de comparer le taux de sFLC chez les malades et les sujets sains. Les objectifs secondaires étaient de corrélérer ces taux aux caractéristiques cliniques et biologiques de la maladie, notamment sa gravité et son activité, ainsi qu'à d'autres marqueurs de l'activation B et notamment BAFF.

PATIENTS ET MÉTHODES

1. PATIENTS

L'étude a été conduite d'octobre 2012 à août 2013 au Centre Hospitalier Universitaire de Lille, dans le service de Médecine Interne : 134 patients atteints de sclérodémie systémique ont été inclus, les données les concernant ont été recueillies de manière prospective lors de visites programmées en consultation ou en hospitalisation de courte durée dans le cadre du suivi normal de leur maladie. Leur consentement a été recueilli.

Les critères d'inclusion étaient l'âge supérieur ou égal à 18 ans, et l'adhésion aux critères de l'American Rheumatism Association de 1980 (*cf annexe 1*) ou de Sclérodémie systémique précoce de Leroy et Medgser (2001-*cf annexe 2*).

Il n'y avait pas de critère d'exclusion. Nous avons notamment choisi de ne pas exclure les patients porteurs de syndromes de chevauchement afin de pouvoir comparer leur taux de sFLC avec celui des autres patients.

2. TÉMOINS

Les patients ont été appariés par sexe et par âge (trois tranches d'âge : sujets de 40 ans et moins, entre 41 et 60 ans, et de plus de 60 ans) à des sujets donneurs de sang, à raison de trois sujets témoins pour un malade. Nous disposions initialement du sérum de 418 donneurs, et après appariement, 401 échantillons témoins ont été aléatoirement retenus (une patiente de la deuxième tranche d'âge n'a pu être appariée qu'à deux sujets contrôle). Seules les sFLC ont été dosées dans le sérum des sujets contrôles.

3. PROTOCOLE

Les données relatives à l'histoire de la maladie ont été recueillies de façon rétrospective dans le dossier médical :

- La maladie était classée en formes cutanée diffuse, cutanée limitée ou limitée (*sine scleroderma*) selon Leroy et Medgser (2001, *cf annexe 1 et 2*).
- La présence d'auto-anticorps spécifiques de sclérodemie systémique était retenue en cas de présence confirmée à deux reprises d'Ac anti-Scl 70, anti-Centromères (ACA), anti Pm-Scl, anti-ARN polymérase III, anti-RNP ou anti-To/Th.
- La durée d'évolution de la maladie était déterminée à partir de la date de diagnostic, mais aussi à partir de la date d'apparition du phénomène de Raynaud et du premier signe clinique en dehors du Raynaud.
- L'existence d'atteintes viscérales de la maladie avait systématiquement été recherchée, notamment une hypertension artérielle pulmonaire (dépistage par échocardiographie, confirmation par cathétérisme cardiaque droit) et une atteinte pulmonaire interstitielle (explorations fonctionnelles respiratoires, scanner thoracique).
- L'association à une autre maladie auto-immune était systématiquement renseignée, à savoir l'existence d'un SGS (défini selon les critères AECG 2002), d'un LES (critères ACR), d'une PR (critères ACR), d'une thyroïdite auto-immune (présence d'anticorps anti-TPO), d'une cirrhose biliaire primitive (critères 2009 de l'AASLD), d'un syndrome de Sharp (critères de Kahn et Appelboom 1990) ou d'une scléromyosite (critères de Troyanov 2005). Un test de Shirmer et un débit salivaire sur 15 minutes étaient également systématiquement réalisés le jour de l'inclusion. L'existence d'une cryoglobulinémie était également recherchée dans le dossier médical.

- La prise d'un traitement immunosuppresseur lors de l'inclusion ou dans les 6 mois précédents, ou d'une corticothérapie supérieure ou égale à 10 mg/j d'équivalent Prednisone était également notée.

Le jour de la visite, les données cliniques permettant d'évaluer l'activité et la gravité des atteintes de la maladie ont été recueillies prospectivement :

- Score de RODNAN modifié (*cf annexe 3*), périmètre de marche de 6 minutes, et définition de la classe de dyspnée (score NYHA).
- Score d'activité EUSTAR (*cf annexe 4*), la maladie étant considérée active pour un score supérieur ou égal à 3 (50), et appréciation du médecin sur une échelle visuelle numérique de 0 à 100.
- Score de gravité MEDGSER (51) (*cf annexe 5*),
- Score de qualité de vie HAQ (*cf annexe 6*).

Les données biologiques étudiées étaient recueillies à partir d'un prélèvement réalisé le même jour :

- Une numération formule sanguine, une créatininémie, un bilan hépatique complet, une CRP, et une vitesse de sédimentation.
- Sur le plan immunologique, une recherche d'anticorps anti-nucléaires, avec titre et détermination de la spécificité, d'anticorps anti-TPO et une exploration du complément.
- Un dosage des sFLC et des autres marqueurs d'activation B (taux de gammaglobulines, dosage pondéral des IgA, IgM, et IgG, facteur rhumatoïde, β 2-microglobulinémie, BAFF). L'existence d'un pic monoclonal a systématiquement été recherchée.

Les données paracliniques (échocardiographie et explorations fonctionnelles respiratoires) étaient issues d'examens réalisés également lors de la visite, ou dataient de moins d'un an si la maladie était jugée stable par le médecin en charge du patient.

4. TESTS BIOLOGIQUES

Pour réaliser le dosage des sFLC, nous avons choisi d'utiliser une nouvelle technique utilisant des Ac monoclonaux et mesurant dans le même temps les chaînes légères kappa et lambda, le résultat rendu étant donc la somme *kappa+lambda*. Le dosage des sFLC a ainsi été réalisé sur sérum congelé à -20°C, sur automate SPA Plus, par technique immunoturbidimétrique, à partir du réactif Combylite® (The Binding Site, Birmingham, RU). Aucune valeur normale n'est pour l'instant fournie par le commerçant ou la littérature.

Les anticorps anti-nucléaires étaient dépistés sur HEP2, titrés, et leur spécificité déterminée le cas échéant par Bioplex ® (réactifs BioRAD), et éventuellement par immunoDOT. Un test de Farr était réalisé au besoin. Le dosage pondéral des Ig était réalisé par néphélométrie (BNII Siemens), la protéinurie de Bence Jones recherchée par immunofixation sur gel d'agarose SAS Elitech-Helena de même que l'immunofixation des protéines sériques. La CRP était mesurée par immunoturbidimétrie, les fractions C3 et C4 du Complément mesurées par turbidimétrie (The Binding Site). La β 2-microglobulinémie était déterminée avec les réactifs The Binding Site, et la recherche de facteur rhumatoïde animal faite par ELISA, les anticorps anti-TPO recherchés et dosés en I.C.M.A. Le dosage de BAFF a été réalisé par ELISA (Quantikine ELISA kit ®) sur sérum congelé.

La fonction rénale était évaluée par mesure de la créatininémie et calcul du MDRD à partir de l'âge (52).

5. ANALYSE STATISTIQUE

Les variables quantitatives ont été exprimées par la moyenne ou la médiane et leur écart-type, et les variables qualitatives par la fréquence et le pourcentage. La normalité des variables numériques a été testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk.

Une analyse univariée a été réalisée pour sélectionner un sous-ensemble de facteurs explicatifs du taux des sFLC. Pour comparer une variable numérique selon 2 groupes, le test de Student a été utilisé lorsque la variable numérique était normale (test paramétrique), alors que le test de Mann-Whitney a été utilisé lorsque la variable numérique était non-normale (test non-paramétrique). La corrélation entre deux variables numériques a été calculée à l'aide du coefficient de corrélation de Pearson ou Spearman selon la normalité des variables.

Les variables avec des valeurs de p inférieures à 0,2 ont été sélectionnées pour l'analyse multivariée. Pour éviter la multicolinéarité, une analyse en composantes principales a été effectuée pour identifier les variables fortement corrélées et nous avons validé les variables à inclure dans la régression linéaire multiple avec sélection des variables selon la méthode stepwise. Enfin, l'analyse des résidus a permis de valider le modèle.

Une analyse univariée a été réalisée pour sélectionner un sous-ensemble de facteurs explicatifs du taux de sFLC selon la valeur de celles-ci supérieure ou inférieure à la médiane. Pour comparer une variable numérique selon 2 groupes, le test de Student a été utilisé lorsque la variable numérique était normale (test paramétrique), alors que le test de Mann-Whitney a été utilisé lorsque la variable numérique était non-normale (test non-

paramétrique). Pour comparer les variables qualitatives selon 2 groupes, un test du Khi-deux a été réalisé ou un test de Fisher Exact en cas d'effectif théorique faible. La même méthode que précédemment a été utilisée pour l'analyse multivariée. Le pouvoir discriminant du modèle a été exprimé par l'aire sous la courbe ROC (AUC) et les OR et leur intervalle de confiance ont été exprimés.

Enfin des courbes ROC ont été effectuées pour rechercher le meilleur seuil de sFLC qui discrimine le score pulmonaire de MEDGSER et le score d'activité EUSTAR.

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées grâce au logiciel SAS software version 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC 25513). Une p-value<0.05 a été considérée comme significative.

RÉSULTATS

1 DESCRIPTION DES POPULATIONS

1.1 Sujets contrôles

Sur les 401 témoins appariés, 326 sont des femmes (81%), et 75 des hommes (19%). L'âge moyen est de 55 ± 12 ans (médiane 57 ans ; extrêmes : 25-71 ans) ; 57 sujets ont 40 ans ou moins (14% ; tranche 1), 176 entre 41 et 60 ans (44% ; tranche 2), et 168, 61 ans et plus (42% ; tranche 3).

1.2 Patients atteints de sclérodermie systémique

Les données démographiques, cliniques, immunologiques et biologiques des 134 sujets atteints de SSc étudiés sont résumées dans le tableau 1.

1.2.1 Caractéristiques démographiques

L'âge et le sexe des sujets SSc sont comparables à ceux des contrôles, validant l'appariement.

Les caractéristiques principales de la maladie sont :

- Vingt-sept patients (20%) ont une forme cutanée diffuse de la maladie (dcSSc), 107 (80%) une forme cutanée limitée (lcSSc) ou limitée (ISSc) *sine scleroderma* (respectivement 95 patients soit 71% et 12 patients soit 9%).

- Des anticorps anti-nucléaires sont retrouvés chez 131 patients (98%) ; 106 (79%) ont des Ac spécifiques de SSc : 26 patients ont des Ac anti-Scl 70 (19%), 66 des ACA (49%), 4 des anti-ARN polymérase III, 8 des anti Pm-Scl, 1 des anti-RNP et 1 des anti-Th/To.
- La maladie évolue depuis $8,5 \pm 7,4$ ans en moyenne par rapport au diagnostic, depuis $8,7 \pm 7,4$ ans par rapport au premier signe en dehors du phénomène de Raynaud, et depuis $15,9 \pm 13,9$ ans depuis l'apparition du phénomène de Raynaud.

Les atteintes principales à l'inclusion sont :

- Des antécédents d'ulcérations digitales (UD) sont retrouvés chez 56 patients (42%) mais seuls 7 (5%) ont des ulcérations actives à l'inclusion.
- Le score de Rodnan moyen est de $6,5 \pm 6,5$.
- Atteinte pulmonaire interstitielle : elle concerne 54 patients (40%).
- Hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) : 13 patients (10%) (à noter 6 patients présentant une atteinte cardiaque autre que l'HTAP, péricarditique ou myocarditique).
- La DLCO moyenne de $66 \pm 20\%$ avec des volumes pulmonaires conservés (CVF moyenne de $100 \pm 23\%$).
- La PAPs moyenne est de 33 ± 14 mmHg, sans altération de la FEVG moyenne à $63 \pm 6\%$ (FEVG modérément altérée chez 2 patients seulement).
- Atteinte rénale : 3 patients ont déjà souffert d'une crise rénale sclérodermique, un seul présente une altération séquellaire modérée de sa fonction rénale (MDRD = 49ml/kg/min).
- Un syndrome sec subjectif ou objectif est présent chez 83 patients (62%). Il s'associe à un SGS dans 23 cas (17%), avec des Ac anti SS-A 60 kDa retrouvés

chez 6 patients, des Ac anti SS-B associés chez 2 d'entre eux, et un score de Chisholm de III ou IV chez 18 d'entre eux à la biopsie de glande salivaire accessoire (BGSA).

- Atteinte articulaire : sur les 36 patients (27%) présentant une atteinte articulaire, 15 présentent un syndrome de chevauchement avec une PR, un lupus ou un syndrome de Gougerot-Sjögren.
- Atteinte musculaire : Parmi les 12 patients (9%) présentant une atteinte musculaire, 5 ont un diagnostic de scléromyosite (4 sont porteurs d'Ac anti Pm-Scl).
- Syndromes de chevauchement : 52 patients (39%) présentent au moins une autre maladie auto-immune associée. Il s'agit d'un SGS dans 23 cas (17%), d'une thyroïdite auto-immune dans 24 cas (18%), d'un lupus chez 3 patients (tous sont porteurs d'Ac anti-DNA natif, 1 a des Ac anti Sm-RNP associé), 5 ont une PR (4 ont des Ac anti-CCP, tous un facteur rhumatoïde à titre élevé), 1 un syndrome de Sharp, 5 une scléromyosite et 3 une cirrhose biliaire primitive (tous les 3 ont des Ac anti-M2). Une cryoglobulinémie est rapportée chez 11 patients (8%), de type III dans la plupart des cas (de type I dans un cas et de type II dans un autre cas). Elle est présente à chaque fois à taux faible.

1.2.2 Activité et sévérité de la sclérodémie

- La maladie est considérée comme active (score EUSTAR ≥ 3) chez 23 patients (17%), pour un score EUSTAR moyen de $1,5 \pm 1,5$, et le score d'activité attribué par le médecin sur une échelle visuelle numérique est de $23 \pm 21/100$.
- En terme de gravité, le score MEDGSER global moyen est de $5,4 \pm 2,9$.
- En terme de retentissement de la maladie sur la qualité de vie, le score HAQ moyen retrouvé est de $0,4 \pm 0,5$ en ce qui concerne les capacités fonctionnelles, et

de $34 \pm 31/100$ pour la gêne globale occasionnée par la maladie sur une échelle visuelle numérique.

1.2.3 Traitements

Vingt-huit patients (21%) de notre cohorte reçoivent une corticothérapie orale de 10 mg d'équivalent prednisone par jour au minimum (20 mg au maximum) au moment de l'inclusion, et 32 (24%) reçoivent ou ont reçu dans les six derniers mois un traitement immunosuppresseur. Ce traitement est du cyclophosphamide par voie parentérale chez 2 patients, du mycophénolate mofétil (MMF) chez 22 patients, de l'azathioprine chez 2 patients et du méthotrexate chez 6 d'entre eux. Deux patients sous MMF sont dans le même temps en cours de traitement par rituximab.

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques, immunologiques et biologiques des 134 patients

Age moyen \pm SD, ans	57 \pm 14
Sexe F/M, n (%)	109 (81%) / 25 (19%)
Forme SSc diffuse/limitée, n (%)	27 (20%) / 107 (80%)
ANA +, n (%)	131 (98%)
Auto-Ac spécifiques de SSc +, n (%)	106 (79%)
Anti-Scl 70 / ACA +, n (%)	26 (19%) / 66 (49%)
Durée d'évolution moyenne / 1 ^{er} signe hors Raynaud \pm SD ; ans	8,7 \pm 7,4
Durée d'évolution / Raynaud moyenne \pm SD ; ans	15,9 \pm 13,9
Durée d'évolution / diagnostic moyenne \pm SD ; ans	8,5 \pm 7,4
Raynaud, n (%)	131 (98%)
Rodnan moyen \pm SD	6,5 \pm 6,5
Antécédents d'UD, n (%)	56 (42%)
Présence d'UD, n (%)	7 (5%)
RGO, n (%)	107 (80%)
Classe de dyspnée NYHA médiane \pm SD	2 \pm 1
Périmètre de marche moyen \pm SD ; m/%	432m / 78 \pm 20%
HTAP, n (%)	13 (10%)
PAPs médiane \pm SD ; mmHg	30 \pm 14
FEVG moyenne \pm SD	63 \pm 6 %
Atteinte pulmonaire interstitielle, n (%)	54 (40%)
DLCO moyenne \pm SD	66 \pm 20%
CVF moyenne \pm SD	100 \pm 23%
Antécédent de crise rénale, n (%)	3 (2%)
Atteinte articulaire, n (%)	36 (27%)
Atteinte musculaire, n (%)	12 (9%)
Syndrome sec subjectif / objectif, n (%)	59 (46%) / 62 (48%)
EUSTAR / 10 (moyenne) \pm SD	1,5 \pm 1,5
EUSTAR \geq 3, n (%)	23 (17%)
MEDGSER global / 36 (moyenne) \pm SD	5,4 \pm 2,9
MEDGSER état général / 4 \pm SD	0,4 \pm 0,8
MEDGSER vasculaire / 4 \pm SD	1,0 \pm 0,7
MEDGSER peau / 4 \pm SD	1,4 \pm 1,0
MEDGSER articulaire / 4 \pm SD	0,1 \pm 0,4

MEDGSER muscle / 4 ± SD	0,2 ± 0,5
MEDGSER digestif / 4 ± SD	0,6 ± 0,8
MEDGSER poumons / 4 ± SD	1,5 ± 1,1
MEDGSER coeur / 4 ± SD	0,2 ± 0,8
MEDGSER rein / 4 ± SD	0 ± 0
HAQ / 3 (moyenne) ± SD	0,4 ± 0,5
Retentissement global SSc /100 (moyenne) ± SD	34 ± 31
Appréciation activité par le médecin / 100 (moyenne) ± SD	23 ± 21
Corticothérapie ≥ 10 mg/j, n (%)	28 (21%)
Traitement immunosuppresseur (6 derniers mois), n (%)	32 (24%)
Poids moyen ± SD ; kg	68 ± 15
MDRD moyenne ± SD ; ml/kg/min	82 ± 20
Pic monoclonal, n (%)	8 (6%)
Cryoglobulinémie, n (%)	11 (8%)
MAI associée, n (%)	52 (39%)
>1 MAI associée, n (%)	9 (7%)
Syndrome Gougerot-Sjögren, n (%)	23 (17%)
Thyroïdite, n (%)	24 (18%)
Lupus, n (%)	3
PR, n (%)	5

SD : Standard Deviation

ANA : Ac anti-nucléaire

ACA : Anti Centromere Ab

UD : Ulcérations digitales

RGO : Reflux gastro-oesophagien

HTAP : Hypertension artérielle
pulmonaire

PAPs : Pression artérielle pulmonaire

FEVG : Fraction d'éjection du ventricule
gauche

DLCO : Diffusion libre du CO

CPT : Capacité pulmonaire totale

CVF : Capacité vitale fonctionnelle

MAI : Maladie auto-immune

PR : Polyarthrite rhumatoïde

2 COMPARAISON DU TAUX DES sFLC ENTRE SUJETS TÉMOINS ET MALADES

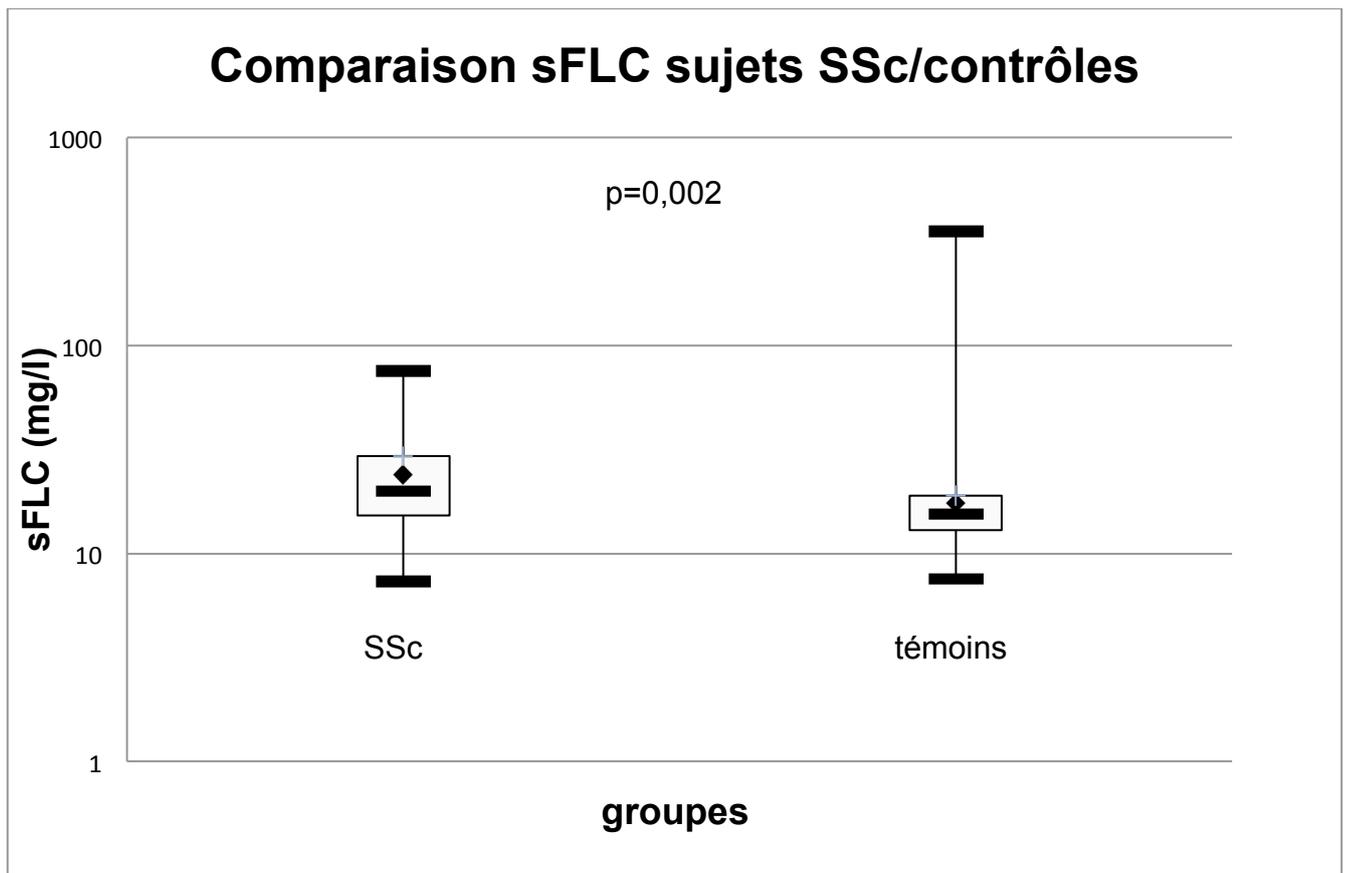
Chez les sujets SSc, le taux moyen de sFLC était de $24,03 \pm 13,76$ mg/l, et sa valeur médiane de 19,99 mg/l. Le taux sérique moyen chez les témoins appariés était de $17,50 \pm 18,83$ mg/l, la valeur médiane de 15,43 mg/l (Tableau 2). La différence était statistiquement significative ($p=0,0002$ pour les taux médians). Le graphique 1 détaille la répartition des valeurs de sFLC dans les deux populations de sujets contrôles et malades.

Tableau 2 : Résultats du dosage des sFLC chez les patients et les témoins

sFLC (mg/l)	N	moyenne	SD	médiane	mini	maxi	1 ^{er} quartile	3 ^{ème} quartile
SSc	134	24,03	13,76	19,99	7,36	75,43	15,23	29,33
Contrôles	401	17,50	18,83	15,43	7,55	353,23	12,95	19,04

Les taux de sFLC chez les sujets contrôles ne suivent pas une distribution normale, en partie du fait de valeurs très élevées retrouvées chez deux sujets de plus de 60 ans, mais également si l'on considère la deuxième et la troisième tranche d'âge séparément (sujets de plus de 40 et 60 ans).

Graphique 1 : Comparaison du dosage des sFLC entre sujets SSc et contrôles



3 ÉTUDE DES sFLC CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE SCLÉRODERMIE SYSTÉMIQUE

3.1 Corrélation entre les sFLC et les caractéristiques cliniques de la sclérodermie

Le tableau 3 montre la corrélation statistique retrouvée en analyses uni- et multivariées entre le taux de sFLC et les différentes caractéristiques de la maladie. Toutes les variables pour lesquelles un coefficient de corrélation $p < 0,20$ a été retrouvé en analyse univariée ont été incluses dans l'analyse multivariée, à l'exception de celles présentant une colinéarité avec d'autres variables (durée d'évolution depuis le diagnostic et le premier signe hors Raynaud, gammaglobulines et dosage pondéral des IgG, IgA et IgM, scores EUSTAR et Medgser avec le score de Rodnan, la DLCO et la PAPs). Les données pour

lesquelles trop de données manquaient (appréciation de l'activité par le médecin, poids, périmètre de marche de 6 minutes, VS) ont aussi été retirées, le modèle final comprenait ainsi 118 patients.

En analyse univariée, il existe une corrélation positive entre le taux de sFLC et le score de Rodnan, ainsi qu'avec l'existence d'une atteinte pulmonaire interstitielle (cf partie 3.4.2).

Par contre, on note que la forme de la maladie, ainsi que le type d'auto-Ac spécifique retrouvé, ne sont pas associés à une élévation des sFLC sur le plan statistique. Les antécédents d'ulcération digitale, toutes causes confondues, sont également associés à des niveaux de FLC sériques plus élevés, alors que leur présence à l'inclusion ne l'est pas. Les autres atteintes de la maladie, cardiaque, musculaires, articulaires, digestives et glandulaires ne sont pas corrélées au taux de sFLC. Il n'y a pas non plus de relation retrouvée avec l'ancienneté de la maladie. A noter qu'il n'y a que trois patients ayant présenté une crise rénale sclérodermique, l'effectif est donc trop faible pour rechercher une corrélation, mais leur taux moyen de sFLC est de 36,34 mg/l. Un seul a une fonction rénale altérée avec un MDRD à 49 ml/kg/min, c'est celui avec le taux de sFLC le plus bas à 9,66 mg/l. Les patients traités par immunosuppresseur ont par ailleurs un taux plus bas de sFLC, ce qui n'est pas le cas des patients sous corticostéroïdes.

L'analyse multivariée montre l'existence d'une corrélation positive significative et indépendante entre le taux de sFLC et l'existence d'une atteinte pulmonaire interstitielle, et les antécédents d'ulcérations digitales, et une corrélation négative avec la présence d'auto-Ac spécifiques de SSc.

Tableau 3 : Corrélation entre les sFLC et les caractéristiques de la SSc

	p univariée	p multivariée	r
Age	0,0987	NS	0,1432
Sexe F/M	0,4174		
Forme SSc diffuse/limitée	0,1089	NS	
Anti-Scl 70 +	0,9350		
ACA +	0,6260		
Auto-Ac spécifiques de SSc	0,1637	0,0028	
Durée d'évolution moyenne / 1 ^{er} signe hors Raynaud	0,1129	NS	0,1376
Durée d'évolution / Raynaud	0,2013		0,1124
Durée d'évolution / diagnostic	0,0953	NR	0,1447
Rodnan modifié	0,0099	NS	0,2229
Antécédents d'UD	0,0426	0,0306	
Présence d'UD	0,2543		
RGO	0,7351		
Classe de dyspnée NYHA	0,3415		0,0828
Classe de dyspnée III ou IV	0,6452		
Périmètre de marche 6 minutes	0,0988	NR	-0,1534
HTAP	0,1784	NS	
PAPs	0,0369	NS	0,1826
PAPs > 40 mmHg	0,1192		
Atteinte pulmonaire interstitielle	0,1098	0,0089	
DLCO	0,0063	NS	-0,2358
CVF	0,6869		-0,0354
CVF < 80%	0,9749		
CPT	0,3813		-0,0783
CPT < 80 %	0,7615		
Atteinte articulaire	0,5895		
Atteinte musculaire	0,5305		
Sd sec subjectif / objectif	0,0495 / 0,1004	NS / NS	
EUSTAR / 10	0,0009	NR	0,2833
EUSTAR ≥ 3	0,0031	NR	
MEDGSER global / 36	0,0001	NR	0,3266

MEDGSER état général / 4	<0,0001	NR	0,3420
MEDGSER vasculaire / 4	0,5743		0,0490
MEDGSER peau / 4	0,0092	NR	0,2243
MEDGSER articulaire / 4	0,8428		-0,0173
MEDGSER muscle / 4	0,3502		0,0813
MEDGSER digestif / 4	0,7535		-0,0274
MEDGSER poumons / 4	0,0285	NR	0,1900
MEDGSER coeur / 4	0,2291		0,1058
MEDGSER rein / 4	NR		
HAQ / 3	0,2936		0,0928
Retentissement global SSc /100	0,9038		0,0107
Appréciation activité par le médecin	0,0333	NR	0,2079
Corticothérapie ≥ 10 mg/j	0,1462	NS	
traitement immunosuppresseur (6 derniers mois)	0,0018	0,0103	
Poids	0,1474	NR	-0,1336
MDRD	0,9612		0,0042
Pic monoclonal	0,2920		
Cryoglobulinémie	0,1838	NR	
MAI associée	0,7719		
> 1 MAI associée	0,1136	NR	
SGS	0,2451		
Chisholm 3 ou 4	0,5557		
Thyroïdite	0,6280		
Titre Ac anti-TPO	0,8887		-0,0124

NS = non significatif

NR = non réalisé (car colinéarité avec d'autres données ou données manquantes)

En rouge : paramètres corrélés statistiquement aux sFLC en analyse uni et multivariée

En bleu : paramètres corrélés uniquement en analyse univariée (non significatifs en multivariée ou multivariée non réalisée)

3.2 L'élévation des sFLC est corrélée aux autres marqueurs d'activation lymphocytaire B et d'inflammation chronique

Les biomarqueurs d'inflammation chronique non spécifique (VS et CRP), et d'activation lymphocytaire B (taux de gammaglobulines, IgG, IgA, IgM, β 2-microglobuline, facteur rhumatoïde, BAFF, titre des ANA) ont également été mesurés chez tous les patients, et leur association avec le taux de sFLC étudiée en analyses uni et multivariée (tableau 4).

La VS moyenne et la CRP sont dans les limites des valeurs normales, et sont toutes deux corrélées positivement aux sFLC, en analyse univariée uniquement. Les taux moyen de gammaglobulines, d'IgG, d'IgM et d'IgA sont dans l'intervalle des valeurs normales, de même que la β 2-microglobulinémie. La concentration moyenne de BAFF se situe dans les limites données par le fournisseur (620-4 000 pg/ml). Le taux moyen de facteur rhumatoïde est quant à lui faiblement supérieur à la normale. Ils sont tous positivement associé au taux de sFLC en analyse univariée. L'association est jugée indépendante par l'analyse multivariée avec le taux d'IgG, d'IgA, la β 2-microglobulinémie, le facteur rhumatoïde et BAFF (graphiques 2, 3, 4 et 5).

Tableau 4 : sFLC et marqueurs d'activation LB et d'inflammation chronique

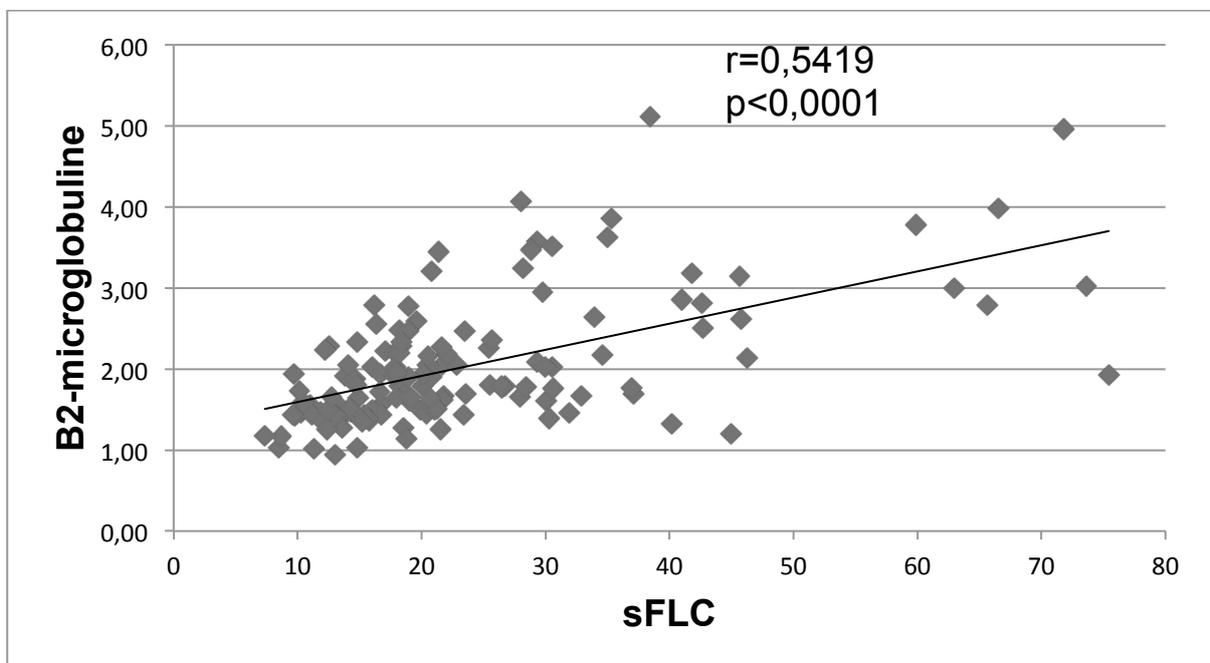
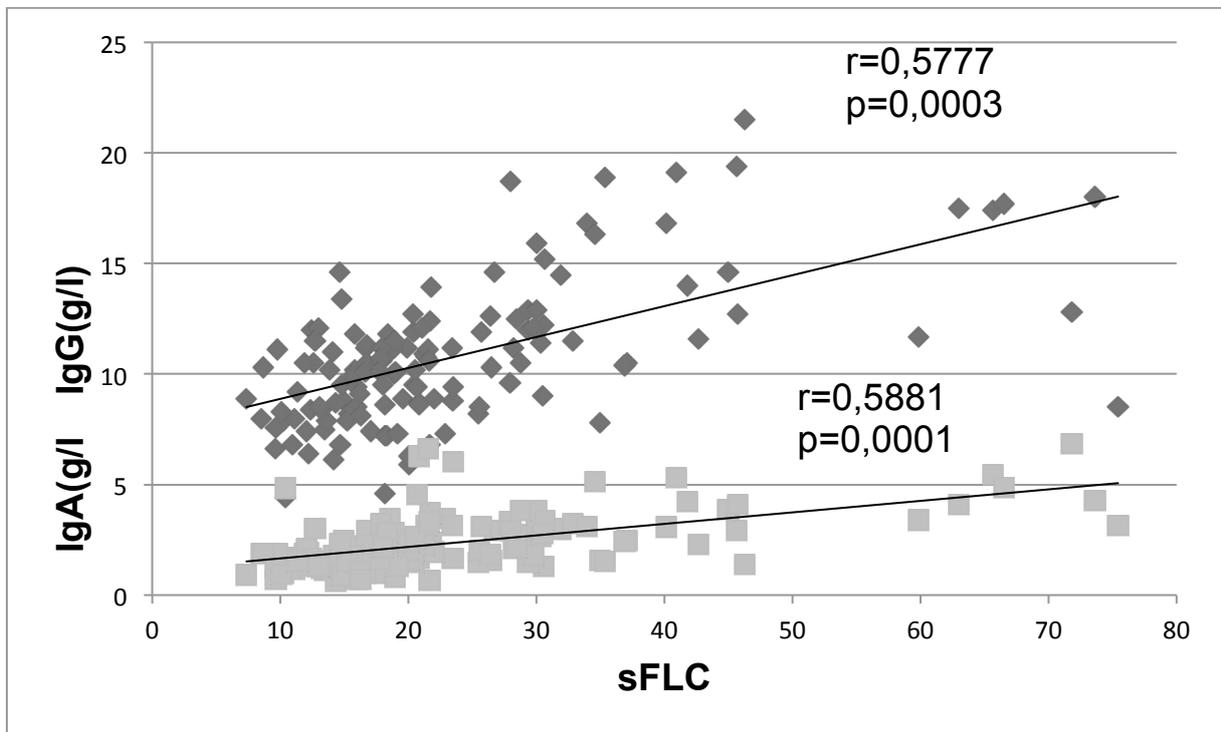
	Paramètre (moyenne ± SD)	p univariée	p multivariée	r
Gammaglobulines	; 10,6 ± 3,2 g/l	<0,0001	NR	0,5967
IgG	10,8 ± 3,2 g/l	<0,0001	0,0003	0,5777
IgM	1,3 ± 0,7 g/l	0,0189	0,8273	0,2041
IgA	2,4 ± 1,3 g/l	<0,0001	0,0001	0,5881
Titre ANA	médiane ± SD 1/2560 ± 1/1280 UI	0,0032	NR	0,2579
Facteur rhumatoïde	14 ± 26 UI	0,0327	0,0279	0,1846
Facteur rhumatoïde > 6 UI (n ; %)	57 (43%)	0,0402	NR	
β2-microglobulinémie	2,05 ± 0,78 g/l	<0,0001	<0,0001	0,5419
β2-microglobulinémie > 2,34 mg/l (n ; %)	32 (24%)	<0,0001	NR	
BAFF	1 130 ± 1 120 pg/l	0,0200	0,0155	0,2016
CRP	médiane ± SD <3 ± 7 mg/l	0,0002	0,5785	0,3203
CRP > 3 mg/l (n ; %)	46 (34%)	0,0019	NR	
VS	14 ± 15 mm	<0,0001	NR	0,3536
VS > 30 mm (n ; %)	12 (8%)	0,0659	NR	

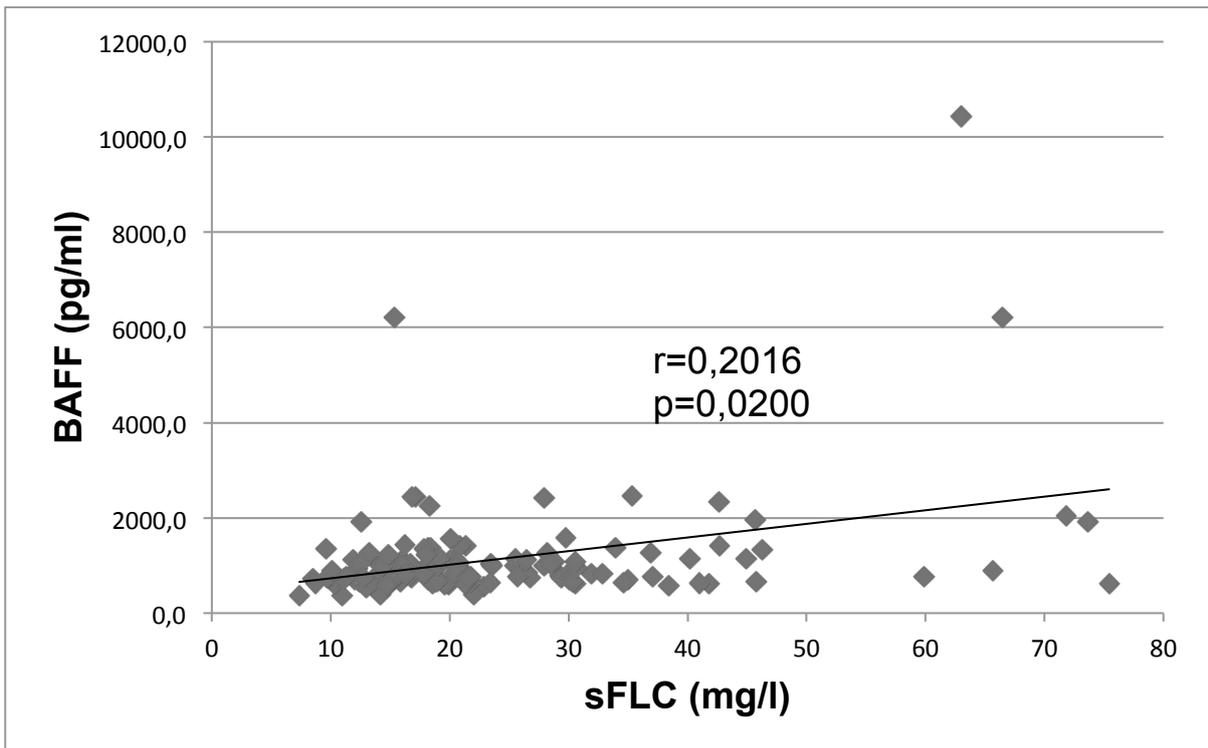
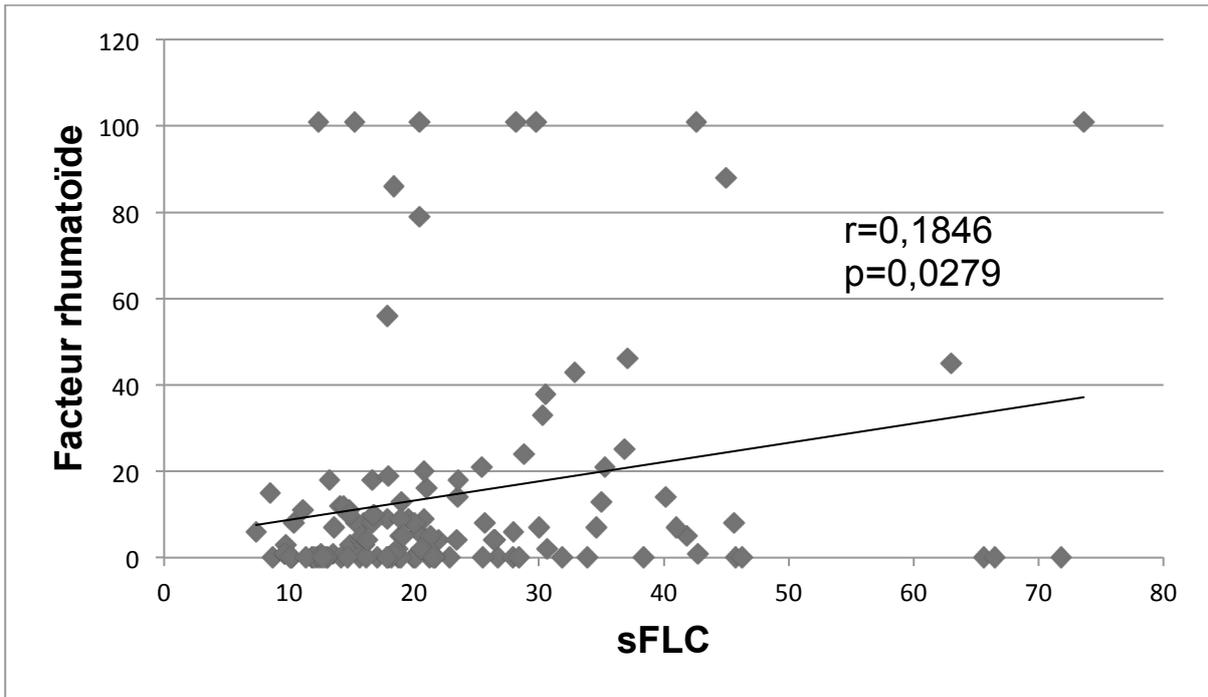
NR = non réalisé (car colinéarité avec d'autres données ou données manquantes)

En rouge : paramètres corrélés statistiquement aux sFLC en analyse uni et multivariée

En bleu : paramètres corrélés uniquement en analyse univariée (non significatifs selon l'analyse multivariée ou analyse multivariée non réalisée)

Graphiques 2, 3, 4 et 5 : corrélation entre les sFLC et les autres marqueurs d'activation polyclonale B.

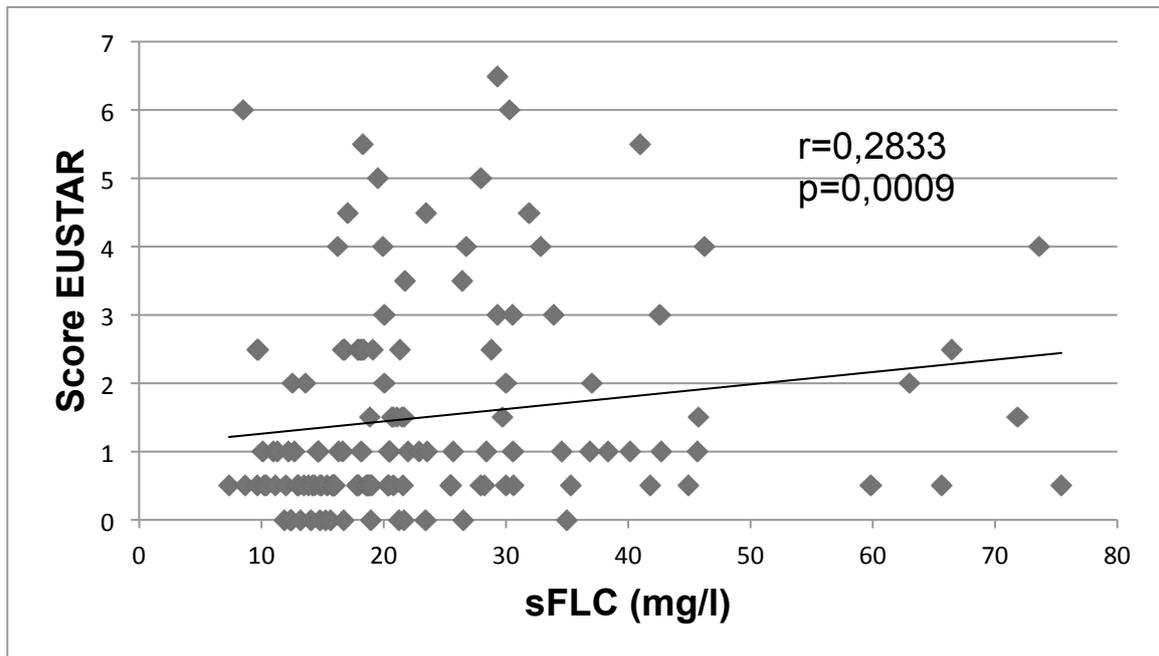


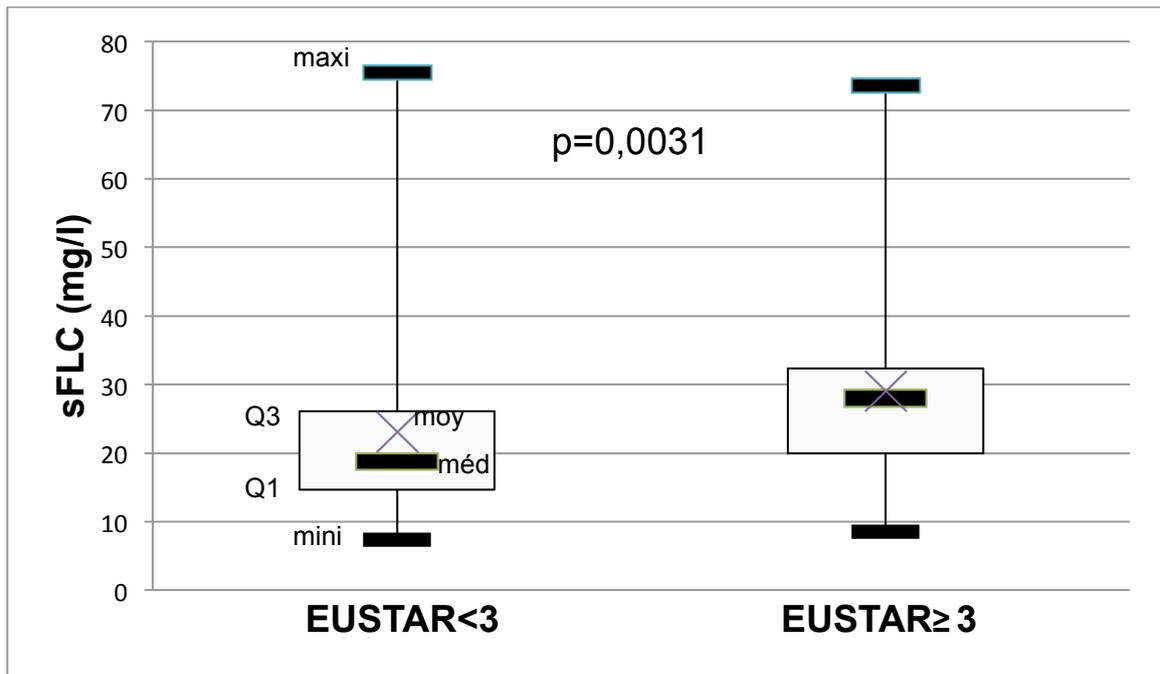


3.3 Les sFLC sont un marqueur d'activité de la maladie

Le taux de sFLC est corrélé positivement en analyse univariée au score d'activité EUSTAR de la maladie et en particulier à un score supérieur ou égal à 3 (seuil défini d'activité de la maladie) (graphiques 6 et 7), ce qui concerne 23 malades dans notre cohorte. On retrouve cette association avec l'évaluation de l'activité de la maladie par le médecin sur une échelle visuelle numérique (cf tableau 3). Par contre, seul un quart des patients avec un taux de sFLC supérieur à 19,99 mg/l (médiane retrouvée) ont effectivement une maladie active d'après leur score EUSTAR (graphique 8).

Graphiques 6 et 7 : Les sFLC sont un marqueur d'activité de la SSc.





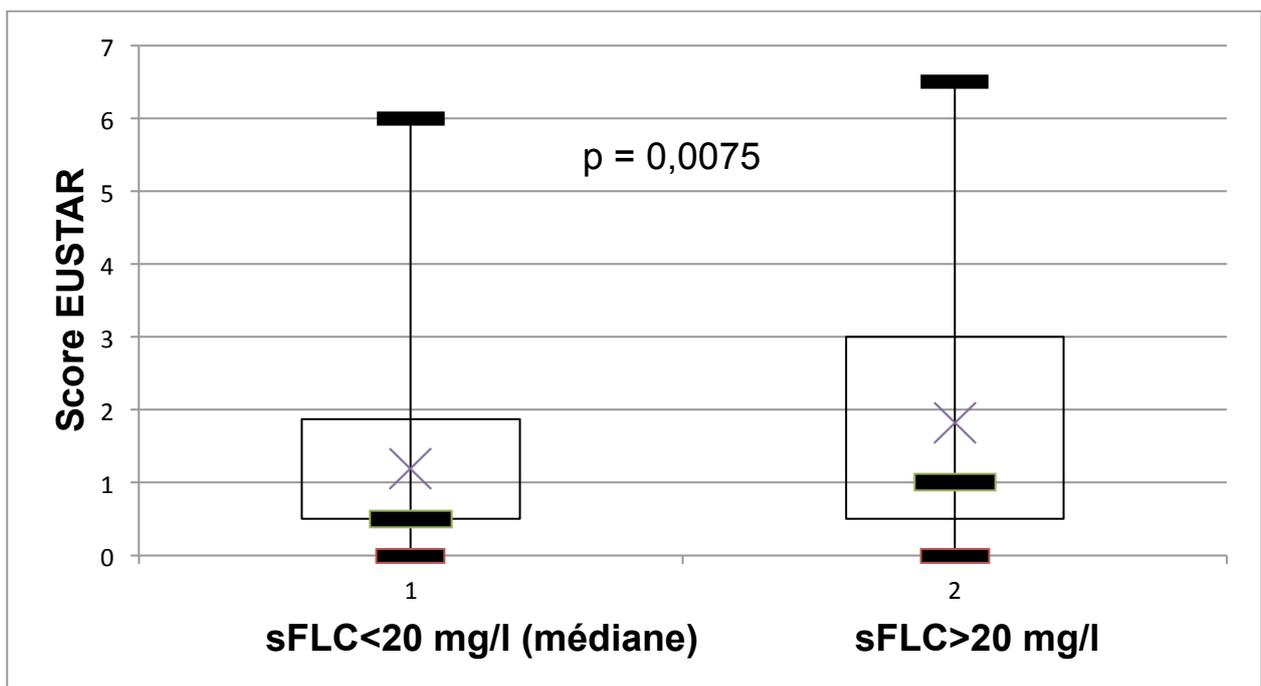
Pour tous les graphiques :

mini = valeur minimale ; maxi = valeur maximale

Q1 = 1^{er} quartile ; Q3 = 3^{ème} quartile

moy = moyenne ; méd = médiane

Graphique 8 : activité de la SSc en fonction du taux de sFLC



Nous avons recherché quels sont les autres paramètres associés à l'activité de la SSc (Tableau 5), en excluant les paramètres inclus dans le score EUSTAR (cf Annexe 4). En analyse univariée, les formes diffuses et en présence d'Ac anti-Scl 70 sont plus volontiers actives, à l'inverse de celles associées à une thyroïdite auto-immune (elles ne comprennent que 12% de formes diffuses). Il existe également une corrélation positive entre le score EUSTAR et la PAPs, l'existence d'une HTAP, et la classe de dyspnée, et une corrélation négative avec le périmètre de marche, la CPT et la CVF. On remarque que certains paramètres tels que la PAPs et la CVF sont corrélés avec la DLCO qui fait partie du score EUSTAR. Sur le plan biologique, le taux d'IgA, la β 2-microglobulinémie, BAFF, la CRP, et plus faiblement le taux d'IgG ($p < 0,20$) sont corrélés à l'activité.

L'analyse multivariée a été réalisée selon les mêmes modalités que précédemment, sur 95 malades pour le modèle comprenant le poids et le périmètre de marche, ensuite retirés pour données manquantes, avec un modèle final comprenant 117 malades. Elle met en évidence une corrélation entre le score EUSTAR et la CVF, et entre le score et la β 2-microglobulinémie. Pour connaître l'implication exacte des sFLC dans l'activité de la maladie comparativement aux autres paramètres d'activation B, nous avons travaillé sur un nouveau modèle d'analyse multivariée excluant le paramètre β 2-microglobulinémie : le taux d'IgG ($p = 0,0175$) et la PAPs ($p = 0,0426$) deviennent alors significatifs, et si l'on retire tous les paramètres d'activation B hormis les sFLC, ces dernières n'ont toujours pas d'association statistiquement indépendante avec le score EUSTAR.

Tableau 5 : Facteurs associés à l'activité de la maladie déterminée par le score d'EUSTAR

	p univariée	p multivariée	r
Age	0,2957		0,0910
Sexe	0,9186		
Forme SSc diffuse/limitée	0,0148	NS	
Anti-Scl 70 +	0,0440	NS	
ACA +	0,3415		
Durée d'évolution moyenne / 1 ^{er} signe hors Raynaud	0,5221		0,0558
Durée d'évolution / Raynaud	0,4846		-0,0616
Durée d'évolution / diagnostic	0,7608		0,0266
HTAP	0,0405	NS	
Atteinte pulmonaire interstitielle	0,0628	NS	
RGO	0,1256		
Périmètre de marche 6 minutes	0,0086	NS	-0,2430
Classe de dyspnée NYHA III ou IV	0,0004	NS	
PAPs	0,0117	NS	0,2196
CPT	<0,0001	NR	-0,3458
CVF	0,0004	0,0006	-0,3017
Sd sec subjectif / objectif	0,6340 / 0,5168		
Thyroïdite	0,0455	NS	
Ac anti-TPO (titre)	0,1059	NS	-0,1425
HAQ / 3	0,0070	NS	0,2357
Appréciation activité par le médecin	<0,0001	NR	0,4639
Corticothérapie ≥ 10 mg/j	0,4583		
TTT immunosuppresseur (6 derniers mois)	0,5536		
Poids	0,0955	NS	-0,1535
Gammaglobulines	0,1214		0,1350
IgG	0,1748	NS	0,1188
IgM	0,4965		0,0597
IgA	0,0031	NS	0,2553
sFLC	0,0009	NS	0,2833
Titre ANA	0,1641	NS	0,1236
Facteur rhumatoïde	0,3221		0,0862

β 2-microglobulinémie	<0,0001	0,0010	0,3522
BAFF	0,0086	NS	0,2269
CRP	0,0007	NS	0,2910

NS = non significatif

NR = non réalisé (car colinéarité avec d'autres données ou données manquantes)

En rouge : paramètres corrélés statistiquement aux sFLC en analyse uni et multivariée

En bleu : paramètres corrélés uniquement en analyse univariée (non significatifs en analyse multivariée ou multivariée non réalisée)

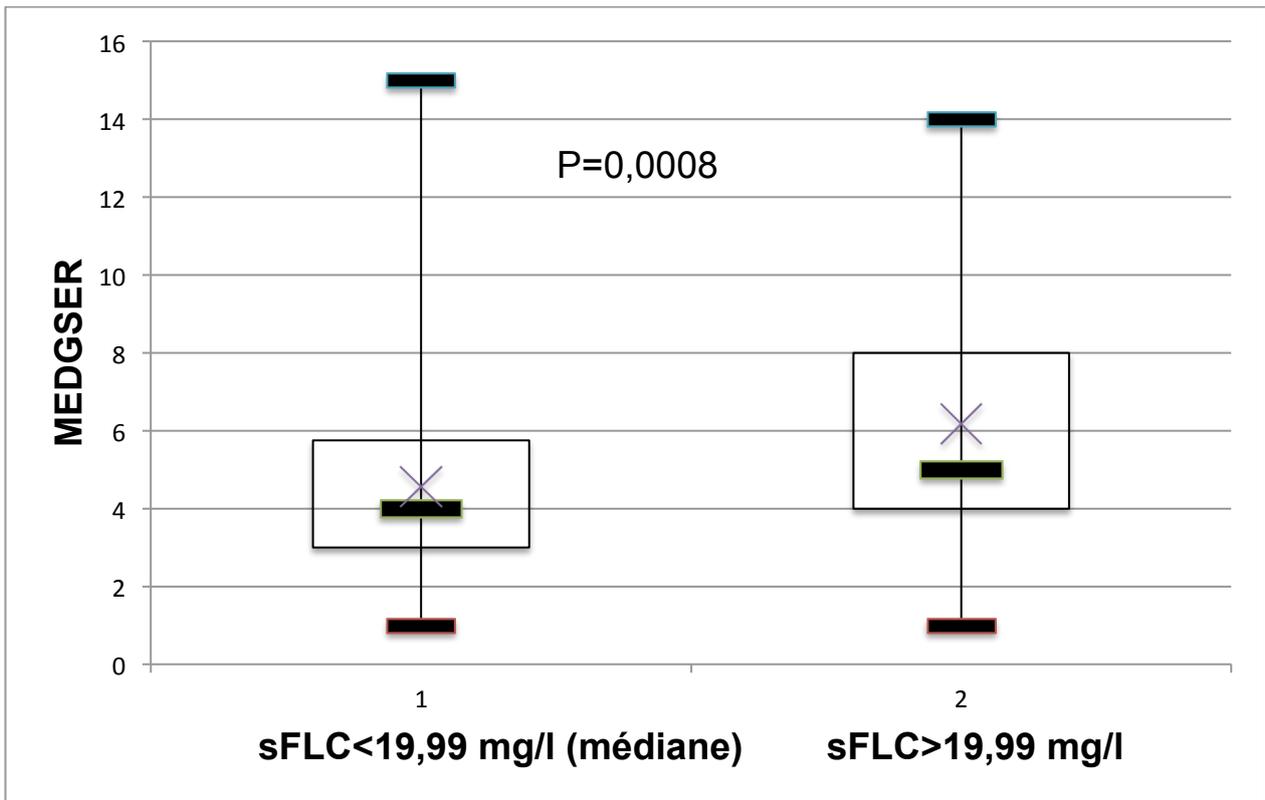
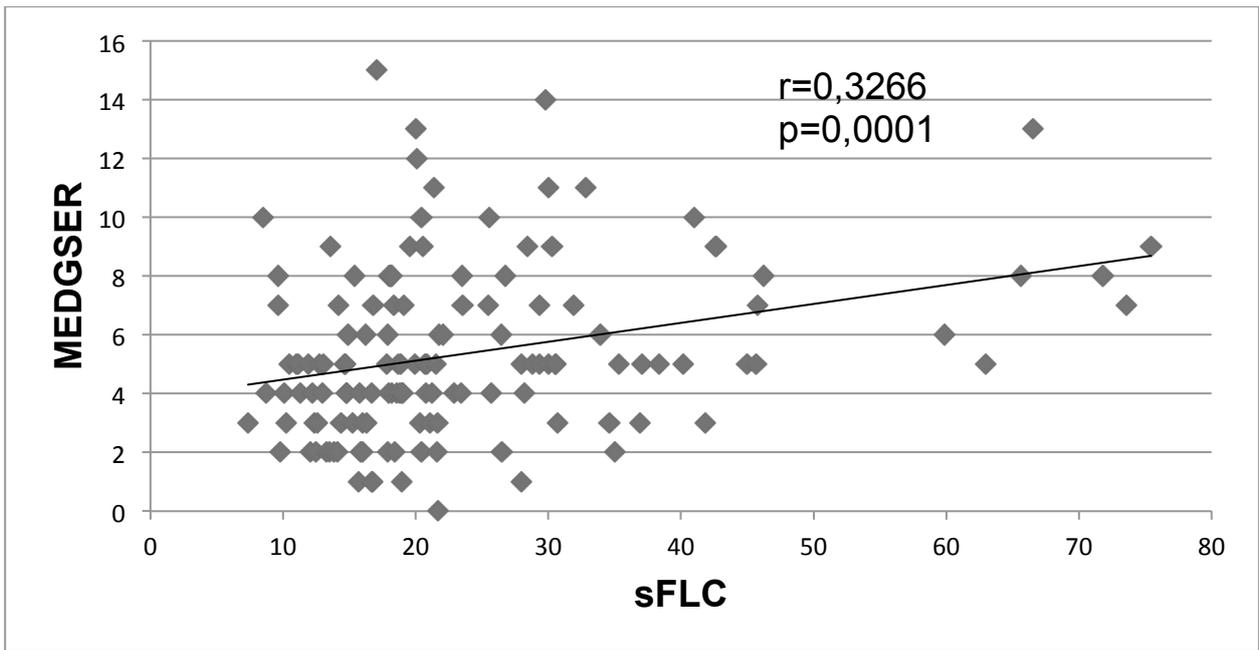
3.4 sFLC et gravité de la maladie

3.4.1 Gravité globale

Globalement, il existe une corrélation positive entre l'élévation des FLCs et le score de gravité MEDGSER global/36 (cf Annexe 5) (graphiques 9 et 10), et plus particulièrement en considérant les atteintes pulmonaire, cutanée, et de l'état général. Il n'y a par contre pas de corrélation entre le taux de sFLC et la présence d'ulcérations digitales actives, et donc le score MEDGSER vasculaire. On a vu que les autres atteintes de la maladie ne sont pas associées à une élévation des sFLC, ce n'est pas non plus le cas pour leur niveau de gravité.

Les sFLC ne sont pas corrélées avec le score HAQ.

Graphique 9 et 10 : les sFLC sont un marqueur de gravité globale de la SSc



Le tableau 6 expose les autres données corrélées au score de MEDGSER : sur le plan clinique, les hommes et les patients porteurs de forme diffuse et d'Ac anti Scl 70 ont des formes plus graves. Les formes associées à une thyroïdite auto-immune sont là aussi globalement moins graves. Concernant les marqueurs d'activation B, seuls les sFLC, les IgA, la β 2-microglobulinémie et BAFF sont corrélés positivement au score de MEDGSER. Il est de plus intéressant de noter que le score de gravité de la SSc s'élève avec les paramètres d'inflammation non spécifiques.

L'analyse multivariée a été réalisée chez 104 patients. Elle montre que le score de gravité MEDGSER est corrélé de façon forte et indépendante avec les formes diffuses de la maladie, la prise de corticoïdes par le patient, un score HAQ élevé, et, sur le plan biologique, aux taux de BAFF. Nous avons procédé comme pour le score d'activité : dans un modèle de multivariée excluant BAFF, la β 2-microglobulinémie devient significative ($p=0,0418$), et si l'on retire tous les paramètres B sauf les sFLC, ces dernières ne présentent pas de corrélation significative avec le score EUSTAR.

Tableau 6 : Facteurs corrélés au score de gravité MEDGSER global

	p univariée	p multivariée	r
Age	0,4971		0,0592
Sexe	0,0529	NS	
Forme SSc diffuse/limitée	<0,0001	<0,0001	
Anti-Scl 70 +	0,0025	NS	
ACA +	0,0021	NR	
Durée d'évolution moyenne / 1 ^{er} signe hors Raynaud	0,1925	NS	0,1133
Durée d'évolution / Raynaud	0,2777		-0,0955
Durée d'évolution / diagnostic	0,4050		0,0725
Périmètre de marche 6 minutes	0,0316	NS	-0,1988
Sd sec subjectif / objectif	0,9354 / 0,9662		
Thyroïdite	0,0246	NS	
Ac anti-TPO (titre)	0,0234	NS	-0,1987
HAQ / 3	<0,0001	0,0002	0,4204
Appréciation activité par le médecin	<0,0001	NR	0,6783
Corticothérapie ≥ 10 mg/j	0,0037	0,0206	
TTT immunosuppresseur (6 derniers mois)	0,0357	NS	
Gammaglobulines	0,4461		0,0666
IgG	0,9023		0,0108
IgM	0,6836		0,0358
IgA	0,0012	NS	0,2795
sFLC	0,0285	NS	0,3266
Titre ANA	0,9078		0,0103
Facteur rhumatoïde	0,9036		0,0106
β2-microglobulinémie	0,0009	NS	0,2844
BAFF	0,0056	0,0342	0,2388
CRP	0,0240	NS	0,1957
VS	0,0427	NS	0,1831

NS = non significatif

NR = non réalisé (car colinéarité avec d'autres données ou données manquantes)

En rouge : paramètres corrélés statistiquement aux sFLC en analyse uni et multivariée

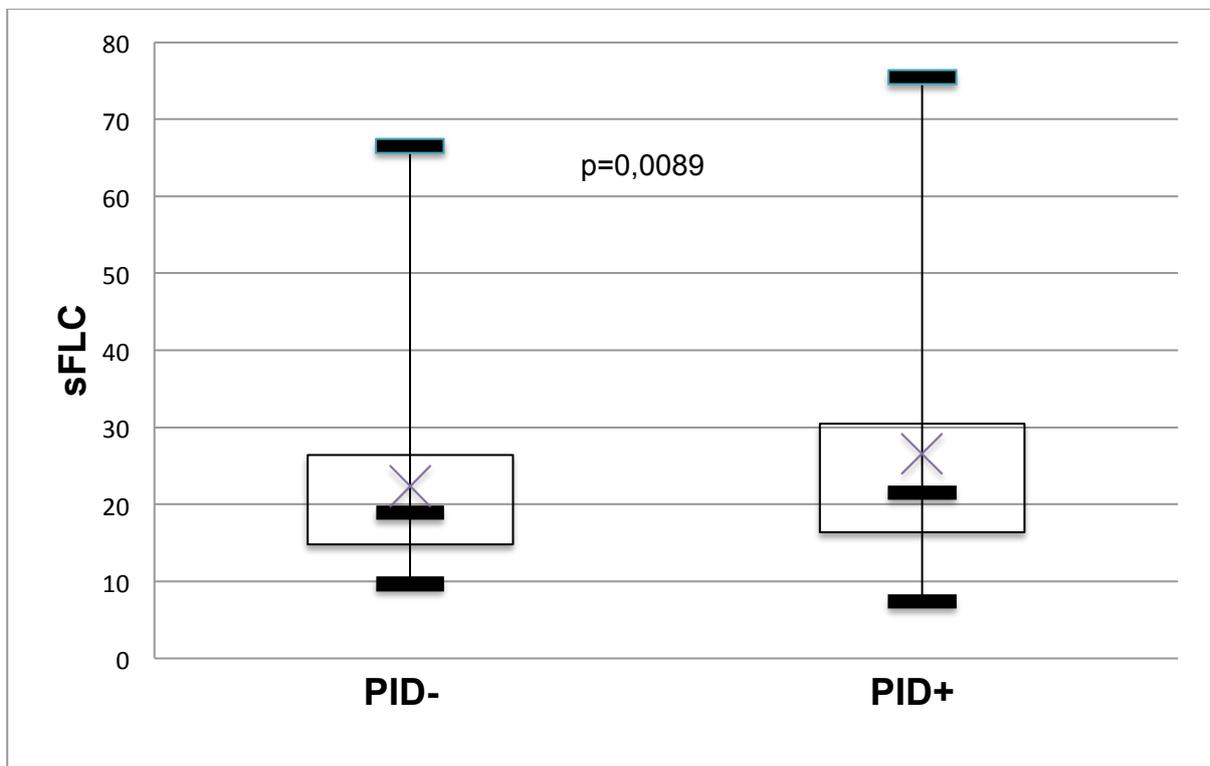
En bleu : paramètres corrélés uniquement en analyse univariée (non significatifs en multivariée ou multivariée non réalisée)

3.4.2 sFLC et gravité de l'atteinte pulmonaire

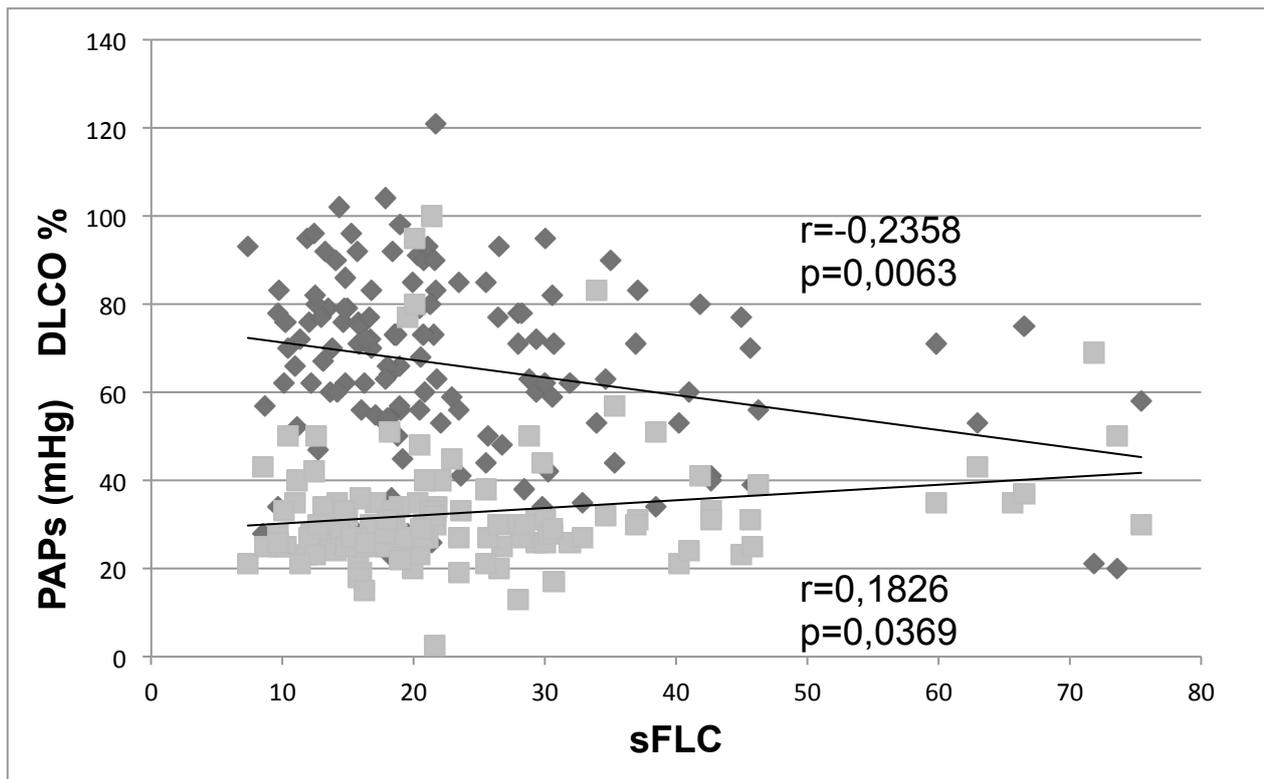
On a vu que le taux de sFLC est fortement et indépendamment corrélé à l'existence d'une atteinte pulmonaire de la maladie (tableau 3, graphique 11), et qu'il est également plus élevé en cas de PAPs augmentées ou de DLCO basse (graphique 12). Aucune relation n'est par contre retrouvée avec la classe de dyspnée ou avec le périmètre de marche.

Ainsi, le score de MEDGSER pulmonaire (fonction de la DLCO, de la CVF, de la CPT et des PAPs) est corrélé aux taux de FLCs en analyse univariée.

Graphique 11 : Les sFLC sont plus élevées en cas d'atteinte pulmonaire



Graphique 12 : baisse de la DLCO et élévation des PAPs avec l'augmentation des sFLC.



Nous nous sommes intéressés aux autres facteurs associés à la gravité de l'atteinte pulmonaire dans la maladie, les résultats sont rapportés dans le tableau 7.

L'analyse univariée montre que les formes diffuses de la maladie et avec Ac anti-Scl 70 sont plus graves sur le plan pulmonaire, à l'inverse des formes avec ACA. La gravité pulmonaire est également associée à une classe de dyspnée NYHA de III ou IV, et à un périmètre de marche altéré (corrélacion plus faible $p<0,20$). Sur le plan des marqueurs biologiques, seules la $\beta 2$ -microglobuline et les sFLC augmentent avec le niveau de gravité pulmonaire.

L'analyse multivariée a inclus 104 malades. Elle montre une corrélation positive avec la présence d'Ac anti Scl 70, l'immunosuppression, et le taux de sFLC, et une corrélation négative avec le périmètre de marche.

Tableau 7 : facteurs de gravité de l'atteinte pulmonaire dans la SSc

	p univariée	p multivariée	r
Age	0,2933		0,0918
Sexe	0,9858		
Forme SSc diffuse/limitée	0,1735	NS	
Anti-Scl 70 +	0,0003	0,0244	
ACA +	0,0022	NR	
Durée d'évolution / 1 ^{er} signe hors Raynaud	0,0681	NS	0,1586
Durée d'évolution / Raynaud	0,8008		-0,0223
Durée d'évolution / diagnostic	0,1609	NS	0,1223
Rodnan modifié	0,1573	NS	0,1238
Antécédents d'UD	0,1408	NS	
Présence d'UD	0,9709		
Classe de dyspnée NYHA III ou IV	0,0003	NS	
Périmètre de marche 6 minutes	0,0881	0,0170	-0,1591
RGO	0,9011		
Atteinte articulaire	0,5918		
Atteinte musculaire	0,5839		
Sd sec subjectif / objectif	0,1500 / 0,2639	NS/ NR	
HAQ / 3	0,0008	NS	0,2904
Appréciation activité par le médecin	<0,0001	NR	0,4509
Corticothérapie ≥ 10 mg/j	0,0115	NS	
Traitement immunosuppresseur (6 derniers mois)	0,0002	0,0003	
Gammaglobulines	0,7157		-0,0320
IgG	0,6926		-0,0349
IgM	0,4206		-0,0710
IgA	0,1305	NS	0,1328
sFLC	0,0285	0,0126	0,1900
Titre ANA	0,3983		-0,0753
Facteur rhumatoïde	0,8054		0,0216
β2-microglobulinémie	0,0171	NS	0,2065
BAFF	0,1013	NS	0,1432
CRP	0,0783	NS	0,1538

VS	0,2457		0,1059
----	--------	--	--------

NS = non significatif

NR = non réalisé (car colinéarité avec d'autres données ou données manquantes)

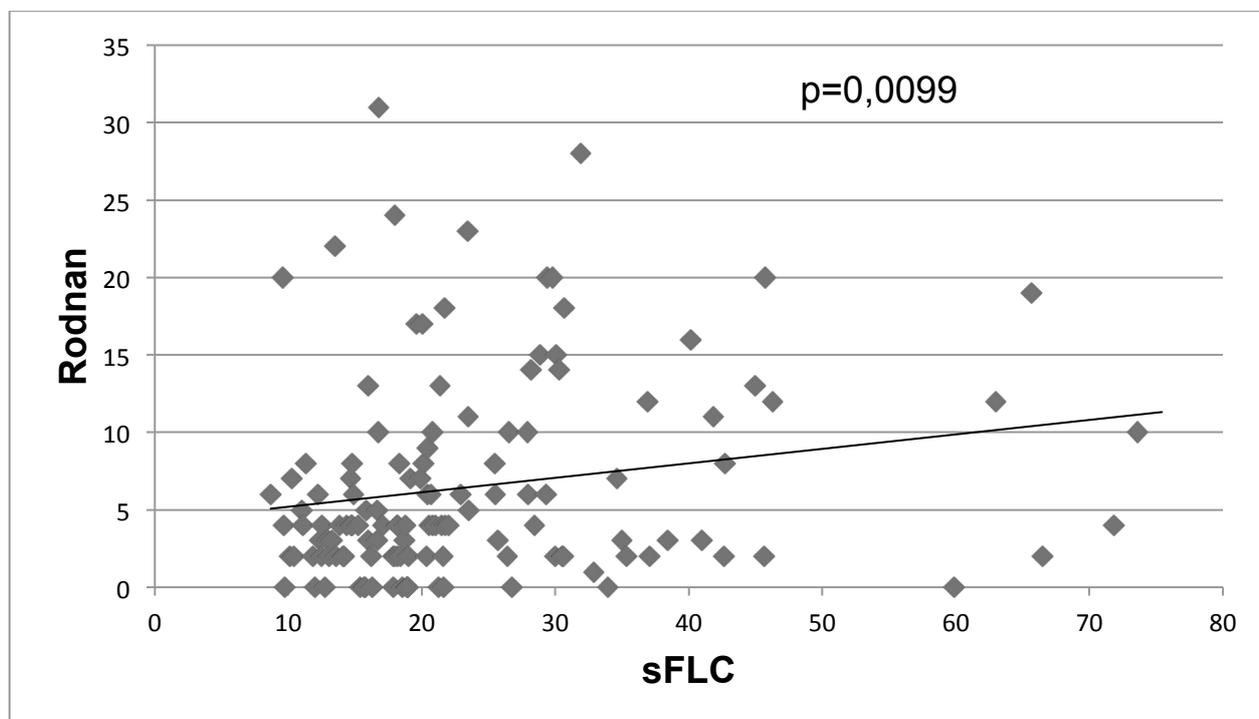
En rouge : paramètres corrélés statistiquement aux sFLC en analyse uni et multivariée

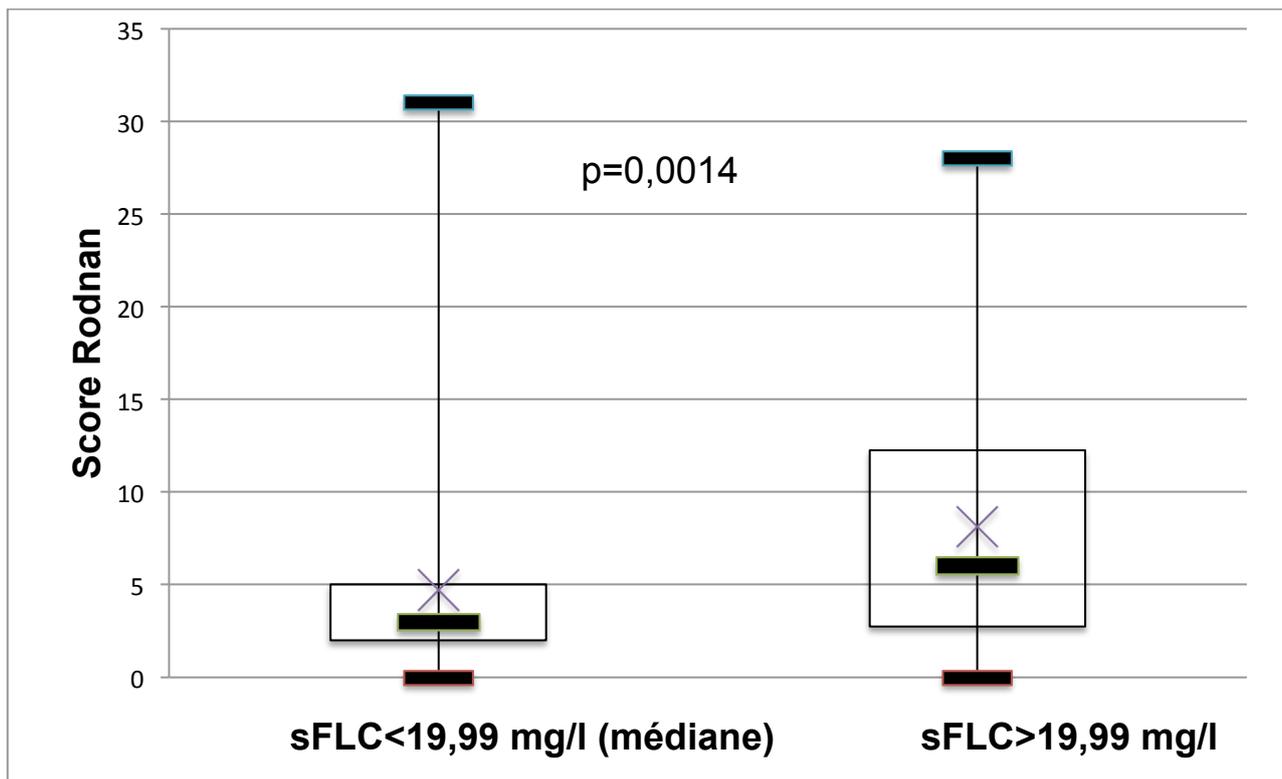
En bleu : paramètres corrélés uniquement en analyse univariée (non significatifs en multivariée ou multivariée non réalisée)

3.5 sFLC et atteinte cutanée

Le taux de sFLC est corrélé en analyse univariée au score de Rodnan, avec un score médian qui double au seuil de 19,99 mg/l pour les sFLC (valeur médiane) (graphiques 14 et 15 ; paragraphe 3.8).

Graphique 14 et 15 : La sévérité de l'atteinte cutanée est corrélée au taux de sFLC.





3.6 Facteurs indépendants de la sclérodermie modifiant les sFLC

Chez les malades de cette étude, le taux de sFLC n'est corrélé ni à l'âge, le sexe, le poids, ni à la fonction rénale. Par contre, le taux de sFLC est corrélé à l'âge chez les sujets témoins ($p < 0,0001$).

Huit patients de la cohorte présentent un pic monoclonal s'inscrivant dans le cadre d'une gammopathie monoclonale de signification indéterminée (IgG kappa pour 4 d'entre eux, IgG lambda pour 2, et IgA kappa chez les deux derniers). Aucun de ces patients n'a de myélome multiple. Ce pic est indosable au moment de l'inclusion chez 4 de ces 8 patients, et est respectivement dosé à 3,8 g/l, 4,1 g/l, 13,5 g/l et 4,9 g/l chez les 4 autres. Ce dernier patient a une protéinurie de Bence Jones indosable. Leurs taux de sFLC sont les suivants : 17,07 mg/l, 8,50 mg/l, 37,07 mg/l et 14,17 mg/l chez les patients avec pic indosable ; 75,43 mg/l, 18,57 mg/l, 14,64 mg/l et 10,43 mg/l pour les quatre autres. Il n'y a pas de différence significative avec les autres sujets.

3.7 Association à d'autres maladies auto-immunes

On ne retrouve pas dans cette étude de corrélation significative entre le taux de FLCs et l'association à une maladie auto-immune. Ainsi, l'existence d'un Syndrome de Gougerot-Sjögren associé à la SSc n'est pas corrélée au taux de FLCs. Cependant, cela concerne seulement 23 patients, et leur taux médian de FLC est de 21,64 mg/l contre 19,56 pour les autres. D'autre part, les 20 patients ayant un stade III ou IV de Chisholm sur leur biopsie de glande salivaire accessoire ont des taux similaires de FLC par rapport aux autres sujets (18,94 mg/l), alors que les patients porteurs d'Ac anti SS-A 60 kDa ont des taux moyens à 33,75 kDa (6 patients). Les deux patients ayant en plus des Ac anti SS-B ont respectivement des taux à 40,17 et 65,64 mg/l. Il est donc possible que l'absence de corrélation retrouvée ici, à l'inverse des données de la littérature, soit liée à des diagnostics de SGS portés à l'excès, la SSc étant elle-même à l'origine d'une atteinte glandulaire exocrine. Concernant les Sd de chevauchement avec un lupus, l'effectif est trop faible pour réaliser des analyses statistiques, le taux moyen de sFLC est de 33,65 mg/l. De même, les 5 patients atteints de PR ont un taux moyen de sFLC de 28,08 mg/l.

3.8 Détermination d'un seuil de sFLC significatif sur le plan clinique

Nous avons cherché à donner un sens pratique à nos résultats. Pour cela, nous avons tout d'abord étudié la répartition des caractéristiques de la maladie en fonction du taux de sFLC des malades supérieur ou inférieur à la médiane retrouvée de 19,99 mg/l (Tableau 8).

Tableau 8 : Répartition des caractéristiques de la SSc par rapport à la médiane des sFLC

	sFLC < médiane (19,99mg/l)	sFLC > médiane	p univariée	p multivariée
Age, ans	54,7 ± 13,0	59,0 ± 14,4	0,0814	
Sexe F/M	57(52%)/10(40%)	52(48%)/15(60%)	0,2675	
Forme SSc diffuse/limitée	11(41%)/56(53%)	16(59%)/51(47%)	0,2816	
Anti-Scl 70	12 (46%)	14 (54%)	0,6622	
ACA	36 (53%)	32 (47%)	0,4895	
Durée d'évolution / 1 ^{er} signe hors Raynaud ; ans	7,3±6,5	10,2±8,0	0,0383	NS
Durée d'évolution / Raynaud ; ans	14,8 ± 14,8	17,1 ± 12,9	0,1053	
Durée d'évolution / diagnostic ; ans	7,4 ± 7,1	9,6 ± 7,6	0,0827	
Score de Rodnan modifié	4,9 ± 6,0	8,0 ± 6,6	0,0014	NS
Antécédents d'UD	20 (36%)	36 (64%)	0,0051	NS
RGO	54 (50%)	53 (50%)	0,8295	
Classe de dyspnée NYHA 0/I/II/III/IV	8 (73%)/26(51%)/ 20(44%)/9(47%)/ 4(50)%	3(27%)/25(49%)/ 25(56%)/10(53%)/ 4(50%)	0,5746	
Périmètre de marche ; m	448 ± 110	414 ± 124	0,0904	
HTAP	3 (23%)	10 (77%)	0,0410	0,0052
PAPs ; mmHg	30 ± 9	35 ± 17	0,0217	NS

Atteinte pulmonaire interstitielle	21 (39%)	33 (61%)	0,0346	0,0001
DLCO	69 ± 19	63 ± 21	0,0776	NS
CVF	102±22	99±23	0,6687	
CPT	97±17	93±18	0,2973	
Atteinte articulaire	19 (53%)	17 (47%)	0,6967	
Atteinte musculaire	6 (50%)	6 (50%)	1,000	
Sd sec subjectif / objectif	24(41%)/28(45%)	35(59%)/34(55%)	0,0429/0,2220	
EUSTAR / 10	1,2±1,4	1,8±1,6	0,0075	NS
MEDGSER global / 36	4,6±2,5	6,2±3,1	0,0008	NS
MEDGSER état général / 4	0,2 ± 0,6	0,6 ± 0,9	0,0026	NR
MEDGSER vasculaire / 4	0,9 ± 0,5	1,2 ± 0,8	0,0799	
MEDGSER peau / 4	1,2 ± 1,0	1,6 ± 1,1	0,0046	NR
MEDGSER articulaire / 4	0,1 ± 0,3	0,2 ± 0,4	0,2797	
MEDGSER muscle / 4	0,2 ± 0,4	0,2 ± 0,6	0,4464	
MEDGSER digestif / 4	0,6 ± 0,7	0,6 ± 0,9	0,3592	
MEDGSER poumons / 4	1,4 ± 1,1	1,7 ± 1,2	0,1437	
MEDGSER coeur / 4	0,1 ± 0,5	0,3 ± 0,9	0,1154	
HAQ / 3	0,4±0,4	0,4±0,5	0,4235	

Appréciation activité par le médecin / 100	20±18	27±23	0,2875	
Corticothérapie ≥ 10 mg/j	16 (57%)	12 (43%)	0,3954	
traitement immunosupresseur (6 derniers mois)	23 (72%)	9 (28%)	0,0046	0,0015
Poids ; kg	68±16	67±15	0,6246	
MDRD ; ml/kg/min	82±17	83±22	0,8101	
Pic monoclonal	6 (75%)	2 (25%)	0,2742	
Cryoglobulinémie	3 (27%)	8 (73%)	0,1156	
MAI associée	27 (52%)	25 (48%)	0,7229	
>1 MAI associée	2 (22%)	7 (78%)	0,1647	
Sd Gougerot- Sjögren	10 (43%)	13 (57%)	0,4919	
Chisholm III ou IV	11 (55%)	9 (45%)	0,9778	
Thyroïdite	14 (58%)	10 (42%)	0,3675	
Ac anti-TPO ; UI	15±51	13±43	0,6116	
Gammaglobulines ; g/l	9,1±2,0	12,1±3,4	<0,0001	NR
IgG ; g/l	9,4±2,0	12,3±3,5	<0,0001	0,0009
IgM ; g/l	1,2±0,6	1,4±0,8	0,0517	
IgA ; g/l	1,7±0,7	3,0±1,4	<0,0001	0,0002
Facteur	9±21	19±30	0,0372	0,0080

rhumatoïde				
β2-microglobuline ; mg/l	1,72±0,45	2,37±0,90	<0,0001	NS
BAFF ; pg/ml	1014,0±776,6	1251,2±1379,2	0,1221	
CRP ; mg/l	<3±3	6±9	<0,0001	NS
VS ; mm	10±10	19±18	<0,0001	NS

En bleu : paramètres répartis différemment de part et d'autre de la médiane ($p < 0,005$) en analyse univariée

En rouge : p significatifs en analyses uni et multivariée ;

Tous les paramètres quantitatifs sont présentés d'après leur moyenne \pm SD

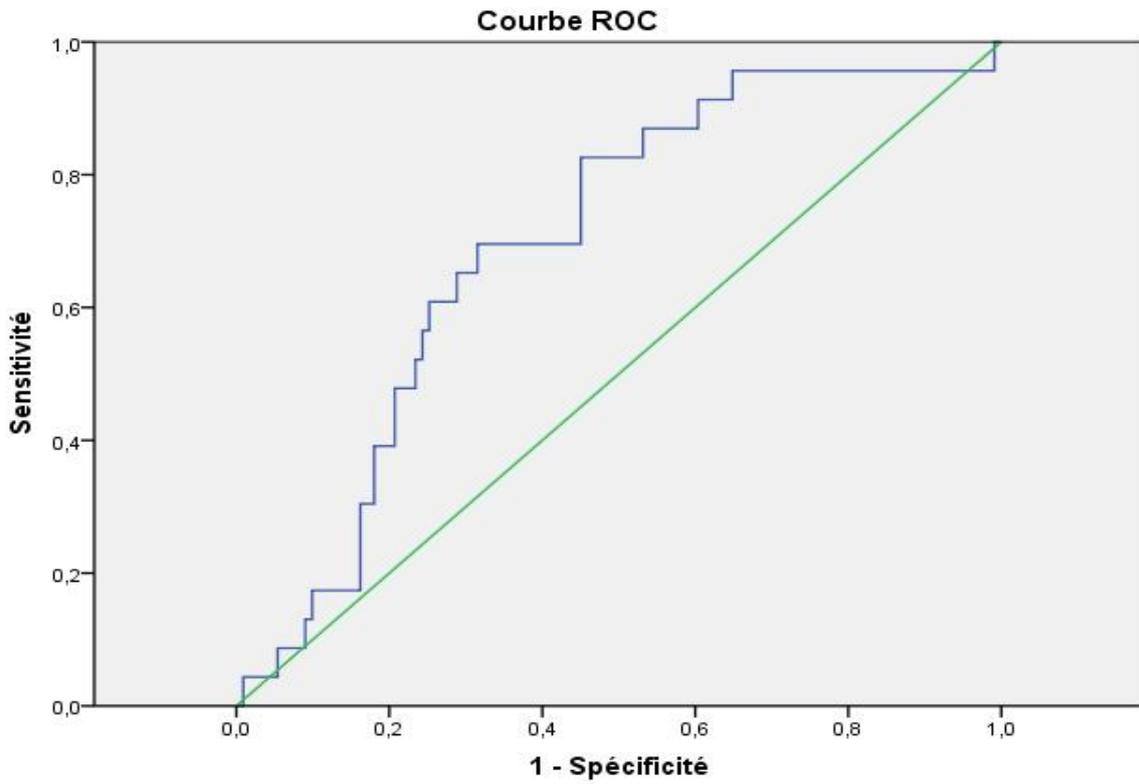
Tous les paramètres qualitatifs sont présentés d'après leur effectif n(%)

Ainsi, la durée d'évolution de la maladie depuis le premier signe en dehors du phénomène de Raynaud, le score de Rodnan modifié, la PAPs, les score EUSTAR, MEDGSER global, MEDGSER cutané et de l'état général, les taux de gammaglobulines, d'IgG, d'IgA, de facteur rhumatoïde, et de β2-microglobuline, la VS et CRP sont plus élevées si le taux de sFLC est supérieur à 19,99 mg/l. L'HTAP, l'atteinte pulmonaire, et les antécédents d'ulcérations digitales sont plus fréquents. A l'inverse, les patients sous immunosuppresseurs ont des taux de sFLC plus volontiers sous la médiane. L'analyse multivariée retrouve une corrélation significative pour l'HTAP, l'atteinte pulmonaire, le traitement immunosuppresseur, les taux d'IgG, d'IgA et le facteur rhumatoïde.

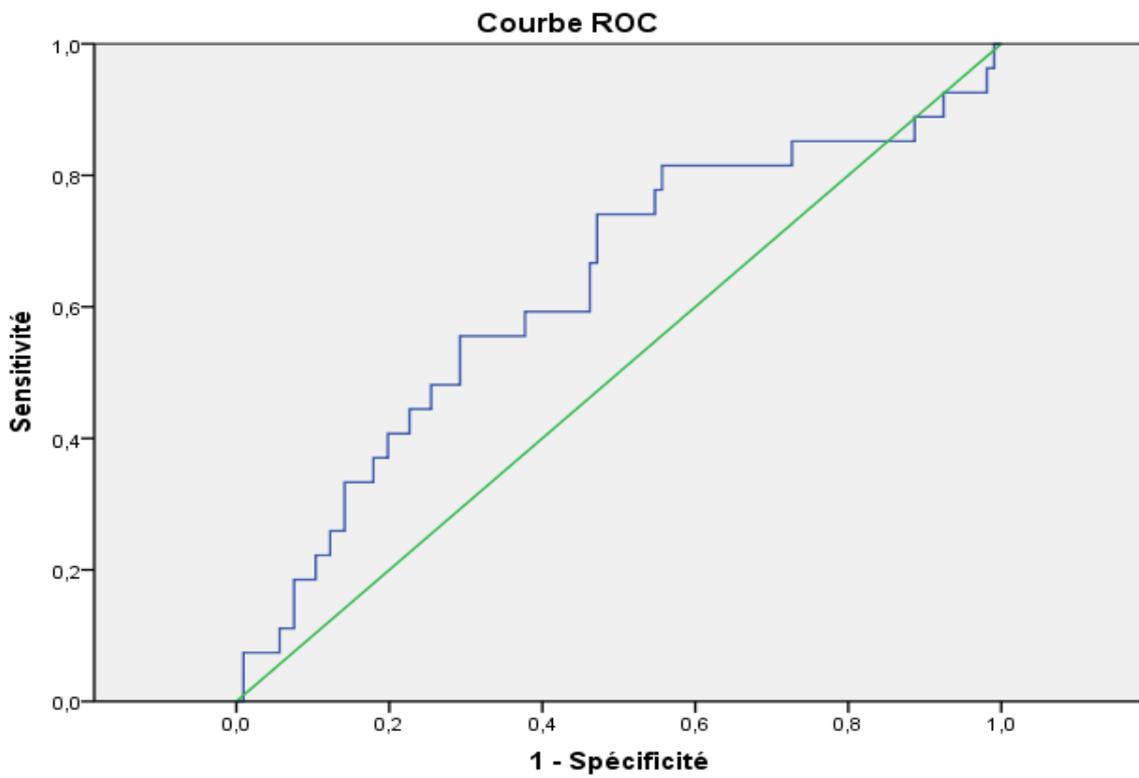
Nous avons également recherché une valeur seuil qui serait significative pour l'activité et la gravité pulmonaire de la maladie, à l'aide de courbes ROC. Pour le score EUSTAR, le

seuil de sFLC le plus discriminant est de 21,72 mg/l, mais avec une sensibilité et une spécificité moyennes (respectivement 70 et 69%) (graphique 16). Par contre, la valeur prédictive négative pour ce seuil est de 92% (et la valeur prédictive positive de 31%). Pour le score de gravité pulmonaire, le seuil de sFLC le plus discriminant pour une gravité sévère à terminale (score à 3 ou 4 /4) est de 23,51 mg/l, avec des sensibilité et spécificité insuffisantes, respectivement 56% et 71% (graphique 17). La valeur prédictive négative est de 86%, la valeur prédictive positive de 33%.

Graphique 16 : Courbe ROC sFLC et score d'activité EUSTAR



Graphique 17 : Courbe ROC sFLC et score de gravité MEDGSER pulmonaire



DISCUSSION

Notre étude est la première à s'être intéressée aux sFLC dans la SSc. Elle montre sur une cohorte de patients inclus prospectivement que leurs taux sont plus élevés chez les malades que chez les sujets témoins. Cette différence observée n'est liée ni à la co-existence d'autres maladies auto-immunes (notamment une PR, un lupus ou un syndrome de Gougerot dans lesquels il a été montré que les taux de sFLC sont augmentés), ni à la présence d'une pathologie clonale B chez les malades. Elle n'est pas non plus liée aux facteurs déjà décrits comme modifiant le taux de sFLC, en particulier l'âge, le sexe ou la fonction rénale (53). En effet, si ce taux augmente avec l'âge chez nos témoins, nous n'avons pas retrouvé de corrélation statistique entre les sFLC et l'âge chez nos patients, à l'instar des patients atteints de PR (49). La part de l'augmentation liée à la maladie est donc sans doute prépondérante. Dans tous les cas, l'appariement sur l'âge entre nos patients et nos témoins permet d'éliminer ce biais.

Le choix de sujets donneurs de sang pour constituer la population contrôle a pour principal désavantage de ne pas avoir permis d'établir de valeurs normales de sFLC avec la technique de dosage que nous avons utilisée. Le fournisseur donne comme valeurs de références celles obtenues avec une autre technique de dosage (Freelite®, sérum anti-FLC polyclonal), avec une reproductibilité qui paraît bonne entre les deux techniques mais selon des données non publiées et non validées pour l'instant. Certains de nos sujets témoins avaient un taux de sFLC très élevé, pathologique, et on ne peut exclure qu'ils soient porteurs de gammopathie monoclonale. On ne peut donc pas étudier la sous-population de patients SSc qui auraient des sFLC au-dessus de la valeur moyenne mesurée chez une population saine. Cependant, le réactif de dosage Combylite® (Ac monoclonal anti-FLC) que nous avons utilisé se prête sans doute mieux aux situations de

sécrétion polyclonale de sFLC où le ratio *kappa/lambda* n'est pas modifié et n'est pas informatif (ratio normal dans la PR, le lupus et le SGS) (46,49), et dans lesquelles les valeurs attendues sont faibles comparativement à celles que l'on peut retrouver dans les dyscrasies plasmocytaires notamment. L'utilisation d'Ac monoclonaux anti-FLC semble améliorer la sensibilité pour les valeurs basses. Enfin, le dosage direct et unique de la somme *kappa+lambda* élimine la variabilité inter test émanant de deux dosages séparés *kappa* et *lambda* (54).

L'effectif de notre cohorte de patients a permis une analyse statistique des taux de sFLC dans une maladie à faible prévalence. Même si notre population est hétérogène en terme de forme et d'atteintes de la maladie, de gravité, d'activité et du traitement administré, nous avons tout de même pu montrer que le taux de sFLC est corrélé à un profil particulier de la maladie : les taux sériques de FLC sont plus élevés en cas d'atteintes fibrosantes viscérales et cutanées sévères. Même si leur taux n'est pas corrélé à la CVF, l'association avec l'existence d'une atteinte pulmonaire et sa gravité représentée par le score de MEDGSER pulmonaire est forte et indépendante, comme le montrent les analyses multivariées effectuées. Leur taux est également associé à la baisse de la DLCO et à l'augmentation de la PAPs. Il est enfin corrélé au score de Rodnan.

L'association forte qu'il existe entre le taux de sFLC et les antécédents d'ulcérations digitales est plus difficile à interpréter, dans la mesure où l'étiologie des ulcérations n'était pas toujours précisée lors du recueil de données. Dans une moindre mesure, le taux de sFLC paraît être un marqueur de l'atteinte vasculaire, puisqu'en plus de l'association aux ulcérations digitales, les trois quarts des patients porteurs d'une HTAP dans notre cohorte ont un taux de sFLC supérieur à la médiane ($p < 0,05$ en analyse uni- et multivariée).

L'association à l'atteinte rénale n'a pu être étudiée du fait d'un effectif trop faible de patients présentant cette complication.

Confirmant leur valeur comme marqueurs de l'activation lymphocytaire B, leur taux est corrélé positivement à celui de tous les autres paramètres reflétant cet état cellulaire (gammaglobulines et taux d'IgG, d'IgA, d'IgM, β 2-microglobuline, facteur rhumatoïde, BAFF), et également au titre des ANA. Plus particulièrement, l'association est jugée forte et indépendante par l'analyse multivariée avec les taux sériques de β 2-microglobuline, de facteurs rhumatoïdes et de BAFF, les taux d'IgA, d'IgG mais non avec les IgM. Ceci est cohérent avec l'hypothèse d'une synthèse plasmocytaire des FLC. Il n'y a par contre pas de corrélation entre les taux de sFLC et la présence d'ACA ou d'Ac anti-Sc170. Au contraire, leur taux est plus faible en cas de présence d'auto-Ac spécifiques de SSc : sur les 131 patients porteurs d'ANA, 26 n'ont pas de spécificité identifiée propre à la SSc et à ses syndromes de chevauchements, et ces patients ont un taux de sFLC plus élevé. Il n'existait pas non plus de corrélation entre le taux de sFLC et les Ac anti-DNA natif dans le lupus, et avec le facteur rhumatoïde et les Ac anti-CCP dans la PR (46,49). Les taux élevés de sFLC semblent donc plutôt le reflet de l'activation polyclonale excessive observée dans la SSc qu'un phénomène associé à la réactivité spécifique par exemple anti-Sc170 ou anti-centromère.

Nous avons également montré dans cette étude, comme cela a été fait dans le lupus (46), la PR et le syndrome de Gougerot-Sjögren primaire (49), que le taux de sFLC est corrélé à l'activité de la maladie, évaluée ici par le score EUSTAR. Concernant les autres marqueurs d'activation B, outre l'élévation du taux des sFLC, seuls les taux sériques des IgA, de BAFF et surtout de la β 2-microglobuline sont corrélés à ce score. Dans une cohorte de 80 patients atteints de PR, Gottenberg et ses collaborateurs n'avaient pas non

plus retrouvé de corrélation entre le DAS 28 et le taux d'IgG ou de facteur rhumatoïde alors que cette corrélation existait entre les taux de sFLC et ces marqueurs B (49). L'hypothèse soulevée par cette équipe était que la demi-vie très courte des sFLC (2 à 6 heures) pouvait expliquer ces résultats, la demi-vie des IgG complètes étant beaucoup plus longue (de l'ordre de 20 à 25 jours) (42,55), la rendant donc moins sensible aux variations d'activité de la maladie. Les IgA ont, elles, une demi-vie intermédiaire de 6 jours, leur taux pouvant donc varier assez rapidement pour être significatif. A l'inverse, dans la cohorte ESPOIR comprenant 578 patients naïfs de toute corticothérapie ou de Disease modifying antirheumatic drugs (DMARDs) et au stade initial de leur maladie, il existait une corrélation entre les taux d'IgG, d'IgA, d'IgM, de β 2-microglobuline et le DAS28, en plus de la corrélation avec les sFLC (48). Il peut donc y avoir une dissociation entre la synthèse d'Ig complètes et celle de FLC, en fonction de l'évolution de la maladie, ou peut-être celle-ci est réalisée par des cellules de sensibilité différentes aux traitements utilisés. Une autre hypothèse peut expliquer la corrélation entre le score EUSTAR : le taux d'IgA pourrait être en lien avec l'intensité de la réponse Ac. En effet, il a été observé que les isotypes prépondérants des Ac anti-topoisomérase I dans la SSc sont les IgG, mais qu'il est possible que des Ac d'isotypes IgA et des IgM y soient associées, en particulier lorsque le taux d'auto-Ac est élevé (56). Le taux d'IgA pourrait donc être associé à une réponse antigénique plus intense, c'est-à-dire de type polyclonale.

L'analyse multivariée a permis de montrer que le taux de β 2-microglobuline est le biomarqueur qui possède la plus forte association avec l'activité de la SSc. Il s'agit de la chaîne légère de la molécule HLA de classe I, c'est donc un marqueur d'activation de toute l'immunité, mais en particulier lymphocytaire, B et également T : on peut donc supposer que la maladie est d'autant plus active que l'ensemble de l'immunité adaptative est activé. L'immunité innée est sans doute également impliquée, dans la mesure où le

taux de sFLC est corrélé à la VS et à la CRP, et que l'activité est associée au taux de CRP. Ceci est concordant avec les résultats de deux larges études prospectives récentes faisant état d'une élévation du taux de la CRP dans la SSc et notamment dans les formes diffuses récentes, et de son association avec la sévérité des atteintes pulmonaires et cutanées (57,58).

Le taux de sFLC est également associé à la gravité globale de la SSc évaluée par le score de MEDGSER, qui pondère l'atteinte de chaque organe ou tissu cible potentiel. Les autres paramètres corrélés à ce score permettent de valider notre cohorte puisque comme cela est décrit dans la littérature (2), nos malades avec formes diffuses de la maladie et Ac anti-topoisomérase I ont un score de gravité plus élevé. Sur le plan biologique, outre l'association à l'élévation du taux de sFLC, le score MEDGSER est, comme le score EUSTAR, corrélé au taux d'IgA (mais non au taux d'IgG ou d'IgM), et à celui de la β 2-microglobuline, à la VS, la CRP et en analyse multivariée à celui de BAFF. BAFF paraît donc être le meilleur marqueur B de gravité de la SSc. Ces résultats sont concordants avec les études qui se sont intéressées à l'expression de BAFF dans la SSc, menées par une même équipe japonaise. Chez la souris TSK, le niveau d'expression de BAFF est associé au degré d'extension de la fibrose cutanée (18). Chez l'homme, il est corrélé au score de Rodnan, et son élévation chez un malade paraît associée à la survenue ou à l'aggravation d'une atteinte viscérale (39). Comme dans le lupus, la PR et le SGS où l'expression de BAFF est corrélée au titre des auto-Ac et à l'hypergammaglobulinémie observée, les LB des malades stimulés par BAFF produisent plus d'IgG et d'IL-6. Comme pour les sFLC, on ne dispose à l'heure actuelle pas d'assez d'éléments pour savoir si cette élévation de BAFF est un des mécanismes responsables de la gravité de la maladie,

ou si c'est une conséquence de l'activation de l'inflammation systémique générant des cytokines stimulant sa synthèse (59).

Par contre, cette même équipe a montré dans une cohorte de 97 patients SSc que le taux d'IgG est corrélé à l'existence d'une atteinte pulmonaire interstitielle, et à sa sévérité représentée par la CVF et la DLCO (35). Nous n'avons pas retrouvé une telle association. Cependant, dans la cohorte japonaise, sur les 25 patients porteurs d'une atteinte pulmonaire, 21 avaient des Ac anti-Scl 70 sur une sous-population de 29 patients, et 23 une forme diffuse de SSc, et on ne sait pas si le taux d'IgG était corrélé à cette dernière. Nos populations ne sont donc pas comparables.

On pourrait donc hiérarchiser ainsi la valeur des différents paramètres d'activation B comme marqueurs d'activité et de gravité de la SSc : l'élévation du taux sériques des FLC semble globalement plus performante que celle des différentes classes d'Ig et de BAFF. L'augmentation de la β 2-microglobulinémie paraît quant à elle être le meilleur marqueur, et est moins coûteuse que le dosage des sFLC, mais il reste à étudier les autres facteurs confondants pour son augmentation (fonction rénale notamment et existence d'une gammopathie monoclonale). Par contre, le dosage des facteurs rhumatoïdes n'a pas d'intérêt pour l'évaluation de la gravité et de l'activité de la maladie. Enfin, le rôle des IgA dans la maladie mériterait d'être approfondi, compte tenu des corrélations retrouvées entre leur taux et l'activité et la gravité de la maladie, corrélations non observées avec le taux d'IgG.

Si l'on veut donner un sens clinique pratique à cette étude, pour la gravité de l'atteinte pulmonaire, le seuil de 23,51 mg/l pour les sFLC peut être retenu : 70% des malades ayant une atteinte pulmonaire sévère à terminale ont un taux de sFLC supérieur à ce

seuil. En-dessous de cette valeur, 86% des malades SSc n'ont pas d'atteinte pulmonaire ou une atteinte légère à modérée. Par ailleurs, des taux de sFLC inférieurs à 21,72 mg/l signent une maladie inactive pour 92% des patients, et ce seuil présente une spécificité et une sensibilité de 70% pour l'activité de la SSc. Plus simplement, au-delà de 20 mg/l, l'atteinte cutanée est plus sévère, l'HTAP et l'atteinte pulmonaire sont plus fréquentes et la PAPs plus élevée, la maladie est sensiblement plus active et plus grave.

La principale limite de notre étude tient à l'hétérogénéité de la population étudiée, en l'absence de critère d'exclusion : cela rend difficile l'analyse des sous-populations de patients, dont l'effectif peut être faible. Ainsi, la prise d'un traitement immunosuppresseur fait diminuer le taux de sFLC, alors que les patients traités sont souvent atteints de pneumopathie interstitielle ou de fibrose pulmonaire (27 patients sur 32), et la moitié des malades présentant une telle atteinte jugée sévère à terminale par le score de MEDGSER pulmonaire est sous immunosuppresseur. Sans doute l'élévation des sFLC chez les patients porteurs d'une atteinte pulmonaire de la maladie est-elle sous-estimée dans notre cohorte. De même, seuls 23 patients étaient considérés comme présentant une maladie active d'après le score EUSTAR, un tiers de ces patients présentant une forme diffuse de la maladie, un quart étant sous immunosuppresseur. Il est donc difficile d'étudier en particulier cette population hétérogène. Une étude qui s'attacherait à mesurer les taux de sFLC à différents temps de l'évolution de la maladie compléterait de façon intéressante nos données. Elle permettrait de savoir si leur augmentation peut prédire l'aggravation de la maladie, ou au contraire s'ils diminuent chez les patients s'améliorant sous traitement, notamment sous rituximab. L'observation des variations des sFLC chez les patients souffrant de PR traitées par anti-CD20 a permis de préciser le profil des patients répondeurs, et surtout d'avoir un élément biologique supplémentaire pour prédire la

rechute, incitant à un schéma de retraitement peut être plus agressif (60). L'atteinte pulmonaire notamment, première cause de mortalité avec l'HTAP dans la SSc, peut nécessiter un traitement immunosuppresseur lourd, dont l'efficacité est imparfaite, alors que son évolution peut parfois se faire spontanément vers l'amélioration ou la stabilité. On ne dispose que de peu d'outils prédictifs de cette évolution, surtout à long terme (61,62). Même s'ils ne sont pas corrélés directement à la CVF, nous avons montré que les taux de sFLC sont associés au score de MEDGSER pulmonaire qui prend en compte la DLCO, la CPT, la CVF et la PAPs. Il serait donc intéressant de vérifier si l'évolution spontanée du taux de sFLC peut prédire l'évolutivité de la fibrose pulmonaire.

Une autre limite de notre étude tient au fait que seuls les marqueurs d'activation lymphocytaire B ont été étudiés, on ne peut donc comparer leur significativité avec celle des marqueurs d'activation des autres cellules immunitaires impliquées dans la maladie.

Si les taux de sFLC reflètent l'activité de la maladie, ils semblent moins performants que l'élévation de la β 2-microglobuline, et ne sont sans doute qu'un des reflets de l'activation de l'ensemble du système immunitaire qui accompagne les phases évolutives de la maladie. Par contre, leur association paraît robuste avec la gravité de l'atteinte pulmonaire. Ceci pose question quant à un rôle biologique propre des sFLC dans le développement de cette atteinte. Il a été montré qu'elles semblent pouvoir générer des réactions d'hypersensibilité immédiates mais indépendantes des IgE (63) : elles semblent capables de reconnaître spécifiquement un Ag (64), de sensibiliser les mastocytes et donc de déclencher leur activation lors du second contact avec celui-ci. L'implication des cellules mastocytaires dans la physiopathologie de la SSc est discutée depuis longtemps. Ce sont en effet des cellules du tissu conjonctif qui jouent un rôle dans l'initiation des

phénomènes inflammatoires, et dans les processus fibrosants. Ils sont capables de contacts directs avec les fibroblastes et les lymphocytes T, qu'ils activent (65). Dans la phase précoce de la maladie, il existe un infiltrat inflammatoire au sein des tissus cibles, notamment dans le derme, comprenant des mastocytes. Leur nombre est plus élevé en peau lésée qu'au niveau des zones de peau saine et que chez les sujets témoins, et il semble corrélé avec la sévérité de l'atteinte (66,67). Ceux-ci sont dégranulés et ont donc été activés dans la peau lésée des souris TSK (68) et des patients (69). Ils sont capables de sécréter du TGF- β , un des principaux facteurs de croissance impliqués dans le développement de la fibrose dans la SSc. À l'inverse, les souris déficientes en mastocytes ou ayant reçu un traitement bloquant leur dégranulation développent une fibrose moins sévère (70,71). Ils sont aussi impliqués dans le développement des pathologies fibrosantes pulmonaires. En particulier, leur nombre et la concentration en tryptase et histamine sont augmentés dans le LBA des malades SSc (72). Un switch isotypique vers les IgE n'a pu être observé que chez une minorité de patients dans une cohorte étudiée (73), donc si les mastocytes sont impliqués dans le développement de la fibrose chez les malades, leur activation par les IgE n'est sans doute pas le seul mécanisme en cause. On peut donc formuler l'hypothèse que les sFLC peuvent activer ces mastocytes, et constituer ainsi un lien supplémentaire entre l'immunité humorale et le développement de la fibrose.

Il serait enfin intéressant de savoir si ces sFLC peuvent prédire le risque de cancer chez les malades. Elles semblent en effet être un marqueur du risque d'évolutivité vers un lymphome chez les patients infectés par le VIH, et de la survenue d'une leucémie lymphoïde chronique chez les patients porteurs d'une néoplasie solide. Même si l'incidence des cancers des malades SSc reste faible (74), ils paraissent avoir un sur-risque relatif de développer un cancer du poumon de 3,14, un lymphome non-hodgkinien

de 2,68 et une hémopathie de 2,57. L'augmentation du risque de cancer pulmonaire paraît liée en partie à l'atteinte interstitielle(75), et le risque de lymphome pourrait être secondaire à l'activation B chronique comme cela semble être le cas dans d'autres maladies auto-immunes (PR, SGS, LES). L'étude du ratio kappa/lambda dans ce contexte pourrait être intéressante.

En conclusion, les taux de sFLC, sous-produits de la synthèse d'Ac par les LB différenciés et donc marqueurs de leur activation, sont plus élevés dans la SSc que chez les sujets sains, comme décrit dans le lupus, la PR et le syndrome de Gougerot-Sjögren. Ils paraissent être de bons marqueurs de l'activité et de la gravité, en particulier pulmonaire et cutanée, de la SSc, maladie hétérogène qui manque de tels outils utilisables en routine. Si on compare son intérêt avec celui des autres marqueurs d'activation B, il semble globalement le plus performant pour l'évaluation de l'activité et de la gravité à l'exception de la β 2-microglobulinémie, avec les réserves citées. Dans tous les cas, cette étude apporte des arguments supplémentaires pour une implication des LB dans la physiopathologie de la SSc, et laisse supposer qu'il existe un lien entre l'intensité de l'activation B polyclonale et la gravité des atteintes, en posant encore une fois la question du lien entre auto-immunité humorale et fibrose.

ANNEXE 1 : Critères de classification de la SSc de l'American Rheumatism Association (ARA), 1980

Le diagnostic de sclérodermie systémique peut être porté si le patient a 1 critère majeur ou 2 critères mineurs.

Critère majeur :

- Sclérodermie cutanée proximale (sclérose cutanée remontant vers la racine des membres au-delà des articulations métacarpo- et/ou métatarsophalangiennes).

Critères mineurs :

- Sclérodactylie

- Cicatrice déprimée d'un doigt ou perte de substance de la partie distale de la pulpe digitale

- Fibrose pulmonaire des bases

ANNEXE 2 : Critères de classification des formes débutantes de Sclérodermie systémique (Leroy et Medgser, 2001)

Sclérodermie systémique limitée

- Phénomène de Raynaud documenté objectivement

plus

- soit une anomalie capillaroscopique (dilatation capillaire et/ou zones avasculaires) ;

- soit la présence d'anticorps spécifiques de la sclérodermie systémique

(anticentromère, antitopo-isomérase I, antifibrillarine, anti-PM-Scl, antifibrine ou anti-RNA polymérase I ou III) à un titre \geq 1/100.

Sclérodermie systémique cutanée limitée

En plus des critères précédents, les patients ont une infiltration cutanée distale en aval des coudes et des genoux (l'épaississement de la peau peut toucher les doigts, les mains, les avant-bras, les pieds, les orteils, le cou et la face).

ANNEXE 3 : SCORE DE RODNAN MODIFIÉ

<table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>3</td></tr> <tr><td>2</td></tr> <tr><td>1</td></tr> <tr><td>0</td></tr> </table>	3	2	1	0	<p>Sclérose adhérente au plan profond</p> <p>Sclérose intermédiaire</p> <p>Sclérose superficielle</p> <p>Absence de sclérose</p>		<table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>0</td></tr> </table> <p>Visage</p> <table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>0</td></tr> </table> <p>Bras</p> <table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>0</td></tr> </table> <p>Abdomen</p> <table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>0</td></tr> </table> <p>Avant bras</p> <table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>0</td></tr> </table> <p>Mains</p> <table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>0</td></tr> </table> <p>Doigts</p> <table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>0</td></tr> </table> <p>Cuisse</p> <table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>0</td></tr> </table> <p>Jambe</p> <table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr><td>3</td><td>2</td><td>1</td><td>0</td></tr> </table> <p>Pied</p>	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0	3	2	1	0
3																																											
2																																											
1																																											
0																																											
3	2	1	0																																								
3	2	1	0																																								
3	2	1	0																																								
3	2	1	0																																								
3	2	1	0																																								
3	2	1	0																																								
3	2	1	0																																								
3	2	1	0																																								
3	2	1	0																																								
		Score maximum (17 sites): 51																																									

ANNEXE 4 : SCORE D'ACTIVITÉ EUSTAR

La maladie est considérée comme active si la somme est ≥ 3			
<input type="checkbox"/>	Score de Rodnan modifié > 14	1	Mesure de l'épaississement et du plissement cutané à l'aide d'une échelle de 0 (normale) à 3 en 17 sites anatomiques (0-51)
<input type="checkbox"/>	Scléroedème	0,5	Augmentation du volume des tissus mous, surtout des doigts, avec modifications des contours et plis cutanés
<input type="checkbox"/>	Peau	2	Le patient répond <i>aggravés</i> à la question suivante : « Est-ce que vos signes cutanés se sont modifiés au cours du dernier mois ? » Améliorés ; Inchangés ; Aggravés
<input type="checkbox"/>	Ulcère digital	0,5	Ulcère digital actif <i>quelque soit sa taille ; de petit à la gangrène</i>
<input type="checkbox"/>	Vasculaire	0,5	Le patient répond <i>aggravés</i> à la question suivante : « Est-ce que vos signes vasculaires se sont modifiés au cours du dernier mois ? » Améliorés ; Inchangés ; Aggravés
<input type="checkbox"/>	Arthrites	0,5	Gonflements et douleurs articulaires périphériques <i>à l'exception des manifestations liées à la calcinose</i>
<input type="checkbox"/>	DLCO	0,5	DLCO < 80% de la normale aux explorations fonctionnelles respiratoires
<input type="checkbox"/>	Cœur-Poumons	2	Le patient répond <i>aggravés</i> à la question suivante : « Est-ce que vos signes cardio-pulmonaires se sont modifiés au cours du dernier mois ? » Améliorés ; Inchangés ; Aggravés
<input type="checkbox"/>	VS > à 30 mm à 1h	1,5	Vitesse de sédimentation par méthode Westergreen
<input type="checkbox"/>	Hypocomplémentémie	1	Diminution du C3 ou C4 quelle que soit la méthode
Total : ___ / 10			

ANNEXE 5 : SCORE DE GRAVITÉ MEDGSER

Organe	0 (normal)	1 (léger)	2 (modéré)	3 (sévère)	4 (terminal)
Général	Perte de poids < 5% Hte > 37% Hb > 12.3 g/dl O	Perte de poids 5-9.9% Hte 33-36.9% Hb 11-12.2 g/dl O	Perte de poids 10-14.9% Hte 29-32.9% Hb 9.7-10.9 g/dl O	Perte de poids 15-19.9% Hte 25-28.9% Hb 8.3-9.6 g/dl O	Perte de poids > 20% Hte < 25% Hb < 8.3 g/dl O
Vasculaire périphérique	Pas de Raynaud, pas de traitement O	Raynaud nécessitant des vasodilatateurs O	Fissures digitales O	Ulcères digitaux O	Gangrène O
Peau	SRT = 0 O	SRT = 1-14 O	SRT = 15-29 O	SRT = 30-39 O	SRT > 40 O
Articulation/ Tendon	DDP = 0-0,9 cm O	DDP = 1-1.9 O	DDP : 2 à 3,9 O	DDP = 4 à 4,9 O	DDP > 5 O
Muscle	Aucune faiblesse O	Légère faiblesse proximale O	Faiblesse proximale modérée O	Faiblesse proximale sévère O	Aide à la marche O
Tube digestif	Normal O	Hypopéristaltisme O	Apéristaltisme œsophagien, pullulation microbienne O	Malabsorption, pseudo-occlusion O	Renutrition O
Poumons	DLCO >80% CVF >80% Pas de fibrose PAPs < 35 mmHg O	DLCO = 70-79% CVF = 70-79% Râles crépitants ou fibrose PAPS 35-49 O	DLCO = 50-69% CVF= 50-69% PAPs 50-64 O	DLCO <50% CFV < 50% PAPs > 65 O	Oxygénothérapie O
Cœur	ECG normal FEVG > 50% O	Troubles de conduction FEVG = 45-49% O	Arythmie, FEVG = 40-44% O	Arythmie nécessitant un traitement FEVG 30-40% O	Insuffisance cardiaque, FEVG < 30% O
Rein	Créatininémie <13 mg/L O	Crise rénale et créatininémie <15 mg/L O	Crise rénale et créatininémie entre 15-24 mg/L O	Crise rénale et créatininémie entre 25-50 mg/L O	Crise rénale et créatininémie > 50 mg/L et/ou dialyse O

ANNEXE 6 : QUESTIONNAIRE QUALITÉ DE VIE HAQ

Questionnaire de Qualité de Vie - A remplir par le patient lui-même

Questionnaire HAQ modifié pour la sclérodermie /3

Aujourd'hui, êtes vous capable : (entourez la réponse de votre choix, une par ligne)	Sans aucune difficulté	Avec une légère difficulté	Avec une grande difficulté	Incapable
de vous habiller tout(e) seul(e) y compris de lacer vos chaussures et d'attacher vos boutons ?	0	1	2	3
de vous laver la tête tout(e) seule ?	0	1	2	3
de vous lever d'une chaise de 40 cm ?	0	1	2	3
de vous coucher et de vous lever tout(e) seul(e) de votre lit ?	0	1	2	3
de couper vous-même votre viande ?	0	1	2	3
de porter à vos lèvres une tasse ou un verre rempli à ras bord ?	0	1	2	3
d'ouvrir une «brique» de lait en carton ?	0	1	2	3
de marcher dehors en terrain plat ?	0	1	2	3
de monter cinq marches ?	0	1	2	3
de vous laver et de vous essuyer de la tête aux pieds ?	0	1	2	3
de prendre un bain dans une baignoire ?	0	1	2	3
de vous asseoir et de vous relever du siège des WC ?	0	1	2	3
d'attraper juste au dessus de votre tête un poids de 2.5 kg et de le mettre plus bas ?	0	1	2	3
de vous pencher pour attraper vos affaires sur le sol ?	0	1	2	3
d'ouvrir les portes de votre voiture ?	0	1	2	3
d'ouvrir des pots qui ont déjà été ouverts ?	0	1	2	3
d'ouvrir ou de fermer des robinets ?	0	1	2	3
de vous promener et de faire des courses ?	0	1	2	3
de rentrer et de sortir d'une voiture ?	0	1	2	3
de passer l'aspirateur ou de jardiner ?	0	1	2	3

Cotation: les capacités sont cotées comme suit :

Sans aucune difficulté	0
Avec une légère difficulté	1
Avec une grande difficulté	2
Incapable:	3

En l'absence de réponse à un item, cet item n'est pas comptabilisé. L'index de validité est la somme des scores obtenus pour chaque item, divisée par le nombre d'items auxquels a répondu le patient

Cochez chacun des appareils dont vous vous servez régulièrement :

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Canne
pieds,...) | <input type="checkbox"/> Aide à l'habillage (passe-boutons, chausse- |
| <input type="checkbox"/> Déambulateur | <input type="checkbox"/> Ustensiles spéciaux |
| <input type="checkbox"/> Siège pour s'asseoir dans le bain | <input type="checkbox"/> Prolongateur pour attraper les objets |
| <input type="checkbox"/> Barre de soutien pour rentrer dans la baignoire | <input type="checkbox"/> Prolongateur pour la salle de bain |
| <input type="checkbox"/> Ouvre-bouteille | <input type="checkbox"/> Surélévateur de WC |
| <input type="checkbox"/> Béquilles | <input type="checkbox"/> Chaise sur mesure |
| <input type="checkbox"/> Fauteuil roulant | <input type="checkbox"/> Autre |

Cochez chacun des items pour lesquels vous avez habituellement besoin de l'aide d'une autre personne :

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Hygiène | <input type="checkbox"/> Pour prendre et ouvrir les choses |
| <input type="checkbox"/> Pour attraper | <input type="checkbox"/> Pour vous promener et faire vos courses |

Quelle a été l'intensité de la gêne causée par votre maladie pour les activités de vie quotidienne au cours de la semaine passée? (Faites un trait sur la ligne pour indiquer, sur une échelle de 0 à 100, l'intensité de la douleur.)

1. Au cours de la semaine dernière, combien votre syndrome de Raynaud a-t-il gêné vos activités?



2. Au cours de la semaine dernière, dans quelle mesure les ulcérations de vos doigts ont-elles gêné vos activités?



3. Au cours de la semaine dernière, dans quelle mesure vos troubles gastro-intestinaux ont-ils gêné votre activité?



4. Au cours de la semaine dernière, combien vos problèmes pulmonaires ont-ils interféré avec votre activité?



5. Au cours de la semaine dernière, jusqu'à quel point tous les problèmes en rapport sclérodermie ont-ils interféré avec l'ensemble de vos activités?



ANNEXE 7 : BIOLOGIE DES CHAINES LÉGÈRES LIBRES ET IMPLICATION EN PATHOLOGIE HUMAINE

TABLE DE MATIERE

1	INTRODUCTION.....	73
2	MÉTABOLISME DES CHAINES LÉGÈRES LIBRES.....	74
2.1	<u>SYNTHÈSE</u>	74
2.2	<u>CATABOLISME DES FLC</u>	75
3	DOSAGE DES FLC	76
4	FONCTIONS BIOLOGIQUES DES FLC	79
4.1	<u>INTRODUCTION</u>	79
4.2	<u>ROLE DANS LA RECONNAISSANCE ANTIGÉNIQUE</u>	80
4.3	<u>CAPACITÉ DE LIAISON MEMBRANAIRE</u>	81
4.4	<u>INTERACTIONS AVEC LES CELLULES MASTOCYTAIRES</u>	81
4.5	<u>INTERACTION AVEC LES POLYNUCLÉAIRES NEUTROPHILES (PNN)</u> ..	83
4.6	<u>AUTRES EFFETS IMMUNOMODULATEURS</u>	84
5	FLC en PATHOLOGIE HUMAINE	85
5.1	<u>INTRODUCTION</u>	85
5.2	<u>MALADIES AUTO-IMMUNES</u>	86
5.2.1	<u>Polyarthrite rhumatoïde (PR)</u>	86
5.2.2	<u>Lupus érythémateux systémique</u>	89
5.2.3	<u>Syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS)</u>	91
5.2.4	<u>Sclérodermie systémique (SSc)</u>	91
5.3	<u>MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES</u>	92

5.3.1	<u>Sclérose en plaques (SEP)</u>	92
5.3.2	<u>Maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI)</u>	93
5.3.3	<u>Broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO)</u>	93
5.3.4	<u>Syndrome hyper-IgG4</u>	94
5.4	<u>FLC et PATHOLOGIES d’HYPERSENSIBILITÉ</u>	94
5.5	<u>DIABETE</u>	95
5.6	<u>TOXICITÉ RÉNALE</u>	96
5.7	<u>FLC, VIRUS ET NÉOPLASIES</u>	97
5.8	<u>FLC et MORTALITÉ</u>	98
6	IMPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES	99
7	CONCLUSION	100

1 INTRODUCTION

Les chaînes légères libres (ou *Free Light Chains* FLC) des Immunoglobulines sont un sous-produit de la synthèse d’Anticorps (Ac) par les LB matures différenciés (plasmocytes ou B mémoire).

La mise au point ces dernières années de techniques de dosage quantitatif de ces FLC sériques ou urinaires (43) a révolutionné le suivi des pathologies plasmocytaires monoclonales, et a également ouvert la porte à la recherche sur leur expression polyclonale dans les pathologies inflammatoires chroniques. La constatation de taux élevés de FLC dans plusieurs de ces pathologies a fait envisager qu’elles puissent servir

de bio-marqueur d'activité, notamment dans les maladies auto-immunes (76). A côté de ce rôle de marqueur d'activation B, se pose également la question d'un rôle biologique propre (77), ouvrant la porte à la recherche pour une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques des maladies autoimmunes et peut-être à des thérapies ciblées.

2 MÉTABOLISME DES CHAINES LÉGÈRES LIBRES

2.1 SYNTHÈSE

Les Ig, ou Anticorps, sont des tétramères composés de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères identiques entre elles, reliées par un pont disulfure. Chaque chaîne comporte une région constante C, porteuse des fonctions biologiques effectrices pour les chaînes lourdes, conservée entre les différents clones d'Ig, et une fraction variable V, spécialisée dans la reconnaissance antigénique et porteuse de la diversité immunitaire. Il existe cinq classes d'Ig chez l'Homme (IgA, IgM, IgG, IgE et IgD), déterminées par l'isotype de leur chaîne lourde, et deux isotypes de chaîne légère *kappa* ou *lambda*, mutuellement exclusives pour un même clone d'Ig.

La synthèse des chaînes lourdes et des chaînes légères des Ig est réalisée de façon asynchrone dans le réticulum endoplasmique des LB, lors de leur maturation et après stimulation, et dans les plasmocytes activés. Le réarrangement somatique du gène de la chaîne lourde précède celui de la chaîne légère, et conduit à la synthèse d'une protéine cytoplasmique. Si elle est fonctionnelle, cette protéine va s'associer à une chaîne légère réarrangée pour former le *B Cell Receptor* (BCR), ensuite transféré à la membrane du LB.

La recombinaison du gène de la chaîne légère débute toujours par les loci de la chaîne *kappa*, et est suivie de la recombinaison *lambda* seulement si le résultat est non fonctionnel. Dans tous les cas, il n'y a qu'un seul isotype de chaîne légère *kappa* ou *lambda* par molécule d'immunoglobuline, et donc par LB mature.

Les chaînes légères sont synthétisées en excès (10 à 40% environ) comparativement aux chaînes lourdes (41,78), ce qui permet le maintien d'un pool cytoplasmique empêchant la formation d'agrégats toxiques de chaînes lourdes. Cependant, une partie des chaînes légères en excès est sécrétée dans la circulation sanguine sous la forme de chaînes légères libres ou *serum Free Light Chain* (sFLC) (78). Elles peuvent être libérées sous forme de monomères ou de dimères, covalents ou non covalents (79). Ceci semble avoir une importance quant à leur potentiel pathogène. Des FLC polyclonales sont donc présentes de façon physiologique dans le sérum. Elles sont le reflet de la synthèse d'Ig par les LB, les plasmocytes ou plasmoblastes, et peuvent alors être envisagées comme un marqueur de l'activation lymphocytaire B.

2.2 CATABOLISME DES FLC

L'essentiel des FLC est éliminé par le rein, avec une demi-vie de 2 à 6 heures (42), alors qu'elle est beaucoup plus longue pour les Ig complètes (de 20 à 25 jours pour les IgG, de 5 jours pour les IgM et de 6 jours pour les IgA). La majorité des FLC filtrées est réabsorbée au niveau des tubules contournés proximaux, et éliminée par les cellules à brosse. Dix à 30 g de FLC sont ainsi catabolisés quotidiennement par le rein, et seule une faible quantité est retrouvée dans le sang, les urines mais aussi d'autres fluides (liquide céphalo-rachidien, liquide synovial) en condition physiologique, avec une concentration un

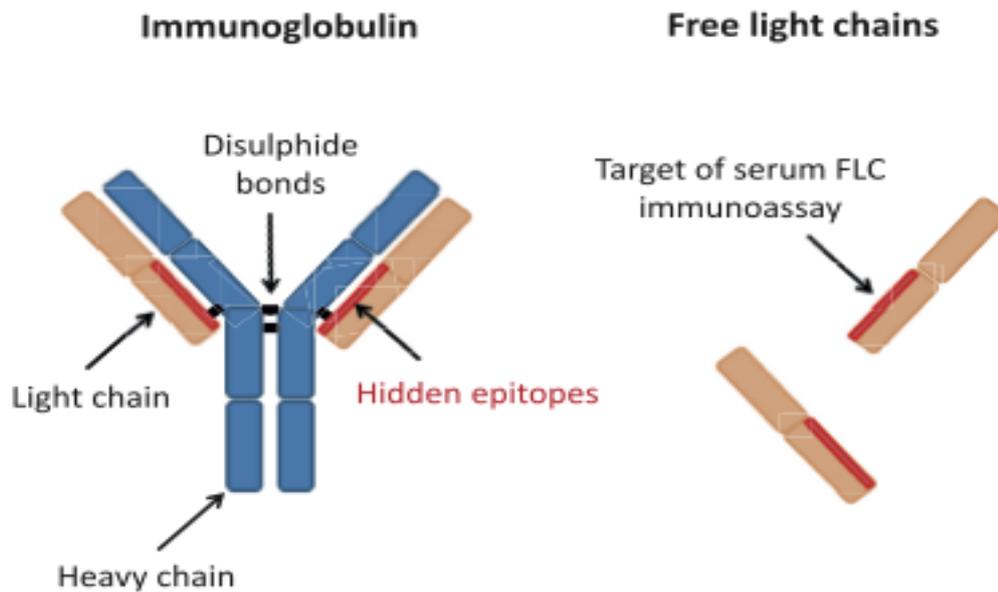
millier de fois inférieure dans le plasma à celle des Ig complètes. Ainsi, en cas d'insuffisance rénale, les taux plasmatiques de FLC augmentent (80) en particulier les taux de chaînes kappa, plus volontiers synthétisées sous forme de monomères, à l'inverse des chaînes lambda plus volontiers de structure dimérique (81). L'élimination se fait alors par le système réticulo-endothélial (78).

3 DOSAGE DES FLC

La concentration sérique des FLC dépend de la balance entre production et élimination. L'hyperproduction peut être d'origine monoclonale, bien décrite dans les myélomes multiples. Dans ce cas le ratio *kappa/lambda* est modifié. Elle peut également être polyclonale en cas d'hyperproduction d'Ig, résultat d'une stimulation immunitaire chronique. Le ratio *kappa/lambda* est dans ce cas conservé. Elle peut donc être considérée comme un reflet non spécifique de l'activation du système immunitaire adaptatif. En cas d'insuffisance rénale, le taux de FLC augmente également, de même que le ratio *kappa/lambda* du fait des différences structurales des chaînes *kappa* et *lambda* (respectivement, structure plus volontiers monomérique ou dimérique) (80).

L'étude des FLC sériques et urinaires a longtemps été freinée par le manque de sensibilité et la lourdeur technique des méthodes utilisant l'électrophorèse des protéines ou l'immunoélectrophorèse. C'est la découverte de méthodes néphélométriques utilisant des Ac spécifiques d'épitopes des FLC masqués dans la structure intègre des Ig (43), qui a permis l'essor de la recherche dans ce domaine (Figure I).

Figure 1 : Structure des Ig et des sFLC



Polyclonal free light chains: a biomarker of inflammatory disease or treatment target?
Judith A. Brebner and Robert A. Stockley. F1000 Medicine Reports 2013, 5:4
(doi:10.3410/M5-4)

Jusqu'en 2011, un seul test était commercialisé (Freelite®, the Binding Site), qui permettait de mesurer les concentrations des FLC kappa et lambda séparément, et donc d'en déterminer le ratio *kappa/lambda*. Il fait référence pour le diagnostic, le pronostic et le suivi des pathologies plasmocytaires clonales (44). Il utilise des Ac polyclonaux anti-FLC, et peut être réalisé sur plusieurs automates de laboratoire. Les valeurs normales des taux de FLC ont été établies pour ce test à partir d'une cohorte de 282 sujets sains sur un automate Dade Berhing BNII et les valeurs correspondant au 95° percentile retenues (45) : 3,3-19,4 mg/l pour les chaînes libres *kappa*, 5,7-26,3 mg/l pour les chaînes *lambda*. Le ratio *kappa/lambda* ainsi déterminé est de 0,26-1,65. Le taux de sFLC augmente cependant en cas de dégradation de la fonction rénale (80), on l'a vu, mais aussi, selon

les études et dans une moindre mesure, avec l'âge (en particulier après 80 ans), mais aussi peut être avec le sexe masculin et avec le poids (45).

De plus, plusieurs limites analytiques ont été décrites (82) : variation des valeurs rendues de FLC pour un même échantillon sanguin testé avec différents antisérum anti-FLC, sous-estimation des FLC lorsqu'elles sont présentes en grande quantité par phénomène d'« Ag en excès » (83), responsable de la formation de complexes immuns circulants, reproductibilité moyenne selon les lots. Il existe également des variations de concentrations liées à la structure des FLC (54) : en cas de dimérisation voire de polymérisation, le dosage des FLC est surestimé car les Ac utilisés dans cette technique réagissent mieux avec ces formes qu'avec les monomères de FLC. Ainsi, plusieurs intervalles de dosages « normaux » ont été établis, selon les études (84). Compte tenu de ces limites techniques, des différences intra-patients observées, ainsi que de l'utilisation de plusieurs automates utilisant différentes techniques de dosage (SPA Plus avec l'immunoturbidimétrie par exemple) il est donc nécessaire d'en interpréter les résultats avec prudence. Tout au moins les dosages doivent-ils être toujours réalisés dans les mêmes conditions dans un même laboratoire pour un même patient.

D'autres réactifs sont en cours d'évaluation actuellement (85,86), utilisant cette fois des Ac anti-FLC monoclonaux. Même s'ils semblent pouvoir éviter certains écueils des *Freelite*® (effet crochet par exemple), leur caractère monoclonal semble les empêcher de reconnaître tous les clones de FLC.

Dans le cas qui nous intéresse ici des élévations polyclonales des sFLC, le ratio $kappa/lambda$ n'a pas d'intérêt et il semblerait que l'étude de la somme $kappa+lambda$ soit plus informative. Elle élimine la variabilité inter-test en ne dosant pas séparément les chaînes légères $kappa$ et $lambda$. Plus encore, les anticorps monoclonaux utilisés pour le

dosage permettent d'obtenir une meilleure sensibilité dans les valeurs basses. C'est un test unique, plus récemment développé et en cours de commercialisation par The Binding Site (Combylite©), que nous avons utilisé pour notre étude.

4 FONCTIONS BIOLOGIQUES DES FLC

4.1 INTRODUCTION

Il a longtemps été considéré que les FLC sanguines et urinaires n'étaient qu'un phénomène satellite de la synthèse des Ig, sans fonction biologique propre. Cependant, comme déjà observé dans des situations similaires (par exemple, peptide C et insuline), peut être ont-elles acquis un rôle biologique propre au cours de l'évolution. Ainsi, la sécrétion des FLC par les LB peut augmenter indépendamment du taux de production d'Ig (41), laissant supposer des mécanismes régulateurs et éventuellement des propriétés biologiques intrinsèques, hypothèse renforcée par les preuves de plus en plus nombreuses de leur implication en pathologie. L'étude de ces possibles fonctions biologiques est cependant encore balbutiante.

Aucun récepteur spécifique cellulaire des FLC n'est connu à ce jour, mais des interactions cellulaires ont été mises en évidence avec les cellules sanguines mononucléées, et en particulier les monocytes. Ce sont des cellules professionnelles de la présentation antigénique, impliquées dans l'initiation des réactions inflammatoires mais aussi dans les processus fibrosants. Ceci suggère une implication des FLC dans ces mécanismes, même si leur capacité de reconnaissance et de liaison aux Ag demeure débattue (87).

4.2 RÔLE DANS LA RECONNAISSANCE ANTIGÉNIQUE

Il persiste de nombreuses incertitudes quant aux capacités de reconnaissance et de liaison antigénique des FLC, avec des données contradictoires dans la littérature (88,89). Les données les plus récentes sont cependant en faveur d'une liaison par les FLC d'un Ag qui leur est spécifique avec une affinité suffisante même si elle est inférieure à celle de la liaison Ig complète-Ag (64).

Si l'intégrité structurale des Ig est nécessaire à la fonction de reconnaissance antigénique, il semble que les chaînes légères ne jouent qu'un faible rôle dans ce mécanisme. Ainsi, après clivage artificiel des chaînes lourdes et légères d'une molécule d'Ig, les chaînes lourdes conservent leurs propriétés de reconnaissance antigénique avec une affinité inférieure, mais les chaînes légères ne semblent pas pouvoir reconnaître l'Ag. L'association d'autres chaînes légères non spécifiques de l'Ag aux chaînes lourdes d'origine inhibe leur capacité de liaison antigénique (90).

Cependant, ces modifications d'affinité liées aux chaînes légères jouent sans doute un rôle important dans le développement de l'auto-immunité. Le processus de *Receptor editing*, qui consiste en une modification du domaine variable de la chaîne légère de l'Ig (91), est ainsi un des mécanismes de la tolérance immunitaire périphérique : une fois les chaînes lourdes et légères synthétisées et assemblées, les LB naïfs auto-réactifs qui ont quitté la moelle osseuse et qui ont une affinité pour un Ag du soi pourront engager ce processus visant à supprimer leur auto-réactivité.

4.3 CAPACITÉ DE LIAISON MEMBRANAIRE

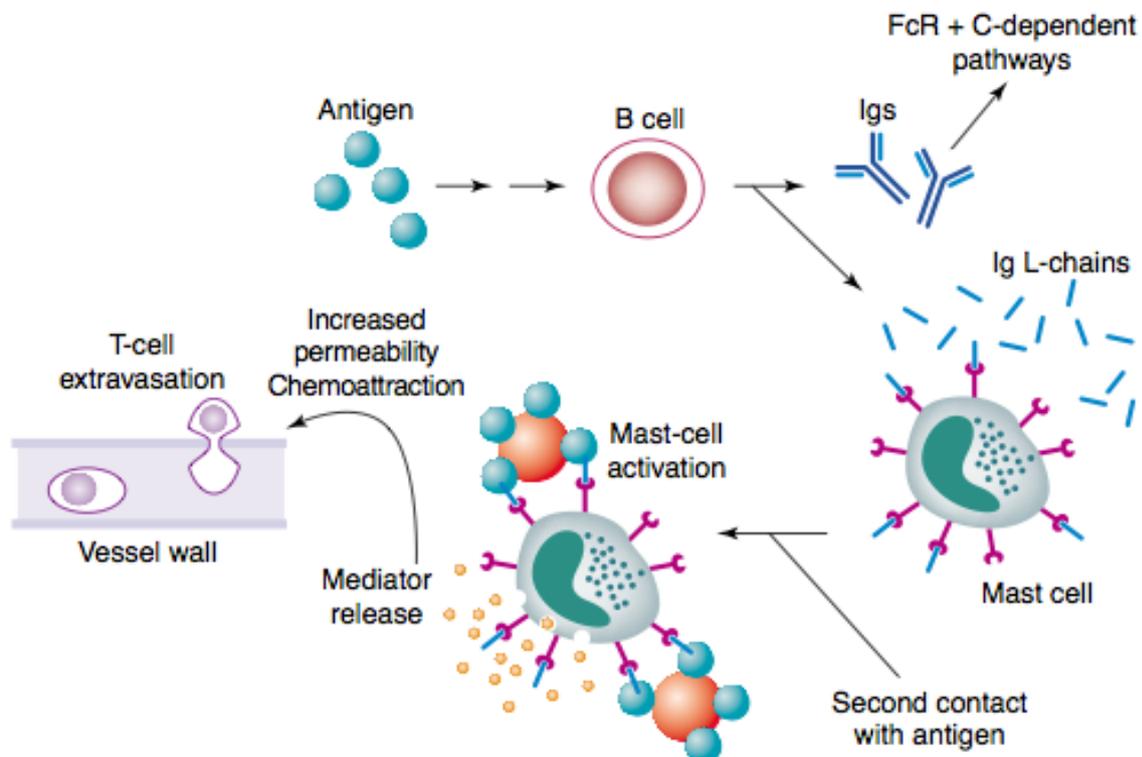
Il a récemment été prouvé par Hutchinson et al. que les sFLC ont la capacité de se lier aux membranes cellulaires via des interactions avec les phospholipides et que ceci entraîne leur agrégation (92). Elles peuvent donc potentiellement interagir avec une très grande variété de cellules sans nécessiter de récepteur spécifique. Une telle interaction a été observée *in vitro* avec des cellules sanguines mononucléées, de façon particulièrement importante avec les monocytes. Peut-être ces cellules peuvent-elles ainsi internaliser un Ag spécifiquement reconnu par une sFLC, puis le présenter aux LT. La description de cette capacité de liaison membranaire vient dans tous les cas renforcer l'idée de l'existence de fonctions propres aux sFLC.

4.4 INTERACTIONS AVEC LES CELLULES MASTOCYTAIRES

Les mastocytes sont des cellules de l'immunité innée, sentinelles immunitaires dans les tissus lymphoïdes, cutanés et respiratoires. Leur activation conduit à la libération de médiateurs pro-inflammatoires. Ce sont des effecteurs centraux de la réponse allergique, mais ils sont également impliqués dans la pathogénèse de diverses pathologies inflammatoires (93), au premier rang desquelles la sclérose en plaques (SEP) et la PR, mais aussi les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) (94). Les cellules mastocytaires sont aussi productrices de cytokines pro-fibrosantes et de facteurs de croissance (TGF- β , IL-1, IL-4, IL-13, TNF- α) ainsi que de protéases (tryptase, chymase) impliquées dans la régulation du processus de fibrose (95).

Les IgE jouent un rôle central dans la genèse des phénomènes allergiques, en permettant la reconnaissance de l'antigène en cause dans l'allergie par les Mastocytes *via* leur récepteur IgE (FcεRI). Il existe cependant une part non négligeable (40%) de patients allergiques chez qui il ne peut être mis en évidence ni élévation des IgE totales, ni IgE spécifique de l'Ag en cause (96). Ainsi, des réactions d'hypersensibilité médiées par les Mastocytes mais indépendantes des IgE, déclenchées par des chaînes légères séparées des Ig spécifiques des Antigènes en cause (figure 2) (97), ont été identifiées. Un transfert de sensibilité antigénique par injection de FLC à des souris naïves entraîne une réaction d'hypersensibilité immédiate dose-dépendante lors du contact avec l'Ag. Cette réaction est supprimée chez les souris déficientes en Mastocytes (98).

Figure 2 : rôle des sFLC dans les phénomènes d'hypersensibilité



Redgeld F-A, Nijkamp F-P. Immunoglobulin free light chains and mast cells: pivotal role in T-cell-mediated immune reactions? Trends in Immunology 2003

Ainsi, l'exposition de souris à des haptènes entraîne la synthèse d'Ig spécifiques après activation lymphocytaire B et donc de FLC. Celles-ci pourraient avoir une capacité de fixation aux mastocytes, et donc être à l'origine de la réaction d'hypersensibilité cutanée immédiate lors du deuxième contact avec l'haptène. Cette réaction est supprimée par l'emploi d'un antagoniste spécifique des FLC (protéine F991, identique à la région de liaison des FLC identifiée sur la protéine de Tamm-Horsfall portée par les cellules rénales de l'anse de Henlé) (97).

Dans les modèles murins d'asthme non atopique, l'hyperréactivité et l'inflammation bronchiques sont également levées par l'utilisation de cet antagoniste spécifique (99,100). Des résultats similaires ont été retrouvés plus récemment par Thio *et al.* : les sFLC semblent reconnaître spécifiquement un Ag, et, lorsqu'elles sont liées aux mastocytes, se polymérisent et induisent le déclenchement d'une réponse inflammatoire, comme dans les réactions IgE-médiées (64). Aucun récepteur mastocytaire pour les sFLC n'a cependant pu être mis en évidence pour l'instant, mais on a vu que les sFLC peuvent interagir directement avec les membranes, et que ceci entraine leur agrégation : les FLC semblent donc se comporter vis-à-vis des mastocytes comme des IgE, mais sans nécessiter de récepteur spécifique.

De telles interactions avec les mastocytes ont pu également être observées dans des situations autres que l'allergie, autorisant l'hypothèse que les FLC ont un rôle dans l'initiation de l'inflammation via l'activation de ces cellules.

4.5 INTERACTION AVEC LES POLYNUCLÉAIRES NEUTROPHILES (PNN)

Il semblerait, du moins chez les patients en dialyse chronique, qu'il existe une altération irréversible du chimiotactisme des PNN et de leur métabolisme glucidique liés à l'élévation

des FLC, expliquant en partie l'immunodépression de ces patients (101–103). De la même façon, il existe une telle altération fonctionnelle des PNN chez les patients atteints de myélome multiple, suggérant là encore une possible responsabilité des FLC. Par ailleurs, l'apoptose des PNN semblerait pouvoir être inhibée par les FLC, les impliquant dans l'état pro-inflammatoire des patients insuffisants rénaux terminaux (104).

4.6 AUTRES EFFETS IMMUNOMODULATEURS

- Les chaînes légères libres des Ig semblent avoir un rôle à jouer dans la lutte contre les infections virales. Plusieurs études rapportent l'élévation des sFLC dans diverses infections, notamment le VIH et le VHB : elles sont alors corrélées avec la gravité de ces infections (marqueur de risque de développer une infection opportuniste chez les patients VIH, risque de développer une hémopathie B ; voir plus loin). A l'inverse, un modèle murin a permis de montrer que l'injection de FLC diminue la gravité des myocardites virales (105) : l'injection de FLC aux souris malades diminue la sévérité de la myocardite, et leur inhibition in vitro par le F991 favorise la réplication virale. Elles semblent capables d'inhiber directement la réplication de virus dont elles ne sont pas spécifiques, peut être par liaison directe membranaire aux cellules infectées, ou en stimulant la synthèse d'IL-10 (cytokine pro-inflammatoire), ou celle de l'interféron alpha et gamma.
- Des capacités anti-angiogéniques, prothrombotiques, protéolytiques et d'activation du Complément ont également été suggérées (106,107). Il semble que les FLC potentialisent les activateurs tissulaires du plasminogène et stimulent la fibrinolyse (108).

- Enfin, il a pu être mis *in vitro* une augmentation de la sécrétion de TGF- β sous l'effet du dépôt de chaînes légères dans les glomérules rénaux et une inhibition de la prolifération des cellules mésangiales du rein, expliquant peut-être au moins en partie les atteintes rénales observées en cas d'excès de FLC (109).

5 FLC EN PATHOLOGIE HUMAINE

5.1 INTRODUCTION

On a vu qu'il peut exister une élévation du taux plasmatique des FLC en cas d'altération de leur élimination ou en cas de dépassement des capacités de catabolisme rénal. Ceci peut se produire en situation d'hyperproduction de FLC par les LB, notamment dans un contexte d'hémopathie monoclonale (myélome à chaînes légères ou à Ig complètes, le taux de FLC dans la circulation sanguine étant corrélé à l'importance du pic monoclonal), ou d'amylose AL. Leur dosage par technique immunonéphélométrique fait maintenant l'objet de recommandations précises pour le diagnostic et le suivi de ces patients (44). Ces situations ont concentré l'essentiel des études sur les FLC, nous ne les traiterons pas ci.

Une élévation des sFLC se produit également en cas de stimulation lymphocytaire B anormale et chronique, et peut donc concerner diverses pathologies infectieuses, inflammatoires ou auto-immunes, que nous allons recenser ici. Une telle augmentation a en effet été décrite dans plusieurs maladies auto-immunes systémiques (lupus, polyarthrite rhumatoïde, syndrome de Gougerot-Sjögren). L'hypothèse émise est que le

taux de FLC est un reflet du niveau d'activation lymphocytaire B, et donc possiblement un marqueur d'activité de ces maladies, dans lesquelles le rôle du LB paraît de plus en plus important (110).

Des anomalies des FLC ont également été suggérées dans d'autres maladies inflammatoires chroniques (sclérose en plaques, maladie de Crohn et recto-colite hémorragique), diverses pathologies allergiques (asthme, rhinite, dermatite atopique, allergie alimentaire, pneumopathie d'hypersensibilité), la BPCO, la fibrose pulmonaire idiopathique, du moins dans des modèles murins, et posent de nouveau la question du rôle biologique propre des FLC.

5.2 MALADIES AUTO-IMMUNES

5.2.1 Polyarthrite rhumatoïde (PR)

L'importance des LB dans cette pathologie est bien établie depuis plusieurs années, et l'efficacité des thérapeutiques le ciblant bien démontrée (8). A notre connaissance, la première étude à s'être intéressée aux sFLC et à avoir utilisé une méthode immunonéphélométrique de dosage dans cette pathologie a été publiée en 2007 par Gottenberg et al. (49). Celle-ci a montré sur une série de 50 patients que le taux de sFLC dans la PR est significativement plus élevé comparativement à 80 sujets sains, et qu'un tiers des patients a un taux de sFLC anormalement élevé. Il a aussi été montré que les FLC ont une concentration augmentée dans le liquide synovial des patients, proportionnellement à l'augmentation sérique, mais avec des taux bien plus importants dans la synoviale, suggérant une synthèse locale (60). De plus, l'étude de Gottenberg retrouvait une relation entre la concentration des sFLC et l'activité de la maladie (mesurée par le DAS 28), et les taux de FLC sériques et du liquide synovial sont corrélés à la VS et à la CRP. Des résultats similaires ont été retrouvés par une équipe chinoise qui a

comparé les taux de sFLC entre 40 PR actives d'après leur DAS 28-VS et 40 PR inactives (111).

Une corrélation était retrouvée également par Gottenberg entre les sFLC et les autres marqueurs d'activation lymphocytaire B (taux de gammaglobulines, d'IgG et facteurs rhumatoïdes pour les FLC *kappa*). Cette relation n'était pas retrouvée avec la présence d'Ac anti-CCP spécifiques de la maladie, ni entre les paramètres classiques d'activation B (IgG et gammaglobulines) et le DAS 28. L'hypothèse soulevée par les auteurs était que la différence de demi-vie entre les sFLC (2 à 6 heures) et les IgG (20 à 25 jours) explique cette discordance, faisant des sFLC un marqueur beaucoup plus sensible aux variations d'activité de la maladie (49).

Cette étude avait été complétée par les données de la cohorte française ESPOIR recensant les patients présentant des arthrites précoces, naïfs de Disease modifying antirheumatic drugs (DMARDs) et de corticoïdes (48). La cohorte initiale comprenait 710 sujets, et un diagnostic de PR débutante a finalement été retenu chez 578 d'entre eux après un an de suivi. La concentration des sFLC était plus élevée dans le groupe PR débutante, de même que le taux d'IgG, IgA, et la β -2 microglobulinémie. Le taux de sFLC était également corrélé à l'activité de la maladie (mesurée par le DAS 28), et à sa sévérité en ce qui concerne les chaînes *kappa* (présence d'érosions articulaires). A noter que sur cet effectif beaucoup plus important, et en l'absence de tout traitement immunosuppresseur, il existe cette fois une corrélation entre le DAS 28 et les marqueurs d'activation B autres que les FLC.

Fortes de ces conclusions, des équipes ont donc tenté d'utiliser les sFLC comme marqueur de l'efficacité des traitements anti-lymphocytaire B. Trois et six mois après traitement, les patients répondeurs au RITUXIMAB (Ac monoclonal anti-CD20) voyaient

leur taux de sFLC diminuer à l'inverse des non répondeurs. Cette diminution se faisait parallèlement à celle de la VS et de la CRP (étude ouverte portant sur 50 patients). Il n'y avait par contre pas de corrélation avec le taux de sFLC avant traitement. Le taux d'IgM diminuait aussi chez les patients non-répondeurs, et les taux d'IgG et d'IgA ne diminuaient que faiblement chez tous les patients (60).

On sait par ailleurs que les titres d'Ac anti-CCP et de FR sont de mauvais éléments de suivi : ils sont toujours détectables malgré une bonne réponse au traitement, et leur titre n'augmente pas significativement lors des rechutes (112). Ce ne sont donc peut être pas les mêmes cellules qui synthétisent les Ig complètes et (notamment les auto-Ac spécifiques) et les sFLC impliquées dans la maladie, ou peut être les voies de régulation de synthèse sont-elles différentes. D'ailleurs, dans cette étude, des cellules porteuses de FLC sont retrouvées de façon très abondante dans la synoviale des patients : celles-ci ne sont pas toutes des plasmocytes.

Les seuls facteurs prédictifs reconnus de réponse au traitement par anti-CD20 sont la présence d'anticorps anti-CCP, et un facteur rhumatoïde élevé (113). La réponse au Rituximab semble donc dépendre de la conjonction d'une réponse polyclonale B intense et d'une réponse spécifique. A l'inverse, une mauvaise réponse au traitement ou une réponse de courte durée peut être prédite par un nombre élevé de plasmablastes CD20^{neg} et de cellules B à un stade tardif de différenciation avant traitement et persistant après (114). Le risque de rechute semble également plus élevé en cas de différenciation des LB en LB mémoire (115). Ainsi, la rechute après traitement par anti-CD20 est associée à une ascension du taux de sFLC, et de FR IgM, et à une diminution de BAFF, ce qui indique une régénération des cellules sécrétrices d'Ig (112). Les variations des taux de sFLC pourraient donc être le meilleur outil de suivi de l'efficacité thérapeutique sous

rituximab, alors que les auto-Ac spécifiques sont un outil prédictif de réponse au traitement.

Il est intéressant de noter que le taux de sFLC ne diminuait pas chez les patients sous anti-TNF (20 patients), suggérant que la baisse des FLC est liée à l'action thérapeutique du rituximab en particulier, et non à l'amélioration clinique obtenue par d'autres traitements (60).

Enfin, dans la PR, il existe un excès de mastocytes activés dans les synoviales des patients, et donc de leurs médiateurs (TNF- α , histamine, tryptase). Des équipes ont émis l'hypothèse que ces cellules pourraient constituer un des liens entre l'inflammation chronique articulaire et la production d'auto-anticorps (116,117). Des FLC de spécificité antigénique particulière (par exemple anti-CCP) pourraient donc être responsables d'une activation mastocytaire, comme évoqué dans l'allergie et la SEP (cf ci-après), et initier ou maintenir les phénomènes inflammatoires locaux.

5.2.2 Lupus érythémateux systémique

Le rôle de l'activation lymphocytaire B dans le LES a déjà été bien étudié, et on sait depuis plusieurs années qu'il existe une synthèse polyclonale d'Ig en cas d'activité de la maladie. Il est également suggéré depuis longtemps qu'une élévation des taux de FLC existe dans le lupus (118) et qu'elle est corrélée à l'activité de la maladie. En 1989, Hopper *et al.* démontraient que la présence de FLC dans les urines des malades et leur augmentation est prédictive de rechute (119), et qu'elle se produit quatre à huit semaines avant l'apparition de signes cliniques (120). Beaucoup plus récemment, Aggarwal *et al* (46) ont pu montrer, en utilisant la méthode de dosage néphélométrique, que le taux de sFLC est plus élevé chez les patients lupiques (75 patients), comparativement aux sujets atteints de PR (41 sujets) et aux valeurs normales définies par Katzman *et al* en 2002. Ce

taux était fortement corrélé à l'activité du lupus défini par le Physician Global Assessment score, le SLEDAI, de la même façon que la baisse de la fraction C3 du complément. Il n'était par contre pas corrélé significativement au taux d'Ac anti-DNA.

Une hypothèse expliquant la bonne corrélation des FLC à l'activité du lupus serait que les FLC, étant dénuées de fonctions immunologiques majeures, sont peu sensibles à l'intensité des réactions immunitaires ou inflammatoires, par exemple à la formation d'immuns complexes (à l'inverse des IgG, du Complément ou des Ac anti-DNA). Il existe également dans le lupus un défaut de régulation du Receptor Editing qui augmente anormalement pour favoriser la tolérance au soi des LB auto-réactifs, et conduit donc à l'excès de synthèse de FLC (121,122).

Comme dans la PR, une synthèse en excès de FLC se produit localement au niveau des tissus cibles, notamment au niveau du rein, par des plasmocytes à longue durée de vie infiltrés. Cette synthèse locale et le niveau d'infiltration plasmocytaire est associée à la gravité de l'atteinte rénale (FLC urinaires plus élevées dans les néphrites de classe III et IV comparativement aux autres classes). De plus, les FLC urinaires ne sont pas détectées en cas de néphrite inactive. Elles sont donc potentiellement un reflet direct du niveau d'inflammation rénale (123).

Sur le plan thérapeutique, il n'y a pas pour l'instant de consensus établi sur le meilleur moyen d'évaluer la réponse au traitement par anti-CD20, ni sur le moment optimal pour un retraitement. Le taux de LB circulants ou le niveau d'auto-Ac ne semblent pas toujours bien corrélés aux données cliniques (124,125). Comme dans la PR, le taux de sFLC après RITUXIMAB chez 11 patients lupiques a diminué parallèlement à la consommation du C3 (126).

5.2.3 Syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS)

Le rôle du lymphocyte B dans la pathogénèse du SGS est bien établi, et son activation chronique est un sujet de préoccupation du fait du risque de développement d'une hémopathie lymphoïde (127).

Exactement comme nous l'avons vu dans la PR et le lupus, il semble exister dans cette pathologie une élévation des taux de sFLC : dans l'étude de Gottenberg et *al.* (49), 22% des 139 patients atteints d'un SGS primaire avaient une concentration de sFLC anormale, et le taux était significativement plus élevé que chez les 80 sujets sains. Le taux était corrélé aux marqueurs d'activation B (IgG, gammaglobulines, facteur rhumatoïde, β -2 microglobuline et taux sérique de BAFF). Il était également corrélé à la présence de manifestations extra-glandulaires du SGS, à son activité, ainsi qu'à la présence d'auto-anticorps (taux plus élevé s'il y avait des anti-SS-A et SS-B, qu'en cas d'anti SS-A isolés, et qu'en cas d'absence d'auto-anticorps). D'ailleurs, la présence d'anti SS-B était le seul autre marqueur de risque d'atteinte extra-glandulaire retrouvé avec l'élévation de la β -2 microglobulinémie dans l'étude menée par la même équipe en 2005 sur la même cohorte de patients avec SGS primaire (47).

Dans l'étude multicentrique ASSESS concernant 400 patients atteints de SGS primaire, la valeur du score d'activité ESSDAI au diagnostic était corrélée au taux d'IgG, de FLC kappa, de β 2-microglobuline et de BAFF. On ne sait pas encore par contre s'il existe une corrélation avec la survenue d'un lymphome.

5.2.4 Sclérodémie systémique (SSc)

A notre connaissance, il n'existe aucune publication à l'heure actuelle sur le sujet. On peut relever une étude japonaise de 1989 retrouvant chez 5 patients sclérodermiques la présence de FLC urinaires en excès (128).

5.3 MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES

5.3.1 Sclérose en plaques (SEP)

Il existe dans cette maladie une synthèse intrathécale d'Ig, mise en évidence classiquement par électrofocalisation du liquide cérébro-spinal (LCR), qui permet de vérifier la présence de bandes oligoclonales multiples (129). Ceci n'est cependant pas spécifique de SEP, et peut se voir dans d'autres pathologies inflammatoires et infectieuses du système nerveux central. Le diagnostic peut donc parfois être difficile, ce d'autant que les critères diagnostiques d'imagerie ne sont pas non plus totalement spécifiques. Cette production intrathécale d'Ig concerne les Ig entières, et donc également les FLC. L'élévation des FLC dans le LCR des patients atteints de SEP est connue depuis longtemps, mais n'était pas jusqu'alors utilisée en pratique courante (130). On considérait effectivement leur détection comme moins sensible et spécifique que la présence de bandes oligoclonales dans le LCR, qui reste l'outil biologique diagnostique de référence. Tout au plus le taux de FLC kappa dans le LCR était considéré comme un marqueur péjoratif d'évolution de la maladie sur le plan fonctionnel (131), mais les difficultés techniques d'analyse en ont limité l'utilisation. Cependant, un dosage quantitatif a été mis en place par l'équipe de Kaplan *et al.* (132) : le taux de FLC dans le LCR semble avec cette méthode avoir une meilleure spécificité et une meilleure sensibilité (respectivement 90 et 96%) que l'électrofocalisation pour le diagnostic (70 et 82%). Des résultats similaires ont été retrouvés très récemment (133) avec une spécificité de 90% et une sensibilité de 95% pour le diagnostic de SEP en considérant la synthèse intrathécale de FLC kappa uniquement, grâce aux nouvelles techniques de détection et de dosage automatisées (N Latex FLC kappa Kit).

Il a été également montré qu'il existe différents profils d'élévation des FLC dans le LCR des malades : un profil kappa, un profil lambda minoritaire et un profil mixte, potentiellement corrélés aux caractéristiques cliniques de la maladie. Enfin, le ratio FLC dimérique/ FLC monomérique est anormalement élevé (132).

L'avènement de techniques quantitatives ouvre également le champ à des études sur l'évolution des taux de FLC dans le LCR après traitement et selon l'activité de la maladie, ce qui n'est pas possible avec les techniques d'immunoélectrophorèse, et pourraient donc constituer un outil de suivi des malades.

Là encore, les FLC intrathécales ne sont peut-être pas qu'un corollaire biologique à l'activation lymphocytaire B, mais ont peut-être un rôle biologique propre. Les FLC activent peut-être les cellules mastocytaires mises en évidence dans le système nerveux central des patients atteints de SEP (134), entraînant la synthèse de médiateurs vasoactifs et de chimiokines contribuant à l'altération de la barrière méningo-encéphalique.

5.3.2 Maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI)

Dans les modèles murins, l'utilisation d'un antagoniste spécifique des chaînes légères des Ig (F991) permet d'inhiber l'activation mastocytaire normalement observée dans la muqueuse des sujets atteints, et de diminuer la symptomatologie digestive.

Le taux de FLC est également plus élevé dans le sang et la muqueuse digestive des sujets atteints comparativement aux sujets sains (135).

5.3.3 Broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO)

Il existe des preuves *in vitro* que la liaison des FLC aux PNN entraîne une synthèse d'IL-8, cytokine activatrice des PNN impliqués dans la physiopathologie de la BPCO. Ainsi, dans

les modèles murins, l'utilisation d'antagonistes des FLC a permis de diminuer l'afflux de PNN dans les poumons des souris atteintes (136).

Aucune étude ne permet à notre connaissance cependant de confirmer ces données chez l'homme.

5.3.4 Syndrome hyper-IgG4

Une élévation polyclonale des FLC a été rapportée chez les patients atteints de cette maladie comparativement aux sujets sains (étude rétrospective portant sur 16 patients) (137). Le ratio kappa/lambda, à l'inverse de ce qui a pu être décrit dans les maladies auto-immunes, est volontiers élevé chez les malades, en l'absence de toute gammopathie monoclonale. Ceci est probablement lié au fait qu'il existe une association préférentielle entre les chaînes lourdes *gamma-4* et les chaînes légères *kappa*.

5.4 FLC ET PATHOLOGIES d'HYPERSENSIBILITÉ

Sur le plan physiopathologique, nous avons vu précédemment que les chaînes légères des Ig sont impliquées dans les réactions d'hypersensibilité immédiate indépendantes des IgE, et que cette réaction est supprimée par l'utilisation d'un antagoniste spécifique, notamment dans l'asthme non atopique. Ces constatations n'ont pour l'instant pas d'implication en pratique clinique courante.

Il a également été mis en évidence qu'il existe chez les patients asthmatiques, atopiques ou non, une élévation des FLC kappa sériques comparativement aux sujets sains (136).

De la même façon, on retrouve une élévation des FLC sériques et des FLC dans les sécrétions nasales chez les patients atteints de rhinite non allergique (et allergique dans

une moindre mesure). Ils sont porteurs de nombreux mastocytes dégranulés et de plasmocytes dans la muqueuse nasale, marqués tous les deux par les Ac anti-FLC (100).

Des résultats similaires ont été retrouvés chez les patients porteurs de fibrose pulmonaire idiopathique ou de pneumonie d'hypersensibilité, qui ont des FLC augmentées dans leur sérum et leur LBA (63). Ce LBA est riche en mastocytes activés, également présents dans le parenchyme pulmonaire, à concentration d'autant plus élevée que le degré de fibrose est important et que la maladie est active.

De même, il a été montré que le taux de sFLC est plus élevé chez les enfants souffrant de dermatite atopique, et ce d'autant que la maladie est sévère et active (ce qui n'est pas le cas pour le taux d'IgE) (138).

5.5 DIABÈTE

Le marqueur le plus précoce utilisé en pratique courante de l'atteinte glomérulaire liée au diabète est l'apparition d'une microalbuminurie. Il existe cependant une atteinte tubulaire qui la précède, qui peut être mise en évidence par mesure de la β -2 microglobulinurie.

Une élévation des FLC kappa urinaires a été décrite chez les patients diabétiques, et non retrouvée chez les patients présentant une protéinurie d'autre origine, suggérant qu'elle est spécifique de cette pathologie. Elle précède de plus l'apparition de la microalbuminurie ou de la β -2 microglobulinurie, et constitue donc peut être un marqueur encore plus précoce de l'atteinte rénale (80,139,140).

5.6 TOXICITÉ RÉNALE

Nous avons vu que le taux de sFLC augmente en cas d'altération de la fonction rénale.

L'élévation observée n'est cependant pas identique chez tous les patients (53).

Ainsi, il existe une toxicité rénale tubulaire liée à l'élévation des FLC sanguines chez les patients présentant une gammopathie monoclonale, par précipitation des chaînes légères libres, liée au dépassement des capacités de réabsorption rénale des FLC. Cette toxicité rénale apparaît variable selon la structure des FLC : elle est plus importante en cas de sécrétion sous forme de dimères et selon la liaison covalente ou non de ces dimères (141). Ceci a été observé dans les myélomes multiples, et l'hypothèse est renforcée par la constatation d'atteintes de tissus cibles préférentielles dans l'amylose AL, variables selon la structure de la FLC monoclonale responsable de la maladie.

D'autre part, dans une étude multicentrique européenne menée par Hutchinson et al., l'élimination des FLC en excès par l'hémodialyse permettait chez plus d'un patients sur deux de récupérer une fonction rénale satisfaisante sans nécessité de dialyse au long cours. A l'inverse, en cas d'absence de diminution des FLC à 12 jours du début du traitement, la récupération rénale ne concernait plus que 8% des patients (142).

Par contre, les études réalisées n'ont pas pu prouver que cette élévation est un facteur de risque indépendant de mortalité chez les patients insuffisants rénaux (quelque soit la cause), et de progression de l'insuffisance rénale (143).

A noter également une étude décrivant la présence de FLC *lambda* dimériques dans le sang et les urines de patients atteints de glomérulonéphrite membranoproliférative hypocomplémentémique, qui seraient capables de lier le facteur H (principal facteur de régulation de la voie alterne du complément) et donc de jouer le rôle de « mini auto-anticorps » (144).

5.7 FLC, VIRUS ET NÉOPLASIES

La relation entre inflammation chronique et néoplasie est bien connue, même si son mécanisme n'est pas complètement élucidé.

Dans plusieurs études concernant des patients infectés par le HIV (145,146), l'élévation polyclonale des sFLC est associée à un sur-risque significatif de voir survenir un lymphome malin non Hodgkinien, ou une maladie de Hodgkin à un moindre niveau. L'élévation des sFLC est également associée au risque de développer une infection opportuniste chez ces patients (147). Dans tous les cas, l'infection par le VIH est associée à une élévation des sFLC et à une hypergammaglobulinémie, indiquant une hyperactivation B induite par l'infection. Ces anomalies sont sans doute corrélées au niveau de perturbation des fonctions lymphocytaires B (baisse des titres d'Ac spécifiques et des réponses vaccinales).

Le taux de FLC a également une valeur pronostique péjorative dans les hémopathies lymphoïdes (LLC, MH, LMNH), pas seulement en cas d'anomalie du ratio *kappa/lambda*, mais aussi en cas d'élévation polyclonale, si bien qu'il est proposé que leur taux fasse partie de l'évaluation pronostique et de la décision de traiter les patients pas ou peu symptomatiques (148,149).

Chez les patients porteurs d'une hépatite C chronique, l'élévation des FLC sériques est associée à la présence d'une cryoglobulinémie mixte et à la présence d'un LMNH. Ces anomalies sont d'autant plus marquées que le titre de la cryoglobuline est élevé, qu'elle est symptomatique, et surtout qu'il existe un LMNH. Inversement, les FLC diminuent avec la réponse au traitement anti-viral, elle-même connue pour être associée volontiers à une

rémission hématologique, tant pour les désordres bénins (cryoglobulinémie) que malins (LMNH) (150).

En cas de néoplasie solide connue (ovaire, poumon, colon ou prostate), une telle élévation est également associée à la survenue d'une leucémie lymphoïde chronique. Cette association précède de plusieurs années le diagnostic de LLC, mais est de plus en plus forte à l'approche de l'émergence de l'hémopathie (151).

D'une façon générale, ceci vient renforcer l'idée que la stimulation chronique polyclonale lymphocytaire B et la dysfonction B jouent un rôle important dans la genèse des hémopathies malignes lymphoïdes, et les sFLC sont sans doute un marqueur biologique de risque d'évolution vers ces hémopathies.

5.8 FLC et MORTALITÉ

Récemment, il a été observé sur une très large cohorte de sujets (15 859, âgés de plus de 50 ans, exempts de gammopathie monoclonale) que l'élévation des sFLC polyclonales est un facteur de risque de mortalité, indépendamment de l'âge, du sexe et de la fonction rénale, quelque soit la cause du décès. La mortalité attendue par cancer et maladie cardio-vasculaire est par ailleurs plus élevée chez les sujets ayant des taux de sFLC élevés (152).

Des données similaires ont été retrouvées dans une cohorte de 527 patients hospitalisés, avec notamment une association forte entre la mortalité à moins de 100 jours et le taux de FLC (73 % des décès constatés survenant chez des patients présentant des taux de FLC > 65 mg/L). Il est intéressant de noter que cette surmortalité a été attribuée majoritairement

à des causes cardio-vasculaires (41%), dans un contexte où il existe de plus en plus d'arguments pour considérer l'inflammation chronique comme un facteur de risque cardio-vasculaire (153).

Plus généralement, via leur rôle dans l'activation des cellules de l'immunité innée (PNN et Mastocytes), du Complément et leur rôle anti-angiogénique, on comprend leur rôle pro-inflammatoire et donc le pronostic péjoratif de l'élévation des FLC.

6 IMPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES

L'utilisation croissante des thérapies ciblées anti-B dans les maladies auto-immunes pourrait donc placer le monitoring des FLC au centre du suivi des malades, que ce soit en ce qui concerne la stratification du risque de complication et de l'activité de la maladie, mais également dans le cadre du suivi de la réponse au traitement et du risque de rechute.

Les essais réalisés dans les modèles murins d'inhibition des FLC dans des pathologies inflammatoires chroniques variées et d'hypersensibilité ouvrent la porte à des espoirs en application humaine (99,154). Cependant, la sécurité d'emploi de tels antagonistes est loin d'être prouvée, considérant déjà les capacités d'inhibition de réplication virale des FLC.

7 CONCLUSION

Il existe donc un panel de plus en plus large de pathologies inflammatoires chroniques et dysimmunitaires dans lesquelles on a pu observer une élévation des sFLC, qui semble corrélée à l'activité de ces maladies.

L'étude des FLC semble donc avoir un intérêt particulier dans les situations de stimulation chronique du système immunitaire adaptatif, équivalent de la CRP dans l'activation de l'immunité innée.

Reflets de l'activation lymphocytaire B chronique dans les maladies auto-immunes, elles peuvent être considérées comme des biomarqueurs d'activité ou d'efficacité des traitements mis en œuvre, dans des pathologies qui en manquent. Notamment, elles pourraient être plus performantes que les autres marqueurs d'activation B, peut être du fait de leur demi-vie très courte.

Sans doute faudrait-il pour cela établir des seuils de valeurs de sFLC significatifs pour l'activité de ces maladies, puisque dans la plupart des études les sFLC restent dans les bornes de normalité données par le fournisseur du kit de dosage (Freelite, The Binding Site).

Elles pourraient également être considérées comme un marqueur de risque de développer une hémopathie B, et comme facteur de risque de mortalité notamment par incident cardio-vasculaire.

Enfin, on leur découvre progressivement des fonctions biologiques propres, notamment dans l'activation mastocytaire, mais aussi dans la régulation de la reconnaissance antigénique, dans l'immunomodulation, dans l'hypersensibilité, dans la défense anti-virale.

Peut être jouent-elles donc un rôle dans la mise en place ou le maintien d'une réponse inflammatoire chronique, notamment via leur interaction avec les mastocytes.

Ceci ouvre la porte à de nouvelles perspectives thérapeutiques, mais rend nécessaire une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans leur synthèse et sa régulation, et leur mode d'action.

BIBLIOGRAPHIE

1. Okano Y. Antinuclear antibody in systemic sclerosis (scleroderma). *Rheum Dis Clin North Am.* 1996 Nov;22(4):709–35.
2. Hamaguchi Y. Autoantibody profiles in systemic sclerosis: predictive value for clinical evaluation and prognosis. *J Dermatol.* 2010 Jan;37(1):42–53.
3. Walker JG, Fritzler MJ. Update on autoantibodies in systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2007 Nov;19(6):580–91.
4. Chizzolini C. T cells, B cells, and polarized immune response in the pathogenesis of fibrosis and systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2008 Nov;20(6):707–12.
5. Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol.* 2004 Aug;4(8):583–94.
6. Del Galdo F, Artlett CM. T cells and B cells in the pathogenesis of systemic sclerosis: recent insights and therapeutic opportunities. *Curr Rheumatol Rep.* 2006 Apr;8(2):123–30.
7. Silverman GJ, Weisman S. Rituximab therapy and autoimmune disorders: prospects for anti-B cell therapy. *Arthritis Rheum.* 2003 Jun;48(6):1484–92.
8. Edwards JCW, Cambridge G, Leandro MJ. B cell depletion therapy in rheumatic disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2006 Oct;20(5):915–28.
9. Hasegawa M. B lymphocytes: shedding new light on the pathogenesis of systemic sclerosis. *J Dermatol.* 2010 Jan;37(1):3–10.
10. Whitfield ML, Finlay DR, Murray JI, Troyanskaya OG, Chi J-T, Pergamenschikov A, et al. Systemic and cell type-specific gene expression patterns in scleroderma skin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Oct 14;100(21):12319–24.
11. Lafyatis R, O'Hara C, Feghali-Bostwick CA, Matteson E. B cell infiltration in systemic sclerosis-associated interstitial lung disease. *Arthritis Rheum.* 2007 Sep;56(9):3167–8.
12. Famularo G, Giacomelli R, Alesse E, Cifone MG, Morrone S, Boirivant M, et al. Polyclonal B lymphocyte activation in progressive systemic sclerosis. *J Clin Lab Immunol.* 1989 Jun;29(2):59–63.
13. Sato S, Fujimoto M, Hasegawa M, Takehara K. Altered blood B lymphocyte homeostasis in systemic sclerosis: expanded naive B cells and diminished but activated memory B cells. *Arthritis Rheum.* 2004 Jun;50(6):1918–27.
14. Tedder TF, Inaoki M, Sato S. The CD19-CD21 complex regulates signal transduction thresholds governing humoral immunity and autoimmunity. *Immunity.* 1997 Feb;6(2):107–18.

15. Fujimoto M, Fujimoto Y, Poe JC, Jansen PJ, Lowell CA, DeFranco AL, et al. CD19 regulates Src family protein tyrosine kinase activation in B lymphocytes through processive amplification. *Immunity*. 2000 Jul;13(1):47–57.
16. Inaoki M, Sato S, Weintraub BC, Goodnow CC, Tedder TF. CD19-regulated signaling thresholds control peripheral tolerance and autoantibody production in B lymphocytes. *J Exp Med*. 1997 Dec 1;186(11):1923–31.
17. Sato S, Hasegawa M, Fujimoto M, Tedder TF, Takehara K. Quantitative genetic variation in CD19 expression correlates with autoimmunity. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2000 Dec 1;165(11):6635–43.
18. Saito E, Fujimoto M, Hasegawa M, Komura K, Hamaguchi Y, Kaburagi Y, et al. CD19-dependent B lymphocyte signaling thresholds influence skin fibrosis and autoimmunity in the tight-skin mouse. *J Clin Invest*. 2002 Jun;109(11):1453–62.
19. Green MC, Sweet HO, Bunker LE. Tight-skin, a new mutation of the mouse causing excessive growth of connective tissue and skeleton. *Am J Pathol*. 1976 Mar;82(3):493–512.
20. Hasegawa M, Hamaguchi Y, Yanaba K, Bouaziz J-D, Uchida J, Fujimoto M, et al. B-lymphocyte depletion reduces skin fibrosis and autoimmunity in the tight-skin mouse model for systemic sclerosis. *Am J Pathol*. 2006 Sep;169(3):954–66.
21. Matsushita T, Fujimoto M, Hasegawa M, Matsushita Y, Komura K, Ogawa F, et al. BAFF antagonist attenuates the development of skin fibrosis in tight-skin mice. *J Invest Dermatol*. 2007 Dec;127(12):2772–80.
22. Mackay F, Browning JL. BAFF: a fundamental survival factor for B cells. *Nat Rev Immunol*. 2002 Jul;2(7):465–75.
23. Komura K, Yanaba K, Horikawa M, Ogawa F, Fujimoto M, Tedder TF, et al. CD19 regulates the development of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in a mouse model. *Arthritis Rheum*. 2008 Nov;58(11):3574–84.
24. Tsuchiya N, Kuroki K, Fujimoto M, Murakami Y, Tedder TF, Tokunaga K, et al. Association of a functional CD19 polymorphism with susceptibility to systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. 2004 Dec;50(12):4002–7.
25. Hitomi Y, Tsuchiya N, Hasegawa M, Fujimoto M, Takehara K, Tokunaga K, et al. Association of CD22 gene polymorphism with susceptibility to limited cutaneous systemic sclerosis. *Tissue Antigens*. 2007 Mar;69(3):242–9.
26. Odaka M, Hasegawa M, Hamaguchi Y, Ishiura N, Kumada S, Matsushita T, et al. Autoantibody-mediated regulation of B cell responses by functional anti-CD22 autoantibodies in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol*. 2010 Feb;159(2):176–84.
27. Stockinger B, Zal T, Zal A, Gray D. B cells solicit their own help from T cells. *J Exp Med*. 1996 Mar 1;183(3):891–9.

28. Rincón M, Anguita J, Nakamura T, Fikrig E, Flavell RA. Interleukin (IL)-6 directs the differentiation of IL-4-producing CD4⁺ T cells. *J Exp Med*. 1997 Feb 3;185(3):461–9.
29. Yanaba K, Bouaziz J-D, Haas KM, Poe JC, Fujimoto M, Tedder TF. A regulatory B cell subset with a unique CD1dhiCD5⁺ phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses. *Immunity*. 2008 May;28(5):639–50.
30. Scala E, Pallotta S, Frezzolini A, Abeni D, Barbieri C, Sampogna F, et al. Cytokine and chemokine levels in systemic sclerosis: relationship with cutaneous and internal organ involvement. *Clin Exp Immunol*. 2004 Dec;138(3):540–6.
31. Snapper CM, Waegell W, Beernink H, Dasch JR. Transforming growth factor-beta 1 is required for secretion of IgG of all subclasses by LPS-activated murine B cells in vitro. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1993 Nov 1;151(9):4625–36.
32. Daoussis D, Liossis S-NC, Tsamandas AC, Kalogeropoulou C, Kazantzi A, Sirinian C, et al. Experience with rituximab in scleroderma: results from a 1-year, proof-of-principle study. *Rheumatol Oxf Engl*. 2010 Feb;49(2):271–80.
33. Smith V, Van Praet JT, Vandooren B, Van der Cruyssen B, Naeyaert J-M, Decuman S, et al. Rituximab in diffuse cutaneous systemic sclerosis: an open-label clinical and histopathological study. *Ann Rheum Dis*. 2010 Jan;69(1):193–7.
34. Bosello S, De Santis M, Lama G, Spanò C, Angelucci C, Toluoso B, et al. B cell depletion in diffuse progressive systemic sclerosis: safety, skin score modification and IL-6 modulation in an up to thirty-six months follow-up open-label trial. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(2):R54.
35. Komura K, Yanaba K, Ogawa F, Shimizu K, Takehara K, Sato S. Elevation of IgG levels is a serological indicator for pulmonary fibrosis in systemic sclerosis with anti-topoisomerase I antibodies and those with anticentromere antibody. *Clin Exp Dermatol*. 2008 May;33(3):329–32.
36. Yuhara T, Takemura H, Akama T, Yamane K, Sumida T. The relationship between serum immunoglobulin levels and pulmonary involvement in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2000 May;27(5):1207–14.
37. Silver RM, Metcalf JF, Stanley JH, LeRoy EC. Interstitial lung disease in scleroderma. Analysis by bronchoalveolar lavage. *Arthritis Rheum*. 1984 Nov;27(11):1254–62.
38. Harrison NK, Myers AR, Corrin B, Soosay G, Dewar A, Black CM, et al. Structural features of interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Am Rev Respir Dis*. 1991 Sep;144(3 Pt 1):706–13.
39. Matsushita T, Hasegawa M, Yanaba K, Kodera M, Takehara K, Sato S. Elevated serum BAFF levels in patients with systemic sclerosis: enhanced BAFF signaling in systemic sclerosis B lymphocytes. *Arthritis Rheum*. 2006 Jan;54(1):192–201.
40. Bielecki M, Kowal K, Lapinska A, Bernatowicz P, Chyczewski L, Kowal-Bielecka O. Increased production of a proliferation-inducing ligand (APRIL) by peripheral blood mononuclear cells is associated with antitopoisomerase I antibody and more severe disease in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2010 Nov;37(11):2286–9.

41. Hopper JE, Papagiannes E. Evidence by radioimmunoassay that mitogen-activated human blood mononuclear cells secrete significant amounts of light chain Ig unassociated with heavy chain. *Cell Immunol.* 1986 Aug;101(1):122–31.
42. Mead GP, Carr-Smith HD, Drayson MT, Morgan GJ, Child JA, Bradwell AR. Serum free light chains for monitoring multiple myeloma. *Br J Haematol.* 2004 Aug;126(3):348–54.
43. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Tang LX, Showell PJ, Drayson MT, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem.* 2001 Apr;47(4):673–80.
44. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, Miguel JS, Ludwig H, Hajek R, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia.* 2009 Feb;23(2):215–24.
45. Katzmann JA, Clark RJ, Abraham RS, Bryant S, Lymp JF, Bradwell AR, et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. *Clin Chem.* 2002 Sep;48(9):1437–44.
46. Aggarwal R, Sequeira W, Kokebie R, Mikolaitis RA, Fogg L, Finnegan A, et al. Serum free light chains as biomarkers for systemic lupus erythematosus disease activity. *Arthritis Care Res.* 2011 Jun;63(6):891–8.
47. Gottenberg J-E, Busson M, Cohen-Solal J, Lavie F, Abbed K, Kimberly RP, et al. Correlation of serum B lymphocyte stimulator and beta2 microglobulin with autoantibody secretion and systemic involvement in primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2005 Jul;64(7):1050–5.
48. Gottenberg J-E, Miceli-Richard C, Ducot B, Goupille P, Combe B, Mariette X. Markers of B-lymphocyte activation are elevated in patients with early rheumatoid arthritis and correlated with disease activity in the ESPOIR cohort. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(4):R114.
49. Gottenberg J-E, Aucouturier F, Goetz J, Sordet C, Jahn I, Busson M, et al. Serum immunoglobulin free light chain assessment in rheumatoid arthritis and primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2007 Jan;66(1):23–7.
50. Valentini G, Bencivelli W, Bombardieri S, D'Angelo S, Rossa AD, Silman AJ, et al. European Scleroderma Study Group to define disease activity criteria for systemic sclerosis. III. Assessment of the construct validity of the preliminary activity criteria. *Ann Rheum Dis.* 2003 Sep 1;62(9):901–3.
51. Medsger TA Jr, Bombardieri S, Czirjak L, Scorza R, Della Rossa A, Bencivelli W. Assessment of disease severity and prognosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2003;21(3 Suppl 29):S42–46.
52. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999 Mar 16;130(6):461–70.

53. Hutchison CA, Harding S, Hewins P, Mead GP, Townsend J, Bradwell AR, et al. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2008 Nov;3(6):1684–90.
54. Tate J, Bazeley S, Sykes S, Mollee P. Quantitative serum free light chain assay-- analytical issues. *Clin Biochem Rev Aust Assoc Clin Biochem*. 2009 Aug;30(3):131–40.
55. Mogensen CE, Sølling. Studies on renal tubular protein reabsorption: partial and near complete inhibition by certain amino acids. *Scand J Clin Lab Invest*. 1977 Oct;37(6):477–86.
56. Martínez-Cordero E, Trejo AP, León DEA. IgM, IgG, and IgA anti-DNA topoisomerase I antibodies in systemic sclerosis. *J Clin Lab Anal*. 2009;23(6):408–16.
57. Muangchan C, Harding S, Khimdas S, Bonner A, Canadian Scleroderma Research group, Baron M, et al. Association of C-reactive protein with high disease activity in systemic sclerosis: results from the Canadian Scleroderma Research Group. *Arthritis Care Res*. 2012 Sep;64(9):1405–14.
58. Liu X, Mayes MD, Pedroza C, Draeger HT, Gonzalez EB, Harper BE, et al. Does C-reactive protein predict the long-term progression of interstitial lung disease and survival in patients with early systemic sclerosis? *Arthritis Care Res*. 2013 Aug;65(8):1375–80.
59. Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, Moore PA, Olsen HS, Migone TS, et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood*. 2001 Jan 1;97(1):198–204.
60. Kormelink TG, Tekstra J, Thurlings RM, Boumans MHJ, Vos K, Tak PP, et al. Decrease in immunoglobulin free light chains in patients with rheumatoid arthritis upon rituximab (anti-CD20) treatment correlates with decrease in disease activity. *Ann Rheum Dis*. 2010 Dec;69(12):2137–44.
61. Assassi S, Sharif R, Lasky RE, McNearney TA, Estrada-Y-Martin RM, Draeger H, et al. Predictors of interstitial lung disease in early systemic sclerosis: a prospective longitudinal study of the GENISOS cohort. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(5):R166.
62. Lafyatis R. Application of biomarkers to clinical trials in systemic sclerosis. *Curr Rheumatol Rep*. 2012 Feb;14(1):47–55.
63. Groot Kormelink T, Pardo A, Knipping K, Buendía-Roldán I, García-de-Alba C, Blokhuis BR, et al. Immunoglobulin free light chains are increased in hypersensitivity pneumonitis and idiopathic pulmonary fibrosis. *PloS One*. 2011;6(9):e25392.
64. Thio M, Groot Kormelink T, Fischer MJ, Blokhuis BR, Nijkamp FP, Redegeld FA. Antigen binding characteristics of immunoglobulin free light chains: crosslinking by antigen is essential to induce allergic inflammation. *PloS One*. 2012;7(7):e40986.
65. Hügler T, White K, van Laar JM. Cell-to-cell contact of activated mast cells with fibroblasts and lymphocytes in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2012 Sep;71(9):1582.

66. Hawkins RA, Claman HN, Clark RA, Steigerwald JC. Increased dermal mast cell populations in progressive systemic sclerosis: a link in chronic fibrosis? *Ann Intern Med.* 1985 Feb;102(2):182–6.
67. Yukawa S, Yamaoka K, Sawamukai N, Shimajiri S, Kubo S, Miyagawa I, et al. Dermal mast cell density in fingers reflects severity of skin sclerosis in systemic sclerosis. *Mod Rheumatol Jpn Rheum Assoc.* 2013 Nov;23(6):1151–7.
68. Walker M, Harley R, Maize J, DeLustro F, LeRoy EC. Mast cells and their degranulation in the Tsk mouse model of scleroderma. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med New York N.* 1985 Nov;180(2):323–8.
69. Seibold JR, Giorno RC, Claman HN. Dermal mast cell degranulation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 1990 Nov;33(11):1702–9.
70. Everett ET, Pablos JL, Harley RA, LeRoy EC, Norris JS. The role of mast cells in the development of skin fibrosis in tight-skin mutant mice. *Comp Biochem Physiol A Physiol.* 1995 Feb;110(2):159–65.
71. Walker M, Harley R, LeRoy EC. Ketotifen prevents skin fibrosis in the tight skin mouse. *J Rheumatol.* 1990 Jan;17(1):57–9.
72. Chanez P, Lacoste JY, Guillot B, Giron J, Barnéon G, Enander I, et al. Mast cells' contribution to the fibrosing alveolitis of the scleroderma lung. *Am Rev Respir Dis.* 1993 Jun;147(6 Pt 1):1497–502.
73. Ohtsuka T, Yamazaki S. The involvement of immunoglobulin E isotype switch in scleroderma skin tissue. *J Dermatol Sci.* 2005 Aug;39(2):97–104.
74. Zhang J-Q, Wan Y-N, Peng W-J, Yan J-W, Li B-Z, Mei B, et al. The risk of cancer development in systemic sclerosis: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol.* 2013 Oct;37(5):523–7.
75. Pontifex EK, Hill CL, Roberts-Thomson P. Risk factors for lung cancer in patients with scleroderma: a nested case-control study. *Ann Rheum Dis.* 2007 Apr;66(4):551–3.
76. Hutchison CA, Landgren O. Polyclonal immunoglobulin free light chains as a potential biomarker of immune stimulation and inflammation. *Clin Chem.* 2011 Oct;57(10):1387–9.
77. Nakano T, Matsui M, Inoue I, Awata T, Katayama S, Murakoshi T. Free immunoglobulin light chain: its biology and implications in diseases. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2011 May 12;412(11-12):843–9.
78. Waldmann TA, Strober W, Mogielnicki RP. The renal handling of low molecular weight proteins. II. Disorders of serum protein catabolism in patients with tubular proteinuria, the nephrotic syndrome, or uremia. *J Clin Invest.* 1972 Aug;51(8):2162–74.
79. Kaplan B, Livneh A, Sela B-A. Immunoglobulin free light chain dimers in human diseases. *ScientificWorldJournal.* 2011;11:726–35.

80. Hutchison CA, Cockwell P, Harding S, Mead GP, Bradwell AR, Barnett AH. Quantitative assessment of serum and urinary polyclonal free light chains in patients with type II diabetes: an early marker of diabetic kidney disease? *Expert Opin Ther Targets*. 2008 Jun;12(6):667–76.
81. Sjølling K. Light chain polymerism in normal individuals in patients with severe proteinuria and in normals with inhibited tubular protein reabsorption by lysine. *Scand J Clin Lab Invest*. 1980 Apr;40(2):129–34.
82. Briand P-Y, Decaux O, Caillon H, Grosbois B, Le Treut A, Guenet L. Analytical performance of the serum free light chain assay. *Clin Chem Lab Med CCLM FESCC*. 2010;48(1):73–9.
83. Vercammen M, Meirlaen P, Broodtaerts L, Vande Broek I, Bossuyt X. Effect of sample dilution on serum free light chain concentration by immunonephelometric assay. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2011 Sep 18;412(19-20):1798–804.
84. Nakano T, Miyazaki S, Shinoda Y, Inoue I, Katayama S, Komoda T, et al. Proposed reference material for human free immunoglobulin light chain measurement. *J Immunoassay Immunochem*. 2006;27(2):129–37.
85. Te Velthuis H, Knop I, Stam P, van den Broek M, Bos HK, Hol S, et al. N Latex FLC - new monoclonal high-performance assays for the determination of free light chain kappa and lambda. *Clin Chem Lab Med CCLM FESCC*. 2011 Aug;49(8):1323–32.
86. Campbell JP, Cobbold M, Wang Y, Goodall M, Bonney SL, Chamba A, et al. Development of a highly-sensitive multi-plex assay using monoclonal antibodies for the simultaneous measurement of kappa and lambda immunoglobulin free light chains in serum and urine. *J Immunol Methods*. 2013 May 31;391(1-2):1–13.
87. Hutchinson AT, Jones DR, Raison RL. The ability to interact with cell membranes suggests possible biological roles for free light chain. *Immunol Lett*. 2012 Feb 29;142(1-2):75–7.
88. Nakano T, Takahashi H, Miyazaki S, Kawai S, Shinozaki R, Komoda T, et al. Antigen-specific free immunoglobulin light-chain antibodies: could it be a new diagnostic marker for patients with allergy? *Clin Biochem*. 2006 Sep;39(9):955–9.
89. Sun M, Li L, Gao QS, Paul S. Antigen recognition by an antibody light chain. *J Biol Chem*. 1994 Jan 7;269(1):734–8.
90. Polymenis M, Stollar BD. Domain interactions and antigen binding of recombinant anti-Z-DNA antibody variable domains. The role of heavy and light chains measured by surface plasmon resonance. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1995 Mar 1;154(5):2198–208.
91. Wardemann H, Hammersen J, Nussenzweig MC. Human autoantibody silencing by immunoglobulin light chains. *J Exp Med*. 2004 Jul 19;200(2):191–9.
92. Hutchinson AT, Ramsland PA, Jones DR, Agostino M, Lund ME, Jennings CV, et al. Free Ig light chains interact with sphingomyelin and are found on the surface of

- myeloma plasma cells in an aggregated form. *J Immunol Baltim Md* 1950. 2010 Oct 1;185(7):4179–88.
93. Woolley DE, Tetlow LC. Mast cell activation and its relation to proinflammatory cytokine production in the rheumatoid lesion. *Arthritis Res*. 2000;2(1):65–74.
 94. Rijniere A, Koster AS, Nijkamp FP, Kraneveld AD. TNF-alpha is crucial for the development of mast cell-dependent colitis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006 Nov;291(5):G969–976.
 95. Araya J, Nishimura SL. Fibrogenic reactions in lung disease. *Annu Rev Pathol*. 2010;5:77–98.
 96. Theoharides TC, Kalogeromitros D. The critical role of mast cells in allergy and inflammation. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Nov;1088:78–99.
 97. Redegeld FA, Nijkamp FP. Immunoglobulin free light chains and mast cells: pivotal role in T-cell-mediated immune reactions? *Trends Immunol*. 2003 Apr;24(4):181–5.
 98. Van der Heijden M, Kraneveld A, Redegeld F. Free immunoglobulin light chains as target in the treatment of chronic inflammatory diseases. *Eur J Pharmacol*. 2006 Mar 8;533(1-3):319–26.
 99. Groot Kormelink T, Thio M, Blokhuis BR, Nijkamp FP, Redegeld FA. Atopic and non-atopic allergic disorders: current insights into the possible involvement of free immunoglobulin light chains. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2009 Jan;39(1):33–42.
 100. Powe DG, Groot Kormelink T, Sisson M, Blokhuis BJ, Kramer MF, Jones NS, et al. Evidence for the involvement of free light chain immunoglobulins in allergic and nonallergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Jan;125(1):139–145.e1–3.
 101. Cohen G, Haag-Weber M, Mai B, Deicher R, Hörl WH. Effect of immunoglobulin light chains from hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis patients on polymorphonuclear leukocyte functions. *J Am Soc Nephrol JASN*. 1995 Dec;6(6):1592–9.
 102. Cohen G, Rudnicki M, Hörl WH. Uremic toxins modulate the spontaneous apoptotic cell death and essential functions of neutrophils. *Kidney Int Suppl*. 2001 Feb;78:S48–52.
 103. Cohen G, Hörl WH. Free immunoglobulin light chains as a risk factor in renal and extrarenal complications. *Semin Dial*. 2009 Aug;22(4):369–72.
 104. Cohen G, Rudnicki M, Deicher R, Hörl WH. Immunoglobulin light chains modulate polymorphonuclear leucocyte apoptosis. *Eur J Clin Invest*. 2003 Aug;33(8):669–76.
 105. Matsumori A, Shimada M, Jie X, Higuchi H, Groot Kormelink T, Redegeld FA. Effects of free immunoglobulin light chains on viral myocarditis. *Circ Res*. 2010 May 14;106(9):1533–40.

106. Sun M, Gao QS, Li L, Paul S. Proteolytic activity of an antibody light chain. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1994 Dec 1;153(11):5121–6.
107. Thiagarajan P, Dannenbring R, Matsuura K, Tramontano A, Gololobov G, Paul S. Monoclonal antibody light chain with prothrombinase activity. *Biochemistry (Mosc)*. 2000 May 30;39(21):6459–65.
108. Boivin D, Provençal M, Gendron S, Ratel D, Demeule M, Gingras D, et al. Purification and characterization of a stimulator of plasmin generation from the antiangiogenic agent Neovastat: identification as immunoglobulin kappa light chain. *Arch Biochem Biophys*. 2004 Nov 15;431(2):197–206.
109. Zhu L, Herrera GA, Murphy-Ullrich JE, Huang ZQ, Sanders PW. Pathogenesis of glomerulosclerosis in light chain deposition disease. Role for transforming growth factor-beta. *Am J Pathol*. 1995 Aug;147(2):375–85.
110. Looney RJ, Anolik J, Sanz I. B cells as therapeutic targets for rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol*. 2004 May;16(3):180–5.
111. Ye Y, Li S-L, Xie M, Jiang P, Liu K-G, Li Y-J. Judging disease activity in rheumatoid arthritis by serum free kappa and lambda light chain levels. *Kaohsiung J Med Sci*. 2013 Oct;29(10):547–53.
112. Cambridge G, Perry HC, Nogueira L, Serre G, Parsons HM, De La Torre I, et al. The effect of B-cell depletion therapy on serological evidence of B-cell and plasmablast activation in patients with rheumatoid arthritis over multiple cycles of rituximab treatment. *J Autoimmun*. 2013 Dec 20;
113. Lal P, Su Z, Holweg CTJ, Silverman GJ, Schwartzman S, Kelman A, et al. Inflammation and autoantibody markers identify rheumatoid arthritis patients with enhanced clinical benefit following rituximab treatment. *Arthritis Rheum*. 2011 Dec;63(12):3681–91.
114. Owczarczyk K, Lal P, Abbas AR, Wolslegel K, Holweg CTJ, Dummer W, et al. A plasmablast biomarker for nonresponse to antibody therapy to CD20 in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med*. 2011 Sep 21;3(101):101ra92.
115. De la Torre I, Moura RA, Leandro MJ, Edwards J, Cambridge G. B-cell-activating factor receptor expression on naive and memory B cells: relationship with relapse in patients with rheumatoid arthritis following B-cell depletion therapy. *Ann Rheum Dis*. 2010 Dec;69(12):2181–8.
116. Lee DM, Friend DS, Gurish MF, Benoist C, Mathis D, Brenner MB. Mast cells: a cellular link between autoantibodies and inflammatory arthritis. *Science*. 2002 Sep 6;297(5587):1689–92.
117. Woolley DE. The mast cell in inflammatory arthritis. *N Engl J Med*. 2003 Apr 24;348(17):1709–11.
118. Cooper A, Bluestone R. Free immunoglobulin light chains in connective tissue diseases. *Ann Rheum Dis*. 1968 Nov;27(6):537–43.

119. Hopper JE, Sequeira W, Martellotto J, Papagiannes E, Perna L, Skosey JL. Clinical relapse in systemic lupus erythematosus: correlation with antecedent elevation of urinary free light-chain immunoglobulin. *J Clin Immunol*. 1989 Jul;9(4):338–50.
120. Hopper JE, Golbus J, Meyer C, Ferrer GA. Urine free light chains in SLE: clonal markers of B-cell activity and potential link to in vivo secreted Ig. *J Clin Immunol*. 2000 Mar;20(2):123–37.
121. Dörner T, Foster SJ, Farner NL, Lipsky PE. Immunoglobulin kappa chain receptor editing in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest*. 1998 Aug 15;102(4):688–94.
122. Monestier M, Zouali M. Receptor revision and systemic lupus. *Scand J Immunol*. 2002 May;55(5):425–31.
123. Hanaoka M, Gono T, Kawaguchi Y, Uchida K, Koseki Y, Katsumata Y, et al. Urinary free light chain is a potential biomarker for ISN/RPS class III/IV lupus nephritis. *Rheumatol Oxf Engl*. 2013 Dec;52(12):2149–57.
124. Merrill JT, Neuwelt CM, Wallace DJ, Shanahan JC, Latinis KM, Oates JC, et al. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: the randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial. *Arthritis Rheum*. 2010 Jan;62(1):222–33.
125. Tew GW, Rabbee N, Wolslegel K, Hsieh H-J, Monroe JG, Behrens TW, et al. Baseline autoantibody profiles predict normalization of complement and anti-dsDNA autoantibody levels following rituximab treatment in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2010 Feb;19(2):146–57.
126. Chiche L, Cournac JM, Mancini J, Bardin N, Thomas G, Jean R, et al. Normalization of serum-free light chains in patients with systemic lupus erythematosus upon rituximab treatment and correlation with biological disease activity. *Clin Rheumatol*. 2011 May;30(5):685–9.
127. Jonsson R, Gordon TP, Konttinen YT. Recent advances in understanding molecular mechanisms in the pathogenesis and antibody profile of Sjögren's syndrome. *Curr Rheumatol Rep*. 2003 Aug;5(4):311–6.
128. Ishii K, Koyama A, Kobayashi M, Kashiwagi H, Narita M. [A study of microproteinuria in patients with collagen disease]. *Nihon Jinzo Gakkai Shi*. 1989 Aug;31(8):827–37.
129. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2001 Jul;50(1):121–7.
130. Rudick RA, French CA, Breton D, Williams GW. Relative diagnostic value of cerebrospinal fluid kappa chains in MS: comparison with other immunoglobulin tests. *Neurology*. 1989 Jul;39(7):964–8.

131. Rinker JR 2nd, Trinkaus K, Cross AH. Elevated CSF free kappa light chains correlate with disability prognosis in multiple sclerosis. *Neurology*. 2006 Oct 10;67(7):1288–90.
132. Kaplan B, Golderman S, Yahalom G, Yeskaraev R, Ziv T, Aizenbud BM, et al. Free light chain monomer-dimer patterns in the diagnosis of multiple sclerosis. *J Immunol Methods*. 2013 Apr 30;390(1-2):74–80.
133. Duranti F, Pieri M, Centonze D, Buttari F, Bernardini S, Dessi M. Determination of κ FLC and κ Index in cerebrospinal fluid: a valid alternative to assess intrathecal immunoglobulin synthesis. *J Neuroimmunol*. 2013 Oct 15;263(1-2):116–20.
134. Krakauer M, Schaldemose Nielsen H, Jensen J, Sellebjerg F. Intrathecal synthesis of free immunoglobulin light chains in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*. 1998 Sep;98(3):161–5.
135. Rijniere A, Redegeld FA, Blokhuis BR, van der Heijden MW, Te Velde AA, Pronk I, et al. Ig-free light chains play a crucial role in murine mast cell-dependent colitis and are associated with human inflammatory bowel diseases. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2010 Jul 1;185(1):653–9.
136. Kraneveld AD, Kool M, van Houwelingen AH, Roholl P, Solomon A, Postma DS, et al. Elicitation of allergic asthma by immunoglobulin free light chains. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Feb 1;102(5):1578–83.
137. Grados A, Ebbo M, Boucraut J, Vély F, Aucouturier P, Rigolet A, et al. Serum Immunoglobulin Free Light Chain Assessment in IgG4-Related Disease. *Int J Rheumatol*. 2013;2013:426759.
138. Kayserova J, Capkova S, Skalicka A, Vernerova E, Polouckova A, Malinova V, et al. Serum immunoglobulin free light chains in severe forms of atopic dermatitis. *Scand J Immunol*. 2010 Apr;71(4):312–6.
139. Teppo AM, Groop L. Urinary excretion of plasma proteins in diabetic subjects. Increased excretion of kappa light chains in diabetic patients with and without proliferative retinopathy. *Diabetes*. 1985 Jun;34(6):589–94.
140. Groop L, Mäkipernaa A, Stenman S, DeFronzo RA, Teppo AM. Urinary excretion of kappa light chains in patients with diabetes mellitus. *Kidney Int*. 1990 Apr;37(4):1120–5.
141. Kapur U, Barton K, Fresco R, Leehey DJ, Leehey DJ, Picken MM. Expanding the pathologic spectrum of immunoglobulin light chain proximal tubulopathy. *Arch Pathol Lab Med*. 2007 Sep;131(9):1368–72.
142. Hutchison CA, Cook M, Heyne N, Weisel K, Billingham L, Bradwell A, et al. European trial of free light chain removal by extended haemodialysis in cast nephropathy (EuLITE): a randomised control trial. *Trials*. 2008;9:55.
143. Haynes R, Hutchison CA, Emberson J, Dasgupta T, Wheeler DC, Townend JN, et al. Serum free light chains and the risk of ESRD and death in CKD. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2011 Dec;6(12):2829–37.

144. Jokiranta TS, Solomon A, Pangburn MK, Zipfel PF, Meri S. Nephritogenic lambda light chain dimer: a unique human miniautoantibody against complement factor H. *J Immunol Baltim Md* 1950. 1999 Oct 15;163(8):4590–6.
145. Landgren O, Goedert JJ, Rabkin CS, Wilson WH, Dunleavy K, Kyle RA, et al. Circulating serum free light chains as predictive markers of AIDS-related lymphoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 Feb 10;28(5):773–9.
146. Bibas M, Trotta MP, Cozzi-Lepri A, Lorenzini P, Pinnetti C, Rizzardini G, et al. Role of serum free light chains in predicting HIV-associated non-Hodgkin lymphoma and Hodgkin's lymphoma and its correlation with antiretroviral therapy. *Am J Hematol*. 2012 Aug;87(8):749–53.
147. Shiels MS, Landgren O, Costello R, Zingone A, Goedert JJ, Engels EA. Free light chains and the risk of AIDS-defining opportunistic infections in HIV-infected individuals. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2012 Nov 15;55(10):e103–108.
148. Maurer MJ, Cerhan JR, Katzmann JA, Link BK, Allmer C, Zent CS, et al. Monoclonal and polyclonal serum free light chains and clinical outcome in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2011 Sep 8;118(10):2821–6.
149. Maurer MJ, Micallef INM, Cerhan JR, Katzmann JA, Link BK, Colgan JP, et al. Elevated serum free light chains are associated with event-free and overall survival in two independent cohorts of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2011 Apr 20;29(12):1620–6.
150. Terrier B, Sène D, Saadoun D, Ghillani-Dalbin P, Thibault V, Delluc A, et al. Serum-free light chain assessment in hepatitis C virus-related lymphoproliferative disorders. *Ann Rheum Dis*. 2009 Jan;68(1):89–93.
151. Tsai H-T, Caporaso NE, Kyle RA, Katzmann JA, Dispenzieri A, Hayes RB, et al. Evidence of serum immunoglobulin abnormalities up to 9.8 years before diagnosis of chronic lymphocytic leukemia: a prospective study. *Blood*. 2009 Dec 3;114(24):4928–32.
152. Dispenzieri A, Katzmann JA, Kyle RA, Larson DR, Therneau TM, Colby CL, et al. Use of nonclonal serum immunoglobulin free light chains to predict overall survival in the general population. *Mayo Clin Proc*. 2012 Jun;87(6):517–23.
153. Anandram S, Assi LK, Lovatt T, Parkes J, Taylor J, Macwhannell A, et al. Elevated, combined serum free light chain levels and increased mortality: a 5-year follow-up, UK study. *J Clin Pathol*. 2012 Nov;65(11):1036–42.
154. Van Houwelingen AH, Kaczynska K, Kraneveld AD, Kool M, Nijkamp FP, Redegeld FA. Topical application of F991, an immunoglobulin free light chain antagonist, prevents development of contact sensitivity in mice. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. 2007 Feb;37(2):270–5.

AUTEUR : LANTERI Aurélia

Date de Soutenance : 24 février 2014

Titre de la Thèse : Intérêt du dosage des chaînes légères libres des immunoglobulines dans la sclérodémie systémique : étude prospective contrôlée chez 134 malades

Thèse - Médecine - Lille 2014

Cadre de classement : *DES de spécialité médicale, Médecine interne*

Mots-clés : Chaînes légères libres des immunoglobulines ; sclérodémie systémique ; lymphocyte B

Résumé :

Contexte : La synthèse des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines par les lymphocytes B (LB) se fait avec un excès de chaînes légères, libérées dans la circulation sanguine sous forme libre (serum Free Light Chains, sFLC). Leur étude dans les situations de stimulation immunitaire chronique polyclonale est en plein essor. Dans le lupus, la polyarthrite rhumatoïde, et le syndrome de Gougerot-Sjögren, il a été démontré que leur taux est plus élevé que chez les sujets sains, et qu'il est corrélé à l'activité de ces maladies. Aucune donnée n'existe à ce sujet dans la sclérodémie systémique (SSc),

Méthode : 134 patients SSc ont été inclus prospectivement. Les données suivantes ont été recueillies : date de diagnostic, forme clinique, atteintes viscérales, score d'activité et association à d'autres maladies auto-immunes. Le dosage des sFLC (Combylite®, The Binding Site, Birmingham, RU), et des autres marqueurs d'activation lymphocytaire B (gammaglobulines, facteur rhumatoïde, β 2-microglobuline, B-cell Activating Factor of the TNF Family BAFF) ont été réalisés à l'inclusion. Les taux de sFLC des patients ont été comparés à ceux de 401 sujets donneurs de sang appariés par le sexe et par tranche d'âge.

Résultats : Les taux moyens et médians de sFLC sont significativement plus élevés chez les patients SSc (médiane 19,99 mg/l, moyenne 24,03 mg/l) comparativement aux contrôles (médiane 15,43 mg/l, moyenne 17,50 mg/l). En analyse univariée, il existe une corrélation significative entre le taux de sFLC et le score de Rodnan modifié ($p=0,0099$), les antécédents d'ulcérations digitales (UD) ($p=0,0426$), la pression artérielle pulmonaire systolique ($p=0,0369$), la DLCO ($p=0,0063$), ainsi qu'avec les scores d'activité EUSTAR ($p=0,009$) et de gravité MEDGSER ($p=0,0001$), la vitesse de sédimentation ($p<0,0001$), la CRP ($p=0,0002$), et tous les marqueurs d'activation B. L'analyse multivariée a mis en évidence une relation forte et indépendante entre le taux de sFLC et l'existence d'une atteinte pulmonaire interstitielle et sa sévérité, les antécédents d'UD, et tous les marqueurs B à l'exception du taux d'IgM.

Conclusion : Notre étude montre pour la première fois que le taux de sFLC est plus élevé chez les patients SSc que chez les sujets sains. Ce taux est corrélé à la présence d'atteintes fibrosantes de la SSc, à leur sévérité et à l'activité de la maladie. Ces résultats constituent des arguments supplémentaires pour évoquer la participation active des LB à la physiopathologie de la SSc.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Pierre-Yves HATRON

Assesseurs : Monsieur le Professeur Eric HACHULLA,
Monsieur le Docteur Sylvain DUBUCQUOI

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur David LAUNAY

Adresse de l'auteur :

