

THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Variations des profils protéiniques du LCR dans diverses affections neurologiques

Thibaut, Bernadette

Award date:
1986

Awarding institution:
Universite de Namur

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



FACULTÉS UNIVERSITAIRES N.D. DE LA PAIX
NAMUR
FACULTÉ DES SCIENCES

VARIATIONS DES PROFILS PROTEINIQUES
DU LCR DANS DIVERSES AFFECTIONS
NEUROLOGIQUES

Mémoire présenté pour l'obtention du grade
de Licencié en Sciences
biologiques
par

Bernadette THIBAUT
1985-1986

*FM
B04/1986/
06

BUMP

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer toute ma gratitude aux professeurs J.P. Dinant et J. Mengeot; leur disponibilité et leurs précieux conseils ont permis l'aboutissement de cette étude.

Toute ma reconnaissance se porte aussi à Monsieur Smet; son aide technique et ses encouragements m'ont soutenu durant cette année.

Je n'oublie pas le Docteur J. Vauthier ainsi que Monsieur et Madame Ketelaer; sans leur contribution, ce mémoire n'aurait pas pu être réalisé.

Je remercie également le laboratoire de biologie clinique du centre hospitalier Reine Fabiola d'Auvelais et les membres du département de pharmacologie des Facultés universitaires de Namur.

Merci à tous ceux qui, de près ou de loin, ont collaboré à la réalisation de ce mémoire.

TABLE DES MATIERES

ORIENTATION DU MEMOIRE

CHAPITRE I. INTRODUCTION

I.1. Physiologie du LCR

I.1.1. Anatomie du système nerveux central en relation avec le liquide céphalo-rachidien (LCR)	1
I.1.2. Composition du LCR	3
I.1.3. Sécrétion du LCR	6
I.1.4. Circulation du LCR	9
I.1.5. Résorption du LCR	11
I.1.6. Pression du LCR	13
I.1.7. Rôles physiologiques du LCR	15

I.2. Prélèvement du LCR

I.2.1. Techniques	16
I.2.2. Aspect du LCR	21
I.2.3. Conservation du LCR	22
I.2.4. Notes sur le volume disponible de LCR	23

I.3. Examens courants en laboratoire de biologie clinique

I.3.1. Aspect du LCR	23
I.3.2. Cytologie qualitative	24
I.3.3. Numération des éléments	25
I.3.4. Examen bactériologique	26

I.4. Biochimie du LCR

I.4.1. La protéinorachie	27
I.4.2. La glycorachie	29
I.4.3. Les électrolytes du LCR	30

CHAPITRE II. LA BARRIERE HEMATO-MENINGEE (BHM)

II.1. <u>La BHM lors des conditions physiologiques</u>	
II.1.1. Base morphologique de la BHM	32
II.1.2. Echanges protéiniques à travers la BHM	33
II.1.3. Perméabilité de la BHM	34
II.1.4. Mécanismes de perméabilité	37
II.1.5. Rôle de la BHM	39
II.1.6. Multicité des barrières au niveau du SNC	40
II.2. <u>La BHM lors de conditions pathologiques</u>	42
II.3. <u>La BHM et l'immunité du SNC</u>	43

CHAPITRE III. LES REACTIONS IMMUNITAIRES

III.1. <u>Notions préliminaires</u>	
III.1.1. L'albumine	45
III.1.2. La zone gamma des profils électrophorétiques de LCR sur acétate de cellulose	45
III.2. <u>Les profils immunitaires</u>	48
III.2.1. Profil "normal"	49
III.2.2. Profil inflammatoire	50
III.2.3. Transsudat non inflammatoire	51
III.2.4. Transsudat inflammatoire-Méningite	51
III.3. <u>Synthèse locale d'IgG</u>	
III.3.1. L'index IgG	53
III.3.2. Formule de Tourtellotte	54
III.3.3. Formule de Schüller	55
III.3.4. Méthode graphique	56

III.4. <u>Synthèse locale d'IgM</u>	56
III.5. <u>Synthèse locale d'IgA</u>	57
III.6. <u>Méthode graphique</u>	59
III.7. <u>Les immuns complexes solubles du LCR</u>	62
CHAPITRE IV. L'INFLAMMATION ET LA BHM	
IV.1. <u>Entrée des cellules inflammatoires</u>	64
IV.2. <u>Altération de la perméabilité vasculaire</u>	64
IV.3. <u>C-Reactive protéine</u>	65
IV.4. <u>La ferritine</u>	68
CHAPITRE V. EXAMENS SPECIAUX CONCERNANT LA PROTEINORACHIE	
V.1. <u>La néphélogométrie laser</u>	70
V.2. <u>Electrophorèse des LCR</u>	70
V.2.1. Electrophorèse sur acétate de cellulose	71
V.2.2. Electrophorèse sur agarose	71
V.2.3. Electrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu SDS	72

VII.2. <u>Les pathologies dégénératives</u>	
VII.2.1. Introduction	123
VII.2.2. Résultats expérimentaux (gel de polyacrylamide)	126
VII.2.3. Résultats et discussion (néphélobmétrie et électrophorèse sur acétate de cellulose)	127
VII.2.4. Estimation de la synthèse locale d'Ig dans le SNC des patients atteints de pathologies dégénératives	129
VII.2.5. LCR et démence	130
VII.2.6. LCR et dystrophies	131
VII.2.7. LCR et SEP	131
VII.3. <u>Les pathologies infectieuses</u>	
VII.3.1. Introduction	132
VII.3.2. Résultats expérimentaux (gel de polyacrylamide)	134
VII.3.3. Résultats et discussion (néphélobmétrie et électrophorèse sur acétate de cellulose)	135
VII.3.4. Estimation de la synthèse locale d'Ig dans le SNC de patients atteints de pathologies infectieuses	138
VII.3.5. Les infections virales du SNC	141
VII.3.6. Les infections bactériennes du SNC	146
VII.4. <u>Les pathologies tumorales</u>	
VII.4.1. Introduction	150
VII.4.2. Résultats expérimentaux (gel de polyacrylamide)	151
VII.4.3. Résultats et discussion (néphélobmétrie et électrophorèse sur acétate de cellulose)	152
VII.4.4. Estimation de la synthèse locale d'Ig dans le SNC de patients atteints de pathologies tumorales	155



CHAPITRE VIII. DISCUSSION	158
CONCLUSION	165
TECHNIQUES	167
BIBLIOGRAPHIE	

ABREVIATIONS

- Ac: anticorps
- Ag: antigène
- Alb: albumine
- α_1 : alpha 1
- α_2 : alpha 2
- β - τ : bêta-tau
- γ : gamma
- BHM: barrière hémato-méningée
- cc: centimètre cube
- CRP: C-reactive protéine
- °C: degré centigrade
- EDTA: acide éthylène diaminotétraacétique
- g: gramme
- mg: milligramme
- μ g: microgramme
- l: litre
- ml: millilitre
- μ l: microlitre
- IgA: immunoglobuline A
- IgG: immunoglobuline G
- IgM: immunoglobuline M
- LCR: liquide céphalo-rachidien
- M: molaire
- mA: milliampère
- mm³: millimètre cube
- P.M.: poids moléculaire
- % (vol/vol): pourcentage "volume par volume", exprime le nombre
de ml de soluté dans 100ml de solution.
- SAB: serum albumine bovine
- SDS: sodium dodecyl sulfate
- SEP: sclérose en plaques
- SNC: système nerveux central
- CSF: cerebrospinal fluid

ORIENTATION DU MEMOIRE

Le liquide céphalorachidien (LCR) est un liquide physiologique essentiel pour l'organisme. Il est contenu dans les espaces sous-arachnoïdiens et entoure ainsi le cerveau et la moëlle épinière. Il occupe d'autre part un compartiment central ou ventriculaire. Ce liquide assure un environnement adéquat au bon fonctionnement du système nerveux central (SNC).

Pour le biologiste clinicien, l'étude du LCR est essentielle; elle concourt à l'élaboration du diagnostic étiologique des pathologies neurologiques et singulièrement dans le cadre des affections dégénératives. En effet, la composition qualitative et/ou quantitative du LCR se modifie au cours des pathologies portant atteinte au SNC.

Cependant, ce liquide a été très peu étudié jusqu'à présent en raison du faible volume dont on dispose en laboratoire; le volume de liquide prélevé ne dépasse pas 10 à 15 ml chez l'homme adulte; de plus, la ponction n'est pratiquée que dans certaines conditions.

L'objectif de ce travail consiste à étudier les variations des fractions protéiques au cours de différentes pathologies neurologiques. Nous tenterons de montrer que, séparées par électrophorèse sur gel en gradient de polyacrylamide en milieu SDS, dans des conditions opératoires particulières, les protéines du LCR sont susceptibles d'apporter des éléments supplémentaires et particulièrement intéressants dans l'élaboration des diagnostics.

figure 2

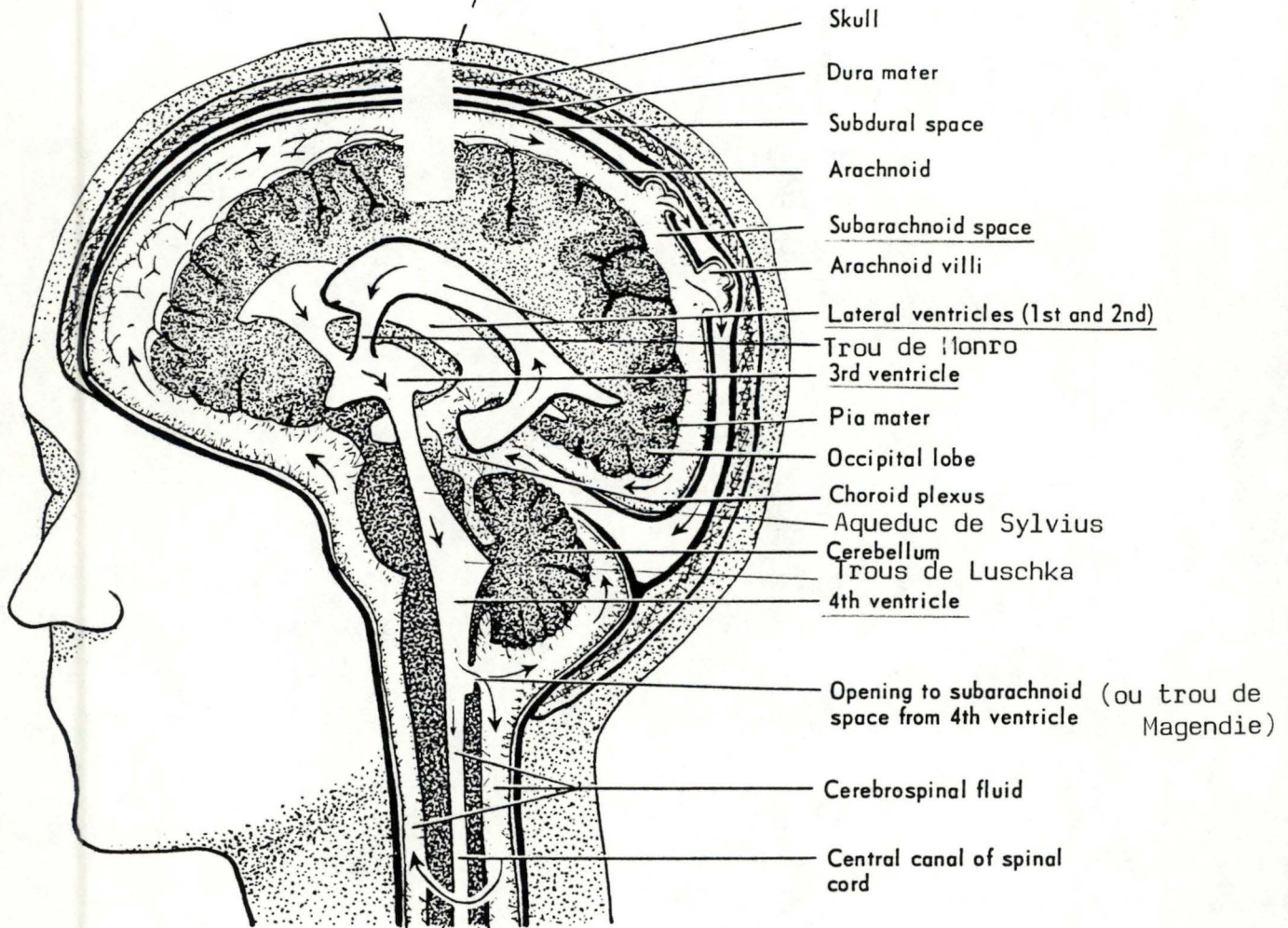
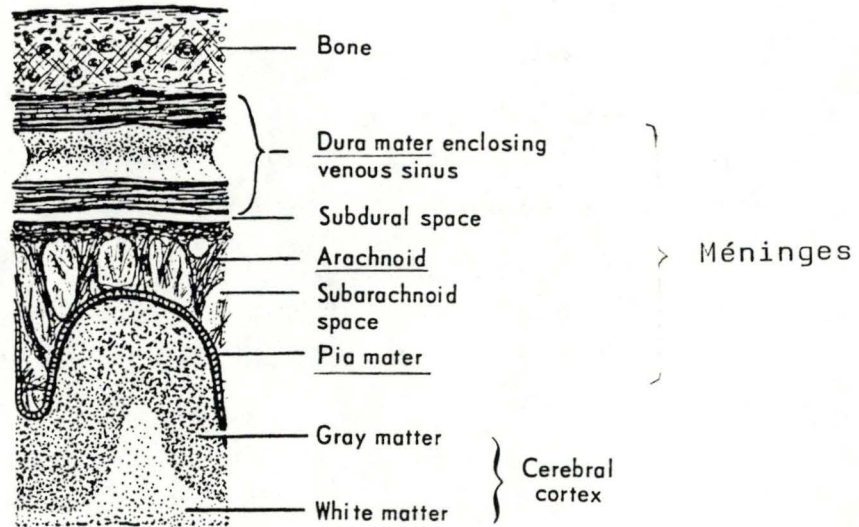


Figure 1: The coverings of the brain and spinal cord and the circulation of the cerebrospinal fluid. The top drawing represents a section through the layers of the skull, membranes, and cerebral cortex. (F.L.Strand, 1965)

CHAPITRE I. INTRODUCTION

I.1. PHYSIOLOGIE DU LCR

I.1.1. ANATOMIE DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL EN RELATION AVEC LE LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN (L.C.R.)

Le L.C.R. est un liquide clair, incolore qui remplit les ventricules et les espaces sous-arachnoïdiens entourant le cerveau et la colonne vertébrale (fig.1). Les ventricules constituent la partie du système nerveux central où se trouve environ 1/3 du volume total de L.C.R.

Le L.C.R. s'écoule régulièrement par les trous de Monro des ventricules latéraux (les plus vastes) vers le troisième ventricule (médian). Ce ventricule se prolonge avec l'aqueduc de Sylvius qui le fait communiquer avec le quatrième ventricule qui est médian également.

Le L.C.R. passe obligatoirement dans le quatrième ventricule, car c'est ce ventricule qui permet la communication entre le compartiment central et le compartiment périphérique via un orifice médian, le trou de magendie et les orifices latéraux, les trous de Luschka.

Les ventricules et les espaces sous-arachnoïdiens communiquent donc librement entre eux. Les espaces sous-arachnoïdiens sont limités extérieurement par l'arachnoïde et par la dure-mère, enveloppe méningée la plus résistante (fig.2). Intérieurement, les espaces sous-arachnoïdiens sont limités par la pie-mère. En effet, les méninges entourent le S.N.C.

Les méninges sont formées de trois feuillets :

- 1) la dure-mère, fibreuse et résistante, est en contact avec la paroi osseuse. Elle se dédouble pour former les sinus veineux crâniens et envoie des prolongements qui cloisonnent la cavité crânienne (fig.3).

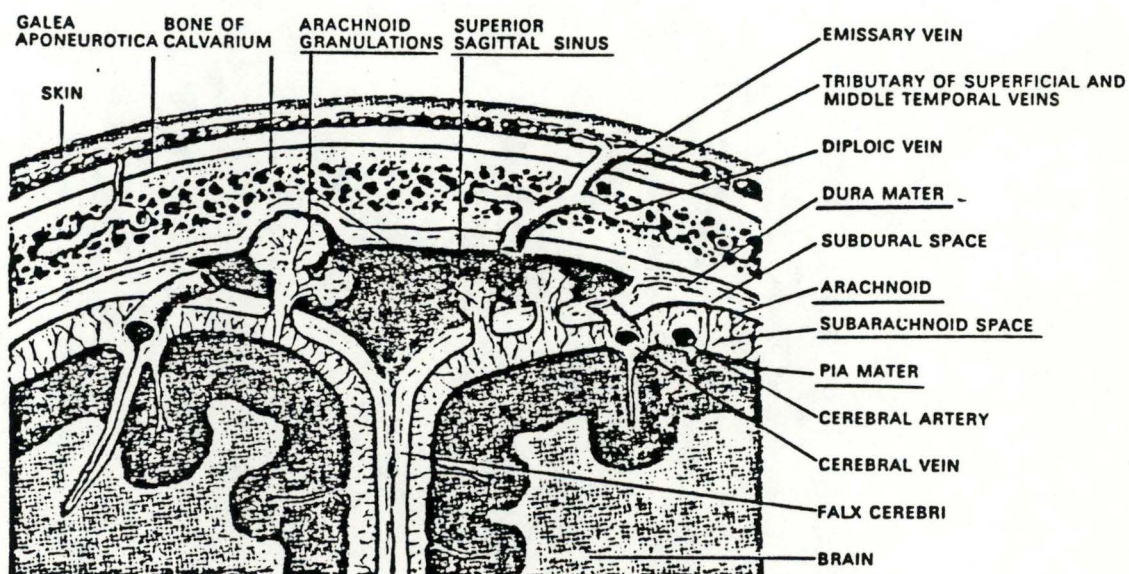


Figure 3: .dédoublement de la dure-mère
 .formation des sinus veineux.

- 2) la pie-mère est une mince couche cellulaire; elle épouse tous les reliefs du tissu nerveux et contient les veines et les artères qui cheminent à la surface du tissu nerveux.
- 3) l'arachnoïde est un feuillet intermédiaire, séparé de la dure-mère par un espace où se collectent les épanchements sous-duraux et séparé de la pie-mère par l'espace sous-arachnoïdien.

L'espace sous-arachnoïdien est l'espace où circule le L.C.R.

Outre le L.C.R., cet espace comporte des vaisseaux superficiels du cerveau. Ces vaisseaux perforent en de nombreux endroits la pie-mère.

Au niveau de la colonne vertébrale, l'espace sous-arachnoïdien forme une gaine de liquide qui constitue un véritable sac protégeant ainsi la colonne.

C'est au niveau des ventricules que la pie-mère forme des invaginations particulièrement importantes, riches en capillaires constituant ainsi les plexus choroïdes. Nous en verrons la structure et le rôle ultérieurement.

A la convexité des hémisphères cérébraux, se localisent les villosités arachnoïdiennes qui sont appelées granulations de Pacchioni lorsqu'elles sont hypertrophiées. Ces structures pénètrent dans la paroi des sinus veineux de la dure-mère et permettent une résorption du L.C.R. Elles jouent donc le rôle de soupape dans les sinus veineux.

DONC, le S.N.C. est constitué d'une cavité centrale qui s'élargit et se modifie dans le cerveau pour former les ventricules. Ces ventricules contiennent le L.C.R., sont continus entre eux et présentent, également, des communications avec les espaces sous-arachnoïdiens parce que des ouvertures spéciales permettent au liquide de circuler des ventricules vers l'espace entourant le cerveau.

Le S.N.C. contient donc du L.C.R. à l'intérieur de ses cavités centrales et est protégé par ce même liquide tout autour de sa structure.

I.1.2. COMPOSITION DU L.C.R.

Les constituants du L.C.R. sont presque tous présents dans le plasma dont il provient malgré qu'il ne s'agisse pas d'un ultrafiltrat. En effet, le L.C.R. est un liquide de sécrétion (cfr chapitre I. 1.3.)

- Le Sodium (à 141 mEq) se trouve dans le L.C.R. à une concentration proche de celle qui est observée dans le sérum. Le sodium présente peu de variations.

- Le Chlore (à 125 mEq) est en quantité beaucoup plus élevée dans le L.C.R. que dans le sang.

Il convient de souligner que la concentration de chlore dans le L.C.R. dépend non seulement de la concentration de chlore sanguin mais aussi du pH caractérisant le L.C.R. ainsi que de la teneur en protéines.

Le dosage du chlore est notamment très intéressant pour dépister les méningites tuberculeuses. En effet, au cours de ces pathologies, la chlorurachie est abaissée.

- Le potassium varie faiblement dans le L.C.R. La concentration en potassium dans le L.C.R. est très proche de cette concentration dans le sang.

- Le calcium (0,05 g/l) est relativement stable dans le L.C.R.

- La concentration de glucose du L.C.R. (la glycorachie) est de l'ordre de 0,60 g/l. La glycorachie suit, normalement, les variations de la glycémie dont elle représente les 2/3 environ.

L'élévation du taux de glucose dans le L.C.R. ne s'observe qu'au cours des hyperglycémies. Par contre, il s'abaisse isolément chaque fois qu'un processus métabolique actif se passe dans les méninges (surtout méningites purulentes, tuberculeuses ou mycotiques).

- La quantité de protéines est nettement inférieure dans le L.C.R. par rapport au sérum (0,40 \pm 0,06 g/l dans le L.C.R. et \pm 75 g/l dans le sang).

Par électrophorèse des protéines ou immunoélectrophorèse, nous remarquons que le pourcentage d'albumine est égal à celui du sérum. Les fractions alpha 1 et alpha 2 (α 1 et α 2) sont proportionnellement égales dans les deux liquides.

Le titre d'un constituant dans le L.C.R. dépend non seulement de la concentration de ce même constituant dans le plasma, mais aussi de l'intégrité de la barrière hémato-méningée (B.H.M.) :

- tout se passe comme si le liquide sanguin, brusquement surchargé d'une substance, la laissait filtrer dans le L.C.R.

Il y a donc filtration sélective des substances à travers la Barrière hémato-méningée (B.H.M.) pour constituer finalement le L.C.R.

- Plusieurs mécanismes contribuent à l'intégrité de la B.H.M.:

- a) Cette barrière maintient un gradient de concentration normale entre le L.C.R. et les protéines plasmatiques.

Des pores de rayons supérieur à $1000 - 1500 \text{ \AA}$, probablement localisés dans l'endothélium capillaire permettent le passage des protéines du sang dans le L.C.R.

Ce mécanisme semble être le plus important.

- b) Par transport vésiculaire endothélial; des pores et vésicules avec un rayon de 250 \AA transfèrent une quantité négligeable de protéines du sérum dans le L.C.R.

- c) par transport dans le L.C.R. des protéines à faible rayon à travers des pores et vésicules plus sélectifs, de rayon de 120 \AA , probablement au niveau de l'épithélium choroïdal (ou épithélium des plexus choroïdes).

Les différences de composition entre le L.C.R. et le sérum sont d'ordre quantitatif et d'ordre qualitatif.

Différences d'ordre quantitatif :

- Le pH est à 7,32 : il est donc légèrement acide par rapport au pH sanguin. Cela signifie que les protons ne sont pas en équilibre de part et d'autre de la B H M ; ces différences peuvent être expliquées par un transport actif de protons du sang vers le L.C.R. ou par une production métabolique de protons.

Le pH semble être lié aux variations du métabolisme cérébral.

La fraction Bêta est plus importante dans le L.C.R. alors que les gamma-globulines sont de moindre importance (6 à 12% au lieu de 16%).

- Les lipides sont en très faible quantité dans le L.C.R. Jusqu'à présent, l'intérêt pratique accordé aux lipides est resté minime.
- De nombreuses hormones, vitamines ou médiateurs chimiques peuvent être dosés dans le L.C.R. Cette pratique est, néanmoins, peu utilisée en raison de leur faible intérêt diagnostique.

Différences d'ordre qualitatif.

Presque toutes les protéines sanguines ont pu être mises en évidence dans le L.C.R. De plus, le L.C.R. contient des protéines qui sont absentes dans le sérum : les protéines tissulaires et une fraction pré-albumine assez importante; la fraction pré-albumine serait spécifique de l'endroit de formation du L.C.R., c'est-à-dire les cavités ventriculaires.

L'endroit du prélèvement n'est pas à négliger lors de la ponction du L.C.R. (cfr Chapitre I . 2.). Il affecte fortement la concentration protéique. Ainsi, le liquide prélevé dans la région péricérébrale contient beaucoup plus de protéines que le liquide ponctionné au niveau des ventricules.

Cela est vraisemblablement induit par des différences de perméabilité de la B.H.M.

I.1.3. SECRETION DU L.C.R.

La sécrétion du L.C.R. a lieu, principalement, dans les plexus choroïdes ventriculaires (la 1/2 à 2/3 de la sécrétion sont produits à ce niveau). Les plexus choroïdes sont donc lo-

calisés aux endroits où le tissu nerveux est aminci, voire inexistant (cfr figure 5 - chapitre I.1.4).

L'épendyme est juxtaposé à la pie-mère. Lorsque la pie-mère forme des villosités repoussant l'épendyme dans le ventricule, nous appelons ces villosités plexus choroïdes.

On distingue quatre plexus choroïdes :

- deux plexus au niveau des deux ventricules latéraux
- un plexus sur le toit du troisième ventricule
- un plexus au plancher du quatrième ventricule.

L'intervention de ces formations dans la sécrétion a été démontrée par de nombreux arguments :

- microprélèvement
- la microscopie optique
- la microscopie électronique
- les méthodes d'obstruction expérimentale des différents lieux de communication des cavités ventriculaires. En effet, a lieu en amont de l'obstruction une dilatation des ventricules sous l'influence de la sécrétion.

Si le L.C.R. est d'origine plexuelle essentiellement, un volume non négligeable de ce liquide est sécrété indépendamment des plexus choroïdes. Cette partie représente 20 à 50% du L.C.R.

Le L.C.R. d'origine extraplexuelle peut être produit à trois niveaux :

- l'épendyme ventriculaire (sa participation a pu être observée lors de l'ablation des plexus choroïdes, dans des conditions expérimentales).

- les capillaires de l'espace sous-arachnoïdien
- les espaces extracellulaires cérébraux, par communication des liquides interstitiels cérébraux, avec les espaces sous-arachnoïdiens, sans doute entre les cellules épendymaires et la membrane de la pie-mère.

Le volume de la sécrétion de L.C.R. serait environ de 500 ml/24 h.

Plusieurs facteurs interviennent sur la vitesse de sécrétion du L.C.R. Les facteurs biochimiques semblent être les plus importants. Pour qu'une sécrétion de liquide puisse avoir lieu, les cellules sécrétrices ont besoin d'anhydrase carbonique, quelque soit le mode de sécrétion, plexuel ou extra-plexuel. Cela a été démontré grâce à l'utilisation d'inhibiteurs de l'anhydrase carbonique, substances qui interrompent toute sécrétion. L'augmentation de Co_2 induit une sécrétion plus intense de L.C.R. alors qu'une diminution de pression en Co_2 entraîne une sécrétion de L.C.R. plus faible.

Le flux sanguin cérébral est, essentiellement, un facteur limitant : lorsque le débit sanguin chute, la sécrétion baisse automatiquement.

La quantité totale de L.C.R. qui est d'environ 140 ± 30 ml est nettement inférieure à la sécrétion quotidienne. Il y a donc un renouvellement très rapide du L.C.R. : la quantité totale de L.C.R. serait renouvelée entièrement trois à quatre fois par 24 heures. Il est cependant vraisemblable que ce renouvellement ne s'effectue pas à la même vitesse partout et que dans certaines zones, le L.C.R. soit relativement stagnant.

Alors que le débit de sécrétion de L.C.R. est indépendant de la pression intraventriculaire, l'absorption est proportionnelle à cette pression.

Quand la pression du L.C.R. est inférieure à 68 mm d' H_2O l'absorption s'arrête (fig.4).

Pour une pression de 112 mm, l'absorption et la formation de L.C.R. s'équilibrent.

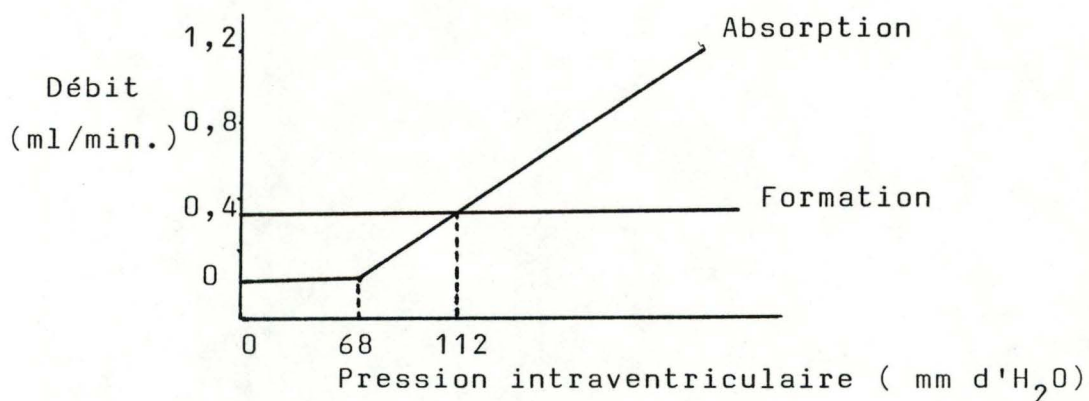


figure 4

- Si la capacité de réabsorption des villosités arachnoïdiennes est moindre, de grandes quantités de L.C.R. s'accumulent dans les ventricules et espaces sous-arachnoïdiens.
- Si les trous de Luschka et de Magendie sont bloqués ou s'il y a un blocage à l'intérieur des ventricules, le liquide s'accumule également près de l'obstacle et distend les ventricules.

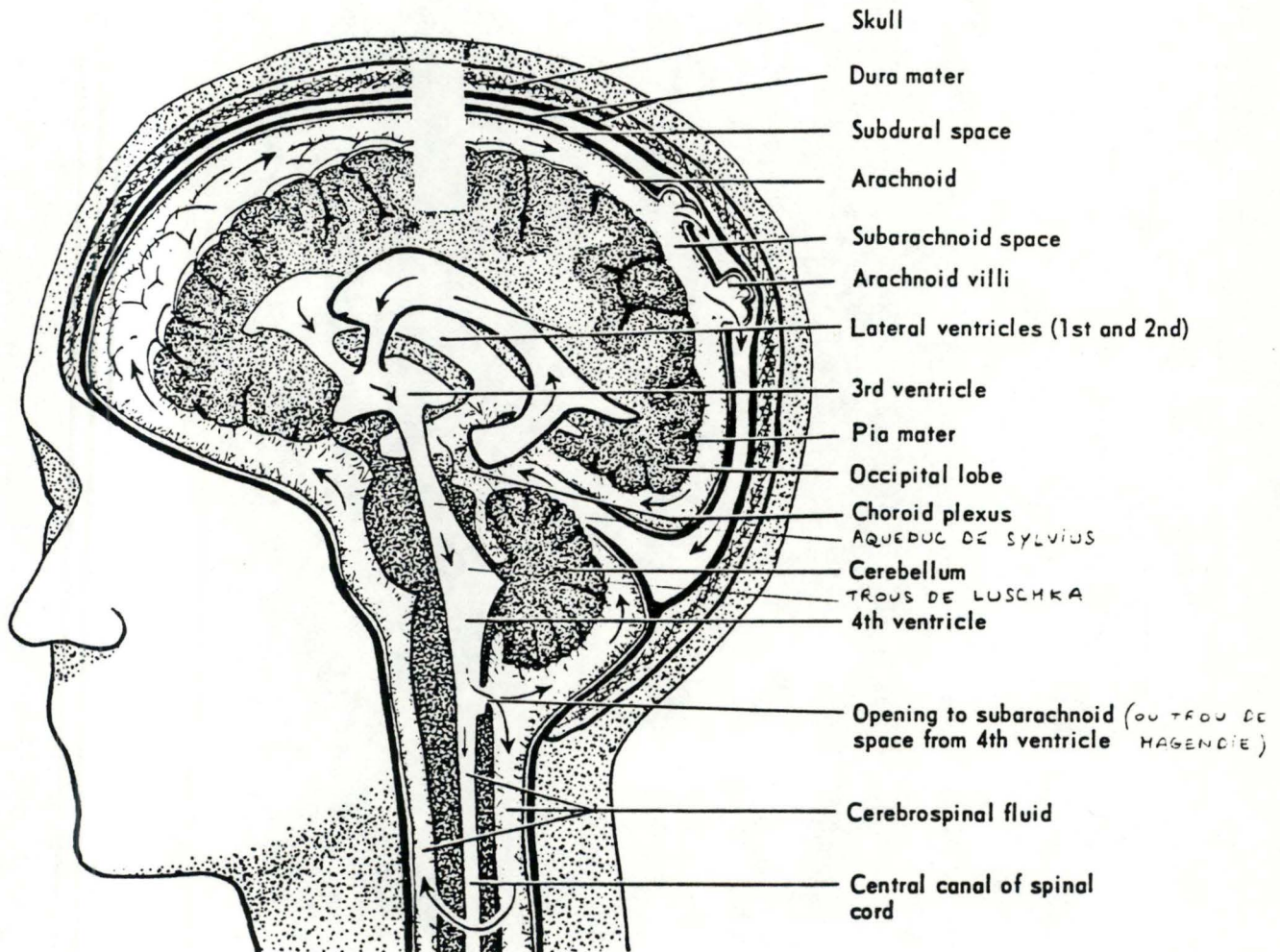
I.1.4. CIRCULATION DU L.C.R.

La sécrétion du liquide produite essentiellement dans les plexus choroïdes des ventricules implique l'existence d'une circulation se faisant régulièrement pour envoyer le L.C.R. non seulement dans la région céphalique mais aussi dans la partie rachidienne.

Le trajet parcouru par le L.C.R. a pu être étudié par diverses méthodes basées sur l'utilisation de colorants.

Par ailleurs, les traceurs radioactifs sont injectés dans un des deux ventricules latéraux, en faible quantité de façon à ne pas perturber l'état physiologique du L.C.R.

Le liquide contenant la substance marquée parcourt les cavités ventriculaires, c'est-à-dire le troisième ventricule puis emplit le quatrième ventricule par l'intermédiaire de l'aqueduc de Sylvius et diffuse par les Trous de Magendie et Luschka dans les espaces sous-arachnoïdiens (fig.5). Le L.C.R. marqué est collecté vers la 24^e heure au niveau de la convexité des hémisphères et finit par disparaître complètement vers la 48^e heure.



The coverings of the brain and spinal cord and the circulation of the cerebrospinal fluid. *The top drawing represents a section through the layers of the skull, membranes, and cerebral cortex.*

Figure 5 (selon F.L.Strand; 1965).

- La circulation du L.C.R. est donc ventriculaire : le L.C.R. circule dans une première phase jusqu'au trou de Magendie; cela a pu être démontré lors de certaines expériences d'obstruction.

Pendant une seconde phase, la circulation du L.C.R. est arachnoïdienne. Le L.C.R. circule par voie péri-cérébrale vers les sillons de la convexité. Le L.C.R. circule, également, mais de façon accessoire par voie spinale.

La circulation du L.C.R. est assez lente chez l'homme adulte: elle ne dépasse pas 2 à 3 cc par heure.

L'écoulement du liquide dépend de sa résorption. Ainsi dans des conditions physiologique, l'évacuation du liquide étant plus rapide, la sécrétion s'accélère : le débit du liquide est élevé.

Certains processus pathologiques peuvent perturber la circulation du L.C.R., au niveau du cerveau ou au niveau de la colonne vertébrale.

I.1.5. RESORPTION DU L.C.R.

Etant donné que la sécrétion du L.C.R. s'effectue de façon continue, la résorption du liquide, doit se faire proportionnellement à cette sécrétion afin d'éviter toute augmentation du volume de L.C.R.

Le site principal de la résorption du liquide est localisée au niveau des

- * villosités arachnoïdiennes situées dans la paroi des veines méningées et de l'axe cérébro-spinal.
- * granulations de Pacchioni aboutissant dans les sinus veineux principalement dans le sinus veineux sagittal supérieur (cfr figure 1).

Les endroits où s'effectuent la résorption ont pu être déterminés par l'injection de substances solubles et non toxiques dans le L.C.R., substances qui ont été retrouvées ultérieurement au niveau des sites de résorption.

Le mécanisme de passage du L.C.R. des espaces sous-arachnoïdiens vers le sang veineux est encore mal cerné.

Certains facteurs agissent sur la résorption du liquide. A titre d'exemple, les facteurs d'élévation de la pression veineuse entravent la résorption; dans ces cas, le volume de liquide résorbé est inférieur à la "normale".

Certains facteurs bloquent totalement la résorption : le L.C.R. ne parvient pas à atteindre ses aires de résorption. Ce cas se rencontre dans certaines méningites et hémorragies méningées.

Une résorption insuffisante de liquide peut être évoquée lorsque des perfusions de liquide isotonique pratiquées sur ces patients induisent une élévation importante de la pression alors que ces perfusions pratiquées dans les mêmes conditions chez des sujets normaux n'entraînent pas l'augmentation durable de la pression.

I.1.6. PRESSION DU L.C.R.

La pression du L.C.R. est la résultante de la pression hydrostatique, pression de sécrétion et de la pression veineuse.

La pression du L.C.R. varie selon l'endroit où elle est mesurée (ponction lombaire, cisternale et ventriculaire) et la position du patient (cfr chapitre I.2.1.).

Ainsi, en position assise : ° la pression lombaire est élevée
 ° les pressions cisternale et ventriculaire sont très basses.



en position couchée : la pression varie entre

- 6 et 18 cm d'eau chez
l'adulte
- 4 et 10 cm d'eau chez
l'enfant

Si on ne tient pas compte de la position du patient pendant la ponction et si le L.C.R. s'écoule "normalement" c'est-à-dire qu'il n'existe pas d'entrave au niveau des voies d'écoulement du liquide, la pression du L.C.R. reflète la pression intra-crânienne du liquide (le crâne peut être considéré comme une boîte indéformable).

- La pression est fonction - de la quantité de L.C.R.
- de la quantité de sang dans
les vaisseaux intra-crâniens.
- de l'état du parenchyme cérébral.

Si l'un de ces facteurs augmente, la pression du L.C.R. s'élève également : le L.C.R. est en état d'hypertension.

Vis-à-vis de cette hypertension, interviennent des mécanismes régulateurs consistant à maintenir la pression constante; ces mécanismes vont donc freiner la sécrétion dans le cas présent.

Cependant, les variations de pression peuvent se produire malgré les processus régulateurs; ces variations, d'ordre physiologique, sont de deux types :

- a) les variations à court terme et régulières dont le rythme est déterminé par la circulation. En effet, si le flux sanguin cérébral augmente, le volume de L.C.R. diminue.
Le L.C.R. est caractérisé par une pression relativement constante grâce aux variations de volume de liquide.
- b) les variations à plus longue période, souvent régulières.

Ces variations de pression sont détectées par des techniques d'enregistrement continu de la pression du L.C.R.; elles peuvent être d'une bonne utilité dans le dépistage de certains cas pathologiques.

I.1.7. ROLES PHYSIOLOGIQUES DU L.C.R.

Le rôle du L.C.R. est multiple.

Un des rôles connus du L.C.R. est celui d'une suspension hydraulique du cerveau. C'est une fonction essentielle du L.C.R. Le liquide, localisé entre le cerveau et les enveloppes ostéo-méningées, protège donc le cerveau des chocs contre la boîte crânienne, chocs dus aux mouvements du corps.

La dure-mère étant fixée fermement à l'os et l'arachnoïde étant maintenue contre la dure-mère par la tension de surface de la mince couche de liquide qui se trouve entre les deux membranes, le cerveau est soutenu par des vaisseaux sanguins, les racines nerveuses et les trabécules arachnoïdiennes (prolongement de l'arachnoïde).

Alors que le poids du cerveau est de 1400 g environ à l'air libre, il n'est plus que de 50 g lorsqu'il est en suspension dans le L.C.R.

En cas de choc de la tête, l'arachnoïde glisse sur la dure-mère et le mouvement du cerveau est freiné par la présence de L.C.R. et par les trabécules arachnoïdiennes. Le cerveau est endommagé lorsqu'il y a fracture du crâne et pénétration de l'os dans le tissu nerveux ou lorsque le cerveau est projeté violemment contre la boîte crânienne.

Il s'agit donc d'un rôle purement mécanique assurant la protection du cerveau. Lorsque le liquide n'est pas en quantité suffisante, le L.C.R. est en hypotension, ce qui provoque des céphalées et vomissements chez les patients lorsqu'ils se mettent en position debout et ce par la traction exercée par le cerveau sur les vaisseaux et les fibres nerveuses. Cela se passe après certains traumatismes crâniens et lorsqu'il y a prélèvement de L.C.R. au cours de ponctions.

Les processus qui favorisent l'augmentation de la sécrétion induisent une atténuation des troubles liés à l'hypotension du L.C.R.

Les autres rôles du L.C.R. sont moins bien connus.

Le L.C.R. est le liquide chargé d'apporter les substances nutritives à l'encéphale et à la moëlle épinière par l'intermédiaire des parois (l'arachnoïde et la pie-mère) entre lesquelles il s'écoule.

Le L.C.R. intervient dans l'épuration biochimique du cerveau. Il sert à éliminer un certain nombre de produits du métabolisme cérébral. Ainsi, le L.C.R. se charge en albumine, en acide lactique, en immunoglobulines et en médiateurs comme la dopamine et la sérotonine. Grâce au renouvellement du L.C.R. qui s'effectue trois à quatre fois par 24 heures, les métabolites peuvent être acheminés hors du système nerveux.

Le L.C.R. est le milieu de transport d'hormones hypophysaires, post-hypophysaires et, probablement, d'hormones hypothalamiques.

Le L.C.R. joue, également, un rôle actif : il assure la protection du cerveau du point de vue immunologique. En effet, des cellules synthétisées à l'intérieur du système nerveux central sont capables de répondre à des stimuli antigéniques lors de certains processus inflammatoires.



Ponction lombaire en position assise.

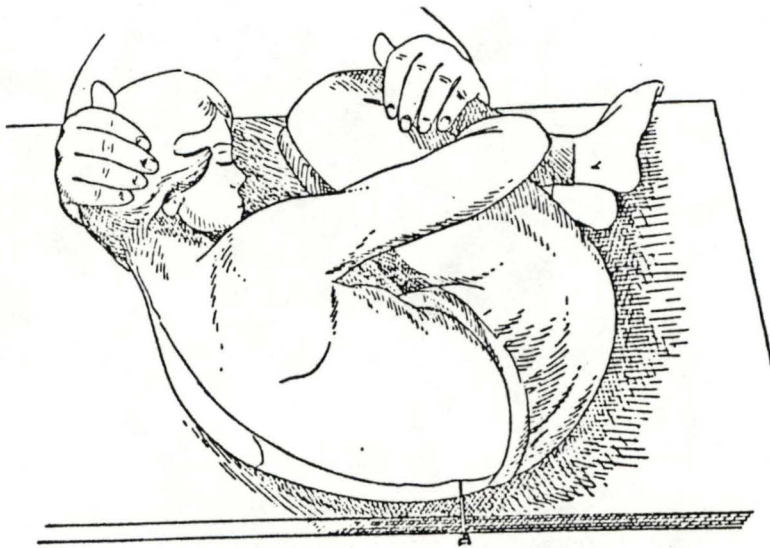


Figure 6: ponction lombaire en position couchée.

I.2. PRELEVEMENT DU L.C.R.

I.2.1. TECHNIQUES

Le prélèvement du L.C.R. s'effectue toujours dans les meilleures conditions d'asepsie, habituellement par ponction entre les 3e et 4e vertèbres lombaires, 4e et 5e vertèbres lombaires ou entre les 5e vertèbre lombaire et 1ère sacrée dans le cul de sac dural ou lombaire. La ponction est réalisée à ces endroits car la moëlle épinière y étant absente, le L.C.R. constitue un véritable réservoir.

Le patient est assis ou couché en décubitus latéral, tête fléchie, genoux repliés et tronc en hyperflexion pour élargir les espaces interosseux lombaires (fig. 6). Après avoir repéré le plus ouvert des trois derniers espaces lombaires, l'aiguille est enfoncée dans une direction oblique de 20 à 30° vers l'extrémité céphalique du patient. L'aiguille traverse donc la peau, le tissu cellulaire sous-cutané et le ligament inter-épineux pour aboutir à la dure-mère. Celle-ci présente une résistance. La dure-mère est alors perforée de telle sorte que l'extrémité de l'aiguille se trouve dans l'espace sous-arachnoïdien. Avant toute soustraction de liquide, il convient de mesurer la pression exercée par le L.C.R. Si la valeur de la pression n'est pas comprise dans l'intervalle de référence, le prélèvement du L.C.R. n'est pas effectué, car le prélèvement de liquide comporte beaucoup de risques chez ces patients.

Le volume de L.C.R. soustrait est, généralement, de 10 à 15 ml. Ce liquide est réparti dans trois tubes stériles qui sont notés et envoyés rapidement au laboratoire.

Le prélèvement de 10 à 15 ml de L.C.R. ne constitue pas un volume excessif de liquide, le volume total de L.C.R. étant de 140 ml en moyenne et la sécrétion quotidienne de L.C.R. par les plexus choroïdes étant environ d'un 1/2 litre.

Dans certains cas, le volume ponctionné est faible. Des examens importants pratiqués sur ce L.C.R. ne peuvent alors pas être réalisés.

Quelques incidents peuvent se produire lors des ponctions lombaires :

- la ponction peut être "blanche" par contact de l'aiguille avec une lame osseuse. Il faut retirer l'aiguille légèrement et en changer l'obliquité.
- l'extrémité de l'aiguille peut être enfoncée dans une veine épidurale ce qui provoque une hémorragie. Il s'agit d'une erreur technique. Il est alors nécessaire de pratiquer une nouvelle ponction au niveau d'un espace voisin.

Pour distinguer les L.C.R. hémorragiques résultant

soit de la piqûre d'un vaisseau au moment de la ponction

soit d'une hémorragie méningée ou cérébro-méningée

les L.C.R. sont centrifugés.

- a) Si le culot est constitué d'une masse d'hématies liées par un coagulum et ne pouvant pas être remises en suspension et si le liquide surnageant est limpide et incolore, le sang provient du vaisseau piqué au cours de la ponction;
- b) Si le culot d'hématies est remis facilement en suspension et si le liquide surnageant est coloré et limpide, le sang provient d'une hémorragie méningée ou cérébro-méningée.

Il y a également d'autres éléments permettant de différencier ces deux types de liquide hémorragique :

	<u>hémorragie méningée</u>	<u>hémorragie de ponction</u>
Aspect des tubes	uniforme	le 3e est plus clair que le 1er
Coagulation	ne coagule pas	coagule
Liquide surnageant	clair ou xanthochromique	clair
Pigments sanguins	présents	absents
Hématies altérées	présentes	absentes
Macrophages	présents	absents
Nombre d'hématies/mm ³	identiques dans les	supérieurs dans le 1er
Taux protéines totales	1er et 3e tubes	tube par rapport au 3e tube

- L'aiguille peut atteindre une racine nerveuse. Cela se traduit par une douleur vive en éclair dans la trajectoire de la racine nerveuse.

L'aiguille doit alors être retirée légèrement et enfoncée à nouveau dans la direction adéquate.

- Chez les sujets anxieux et émotifs, la lipothymie est favorisée. Il faut donc rassurer les patients; des tranquillisants sont administrés dans certains cas.

Après la ponction, le patient peut ressentir des rachialgies au niveau lombaire pendant quelques jours.

Peuvent survenir, également, des nausées, céphalées et vertiges lors de la station debout en raison d'une certaine hypotension intracrânienne puisque du liquide a été prélevé. Si on administre de l'eau distillée par voie

intraveineuse, ces troubles disparaissent et ne durent pas plus d'une semaine.

Les incidents graves ultérieurs à la ponction ne sont normalement pas observés si les contre-indications relatives à la ponction lombaire ont été respectées.

Certaines considérations sont à garder à l'esprit avant de pratiquer une ponction lombaire.

Les contre-indications de la ponction lombaire sont :

- l'oedème pulmonaire
- l'hypertension intra-crânienne ou une lésion expansive évoquée par radiographie.

L'hypertension intra-crânienne est due à la tension élevée exercée par le L.C.R. suite à une sécrétion excessive de ce liquide.

Cette hypertension est décelée par l'examen du fond de l'oeil.

Cette contre-indication est de première importance puisque l'hypertension peut résulter du développement d'une tumeur.

La ponction lombaire risque fortement d'entraîner le patient dans un état comateux voire de le conduire subitement à la mort.

- signes de latérisation sauf l'ophtalmoplégie.
- toute infection bactérienne prédisposant à l'abcès du cerveau ou siégeant à un autre endroit du système nerveux central.
- l'infection au niveau du trajet de l'aiguille pour éviter la propagation du processus infectieux.

Les indications de la ponction lombaire sont :

- les arguments anamnestiques
- les altérations de l'état psychique.

Autres techniques de prélèvement.

Ponction sous-occipitale.

Ce type de ponction s'effectue sur un sujet placé en décubitus latéral, la tête maintenue en flexion forcée. L'aiguille est introduite dans l'espace atloïdo-occipital.

Ce type de ponction nécessite un opérateur entraîné de façon à ce que la ponction soit relativement aisée et bien tolérée par le patient.

Le L.C.R. est prélevé du compartiment périphérique du système nerveux central; il contient moins de protéines (15 à 25 mg (100 ml) que le liquide lombaire (28 à 53 mg (100 ml)).

Ponction ventriculaire.

Ce type de ponction s'effectue par trépanation, c'est-à-dire par l'utilisation d'une foreuse spéciale conçue pour pratiquer un orifice dans la boîte crânienne; le trépan cesse de fonctionner dès que le crâne est percé : il n'y a donc pas de risque d'endommager le tissu cérébral sous-jacent.

La ponction ventriculaire se pratique pour décompresser le cerveau lorsque celui-ci est atteint d'hypertension. Le L.C.R. est prélevé des ventricules latéraux du cerveau et contient une faible concentration en protéines (6 à 15 mg (100 ml)).

Chez le nourrisson, la ponction est pratiquée par voie trans-fontanelle.

I.2.2. ASPECT DU L.C.R.

Ce liquide prélevé au cours de la ponction peut fournir des indications quant à la pathologie du patient.

Le médecin peut, à partir de l'aspect du L.C.R., orienter les recherches pour repérer toute anomalie du liquide et apporter ainsi des éléments de diagnostic le plus rapidement possible.

1. Liquide clair.

Le L.C.R. se présente comme un liquide limpide, d'où son appellation "eau de roche".

C'est l'aspect le plus fréquent. Certaines pathologies sont également caractérisées par un liquide clair.

2. Liquide hémorragique.

Le L.C.R. est rouge ou rosé lorsqu'il contient du sang frais, par hémorragie méningée récente ou hémorragie traumatique liée à la ponction.

3. Liquide xanthochromique.

Le L.C.R. est jaune et transparent lorsqu'il contient des pigments sanguins provenant soit du sérum par la barrière hémoméningée (cfr chapitre II) soit de la destruction des hématies présentes dans les hémorragies méningées anciennes.

Le liquide comporte plus rarement des pigments biliaires (lors de certaines hépatites) ou une grande quantité de protéines (le L.C.R. coagule alors spontanément en masse).

4. Liquide trouble.

Le L.C.R. présente cet aspect s'il contient un nombre élevé de cellules.

Le L.C.R. comporte normalement moins de 5 éléments par mm^3 . Ces éléments sont, essentiellement des lymphocytes.

I.2.3. CONSERVATION DU PRELEVEMENT

Le L.C.R. sitôt prélevé doit être acheminé immédiatement au laboratoire. La température à laquelle doit être effectué ce transport n'est pas critique dans la mesure où le délai est court : le transport est effectué, le plus souvent, à température ambiante.

Toute conservation du L.C.R. réduit très sensiblement les chances d'obtenir une culture positive. Dans les cas où la mise en culture ne peut être effectuée directement après le prélèvement, le L.C.R. est conservé à

- 30°C en cas de méningite supposée bactérienne (L.C.R. trouble)
- 4°C en cas de méningite supposée virale (L.C.R. clair).

Ces températures représentent les conditions les moins défavorables pour la conservation du L.C.R.

Une congélation très rapide à -70°C permet également une brève conservation.

La congélation à -20°C ne convient pas avec le L.C.R.

I.2.4. NOTES SUR LE VOLUME DISPONIBLE DE L.C.R.

Le L.C.R. prélevé est réparti dans trois tubes différents. Cette méthode est utile dans le cas où se produisent des hémorragies traumatiques dues à la ponction : le tube contenant les quelques gouttes de sang est le premier. On examine alors les deuxième et troisième tubes. Cependant, les cultures bactériologiques pourront être faites à partir du premier tube alors que les études cytologiques et chimiques ne peuvent être réalisées que sur les deux derniers tubes.

Les prélèvements de L.C.R. quels que soient leur aspect et leur volume, doivent toujours être considérés comme un matériel précieux souvent irremplaçable.

Le volume de L.C.R. prélevé ne dépasse pas habituellement 10 à 15 ml chez l'adulte (chez l'enfant, il est inférieur); Ce volume doit être suffisant pour effectuer l'ensemble des analyses de routine. L'échantillon disponible pour chaque dosage sera donc réduit et analysé par des techniques aussi sensibles que possible.

I.3. EXAMENS COURANTS EN LABORATOIRE DE BIOLOGIE CLINIQUE

I.3.1. ASPECT DU L.C.R.

cfr chapitre I.2.2.

Cet examen macroscopique du L.C.R. est important dans la mesure où il permet au médecin d'orienter les recherches sur le L.C.R.

Le médecin doit cependant prendre garde à l'aspect trompeur de certains L.C.R.

- 1) le liquide peut être clair alors que le nombre d'éléments est élevé mais inférieur à 500 (cfr chapitre I.3.2.)

La détection de nombreux éléments dans le L.C.R. est à rapprocher de certaines pathologies.

- 2) le liquide est opalescent dans certaines méningites lymphocytaires alors que la méningite lymphocytaire se caractérise le plus souvent par un liquide clair.

- 3) le liquide est hémorragique dans certaines méningites aiguës.

L'aspect du L.C.R. est fonction du nombre de cellules présentes dans le L.C.R., du taux des protéines et de la présence ou non de pigments hémoglobiniques.

I.3.2. CYTOLOGIE QUALITATIVE

Le type d'éléments contenus dans le L.C.R. est déterminé après centrifugation et coloration par un colorant. Le L.C.R. comporte essentiellement des lymphocytes.

Sont présents, également, dans le L.C.R. des monocytes; il est possible d'y trouver des cellules épendymaires ou pleurales.

Les hématies, en faible nombre, peuvent être un constituant majeur du L.C.R. Si ce nombre est supérieur à 100 par mm^3 , le L.C.R. a sans doute subi un processus hémorragique, si la technique de ponction est hors de cause.

Des éléments cellulaires caractéristiques de certaines pathologies peuvent être détectés dans le L.C.R. : bactéries, champignons, parasites ou cellules tumorales. Ces cellules sont visualisables, soit à l'examen direct, soit après leur mise en culture.

I.3.3. NUMERATION DES ELEMENTS

Les cellules présentes dans le L.C.R. sont dénombrées avant centrifugation.

La numération des éléments s'effectue habituellement à la cellule de Nageotte après avoir teinté légèrement le liquide par du bleu de méthylène (fig. 7).

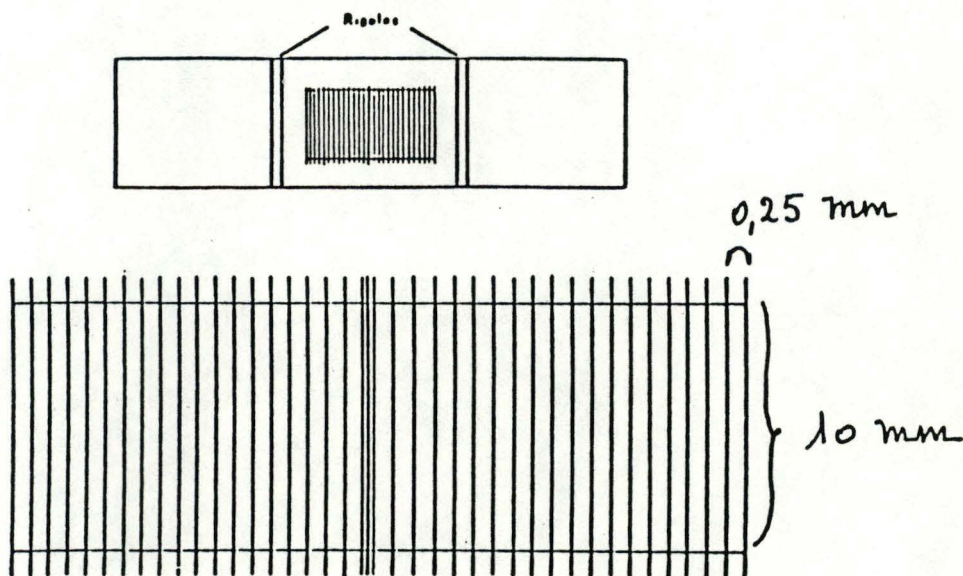


figure 7 : cellule de Nageotte

La surface d'un rectangle est de $2,5 \text{ mm}^2$ ($= 0,25 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$).

Le volume de L.C.R. contenu dans un rectangle est de $1,25 \text{ mm}^3$ ($2,5 \text{ mm}^2 \times 0,5$).

gence habituelle du diagnostic

En cas d'examen direct négatif, il peut s'agir d'un liquide paucimicrobien; s'il y a présomption d'infection bactérienne, il est conseillé de maintenir à l'étuve (37°C) le prélèvement et d'ensemencer ensuite sur les différents milieux de culture.

I.4. BIOCHIMIE DU L.C.R.

- ° Les examens chimiques effectués sur un échantillon du L.C.R. dépendent directement du volume de L.C.R. prélevé.
- ° Les indications apportées par les divers examens (les dosages des protéines, du glucose et des chlorures constituent l'analyse biochimique de routine du L.C.R.) dépendent des résultats des analyses qui sont exécutées en premier (aspect du L.C.R. - numération cellulaire - examen bactériologique).
- ° Le microbiologiste a besoin de connaître rapidement le résultat des dosages chimiques pour orienter le choix des examens restant à faire.

I.4.1. LA PROTEINORACHIE

La protéinorachie est la mesure de la concentration en protéines dans le L.C.R.

Ce dosage est fondamental.

Lorsque le volume de L.C.R. prélevé est faible, ce dosage doit être effectué en priorité, parallèlement à l'examen cytologique. Le résultat obtenu est capital car il oriente le diagnostic et détermine la nature et l'interprétation des examens

complémentaires éventuellement envisageables si le volume de L.C.R. est suffisant.

Cependant, la détermination de la protéinorachie n'est pas aisée car

- la concentration en protéines dans le L.C.R. est faible;
- le volume du L.C.R. est réduit;
- la protéinorachie représente un ensemble hétérogène de protéines;
- la répartition des diverses protéines varie
 - ° selon les différentes pathologies
 - ° selon le niveau où la ponction est pratiquée.

Diverses méthodes permettent le dosage des protéines totales. Ces méthodes doivent être spécifiques des protéines, sensibles, reproductibles et simples à mettre en oeuvre car la protéinorachie est un dosage de routine.

a - Méthodes turbidimétriques

Ces méthodes sont fondées sur l'utilisation d'un agent précipitant permettant d'estimer le trouble obtenu.

L'agent précipitant peut être l'acide sulfosalicylique ou l'acide trichloracétique.

b - Méthodes colorimétriques

- La méthode la plus utilisée est celle de Lowry en raison de sa très grande sensibilité.
- La réaction du biuret est mal adaptée au L.C.R. par son manque de sensibilité.

L'intervalle de référence pour la protéinorachie est de 0,15 - 0,40 g par litre.

L'augmentation quantitative de la protéinorachie accompagnée d'une réaction cellulaire se rencontre dans certaines pathologies : méningites à pyogènes

méningites tuberculeuses.

Par réaction cellulaire nous entendons l'augmentation des éléments cellulaires.

L'augmentation quantitative de la protéinorachie peut exister sans réaction cellulaire : nous assistons à une dissociation albumino-cytologique.

Celle-ci se produit dans les pathologies suivantes :

- compressions médullaires
- la syphilis
- Syndrome de Guillain-Barré
- Hémorragies anciennes
- tumeurs cérébrales
- convalescence de méningites

La protéinorachie qualitative est examinée lors de l'électrophorèse.

I.4.2. LA GLYCORACHIE

Dans le cerveau, la glycolyse est la seule source d'énergie disponible (le glucose, à l'exception d'une petite quantité de fructose, est pratiquement le seul sucre réducteur du L.C.R.).

La glycorachie (concentration du glucose dans le L.C.R.) varie de 0,45 à 0,70 g par litre. Elle varie avec la glycémie dont elle représente environ les 2/3.

Dès qu'un processus métabolique actif s'installe dans les méninges, la concentration de glucose dans le L.C.R. chute. La glycorachie doit être déterminée rapidement après le prélèvement surtout si on suspecte une contamination bactérienne. Dans la plupart des méningites bactériennes, la glycorachie tend vers zéro.

L'hyperglycorachie franche n'est observée en pratique qu'en cas d'hyperglycémie.

Le glucose du L.C.R. est dosé par une méthode enzymatique à l'hexokinase ou à la glucosedéshydrogénase.

I.4.3. LES ELECTROLYTES DU L.C.R.

Seul, le chlore est dosé couramment dans le L.C.R. (Les valeurs du potassium et du calcium dans le L.C.R., indépendantes de celles du plasma, reflètent une homéostasie très importante).

Les valeurs normales sont légèrement plus élevées dans le L.C.R. (125 mEq/L) que dans le sang (109 mEq/L).

Les chlorures sont abaissés dans la méningite bactérienne tuberculeuse. 60 à 70% des méningites bactériennes tuberculeuses ont des valeurs comprises entre 84 et 100 mEq/L.

Des explications ont été avancées pour expliquer l'abaissement de la concentration en chlorures :

- la Barrière hémato-méningée pourrait être altérée
- une déperdition salée pourrait induire ce phénomène.

Le dosage est intéressant dans la méningite à liquide clair : les chlorures apportent un élément de diagnostic par la détermination de l'origine virale ou tuberculeuse de cette méningite.

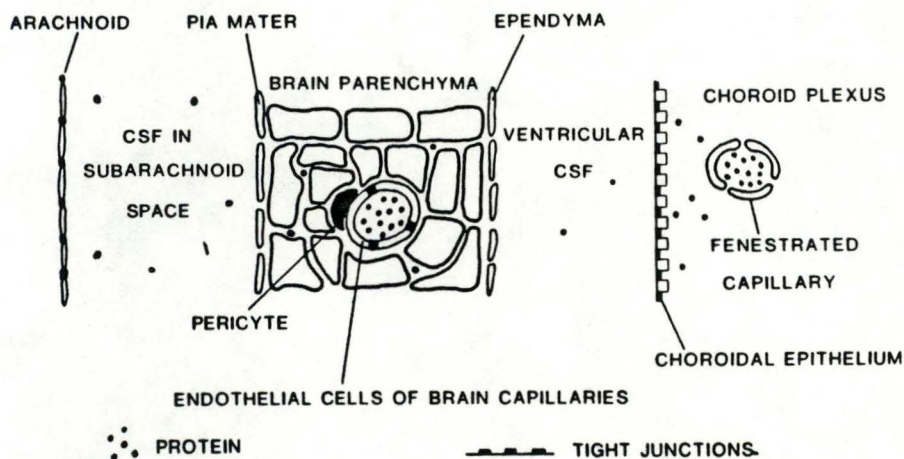
CHAPITRE II. LA BARRIÈRE HEMO-MENINGÉE (B.H.M.)

II. 1. LA BHM LORS DES CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES

Le déplacement des protéines plasmatiques vers le système nerveux central est entravé par une structure complexe appelée la BHM.

Cette structure est constituée de 3 types de cellules :

- 1) les cellules endothéliales des capillaires cérébraux
- 2) les cellules épithéliales des plexus choroïdes
- 3) le 3e type de cellules consiste en une couche de cellules soutenant la membrane arachnoïde.



(selon C.J.M.Sindic;1985).

Ces cellules permettent la filtration du plasma.

Ce liquide filtré se répand dans les espaces cérébraux extra cellulaires, en tant que fluide interstitiel et dans les ventricules et espaces sous-arachnoïdiens en tant que L.C.R.

Ces 2 liquides céphalorachidien et interstitiel, communiquent librement.

Outre le processus de filtration, une sécrétion active a lieu au niveau des plexus choroïdes, de telle sorte que la composition protéinique du L.C.R. n'est pas simplement un ultrafiltrat plasmatique.

II. 1.1. BASE MORPHOLOGIQUE DE LA BHM.

Le concept de BHM provient d'expériences montrant que les colorants injectés dans la circulation coloraient la plupart des organes à l'exception du cerveau. Puisque les colorants étaient liés aux protéines plasmatiques, la barrière empêchait le passage des complexes colorant-protéine.

La description morphologique de la BHM nécessite l'utilisation de ferritine (PM : 450.000 d) et de horseradish peroxidase (HRP PM : 43.000 d) de façon à être visualisée au microscope électronique.

Ainsi, la BHM (au niveau de capillaires cérébraux) consiste en un ensemble de cellules endothéliales des capillaires cérébraux liées entre elles par des tight junctions (= Zonula occludens).

Il n'y a pas de pinocytose ni de transport de protéines sanguines à travers ces cellules endothéliales. De plus, l'existence de canaux transendothéliaux n'a jamais été montrée.

Cependant, Broadwell et Saleman (1981) ont observé la pinocytose de HRP dans les capillaires cérébraux lorsque la HRP est utilisée à de hautes concentrations et durant de longues périodes avant l'observation. La protéine se localise

dans les liposomes (hydrolases +) pour sa dégradation dans les péricytes (semblables à des cellules macrophages) localisés en surface des structures vasculaires. La BHM inclut donc le système lysosomal dans les cellules endothéliales et les péricytes.

Les tight junctions relient également les cellules endothéliales des plexus choroïdes entre elles et empêchent la HRP de passer des capillaires fenestrés des plexus choroïdes vers le L.C.R. ventriculaire.

De manière similaire, les cellules de l'arachnoïde ont des tight junctions qui confèrent à l'arachnoïde le rôle de barrière physiologique séparant le L.C.R. du milieu environnant.

Une barrière cerveau-sang existe aussi au niveau de l'endothélium des capillaires cérébraux. Cette barrière est semblable à la BHM par la présence de tightjunctions empêchant le déplacement de protéines entre les cellules endothéliales et par la prise de la HRP des cellules endothéliales au niveau des lysosomes.

II. 1.2. ECHANGES PROTEINIQUES A TRAVERS LA BHM.

Un équilibre dynamique existe entre les protéines plasmatiques et celles du L.C.R.

Des expériences basées sur l'utilisation (par l'injection intraveineuse) d'albumine et d'Ig G radioactives montrent que l'albumine et les Ig G présents dans le L.C.R. proviennent du sang. Ce sont les mesures des concentrations des protéines marquées effectuées à plusieurs reprises dans le L.C.R. et le sang qui nous permettent de remarquer l'équilibre existant entre ces 2 fluides. Ainsi, l'équilibre est atteint

Own data obtained from 50 non-neurological adult patients* (age: 39 yrs \pm 12)
 (total protein content: 290 mg/l; reference limits: 140-550 mg/l)

Proteins	Mol. weight (daltons)	radius (nm)**	mean (upper reference limits)	Percentage of the total protein content	Serum/ CSF ratio	CSF/serum ratio.10 ³ (upper reference limits)	index (upper reference limits)
Albumin	69,000	3.58	160 mg/l (340)	55	246	4.1 (7.8)	1
Transferrin	90,000	3.67	21 mg/l (37)	7.2	158	6.31 (11.5)	1.54
IgG	156,000	5.34	20 mg/l (45)	7	490	1.99 (4.2)	0.48 (0.69)
IgA	162,000	5.68	1.82 mg/l (5.5)	0.6	1072	0.93 (2.34)	0.23 (0.42)
					758***	1.32***	0.29***
α_2 -macroglobulin	820,000	9.35	1.58 mg/l (5.2)	0.5	1660	0.60 (1.58)	0.14 (0.35)
IgM	1,000,000	12.1	0.13 mg/l (0.4)	0.045	10715	0.093(0.335)	0.024(0.079)

Tableau A: valeurs de référence de protéines du LCR.
 (C.J.M.Sindic;1985).

40 heures après l'injection d'albumine
et 60 heures après l'injection d'Ig G

II. 1.3. PERMEABILITE DE LA BHM

Le passage restreint des protéines plasmatiques à travers la BHM entraîne un contenu faible en protéines au niveau du L.C.R. De plus, la structure de la BHM exclut la présence dans le L.C.R. de protéines de haut P.M.

La concentration protéinique du L.C.R. lombaire est réduite au 250^e de celle du sérum mais est environ 2 x plus élevée que la concentration protéinique du L.C.R. ventriculaire.

Cette différence entre L.C.R. lombaire et ventriculaire est due au mouvement des protéines plasmatiques des vaisseaux irriguant les méninges et la couche sous-arachnoïde à travers la couche de cellules tapissant l'arachnoïde.

L'albumine est une protéine majeure dans le L.C.R. car elle représente 55% du contenu total en protéines. Un pourcentage similaire est observé dans le sang.

Les immunoglobulines, spécialement le Ig M et d'autres protéines de haut poids moléculaire telle l' α 2 macroglobuline, sont présentes dans le L.C.R. à des concentrations nettement moindres par rapport au sérum.

Les valeurs des diverses protéines trouvées dans le L.C.R. à l'état physiologique sont présentées dans le tableau A. Les L.C.R. ont été prélevés pour cette étude chez des patients qui ne présentaient pas de troubles neurologiques.

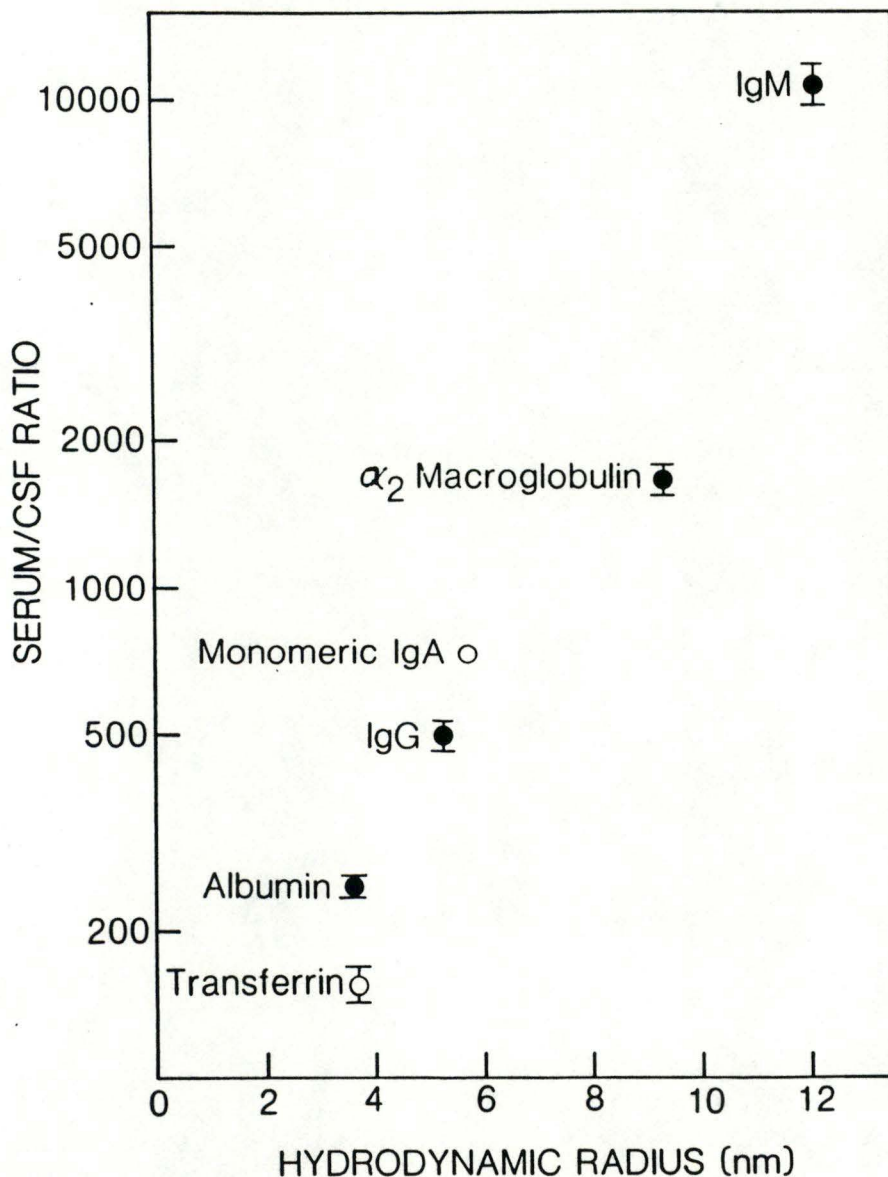
Les dosages des diverses protéines sont déterminés par néphélométrie laser.

En l'absence de synthèse locale de protéines ou de transport actif à travers la BHM, le passage des protéines du sang vers le L.C.R. est déterminé par la configuration stérique de ces protéines (processus de filtration à travers la BHM).

Les dosages d'Ig G, d'albumine, d' α_2 macroglobuline et d'Ig A ont été réalisés dans le L.C.R. et dans le sérum de 43 patients ne présentant aucun trouble neurologique.

Le graphique ci-joint, met en relation les rapports SERUM des diverses protéines et les rayons de ces protéines L.C.R.

en mode semi-logarithmique.



Nous constatons qu'une protéine est d'autant plus fréquente dans le L.C.R. que son rayon est faible. Ces protéines (Albumine, Ig G, α 2-macroglobuline et Ig M) traversent la BHM par le mécanisme de transport passif non sélectif.

Par contre, nous remarquons que la transferrine se trouve en quantité supérieure dans le L.C.R. par rapport à la valeur attendue si nous considérons le rapport de la transferrine dans le $\frac{\text{sérum}}{\text{L.C.R.}}$ et le rayon de la transferrine.

En fait, la transferrine est composée dans le L.C.R. d'une fraction filtrée et d'une fraction secrétée, d'origine encore inconnue. Cela a pu être avancé après l'utilisation de transferrine marquée.

La préalbumine se trouve en concentration élevée dans le L.C.R. (rapport $\frac{\text{SERUM}}{\text{L.C.R.}}$ bas) parce que cette protéine est synthétisée par les cellules (épithéliales) des plexus choroïdes et secrétée dans le L.C.R.

Cependant, Griffin et Giffels (1982) ont montré que l'entrée des protéines plasmatiques dans le L.C.R. n'est pas déterminé uniquement par la taille des protéines. La charge ionique des protéines est également déterminante. Plus une protéine est basique, plus le taux d'entrée de cette protéine dans le L.C.R. est élevé.

Toute altération chimique étant susceptible de dénaturer les protéines, l'introduction de charges ioniques dans la protéine pourrait la rendre plus compacte et donc plus diffusible. 2 protéines semblent échapper à la perméabilité de la BHM car leurs concentrations dans le L.C.R. sont plus élevées que dans le sérum. Ces protéines sont la Beta-trace protéine, transferrine spécifique du L.C.R. et la post- γ -globuline. Ces protéines seraient synthétisées à l'intérieur même du SNC.

II. 1.4. MECANISMES DE PERMEABILITE

Le degré de perméabilité de la BHM est assuré par un ensemble de mécanismes (cfr chapitre I. 1.2) :

- a) des vésicules pinocytaires ou pores de rayon de plus de 1.000 à 1500 Å situés dans l'endothélium capillaire. Ce mécanisme semble le plus important car il permet le passage d'albumine ainsi que la plupart des Ig G et presque tout le contenu en α 2-macroglobuline du L.C.R.
- b) des vésicules ou pores caractérisés par un rayon de 250 Å localisés dans l'endothélium capillaire également. Ce mécanisme transfère une faible quantité de protéines du sérum dans le L.C.R. En effet, de rares vésicules pinocytaires de rayon atteignant 200 à 350 Å ont été indiquées dans l'endothélium capillaire (Broadwell et Saleman, 1981). En raison de leur nombre restreint, les vésicules endothéliales permettent le transport d'une petite partie des protéines dans le L.C.R. en conditions normales.
- c) des pores et vésicules de rayon 120 Å situés au niveau de l'épithélium choroïdal.

Les protéines à faible rayon, en particulier l'albumine, pénètrent dans le L.C.R. par ce mécanisme.

La BHM est représentée par de multiples sites anatomiques que sont les tight junctions entre les cellules épithéliales choroïdes, entre les cellules endothéliales capillaires du SNC et entre les cellules arachnoïdes pour prévenir la pénétration de protéines dans le L.C.R.

Seules, les cellules épithéliales choroïdes et les cellules endothéliales semblent être perméables aux protéines sériques et aptes à maintenir un rapport en concentration $\frac{\text{L.C.R.}}{\text{sérum}}$ constant. Ce rapport est régulé par la loi de Fick et est en relation avec le rayon hydrodynamique des protéines.

Le rapport en concentration $\frac{\text{L.C.R.}}{\text{sérum}} \times 10^{-3}$ (Q) des protéines non synthétisées dans le SNC dépend de la vitesse du Flux entre les ventricules et les espaces sous-arachnoïdiens (F) et de la perméabilité de la BHM (P)

Q dépend de F et P suivant la formule :

$$Q = 1/(F/P + 1) 10^{-3} \text{ (Rapaport et Pettigrew; 1979)}$$

En supposant que le transport passif ou l'ultrafiltration à travers les pores aqueux et/ou le transport passif par transport vésiculaire (Rapaport et Pettigrew, 1979) soit dépendant de la BHM uniquement, la perméabilité de la BHM peut être calculée pour chaque protéines. Cette perméabilité est une fonction linéaire de la surface totale du pore ou de la sécrétion vésiculaire et une fonction non linéaire du pore ou du rayon de la vésicule dans chaque modèle, respectivement (Solomon 1968; Garlick et Renkin 1970; Carter et al 1974; Rapaport et Pettigrew 1979). Cependant, d'autres mécanismes entrent en jeu, ce qui amène des faux positifs et des faux négatifs; la relation des concentrations des protéines non synthétisées dans le SNC dans $\frac{\text{L.C.R.}}{\text{sérum}} \times 10^3$ (Q) peut ne pas être constant dans toutes les conditions de gradient.

Applications : 1) Si le flux de L.C.R. chute ou lors de conditions pathologiques affectant la BHM, Q peut augmenter.

Les propriétés de la BHM peuvent être évaluées par le calcul de la régression linéaire totale entre le $\log 1/Q 10^{-3}$ et le rapport protéique puisque tous deux démontrent différentes altérations de gradient.

2) La relation entre Q de protéines avec des rayons divers (albumine : rayon = 35.8 Å ; Ig G : rayon = 53.4 Å ; α 2-Macroglobuline : rayon = 93.5 Å) a été étudiée.

Cette étude indique un modèle hétérogène de la BHM pour toutes les protéines et un modèle homogène avec différents mécanismes pour une altération de gradient d'une protéine.

II. 1.5. ROLE DE LA BHM

Le rôle de la BHM est d'assurer un environnement constant aux neurones du SNC. Le fonctionnement des neurones est dépendant de la composition du L.C.R. qui les baigne. Les cellules endothéliales des capillaires cérébraux sont munies de tight junctions excluant la présence de pores, à l'exception de certaines régions restreintes du cerveau. L'absence de pores entraîne donc l'impossibilité pour les substances hydrosolubles de passer dans le SNC. Les substances qui sont nécessaires à la nutrition du tissu nerveux sont transférées de façon spécifique.

Les substances solubles peuvent être réparties en deux groupes :

- a) les substances liposolubles (exemple : CO_2 et O_2) peuvent traverser la paroi capillaire sur toute sa longueur.

La BHM ne joue pas son véritable rôle.

- b) les substances hydrosolubles ne peuvent traverser la paroi des capillaires uniquement aux endroits de la paroi où sont localisés des pores.

Ces substances regroupent

- * les nutriments (acides aminés, glucose, ...)
transportés spécifiquement du sang vers le SNC
- * les déchets
transportés spécifiquement du SNC vers le sang.

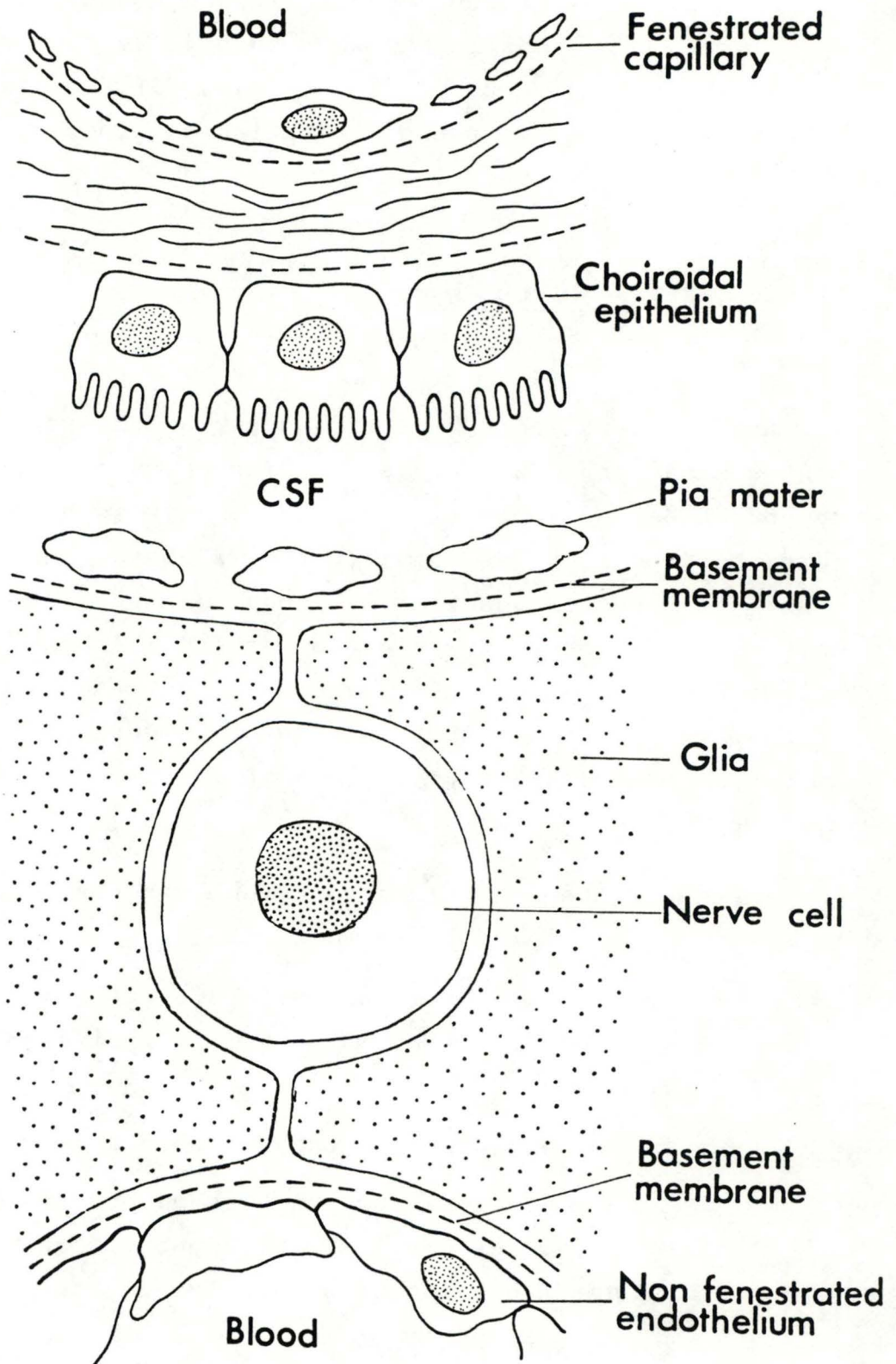
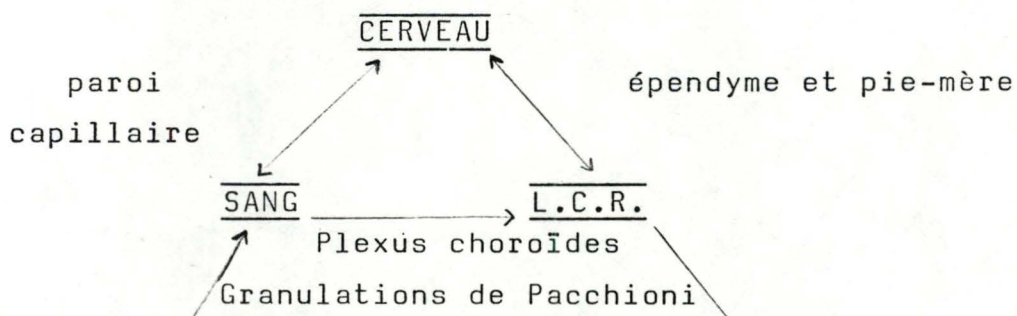


Diagram to illustrate site of the blood brain barrier. The barrier between the blood in the cerebral capillary (below) and the nerve cell lies in the non-fenestrated capillary endothelium. The barrier between the blood in the choroidal capillary (above) and the nerve cell lies in the inner surface of the choroidal epithelium. Reproduced with permission of Dunn, J.S. and Wyburn, G.M. (1972): The anatomy of the blood brain barrier: A review. *Scot. Med. J.* 17:21-36. (selon Deshmukh et Meyer; 1978)

La BHM est un système de défense pour les neurones en plus des mécanismes homéostatiques assurant la composition du liquide baignant le SNC.

II. 1.6. MULTICITE DES BARRIERES AU NIVEAU DU SNC



Dans le SNC, circulent le sang et le L.C.R. Ces 2 liquides sont séparés du cerveau par des cellules constituant ainsi une "barrière". Il existe, également, entre le sang et le L.C.R. des structures particulières permettant le passage de substances du sang vers le L.C.R. et vice-versa.

- La paroi capillaire s'oppose au transit de molécules trop grosses ou étrangères du sang vers le cerveau.
 - l'épendyme et la pie-mère s'interposent entre le L.C.R. et le cerveau.
 - Les plexus choroïdes permettent la sécrétion de L.C.R. à partir de la circulation sanguine.
- Les granulations et villosités de Paccioni résorbent le L.C.R. Ce liquide est envoyé dans la circulation sanguine par l'intermédiaire des sinus veineux.

Barrière hémato-encéphalique

La paroi capillaire localisée dans le SNC joue le rôle de barrière entre le sang et le cerveau grâce

aux jonctions intercellulaires de type zonula occludens et au nombre limité de vésicules de pinocytose.

Barrière L.C.R. - cerveau

Le L.C.R. est contenu dans les ventricules et dans l'espace sous-arachnoïdien entourant l'axe cérébrospinal.

- Les ventricules sont entourés de l'épithélium épendymaire. Les jonctions intercellulaires n'empêchent pas les échanges : elles sont de type zonula adhaerens et ne font jamais le tour de la cellule; elles assurent la cohésion des cellules épendymaires.
- Les méninges et la barrière pio-gliale.

La couche de cellules de la pie-mère est discontinue; le L.C.R. entre directement en contact avec le parenchyme nerveux. On ne peut pas parler de "barrière pio-gliale" puisque celle-ci est très perméable.

Les échanges entre le L.C.R. et le cerveau peuvent donc se faire plus ou moins librement.

Barrière Sang - L.C.R.

Les plexus choroïdes constituent la barrière dans le sens sang-L.C.R. En effet, cette barrière est le siège d'une sécrétion et non d'une filtration (cfr chapitre I.1.3).

Les granulations de Paccioni et villosités arachnoïdiennes dans le sens L.C.R.-sang, n'entravent que très peu le passage de L.C.R. des espaces sous-arachnoïdiens vers le sang des sinus veineux.

Il ne s'agit pas d'une barrière véritable.

II. 2. LA BHM LORS DE CONDITIONS PATHOLOGIQUES

La BHM peut être endommagée dans certaines maladies et permettre dans ces cas, le passage plus large des protéines plasmatiques dans le L.C.R. La concentration protéinique totale augmente donc dans le L.C.R.

Plusieurs mécanismes sont impliqués dans l'élévation de la perméabilité hémoméningée:

- ouverture des tight junctions (lors d'hypertension chronique, dans les encéphalites aiguës expérimentales, après injection de solutions hypertoniques et dans les intoxications au plomb).
- transport par vésicules de pinocytose (dans hypertension aiguë expérimentale et les lésions post-traumatiques et induites par ischémie).
- transport par canaux trans-endothéliaux, parfois reliés structurellement au système lysosomal.
- passage à travers les capillaires fenestrés dans les tumeurs primaires ou métastatiques.

La perméabilité de la BHM est évaluée par le rapport albumine $\frac{\text{sérum}}{\text{L.C.R.}}$ ou albumine $\frac{\text{L.C.R.}}{\text{sérum}}$.

L'albumine est considérée comme la protéine de référence parce qu'elle est synthétisée uniquement par les hépatocytes; la concentration de l'albumine dans le sérum est relativement constante; l'albumine n'est pas catabolisée par le SNC.

Pour évaluer la perméabilité de la BHM, le dosage de l'albumine dans le L.C.R. et le sérum est réalisé. Le rapport Albumine $\frac{\text{sérum}}{\text{L.C.R.}}$ est ensuite calculé. Si ce rapport est faible, inférieur à une norme déterminée par chaque laboratoire, c'est-à-dire si l'albumine est en concentration élevée dans le L.C.R., nous sommes en présence d'une BHM endommagée.

Deux types d'atteinte à la perméabilité de la BHM peuvent se produire :

- 1) l'atteinte laisse intact le processus de filtration de la BHM (dépendant de la taille des protéines): il y a une augmentation proportionnelle des diverses protéines dans le L.C.R.
- 2) La BHM perd son rôle de "filtre" et laisse passer les protéines de manière non proportionnelle. Ainsi, le passage des protéines de haut poids moléculaire est favorisé en raison du gradient élevé de ces protéines du sang vers le L.C.R.

II. 3. LA BHM ET L'IMMUNITE DU SNC

L'existence de BHM a plusieurs conséquences importantes sur l'immunité du SNC. Le cerveau contient très peu d'anticorps à l'état physiologique : les immunoglobulines y sont présentes à une concentration très faible par rapport au sérum (cfr tableau).

La BHM est une barrière pour les lymphocytes, qui sont essentiellement les cellules T. Il n'y a pas de preuve que les lymphocytes pénètrent régulièrement à l'intérieur du parenchyme cérébral dans les conditions normales.

La BHM protège aussi le cerveau des antigènes originaires du sang. En l'absence des cellules immunocompétentes et de stimulation antigénique, il n'y a pas de production d'anticorps dans ce cerveau "normal".

Les anticorps, dans le but de jouer leur rôle protecteur ou pathologique dans les maladies neurologiques, doivent accéder au cerveau par un nombre limité de voies :

- A travers les espaces laissés par la BHM incomplète; par exemple au niveau de la partie postérieure du 4e ventricule.
- A travers la BHM immature, durant la vie foetale et néonatale.
- A travers la BHM dont la perméabilité est accrue à la suite d'une inflammation ou d'une atteinte toxique.
- via une synthèse locale d'immunoglobulines.

Dans certaines maladies neurologiques, le SNC acquiert les caractéristiques d'un organe immunologique; des anticorps peuvent être produits à l'intérieur du SNC.

CHAPITRE III. LES REACTIONS IMMUNITAIRES

III. 1. NOTIONS PRELIMINAIRES

III. 1.1. L'ALBUMINE

Elle est considérée comme le meilleur "marqueur" des échanges hémato-méningés. C'est sur base du dosage de l'albumine qu'est déterminé le type de L.C.R. et qu'il sera possible de préciser l'origine des Immunoglobulines présentes dans le L.C.R.

Toute élévation de l'albumine indique une transsudation plasmatique (l'albumine est le témoin des échanges Sang-L.C.R.).

On distingue divers mécanismes induisant la transsudation :

- les compressions mécaniques
- les lésions expansives (malignes ou bénignes)
- les accidents vasculaires
- un grand nombre d'agressions infectieuses.

III. 1. 2. LA ZONE GAMMA DES PROFILS ELECTROPHORETIQUES DE L.C.R. SUR ACETATE DE CELLULOSE

La zone gamma est d'une très grande importance pour l'élaboration des diagnostics.

Il est intéressant d'analyser cette zone à 2 niveaux :

1.- Niveau quantitatif.

Puisque il existe une corrélation entre la valeur absolue obtenue après électrophorèse et la valeur tirée du dosage des IgG (cette corrélation est de 0,8 et donc considérée comme très satisfaisante pour le diagnostic clinique) il est possible de présumer l'existence d'une réaction immunitaire à partir du pourcentage des Gamma-globulines.

Leur pourcentage renseigne sur l'importance relative d'une réaction inflammatoire (si on ne tenait compte que de la valeur absolue des IgG, on risquerait de passer à côté de certains transsudats (les transsudats non inflammatoires) caractérisés par une augmentation de la teneur en IgG alors que le pourcentage des IgG resterait identique.

2.- Niveau qualitatif.

La fraction gamma peut se présenter sous 3 aspects :

Aspect polyclonal : - aspect des L.C.R. normaux
- aspect caractéristique des réactions immunitaires d'origine plasmatique (par exemple, les transsudats inflammatoires)

Aspect monoclonal : caractéristique des myélomes.
La protéine monoclonale semble être synthétisée très fréquemment à l'intérieur du SNC par des plasmocytes anormaux; elle ne résulterait donc pas d'un transsudat d'origine plasmatique.

Aspect oligoclonal : 2 à 5 bandes peuvent apparaître.
Les bandes sont d'une très grande valeur physiopathologique et diagnostique.

Dans certaines circonstances pathologiques, une synthèse locale (synthèse intrathécale) a pu être démontrée par Tourtellotte aux U.S.A. et Link en Suède. Des lymphocytes et des plasmocytes ont donc franchi la barrière hémato-méningée (en effet, ces cellules ne sont présentes dans le L.C.R. et/ou le tissu nerveux; elles s'y retrouvent lorsqu'il y a eu infiltration lymphoplasmocytaire). Ces cellules ont secrété à l'intérieur du système nerveux des immunoglobulines G, A ou M (sans doute au contact d'antigènes spécifiques).

CAS DE SCLEROSE EN PLAQUES :

- la quantité élevée d'IgG dans le L.C.R. par rapport au sérum
- les résultats d'étude de traceur isotopique dans le L.C.R. et le sérum
- l'existence de bandes oligoclonales d'IgG dans le L.C.R. qui ne sont pas détectées dans le sérum

sont des preuves que la composition majeure des IgG du L.C.R. de ces sujets provient du tissu lymphoïde se trouvant dans le SNC et à l'intérieur de la BHM.

Puisque dans la très grande majorité des cas, la zone gamma exprime une synthèse locale d'IgG, elle prend une valeur physiopathologique particulièrement intéressante.

La zone gamma a, également, une valeur diagnostique dans le sens où quatre maladies sont caractérisées par l'aspect oligoclonal de cette bande : la syphilis, la panencéphalite subaiguë sclérosante (leuco-encéphalite), la sclérose en plaques et toutes les méningo-encéphalites bactériennes, parasitaires et mycosiques ou évoluant vers la chronicité. Quant à la sclérose en plaques, l'existence d'un pourcentage élevé d'IgG dans le L.C.R. est d'une grande valeur diagnostique alors que la protéinorachie est normale ou quasiment normale.

D'autre part, on a pu démontrer que dans les trois autres types de maladies, un agent infectieux, bactérien, viral ou parasitaire en induisait la persistance.

Ces trois derniers types de maladies peuvent être explorés par le contexte particulier ou par certaines analyses de telle sorte que chez un patient jeune et en région tempérée, l'aspect oligoclonal de la fraction gamma révèle presque toujours l'existence d'une sclérose en plaques.

III. 2. LES PROFILS IMMUNITAIRES

Suivant la valeur absolue de l'albumine, et le pourcentage des gamma-globulines dans le L.C.R., on pourra discerner 5 profils immunitaires distincts, en disposant également du dosage des protéines totales, de la valeur des IgG. du sérum et pour certains, de l'albuminémie (en général, le taux d'albumine varie peu; les variations sont donc légères et interviennent peu dans les calculs mis au point dans la détermination du profil).

Concentration de l'albumine dans le LCR	élevée	transsudat non inflammatoire	transsudat inflammatoire	Méningite
	normale	NORMAL	inflammatoire	
		normal	élevé	

Pourcentage des IgG dans le LCR

Dans ce tableau, l'albumine représente le témoin des mécanismes d'échanges entre le sang et le L.C.R. Dans l'état actuel des connaissances, l'albumine n'est pas synthétisée localement.

De plus, l'albumine est une molécule petite (rayon de 3,58 nm) qui diffuse facilement du sang vers le L.C.R. et qui se trouve en quantité relativement importante dans le sang et dans le L.C.R. (donc facilement visualisable après électrophorèse). D'où toute élévation du taux d'albumine dans le L.C.R. est à considérer comme le résultat d'une modification de la barrière hémato-méningée qui entraîne le phénomène de transsudation du sang vers le L.C.R.

Les IgG sont des Immunoglobulines qui interviennent dans la majorité des réactions neuro-immunologiques. Ce sont elles qui déterminent l'importance de la réaction inflammatoire. Dans les L.C.R. "normaux", elles représentent 5 à 10% des protéines des L.C.R. Elles diffusent facilement du sang dans le L.C.R. à partir du moment où la barrière sang-L.C.R. est altérée, même de façon minime. Lorsque l'on assiste à une élévation du taux d'IgG, il est très important de préciser l'origine de cette augmentation. Cette origine est capitale pour arriver à fournir un diagnostic valable.

- * Il peut s'agir d'une modification de la perméabilité de la barrière hémato-méningée : il y a transsudation des protéines du sang vers le L.C.R. mais cette transsudation ne s'accompagne d'aucune réaction immunitaire (ni locale, ni générale).
- * Dans certaines circonstances pathologiques, on assiste à une sécrétion locale d'IgG.
- * Dans d'autres cas, il y a non seulement une modification de la barrière hémato-méningée entraînant une transsudation mais il y a aussi une synthèse locale d'IgG.

III. 2.1. PROFIL "NORMAL"

Il s'agit de L.C.R. où le pourcentage d'albumine est normal; la barrière hémato-méningée est donc intègre.

Le pourcentage d'IgG est "normal" également, ce qui signifie qu'il n'y a pas de réaction immunitaire. Cependant, dans certains cas (peu nombreux), on observe des modifications de l'aspect qualitatif des IgG alors que le pourcentage d'IgG est resté inchangé. La fraction gamma peut ainsi passer de l'aspect polyclonal à l'aspect oligoclonal qui représente une synthèse locale pathologique ayant lieu au détriment des IgG normales.

Dans le profil "normal", cette altération est d'une valeur diagnostique importante (on peut ainsi détecter certaines maladies comme la SEP après s'être assuré qu'il ne s'agissait pas de syphilis, de leucoencéphalite aiguë sclérosante ou de méningoencéphalite chronique).

III. 2.2. PROFIL INFLAMMATOIRE

Les L.C.R. contiennent de l'albumine en concentration normale selon les dosages quantitatifs; parfois, celle-ci est légèrement diminuée.

Quant au taux d'IgG, évalué par électrophorèse sur acétate de cellulose, il est augmenté : il y a synthèse locale d'IgG à partir de cellules immunologiques présentes dans le L.C.R. ou uniquement dans le tissu nerveux.

(on considère qu'il y a pléiocytose lymphocytaire lorsque le nombre de lymphocytes est supérieur ou égal à 5 par millimètre cube).

Plus de la moitié des L.C.R. de sujets atteints de SEP ne présente pas de réaction lymphocytaire alors que les IgG ont un pourcentage anormal.

La synthèse intrathécale s'accompagne assez souvent mais pas toujours de l'aspect oligoclonal.

III. 2.3. TRANSSUDAT NON INFLAMMATOIRE

Le profil résulte du passage des protéines du sérum dans le L.C.R. normal. Il s'agit d'un sérum normal, avec un taux normal d'IgG (environ 15%). Il se produit donc une augmentation des protéines totales, de l'albumine et des IgG. Tout transsudat se réalisant à partir d'un sérum normal ne va donc pas modifier de beaucoup le pourcentage des IgG. Un L.C.R. transsudatif voit donc sa composition se rapprocher de plus en plus de celle du sérum par l'enrichissement progressif en protéines (accidents vasculaires cérébraux, compressions mécaniques et la plupart des tumeurs cérébrales).

III. 2.4. TRANSSUDAT INFLAMMATOIRE - MENINGITE

Dans le transsudat inflammatoire, on assiste à une augmentation des taux d'albumine et d'IgG. En fait, l'élévation du pourcentage des IgG est strictement proportionnelle à celle de l'albumine du L.C.R.; en connaissant le taux d'IgG dans le sérum, on peut évaluer le transfert des IgG du sérum dans le L.C.R.

Il n'y a aucune synthèse intrathécale d'IgG. L'augmentation des IgG dans le L.C.R. sera plus ou moins élevée selon le taux des IgG plasmatiques - il ne s'agit que du transfert passif dans le L.C.R. des IgG provenant d'une réaction immunitaire générale.

Dans le cas de méningite, il y a non seulement transsudation mais aussi synthèse locale. Le transsudat calculé à partir de l'élévation de l'albumine du L.C.R. n'est pas un élément suffisant pour expliquer la quantité d'IgG dosée dans le L.C.R.

Il y a donc - un processus local avec synthèse intrathécale
 - un processus général : il se passe une augmentation des IgG plasmatiques.

Pour distinguer le simple transsudat des IgG du sérum dans le L.C.R. du transsudat associé à une réaction immunitaire locale, il convient de :

1°) Evaluer l'importance du transsudat

Comme agent de transsudation "marqueur", on utilise l'albumine. 240 mg/l est le taux normal supérieur. Au-delà de ce taux, on admet qu'il y a transsudation.

$$\% \text{ de transsudation} = \frac{\text{Albumine de L.C.R.} - 240}{\text{Albumine de sérum}} \times 100$$

° Quand le L.C.R. est normal, il n'y a pas de transsudation : le pourcentage est donc nul.

2°) Calculer la quantité d'IgG qui a transsudé, en fonction du pourcentage de transsudation et connaissant le taux des IgG sériques.

Plus le taux des IgG sériques est élevé, plus le passage d'IgG est important.

3°) Ajouter à cet apport plasmatique les IgG apportées par la filtration normale déterminée par la physiologie. Cet apport d'IgG est un chiffre arbitraire de 40 mg/l.

4°) Comparer les taux d'IgG calculés au chiffre d'IgG dosées dans le L.C.R.

- si le chiffre d'IgG dosés est supérieur à celui de l'apport plasmatique (somme des taux physiologique et transsudé), la différence entre les 2 chiffres est sans doute due à une synthèse locale d'IgG.

- si le chiffre des IgG dosés dans le L.C.R. équivaut ou même est inférieur à l'addition du transsudat et des IgG physiologiques, il s'agit uniquement d'un transsudat des IgG plasmatiques du fait que la réaction immunitaire générale est transférée dans le milieu intérieur du système nerveux, c'est-à-dire le L.C.R.

Dans ces cas, la synthèse locale d'IgG est estimée de façon approximative car les IgG ne franchissent pas la barrière hémato-méningée aussi facilement que l'albumine.

Le profil transsudatif avec pourcentage d'IgG augmenté pourra être établi pour un grand nombre d'infections méningées mais aussi pour un petit nombre de SEP où les transsudats sont modérés.

Tout cela implique que, pour pouvoir interpréter un L.C.R. on doit disposer du sérum du même patient. En effet, le L.C.R. et le sérum permettent de préciser la nature des transsudats. Si le taux d'IgG augmente dans le sérum, cette élévation aura un impact important sur les IgG du L.C.R. même si le transsudat est faible.

Le sérum est donc indispensable pour que le L.C.R. soit un élément de diagnostic (dans le cas de transsudats, pas pour les L.C.R. normaux ou inflammatoires).

Pour pouvoir évaluer l'importance de l'élévation des IgG dans le L.C.R. par rapport aux autres protéines et déterminer le mécanisme responsable de cette augmentation, nous nous basons sur l'index IgG, les formules de Tourtellotte, de Schüller ainsi que la méthode graphique.

III. 3. SYNTHÈSE LOCALE D ' IgG

Cette synthèse locale d'IgG peut être estimée de différentes manières :

III. 3.1. L'INDEX IgG

Link et Tibbling (1977) ont montré que l'index IgG

$\frac{\frac{\text{IgG LCR}}{\text{IgG S\u00e9rum}}}{\frac{\text{Albumine LCR}}{\text{Albumine S\u00e9rum}}}$ \u00e9tait un meilleur indicateur d'une synth\u00e8se

locale d'IgG que le rapport $\frac{\text{IgG}}{\text{prot\u00e9ines totales}}$ ou

$\frac{\text{IgG}}{\text{Albumine}}$. L'index IgG est int\u00e9ressant parce que, dans les cas o\u00f9 la BHM est int\u00e8gre, il rend compte d'une synth\u00e8se locale d'IgG.

III. 3.2. FORMULE DE TOURTELLOTTE

Tourtellotte a \u00e9tabli une formule permettant d'\u00e9valuer la quantit\u00e9 d'IgG synth\u00e9tis\u00e9e par jour dans certaines pathologies telle la SEP. Cette formule est bas\u00e9e sur l'albumine, marqueur quantitatif de la perm\u00e9abilit\u00e9 de la BHM, sur le passage des IgG et l'albumine \u00e0 travers la BHM endommag\u00e9e.

La synth\u00e8se locale (\u00e0 l'int\u00e9rieur de la BHM) d'IgG (mg/jour) =

$$\left[\left(\text{IgG LCR} - \frac{\text{IgG s\u00e9rum}}{369} \right) - \left(\text{Albumine LCR} - \frac{\text{Alb s\u00e9rum}}{230} \frac{\text{IgG s\u00e9rum}}{\text{Alb s\u00e9rum}} 0,43 \right) \right] \times 5$$

$\left. \begin{array}{l} \text{IgG LCR} \\ \text{IgG s\u00e9rum} \\ \text{Alb LCR} \\ \text{Alb s\u00e9rum} \end{array} \right\}$ sont les concentrations d'IgG et d'albumine trou-
v\u00e9es chez les patients, exprim\u00e9es en mg/100 ml.

369 est une constante repr\u00e9sentant le rapport moyen $\frac{\text{IgG SERUM}}{\text{IgG LCR}}$

calcul\u00e9 chez des individus normaux. Le rapport $\frac{\text{s\u00e9rum IgG}}{369}$ est

donc la concentration attendue en IgG dans le LCR en absence d'une production locale ou d'une BHM endommag\u00e9e.

N.B. La valeur du rapport moyen $\frac{\text{IgG s\u00e9rum}}{\text{IgG LCR}}$ que nous avons uti-

lis\u00e9 au laboratoire pour d\u00e9tecter toute synth\u00e8se intrath\u00e9cale est de 733.

- 230 est un nombre représentant le rapport moyen de $1 \frac{\text{albumine s\u00e9rum}}{\text{albumine LCR}}$ chez les individus normaux.
- Albumine LCR - $\frac{\text{Albumine s\u00e9rique}}{230}$ représente la quantit\u00e9 d'albumine excessive dans le LCR qui a pass\u00e9 le BHM atteinte. Cette diff\u00e9rence est multipli\u00e9e par $\frac{\text{IgG s\u00e9riques}}{\text{Albumine S\u00e9rique}} \times 0,43$ pour convertir l'albumine du LCR en exc\u00e8s en IgG excessifs pr\u00e9sents dans le LCR, \u00e9tant pass\u00e9s \u00e0 travers la BHM. 0,43 est une constante exprimant le rapport des poids mol\u00e9culaires de l'albumine sur les IgG.
- Le r\u00e9sultat final est multipli\u00e9 par 5 pour ramener la synth\u00e8se d'IgG calcul\u00e9e (en mg/100 ml) \u00e0 la quantit\u00e9 d'IgG produite par jour : 500 ml c'est-\u00e0-dire 5 fois plus.

III. 3.3. FORMULE DE SCHULLER

Plus r\u00e9cemment, Sch\u00fcller et Sagar (1981-1983) ont propos\u00e9 une formule empirique bas\u00e9e sur

- ° la concentration en albumine dans le LCR
- ° les concentrations d'IgG dans le s\u00e9rum et le LCR.

Synth\u00e8se locale des IgG (mg/l) =

$$\text{IgG LCR (mg/l)} - (30 + \left[\frac{\text{albumine LCR (mg/l)} - 240}{60} \right] \left[\text{IgG S\u00e9riques (g/l)} \right])$$

- 30 est la concentration moyenne normale des IgG du LCR exprim\u00e9e en mg/l.
- 240 est la concentration moyenne normale de l'albumine pr\u00e9sente dans le LCR, exprim\u00e9e en mg/l.
- 60 est une constante représentant la transsudation de l'albumine \u00e0 raison de 0,1% des IgG s\u00e9riques.

III. 3.4. METHODE GRAPHIQUE (cfr chapitre III. 6)

III. 4. SYNTHESE LOCALE D'IgM

En raison de leur large taille moléculaire, les IgM diffusent très lentement du sang vers le LCR. Toute augmentation de la concentration des IgM dans le LCR reflète soit une perméabilité accrue de la BHM, soit une production locale de ces immunoglobulines. Pour évaluer la production locale, nous calculons l'index IgM (Sindic et al., 1982). Les IgM étant normalement les premiers anticorps à être produits dans les réactions immunitaires, leur détermination peut être utile non seulement dans l'élaboration du diagnostic mais aussi pour suivre l'évolution de la réponse immunitaire.

Un groupe de patients présentant des troubles neurologiques divers a été sélectionné : ce sont des sujets atteints de maladies dégénératives du SNC, de sciaticques, de myélopathie ou d'apoplexies. Dans ce groupe, toute élévation des IgM du LCR peut être attribuée à une transsudation plutôt qu'à une synthèse locale.

La relation entre les rapports $\frac{\text{IgM LCR}}{\text{IgM S\acute{e}rum}}$ et $\frac{\text{Albumine LCR}}{\text{Albumine S\acute{e}rum}}$ est significative. Cela indique que dans ce groupe, les IgM présents dans le LCR sont originaires du s\acute{e}rum.

Un autre groupe \acute{e}tait constitu\acute{e} de sujets atteints de SEP. Ces personnes ne pr\acute{e}sentaient aucune relation entre les rapports $\frac{\text{IgM LCR}}{\text{IgM S\acute{e}riques}}$ et $\frac{\text{Albumine LCR}}{\text{Albumine S\acute{e}rum}}$. Une fraction des

IgM du LCR est donc produite localement.

Un index IgM \acute{e}lev\acute{e} a \acute{e}t\acute{e} \acute{e}galement d\acute{e}tect\acute{e} chez des patients atteints du syndrome de Guillain-Barr\acute{e}, d'infections vari\acute{e}es et chez tous les sujets caract\acute{e}ris\acute{e}s par une m\acute{e}ningo-radculite lymphocytaire (Fig.8).

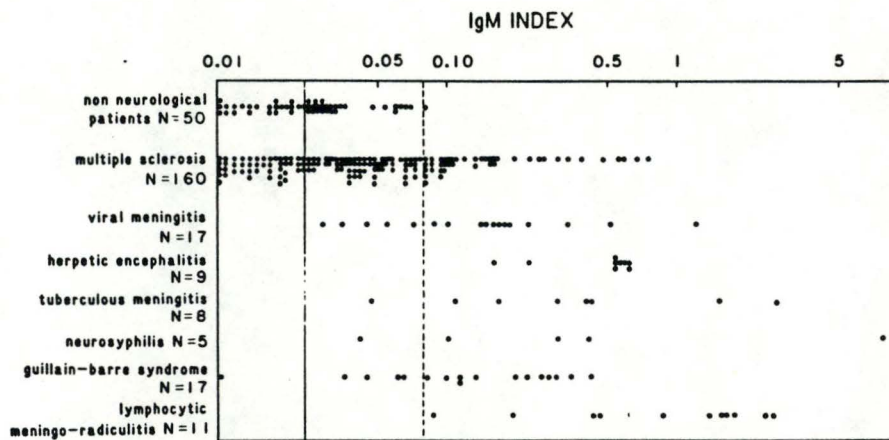


Figure 8: l'index IgM dans diverses maladies neurologiques.

(C.J.M.Sindic; 1985).

III. 5. SYNTHESE LOCALE D'IgA

Pour évaluer une production locale en IgA, l'index IgA peut être calculé.

$$\text{L'index IgA} = \frac{\text{IgA LCR}}{\frac{\text{IgA SERUM}}{\text{Albumine LCR} / \text{Albumine serum}}}$$

Les patients n'ayant aucun trouble neurologique sont caractérisés par une corrélation significative entre les concentrations d'IgA dans le sérum et dans le LCR.

L'index IgA a été calculé chez des patients souffrant de divers troubles neurologiques (Fig.9).

Un index IgA élevé a été observé chez de nombreux patients affectés par diverses infections du SNC, le syndrome de Guillain-Barré et la méningo-radiculite lymphocytaire. Seulement 14% de patients atteints de SEP présentent un index IgA dépassant la limite supérieure de référence. Cependant, nous observons une tendance vers les valeurs élevées d'index IgA à l'intérieur même de l'intervalle de référence.

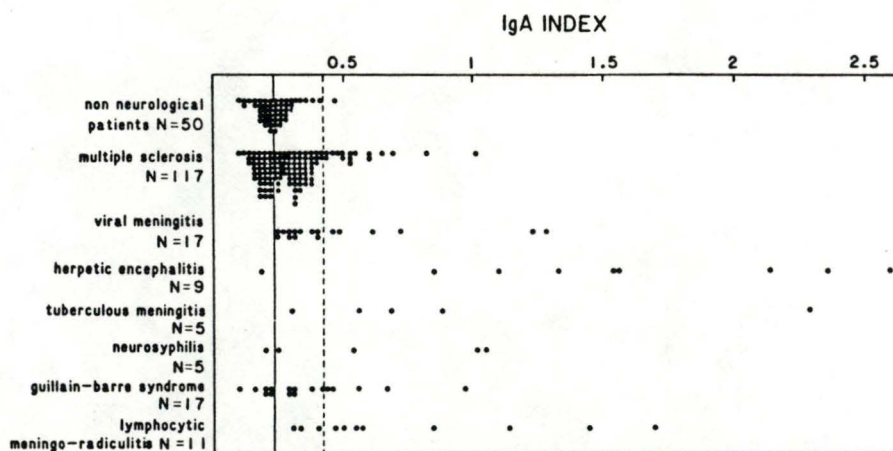


Figure 9: l'index IgA dans diverses maladies neurologiques.
(C.J.M.Sindic;1985).

Les IgA existent sous 2 formes moléculaires différentes : les formes monomérique et dimérique. Dans le sérum et le LCR, la forme la plus fréquente à l'état physiologique est la forme moléculaire monomérique. La BHM exclut du LCR les protéines de haut poids moléculaire. Dans les cas où la perméabilité de la BHM est accrue, la proportion de forme IgA dimérique n'est pas significativement plus élevée; cela indique que le passage des protéines reste dépendant de la taille de ces protéines.

Par contre, la forme IgA dimérique est beaucoup plus fréquente dans les pathologies accompagnées d'une synthèse locale (index IgA élevé).

Par index IgA, nous entendons index IgA total, c'est-à-dire l'index où les formes monomérique et dimérique sont prises en considération.

L'index IgA sous-estime la synthèse locale d'IgA dans certains cas : l'index IgA peut se situer dans l'intervalle de référence alors que l'index de la forme dimérique IgA est très élevé.

En conclusion, la production locale d'IgA, suggérée par un index IgA élevé, est associée à une élévation des IgA dimériques du LCR et, par conséquent, de l'index IgA dimérique.

III. 6. METHODE GRAPHIQUE

Evaluations de la synthèse locale d'immunoglobulines (à l'intérieur du SNC) et de l'intégrité de la BHM.

La production d'Ig à l'intérieur du SNC est estimée au laboratoire grâce à un ensemble de 3 graphiques. Ces graphiques expriment le rapport

$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ en fonction du rapport des $\frac{\text{immunoglobulines sang}}{\text{immunoglobulines LCR}}$

(IgG, IgM ou IgA).

Puisque l'albumine représente le témoin des échanges hémato-méningés, toute concentration en albumine dépassant la limite supérieure de l'intervalle de référence pour l'albumine signifie que la BHM est altérée.

A la valeur 160 pour le rapport $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ une droite est donc tracée parallèlement à l'axe des abscisses.

En présence d'un rapport $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ faible, c'est-à-dire inférieur à 160 dans notre cas, nous remarquons que la BHM est endommagée puisque la concentration d'albumine dans le LCR est élevée par rapport à celle du sang.

La droite oblique est une droite de régression tracée de telle sorte que les points expérimentaux soient situés le plus près possible de cette droite.

Les points expérimentaux du graphique représentent le rapport

$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ en fonction du rapport $\frac{\text{Ig sang}}{\text{Ig LCR}}$ observés chez

65 patients considérés comme contrôles suivant leur LCR.

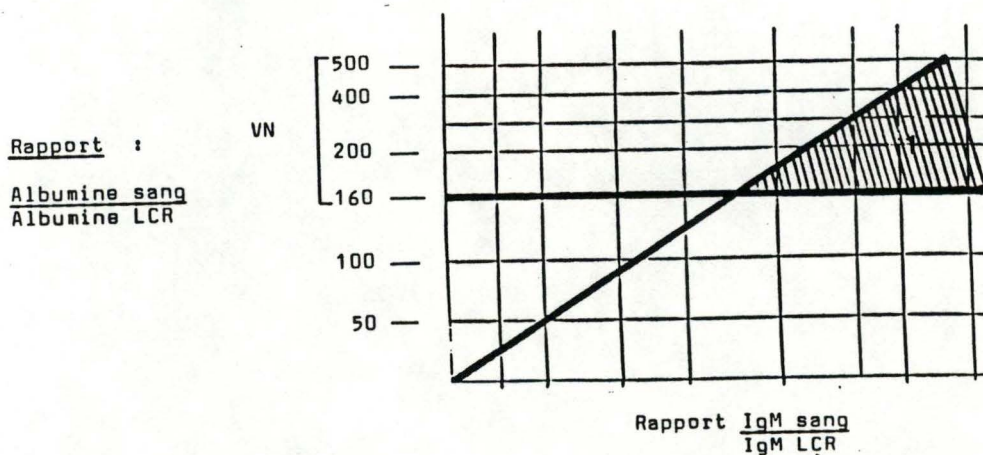
Ces LCR sont caractérisés par l'absence de globules rouges, leur protéinorachie normale, leur glycorachie normale et leur tracé électrophorétique normal sur acétate de cellulose.

Les dosages d'IgG, IgA, IgM et albumine ont été effectués sur tous les LCR par néphélogéométrie Laser (B.L.N. Behring).

L'échelle de l'axe des abscisses varie suivant que l'on estime la synthèse intrathécale des IgG, IgM ou IgA. Cette échelle varie d'une manière telle que nous puissions établir une relation linéaire entre le rapport

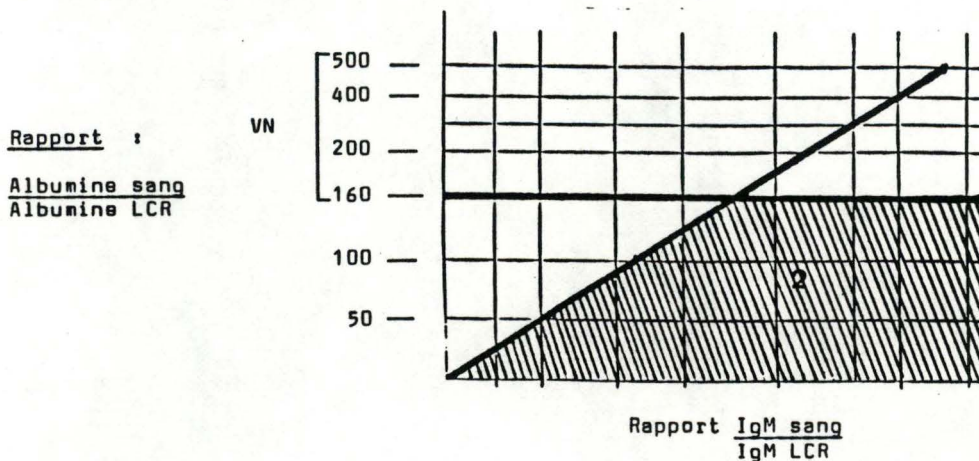
$$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}} \text{ et le rapport } \frac{\text{Ig sang}}{\text{Ig LCR}} .$$

Suivant le graphique, 4 situations peuvent être discernées: le rapport $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ en fonction du rapport $\frac{\text{Ig sang}}{\text{Ig LCR}}$ se situe: 1) dans la zone 1.



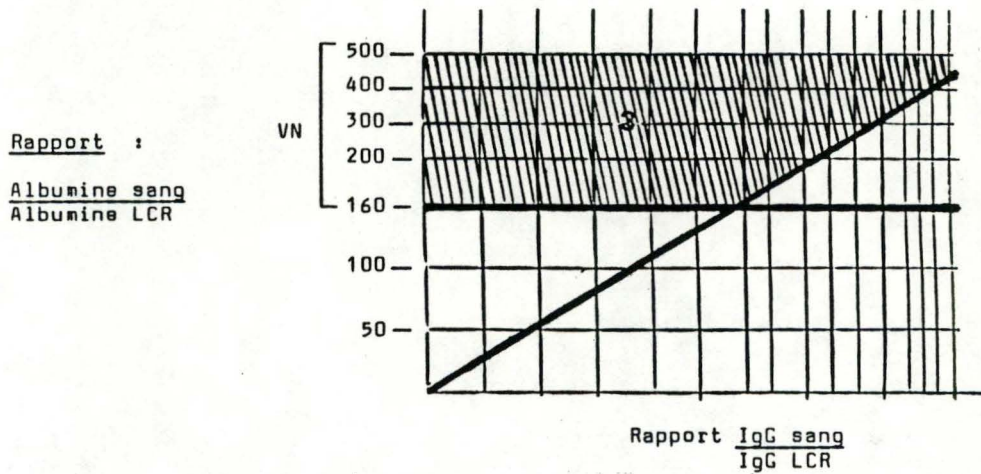
Cette zone est un indice significatif de l'intégrité de la BHM et de l'absence d'une synthèse intrathécale.

3) dans la zone 2.



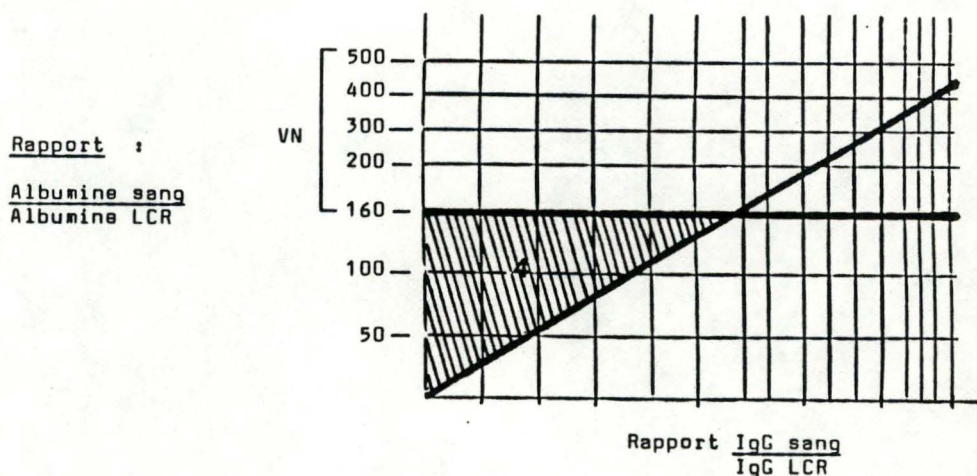
La zone 2 indique que la BHM est altérée et qu'il n'y a pas de synthèse locale d'immunoglobulines à l'intérieur du SNC.

3) dans la zone 3.



Cette zone nous renseigne une synthèse intrathécale d'immunoglobulines. La BHM est intègre.

4) dans la zone 4.



La zone 4 indique non seulement une altération de la BHM mais aussi une synthèse intrathécale d'immunoglobulines.

III. 7. LES IMMUNS COMPLEXES SOLUBLES DU LCR

Les immuns complexes résultent de l'association d'anticorps avec les antigènes spécifiques. Ces complexes immuns se forment au cours de nombreuses maladies infectieuses. Ils participent à l'activation du complément. La trop petite taille des complexes Ag Ac formés ne permet pas leur récupération par le système réticulo histiocytaire et donc restent solubles. Ces complexes immuns sont présents dans le LCR de patients atteints de troubles neurologiques et particulièrement en concentration élevée chez les sujets souffrant de SEP (Fig. 10).

Les concentrations des immuns complexes dans le LCR dépassent la valeur supérieure de l'intervalle de référence presque exclusivement dans l'encéphalite herpétique et la méningite pyogénique. Ces concentrations élevées dans les LCR sont indépendantes des concentrations des immuns complexes dans les sérum correspondants.

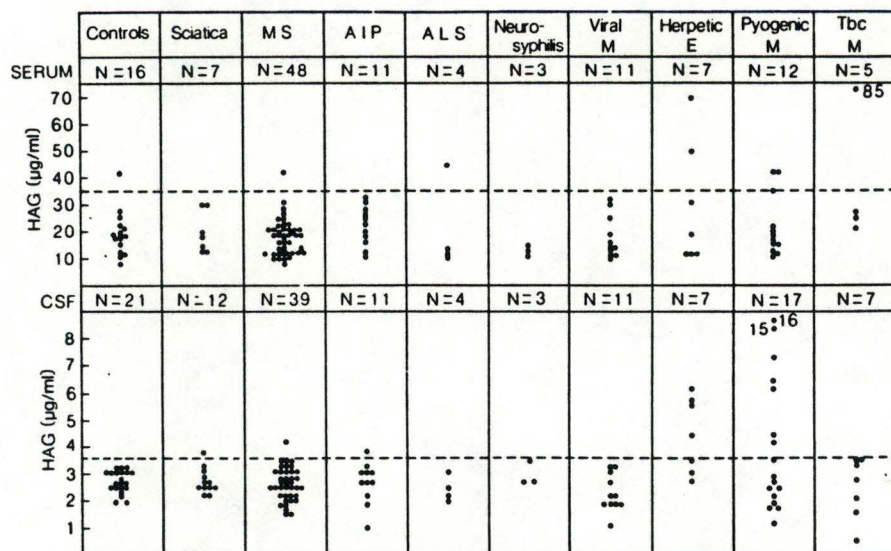


Fig. 10 Levels of IC assayed by PACIA in the CSF and serum of patients with various neurological disorders. GBS = Guillain-Barré syndrome; ALS = amyotrophic lateral sclerosis; M = meningitis; E = encephalitis; Tbc = tuberculous. When several samples were available from the same patient, only the sample with the highest value was considered. The broken lines represent the upper reference limits in serum ($35 \mu\text{g/ml} = 2 \text{ SD}$ above the mean of 143 healthy blood donors) and in CSF ($3.6 \mu\text{g/ml} = 2 \text{ SD}$ above the mean of 21 non-neurological patients).

(C.J.M.Sindic;1985).

Dans le sérum, la plupart des concentrations des immuns complexes se situe à l'intérieur de l'intervalle de référence.

Une production locale d'anticorps est à envisager lorsque la concentration en immuns complexes est plus élevée dans le LCR par rapport au sang à une même concentration d'IgG. Leur formation intrathécale est suggérée par l'absence de corrélation entre les valeurs d'immuns complexes dans le sérum correspondant au LCR et le rapport concentration

$\frac{\text{albumine LCR}}{\text{albumine sérum}}$

Au cours de la SEP, les concentrations d'immuns complexes ne diffèrent pas significativement dans le sérum et le LCR des concentrations obtenues dans d'autres troubles neurologiques.

Cependant, la SEP comme le syndrome de Guillain-Barré sont des pathologies où les concentrations en immuns complexes sont variables selon la littérature. Ces différences sont dues aux techniques variées utilisées mais la technique n'en est pas la seule cause car, avec les mêmes méthodes, des résultats divergents peuvent être obtenus.

D'autres facteurs tels que le stockage des échantillons (les congélations et décongélations ont, comme conséquence, l'aggrégation des IgG), les imprécisions liées à ces échantillons et l'interférence des agents infectieux par compétitions antigéniques (exemple : les virus peuvent isolément fixer le C1_q) peuvent aussi influencer les résultats.

CHAPITRE IV: L'INFLAMMATION ET LA BHM

L'inflammation augmente la perméabilité vasculaire et entraîne donc le départ d'immunoglobulines, de complément et d'autres protéines plasmatiques du flux sanguin vers les espaces extra-vasculaires. Les cellules inflammatoires, telles les lymphocytes, peuvent également traverser l'endothélium vasculaire et s'accumuler dans les tissus. La BHM dont le rôle est d'exclure du cerveau les cellules immunocompétentes et les protéines plasmatiques, est donc altérée et la quantité de protéines présente dans le L.C.R. augmente.

1. Entrée des cellules inflammatoires

Les cellules inflammatoires peuvent traverser les cellules endothéliales des capillaires à travers les tight junctions altérées.

Les lymphocytes, localisés dans le SNC, sont capables d'induire une réponse immunitaire et donc de produire des anticorps.

2. Altération de la perméabilité vasculaire

Dans l'inflammation aiguë et subaiguë, l'albumine (marquée préalablement) sort des petits vaisseaux à un premier stade de la maladie. Dans la plupart des cas, le départ de l'albumine est accompagné d'une accumulation de cellules inflammatoires. Des protéines marquées peuvent être observées en dehors des vaisseaux en l'absence de cellules inflammatoires.

Certaines expériences ont démontré que des substances

ne devenaient antigéniques que lorsqu'elles accédaient au cerveau suite à une altération de la BHM endommagée.

Baloyannis et Gonatas (1979) ont immunisé des rats à l'aide de HRP. 1 à 8 semaines plus tard, la BHM a été lésée localement par la chaleur et chocs traumatiques. Des anticorps anti-HRP ont été détectés dans le cerveau des animaux dont la BHM avait été endommagée. Ces anticorps anti-HRP n'ont pas été trouvés chez les contrôles.

3. C- Reactive protéine (CRP)

La CRP est une protéine de faible poids moléculaire (PM = 29000) qui est synthétisée par le foie. Cette protéine a une affinité pour les polysaccharides présents dans la paroi de certaines bactéries (Streptococcus pneumoniae). Quand a lieu la liaison polysaccharides-CRP, la voie classique du complément peut être activée (de même que la voie alterne) et leur ingestion par les leucocytes peut être favorisée. Cette propriété peut expliquer le rôle protecteur de la CRP dans certaines infections bactériennes (Mold et al., 1981).

La CRP a été détectée dans le L.C.R. en très faible concentration. Dans le sérum normal, cette concentration varie de 0,07 à 8 mg/l. En cas d'inflammation, la CRP peut atteindre 500 mg/l dans le sérum.

La CRP trouvée dans le L.C.R. chez les sujets atteints de SEP ne diffère pas significativement de la CRP dosée chez les contrôles (Fig. 11).

Les plus hauts niveaux de CRP dans le L.C.R. sont observés dans les infections virales et bactériennes touchant le SNC.

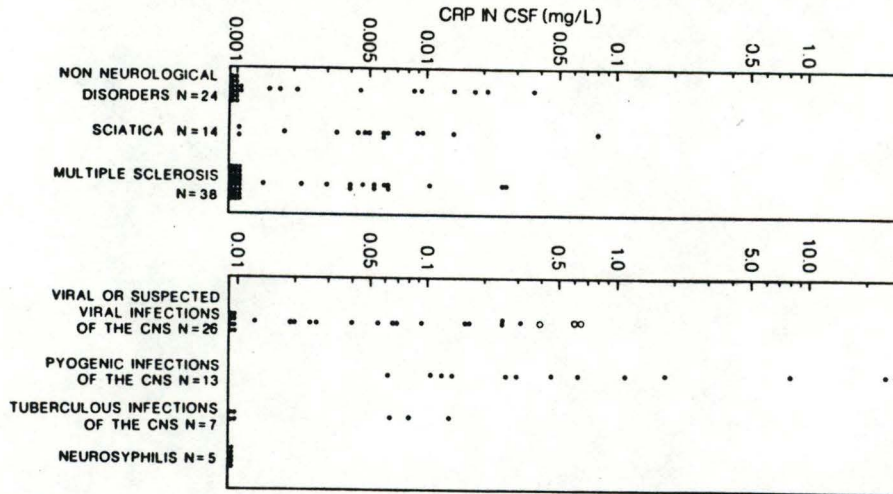


Figure 11: concentration de CRP dans diverses affections neurologiques. (C.J.M.Sindic;1985).

Puisque la BHM est endommagée dans de tels cas pathologiques, la comparaison a été établie entre les rapports

$$\frac{\text{CRP}}{\text{CRP}} \quad \frac{\text{L.C.R.}}{\text{sérum}} \quad \text{et} \quad \frac{\text{Albumine}}{\text{Albumine}} \quad \frac{\text{L.C.R.}}{\text{sérum}}$$

Pour les infections virales, la corrélation entre ces rapports est significative. La corrélation n'est pas significative dans le cas des infections bactériennes. Cela peut s'expliquer par la liaison CRP-polysaccharides; en effet, sous cette forme, la CRP est prise en charge par des macrophages et lymphocytes portant des récepteurs Fc (James et al.; 1981) et pourrait être rapidement éliminée du L.C.R. (Figure 12).

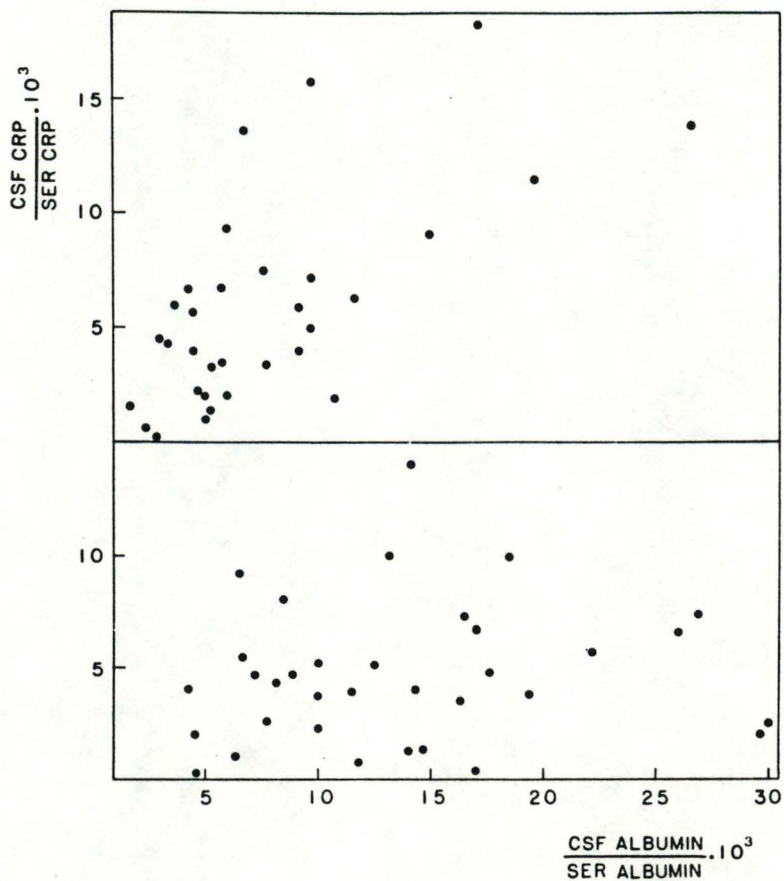


Figure 12: Correlation between the CSF/serum ratios for CRP and albumin in viral (upper panel) and in bacterial (lower panel) infections of the nervous system. This correlation is significant in viral or suspected viral (N = 32 paired samples from 24 patients; $r = 0.66$, $p < 0.001$) but not in bacterial infections (N = 34 paired samples from 20 patients; $r = 0.1$). A CSF/serum albumin ratio $\times 10^3$ higher than 7.8 indicates a transudation process across an impaired BBB.

(C.J.M.Sindic;1985).

Le dosage de la CRP permet de distinguer une méningite pyogène d'une méningite aseptique à partir du sérum des patients et non à partir du L.C.R. car dans le L.C.R., les complexes CRP sont rapidement éliminés.

Dans le sérum, une augmentation du titre enCRP indique toujours soit une infection bactérienne, parasitaire ou virale à effet hépatocytopathogène soit une origine tumorale.

4. La ferritine

La ferritine est la protéine la plus importante intervenant dans le stockage du fer. Cette protéine, de poids moléculaire de 450.000 est présente dans la plupart des tissus y compris dans le cerveau. Ce taux de ferritine sanguin peut augmenter dans les réactions inflammatoires, les troubles hépatiques, les nécroses tissulaires et les diverses formes de cancer.

En raison de la vaste distribution de la ferritine, son dosage dans le L.C.R. peut aider au diagnostic de certains troubles neurologiques. La concentration moyenne de ferritine dans le L.C.R. de patients ne présentant aucun trouble neurologique est de 2.95 $\mu\text{g/l}$.

Les patients atteints de SEP, de troubles dégénératifs du SNC, de sciatique ou bien de maladie nerveuse périphérique ont une concentration en ferritine comprise dans l'intervalle de référence. Des taux légèrement augmentés sont remarqués chez des patients présentant une compression de la colonne vertébrale - une augmentation modérée du taux de ferritine dans le L.C.R. (entre 8,5 et 15 $\mu\text{g/l}$) est observé chez 5/14 patients atteints de démence pré-sénile ou sénile.

Or, ce qui concerne les infections virales du SNC (mais non de type Herpes) la concentration de ferritine dans le L.C.R. est soit normale, soit modérément augmentée.

Les patients atteints d'encéphalite de type Herpes ont des concentrations très élevées en ferritine dans leur L.C.R. pendant la première semaine de maladie. Cette concentration était parfois plus élevée que dans le sérum, ce qui pourrait signifier qu'il existe une synthèse locale de ferritine.

Les caractéristiques principales de tous les troubles neurologiques associés à une haute concentration en ferritine sont, soit l'inflammation, l'hémorragie ou la nécrose tissulaire.

Ces processus pourraient expliquer la présence de ferritine dans le L.C.R.

La mort cellulaire induite par les infections ou les obstructions vasculaires entraîne l'augmentation de ferritine dans le tissu cérébral. Une source importante de ferritine peut être le contenu des macrophages, cellules impliquées dans toutes les réactions inflammatoires.

En conclusion, le dosage de la ferritine dans le L.C.R. est particulièrement intéressant. Une augmentation de sa concentration sera observée :

- a) dans les troubles vasculaires du SNC qui peuvent être associés à des hémorragies telles que saignement sous-arachnoïdien, hématome intra-parenchymateux, thrombophlébites.
- b) dans les infections du SNC associées à une inflammation des vaisseaux sanguins, une concentration élevée en ferritine dans le L.C.R. est une indication précieuse d'une infection de type herpès, du fait des lésions hémorragiques se produisant dans les encéphalites de type herpès.
- c) dans les lésions post-traumatiques du SNC.

CHAPITRE V: EXAMENS SPECIAUX CONCERNANT LA PROTEINORACHIE

V.1. LA NEPHELOMETRIE LASER

La technique néphélobométrique représente le concept moderne permettant de déterminer la concentration de différentes protéines dans un liquide biologique.

La néphélobométrie utilisée à cet effet est une technique immunochimique qui requiert un matériel complexe; son avantage sur les autres techniques telles que immunodiffusion radiale est le gain de précision, de spécificité et de rapidité.

Le dosage des protéines par immunoprécipitation est basé sur la mesure du trouble causé par la réaction entre l'antigène à titrer et l'anticorps correspondant. La concentration en anticorps étant constante, la teneur en complexes antigène-anticorps ne dépend que de la concentration de la protéine antigénique à doser.

La mesure du trouble s'effectue grâce à une diode LED à 840 nm.

On peut opérer en méthode "End Point" (mesure de l'intensité maximale du trouble) ou par méthode "Cinétique" -celle utilisée dans notre laboratoire- qui consiste à mesurer la vitesse d'apparition du trouble.

Cette méthode requiert une pureté rigoureuse de l'anticorps.

V.2. ELECTROPHORESE DES LCR

L'électrophorèse permet d'étudier les variations protéiques qualitatives et quantitatives.

Les électrophorèses de routine en laboratoire sont réalisées sur acétate de cellulose et sur agarose.

Six fractions sont séparées par ces techniques.

V.2.1. L'ELECTROPHORESE SUR ACETATE DE CELLULOSE

Cette technique est très semblable à celle de l'électrophorèse sur papier. La résolution est cependant meilleure étant donné que le support est plus mince et possède des pores plus fins.

La lecture au photomètre est également plus aisée.

La position et la quantification des protéines sont déterminées par densitométrie, après coloration de ces protéines; la densité de coloration est proportionnelle à la quantité de protéines.

Chaque fraction protéique est exprimée en pourcentage.

Ce type d'électrophorèse permet une quantification relative des différentes fractions.

V.2.2. L'ELECTROPHORESE SUR AGAROSE

Cette technique nécessite le coulage d'une mince couche d'agar sur plaque de verre. Elle permet notamment la visualisation plus discriminative de la fraction gamma: l'aspect peut être mono, oligo ou polyclonal; ce qui permet de mieux présumer des pathologies typiques.

Ce type d'électrophorèse est donc qualitatif.

La technique que nous avons utilisée pour étudier les protéines du LCR est l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu SDS.

V.2.3. L'ELECTROPHORESE SUR GEL DE POLYACRYLAMIDE EN MILIEU SDS

L'électrophorèse est une technique biochimique permettant la migration de particules chargées dans un champ électrique.

Dans notre cas les particules chargées sont des protéines. Les protéines possèdent habituellement une charge nette positive ou négative suivant une constitution en acides aminés porteurs de groupements chargés positivement ou négativement.

GEL DE POLYACRYLAMIDE

Le gel de polyacrylamide est une matrice inerte fortement réticulée à travers laquelle les protéines migrent. Il résulte de la polymérisation entre l'acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) et le NN'-Méthylènebisacrylamide ($(\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH})_2\text{CH}_2$).

La polymérisation est catalysée par le persulfate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$) et le Temed (N-N-N'-N'-tetraméthyléthylènediamine ($(\text{CH}_3)_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2$)) qui produisent les radicaux libres.

Le gel est constitué de chaînes de polyacrylamide reliées par des résidus Bis-acrylamide. Il s'est donc constitué un réseau tridimensionnel qui délimite des pores.

La réticulation du gel dépend du pourcentage d'acrylamide et de Bis-acrylamide.

L'augmentation du pourcentage en acrylamide réduit la taille moyenne des pores du gel et produit une diminution de la mobilité électrophorétique des protéines.

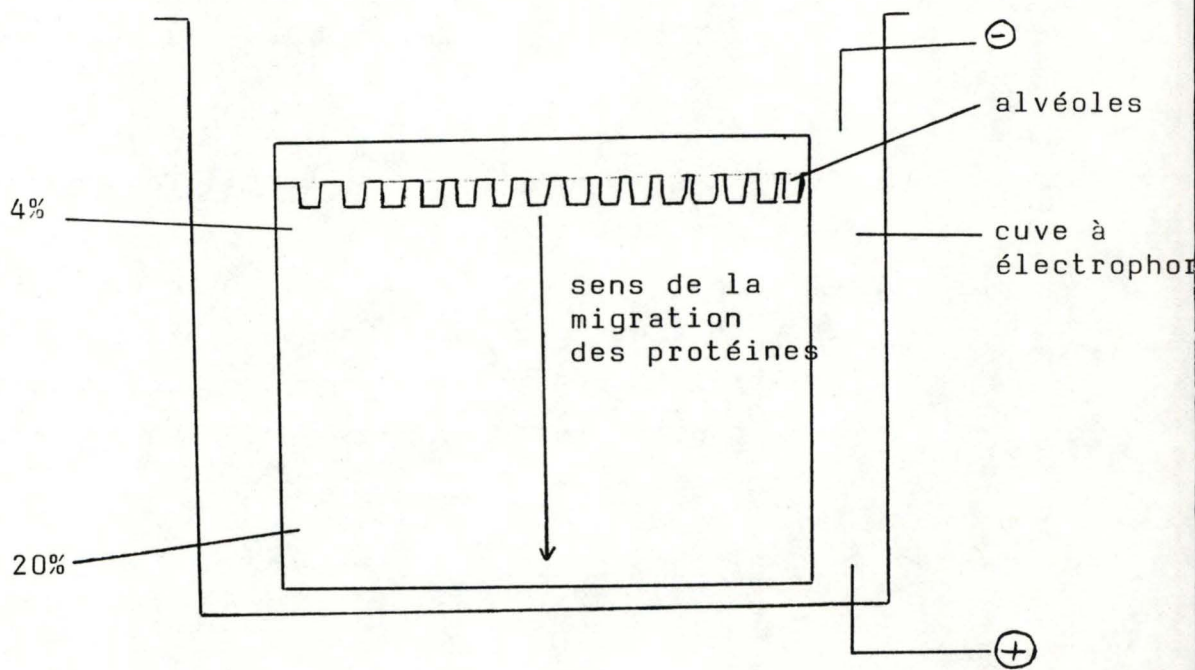


Figure 13: gel de polyacrylamide.

Une augmentation du pourcentage en Bis-acrylamide produit essentiellement une diminution de la taille maximale des pores du gel; la diminution de mobilité touche surtout les molécules dont les dimensions s'approchent du diamètre maximal des pores. Plus le réseau est serré et plus le diamètre des pores est restreint. Ne peuvent passer à travers ces pores que les protéines dont la taille est inférieure au diamètre de ceux-ci.

GEL EN GRADIENT CONCAVE

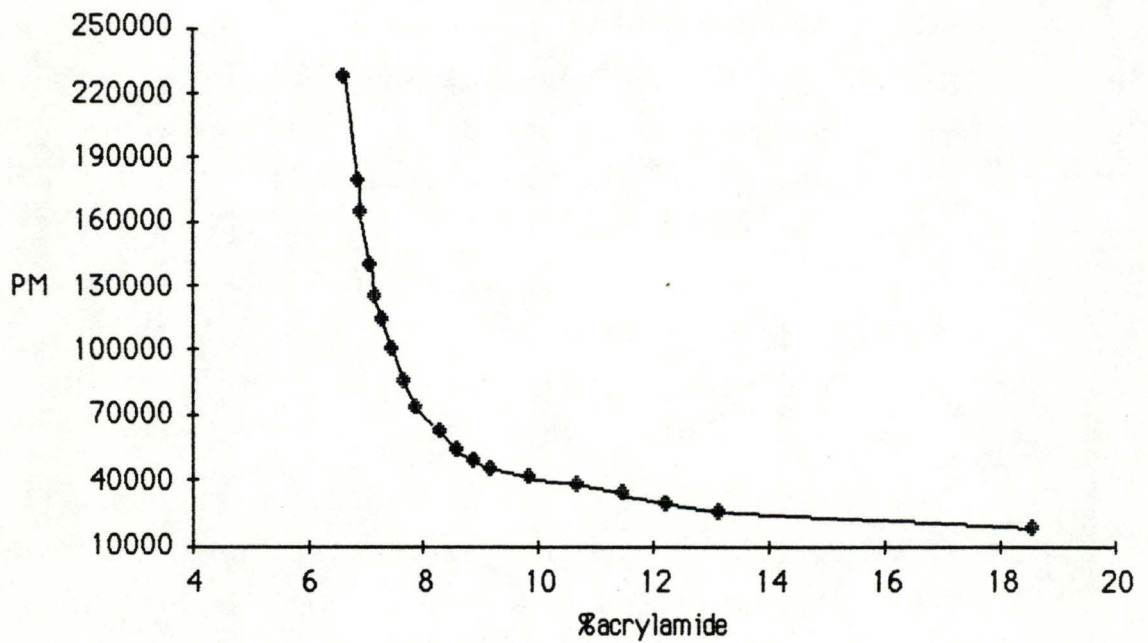
Les pores du gel que nous utilisons ne sont pas identiques; les pores présents à la base du gel sont petits tandis que ceux qui sont situés au sommet du gel sont larges: le gel est en gradient concave.

Ce gradient s'échelonne de 4% à 20% : les protéines stabilisées à la base du gel sont les plus petites et ont un faible P.M. car la dimension des pores y est faible; les protéines localisées au sommet du gel sont caractérisées par un P.M. élevé et une grande taille en raison de la plus grande dimension des pores.

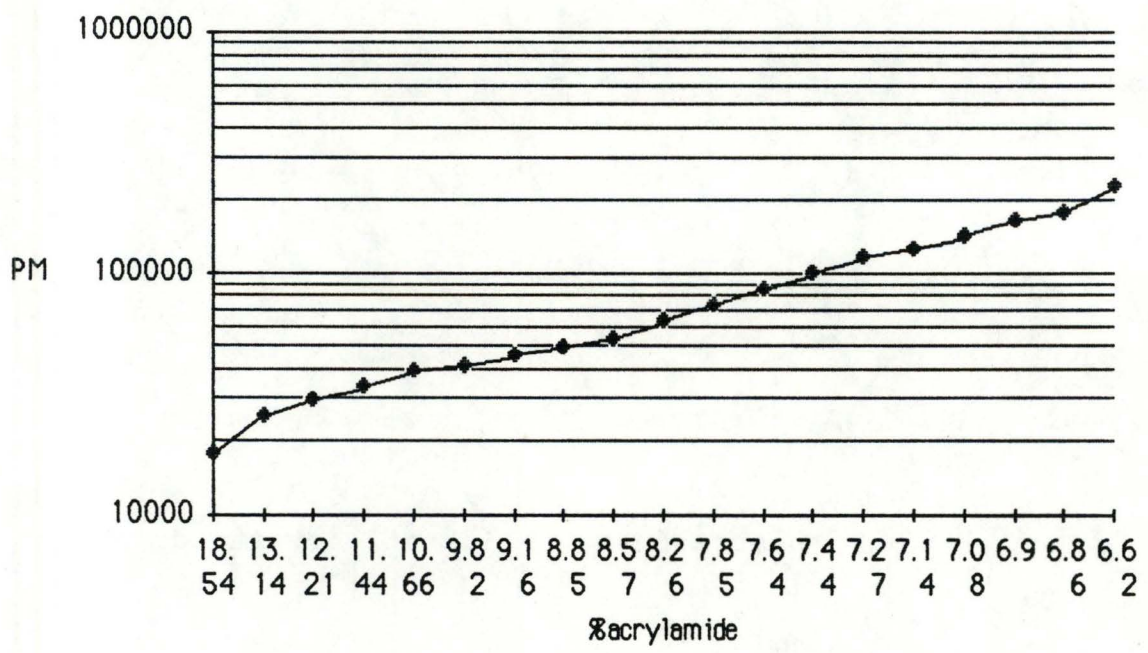
La réalisation d'un gel en gradient concave se base sur des concentrations élevées en acrylamide dans la partie inférieure du gel et sur des concentrations faibles en acrylamide dans la partie supérieure du gel (fig.13).

Nous utilisons un gel en gradient concave parce qu'il permet de bonnes séparations et répartitions des protéines du LCR sur toute la longueur du gel.

Sur gel linéaire, un grand nombre de protéines du LCR se localisent dans la partie supérieure du gel. C'est la raison pour laquelle nous pratiquons l'électrophorèse des échantillons de LCR sur gel en gradient concave.

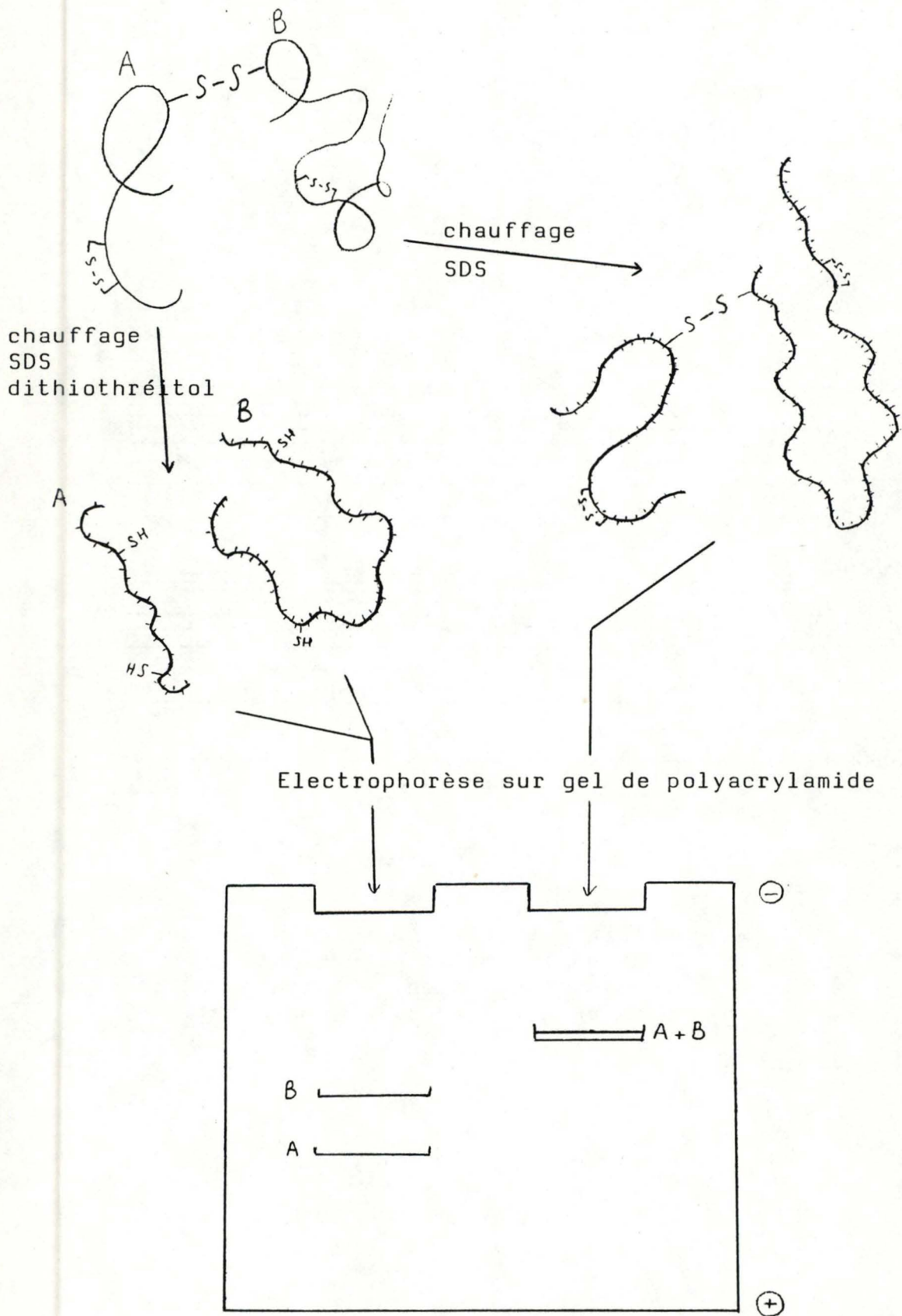


Poids moléculaires calculés pour les protéines du LCR normal, sur base de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en gradient concave en fonction du pourcentage d'acrylamide de ce gel.



Poids moléculaires calculés pour les protéines du LCR normal, sur base de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en gradient concave en fonction du pourcentage d'acrylamide de ce gel (échelle semi-logarithmique).

Figure 14 : EFFETS DU SDS ET DU DITHIOTHREITOL



L'EFFET DU SDS (ou sodium dodécyl sulfate)

Le SDS est un détergent de type anionique dont la partie polaire est constituée par un groupe sulfate; la partie non polaire de la molécule étant constituée par une chaîne hydrocarbonée linéaire de 12 carbones (fig.14).

Le traitement de la protéine par le SDS modifie la structure native de cette protéine: le SDS démasque les groupements non polaires enfouis à l'intérieur de la molécule et se lie aux régions hydrophobes de cette protéine. Les protéines se déroulent en chaînes polypeptidiques allongées. Les groupements non polaires démasqués se combinent spontanément avec les chaînes hydrocarbonées du SDS et les groupes polaires du SDS sont en contact avec la phase aqueuse.

Une couche anionique continue formée par les groupes sulfatés du SDS enveloppe la molécule protéique et lui confère une charge négative nette. L'importance de cette charge est approximativement proportionnelle à la surface de la sphère que forme spontanément la molécule protéique.

Le SDS rend toutes les protéines négatives, quelque soit leur charge de départ.

La mobilité des protéines est donc proportionnelle au P.M. de ces protéines: plus les protéines ont un faible P.M. , plus elles migreront dans le gel.

La mobilité est définie comme le rapport entre la distance parcourue par la protéine et la distance parcourue par le colorant (bleu de bromophénol à 0,05%).

L'électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de SDS permet une classification des protéines présentes dans le LCR.

Cette méthode présente l'avantage de séparer les protéines suivant leur P.M. uniquement.

A partir de standards de P.M. connus il est possible d'attribuer un P.M. à chaque protéine.

L'électrophorèse en gel de polyacrylamide peut être suivie d'un transfert grâce auquel les protéines peuvent être typées sur base de procédés immunologiques.

CHAPITRE VI : ELABORATION DU PROFIL DE LCR NORMAL

VI. 1. IDENTIFICATION DES PROTEINES PRESENTES DANS LE LCR

Les protéines retrouvées dans le LCR ont été identifiées par :

- transfert à partir de l'électrophorèse en gel de polyacrylamide sur une membrane de nitrocellulose, suivi de leur typage par une technique d'enzyme-immunoessai (E.I.A.).
- détermination de leur P.M par l'intermédiaire de standards de poids moléculaires connus.
- coloration

VI. 1.1. TRANSFERT ET ENZYME-IMMUNOESSAI

Nous pratiquons la technique de transfert des protéines du gel de polyacrylamide sur une membrane de nitrocellulose afin de trouver une corrélation entre une bande protéinique et une fonction biologique.

Cette technique comporte les avantages suivants :

- utilisation d'une membrane de cellulose facilement manipulable.
- les protéines immobilisées sur ce support sont accessibles aux réactifs utilisés lors de l'enzyme-immunoessai.
- les protéines transférées peuvent être colorées à l'amidoschwartz.

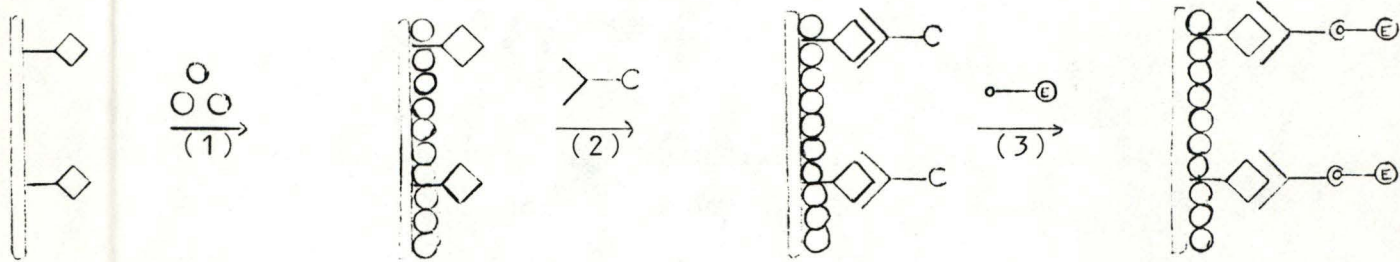


Figure 15: enzyme-immunoessai.

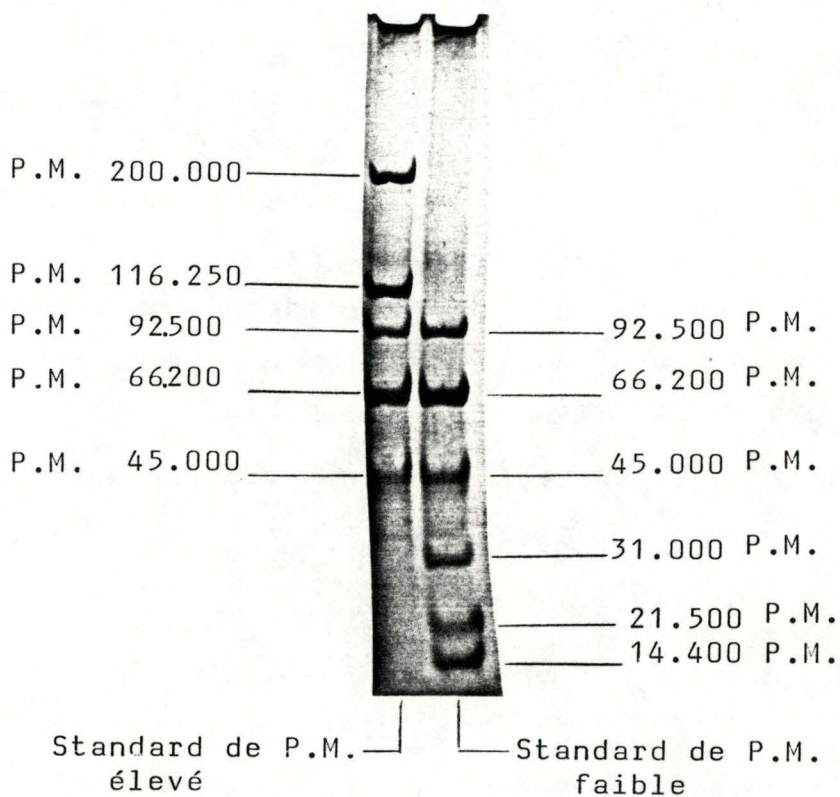


Figure 16

(N.B. Le bleu de Coomassie est déconseillé dans ce cas-ci car il colore de façon uniforme et irréversible la nitrocellulose).

La force de transfert est le potentiel électrique.

La technique enzyme-immunoessai est utilisée pour sa grande sensibilité et sa spécificité. Elle permet la détection des protéines après transfert.

Les protéines transférées du gel sur le support de nitrocellulose jouent le rôle d'antigènes (fig. 15).

Nous procédons, tout d'abord, à la saturation des sites de fixation restants par de l'albumine bovine (SAB) (1). La membrane de nitrocellulose est incubée avec un premier anticorps (IgG de lapin) spécifique de l'antigène à détecter (2).

Cette membrane est ensuite soumise à plusieurs lavages afin d'éliminer l'anticorps non fixé.

Une seconde incubation avec un anticorps de chèvre anti-lapin conjugué à la peroxydase est réalisée (3). Dans une dernière étape, un substrat est ajouté à la membrane; ce substrat permet la réaction de l'enzyme : des bandes bleues -pourpres apparaissent sur le fond blanc de la membrane de nitrocellulose.

VI. 1.2. DETERMINATION DES POIDS MOLECULAIRES DES PROTEINES

Le P.M. des protéines présentes dans les échantillons de LCR ne peut être évalué qu'en présence d'une référence. Cette référence consiste en deux standards de P.M. connus :

- un standard comportant des protéines de haut P.M.
- un standard comportant des protéines de faible P.M.

(fig. 16).

Connaissant le P.M. de chaque protéine standard et leur mobilité relative, nous avons tracé une droite d'étalonnage

sur papier semi-logarithmique. La distance de migration des protéines est convertie en mobilité relative exprimant leur mobilité en fonction de la mobilité de la protéine qui a migré le plus loin dans le gel (donc de P.M. le plus faible). Ce graphe met donc en relation le P.M. des protéines en fonction de leur mobilité relative.

Suivant les tracés électrophorétiques des échantillons de LCR, nous pouvons mesurer la distance de migration des diverses protéines et calculer leur P.M.

VI. 1.3. LES COLORATIONS

La nature des protéines présentes sur les tracés électrophorétiques peut être déterminée après coloration des gels de polyacrylamide.

En effet, après électrophorèse, le gel est transparent; une coloration du gel s'avère nécessaire pour visualiser les diverses bandes protéiques. Au laboratoire, nous utilisons la technique de double coloration :

Argent - bleu de Coomassie.

Cette technique permet la différenciation des protéines : les protéines de nature lipidique et glycoprotéique sont colorées en jaune par la coloration à l'argent tandis que les protéines de nature polypeptidique sont colorées en bleu par la coloration au bleu de Coomassie. Nous avons constaté que la différenciation des protéines est meilleure lorsque le gel est coloré tout d'abord à l'argent et, ensuite, au bleu de Coomassie.



LCR réduit

LCR non réduit

Figure 18

VI. 2. TRAITEMENT DES ECHANTILLONS DE LCR

Les échantillons de LCR ont été réduits avant électrophorèse au dithiothréitol. Le dithiothréitol clive les ponts disulfure intercaténares (unissant des résidus de cystéine entre deux chaînes peptidiques séparées) et intracaténares (ponts disulfure situés à l'intérieur d'une même chaîne peptidique).

Les ponts disulfure intercaténares assurent la structure quaternaire des protéines. Les ponts disulfure intracaténares ne semblent pas indispensables pour la forme structurale des protéines; ils ne font que consolider une structure qui se trouve d'elle-même par le jeu des forces non-covalentes.

Nous remarquons que les bandes protéiniques observées sur les tracés électrophorétiques des échantillons de LCR réduits sont en plus grand nombre et sont réparties de façon plus régulière par rapport aux bandes protéiniques observées après l'électrophorèse des échantillons des mêmes LCR non réduits (fig. 18).

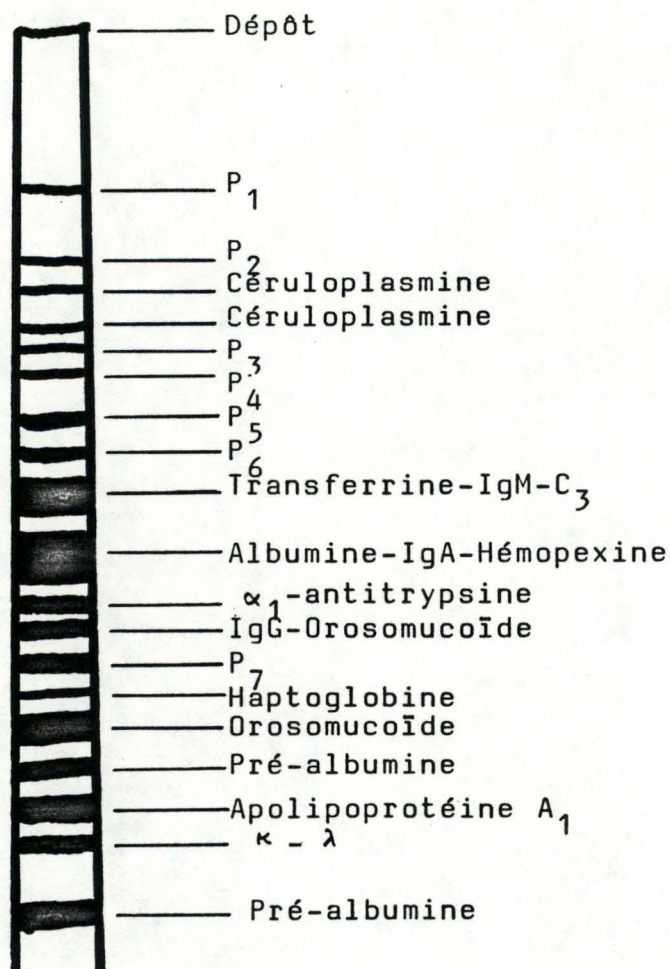
Le nombre élevé des bandes protéiniques dans les LCR réduits rend compte

- ° du clivage de toutes les protéines qui présentent des ponts disulfure intra ou/et intercaténares dans leur structure;
- ° de la migration des protéines de haut P.M. si celles-ci ont été clivées. Ces mêmes protéines non réduites ne pénètrent pas dans le gel en raison de leurs grandes dimensions (exemple : les IgM)
- ° de la migration des fragments de protéines que nous n'avons pas pu identifier.

Une résolution meilleure dans la séparation des protéines des LCR réduits et la présence de protéines de haut P.M. sur les tracés électrophorétiques nous ont amené à traiter tous les échantillons de LCR au dithio-thréitol.

VI. 3. PROFIL DES PROTEINES DANS LE LCR NORMAL

Les transferts et typage de certaines protéines par la technique enzyme-immunoessai, l'évaluation du poids moléculaire de toutes les protéines présentes sur les tracés électrophorétiques des LCR et la structure de ces protéines nous ont permis d'établir le profil des protéines dans le LCR NORMAL.



- P₁, P₂, P₃, P₄, P₅, P₆ et P₇ sont les bandes protéiques que nous n'avons pas pu identifier au laboratoire. Ces bandes correspondent soit à des fragments de protéines issus du traitement des échantillons de LCR au dithiothréitol soit à des protéines entières. Ces protéines non typées peuvent cependant être caractérisées par un Poids moléculaire.

P₁ : P.M. = 228000

P₂ : P.M. = 179500

P₃ : P.M. = 125000

P₄ : P.M. = 114250

P₅ : P.M. = 100000

P₆ : P.M. = 86000

P₇ : P.M. = 45000

P₂ ainsi que P₄ et P₆ sont des protéines ou des fragments de protéines de nature polypeptidique

P₁, P₃, P₅ et P₇ sont de nature glycoprotéique ou lipidique.

LA CERULOPLASMINE

° Structure

La céruloplasmine existe sous deux structures dans le LCR réduit au dithiothréitol. Celles-ci sont caractérisées par les P.M. 164500 et 140.000.

La céruloplasmine est constituée de 4 sous-unités dont les chaînes sont du même type ou de deux types différents.

La bande de P.M. 164500 semble correspondre à une protéine de nature polypeptidique alors que la bande de P.M. 140000 correspond à une protéine de nature lipidique ou glycoprotéique.

° Fonction

- La céruloplasmine - permet le transport de cuivre dans le plasma.
- assure l'homéostasie du cuivre dans les tissus (principalement le foie).
 - intervient dans l'oxydation du fer.
 - diminuerait les réponses immunitaires de l'organisme.

LA TRANSFERRINE

° Structure

La transferrine est une protéine de nature polypeptidique dont le P.M. est de 73000. Cette protéine est constituée d'une seule chaîne polypeptidique de 630 acides aminés à l'intérieur de laquelle sont localisés de nombreux ponts disulfure (intracaténares). Le poids moléculaire de la transferrine réduite n'est pas inférieur à celui de la protéine native : la transferrine migre au cours de l'électrophorèse sous forme de chaîne polypeptidique simple.

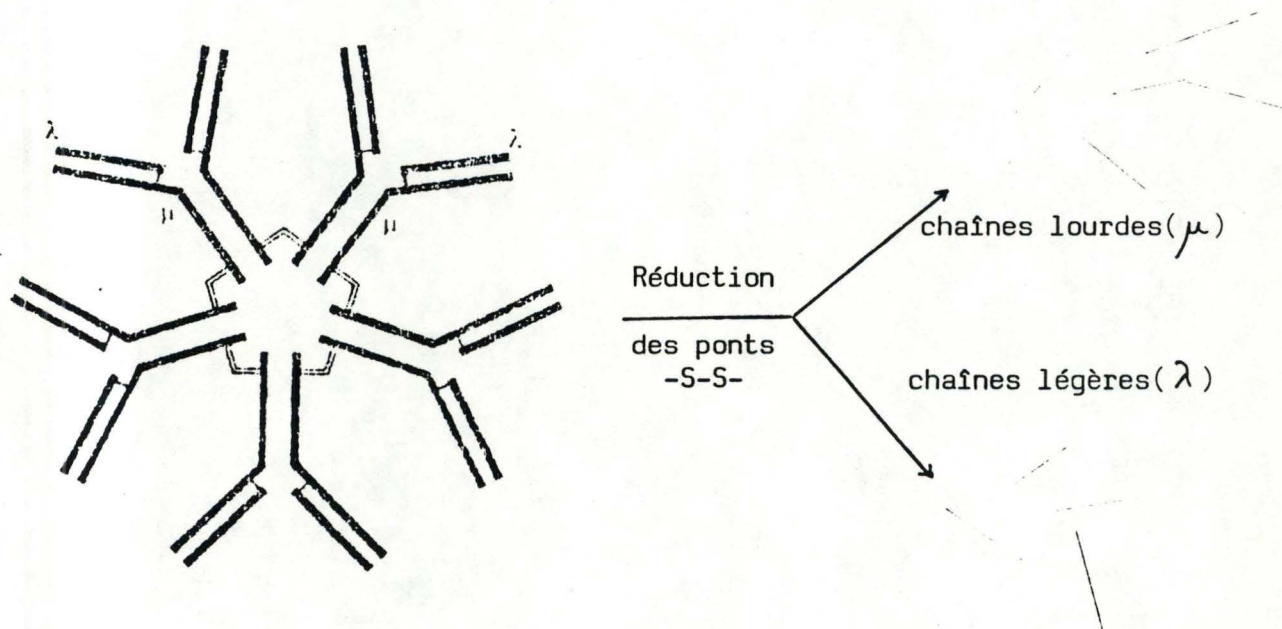
° Fonction

La transferrine lie le fer plasmatique et le transporte de l'intestin vers les différents organes.

Les IgM

° Structure

Ce sont les immunoglobulines qui ont le P.M. le plus élevé, 900.000 à 1.000.000 à l'état natif. Les IgM réduites au dithiothréitol ont un P.M. de 73.000. Chaque molécule est formée de 5 unités élémentaires associées par des ponts disulfure. La bande protéinique caractérisée par le P.M. de 73.000 est en fait constituée des chaînes lourdes d'IgM.



Les IgM sont des anticorps très actifs par la présence de 10 sites spécifiques pour l'antigène. Lorsque les IgM rencontrent un antigène à la surface duquel 10 épitopes sont suffisamment rapprochés, la molécule d'IgM s'y fixe par ses 10 valences, en distordant sa structure spatiale.

La plupart du temps cependant, la situation des épitopes sur un antigène ne permet qu'à certaines valences des IgM de s'y fixer; mais les valences libres ont la faculté de se lier à des épitopes sur d'autres particules antigéniques, qui sont dès lors pontées par les molécules d'IgM et ont tendance à s'agglutiner.

C₃

° Structure

C₃ est le troisième composant du système complément.

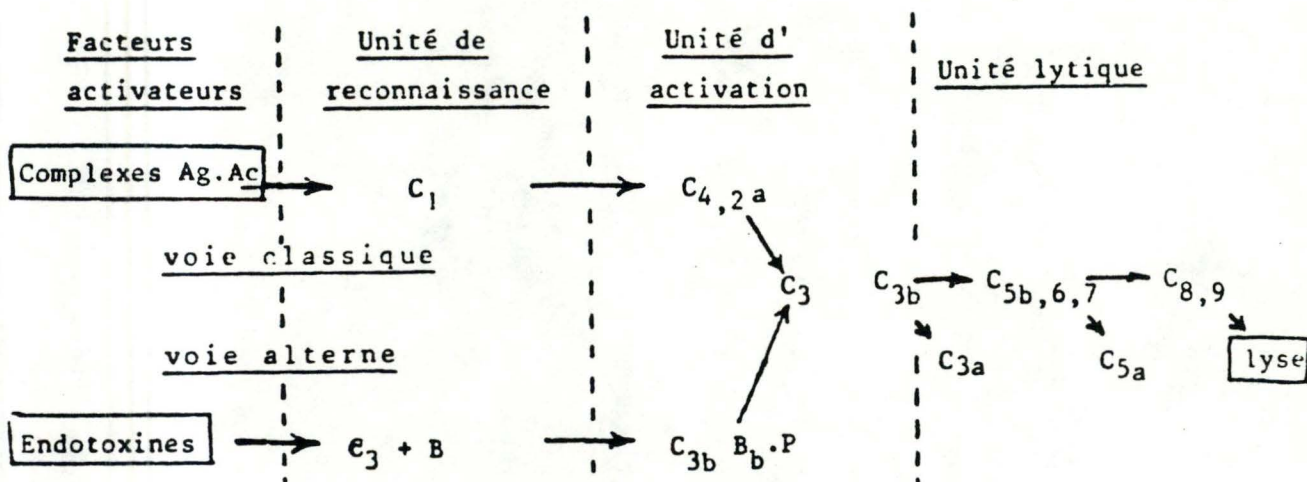
Cette protéine est caractérisée à l'état natif par un P.M. de 180.000.

C₃ contient deux chaînes qui sont réunies par des ponts disulfure et des forces non covalentes. La chaîne α a un P.M. de 110.000, la chaîne β , un P.M. de 70.000 (environ).

La chaîne contenue dans cette bande protéinique de P.M. 73.000 serait la chaîne β .

° Fonction

C₃ est un composant majeur du système complément: il est responsable de l'activation des composants finaux de ce système doués de capacités lytiques pour les membranes cellulaires étrangères et les parois bactériennes.



Le système "complément" peut être subdivisé en trois unités fonctionnelles :

- * l'unité de reconnaissance composée de C_1 alerte le système;
- * l'unité d'activation, comprenant C_2 , C_3 et C_4 assure l'activation de
- * l'unité lytique, composée de C_5 , C_6 , C_7 , C_8 et C_9 .

C_1 déclenche l'activation séquentielle du système lorsqu'elle est, elle-même, activée par un complexe antigène-anticorps. C'est la voie classique d'activation du complément. La voie alterne rejoint la voie classique au niveau du composant C_3 ; cette voie est engagée sous l'influence de muco-polysaccharides bactériens, sans la participation d'immunoglobulines.

C_3 est le composant le plus abondant du système : son rôle biologique est considérable. Le composant C_3 , une fois activé, se scinde en deux fragments : le C_{3a} et le C_{3b} .

C_{3a} joue un rôle important dans la réaction inflammatoire : il est doué d'activité d'anaphylatoxine et de chimiotactisme vis-à-vis des polymorphonucléaires neutrophiles.

C₃b se fixe sur des constituants de la membrane de la cellule à lyser.

L'ALBUMINE

° Structure

Le P.M. obtenu par électrophorèse pour l'albumine est de 66.500. Cette molécule est formée d'une simple chaîne polypeptidique d'environ 580 acides aminés à l'intérieur de laquelle sont localisés 17 ponts disulfure intracaténaux.

° Fonction

L'albumine

- ° assure l'équilibre en fluide entre les compartiments intra et extra-cellulaires par son P.M.
 - ° transporte de nombreux métabolites toxiques tels que Argent, Bilirubine, acides gras, médicaments et de nombreux produits de déchets.
 - ° est source endogène d'acides aminés.
 - ° joue le rôle d'antigène
- Le nombre de sites antigéniques sur une molécule d'albumine humaine peut être évalué à 7.

Les IgA

° Structure

Les IgA sont des immunoglobulines de P.M. 180.000 à l'état non réduit. Elles sont constituées de deux chaînes lourdes de type α et de deux chaînes légères.

Le P.M. de la bande protéinique où sont détectés les IgA correspond au P.M. des chaînes lourdes dissociées des chaînes légères au cours de la réduction des LCR au dithiothréitol : P.M. = 66.500

° Fonction

Les IgA protège les muqueuses contre les virus, bactéries et leurs produits.

L'HEMOPEXINE

° Structure

Le P.M. de cette protéine est de 66.500, semblable au P.M. de la protéine native. C'est une glycoprotéine constituée par une seule chaîne polypeptidique. La migration électrophorétique de l'hémopexine réduite présente donc le même pattern que celui de l'hémopexine non réduite.

° Fonction

L'hémopexine se combine sélectivement et réversiblement avec l'hème.

L' α_1 - ANTITRYPSINE

° Structure

Cette protéine est formée d'une chaîne polypeptidique simple, caractérisée par un P.M. de 53250

L' α_1 -antitrypsine est constituée de 415 acides aminés.

° Fonction

L' α_1 -antitrypsine agit sur les protéases en formant des complexes qui couvriront les sites actifs de ces enzymes protéolytiques (trypsine, chymotrypsine..). Cette protéine aurait donc un rôle protecteur et inhiberait l'activité des enzymes relargués par la dégranulation des cellules (surtout polynucléaires).

L' α_1 -AT est augmentée lors des infections et dans diverses conditions inflammatoires.

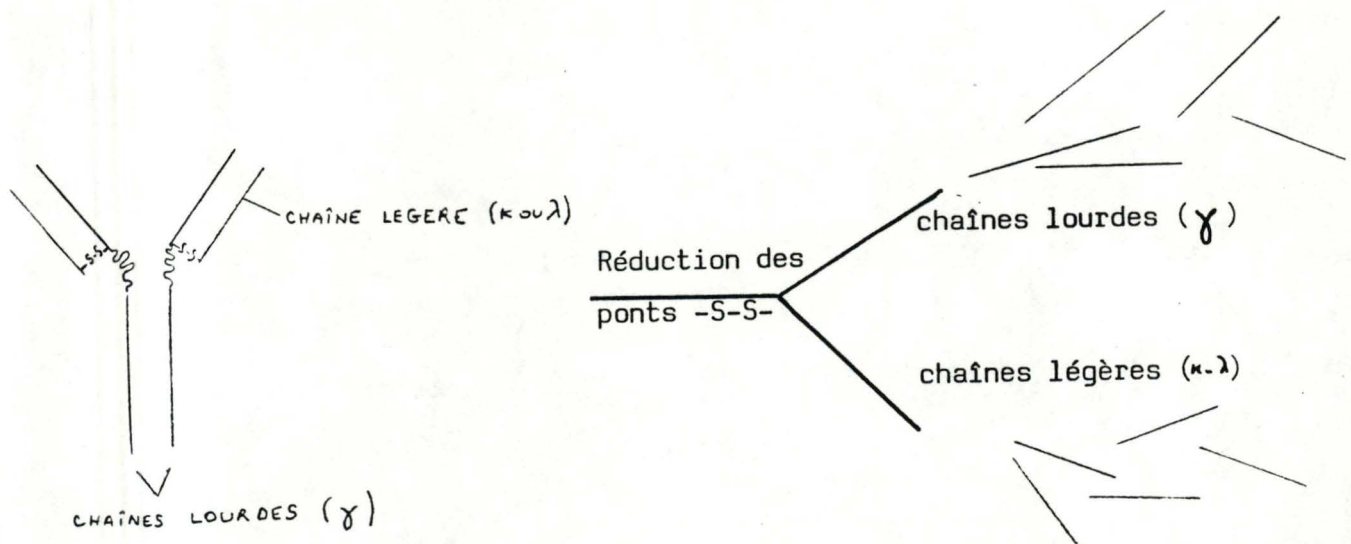
LES IgG

° Structure

Ces protéines, de P.M. 150.000, ont la structure suivante : deux chaînes lourdes de type γ sont assemblées avec deux chaînes légères par des ponts disulfure .

Ces ponts disulfure sont localisés entre les résidus de cystéine appartenant à des chaînes différentes (ponts intercaténares).

Un pont -S-S relie la portion terminale carboxylique de chaque chaîne légère à une portion subcentrale d'une chaîne lourde. Les deux chaînes lourdes sont reliées par un (ou plusieurs) pont -S-S en leur partie médiane. Le P.M. des IgG réduites est de 49.000 .



° Fonction

Les IgG sont des anticorps assurant la protection des fluides tissulaires et de la circulation sanguine.

L'ACIDE α_1 - GLYCOPROTEIQUE ou OROSOMUCOÏDE

° Structure

Cette protéine se retrouve à deux endroits différents sur le profil électrophorétique. Les P.M. calculés pour l'orosomucoïde réduit au di-thiothréitol sont de 49000 et 38400. Le P.M. de la protéine native est de 41000 (cette valeur varie de 40000 à 44000)

L'orosomucoïde est formée d'une seule chaîne polypeptidique de 181 acides aminés.

Les acides aminés 5-147 et 72-164 sont liés par deux ponts disulfure.

Le polymorphisme électrophorétique résulte probablement

- . de la substitution d'acides aminés
- . de la variabilité structurelle des chaînes oligosaccharidiques. En effet, sur la séquence polypeptidique viennent se greffer 5 carbohydrates en même temps que leurs 11 résidus sialiques.
- . des diverses liaisons possibles entre l'acide sialique terminal et les atomes de carbone du galactose.

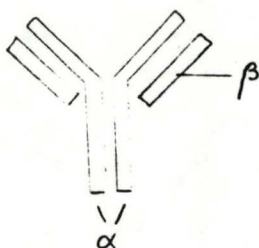
° Fonction

L'orosomucoïde joue peut être un rôle dans la protection de l'organisme contre les virus et les bactéries. C'est une protéine de l'inflammation.

L'HAPTOGLOBINE

° Structure

L'haptoglobine est une glycoprotéine de P.M.41250. Le P.M. de la protéine native est de 100000. Le traitement au dithiothréitol modifie donc la configuration de l'haptoglobine. Elle est présentée sous l'aspect de deux paires de chaînes non identiques (α et β).



Les chaînes sont réunies par les ponts disulfure pour former une molécule dont la formule est $\alpha_2\beta_2$.

° Fonction

L'haptoglobine a la capacité de se fixer à l'hémoglobine libre plasmatique qui est toxique; elle transporte cette hémoglobine vers le système réticulo-histiocytaire où celle-ci sera catabolisée; le fer libéré pourra alors être réutilisé.

LA PRE-ALBUMINE

° Structure

La pré-albumine est une protéine de P.M. de 54500 à l'état natif; elle est composée de 4 sous-unités. La pré-albumine réduite est caractérisée par des P.M. de 33500 et 17500 suivant les tracés électrophorétiques.

° Fonction

La pré-albumine possède une fonction de transport de la thyrosine.

L'APOLIPOPROTEINE A₁ (ou lipoprotéine de haute densité H.D.L.)

° Structure

Elle est caractérisée par un P.M. de 29750. Ce P.M. est proche de celui qui caractérise la lipoprotéine à l'état natif.

° Fonction

Les lipoprotéines sont des complexes formés de l'association de lipides et de protéines . Elles servent à transporter, tout au moins dans le sang, les lipides insolubles dans l'eau.

Les H.D.L. ont une dimension de 7,5-10,0 nm (ce sont les lipoprotéines les plus petites).

LES CHAINES LEGERES κ ET λ

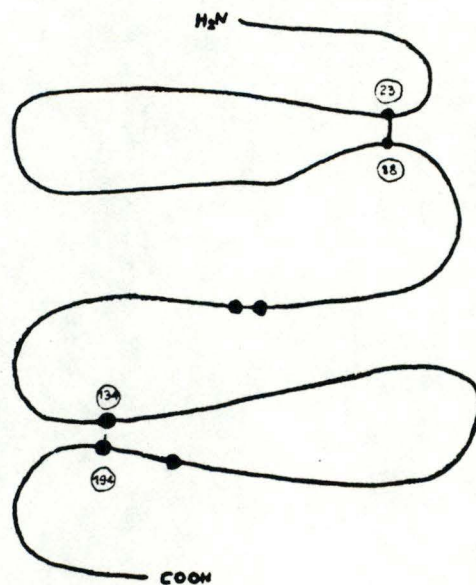
° Structure

Les chaînes légères se retrouvent dans toutes les immunoglobulines sous la forme de deux types principaux de séquences polypeptidiques: les chaînes κ (kappa) et les chaînes λ (lambda).

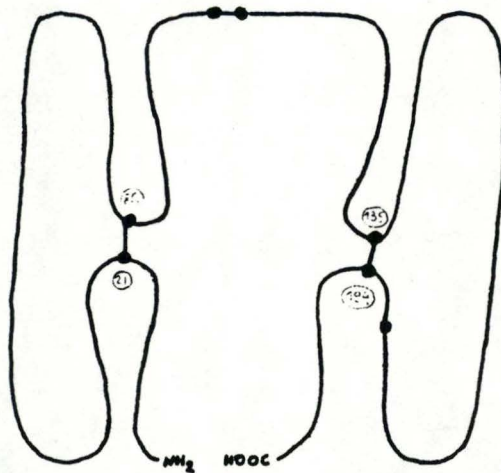
Leur P.M. est de 27500.

Une immunoglobuline quelconque renferme soit l'un, soit l'autre de ces types de chaînes.

Les chaînes légères κ contiennent de 213 à 221 acides aminés. Il y a deux ponts disulfure intercaténaire qui unissent entre eux les acides aminés en positions 23-88 et 134-194.



Les chaînes légères λ contiennent le même nombre d'acides aminés que les chaînes κ . Les positions des ponts disulfure sont pratiquement identiques à celles des chaînes κ .



On retrouve à l'extrémité carboxylique des chaînes légères une cystéine. C'est par l'intermédiaire de cet acide aminé que se fait l'assemblage des chaînes légères avec les chaînes lourdes correspondantes par constitution d'un pont disulfure. C'est ce pont disulfure qui est responsable, lorsqu'il est réduit au cours du traitement des LCR au dithiothréitol, de la dissociation des immunoglobulines en chaînes lourdes et en chaînes légères.

CHAPITRE VII

PROFILS PROTEIQUES DU LCR DANS DIVERSES AFFECTIONS NEUROLOGIQUES

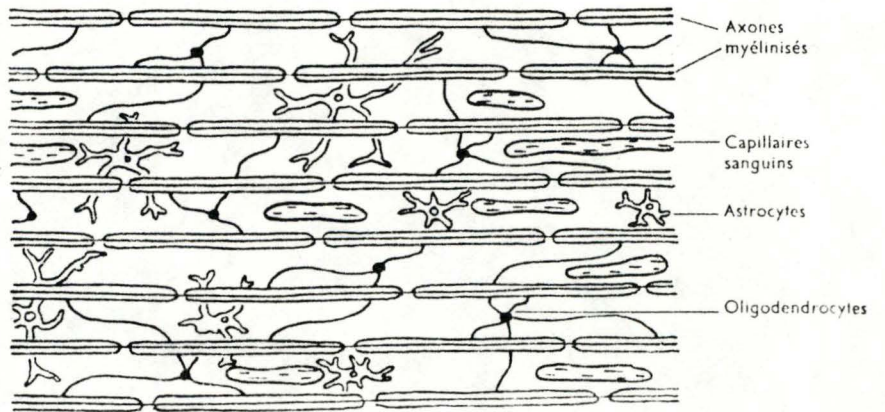


Schéma de la constitution de la substance blanche .

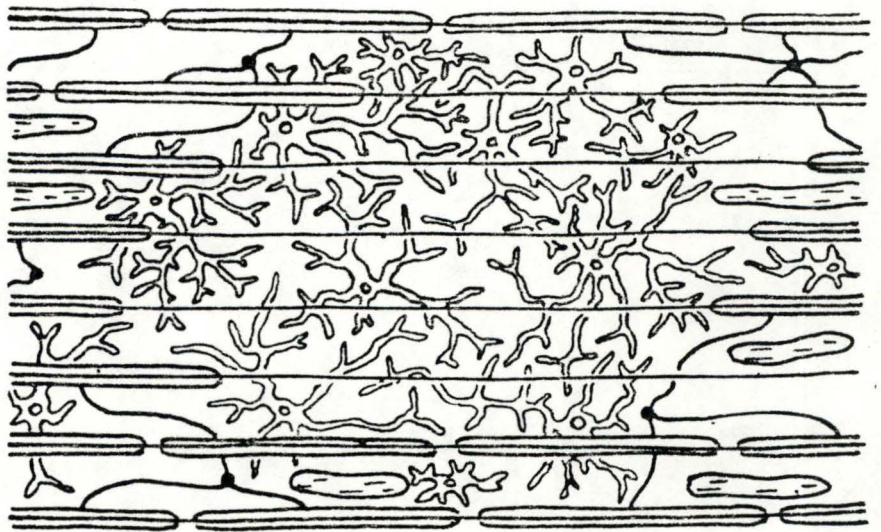


Figure 19:Schéma de la constitution d'une "plaque" (il ne persiste plus que des axones ayant perdu leur myéline et des astrocytes très nombreux).
(Comité national de la sclérose en plaques;Paris;1976).

VII. 1. LA SCLEROSE EN PLAQUES

VII. 1.1. INTRODUCTION

La sclérose en plaques (SEP) est une maladie caractérisée par sa chronicité et sa prédilection pour des sujets jeunes, âgés de 20 à 30 ans, chez lesquels elle peut engendrer des infirmités plus ou moins sévères. Sa prévalence dans une population générale est approximativement de 3,35 pour 100.000. La sclérose en plaques est certainement le résultat de la combinaison d'une prédisposition héréditaire et de facteurs liés à l'environnement. Un des facteurs le plus probable est la stimulation virale qui reste hautement suspecte. En effet, les immunoglobulines produites dans le LCR chez les patients atteints de SEP sont dirigés contre des agents viraux tels que rubéole, oreillons, varicelle, rougeole. Une étude récente montre que 50 à 70% des patients avec SEP possèdent des anticorps dirigés contre la rougeole dans leur LCR. Ces anticorps sont des IgG secrétés à la suite de la différenciation des lymphocytes B et T. Aucune étiologie ne peut actuellement être retenue; la médecine ne dispose donc pas de véritable traitement curatif.

La SEP est le résultat d'une atteinte de la myéline, une substance crémeuse blanche qui couvre les fibres nerveuses en les isolant pour permettre le passage de faibles impulsions électriques (Fig.19).

L'attaque par le processus auto-immun des oligodendrocytes entraîne la détérioration de la myéline et la séparation de la fibre nerveuse. Il en résulte des lésions contenant des macrophages, des lymphocytes, des cellules présentes dans le plasma, de petites quantités de protéines basiques de myéline, donc, une augmentation des enzymes protéolytiques. Vis-à-vis

de la disparition des oligodendrocytes, lorsque ces lésions se cicatrisent, la myéline est remplacée par du tissu cicatriciel : les astrocytes prolifèrent abondamment. Leurs prolongements se multiplient et forment une trame fibrillaire très serrée; il s'ensuit l'induration du parenchyme nerveux. Ce phénomène a été décrit par les premiers observateurs sous le nom de "sclérose". La sclérose est donc un processus secondaire dans cette pathologie dont la caractéristique essentielle est la démyélinisation de la substance blanche. Les zones démyélinisées et sclérosées sont bien délimitées en plaques d'où le nom de la maladie. Par conséquent, les impulsions nerveuses sont court-circuitées ou entièrement bloquées. Tout cela conduit aux symptômes caractéristiques de la SEP : perte de coordination, strabisme, faiblesse, perte de l'équilibre, ...

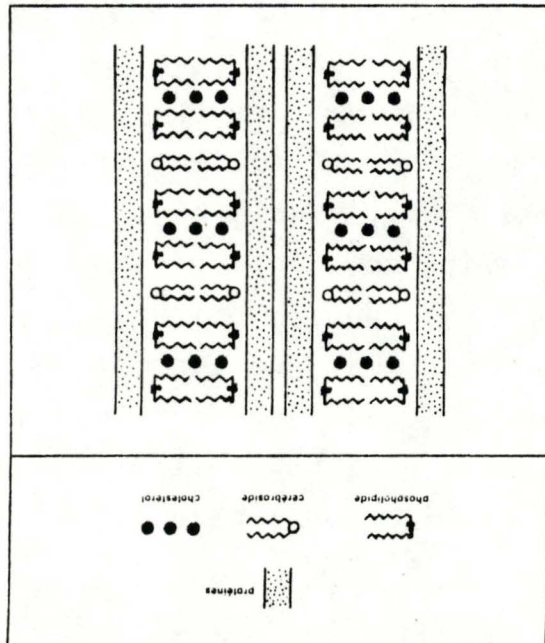
Structure de la myéline

La myéline est une sphingomyéline, lipide complexe appartenant au groupe des phosphosphingolipides. Dans sa structure, la sphingénine est unie à l'acide gras par une liaison amide, alors que sa fonction alcool primaire est estérifiée par une molécule d'acide phosphorique, elle-même unie à une molécule de choline. La myéline occupe une place fondamentale dans la structure du tissu nerveux et de ses enveloppes. Ainsi, dans le SNC, seule la myéline entoure les fibres nerveuses. Divers lipides composent la myéline. Les pourcentages de ces lipides sont repris dans ce tableau :

	% par poids
Glycolipides	28
Cholestérol	22
Phosphatidyl-ethanolamine	15
Phosphatidyl-choline	10
Phosphatidylsérine	9
Sphingomyéline	8
Autres	8

Figure 20

Structure schématique de la myéline (d'après Fincan, 1958)



La myéline est constituée de couches lipidiques bimoléculaires alternant avec des couches protéiniques parallèles à l'axone (fig. 20). Cette disposition s'explique par le caractère bipolaire des lipides complexes. Il existe, en effet, au niveau de la molécule un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe. La charge électrique portée par le pôle hydrophile dépend du pH du milieu; au pH physiologique, la dissociation des fonctions est peu différente pour l'une ou l'autre : la charge électrique résultant des phospholipides est nulle. Il n'y aura donc pas de répulsion avec d'autres groupements polaires et les liaisons avec le milieu aqueux ambiant s'en trouveront facilitées. C'est de cette façon qu'est expliquée la stabilité des membranes du tissu nerveux.

L'atteinte de gaines myéliniques entraîne une disparition de la transmission des influx nerveux tout au moins au stade aigu de la démyélinisation. La récupération, au moins partielle, est permise par la conservation des axones dans un premier temps. Cependant, une plaque démyélinisée, scléreuse constitue un lieu de moindre résistance. Ceci explique la possibilité de réaggravation temporaire en l'absence de toute nouvelle démyélinisation, lorsque des conditions extérieures ou des facteurs intrinsèques viennent perturber la transmission de l'influx nerveux dans des axones dénudés.

Toutefois, l'existence d'une démyélinisation ralentit définitivement la conduction des influx nerveux.

L'évolution et la sévérité de la maladie varient très fortement d'un cas à l'autre et sont imprévisibles.

- L'augmentation des immunoglobulines n'est pas constante chez tous les patients atteints de SEP.

Seules, trois possibilités peuvent l'expliquer :

1. La distribution des lésions de démyélinisation
2. L'activité des lésions de démyélinisation
3. Un échantillon non représentatif dû à une cause indéterminée.

- L'association entre la SEP et certains haplotypes HLA est observée.

La SEP serait associée au type HLA DR2. La fréquence de l'antigène chez les patients de SEP est de 59% alors que chez les sujets non atteints, cette fréquence est de 26%.

Les échantillons de LCR doivent être rapidement transportés au laboratoire en même temps que le sérum correspondant tout en évitant les expositions au soleil et les températures élevées. L'échantillon doit être en quantité suffisante (au moins 10 ml).

Pour éviter les contaminations sériques, il convient de fragmenter l'échantillonnage et réserver les derniers flacons pour la numération, la protéinorachie et les dosages immunologiques.

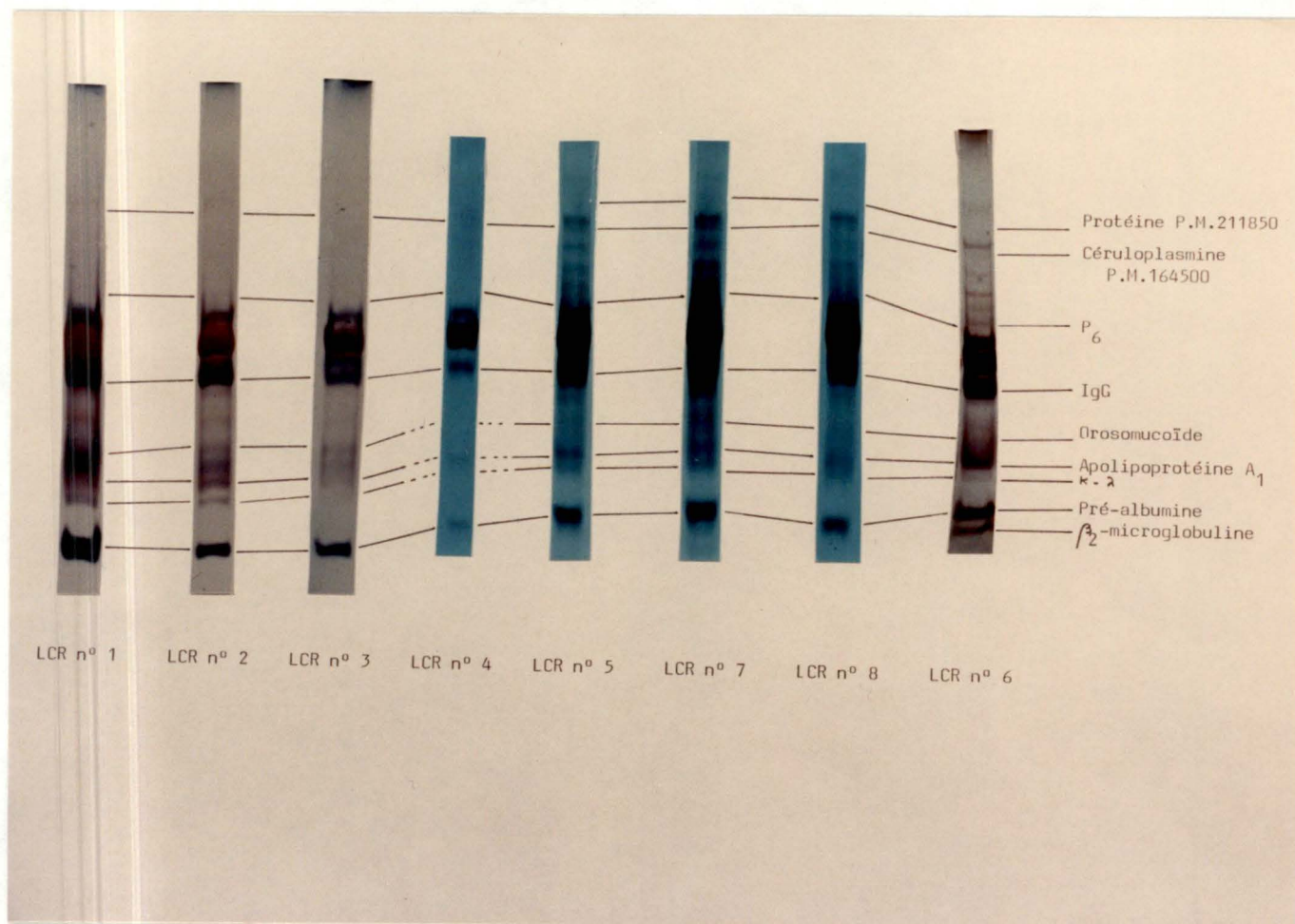
VII. 1.2. CRITERES CLINIQUES D'UNE SEP CERTAINE

- 1.- Deux épisodes séparés par moins de un mois dans l'historique d'acalmie et d'activité de la maladie, chaque épisode ayant une durée de 24 heures minimum.
- 2.- Progression lente ou par-à-coups avec extension de la maladie pendant une période de 6 mois.
- 3.- Signes neurologiques attribuables à un LCR pathologique :
 - a) anticorps dirigés contre la myéline, rencontrés davantage après la seconde qu'après la première attaque;

- b) présence de composants oligoclonaux;
 - c) index IgG augmenté;
 - d) présence d'IgG alcalines après précipitation par le sulfate d'ammonium et isofocalisation;
 - e) augmentation du volume hydrodynamique qui influence la filtration au niveau de la BHM.
- 4.- Le maintien des symptômes, habituellement entre 10 et 50 ans.
- 5.- Pas d'explication neurologique meilleure.

VII. 1.3. RESULTATS EXPERIMENTAUX :

CARACTERISTIQUES DES BANDES PROTEINIQUES PRESENTES DANS LE LCR DES SUJETS ATTEINTS DE SEP (sur gel polyacrylamide en milieu SOS).



La détection des protéines et leurs variations sont observées sur les tracés électrophorétiques des échantillons de LCR.

Des protéines supplémentaires apparaissent dans le LCR de certains patients : la β_2 - microglobuline (cette protéine est visualisable sur le LCR n°6) et une protéine de PM = 211850, située entre P₁ et P₂, dont la nature n'a pas été déterminée (cette protéine est visualisable sur le LCR N°1, 2, 3 et 8).

Quelques protéines varient systématiquement dans le même sens chez certains patients atteints de SEP :

- céruloplasmine PM = 164500 ↘
- P₆ ↘
- IgG ↗
- orosomucoïde ↗
- Apolipoprotéine A₁ ↗
- les chaînes légères ↘
- Pré-albumine PM = 17500 ↗

Si les diverses bandes de certains échantillons de LCR apparaissent moins intensément après révélation du gel par rapport à d'autres profils, c'est parce que le volume de LCR concentré disponible pour l'électrophorèse est faible. La quantité de protéines présente dans ce volume est donc moindre.

VII. 1.4. RESULTATS ET DISCUSSION :

DOSAGE DES PROTEINES EFFECTUE PAR NEPHELOMETRIE
LASER (B.L.N. Behring) ET PAR ELECTROPHORESE DES
LCR SUR ACETATE DE CELLULOSE.

- La concentration en protéines dans les cas de SEP

Tableau 1

	Protéines 26-50 mg/dl	Albumine 11,0-38,0mg/dl	IgG 0,7-3,5 mg/dl	IgG/Albumine	IgA 0,25-0,52 mg/dl	IgM 0,0-0,1 mg/dl
LCR n° 1	55	23,5	3,96	0,16	0,2	0,08
LCR n° 2	46	22,4	4,15	0,18	0,2	0,01
LCR n° 3	39	14,2	2,45	0,17	0,2	0,07
LCR n° 4	34	14,6	3,45	0,23	0,2	0,1
LCR n° 5	29		6,1	0,21	0,7	0,17
LCR n° 7	60	33,7	2,6	0,07	0,2	0,08
LCR n° 8	68	28,2	4,0	0,14	0,2	0,07

est similaire, voire légèrement augmentée par rapport à la concentration normale en protéines (tableau 1).

Ces résultats sont en accord avec les résultats renseignés dans la littérature.

- La concentration en albumine reste inchangée généralement, alors que la littérature évoque une augmentation d'albumine dans les cas de SEP.
- Les IgG sont dans la plupart des cas en concentration élevée. Ce résultat est en accord avec les renseignements fournis dans la littérature.

Une teneur élevée en IgG associée à une teneur normale en albumine ne peuvent être les seuls éléments intervenant dans l'élaboration du diagnostic de SEP. En effet, certains patients atteints de SEP présentent des titres d'IgG et d'albumine tout-à-fait normaux.

C'est pourquoi il est préférable de tenir compte du pourcentage d'IgG du LCR, évalué par électrophorèse sur acétate de cellulose. Ce pourcentage élevé est significatif dans les cas de SEP.

- Les IgA sont en concentration normale dans le LCR. Certains chercheurs ont avancé que les IgA étaient en concentration élevée dans le LCR chez 12% des patients atteints de SEP.
- Les IgM sont en concentration normale dans le LCR. Selon certains chercheurs, l'augmentation des IgM dans le LCR de ces patients serait rare alors que pour d'autres chercheurs les IgM seraient en concentration élevée dans le LCR de 25% de ces patients.
- Le quotient $\frac{\text{IgG}}{\text{Albumine}}$ est significativement élevé chez certains patients atteints de SEP. Ce quotient a été proposé par Tourtellotte (1970) car l'albumine est considérée comme un marqueur des échanges hémato-méningés. Ce quotient est calculé afin de détecter toute synthèse locale d'IgG à l'intérieur du SNC. Ainsi, lorsque le quo-

Tableau 2

	Fraction V 3-5%	Albumine 55-65%	α_1 3-5%	α_2 3-7%	$\beta - \tau$ 12-16%	γ 7-11%
LCR n° 1	5	53	4	4	15	19
LCR n° 2	5,92	45,80	5,33	5,76	13,70	23,48
LCR n° 3	8,19	51,06	5,07	5,81	13,86	15,98
LCR n° 4	5	65	2	2	11	15
LCR n° 5	1,62	58,60	4,76	4,35	12,93	17,73
LCR n° 7	3,42	69,53	4,92	3,66	10,91	7,54
LCR n° 8	3,31	66,48	2,68	2,87	11,18	13,47

tient est supérieur à 50%, les IgG sont synthétisés dans le SNC.

Toutefois, des études ont montré que ce quotient était variable d'un patient à l'autre. Le quotient $\frac{\text{IgG}}{\text{Albumine}}$ varie chez le sujet normal dans des limites assez larges puisqu'il peut être compris entre 3% et 50% avec des valeurs moyennes de 10% à 20%. La littérature indique que le rapport $\frac{\text{IgG}}{\text{Albumine}}$ est élevé chez 60% des personnes souffrant de SEP.

Par l'électrophorèse sur acétate de cellulose (tableau 2), nous constatons que la fraction V, appelée également Pré-albumine est en pourcentage normal voire augmenté dans le LCR.

La pré-albumine serait en concentration plus élevée dans le LCR de ces patients, selon la littérature.

L'albumine est en pourcentage normal, diminué ou augmenté suivant les patients atteints de SEP alors que la concentration en albumine est normale chez tous ces patients. Ces dissociations sont dues à l'utilisation de méthodes différentes pour quantifier les protéines présentes dans le LCR. Les valeurs des dosages de protéines obtenues par néphélométrie Laser sont exprimées en mg/dl; celles obtenues par électrophorèse sur acétate de cellulose sont exprimées en pourcentage. Précisément, dans le cas de la SEP, le pourcentage d'albumine peut être inférieur à la normale, principalement en raison de la forte augmentation du pourcentage des gamma-globulines.

La fraction d' α_1 -globulines est en pourcentage variable : Normal, diminué ou augmenté.

La littérature renseigne une concentration d' α_1 -globuline faible.

La fraction des α_2 -globulines existe en pourcentage normal voire diminué dans le LCR des patients.

Selon les publications, les α_2 -globulines sont en concentration inférieure à la normale.

La fraction des γ -globulines existe en pourcentage normal voire diminué dans le LCR de ces patients.

La fraction constituée par les gamma-globulines est en pourcentage élevé voire très élevé.

VII 1.5. ESTIMATION DE LA SYNTHÈSE LOCALE D'IMMUNOGLOBULINES DANS LE SNC DE PATIENTS ATTEINTS DE SEP

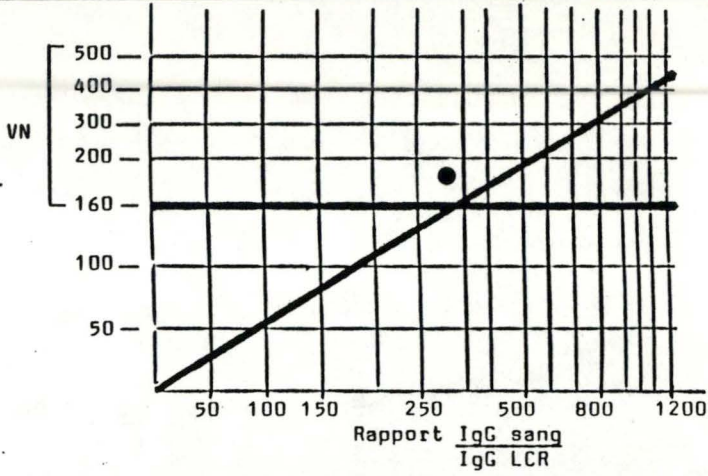
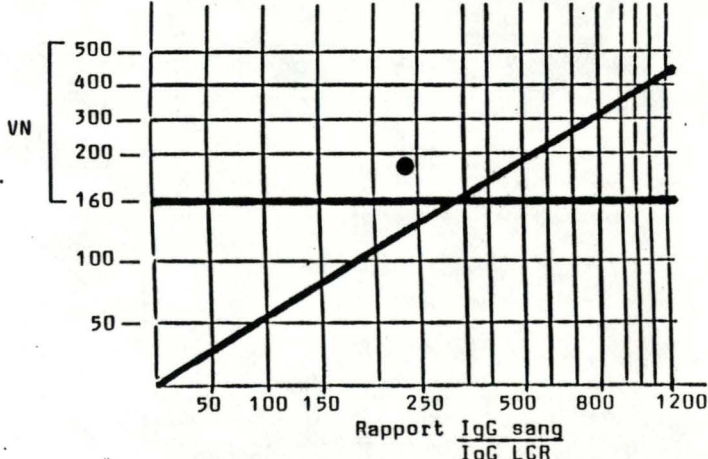
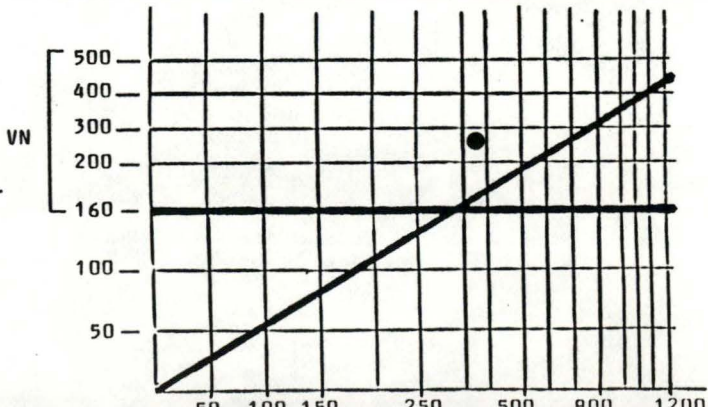
1.- Les IgG.

L'index IgG (cfr chapitre III.) est souvent élevé chez ces patients. Si l'index IgG est normal, nous pouvons soupçonner chez ces patients un rapport $\frac{\text{Albumine LCR}}{\text{Albumine sang}}$ élevé : la BHM est altérée parallèlement à la synthèse locale d'IgG dans le SNC. En présence d'une barrière hémato-méningée altérée, chaque rapport protéine $\frac{\text{LCR}}{\text{sang}}$ augmente.

L'index, cependant, peut rester constant.

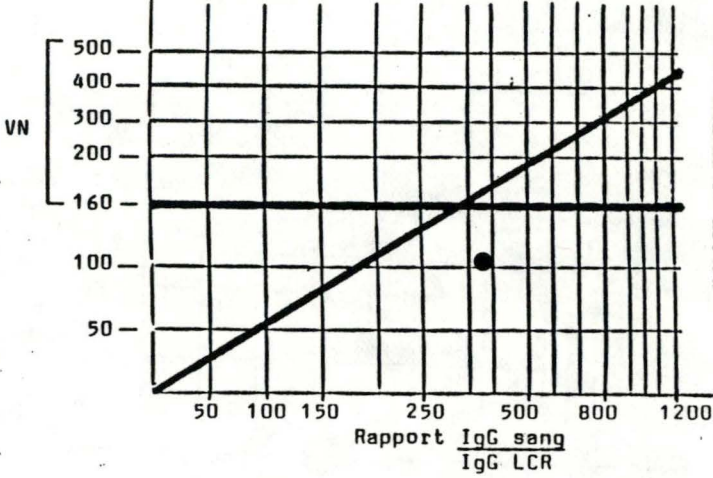
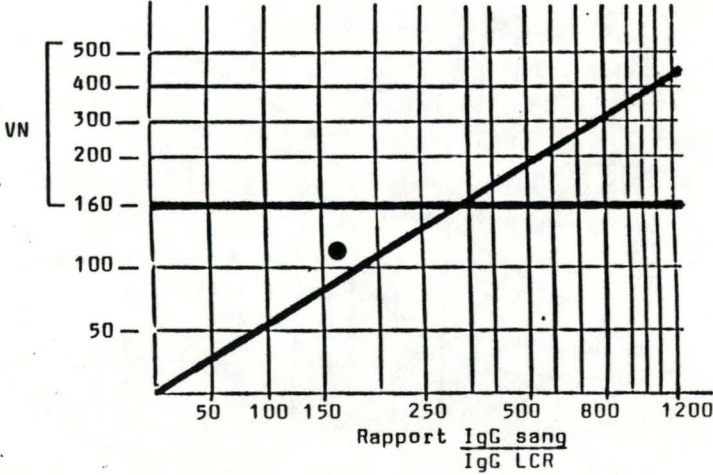
L'index IgG est significativement élevé uniquement dans les cas particuliers où les immunoglobulines sont synthétisées à l'intérieur du SNC. L'index IgG est élevé chez 90% des patients, selon la littérature.

Outre l'index IgG, les méthodes de Tourtellotte, de Schüller ainsi que celle mise au point et utilisée au laboratoire semblent être les méthodes les mieux appropriées pour estimer la synthèse intrathécale des immunoglobulines G (cfr chapitre III).

Tableau 3	Index IgG	Formule de Tourtellotte	Formule de Schüller	Méthode graphique IgG
LCR n° 1	0,63	9,95	10,54	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</div> <u>Rapport :</u> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div>  </div>
LCR n° 2	0,81	12,14	14,13	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</div> <u>Rapport :</u> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div>  </div>
LCR n° 3	0,74	7,56	9,59	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</div> <u>Rapport :</u> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div>  </div>

	Index IgG	Formule de Tourtellotte	Formule de Schüller	Méthode graphique IgG
LCR n° 4	1,02	12,45	19,71	<div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px; margin-bottom: 5px;">IgG</div> <p>Rapport :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$
LCR n° 5	0,54	9,42	19,96	<div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px; margin-bottom: 5px;">IgG</div> <p>Rapport :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$

Tableau 3 (suite)

	Index IgG	Formule de Tourtellotte	Formule de Schüller	Méthode graphique IgG
LCR n° 7	0,29	-3,42	-19,29	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</div> <u>Rapport</u> : $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div>  </div>
LCR n° 8	0,74	10,08	5,37	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</div> <u>Rapport</u> : $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div>  </div>

L'index IgG est généralement élevé dans le LCR de ces patients (tableau 3).

Les méthodes de Tourtellotte et de Schüller indiquent la présence de synthèse intrathécale d'IgG.

Suivant la méthode graphique utilisée au laboratoire, les LCR N°1, 2, 3, 4 et 5 parmi les SEP "certaines" renseignent l'existence d'une synthèse locale d'IgG dans le SNC.

Le LCR N°5 montre que la synthèse intrathécale d'IgG a lieu en présence d'une BHM altérée.

Parmi les SEP "probables",

le LCR N°7 présente uniquement une BHM altérée

le LCR N°8 indique une synthèse intrathécale d'IgG parallèlement à une altération de la BHM.

2.- Les IgM

Parmi les SEP certaines, les LCR N°1, 2 et 3 présentent un graphe normal où il n'y a pas de synthèse intrathécale d'IgM.

Le LCR N°4 indique une synthèse intrathécale d'IgM.

Le LCR N°5 montre que la BHM est altérée : ceci explique la concentration élevée des IgM dans le LCR.

Parmi les SEP probables, les LCR N°7 et 8 sont caractéristiques d'une BHM altérée, sans synthèse intrathécale d'IgM.

L'index IgM peut être calculé pour détecter toute synthèse intrathécale d'IgM (tableau 4).

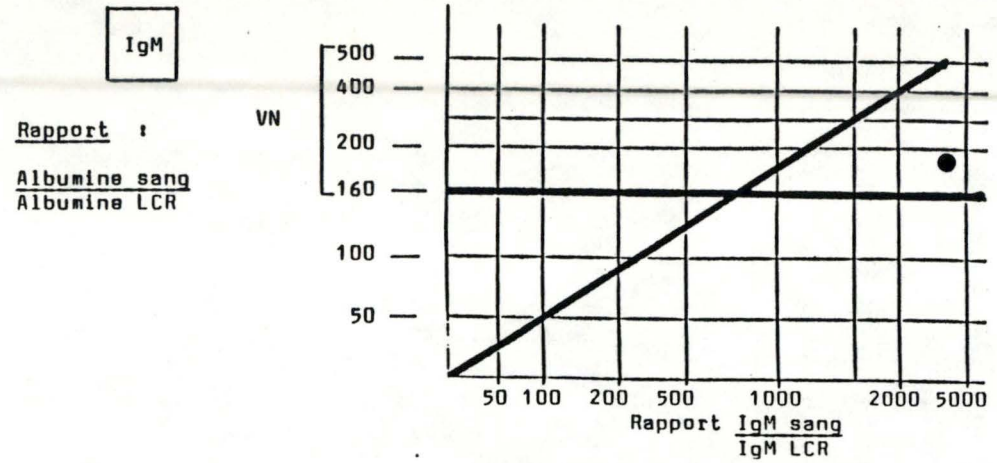
Tabl.4

Index IgM

Méthode graphique IgM

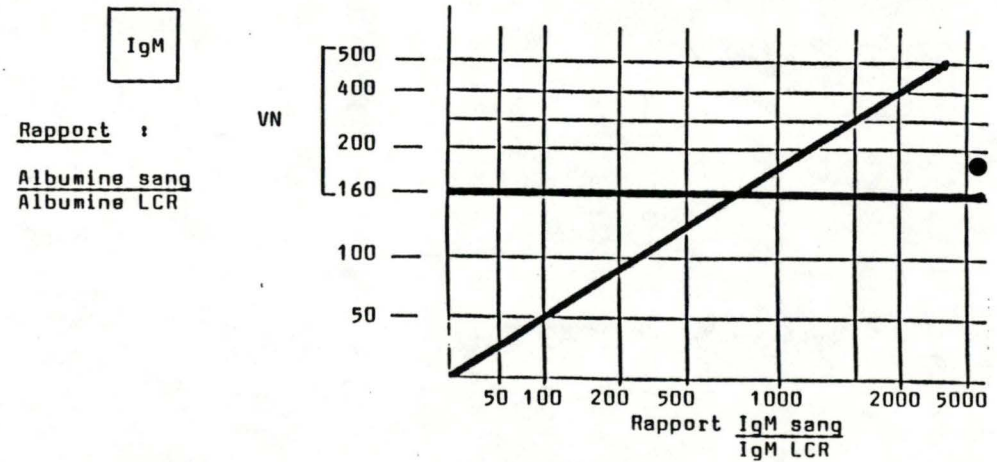
LCR n°1

0,0011



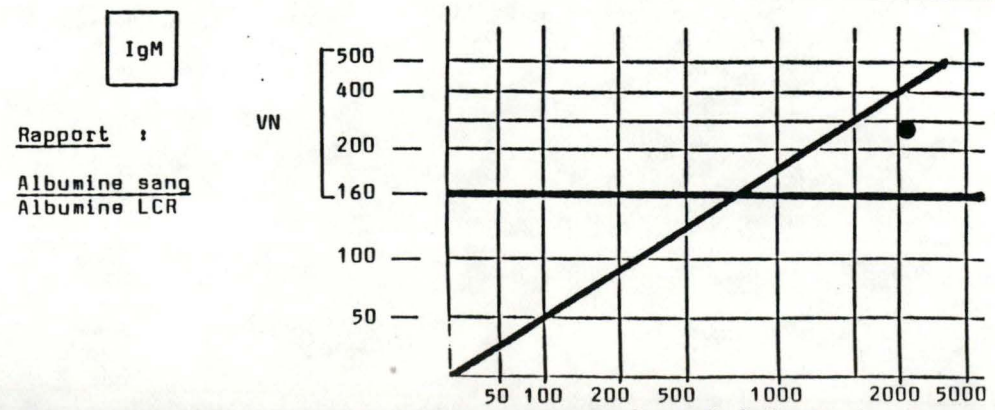
LCR n°2

0,0004



LCR n°3

0,0303



Index IgM

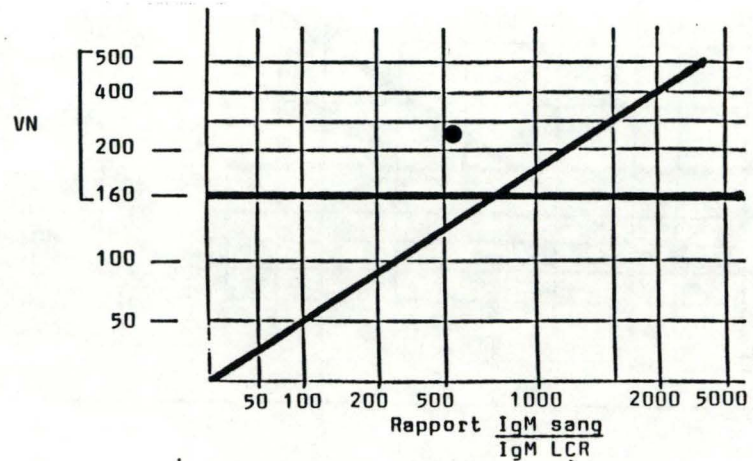
Méthode graphique IgM

LCR n°4

7,75

IgM

Rapport :
 $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$



LCR n°5

0,0039

IgM

Rapport :
 $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$

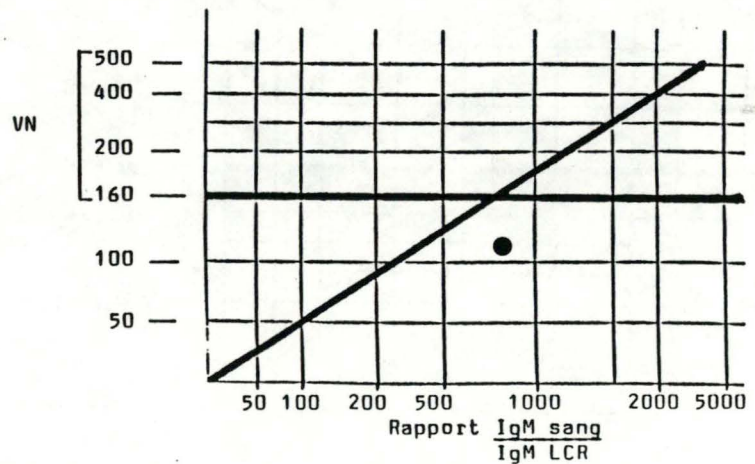
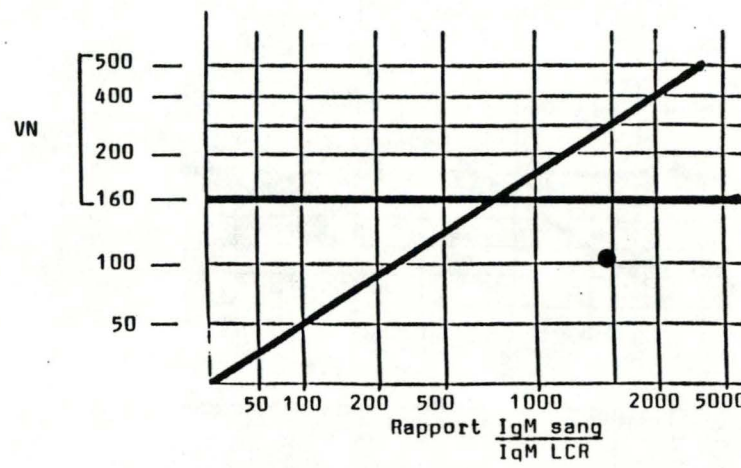
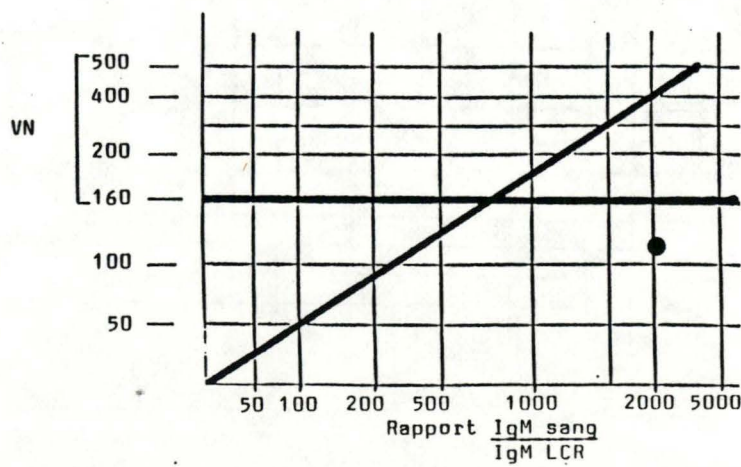


Tableau 4 (suite)

	Index IgM	Méthode graphique IgM
LCR n°7	0,0020	<div style="text-align: center;"> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">IgM</div> </div> <p>Rapport :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ 
LCR n°8	0,0016	<div style="text-align: center;"> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">IgM</div> </div> <p>Rapport :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ 

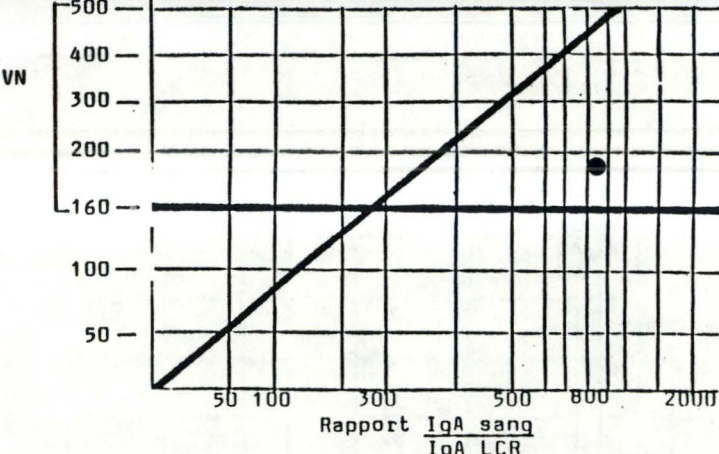
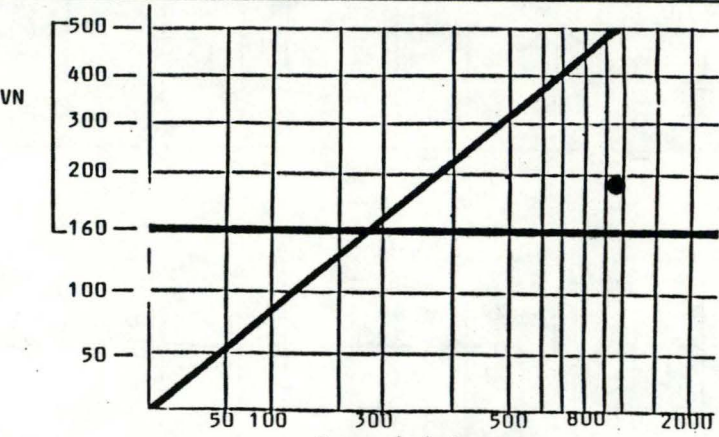
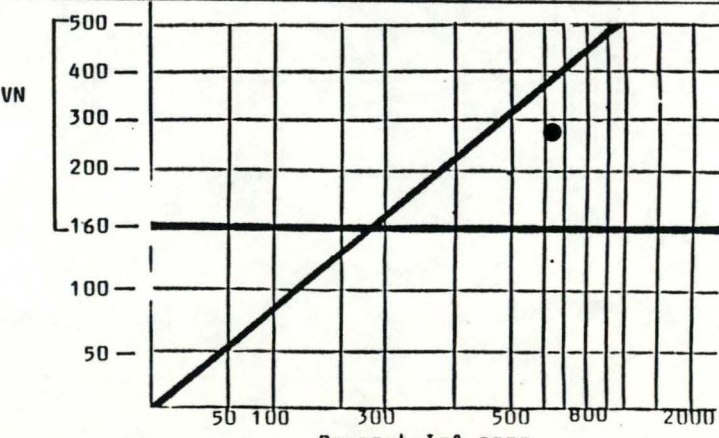
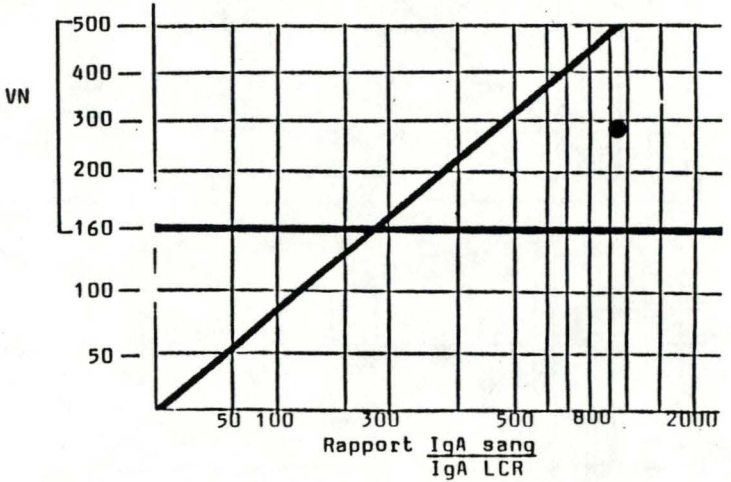
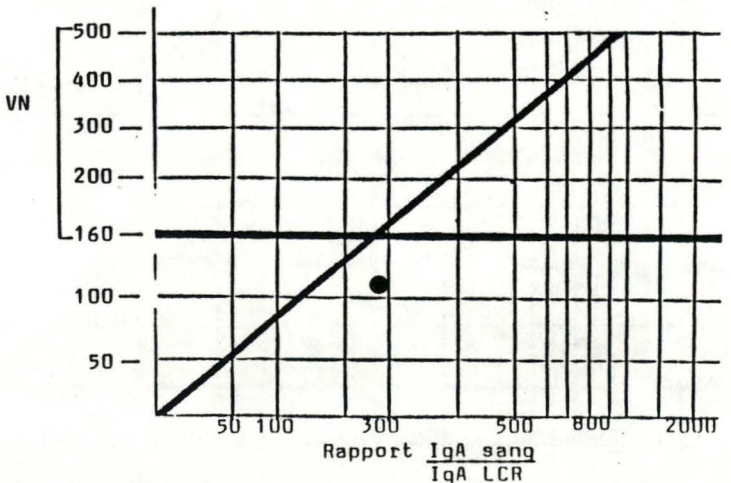
LCR n°1	0,0060	<div data-bbox="1064 7 1131 75" style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgA</div> <u>Rapport :</u> <u>Albumine sang</u> <u>Albumine LCR</u>	
LCR n°2	0,0053	<div data-bbox="1064 506 1131 574" style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgA</div> <u>Rapport :</u> <u>Albumine sang</u> <u>Albumine LCR</u>	
LCR n°3	0,0120	<div data-bbox="1064 1005 1131 1073" style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgA</div> <u>Rapport :</u> <u>Albumine sang</u> <u>Albumine LCR</u>	

Tableau 5 (suite)

	Index IgA	Méthode graphique IgA
LCR n°4	0,0078	<div data-bbox="1079 340 1153 415" style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-bottom: 10px;">IgA</div> <p data-bbox="1003 453 1137 476"><u>Rapport</u> :</p> <p data-bbox="1003 501 1182 547"><u>Albumine sang</u> <u>Albumine LCR</u></p> 
LCR n°5	0,0113	<div data-bbox="1079 929 1153 1005" style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block; margin-bottom: 10px;">IgA</div> <p data-bbox="1003 1050 1137 1073"><u>Rapport</u> :</p> <p data-bbox="1003 1099 1182 1144"><u>Albumine sang</u> <u>Albumine LCR</u></p> 

Index IgA

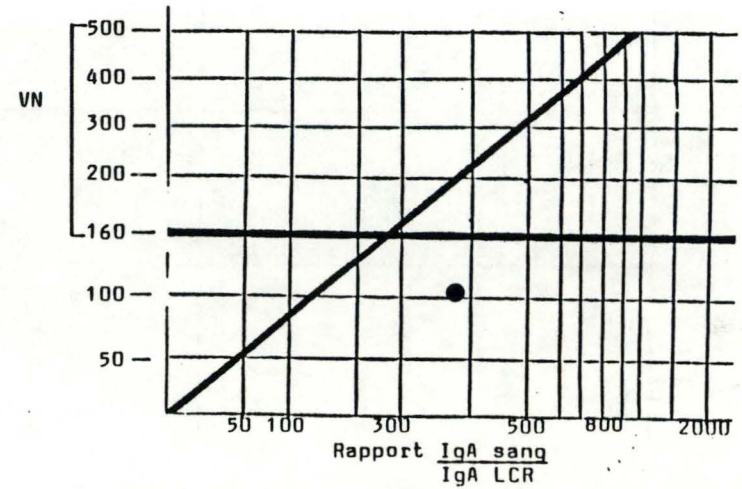
Méthode graphique IgA

LCR n° 7

0,0079

IgA

Rapport :
 $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$



LCR n° 8

0,0092

IgA

Rapport :
 $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$

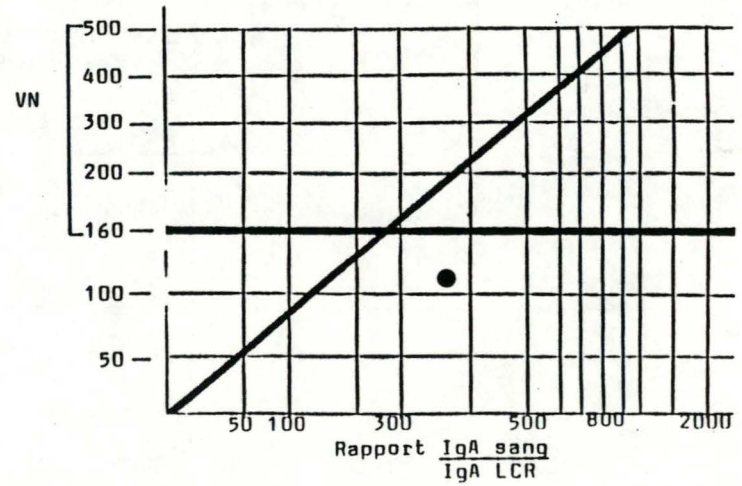


Tableau 6

	Glucose 45-75 mg/dl	Chlorures 115-132 mEq/l	Cytologie: Numération avant hémolyse éléments/mm ³	Cytologie: Numération après hémolyse < 3 éléments /mm ³
LCR n° 1	62	125	7	3
LCR n° 2	67	125	16	16
LCR n° 3	67	124	< 3	-
LCR n° 4	61	121	8	3
LCR n° 5	-	-	-	1
LCR n° 7	57	121	5	3
LCR n° 8	59	126	55	50

Le LCR N°4 indique une synthèse intrathécale d'IgM.

Ce résultat est en accord avec le résultat obtenu par la méthode graphique.

3.- Les IgA.

Parmi les SEP certaines, seul le LCR N°3 est caractéristique d'une synthèse intrathécale d'IgA. Ceci a pu être détecté grâce à l'index IgA, mais le graphe est normal (tableau 5).

L'index IgA et les graphes des LCR N°1, 2 et 4 sont normaux.

L'index IgA des LCR N°7 et 8 (étant des LCR SEP probable) est également normal : il n'y a pas de synthèse intrathécale d'IgA.

Le graphe de ces mêmes LCR (LCR N°7 et 8) indique non seulement l'absence de synthèse intrathécale d'IgA mais aussi l'existence d'une BHM altérée.

Les tests cytologiques sont effectués sur le LCR avant hémolyse et après hémolyse (afin de s'assurer que les éléments répertoriés dans le LCR ne sont pas des globules rouges).

Les résultats obtenus sont variables d'un LCR à un autre (tableau 6).

Les réactions cellulaires sont différentes suivant les stades de la SEP auxquels se trouvent les patients et suivant l'âge de ces patients.

Dans la littérature, une pléiocytose isolée, plus ou moins fréquente, existerait chez 17% des patients atteints de SEP.

Selon d'autres chercheurs, le nombre d'éléments présents dans le LCR serait supérieur à 5, dans 50% des cas de SEP.

Le glucose et les chlorures ont été dosés dans le LCR : ils sont présents en concentration normale dans le LCR.

VII. 1.6. PROFIL OLIGOCLONAL DE LCR

Les bandes discrètes observées dans la région cathodique de l'électrophorèse des LCR chez certains patients atteints de SEP sont des IgG produites par un nombre limité de cellules B (Laterre, 1965). Ces bandes appelées bandes "oligoclonales", sont reconnues dans les LCR mais pas dans les sérum correspondants. Les IgG trouvées dans les LCR de SEP migrent vers la cathode de façon plus marquée que les immunoglobulines des sujets normaux. Il est reconnu que la charge électrique de l'anticorps produit est déterminée par le pouvoir antigénique de l'antigène.

Les bandes d'IgG appartiennent à la sous-classe d'IgG1 (Vandvik et Al., 1976). La présence de chaînes légères Kappa et lambda libres a été décelée mais sa signification est inconnue. Une explication pourrait être la désynchronisation dans l'assemblage entre les chaînes légères et lourdes pour la formation des anticorps sous une stimulation immunogénique intense. Leur présence est, en fait, associée à une pléiocytose alors qu'aucune corrélation significative n'est observée entre le nombre de chaînes légères et la concentration des protéines totales dans le LCR. Le nombre de chaînes légères lambda est inversement proportionnel à la durée de la maladie. Parmi 38 patients atteints de SEP 33 patients contiennent dans leur LCR 6 bandes lambda, 5 patients présentent une bande kappa (Journal of Neurology, 1985).

Le profil oligoclonal est spécifique pour chaque patient atteint de SEP mais remarquablement constant quand ces patients sont étudiés sur une longue période. Pour approcher la signification de ces bandes, certains chercheurs ont utilisé des antisérum anti-idiotypiques contre les IgG. Les idiotypes sont des déterminants antigéniques localisés sur les fragments Fab des IgG et liés étroitement aux sites de liaison de l'antigène.

Les antisérum anti-idiotypiques peuvent être utilisés pour détecter les idiotypes présentés par tous ou une partie des patients atteints de SEP. Si les idiotypes sont les mêmes (si l'on observe une idiotypie croisée), cela pourrait être un argument en faveur d'un antigène unique provoquant la SEP. En réalité, l'idiotypie croisée n'est pas constatée. Dans tous les cas de SEP, les idiotypes oligoclonaux sont synthétisés préférentiellement à l'intérieur même du SNC. Cependant, les concentrations idiotypiques sont plus élevées dans le sérum que dans les LCR. Cela signifie que les idiotypes des IgG sériques ne proviennent pas en totalité du SNC. Les cellules synthétisant de tels anticorps sont présentes dans le sérum soit par expansion des cellules en-dehors du SNC soit par retour des cellules B dans le sang. Nagelkerken and Out (1983) ont montré que la stimulation *in vitro* des lymphocytes sériques chez des patients SEP induisait la production d'idiotypes des IgG oligoclonaux du LCR. La production de ces bandes oligoclonales d'IgG n'est donc pas une caractéristique exclusive du SNC mais aussi un phénomène immunologique.

En conclusion, les bandes oligoclonales n'ont pas de spécificité antigénique contre des virus connus ou des antigènes cérébraux de sclérose en plaques. Tant que la spécificité des anticorps pour certains antigènes présents à l'intérieur du SNC n'a pas pu être démontrée, le processus pathogénique de SEP reste incertain.

Les bandes IgG peuvent être produites par les cellules B activées de façon non spécifique par une stimulation mitogénique originaire du tissu nerveux endommagé par la SEP.

VII. 1.7. ANALYSE DU LCR EN FONCTION DE LA PERSISTANCE

 DE LA SEP, L'AGE AUQUEL LES PATIENTS SONT AFFECTES,

 L'ACTIVITE DE LA MALADIE ET LA PRESENCE DE

 BANDES OLIGOCLONALES.

Des études ont été effectuées pour la recherche d'une corrélation entre contenu cellulaire, présence de bandes oligoclonales, augmentation des indices des immunoglobulines et le temps écoulé depuis l'établissement de la maladie et les échantillonnages. Aucune différence significative n'a été relevée entre les patients anciennement ou récemment atteints (Tableau B).

Interval between clinical onset and sampling

	< 6 months	6 months to 2 years	2 to 5 years	5 to 10 years	> 10 years	Total
High CSF/serum albumin ratio. 10^3 (> 7.8)	4/32 (12.5%)	2/45 (4%)	4/38 (10%)	1/27 (4%)	2/37 (5%)	13/181 (7%)
High cell count (> 5/mm ³)	12/32 (37.5%)	21/45 (46.5%)	12/38 (32%)	3/27 (11%)	10/37 (37%)	58/179 (32%)
Oligoclonal bands	27/32 (84%)	37/45 (82%)	30/38 (79%)	24/29 (83%)	32/37 (86.5%)	150/181 (83%)
High IgG index (> 0.69)	18/32 (56%)	29/45 (64%)	19/38 (50%)	18/29 (62%)	27/37 (73%)	111/181 (61%)
High IgM index (> 0.079)	7/30 (23%)	15/41 (33%)	9/33 (27%)	6/27 (22%)	5/29 (17%)	42/160 (26%)
High IgA index (> 0.42)	1/24 (4%)	7/27 (26%)	2/27 (7%)	1/18 (5.5%)	5/21 (24%)	16/117 (14%)
High IgG synthesis* (> 2.7 mg/day)	20/32 (62.5%)	34/45 (76%)	26/38 (68%)	20/29 (69%)	29/37 (78%)	129/181 (71%)
Mean IgG synthesis*, mg/day (SD)	11 (13.6)	14.4 (17)	13.3 (20.4)	12.3 (17.4)	13.7 (13.4)	12.9

* Calculated according to the Tourtellotte's formula, modified by the use of our own reference values.

Tableau B (selon C.J.M.Sindic; Cérébrospinal fluid proteins in diseases of the nervous system; 1985).

A partir de ce tableau, nous pouvons faire les remarques suivantes :

- La BHM est endommagée chez 7% des patients : le rapport $\frac{\text{Albumine LCR}}{\text{Albumine sérum}}$ est élevé ($> 7,8$)
- 1/3 des patients malades depuis 10 ans ont un contenu cellulaire élevé ($> 5/\text{mm}^3$)
- le pourcentage des patients présentant des bandes oligoclonales dans le LCR est remarquablement constant quelle que soit la durée de la maladie (= 83% en moyenne)
- un index IgM élevé n'est pas lié à l'établissement de la maladie
- la synthèse moyenne d'IgG est semblable dans les divers groupes de patients atteints depuis une courte ou longue période.

Les mêmes paramètres ont été analysés, non plus sur des patients dont on tenait compte de la durée de la maladie, mais en fonction de l'âge auquel les patients étaient atteints (Tableau C).

	Age of onset (years)		
	15-29	30-39	≥ 40
High cell count ($> 5 \text{ mm}^3$)	16/31 (52%)**	14/29 (48)**	3/17 (18%)**
Oligoclonal bands	28/31 (90%)	22/29 (76%)	14/17 (82%)
High IgG index (> 0.69)	19/31 (61%)	15/29 (52%)	13/17 (76%)
High IgM index (> 0.079)	10/27 (37%)	7/27 (26%)	5/17 (29%)
High IgA index (> 0.42)	3/21 (14%)	2/17 (12%)	3/14 (21%)
IgG synthesis* ($> 2.7 \text{ mg/day}$)	22/31 (71%)	19/29 (65.5%)	13/17 (76%)
Mean IgG synthesis*, mg/day (SD)	13.1 (18.1)	12.2 (15.6)	13.7 (11.1)

Tableau C (C.J.M.SINDIC;1985).

La SEP de ces patients s'était déclarée endéans les 2 ans. Nous constatons de façon significative que le contenu cellulaire élevé est trouvé plus fréquemment chez les patients atteints de SEP avant l'âge de 40 ans. La réaction inflammatoire locale semble donc amoindrie quand la SEP débute tardivement, mais la réponse immunitaire locale ne dépend pas de l'âge du patient.

Si on considère l'activité de la maladie au moment de l'échantillonnage, un haut contenu cellulaire est significativement plus fréquent chez les patients en rechute que chez ceux en voie de guérison ou une forme lentement progressive de la maladie (Tableau D).

	Disease activity		
	Relapses	Slowly progressive	Remission
High cell count (> 5/mm ³)	41/98 (41%)**	13/64 (20%)**	3/17 (18%)**
Oligoclonal bands	89/100 (89%)	51/64 (80%)	11/17 (61%)
High IgG index (> 0.69)	61/100 (61%)	43/64 (67%)	8/17 (47%)
High IgM index (> 0.079)	28/94 (30%)	13/53 (24.5%)	2/15 (13%)
High IgA index (> 0.42)	11/65 (17%)	4/43 (9%)	1/10 (10%)
High IgG synthesis* (> 2.7 mg/day)	71/100 (71%)	49/64 (76.5%)	11/17 (65%)
Mean IgG synthesis*, mg/day (SD)	12.85 (14.6)	15.5 (20.4)	6.8 (8.2)

Tableau D (C.J.M.SINDIC;1985).

	Index IgG élevé
SEP certaines N=103	41/58 (71%)
Autres troubles neurologiques N=72	8/72 (11%)

Tableau F (selon A.J.Thompson;1985).

A été effectuée également la relation entre les bandes oligoclonales, le contenu cellulaire, l'indice des immunoglobulines et la synthèse locale d'IgG (tableau E). La présence des bandes oligoclonales est associée significativement avec un index IgG élevé, une synthèse d'IgG importante et un contenu cellulaire élevé (> 5 cellules/mm³). La formule de Tourtellotte (cfr chapitre III.3.2.) utilisée pour déceler toute production locale d'IgG est plus sensible d'environ 10% par rapport à l'index IgG.

	Oligoclonal bands	
	Absent N = 17	Present N = 94
High cell count* ($> 5/mm^3$)	1	32
High IgG index** (> 0.69)	1	65
High IgG synthesis** (> 2.7 mg/day)	2	75
High IgM index (> 0.079)	1	25
High IgA index (> 0.42)	0	14

* Significant ($p < 0.05$).

** Significant ($p < 0.001$).

Tableau E (selon C.J.M.Sindic;1985).

La synthèse des IgG dépasse la valeur de référence (2,7 mg/jour) chez 18 patients (sur 181) présentant des bandes oligoclonales mais un index IgG normal. La non-concordance était spécialement notable chez 5 de ces patients qui avaient un contenu protéinique total élevé dû à une altération de la BHM.

La formule semble donc être moins influencée par un trouble de la BHM par rapport à l'index IgG (comme l'ont pensé Livrea et Al., 1981) surtout dans le cas de la SEP.

L'évaluation de la concentration des IgG dans le LCR permet de distinguer les patients atteints de la SEP des patients atteints d'autres maladies neurologiques. Un index IgG du LCR est élevé dans 71% des SEP certaines alors qu'il n'est élevé que dans 11% des autres maladies neurologiques (tableau F).

Les bandes oligoclonales sont trouvées dans 75% des SEP ET 11% des autres maladies neurologiques (journal of Neurology, 1985).

Un index IgG élevé est observé dans le même pourcentage que les bandes oligoclonales, dans les SEP certaines. L'électrofocalisation, technique utilisée pour détecter les bandes oligoclonales, permet la révélation de ces bandes oligoclonales à 100% dans les SEP certaines.

Parmi les SEP suspectes, 28% des patients ont un index IgG du LCR élevé par rapport à celui du groupe des autres maladies neurologiques; 46% présentent des bandes oligoclonales dans leur LCR.

Parmi les SEP progressives possibles, le pourcentage des bandes oligoclonales (57%) est similaire à la présence d'un index IgG élevé (55%). Ces deux pourcentages sont significativement différents des pourcentages observés dans le groupe des autres maladies neurologiques.

VII. 1.8. ANALYSE DE L'ALBUMINE ET DES IgG PRELEVES DU

CERVEAU ATTEINT

L'albumine et les IgG ont été prélevés de la matière blanche du cerveau d'humains.

Les quantités moyennes d'albumine et d'IgG prélevées des cerveaux SEP ne diffèrent pas significativement de celles prélevées des cerveaux normaux (tableau G).

Normal	MS	SSPE
($\bar{X} = 0.24$; SD = 0.05)	($\bar{X} = 0.33$; SD = 0.1)	($\bar{X} = 0.99$; SD = 0.52)
0.33	0.45*	0.46*
0.25	0.21	0.53*
0.22	0.43*	0.43*
0.23	0.25	0.44*
0.27	0.32	1.16*
0.26		1.79*
0.26		1.17*
0.15		0.98*
		1.32*
		0.97*
		0.69*
		1.98*

* Significantly different ($P < 0.001$) from the mean IgG/albumin ratio in the normal brain.

Tableau G (selon C.J.M.Sindic;1985).

Les rapports IgG/Albumine ne sont pas significativement différents chez ces groupes de patients. Cependant, les échantillons ont été prélevés en des endroits du cerveau de SEP différemment atteints. Certaines parties de ce cerveau contiennent donc des quantités plus élevées d'IgG par rapport à celles que l'on attendrait à partir du contenu en albumine. Cela confirme les résultats de Tourtellotte et Parker (1967), suggérant que les IgG sont produits ou assemblés localement en raison de leur activité dans le cerveau.

L'extraction des IgG de cerveau "SEP" sans l'utilisation d'agents de dissociation indique que les IgG ne sont pas combinés à des structures insolubles. Cependant, on ne sait pas si une partie de ces IgG est libre ou liée sous forme de complexes immuns solubles. Ces derniers pourraient contenir les antigènes d'agents infectieux, des auto-antigènes cérébraux solubles ou des auto-antigènes plus communs tels l'ADN ou les IgG. La découverte de la MBP (myéline basique protéine) se liant au fragment Fc des IgG qui sont aggrégés par la chaleur ou par association

avec un Antigène pourrait expliquer les dépôts d'IgG (Sindic et al., 1980). De tels dépôts ne seraient pas nécessairement dus aux activités des anticorps contre les antigènes cérébraux ou antigènes viraux associés au tissu nerveux. Les complexes immuns peuvent être trappés par la MBP devenue accessible par le processus de démyélinisation.

Mehta et al., 1981, 1982 ont élué de cerveau homogénéisé de SEP des IgG liées en basses concentrations. Ces IgG étaient oligoclonales.

Dans le cerveau de SEP, certaines plaques montrent des IgG liées alors que d'autres plaques en étaient dépourvues. Cela indique que les immuns complexes sont présents dans certains cerveaux de SEP; cependant, de hauts niveaux d'immuns complexes solubles n'ont jamais été observés dans le LCR ou dans le sérum de patients SEP.

VII. 1.9. LE 9^e COMPOSANT DU COMPLEMENT (C₉)

Le LCR de patients atteints de démyélinisation est constitué par une concentration réduite du composant terminal et lytique du système complément (C₉) par rapport à celle qui est observée chez les patients atteints d'autres maladies neurologiques.

De plus basses concentrations en C₉ ont été observées chez les patients atteints de SEP en phase de rechute par rapport aux concentrations détectées chez ces patients en voie de "guérison" ou en maladie chronique progressive. La concentration en C₉ et l'index C₉ seraient des méthodes plus discriminatives que la concentration des IgG et l'index IgG pour diagnostiquer la SEP.

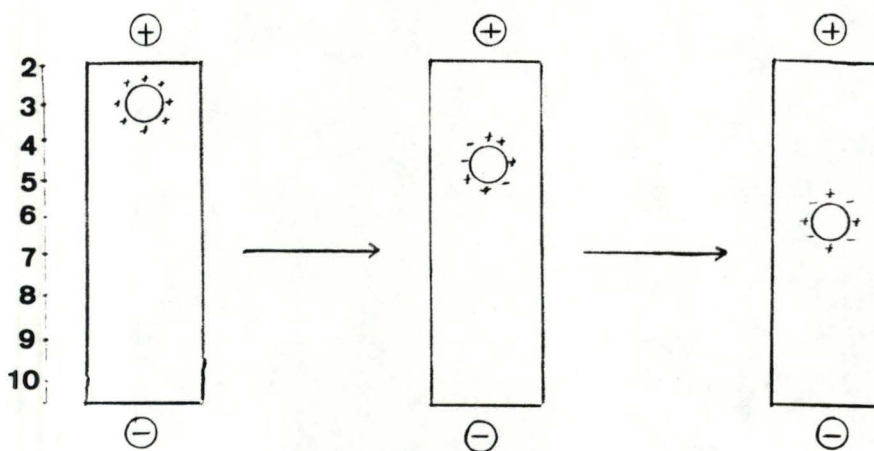
Puisque C₉ ne peut être synthétisé dans le SNC, des concentrations réduites de ce composant dans le LCR impliquent une consommation locale de C₉ consécutive à l'activation du système complément par les IgG ou la myéline endommagée

elle-même; cela se passe simultanément à la formation de complexes attaquant les membranes par lesquels se produit l'amplification de la destruction tissulaire locale.

VII. 1.10. L'ELECTROFOCALISATION

Dans cette technique, les protéines caractérisées par divers points isoélectriques migrent dans un gradient de pH jusqu'à arriver à leur point d'équilibre où leur charge est neutre. La séparation des protéines n'est possible que par la présence de charges sur chaque protéine, charges qui varient suivant le pH du milieu. Ces charges représentent la charge "totale" de la protéine, qui est en fait la sommation des diverses charges positives et négatives se trouvant à la surface de la protéine.

Une protéine se trouvant à un pH inférieur à son point isoélectrique (PI) va se charger positivement; sous l'influence du champ électrique, elle migre vers l'électrode chargée négativement.



Cette protéine se rapproche donc de son PI et sa charge globale diminue jusqu'à atteindre une charge globale nulle. A cet endroit, la protéine s'immobilise.

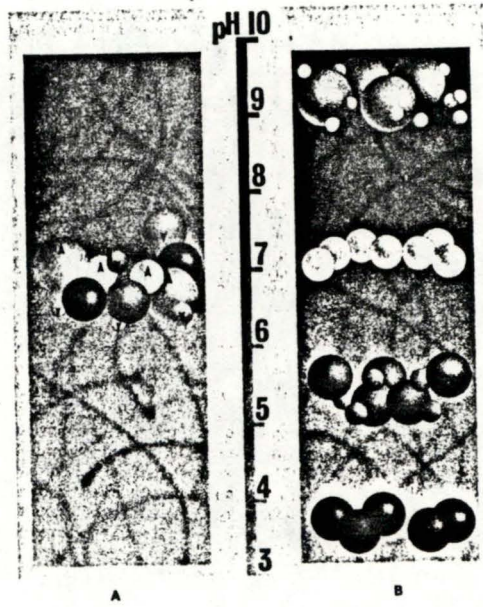


Figure 21

Chaque protéine appartenant à un échantillon de protéines diverses se localise dans une zone étroite de pH correspondant à son PI (Fig. 21).

Une résolution optimale nécessite un gradient de pH stationnaire. Le gradient de pH est réalisé à partir d'amphotères ayant des PI différents. "Ampholines" est le nom du mélange des amphotères qui, lorsqu'ils sont soumis à un champ électrique, se disposent selon leur PI. Les amphotères les plus acides (PI les plus bas) se concentrent vers l'anode et les plus basiques (PI les plus élevés) vers la cathode.

Dans le gradient de pH, la charge globale des amphotères est nulle; les amphotères restent localisés à leur PI par leur pouvoir tampon, permettent un gradient de pH stable.

Les amphotères sont caractérisés par leur conductance satisfaisante. La conductance est un facteur important dans l'électrofocalisation car elle détermine la valeur du champ électrique dont dépend le degré de focalisation. Si la conductance n'est pas identique sur toute la longueur du gradient de pH, un mélange d'amphotères peut se produire aux endroits où la conductance est la plus faible alors que les autres régions du gradient ne subissent qu'une petite partie de la tension appliquée. La cathode est placée dans une solution basique (Na OH M) qui stabilise le pH. Par contre, l'anode est placée dans une solution acide ($H_3 PO_4$ M) qui stabilise également le pH à cet endroit.

Le gradient de pH varie de 3,5 à 9,5 dans nos conditions expérimentales.

L'électrofocalisation est une technique réalisée actuellement en clinique pour diagnostiquer toute maladie de démyélinisation, comme la SEP. En effet, au cours de cette pathologie, la myéline se détache des fibres nerveuses. Cette myéline s'associe aux IgG pour former des

	SEP		groupe A (contrôles)		groupe B (contrôles)		groupe C	
N	M	F	M	F	M	F	M	F
	22	70	22	70	69	23	22	70
% de sinusites	69,5		17,4		16,3		45,6	

Tableau H (D.Gay et al., 1986).

complexes que l'on observe dans la zone alcaline après électrofocalisation. Au cours des pathologies non démyélinisantes, les IgG sont observés dans la zone acide, près de l'électrode positive.

La présence d'IgG dans la zone alcaline indique donc une pathologie de démyélinisation. La plupart des patients qui en sont atteints sont affectés d'une SEP, maladie relativement fréquente par rapport aux autres maladies de démyélinisation.

VII. 1.11. CORRELATION ENTRE LA SEP ET D'AUTRES PATHOLOGIES

Des études récentes ont été effectuées sur les rapports cliniques précédant la SEP certaine de certains patients parallèlement à une enquête sur le passé médical des personnes servant de contrôles.

Les contrôles sont subdivisés en deux groupes :

- 1.- groupe A : constitué de 92 patients ayant été atteints de SEP lors des années précédentes.
- 2.- groupe B : constitué de 92 personnes, cohabitant avec les patients souffrant de SEP.

Le groupe C est constitué de 92 personnes ayant subi des allergies au niveau des voies respiratoires supérieures.

Les études nous permettent de constater que chez les patients avec SEP, le pourcentage d'infections nasopharyngées est beaucoup plus élevé que dans le groupe des contrôles (tableau H).

Le pourcentage de sinusites enregistrées dans le groupe SEP est d'environ 4 fois plus important que chez les groupes des contrôles A et contrôles B.

En dehors du groupe SEP, le pourcentage le plus élevé de sinusites est observé dans le groupe C; ce pourcentage est significativement inférieur à celui du groupe SEP.

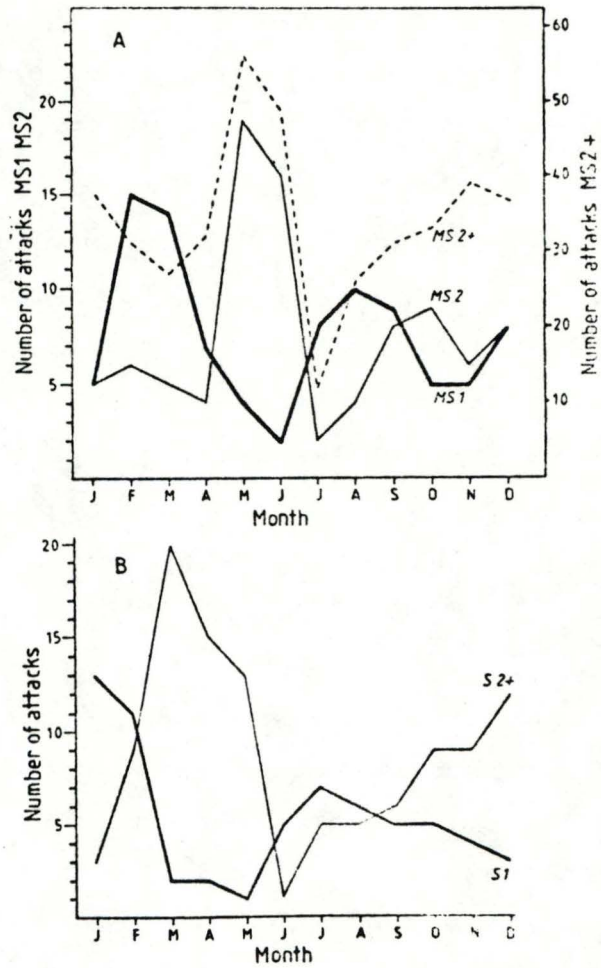


Figure 22: Variations saisonnières des attaques de SEP et de sinusites.
 MS1=1^e attaque de SEP; MS2=2^e attaque de SEP; MS2+=attaques de SEP
 suivantes; S1=1^e attaque de sinusite; S2+=attaques sinusales suivantes
 (D.Gay et al., 1986).

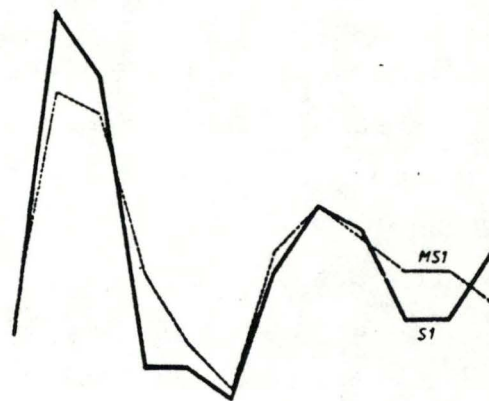


Figure 23: Comparaison du pattern saisonnier des premières attaques de
 SEP et de sinusite (D.Gay et al., 1986).

L'âge moyen de la première attaque de SEP ($30,4 \pm 9,9$ ans) et des sinusites chez ces patients ($32,5 \pm 10,7$ ans) ne diffèrent pas significativement (l'âge moyen des premières sinusites est enregistré à $27,1$ ans).

On peut remarquer que les SEP et sinusites débutent ensemble à la puberté, que leur fréquence est maximale à la fin de la vingtaine d'années et déclinent de telle sorte qu'elles deviennent rares à la fin de la cinquantaine. Aucune autre infection ou maladie enregistrée chez ces patients atteints de SEP ne montre une distribution temporelle du type de la sinusite.

Le pourcentage d'attaques de SEP durant les périodes auxquelles les patients sont également atteints de sinusite est deux fois plus élevé qu'aux autres moments. Ceci indique qu'il y a une corrélation dans le temps entre les infections sinusales et les attaques de démyélinisation.

Si l'hypothèse infectieuse est "valable", on s'attend à observer des fluctuations saisonnières significatives (fig. 22).

Les attaques sinusales chez les patients atteints de SEP présentent également des fluctuations saisonnières significatives (fig. 22).

Lorsque le comportement saisonnier des SEP et sinusite sont comparés (fig. 23), les premières attaques montrent un pattern similaire, la sinusite précédant la SEP d'un mois. Chez les patients SEP, la démyélinisation devient plus extensive et ses effets plus graves dans la quarantaine et la cinquantaine; les sinusites deviennent progressivement moins fréquentes. Nous pouvons donc conclure que la sinusite précède la SEP par l'âge du patient et la saison auxquels

les attaques sinusales se produisent.

Autre preuve de l'association entre la SEP et la sinusite:

le doublement du pourcentage annuel de SEP 2 mois avant et 6 mois après une attaque sinusale.

Sibley ET al. ont montré que 27% des attaques SEP sont liées à des infections respiratoires mineures.

Si l'infection sinusale était l'agent causal de la SEP, les infections respiratoires mineures seraient liées à la SEP lorsqu'elles entraînent l'inflammation des muqueuses sinusales, d'autant plus que les virus des voies respiratoires sont responsables de maladies pulmonaires chroniques.

La fréquence de la sinusite est beaucoup plus faible dans les pays tropicaux que dans les pays tempérés; les cas de SEP y sont également rarement enregistrés.

La SEP affecte plus de femmes que d'hommes: pour un homme atteint, 1,1 à 2,8 femmes sont atteintes de sinusite.

L'impossibilité de trouver un microorganisme dans les lésions caractéristiques de la SEP rend vraisemblable l'hypothèse d'une déficience immunologique favorisant le développement de la SEP.

Les conditions instaurées lors de maladies sinusales peuvent être favorables à la croissance de bactéries commensales; celles-ci permettraient alors une réaction immunitaire contre les antigènes du SNC par leur antigénicité croisée. Cependant, cette hypothèse ne présente aucune variation saisonnière.

Récemment, à la suite de la découverte par Steener de spirochètes dans les plaques, observation qui n'obtenait pas un consensus unanime, Steere a trouvé que les spirochètes pouvaient causer des changements immunologiques et pathologiques particuliers à la SEP.

Dans la maladie due aux spirochètes, des anticorps oligoclonaux sont trouvés dans le LCR, comme dans la SEP; des complexes immuns sont présents dans les lésions; cette maladie est chronique.

Un patient est d'autant plus susceptible d'être atteint que les alloantigènes de ses cellules B appartiennent au type HLA DW2; les patients atteints de SEP peuvent également appartenir à ce même type HLA.

Puisqu'actuellement aucune cause de SEP n'a été découverte, il peut être utile de réinvestiguer la voie des spirochètes.

CONCLUSIONS

- ° La plupart des patients atteints de SEP présentent une réaction immunitaire humorale qui conduit principalement à la synthèse locale d'IgG oligoclonales.
- ° Une proportion significative de patients (26%) présentent une réponse IgM.
- ° La production d'IgA est moins fréquemment observée.
- ° Une corrélation significative peut être établie
 - ° entre le contenu cellulaire élevé et l'état de rechute de la SEP
 - ° entre le contenu cellulaire élevé et l'âge du patient auquel s'établit la maladie.

Aucune preuve n'est apportée à l'idée de production locale d'immunoglobulines contre un antigène de SEP.

N'ont pas été détectés les immuns complexes solubles et des anticorps dirigés contre la MBP ou contre des structures cérébrales insolubles.

De nombreux anticorps anti-viraux et autres ont été décrits mais ils représentent seulement une petite partie des anticorps produits localement. Une activation des clones des cellules B peut expliquer la présence des divers anticorps.

2 types de renseignements sont en faveur de cette hypothèse : les immunoglobulines produites localement dans la SEP joueraient un rôle physiopathologique.

- 1) une fraction des IgG de LCR provenant de patients en rechute montre une toxicité envers la myéline des nerfs optiques de têtard. (Tabira et al., 1976; 1977; Stendahl-Brodin et al, 1979, 1981).

2) Prineas et Graham (1981) ont observé dans un cas de SEP des macrophages liés aux fibres nerveuses myélinisées au niveau des plaques périphériques mais pas ailleurs. Ces macrophages avaient en surface des IgG concentrées qui pourraient être dirigées contre un antigène exprimé dans ces plaques périphériques et associé aux gaines de myéline.

Une autre hypothèse (Poston, 1984) se base sur la liaison des IgG à la myéline (en dégénérescence) en périphérie des plaques de SEP en relation avec l'interaction non spécifique de la MBP et de la région Fc des IgG (Sindic et al., 1980). La caractéristique essentielle de cette hypothèse est la liaison des IgG à la MBP au niveau des gaines de myéline du SNC; cette liaison initierait la démyélination par l'activation des mécanismes de destruction du tissu (par exemple par l'activation du complément et/ou des macrophages via les Récepteurs Fc).

Selon Morgan et al, 1984, il y aurait une réduction significative du composant terminal du complément (C_9) dans les cas de SEP. Cette diminution de C_9 expliquerait la formation de complexes attaquant les membranes.

Dans la SEP, la BHM est altérée localement. Dans la plupart des cas, ces altérations n'affectent pas significativement le rapport $\frac{\text{Albumine LCR}}{\text{Albumine SERUM}}$. De nombreux lymphocytes et macrophages colonisent le SNC.

Dans la SEP, on suppose que des ruptures de la BHM s'effectuent à plusieurs endroits et à des moments différents.

SCHEMA DE L'HYPOTHESE DE LA SEP EVOLUTIVE

Infection virale des méninges?

↓
Régulation immunitaire défectueuse (système HLA?)

↓
Synthèse excessive d'immunoglobulines dans le SNC

↓
Formations de complexes immuns? (Lancet 1980;neurology
1982)

↓
Les IgG se lient à la myéline basique

↓
Altération de la myéline par les macrophages

↓
Inflammation avec envahissement des macrophages

↓
Les protéines de l'inflammation exsudées inhibent
ultérieurement la fixation des IgG à la myéline

↓
Régression de la plaque

VII.2. LES PATHOLOGIES DEGENERATIVES

VII. 2.1. INTRODUCTION

LA SCHIZOPHRENIE: est une affection psychiatrique ayant les caractères de psychose, observée surtout chez l'adolescent et l'adulte jeune.

La schizophrénie n'est pas une démence au sens strict car le trouble primordial ne réside pas dans un affaiblissement progressif de l'intelligence.

L'affection réalise une profonde transformation de la personnalité du patient et son repli dans un monde imaginaire.

LA DEMENCE: est un affaiblissement psychique profond, frappant l'individu dans toute sa personnalité, mais surtout dans ses facultés intellectuelles.

Le trouble fondamental de cette affection est un trouble acquis de l'intelligence et du jugement.

Le malade dément perd progressivement la mémoire, le raisonnement, le sens critique.

L'HYSTERIE: affection nerveuse qui ne s'accompagne d'aucune lésion décelable dans le système nerveux, caractérisée par une disposition très particulière à exprimer par des manifestations corporelles des troubles ou des conflits affectifs inconscients.

Le niveau intellectuel est en général dans les limites de la normale.

LE PARKINSON: est une maladie caractérisée par l'association d'un tremblement, d'une rigidité et d'une réduction des mouvements.

L'ATROPHIE CEREBRALE: est une diminution de volume du tissu cérébral entraînant un déficit intellectuel global (démence). Cette maladie est décelée par l'augmentation du volume des cavités ventriculaires.

L'HYPERTENSION INTRACRANIENNE: est l'augmentation de pression à l'intérieur de la boîte crânienne induite par toute augmentation de volume du contenu de cette cavité inextensible.

Il en résulte une compression de la substance cérébrale et des veines.

Non contrôlée, elle conduit au coma ou à la mort.

LA SCIATIQUE: est une affection d'une très grande fréquence dont le signe essentiel est une douleur sur le trajet du nerf sciatique traduisant la souffrance d'une racine de ce nerf.

A cette douleur s'associent des modifications de la colonne vertébrale (c'est la lombosciatique).

Les sujets atteints font porter le poids du corps sur le membre sain; ils relâchent le membre inférieur douloureux. La mobilisation de la colonne vertébrale n'est pas aisée.

La sciatique poplitée interne est une atteinte du nerf innervant les muscles et les téguments de la région antéro-externe de la jambe et de la région dorsale du pied.

LA NEUROPATHIE PERIPHERIQUE: est une affection de neurones périphériques.

LA MYOPATHIE: est une maladie de la fibre musculaire.

Les myopathies sont classées en deux groupes:

- 1) les dystrophies musculaires: le déficit moteur porte préférentiellement et de façon symétrique sur les ceintures scapulaire et pelvienne.
- 2) les myotonies: sont caractérisées par une difficulté et une lenteur à la décontraction musculaire, alors que la contraction est normale.

LA CONFUSION MENTALE: est un état psychiatrique caractérisé par une obnubilation de la conscience, un ralentissement de la pensée, une désorientation dans l'espace et le temps, des troubles de la mémoire.

L'AGITATION: est un trouble du comportement alliant une excitation mentale à une excitation motrice, aboutissant à une perte du contrôle des actes et des pensées.

VII.2.2. RESULTATS EXPERIMENTAUX :

CARACTERISTIQUES DES BANDES PROTEINIQUES
DANS LE LCR DES SUJETS ATTEINTS DE PATHOLOGIES
DEGENERATIVES (sur gel polyacrylamide en milieu
SDS).

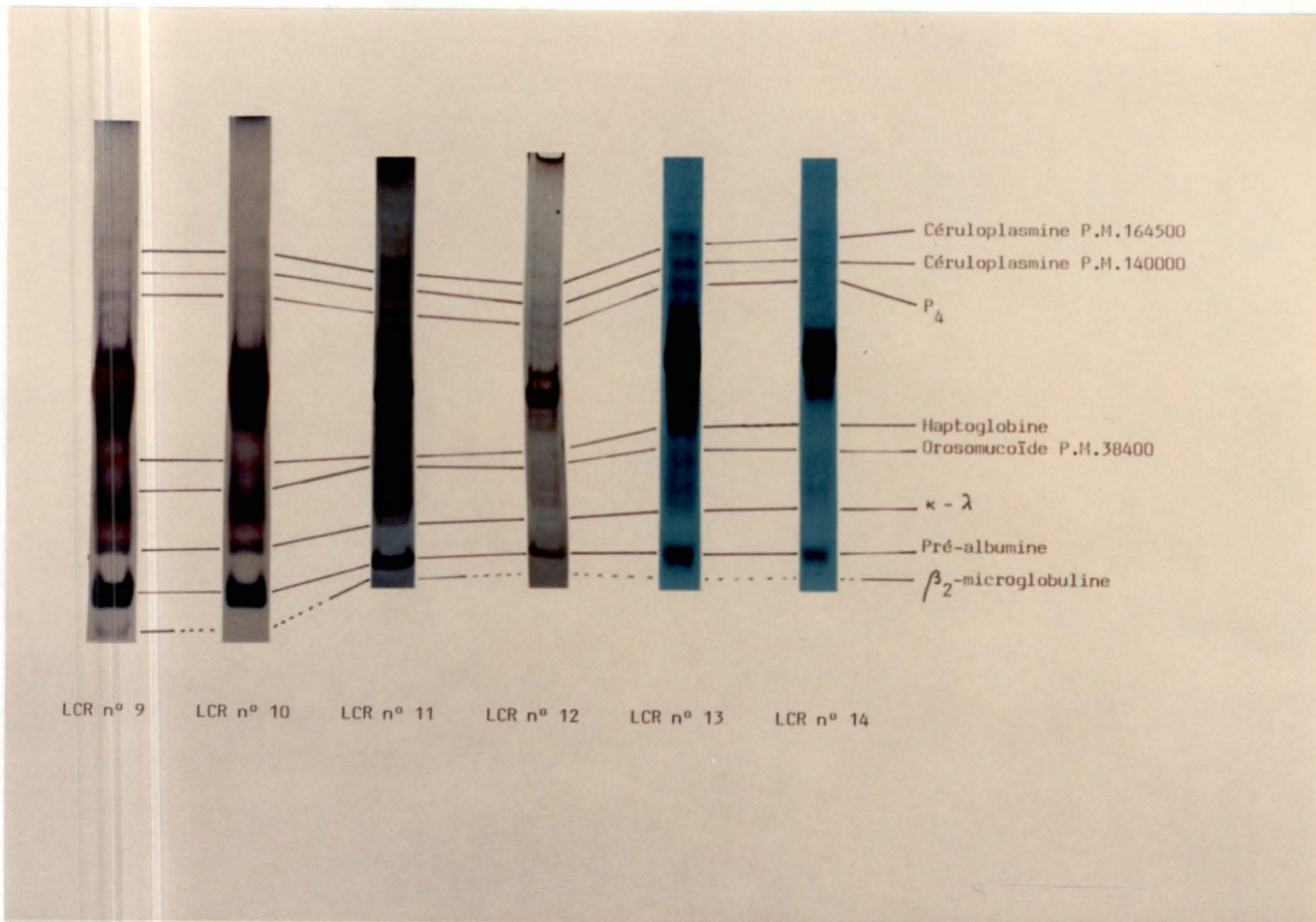


Tableau 7

	Protéines 26-50 mg/dl	Albumine 11,0-38,0mg/dl	IgG 0,7-3,5 mg/dl	IgG/Albumine	IgA 0,25-0,52mg/dl	IgM 0,0-0,1mg/dl
LCR n° 9	56	29,7	1,6	-	0,4	0,06
LCR n° 10	53	22,7	1,6	0,07	0,4	0,012
LCR n° 11	68	26,3	2,38	0,09	-	-
LCR n° 12	34	15,5	1,15	0,07	0,3	0,07
LCR n° 13	100	51,5	3,85	0,07	1,4	0,1
LCR n° 14	31	13,8	1,3	0,09	0,2	0,08

Nous constatons les variations suivantes des protéines chez plusieurs patients :

- Céruloplasmine P.M.= 164500 et 140000 ↗
- P₄ P.M.= 114250 ↗
- Haptoglobine ↗
- Orosomucoïde P.M.= 38400 ↗
- les chaînes légères κ - λ ↘
- Pré-albumine P.M.= 17500 ↗

Une protéine supplémentaire apparaît sur les tracés électrophorétiques des LCR n°9 et 11. Cette protéine a pu être identifiée: c'est la β_2 - microglobuline.

VII. 2.3. RESULTATS ET DISCUSSION :

DOSAGE DES PROTEINES EFFECTUE PAR NEPHELOMETRIE LASER (B.L.N.Behring) ET PAR ELECTROPHORESE DES LCR SUR ACETATE DE CELLULOSE.

-La concentration des protéines dans le cas de maladies dégénératives est normale dans le LCR n°12 et élevée dans les LCR n° 9,10,11 et 13 (tableau 7).

Les LCR caractérisés par une hyperprotéinorachie proviennent de patients atteints de démence (LCR n° 9 et 11), de Parkinson (LCR n° 11) et d'atrophie cortico-sous corticale (LCR n° 13).

Selon les données de la littérature, les patients atteints de démence ont une modification protéique supérieure à celle des gens normaux. La maladie de Parkinson peut être accompagnée d'une légère augmentation de la protéinorachie. De même, l'atrophie cérébrale est caractérisée par une hyperprotéinorachie.

Tableau 8

	Fraction V 3-5 %	Albumine 55-65 %	α_1 3-5 %	α_2 3-7 %	$\beta - \tau$ 12-16 %	γ 7-11 %
LCR n° 9	4	64	4	4	15	9
LCR n° 10	4,72	64,11	3,93	3,92	13,66	9,66
LCR n° 11	3,19	52,97	4,99	7,94	19,17	11,74
LCR n° 12	6,49	58,98	5,74	8,74	12,50	7,60
LCR n° 13	3,79	62,59	5,18	3,02	12,68	12,74
LCR n° 14	6,41	61,33	5,44	4,64	14,47	7,69

-La concentration en albumine est normale chez les patients atteints de pathologies dégénératives. Cela est en accord avec la littérature.

Seul, le LCR N°13 présente une concentration en albumine très élevée.

-Les IgG sont en concentration normale dans les LCR excepté pour le LCR N°13 présentant une concentration élevée en IgG.

Les pathologies dégénératives sont associées à une concentration en IgG normale ou augmentée.

-Les IgA existent en concentration normale dans les LCR testés. Les valeurs de concentration en IgA ne sont renseignées dans les publications que pour quelques pathologies dégénératives. Ainsi, les démences s'accompagnent d'une concentration en IgA qui ne diffère pas de façon significative par rapport à celle des patients dépourvus de troubles neurologiques.

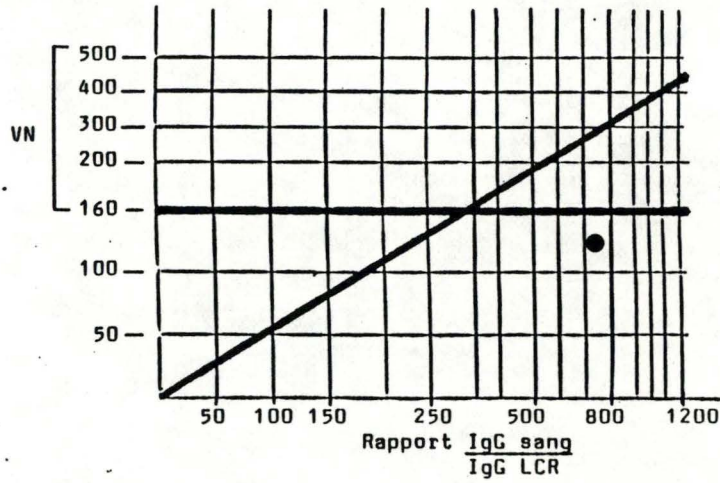
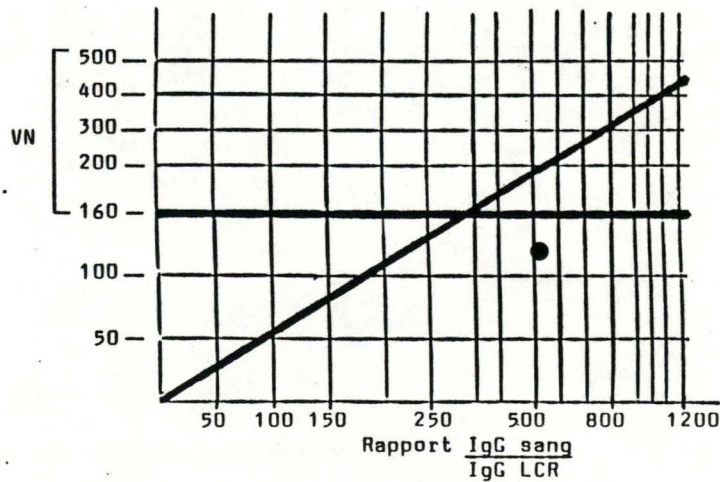
-La concentration des IgM est normale dans les LCR.

-Le quotient $\frac{\text{IgG}}{\text{Albumine}}$ et l'index IgG sont normaux dans les LCR. Il n'y aurait donc pas de synthèse locale d'IgG dans le SNC.

L'examen de nos profils réalisés par électrophorèse sur acétate de cellulose, nous font apparaître que :

- la fraction V est en pourcentage normal dans les LCR N°9, 10, 11 et 13 et en pourcentage augmenté dans le LCR N°12. (tableau 8)
- L'albumine existe en pourcentage normal (LCR N°9, 10, 12 et 13) et diminué (LCR n°11).
- La fraction des α_1 -globulines est en pourcentage normal dans les LCR N°9, 10 et 11, et en pourcentage augmenté dans les LCR N°12 et 13.

Tableau 9

	Index IgG	Formule de Tourtellotte	Formule de Schüller	Méthode graphique IgG
LCR n° 9	0,18	-7,74	-25,30	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</div> <u>Rapport</u> : $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div>  </div>
LCR n° 10	0,26	-2,99	-12,26	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</div> <u>Rapport</u> : $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div>  </div>

	Index IgG	Formule de Tourtellotte	Formule de Schüller	Méthode graphique IgG
LCR n° 13	0,24	-10,82	-31,97	<div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">IgG</div> <u>Rapport</u> : $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$

- La fraction des α_2 -globulines existe en pourcentage normal dans les LCR N°9, 10 et 13, et en pourcentage élevé dans les LCR N°11 et 12.
- La fraction des β - τ -globulines est en pourcentage élevé dans le LCR N°11 alors que le pourcentage est normal dans les autres LCR.
- Les gamma-globulines existent dans le LCR en pourcentage normal (LCR N°9, 10, 12 et 14) et en pourcentage élevé (LCR N°11 et 13).

VII. 2.4. ESTIMATION DE LA SYNTHÈSE LOCALE D'IMMUNOGLOBULINES DANS LE SNC DES PATIENTS ATTEINTS DE

 PATHOLOGIES DÉGÉNÉRATIVES

1.- Les IgG

L'index IgG est normal chez les patients (tableau 9). Les méthodes de Tourtellotte et de Schüller nous indiquent l'absence de synthèse intrathécale d'IgG.

De même suivant la méthode des graphes, nous constatons que les IgG ne sont pas synthétisés à l'intérieur du SNC.

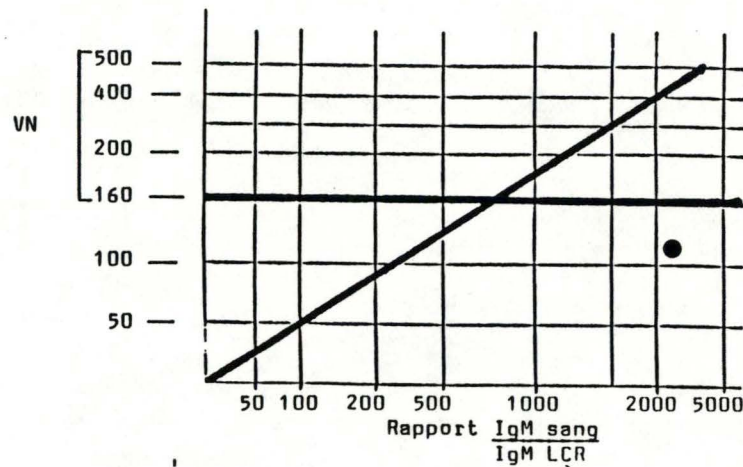
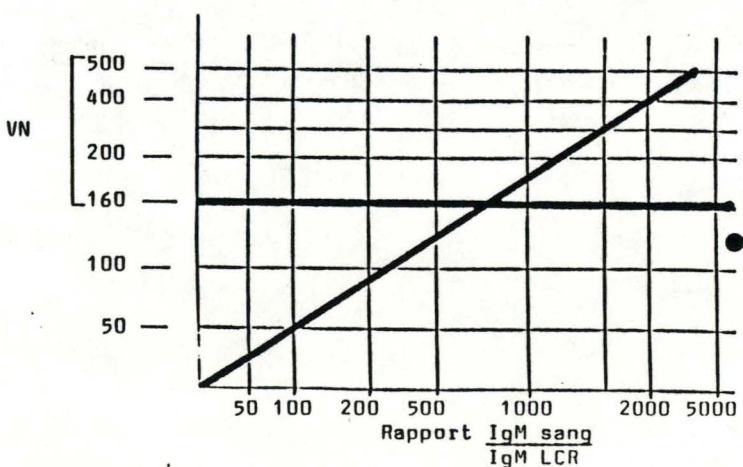
Cependant, nous pouvons mettre en évidence l'altération de la BHM chez ces patients dont le LCR est analysé.

2.- Les IgM

L'index IgM est normal chez les patients atteints d'une maladie dégénérative (tableau 10).

Les graphes spécifiques aux IgM rendent compte de l'absence d'une synthèse locale d'IgM.

Tableau 10

	Index IgM	Méthode graphique IgM
LCR n°9	0,0013	<div style="text-align: center;"> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px 5px;">IgM</div> </div> <p><u>Rapport</u> :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ 
LCR n°10	0,0002	<div style="text-align: center;"> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px 5px;">IgM</div> </div> <p><u>Rapport</u> :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ 

Index IgM

Méthode graphique IgM

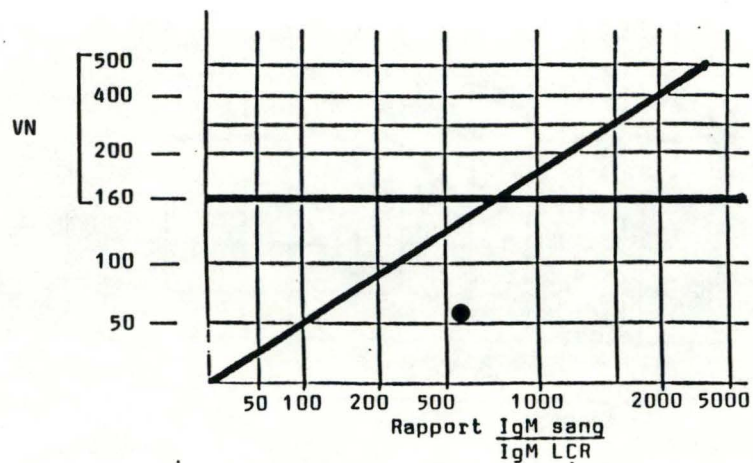
LCR n°13

0,0027

IgM

Rapport :

$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$



LCR n°14

0,0025

IgM

Rapport :

$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$

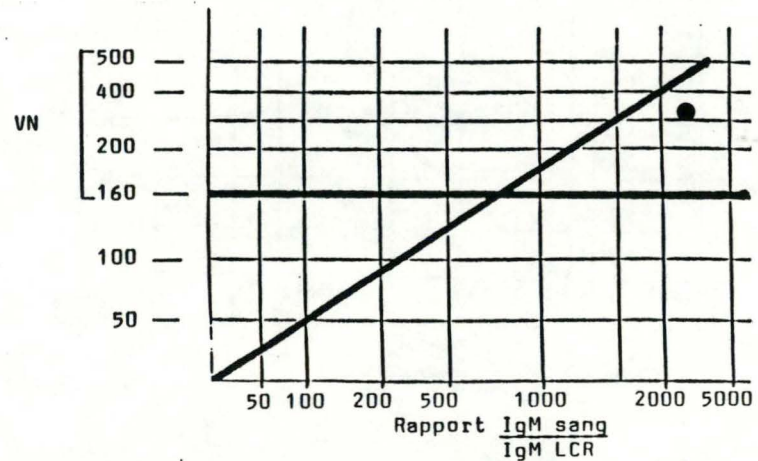
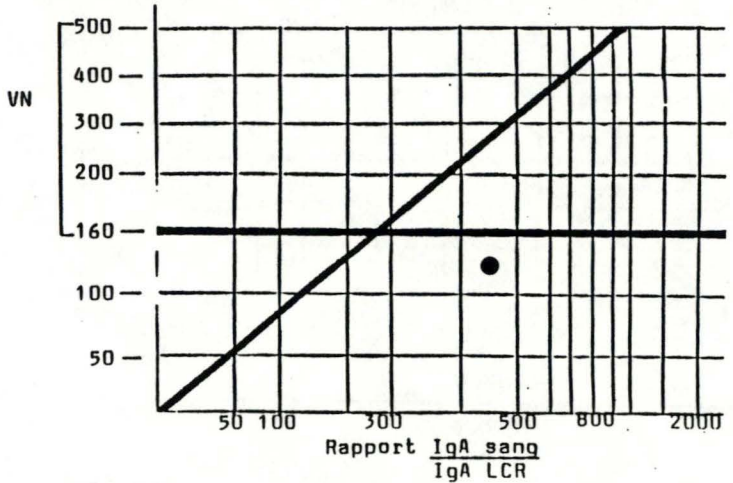
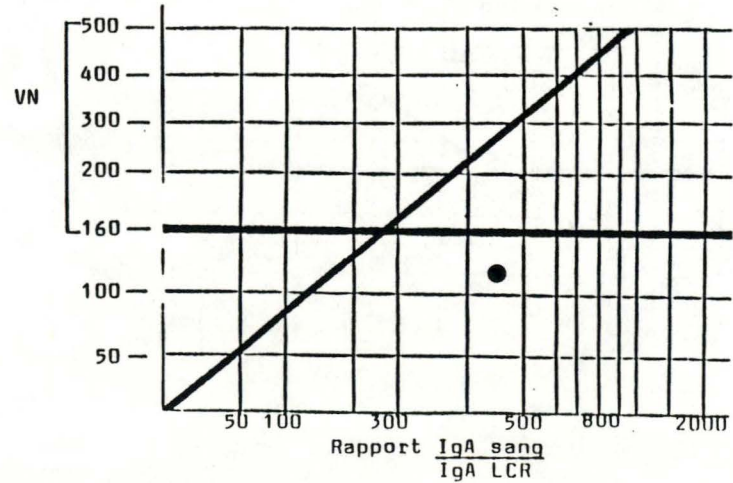


Tableau 11

	Index IgA	Méthode graphique IgA
LCR n°9	0,0083	<div style="text-align: center;"> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">IgA</div> </div> <p><u>Rapport</u> :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ 
LCR n°10	0,0080	<div style="text-align: center;"> <div style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">IgA</div> </div> <p><u>Rapport</u> :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ 

Index IgA

Méthode graphique IgA

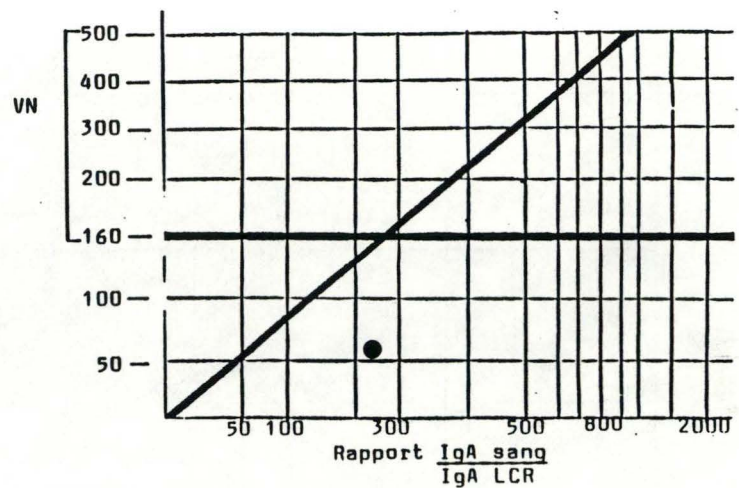
LCR n°13

0,0066

IgA

Rapport :

$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$



LCR n°14

0,0086

IgA

Rapport :

$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$

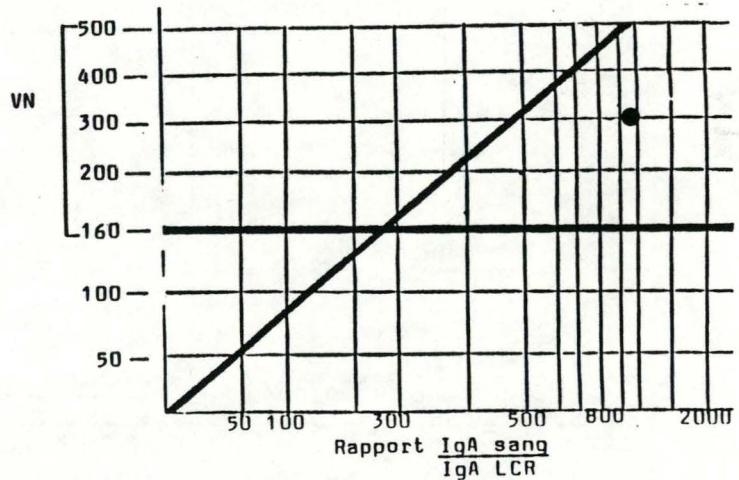


Tableau 12

	Glucose 45-75 mg/dl	Chlorures 115-132 mEq/l	Cytologie:Numération avant hémolyse éléments/mm ³	Cytologie:Numération après hémolyse < 3 éléments/mm ³
LCR n° 9	58	124	< 3	-
LCR n° 10	48	122	7	< 3
LCR n° 11	57	136	11	4
LCR n° 12	53	121	-	-
LCR n° 13	68	115	< 3	-
LCR n° 14	65	124	< 3	-

3.- Les IgA

L'index IgA est également normal dans le LCR (tableau 11)

La méthode graphique exprime l'absence de synthèse intrathécale d'IgA dans le LCR.

La numération cytologique du LCR nous montre que les LCR comportent un nombre normal d'éléments en l'absence de globules rouges (tableau 12). Ceci est en accord avec les résultats publiés dans la littérature.

Les concentrations en glucose et en chlorures sont généralement normales dans les LCR prélevés chez des patients atteints de pathologies dégénératives.

VII. 2.5. LCR et DEMENCE

Le LCR est caractérisé par la présence de bandes oligoclonales dans 17% des cas atteints; ceci est observé par électrophorèse sur gel de polyacrylamide.

Les bandes oligoclonales sont détectées dans 27% des "contrôles".

Un taux double de la normale des transferrine et α_1 antitrypsine est observé dans les LCR des sujets atteints. Cette découverte suggère l'intérêt de rechercher des marqueurs génétiques dans les LCR de sujets atteints de démence. Ces marqueurs génétiques peuvent être la présence d'un type HLA particulier.

Des protéines de l'inflammation sont souvent mises en évidence dans le LCR de ces patients : la perméabilité de la BHM serait donc augmentée.

VII. 2.6. LCR et DYSTROPHIES

Le pattern caractéristique des pathologies dégénératives consiste :

- en une augmentation de la fraction pré-albumine
- en une diminution de la fraction constituée par les gamma-globulines.

dans les dystrophies musculaires congénitales et de Duchenne.

La dystrophie myotonique montre dans le LCR une augmentation des protéines suivantes :

- fraction des gamma-globulines
- IgG
- protéine basique myélinique

Le sérum contient des IgG en concentration diminuée par suite d'une 1/2 vie raccourcie ou par suite d'un catabolisme accéléré.

Les pathologies dégénératives présentent généralement une augmentation de l'haptoglobine et une diminution de l' α_1 -Antitryptine.

Le pattern de la dystrophie myotonique est semblable à celui des maladies de démyélinisation. Cependant, il n'y a pas de preuve de synthèse intrathécale dans les pathologies myotoniques mais il est nécessaire de considérer la possibilité d'une concentration en IgG augmentée dans le LCR par un trouble au niveau de la barrière sang-cerveau-LCR ou par une rupture de capillaires.

La concentration élevée de protéines dans le LCR par rapport au sang peut être la manifestation d'un métabolisme protéinique perturbé ou un signe d'altération de la BHM.

VII. 2.7. LCR ET SEP (cfr chapitre VII. 1.)

VII. 3. LES PATHOLOGIES INFECTIEUSES

VII. 3.1. INTRODUCTION

L'infection est définie par la pénétration dans l'organisme d'un agent étranger (bactérie, virus, champignon, parasite) capable de s'y multiplier.

Les pathologies infectieuses que nous avons analysées sont décrites brièvement dans ce paragraphe.

La Méningite lymphocytaire bénigne est un processus inflammatoire atteignant les méninges et occasionnant une modification des constantes biologiques du LCR. Cette pathologie est d'origine virale (herpès, oreillons, varicelle, rougeole, rubéole) ou à germes associés (leptospiroses, rickettsioses); son évolution est rapide; le patient atteint peut guérir sans garder de séquelles de la méningite lymphocytaire.

Le diagnostic repose essentiellement sur le syndrome méningé clinique :

- fièvre élevée
- céphalées vives
- vomissements
- douleurs au niveau de la colonne vertébrale
- flexion incomplète et douloureuse de la nuque
- signe de Kernig (l'élévation des membres inférieurs entraîne une vive douleur lombaire).

L'Encéphalite est une affection cérébrale de caractère inflammatoire. Elle peut être provoquée par une infection virale. L'encéphalite est caractérisée cliniquement par une altération de la conscience accompagnée de signes neurologiques. Le diagnostic comporte deux étapes : la première est l'élimination d'une autre affection

neurologique, la deuxième est de reconnaître la nature de l'encéphalite.

Le diagnostic dépend de l'anamnèse et des résultats des examens paracliniques (scanner, artériographie, ...) et de laboratoire.

L'évolution des encéphalites est très variable selon l'agent responsable de la maladie. Elle peut être bénigne dans certains cas ou entraîner la mort rapide chez d'autres patients.

Certaines encéphalites évoluent vers la guérison avec ou sans séquelle.

La Syphilis est une maladie vénérienne contagieuse et inoculable, due au Tréponème pâle. Cette pathologie se traduit par des réactions sérologiques spécifiques. Elle se caractérise par une période d'incubation de 20 à 25 jours après laquelle une ulcération appelée chancre syphilitique apparaît (période primaire). Un à deux mois plus tard, le chancre disparaît : c'est la période secondaire marquée par l'éclosion d'une éruption qui disparaît spontanément en quelques semaines. La syphilis tend alors à se généraliser en l'absence de traitement (période tertiaire) : des lésions viscérales se développent en plusieurs années accompagnées d'asthénie, maux de tête, petites fièvres, adénopathies.

VII. 3.2. RESULTATS EXPERIMENTAUX : CARACTERISTIQUES DES

FRACTIONS PROTEIQUES PRESENTES DANS LE LCR DES

SUJETS ATTEINTS DE MALADIES INFECTIEUSES

(sur gel de polyacrylamide en milieu SDS)

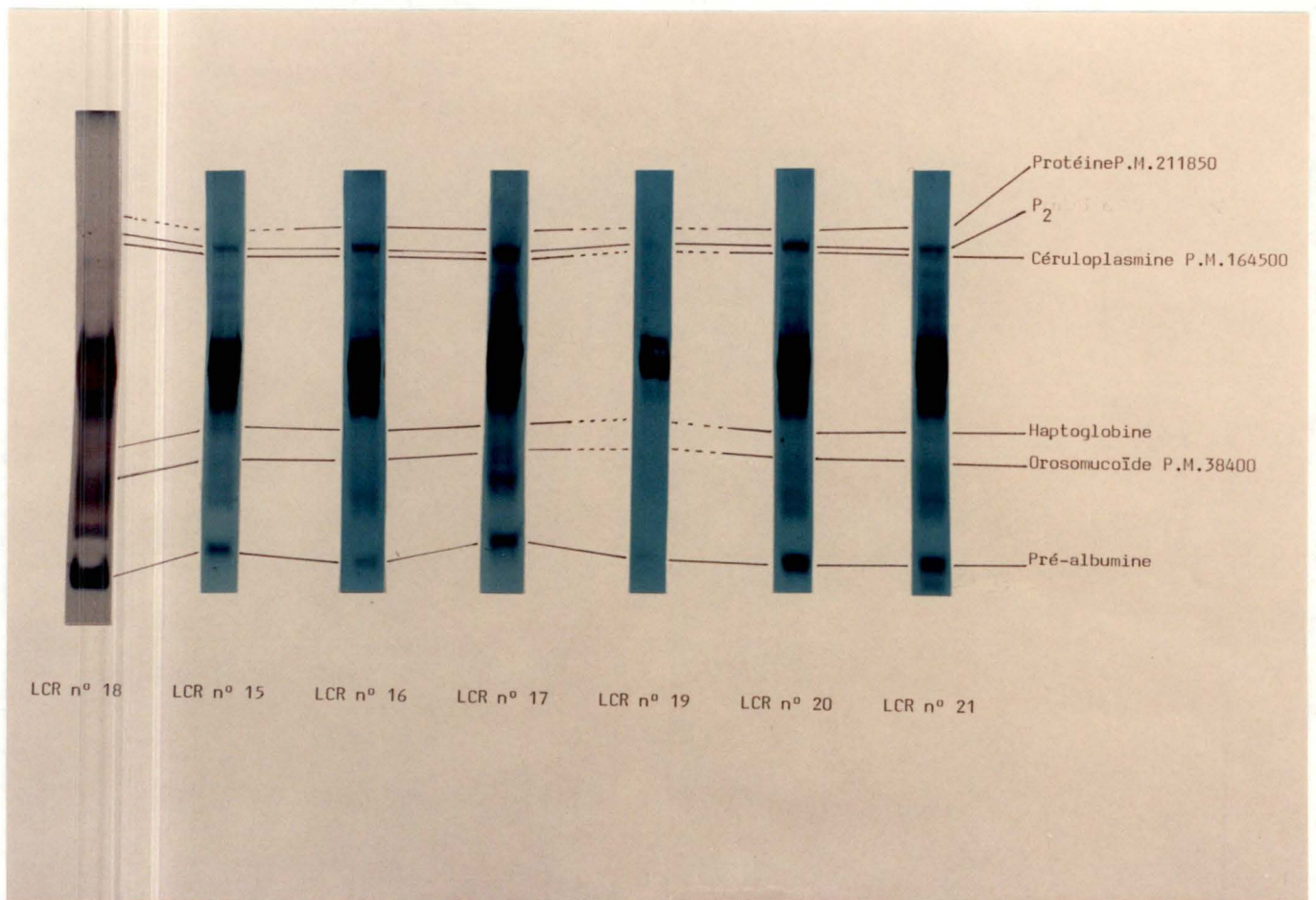


Tableau 13

	Protéines 26-50 mg/dl	Albumine 11,0-38,0mg/dl	IgG 0,7-3,5 mg/dl	IgG/Albumine	IgA 0,25-0,52mg/dl	IgM 0,0-0,1 mg/dl
LCR n° 15	78	53,6	3,6	0,07	-	-
LCR n° 16	54	24,6	6,6	0,26	-	-
LCR n° 17	60	18,6	3,75	0,20	-	-
LCR n° 18	60	24,5	1,9	0,07	0,3	0,012
LCR n° 19	45	22,0	1,2	0,05	-	-
LCR n° 20	38	15,8	1,95	0,12	0,3	0,03
LCR n° 21	41	14	1,9	0,13	-	-

- Nous remarquons à plusieurs reprises :

° les variations des protéines suivantes :

- P₂ PM = 179500 ↗
- Céruloplasmine PM = 164.500 ↗
- Orosomucoïde PM = 38.400 ↗
- Haptoglobine ↗
- Pré-albumine PM = 17.500 ↗

° l'existence d'une bande protéinique entre P₁
et P₂ de PM 211.850.

VII. 3.3. RESULTATS ET DISCUSSION DES DOSAGES DES PROTEINES

EFFECTUES PAR NEPHELOMETRIE LASER - ELECTROPHORESE

DES LCR SUR ACETATE DE CELLULOSE

- La concentration des protéines dans le cas de pathologies infectieuses est semblable voire augmentée par rapport à la concentration normale en protéines (tableau 13).

Ces résultats sont en accord avec les résultats renseignés dans la littérature.

Le LCR N°18 (patient atteint de syphilis), montre une élévation de la protéinorachie; celle-ci est souvent observée lors de cette pathologie.

- La concentration en albumine reste généralement inchangée, ce qui confirme les publications traitant de ce type de pathologie.

L'albumine est en concentration très élevée dans le LCR N°15. Ce résultat n'est pas contradictoire avec la littérature. En effet, le LCR N°15 a été ponctionné chez un patient atteint d'une méningite lymphocytaire

bénigne. Au cours de cette maladie, on observe une concentration d'albumine normale ou augmentée.

- Les IgG sont chez certains patients (LCR N°18, 19, 20 et 21) en concentration normale alors que chez d'autres patients, cette concentration est élevée (LCR N°15 et 17) voire très élevée (LCR N°16).

Les publications indiquent que les maladies infectieuses du SNC s'accompagnent généralement d'une augmentation de la concentration en IgG. Cependant, quelques pathologies sont caractérisées par une concentration en IgG normale dans le LCR.

Ainsi, le LCR N°21 a été prélevé chez un patient atteint d'encéphalite. La concentration normale d'IgG de ce LCR est également observée dans d'autres cas d'encéphalite.

Le LCR N°16, dont la concentration en IgG est très élevée provient d'un patient syphilitique. Les publications indiquent que dans la syphilis la concentration en IgG est augmentée.

Pour ce LCR (N°16) nous avons remarqué l'existence de composants oligoclonaux dans le LCR; ceci est observé dans la syphilis.

- Les IgA sont en concentration normale dans les LCR analysés. La concentration des IgA dépend du type de maladie infectieuse. Ainsi, au cours des maladies infectieuses virales la concentration en IgA est élevée.
- Les IgM sont également en concentration normale dans le LCR. Lors de certaines infections telles que méningite bactérienne, infections liées au virus de l'herpès, encéphalite virale, la concentration en IgM est élevée. Des recherches sur les IgM ont été effectuées également dans le sérum de ces patients : la concentration des IgM est normale. Ces résultats suggèrent que l'augmentation de la concentration des IgM dans le LCR est due à une synthèse locale.

Tableau 14

	Fraction V 3-5 %	Albumine 55-65 %	α_1 3-5 %	α_2 3-7 %	$\beta - \tau$ 12-16 %	γ 7-11 %
LCR n° 15	3,66	60,31	4,05	6,56	13,56	11,83
LCR n° 16	3,6	49,62	5,14	8,36	11,06	22,22
LCR n° 17	3,77	48,72	4,86	8,20	16,57	17,82
LCR n° 18	5,08	61	5,42	4,70	14,70	9,09
LCR n° 19	-	-	-	-	-	-
LCR n° 20	6,36	47,59	4,28	8,61	15,91	17,25
LCR n° 21	4,18	45,85	5,68	10,87	20,50	12,92

Les infections en phase aiguë sont caractérisées par une augmentation des immunoglobulines par production intrathécale alors qu'en phase chronique, la transsudation à travers la BHM peut également intervenir sur la concentration des immunoglobulines dans le LCR.

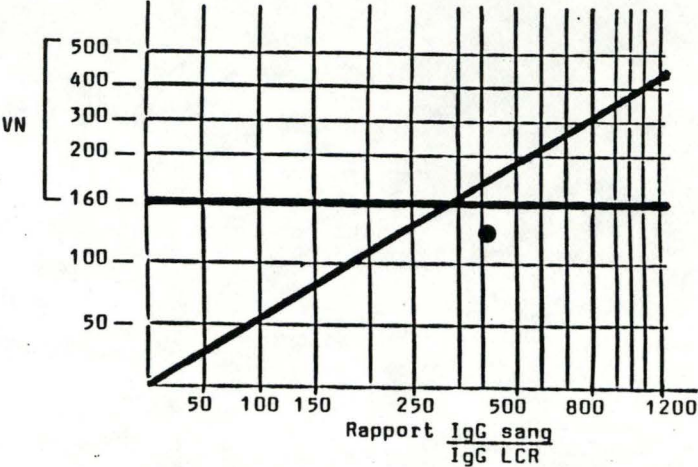
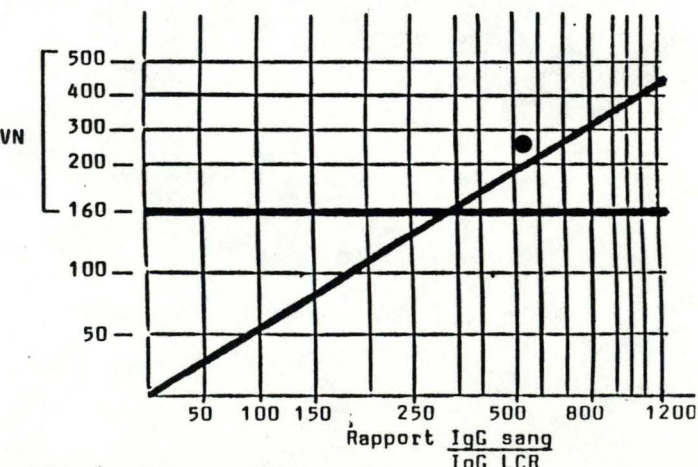
- Le quotient $\frac{\text{IgG}}{\text{Albumine}}$ est normal pour les LCR N°15, 18, 19, 20, 21. ; le quotient est élevé dans les LCR N°16 et 17.

On sait qu'en principe un quotient $\frac{\text{IgG}}{\text{Albumine}}$ élevé représente une synthèse intrathécale d'IgG.

Les LCR N°16 et 17 seraient donc prélevés de patients synthétisant dans leur SNC des IgG.

Par l'électrophorèse sur acétate de cellulose des protéines de LCR, nous remarquons que :

- la fraction V est en pourcentage normal voire augmenté dans les LCR N°18 et 20 (tableau 14).
- l'albumine est en pourcentage normal ou diminué suivant les patients atteints de pathologie infectieuse. Ainsi, les patients dont le LCR contient l'albumine en faible pourcentage (LCR N°16, 17, 20, 21)) sont caractérisés par une concentration normale en albumine. Ceci peut être expliqué par l'augmentation d'autres protéines présentes dans le LCR. Parmi ces 4 LCR, 3 LCR ont été prélevés chez des sujets syphilitiques. Le LCR N°15 comporte l'albumine en pourcentage normal mais en concentration très élevée. Cela peut être expliqué de la même manière.
- La fraction des α_1 -globulines est en pourcentage normal dans les LCR N°15, 17, 20, en pourcentage élevé dans les LCR N°16, 18, 21.
- La fraction des α_2 -globulines existe en pourcentage normal dans les LCR N°15 et 18, en pourcentage élevé dans les LCR N°16, 17, 20 et 21.

	Index IgG	Formule de Tourtellotte	Formule Schüller	Méthode graphique IgG
LCR n° 18	0,36	-0,05	-11,64	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</p> </div> <div> <p><u>Rapport</u> :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div> </div> 
LCR n° 20	0,52	0,90	3,47	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</p> </div> <div> <p><u>Rapport</u> :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div> </div> 

- La fraction des β - τ globulines existe en pourcentage normal dans les LCR N°15, 18 et 20, en pourcentage augmenté dans les LCR N°17 et 21, en pourcentage diminué dans le LCR N°16.
- La fraction constituée par les gamma-globulines est en pourcentage normal dans le LCR N°18 et en pourcentage élevé dans les LCR N°15, 16, 17, 20, 21.

Des gamma-traces sont observées dans les LCR N°19 et 21.

Dans le LCR N°17, les IgG sont caractérisés par des composants monoclonaux.

VII. 3.4. ESTIMATION DE LA SYNTHÈSE LOCALE D'IMMUNOGLOBULINES DANS LE SNC DES PATIENTS ATTEINTS DE PATHOLOGIES INFECTIEUSES

1.- Les IgG

L'index IgG, étant le rapport

$$\frac{\frac{\text{IgG LCR}}{\text{IgG sang}}}{\frac{\text{Albumine LCR}}{\text{Albumine sang}}}$$

n'est calculé que chez quelques patients présentant une pathologie infectieuse. En effet, l'index IgG ne peut être calculé pour les patients chez lesquels une prise de sang n'a pas été pratiquée au moment du prélèvement du LCR.

Il est donc nécessaire de disposer des LCR et sang du patient afin de détecter toute synthèse intrathécale d'IgG, que ce soit par l'index IgG, les formules de Tourtellotte, de Schüller ou par la méthode graphique.

Les LCR N°16 et 20 (tableau 15) présentent un index IgG normal : aucune synthèse locale d'IgG n'a lieu dans le SNC.

	Index IgM	Méthode graphique IgM
LCR n°18	0,0002	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgM</p> </div> <div style="margin-right: 20px;"> <p><u>Rapport</u> :</p> <p>$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$</p> </div> <div style="margin-right: 20px;"> <p>VN</p> </div> <div> </div> </div>
LCR n°20	0,0013	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgM</p> </div> <div style="margin-right: 20px;"> <p><u>Rapport</u> :</p> <p>$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$</p> </div> <div style="margin-right: 20px;"> <p>VN</p> </div> <div> </div> </div>

Tableau 17

	Index IgA	Méthode graphique IgA
LCR n°18	0,0063	<div data-bbox="1077 368 1144 444" style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgA</div> <u>Rapport</u> : $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$

Tableau 18

	Glucose 45-75 mg/dl	Chlorures 115-132 mEq/l	Cytologie:Numération avant hémolyse éléments/mm ³	Cytologie:Numération après hémolyse < 3 éléments /mm ³
LCR n° 15	71	119	260	250
LCR n° 16	44	-	Très nombreux	9
LCR n° 17	61	122	6	< 3
LCR n° 18	65	120	160	< 1
LCR n° 19	80	124	6	3
LCR n° 20	64	126	2500	< 3
LCR n° 21	64	121	Très nombreux éléments ±10000	< 3

Les méthodes de Tourtellotte et de SCHüller indiquent l'absence de synthèse intrathécale d'IgG.

Suivant la méthode des graphes, nous pouvons constater qu'il y a une synthèse intrathécale d'IgG pour le LCR N° 20.

Nous pouvons remarquer que le patient dont le LCR est le N°18 possède une BHM très légèrement altérée. Ceci pourrait expliquer la concentration élevée en protéines dans le LCR.

2.- Les IgM

L'index IgM est normal chez les patients (tableau 16).

Les graphes nous renseignent que la synthèse des IgM est normale; il n'y a donc pas de synthèse intrathécale d'IgM chez nos patients.

3.- Les IgA

Pour le LCR N°18, l'index IgA et la méthode graphique spécifique aux IgA ne nous montrent aucune synthèse intrathécale d'IgA (tableau 17).

Le LCR N°20 est caractérisé par un index IgA élevé. De plus, le graphe des IgA met nettement en évidence la synthèse intrathécale de ces immunoglobulines.

Les tests cytologiques effectués sur les LCR indiquent que les LCR N°18, 19 et 21 (tableau 18) contiennent de nombreux éléments avant hémolyse. Ces mêmes LCR comportent un nombre normal d'éléments après hémolyse. Ces LCR ont donc été contaminés par des globules rouges lors du prélèvement.

Le LCR N°15 est caractérisé par un nombre très élevé d'éléments avant et après hémolyse. Ces éléments ne sont donc pas des globules rouges. D'autre part, la formule cytologique de ce LCR a été établie :

- 10% des éléments sont polymorphonucléés
- 90% des éléments sont monomorphonucléés

La majorité des éléments mononucléés sont des lymphocytes dans ce cas.

Ce LCR a été prélevé chez un patient souffrant de méningite lymphocytaire bénigne.

Suivant les publications, cette pathologie est caractérisée par un nombre élevé de lymphocytes. Ce nombre varierait de 50 à 1500 par mm^3 .

Le LCR N°16 est caractérisé par un nombre très élevé d'éléments avant hémolyse, par un nombre légèrement augmenté d'éléments après hémolyse. Les globules rouges observés ne sont pas le fait d'une contamination. La formule cytologique du LCR nous révèle la présence d'éléments polynucléés à 50% et d'éléments mononucléés à 50% également.

Ce résultat peut être confronté aux résultats publiés dans la littérature puisque nous savons que ce LCR a été prélevé chez un patient syphilitique.

La syphilis est une pathologie associée à une pléiocytose lymphocytaire: le nombre d'éléments contenus dans le LCR est rarement supérieur à 10 éléments par mm^3 selon certaines sources; pour d'autres, le nombre d'éléments évalué par mm^3 est plus élevé.

Le glucose et les chlorures ont été dosés dans le LCR:

- La concentration en glucose est normale chez ces patients.

La concentration en glucose varie d'une pathologie infectieuse à une autre. Ainsi, la concentration en glucose est normale voire augmentée dans les pathologies infectieuses virales; le glucose est en concentration normale ou plus souvent diminuée dans les pathologies infectieuses bactériennes. Le LCR des maladies parasitaires africaines a une concentration en glucose le plus souvent normale, parfois diminuée.

- La concentration des chlorures est normale chez ces patients.

Dans la littérature, les chlorures sont en concentration normale dans les maladies infectieuses à l'exception de la tuberculose et de certaines infections parasitaires où les chlorures existent en faible concentration.

VII. 3.5. LES INFECTIONS VIRALES DU SNC

Les virus atteignent le SNC par le flux sanguin et provoquent l'apparition de méningites bénignes, aseptiques. Les virus sont normalement digérés par les cellules phagocytaires du foie et de la rate. La présence de virus à l'intérieur du SNC dépend du taux de virus sanguin et de la perméabilité de la BHM.

Méningite virale

Tous les LCR de patients atteints de méningite virale sont caractérisés par une pléiocytose élevée (tableau I).

	Abnormal values/ total number of samples	Range	Percentage of high values
Cells (NI $\leq 5/\text{mm}^3$)	19/19	10-1056	100%
Total protein content (NI ≤ 0.55 g/l)	8/19	0.21-1.85	42
CSF/serum albumin ratio. 10^3 (NI ≤ 7.8)	9/19	2-35.2	47
IgG index (NI ≤ 0.69)	3/19	0.35-0.98	16
IgA index (NI ≤ 0.42)	6/17	0.19-1.23	35
IgM index (NI ≤ 0.079)	12/17	0.029-1.22	70
α_2 -Macro index (NI ≤ 0.35)	1/10	0.07-0.37	10
Electrophoretic pattern:			
- normal:	7/19		37
- transudate-type:	9/19		47
- oligoclonal:	3/19		16

Tableau I: analyse du LCR chez des patients atteints de méningite virale (N=19) (C.J.M.Sindic;1985).

Le nombre de cellules varie de 10 à quelques milliers par mm^3 . Il s'agit d'une lymphocytose pure ou presque (au moins 95% de lymphocytes) dans 2/3 des cas. Il faut savoir qu'au tout début d'une méningite virale, la formule cytologique peut être mixte : des lymphocytes et polymorphonucléaires sont présents, voire parfois uniquement des polymorphonucléaires dont le nombre s'abaissera ensuite.

Une perméabilité de la BHM accrue est détectée par un contenu protéinique total élevé et un rapport $\frac{\text{Albumine LCR}}{\text{Albumine sérum}}$ élevé chez la moitié des patients atteints de méningite virale.

L'index IgM est élevé dans 70% des cas, beaucoup plus fréquemment que l'index IgA (35% des cas voient leur index IgA augmenté) et l'index IgG (élevé chez 16% des patients). Il y a donc synthèse locale des immunoglobulines pour lesquelles l'index est augmenté.

Les agents viraux responsables des méningites aseptiques bénignes n'induiraient pas une réponse significative des cellules B à l'intérieur du SNC mais l'invasion des cellules mononucléaires (lymphocytes T et macrophages) représente une étape de défense décisive.

Dans les méningites dues aux virus des Oreillons, des IgG oligoclonales ont été détectées chez 40% des patients (Vandvik et al., 1978), chez 37% (Fryden et al., 1978) et 21% des patients (Link et al., 1981).

Les chaînes légères des IgG sont essentiellement de type lambda (Fryden et Link, 1979).

Par immunofixation, la synthèse locale d'anticorps contre le virus des Oreillons a été démontrée chez 90% des patients (Vandvik et al., 1982) et chez 83% des patients par ELISA (Ukkonen et al., 1981). Cette production locale d'anticorps est parfois accompagnée d'une production d'anticorps non spécifiques, par le recrutement des cellules B (à mémoire). Les méningo-encéphalites induites par le virus de l'herpès zoster (varicelle-zona) sont caractérisées par une importante réponse des cellules B à l'intérieur du SNC, avec une production locale d'anticorps IgG, IgA et IgM spécifiques au virus. Des bandes oligoclonales apparaissent également sur le tracé électrophorétique des LCR (Felgenhauer et al., 1980; Vartdal et al., 1982).

L'encéphalite liée au virus de l'herpès.

La maladie est caractérisée par un engagement préférentiel des régions orbito-frontale et médio-temporale du cerveau et par une nécrose hémorragique du tissu infecté.

L'isolement du virus à partir du LCR ou la détection des antigènes de l'herpès simplex par immunofluorescence dans les leucocytes du LCR donnent très rarement des résultats. L'isolement du virus doit s'effectuer par d'autres méthodes telle que la biopsie cérébrale.

Au début de la réponse immunitaire, des complexes immuns apparaissent dans le LCR : les antigènes du virus sont donc relâchés dans le LCR. Ces immuns complexes pourraient donc être considérés comme marqueur de la maladie. Une protéine, dont l'origine peut être virale, d'un poids moléculaire de 120.000 a été détectée dans plusieurs LCR de patients souffrant d'encéphalites liées à l'herpès

virus simplex (Vaheiri et al., 1982). L'encéphalite se caractérise par des concentrations élevées en ferritine et S-100. Chez 78% des patients atteints d'encéphalite dues à l'herpès virus, ces concentrations indiquent des hémorragies et nécroses du SNC.

Les augmentations de ferritine et S-100 ne sont pas observées dans les autres types d'encéphalites, c'est-à-dire dans les encéphalites non liées à l'herpès virus simplex, au cours des méningites tuberculeuses ou de la neurosyphilis.

La concentration en protéines totales dans le LCR est variable suivant les patients. Ainsi, chez les patients qui ont survécu à une maladie sans séquelles, la concentration en protéines était inférieure à 1g/l.

Les autres patients, qui sont décédés ou ont survécu à l'encéphalite en gardant des séquelles, sont caractérisés par des concentrations élevées en protéines.

Les concentrations en S-100 sont étroitement liées à l'issue clinique de la pathologie. Ainsi, les patients chez qui la S-100 n'était pas détectée se sont rétablis complètement. Tandis que les autres patients chez lesquels la S-100 était détectée et se trouvait en concentration croissante, sont décédés. La quantité de virus évaluée par culture ou méthodes à l'immunoperoxydase est considérée être liée à la gravité de la maladie (Nahmias et al., 1982). Ces quantités élevées de virus pourraient causer une nécrose plus étendue du tissu nerveux et par conséquent un relâchement plus important de S-100 dans le LCR.

La présence de bandes oligoclonales dans le LCR est retrouvée dans l'encéphalite liée à l'herpès virus simplex (Laterre et Sindic, 1980).

Par immunofixation, Vandvik et al. (1982) ont montré que ces bandes oligoclonales représentaient essentiellement

des anticorps spécifiques du virus. Au cours de la maladie, les indices IgG, IgM et IgA augmentent. Dans certains cas, la réponse IgM persiste tardivement dans l'évolution de la maladie (Vaheri et al., 1982 - Sindic, 1985). Une réponse locale importante des cellules B se produit donc dans les infections du SNC induites par le virus de l'herpès simplex.

L'encéphalite liée au virus de l'herpès est donc caractérisée par :

- une pléiocytose lymphoïde; dans certains cas, les cellules polymorphonucléaires peuvent exister en nombre prépondérant au début de la maladie.
- l'altération variable de la BHM; la pathologie pourrait évoluer différemment suivant les cas.
- Les concentrations en protéines, en IgG, IgM et IgA : celles-ci augmentent dans la première phase de la maladie.
Les IgG sont produites dans le SNC durant une période prolongée alors que dans les autres pathologies infectieuses, la production des IgG est généralement très brève.
- L'apparition d'anticorps spécifiques au virus dont la concentration augmente parallèlement à l'augmentation des IgG totales.
Dans de nombreux cas, l'augmentation des anticorps dirigés contre le virus de l'herpès est plus importante dans le LCR que dans le sang.
- Les cellules responsables de la production des IgG dans le SNC proviennent du sang. Ces cellules sont, éventuellement originaires du SNC.

La réponse immunologique est engagée par les cellules B et les macrophages tissulaires; la transsudation de composants plasmatiques n'en est pas responsable.

L'utilisation de méthodes enzymatiques ou les Radio-immuno ne fournissent pas nécessairement un diagnostic concluant;

L'isolement du virus de l'herpès ou la preuve de la présence de ses antigènes dans la biopsie cérébrale est la seule manière de confirmer le diagnostic.

C'est seulement la ponction lombaire qui permet d'affirmer le diagnostic de méningite virale (ou méningite lymphocytaire aiguë virale) et éliminera ainsi les autres étiologies des méningites lymphocytaires :

- purulente (cfr chapitre VII. 2.6.1.)
- tuberculeuse (cfr chapitre VII. 2.6.2.)
- des leptospiroses, elle aussi lymphocytaire
(cfr chapitre VII. 2.6.4.).

VII. 3.6. INFECTIONS BACTERIENNES DU SNC

1. Méningite pyogénique (purulente)

Le LCR devient purulent et contient un nombre élevé de leucocytes polymorphonucléaires; parfois ce nombre est supérieur à celui du sang.

La concentration en protéines augmente et la concentration en glucose diminue. Le type de bactérie responsable de la méningite varie suivant l'âge du patient. Des concentrations sériques élevées en CRP sont observées au cours de cette méningite alors qu'elles ne le sont pas dans les méningites virales. La concentration de CRP dans le LCR est moins fiable en ce qui concerne la discrimination de ces 2 types de méningites car la CRP peut être utilisée localement (rôle de l'opsonine). Les concentrations élevées de lactoferrine dans le LCR sont liées au nombre de cellules polymorphonucléaires (Sindic, 1985).

La CRP et la lactoferrine sont 2 protéines représentant les moyens de défense contre l'invasion bactérienne. Les anticorps sériques peuvent traverser la BHM altérée fortement et être responsables de la formation intrathécale des complexes immuns solubles, avant la production d'anticorps spécifiques à l'intérieur du SNC. Ces anticorps spécifiques sont produits localement dans les méningites chroniques et subaiguës; des bandes oligoclonales sont visibles après électrophorèse du LCR. Cliniquement, la bactérie responsable de la méningite est identifiée à l'examen bactériologique du LCR.

2. Méningite tuberculeuse

La BHM est altérée. L'index IgG est augmenté chez tous les patients. Les bandes oligoclonales ne sont observées que chez certains de ceux-ci. L'index IgM est élevé durant l'infection. L'index IgA est également augmenté. L'immunité cellulaire joue un rôle de défense capital contre les infections tuberculeuses. Cependant, une réponse humorale se déroule parallèlement à l'intérieur du SNC, comme le montrent la synthèse des immunoglobulines et la présence de bandes oligoclonales. Ces bandes sont spécifiques de *Mycobacterium tuberculosis* (Kinnman et al., 1981).

3. Neurosyphilis

Patients	Interval between samples (days)	Protein (g/l) NI < 0.55	Cells (/mm ³) NI < 5	IgG NI < 0.69	Indices for IgA NI < 0.42	IgM NI < 0.079	OB	Serology	
								CSF	Serum
n° 1	-	0.36	0	1.96	ND	ND*	+	IF: 1/160 TPHA: 1/320	IF: 1/3200 TPHA: 1/1280
n° 2 sample 1	0	1.04	185	3.59	0.91	7.94	+	IF: 1/320 TPHA: 1/1280	IF: 1/1600 TPHA: 1/5120
2	30	0.39	42	3.3	1.02	5.46	+	IF: 1/640 TPHA: 1/320	ND
3	86	0.32	12	5.45	0.73	2.74	+	IF: 1/128 TPHA: 1/800	IF: 1/6400 TPHA: 1/10,240
n° 3 sample 1	0	0.59	46	0.83	0.54	0.310	+	IF: 1/160 TPHA: 1/1024	IF: 1/3200 TPHA: 1/1280
2	140	0.46	6	1.17	0.33	0.131	+	ND	IF: 1/800 TPHA: 1/1280
3	256	0.24	2	0.96	0.32	0.044	+	IF: 1/30 TPHA: 1/320	IF: 1/1600 TPHA: 1/1280
n° 4	-	0.79	1	0.79	1.05	0.42	+	IF: > 1/40 TPHA: > 1/32	IF: 1/400 TPHA: 1/80
n° 5	-	0.46	16	0.19	0.19	0.102	-	IF: 1/40 TPHA: 1/32	IF: 1/1600 TPHA: 1/2560
n° 6	-	0.19	1	1.15	0.24	0.042	+	IF: 1/40 TPHA: 1/64	IF: 1/400 TPHA: 1/640

OB: oligoclonal bands

IF: Fluorescence treponema antibody absorption test

ND: not determined

TPHA: Treponema pallidum haemagglutination assay

* The CSF IgM was very high (10,500 ng/ml; NI < 400), what suggested a local production.

Tableau J: analyse du LCR de patients atteints de neurosyphilis (C.J.M.Sindic; 1985).

- Les IgG, IgA et IgM sont en concentration élevée dans le LCR de patients souffrant de neurosyphilis. L'augmentation de ces immunoglobulines est due à une synthèse locale (tableau J). Les tests de la syphilis sont positifs dans le LCR de tous ces patients.

Les rapports anticorps anti T-pallidum du $\frac{\text{sérum}}{\text{LCR}}$ sont plus faibles que chez les gens "normaux": ceci suggère la synthèse locale d'anticorps. Des bandes oligoclonales sont généralement observées chez ces patients.

Un seul patient atteint de neurosyphilis n'en présente pas car récemment, il a souffert d'une méningite confirmée par la pléiocytose du LCR (16 cellules par mm³).

L'index IgG est élevé chez tous les patients excepté le patient 5.

Par électroimmunofixation, Vartdal et al., 1982; Strandberg-Pedersen et al., 1982 ont montré que les bandes oligoclonales du LCR contenaient des anticorps anti-Tréponème pallidum.

L'index IgM est élevé chez tous les patients sauf le patient 6. On remarque que chez les sujets syphilitiques traités, la concentration en IgM diminue rapidement. Müller et al., 1984, suggère que la production locale d'IgM n'est possible qu'en présence de tréponèmes pallidum vivants.

4. La leptospirose

La leptospirose est une méningite bactérienne, la plus fréquente après les méningites virales. Le LCR comporte une pléiocytose modérée, inférieure à 500 avec une formule mixte puis à prédominance lymphocytaire.

L'albumine est modérément élevée ou normale. Sucres et chlorures sont normaux.

Le diagnostic repose notamment sur l'isolement du germe dans le LCR les premiers jours de la maladie.

VII. 4. LES PATHOLOGIES TUMORALES

VII. 4.1. INTRODUCTION

Le myélome est une prolifération maligne de plasmocytes qui sécrètent une immunoglobuline monoclonale.

Tout se passe comme si un clone plasmocytaire normal était stimulé indéfiniment.

Les myélomes IgG, les plus fréquents, sont ceux qui ont le taux d'Ig le plus élevé et s'accompagnent fréquemment de complications infectieuses du fait de l'importance de la baisse des immunoglobulines normales.

Le méningiome est une tumeur bénigne développée au dépens des méninges. La gravité réside dans le fait qu'elle comprime le cerveau ou, beaucoup plus rarement, la moëlle épinière. Cette tumeur peut être de petite taille ou, au contraire, très étendue.

L'arachnoïdite est une inflammation du feuillet intermédiaire des méninges : l'arachnoïde.

La réaction inflammatoire évolue en 2 phases :

- 1) proliférative, caractérisée par l'apparition d'infiltrats lymphocytaires et la formation d'un tissu fibreux.

2) constrictive : des adhérences entre la pie-mère et dure-mère se forment.

Le tissu fibreux prolifère, engainant les racines nerveuses et les réseaux artériel et veineux.

L'arachnoïdite a pour résultat de perturber la circulation du LCR; elle retentit sur la moëlle et ses racines, les nerfs optiques, le parenchyme cérébral selon sa localisation : moëlle et/ou base du crâne.

VII. 4.2. RESULTATS EXPERIMENTAUX CARACTERISTIQUES DES

 BANDES PROTEINIQUES PRESENTES DANS LE LCR

 DES SUJETS ATTEINTS D'UNE PATHOLOGIE TUMORALE

 L'ANALYSE A ETE EFFECTUEE SUR GEL DE POLYACRY-

 LAMIDE EN MILIEU SDS.

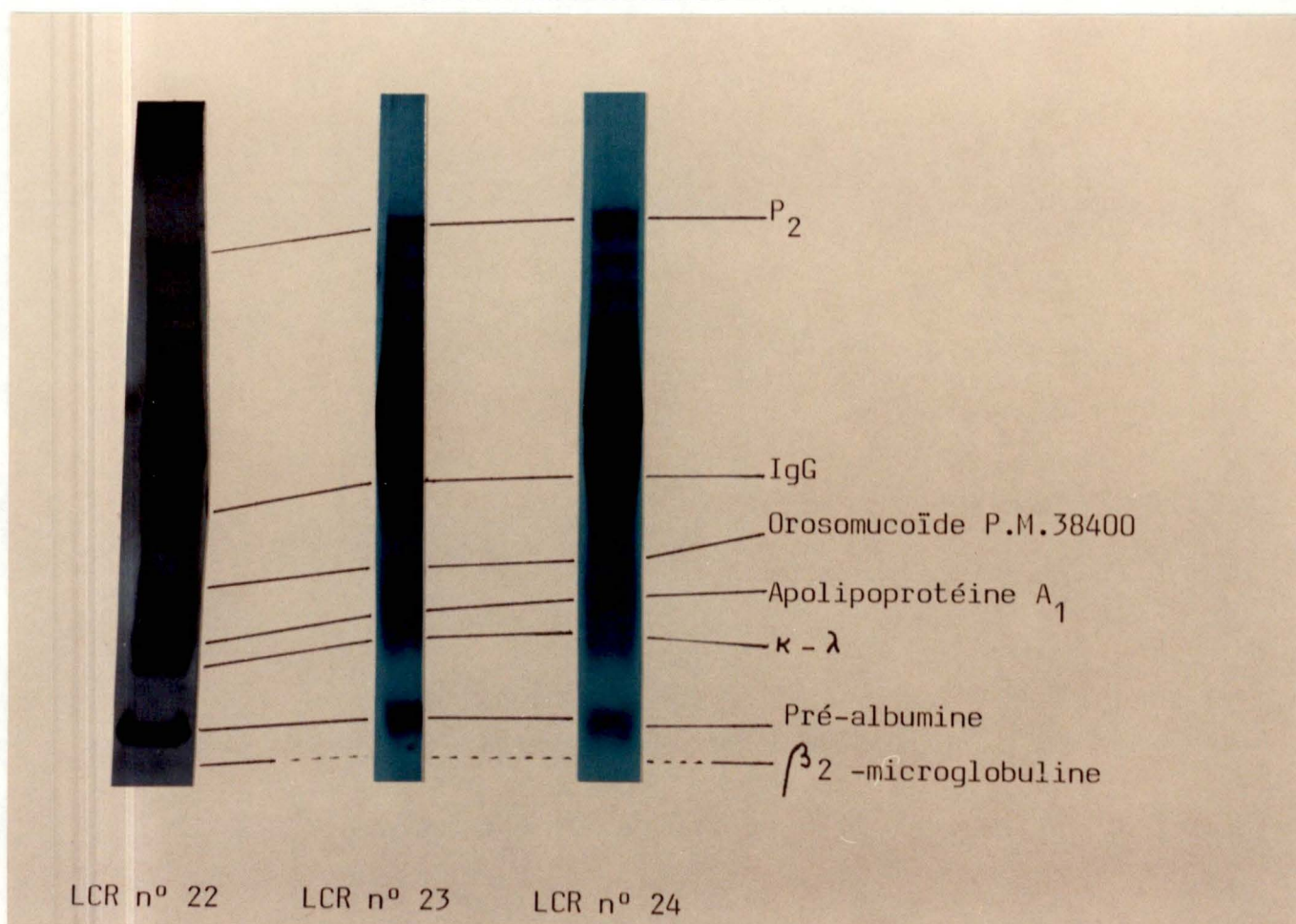


Tableau 24

	Glucose 45-75 mg/dl	Chlorures 115-132 mEq/l	Cytologie: Numération avant hémolyse éléments/mm ³	Cytologie: Numération après hémolyse < 3 éléments/mm ³
LCR n° 22	54	126	< 3	< 3
LCR n° 23	57	116	23	22
LCR n° 24	-	-	< 3	-
LCR n° 25	-	-	6	< 3

- Nous observons les variations des protéines suivantes :
 - P₂ PM = 179.500 ↗
 - IgG ↗
 - Orosomucoïde PM = 38.400 ↗
 - Apolipoprotéine A₁ ↗
 - Chaînes légères K-λ ↗

 - Pré-albumine PM = 17.500 ↘

- Nous remarquons la présence de β₂-microglobuline dans les LCR N° 22.

VII. 4.3. RESULTATS ET DISCUSSION DES DOSAGES DES PRO-

 TEINES EFFECTUES PAR NEPHELOMETRIE LASER ET

 PAR ELECTROPHORESE DES LCR SUR ACETATE DE

 CELLULOSE

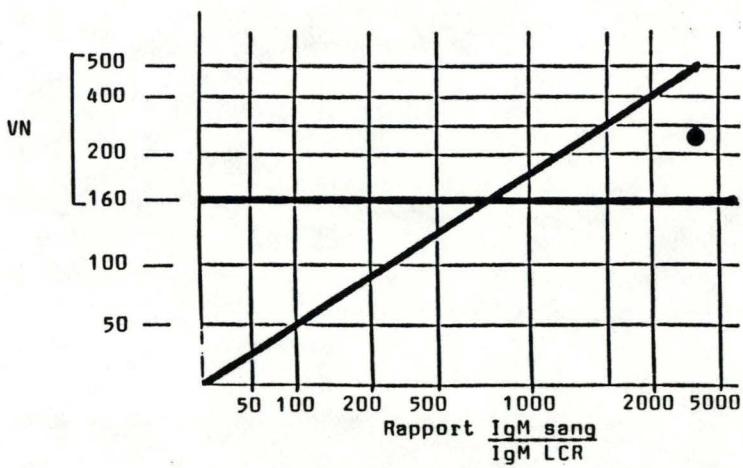
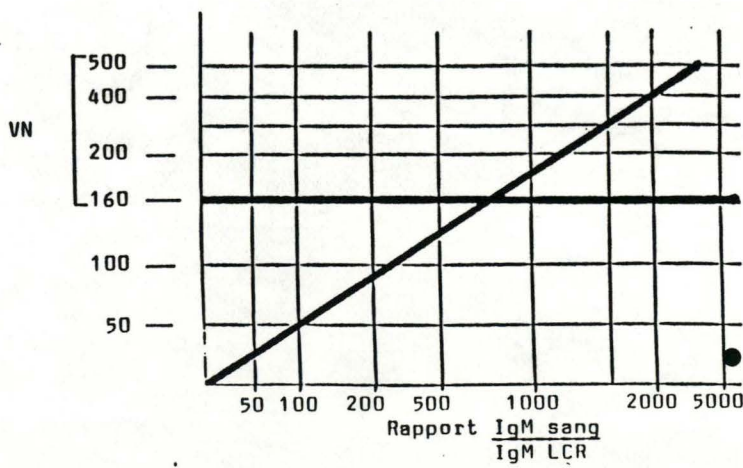
- La concentration des protéines dans les pathologies tumorales se situe dans l'intervalle de référence pour le LCR N°22; elle est élevée pour le LCR N°25 et très élevée pour les LCR N°23 et 24 (tableau 19).

Dans ces pathologies, les protéinorachies sont généralement en concentration augmentée par rapport aux LCR normaux.

L'augmentation de la concentration des protéines est variable suivant la pathologie : les pathologies médullaires sont caractérisées par une protéinorachie supérieure à 0,60 g/l (60 mg/dl); cette protéinorachie peut atteindre la valeur de plusieurs g/l.

Les pathologies intra-crâniennes sont associées à une hyperprotéinorachie modérée.

Tableau 22

	Index IgM	Méthode graphique IgM
LCR n°22	0,0007	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">IgM</p> <p>Rapport :</p> <p>$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$</p> </div> <div>  </div> </div>
LCR n°24	0,0002	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p style="border: 1px solid black; display: inline-block; padding: 2px;">IgM</p> <p>Rapport :</p> <p>$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$</p> </div> <div>  </div> </div>

- La concentration en albumine est normale dans les LCR N°22 et 25 et très élevée dans les LCR N°23 et 24.
- Une concentration élevée d'albumine dans les LCR résulte soit d'une altération de la BHM
- soit d'une élévation importante de la concentration d'albumine dans le sang.

Par ailleurs, nous connaissons la concentration de l'albuminémie : elle est inférieure à la valeur limite de l'intervalle de référence.

En conséquence, on doit admettre que la concentration élevée d'albumine dans le LCR provient de l'altération de la BHM, ce qui est appuyé par la méthode graphique.

- Les IgG sont en concentration normale dans le LCR N°22, élevée dans le LCR N°25 et très élevée dans les LCR N°23 et 24.

Les pathologies tumorales sont habituellement accompagnées de l'augmentation de la concentration des IgG.

- Les IgA ont été dosés sur les LCR N°22 et 24.
- Le LCR N°24 est caractérisé par une concentration élevée d'IgA
- Les IgM sont en concentration normale dans les LCR 22 et 24. Les IgM affichent des valeurs plus élevées dans la majorité des cas de pathologies tumorales
 - Le quotient $\frac{\text{IgG}}{\text{Albumine}}$ est normal dans les LCR N°22 et 25, et élevé dans les LCR N°23 et 24.

Ce quotient élevé signifierait qu'il y a une synthèse intrathécale d'IgG. Or - pour le LCR N°24 - l'index IgG, les formules de Tourtellotte, de Schüller et la méthode graphique rendent compte de l'absence d'une synthèse intrathécale d'IgG (nous ne pouvons pas en dire autant pour le LCR N°23 pour lequel nous n'avons pas reçu de sang au laboratoire).

Tableau 21

	Index IgG	Formule de Tourtellotte	Formule Schüller	Méthode graphique IgG
LCR n° 22	0,21	-0,22	6,31	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</p> <p>Rapport :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div> </div>
LCR n° 24	0,26	-61,94	-95,28	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IgG</p> <p>Rapport :</p> $\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ </div> </div>

Par électrophorèse sur acétate de cellulose, nous pouvons faire les remarques suivantes :

- la pré-albumine est tantôt en pourcentage normal (LCR N°22 et 25), tantôt en pourcentage inférieur à la normale (LCR N°23 et 24) (tableau 20).
- l'albumine se situe dans l'intervalle de référence (LCR N°23) et en deçà (LCR 22, 24 et 25); donc ses valeurs varient suivant les patients atteints de cette pathologie.

Nous constatons que pour le LCR N°24, malgré la concentration très élevée en albumine, le pourcentage de celle-ci par rapport aux autres protéines est faible. Ceci peut s'expliquer par les pourcentages élevés des fractions alpha-1 et gamma globulines.

- La fraction alpha-1 globulines est en pourcentage tantôt normal, tantôt diminué, voire augmenté dans le LCR.
- La fraction alpha-2 du LCR est, elle aussi, en pourcentage soit normal, soit diminué, soit augmenté.
- La fraction des Bêta-tau globulines est également représentée dans le LCR en pourcentage variable.
- Quant à la fraction constituée par les gamma-globulines elle est retrouvée en pourcentage élevé dans les LCR de tous les patients atteints de pathologies tumorales.

Le LCR N°24 présente un clône pour la fraction gamma: les IgG ont un profil monoclonal.

La technique d'électrophorèse sur acétate de cellulose est particulièrement intéressante pour le LCR N°22.

Le LCR est caractérisé par une concentration normale en IgG et un pourcentage élevé de la fraction gamma.

Tableau 20

	Fraction V 3-5 %	Albumine 55-65 %	α_1 3-5 %	α_2 3-7 %	$\beta - \tau$ 12-16 %	γ 7-11 %
LCR n° 22	3,15	51,54	3,65	8,67	17,85	15,14
LCR n° 23	1,63	63,63	2,79	2,55	7,42	21,97
LCR n° 24	0,99	50,99	5,64	5,34	12,34	24,70
LCR n° 25	3,77	48,72	4,86	8,20	16,57	17,82

Ces résultats s'expliquent de la manière suivante : la concentration d'IgG dans le LCR s'est accrue mais insuffisamment pour que cette valeur dépasse la limite supérieure de l'intervalle de référence.

L'augmentation de la concentration d'une protéine présente dans le LCR peut ne pas être décelée dans les cas où l'électrophorèse sur acétate de cellulose n'est pas effectuée.

Les dosages de protéines par néphélométrie Laser et l'électrophorèse des LCR sur acétate de cellulose sont donc des méthodes complémentaires.

VII. 4.4. ESTIMATION DE LA SYNTHÈSE LOCALE D'IMMUNOGLOBULINES

 DANS LE SNC DES PATIENTS ATTEINTS DE PATHOLOGIES TUMORALES

1.- Les IgG

L'index IgG est normal pour les LCR N°22 et 24 (tableau 21).

Pour les LCR N°23 et 25, faute d'avoir reçu un échantillon des sérum correspondants, il ne nous a pas été possible de calculer les index IgG.

Les formules de Tourtellotte et de Schüller indiquent qu'il n'y a pas de synthèse intrathécale d'IgG.

La méthode graphique autorise les mêmes conclusions que celles auxquelles conduisent les formules de Tourtellotte et de Schüller.

D'autre part, les graphes nous permettent de souligner l'altération de la BHM pour le LCR N°24.

Index IgA

Méthode graphique IgA

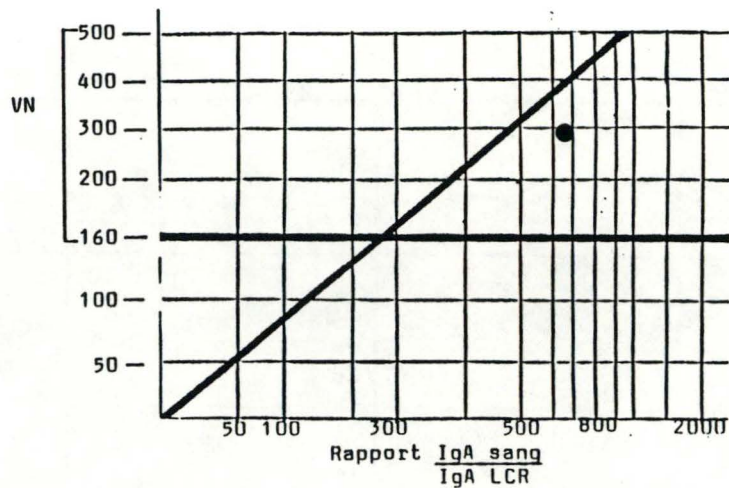
LCR n°22

0,0129

IgA

Rapport :

$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$



LCR n°24

0,0067

IgA

Rapport :

$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$

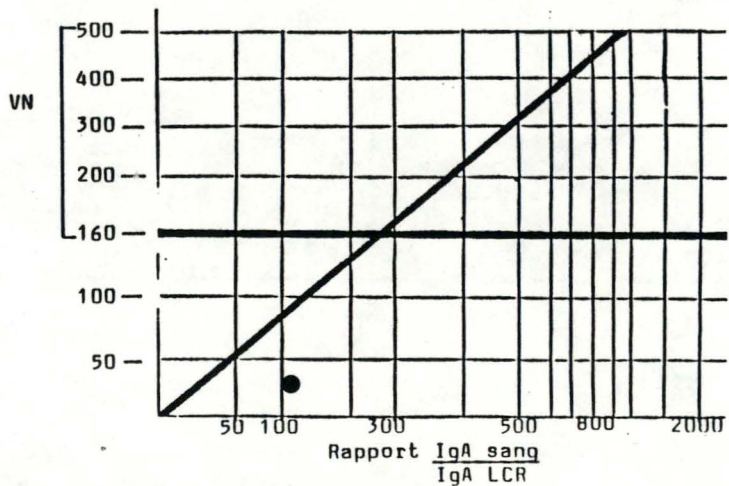


Tableau 19

	Protéines 26-50 mg/dl	Albumine 11,0-38,0mg/dl	IgG 0,7-3,5 mg/dl	IgG/Albumine	IgA 0,25-0,52 mg/dl	IgM 0,0-0,1 mg/dl
LCR n° 22	33	17,7	1,77	0,07	0,357	0,07
LCR n° 23	160	69,3	13,4	0,19	-	-
LCR n° 24	265	96	21,6	0,23	1,1	0,04
LCR n° 25	60	18,6	3,75	0,20	-	-

2.- Les IgM

L'index IgM est normal chez ces patients (tableau 22). Les graphes ne mettent en évidence aucune synthèse intrathécale d'IgM.

3.- Les IgA

Dans le cas du LCR N°24, l'index IgA et la méthode graphique ne rendent compte d'aucune synthèse intrathécale d'IgA (tableau 23).

Le LCR N°22 est caractérisé par un index IgA élevé. Dans le graphe spécifique aux IgA, le rapport $\frac{\text{IgA sang}}{\text{IgA LCR}}$ en fonction du rapport

$\frac{\text{Albumine sang}}{\text{Albumine LCR}}$ se situe

dans la zone normale.

La technique d'électrophorèse sur agarose montre un renforcement homogène de la bande des immunoglobulines dont l'aspect est très proche de celui des tracés sériques.

Ce profil est dû à l'augmentation des 3 classes d'immunoglobulines (IgG, IgM et IgA).

Cette disposition les différencie des IgG d'origine intrathécale. Ceci laisse à penser que les immunoglobulines augmentées au cours des tumeurs du SNC sont très certainement d'origine plasmatique.

Les tests cytologiques effectués sur les LCR indiquent que les LCR contiennent un nombre normal d'éléments après hémolyse (tableau 24).

Seul, le LCR N°23 est caractérisé par un nombre élevé d'éléments avant et après hémolyse.

D'autre part, la formule cytologique de ce LCR a été établie :

- 10% des éléments sont polymorphonucléés
- 90% des éléments sont monomorphonucléés.

La quasi totalité de ces derniers est représentée par des lymphocytes.

Les tumeurs intra-crâniennes sont habituellement associées à une cytorachie (c'est-à-dire nombre d'éléments cellulaires présents dans le LCR) de 5 éléments/mm³. Les tumeurs localisées au niveau du rachis sont rarement accompagnées d'une réaction cellulaire. Dans les tumeurs malignes, le nombre plus élevé d'éléments semble être observé.

Les concentrations en glucose et chlorures sont normales dans les LCR N°22 et 23; ces dosages n'ont pas été effectués pour les autres LCR. En principe, la glycorachie est, en effet, sans intérêt. Les concentrations en glucose et chlorures semblent être normales quelle que soit la pathologie tumorale.

CHAPITRE VIII. DISCUSSION

Ebauche de profils protéiques du LCR.

	Pathologie SEP	Pathologie dégénérative	Pathologie infectieuse	Pathologie tumorale
Protéine P.M.211850	x		x	
Céruleplasmine P.M.164500 ↗ ↘		x	x	
P ₄ (P.M.114250) ↗		x		
P ₆ (P.M.86000) ↘	x			
IgG ↗	x		x	x
Orosomucoïde ↗	x	x	x	x
Haptoglobine ↗		x	x	
Apolipoprotéine A ₁ ↗	x			x
κ - λ ↗ ↘				x
	x	x		
Pré-albumine ↗ (P.M.17500) ↘	x	x	x	
				x
β ₂ -microglo- buline	x	x		x
P ₂ (P.M.179500) ↗			x	x

Nous constatons que :

- *l'orosomucoïde se retrouve en concentration élevée dans toutes les pathologies neurologiques étudiées. Cette protéine ne permet donc pas la différenciation de ces pathologies.
- *l'augmentation de la concentration de la protéine P₄ est caractéristique des pathologies dégénératives.
- *la diminution de la concentration de la protéine P₆ est caractéristique de la SEP.
- *l'augmentation de la concentration de la protéine P₂ permet de différencier les pathologies infectieuses et tumorales des pathologies dégénératives et de la SEP.
- *l'augmentation de la concentration des IgG permet la différenciation des pathologies infectieuses, tumorales et la SEP, des pathologies dégénératives.
- *l'augmentation de la concentration de l'haptoglobine permet de différencier les pathologies dégénératives et infectieuses, des pathologies tumorales et de la SEP.
- *la SEP et les pathologies tumorales sont différenciées des pathologies infectieuses et dégénératives par leur concentration élevée en Apolipoprotéine A₁.
- *la céruloplasmine (P.M.164.500) permet de différencier les pathologies dégénératives et infectieuses - où la concentration en cette protéine est élevée - des pathologies tumorales caractérisées par une concentration normale en céruloplasmine, des SEP où la concentration en cette protéine est diminuée.

- *les chaînes légères $\kappa - \lambda$ sont en faible concentration dans les pathologies dégénératives et la SEP (cas observé chez nous), en concentration normale dans les pathologies infectieuses, en concentration élevée dans les pathologies tumorales.
- *la pré-albumine (P.M.17.500) est en concentration élevée dans les pathologies infectieuses, dégénératives et la SEP contrairement aux pathologies tumorales au cours desquelles la concentration en pré-albumine est faible.
- *les pathologies infectieuses et la SEP se différencient des pathologies tumorales et dégénératives par la présence d'une protéine supplémentaire de P.M.211.850 d.
- *la β_2 -microglobuline est une protéine présente au cours des pathologies tumorales, dégénératives et la SEP. Cette protéine est absente dans le LCR normal ou prélevé chez des patients atteints de pathologies infectieuses.

Il est difficile pour nous d'interpréter les variations de concentration de ces protéines étant donné que le rôle de certaines de celles-ci est connu dans le sang mais pas dans le LCR.

A notre connaissance, aucun travail portant sur l'étude de la physiologie des protéines du LCR n'a été effectué. Toutefois, il est probable que la majorité des protéines joue un rôle semblable dans le LCR et dans le Sang.

- La β_2 -microglobuline est une protéine de nature polypeptidique caractérisée par un P.M. de 13.000 d. D'une part, la β_2 -microglobuline est une protéine identique à la chaîne polypeptidique légère de la molécule HLA. En effet, toute molécule HLA est constituée de deux chaînes: la première est une glycoprotéine, la seconde un polypeptide.

les molécules HLA sont localisées en surface des lymphocytes. Attaquées, elles seraient détruites et libèreraient la chaîne légère polypeptidique qui pourrait être la β_2 -microglobuline. Celle-ci existe à l'état de trace dans le LCR normal.

D'autre part, la séquence des acides aminés de la β_2 -microglobuline présente une homologie remarquable avec la région constante de la chaîne lourde des IgG.

- Les protéines caractérisées par un P.M. de 211.850, 179.500, 114.250 et 86.000 exercent un rôle au cours de certaines pathologies du SNC. Leur rôle n'est pas précisé faute d'avoir pu identifier ces protéines.
- La céruloplasmine est une protéine présente en concentration élevée dans les syndromes inflammatoires (acute phase reactant).
- Les IgG sont en concentration élevée dans les maladies auto-immunes, les infections chroniques ou qui évoluent vers la guérison et les myélomes.
- L'orosomucoïde se comporte comme une protéine de l'inflammation.
- L'haptoglobine est en concentration élevée au cours des syndromes inflammatoires. Comme toutes les protéines de l'inflammation, elle neutralise les cathepsines leucocytaires libérées lors de tout processus inflammatoire.

La SEP est une pathologie caractérisée par une réaction immunitaire qui conduit principalement à la synthèse locale d'IgG oligoclonales. Aucune recherche n'a pu mettre en évidence un antigène responsable de cette synthèse locale.

Suivant notre étude, une diminution de la concentration de la protéine P₆ serait spécifique de la SEP.

Des hypothèses concernant le mécanisme de la SEP ont été proposés:

- des macrophages sont liés aux fibres nerveuses myélinisées au niveau des plaques. Ils possèdent en surface des IgG .

Donc ces IgG pourraient se lier à la protéine myélinique basique au niveau des gaines de myéline du SNC, ce qui déclencherait le processus de démyélinisation.

Cette hypothèse peut être appuyée par la diminution en concentration du composant terminal du complément (C₉).

- les patients atteints de la SEP ont contracté un pourcentage d'infections nasopharyngées plus élevé que les autres patients. Plusieurs arguments sont en faveur de l'association entre la SEP et la sinusite. Mais puisqu'aucun microorganisme n'était trouvé dans les plaques, les perturbations immunologiques pouvaient être considérées comme responsables du développement de la SEP.
- la découverte récente des spirochètes au niveau des plaques ouvre une nouvelle voie, d'autant plus que la maladie engendrée par ces bactéries présente certaines homologues avec la SEP.

Suivant nos résultats, les patients atteints de dégénérescence affichent généralement une concentration élevée en protéines:celles-ci révèlent une altération de la BHM ou/et un métabolisme protéique perturbé. Les immunoglobulines ne sont vraisemblablement pas synthétisées à l'intérieur du SNC.

L'augmentation de la protéine P₄ serait spécifique des pathologies dégénératives.

Les pathologies tumorales s'accompagnent fréquemment d'une protéinorachie augmentée.Celle-ci résulte d'une altération de la BHM.

C'est pour la même raison que les concentrations en immunoglobulines sont souvent élevées dans le LCR car aucune synthèse intrathécale n'a été démontrée pour ces dernières au cours de ces pathologies.

Les concentrations élevées en chaînes légères κ - λ et diminuées en pré-albumine (P.M.17500) seraient spécifiques des pathologies tumorales par rapport aux pathologies neurologiques considérées dans cette étude.

Nous n'avons pas pu montrer une variation protéique spécifique aux pathologies infectieuses suivant nos résultats électrophorétiques sur gel de polyacrylamide;ceci peut s'expliquer par la classification de nombreuses maladies distinctes par l'agent infectieux dans ce groupe.

Les concentrations des protéines, IgG, IgM et IgA sont normales ou augmentées suivant les pathologies.

Au cours des infections, la BHM peut être altérée parallèlement à la synthèse locale des immunoglobulines.

Le nombre d'éléments présents dans le LCR est variable.

La concentration de glucose ne chute que lorsqu'une infection bactérienne atteint le SNC: un processus métabolique actif s'y installe.

La diminution de la concentration des chlorures s'observe uniquement au cours des tuberculoses.

CONCLUSION

Au cours de cette étude, le profil de LCR normaux a été réalisé par électrophorèse sur gel en gradient de polyacrylamide en milieu SDS. Cette technique permet, après réduction au moyen du dithiothréitol, la séparation de nombreuses protéines présentes dans le LCR. Le pouvoir de résolution est très bon. C'est par une technique immuno-enzymatique que les protéines ainsi séparées du LCR ont été identifiées. L'utilisation de standards de poids moléculaires connus a rendu possible l'attribution d'un poids moléculaire à toutes les protéines des profils électrophorétiques. La nature polypeptidique ou glycoprotéique des protéines peut être révélée sur base de la double coloration argent/bleu de Coomassie des gels de polyacrylamide. L'élaboration du profil protéique du LCR normal était indispensable pour détecter toute variation protéique observée au cours de certaines maladies neurologiques. Le relevé de ces variations a permis d'établir les profils protéiques caractéristiques de certaines pathologies. Chacune des pathologies considérées au cours de ce travail peut être caractérisée par l'allure de son profil protéique.

A partir des LCR dont nous avons pu disposer au laboratoire, un tableau dressé à partir des variations protéiques observées par la technique utilisée a été proposé. Ce tableau n'est pas définitif: il doit être l'objet de recherches ultérieures.

Il pourrait être utile d'identifier les protéines que nous n'avons pas pu typer.

-La technique enzyme-immunoessai pourrait révéler d'autres fractions protéiques du LCR; ce serait par exemple le cas, si d'autres anticorps que ceux utilisés dans ce travail

étaient disponibles. Il est possible que, de cette manière, une éventuelle protéine myélinique basique présente dans le LCR des pathologies démyélinisantes puisse être détectée.

-D'autres études peuvent être envisagées à partir de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Il est en effet possible d'éluer les protéines de ce gel sur un support ou en phase liquide. D'autres techniques peuvent être déployées pour identifier ces protéines isolées.

-D'autre part, l'utilisation d'une électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 11 % (selon Laemmli) avec dénaturation et réduction de l'échantillon, permettrait certainement encore une meilleure séparation des protéines du LCR.

En conclusion de ce travail, nous avons acquis la conviction que l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide constituait une technique qui, utilisée en laboratoire, pouvait apporter de précieux éléments susceptibles d'affiner le diagnostic étiologique dans le cadre des pathologies neurologiques.

T E C H N I Q U E S

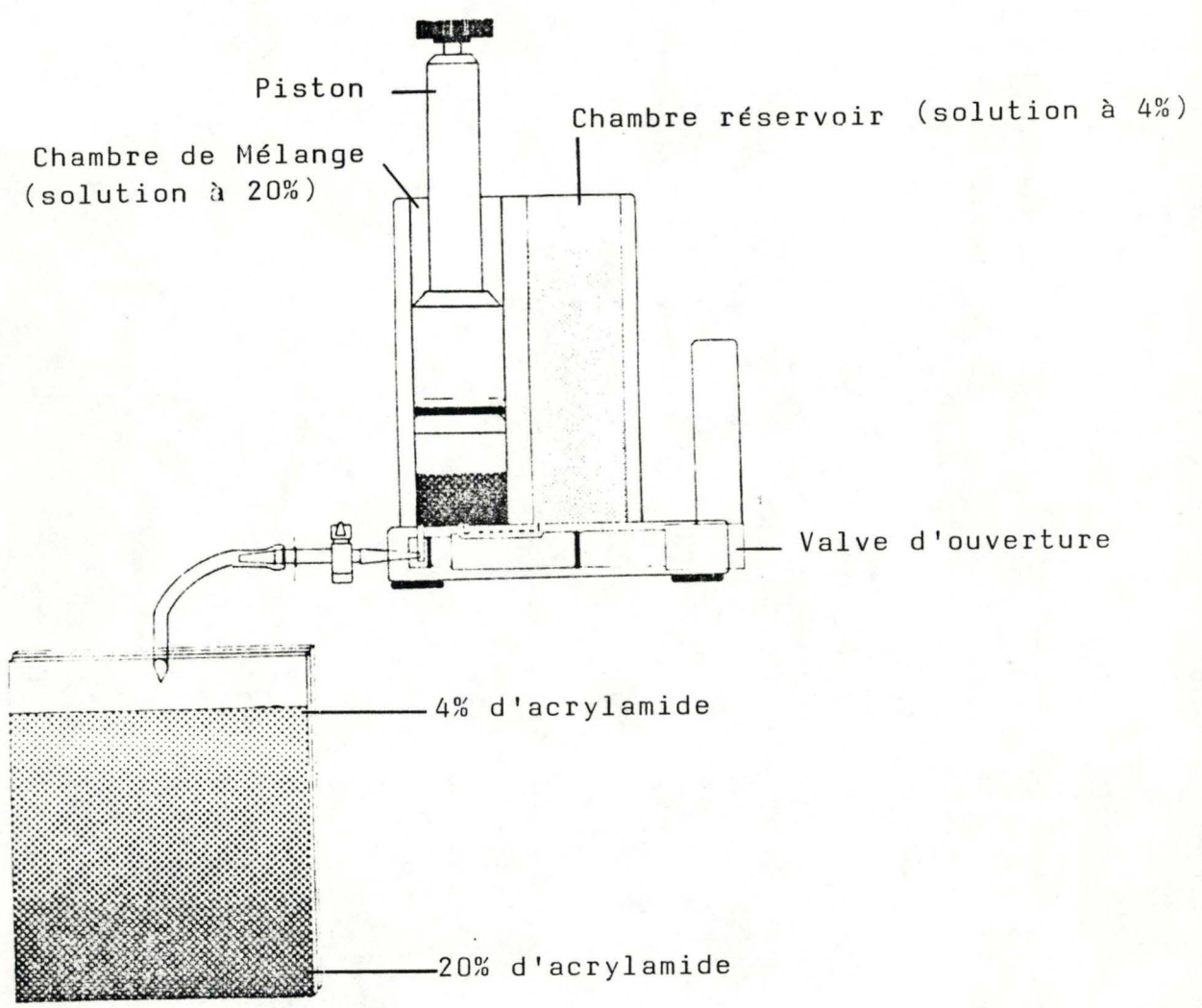


Figure 24: montage gradient concave.

COULAGE DE GEL

- Réaliser le montage gradient afin de couler un gel en gradient de concentration exponentiel (Fig.24).
- Calculer le volume ° de la solution lourde (20% d'acrylamide) pour la chambre de mélange (1/4 du volume total du gel).
- ° de la solution légère (4% d'acrylamide) pour la chambre réservoir (4/4 du volume total du gel).

En raison du volume fixe de la chambre de mélange, la solution légère n'est pas délivrée en totalité pour la formation du gel. 1/4 du volume du gel reste dans la chambre de mélange après le coulage du gel.

- Préparer les solutions lourde et légère:
 - solution à 4%: 8,4 ml acrylamide 20%
33,6 ml tampon TRIS pH 8,35
SDS 0,2%
 - solution à 20%: 10,5 ml acrylamide 20%.

L'acrylamide à 20% est préparé à partir de 19,47 g d'acrylamide et 0,53 g de BIS acrylamide, portés à 100ml avec du tampon TRIS pH 8,35 SDS 0,2%.

Cette solution est conservée à 4°C.

Le tampon TRIS pH 8,35 est constitué de 43g TRIS, 20,16g d' H_3BO_3 , 3,72g de EDTA, portés à 4 litres avec de l' H_2O distillée.

Le tampon TRIS pH 8,35 SDS 0,2% comporte 2g de SDS par litre de tampon TRIS pH 8,35.

- Dégazer pendant 15 minutes.
- Ajouter à la solution à 4%:
 - 210 μ l de persulfate d'ammonium 10% préparé extemporanément.
 - 21 μ l TEMED.

à 20%: - 52,5 μ l de persulfate d'ammonium 10% préparé extemporanément.

- 5,25 μ l de TEMED.

- Mélanger les solutions par rotation.
- Verser la solution à 20% dans la chambre de mélange et la solution à 4% dans la chambre réservoir.
- Fixer le piston dans la chambre de mélange à 1 cm au-dessus de la solution à 20%.
- Brancher l'agitateur magnétique pour que le mélange des solutions se fasse de façon homogène.
- Ouvrir simultanément le robinet de sortie et la communication entre les 2 chambres: les solutions s'écoulent entre les 2 plaques du montage par un capillaire.
- Lorsque les 2 plaques contiennent le volume de solution souhaité, retirer le capillaire et placer le peigne dans la partie supérieure du gel.
NB: il est impératif d'ôter immédiatement les bulles d'air introduites par le peigne en surface du gel.
- Après 15 minutes, une solution saturée en isobutanol à 30% est déposée au-dessus du gel (0,5 ml maximum).
L'isobutanol empêche l'oxygène de venir en contact avec le gel car la polymérisation du gel est optimale en l'absence d'oxygène.
NB: toute la procédure se fait à température ambiante.
- Laisser le gel polymériser pendant 2 heures.
- Polymérisé, le gel peut être utilisé aussitôt ou conservé à 4°C entouré d'un papier imbibé de tampon TRIS pH 8,35 SDS 0,2% pendant une semaine maximum.

ELECTROPHORESE

- Le gel polymérisé est placé dans la cuve à électrophorèse, après avoir retiré le peigne de la partie supérieure du gel et rincé avec du tampon les alvéoles.
- Remplir le compartiment inférieur de la cuve jusqu'à 1 cm environ au-dessus de la base du gel avec du tampon TRIS pH 8,35 SDS 0,2%.
- Mettre du tampon TRIS pH 8,35 SDS 0,2% dans le compartiment supérieur de la cuve jusqu'au bord.
- Amorcer la réfrigération et brancher l'agitateur magnétique.
- Réaliser une pré-électrophorèse à 150 Volts pendant 1 heure pour équilibrer le gel et éliminer les réactifs en excès de la polymérisation.
- Déposer les échantillons dans les alvéoles formées dans le gel par le peigne.
- Laisser migrer les échantillons pendant 3 à 4 heures à 150 Volts. La migration, suivie par le bleu de bromophénol, est stoppée lorsque ce colorant atteint la partie inférieure du gel.

TRANSFERT

- Le gel est démoulé après électrophorèse et placé dans du tampon TRIS glycine (20% méthanol) pH 8,3 ainsi que les papiers filtre pendant 20 minutes.
- Après 15 minutes, immerger également la feuille de nitrocellulose pendant 5 minutes.
- Plonger les éponges dans le tampon TRIS glycine (20% méthanol) pH 8,3.
- Mettre le gel en sandwich:
 - a) le gel, disposé sur un papier filtre, est placé sur une éponge.
 - b) la feuille de nitrocellulose est appliquée sur le gel.
 - c) un papier filtre est appliqué sur la feuille de nitrocellulose.
 - d) le tout est placé sur une éponge.
- L'assemblage est disposé dans la cuve en prenant soin de placer le gel du côté de la cathode et la nitrocellulose du côté de l'anode.
Le transfert se produit de la cathode vers l'anode.
- Remplir la cuve de tampon TRIS glycine (20% méthanol) pH 8,3.
- Brancher l'agitateur magnétique et la réfrigération (fixée à 10°C).
- Le transfert est effectué à 190 mA pendant 3 heures.
- Après le transfert, la nitrocellulose est déposée dans une solution de TBS 2x10 minutes.
Le TBS contient 6,05 g/l de TRIS, 29,22 g/l de NaCl, 39,9 ml de HCl (N). Cette solution est ajustée à pH 7,5.

- Une partie de la nitrocellulose est colorée à l'amidoschwarz 0,1% en solution avec 25% d'isopropanol et 10% d'acide acétique, pendant 8 minutes.

La décoloration se fait pendant une nuit dans une solution 25% d'isopropanol et 10% d'acide acétique.

- L'autre partie de la nitrocellulose est réservée pour le typage des protéines par enzyme-immunoessai.

NOTES PRATIQUES

- Le tampon TRIS (25 mM) glycine (192mM) pH 8,3 comporte 3,03 g/l de TRIS, 14,4 g/l de glycine, 20% de méthanol (vol/vol).
Ce tampon est conservé à 4°C.
- Les papiers filtre, la nitrocellulose et le gel doivent avoir les mêmes dimensions.
- L'immersion de la nitrocellulose dans le tampon TRIS glycine doit se faire prudemment: toute bulle d'air doit être écartée de la nitrocellulose.

ENZYME-IMMUNOESSAI

- La nitrocellulose est découpée en bandes (chaque bande permet le typage d'une seule protéine) et saturée par de l'albumine bovine 5% (SAB) pendant 1 heure à température ambiante. La solution de SAB 5% qui contient 50 g de SAB/l de TBS est conservée à 4°C pendant quelques jours.
- Les bandes de nitrocellulose sont lavées au TBS 3x10 minutes ou une nuit à 4°C.
- La nitrocellulose est incubée avec le premier anticorps 2 heures sous agitation ou une nuit sans agitation.
Pour mettre en évidence * les IgG, IgA, IgM et la céruloplasmine les anticorps utilisés sont des anticorps de chèvre.
* les lysozyme, α_1 antitrypsine, transferrine, hémopexine, β_2 glycoprotéine et β_2 microglobuline, les anticorps utilisés sont des anticorps de lapin.
Ces anticorps sont dilués au $1/25^e$ dans du TBS SAB 0,5%.
- La nitrocellulose est lavée 3x10 minutes avec du TBS.
- Incuber la nitrocellulose avec le second anticorps couplé à la peroxydase, dilué au $1/600^e$ dans du TBS SAB 0,5% pendant 2 heures sous agitation.
Pour les 1^e Ac de chèvre: utiliser comme 2^d Ac des IgG de lapin anti-chèvre, marquées à la peroxydase.
Pour les 1^e Ac de lapin: utiliser comme 2^d Ac des IgG de chèvre anti-lapin, marquées à la peroxydase.
- La nitrocellulose est lavée 3x10 minutes avec du TBS.

- Ajouter la solution de révélation pendant 10 minutes.
La réaction est stoppée avec de l'eau.

La solution de révélation est constituée de

- 20 ml de méthanol + 60 mg HRP color development
(4 chloro-1-naphtol).

- 100 ml TBS + 60 μ l de H_2O_2 30%.

Celle-ci est préparée extemporanément.

- Les bandes de nitrocellulose peuvent être alors photographiées.

DOUBLE COLORATION

- Le gel de polyacrylamide est déposé dans une solution méthanol 40%/acide acétique 10% pendant 1 heure. Cette solution permet la fixation des protéines sur le gel.
- Le gel est immergé dans une solution éthanol 10%/acide acétique 5% pendant 2x30 minutes. Le SDS est éliminé du gel.
- Plonger le gel dans la solution oxydante pendant 10 minutes. La solution d'oxydant comporte 20 ml d'oxydant concentré dilués dans 180 ml d'H₂O distillée. Cette solution est préparée extemporanément.
- Rincer le gel 3x10 minutes dans de l' H₂O distillée.
- Faire réagir 30 minutes le gel avec la solution de nitrate d'argent. Cette solution est préparée extemporanément à partir de 20 ml de solution à l'argent concentrée dilués dans 180 ml d'H₂O distillée.
- Rincer le gel 2 minutes à l'H₂O distillée.
- Faire réagir le gel avec le révélateur environ 30 secondes, jusqu'à l'apparition de la teinte jaune-brune du révélateur.
- Renouveler le révélateur et le laisser agir pendant 5 minutes environ. Le révélateur est utilisé à une température de 45°C. Il est conservé à 23°C pendant 1 mois.
- Rincer à l'H₂O distillée.
- Immerger le gel dans une solution d'acide acétique 7,5% durant 5 minutes.
- Le gel coloré à l'argent est placé dans une solution au bleu de Coomassie G 250 0,1% (1g/l bleu de Coomassie G 250/méthanol 25%/ acide acétique 7,5%) pendant 1 heure.
- Le gel décolore en solution de méthanol 10%/acide acétique 7,5 % pendant une période variable.

- Le gel coloré à l'argent et au bleu de Coomassie peut être photographié.

NOTES PRATIQUES

- Les bains sont réalisés sous agitation en veillant à ce que le gel soit entièrement immergé.
- La durée des bains dépend de l'épaisseur du gel. Les durées indiquées dans le protocole sont valables pour les gels d'épaisseur supérieure à 1,0 mm.
- Les solutions sont utilisées à la température du laboratoire sauf le révélateur qui est utilisé à une température de 45°C.
- Si le gel présente une coloration de fond importante après la coloration à l'argent, le gel peut être placé dans une solution de Farmer pendant 45 secondes et lavé ensuite à l' H₂O.

La solution de Farmer résulte du mélange de 2,5 ml de solution A et de 10 ml de solution B, porté à 250 ml avec de l'H₂O distillée.

La solution A consiste en 7,5 g de ferricyanure de potassium portés à 100 ml avec de l' H₂O distillée.

La solution B consiste en 96 g de thiosulfate de sodium portés à 400 ml avec de l' H₂O distillée.

PREPARATION DES STANDARDS DE POIDS MOLECULAIRES CONNUS

Les standards de poids moléculaires connus pour gel de polyacrylamide en milieu SDS nous ont permis de déterminer le P.M. des protéines variant de 10000 à 250000 Daltons.

Ces standards sont de 2 catégories: -standards de haut P.M.
-standards de faible P.M.

Chaque standard contient 200 μ l de protéines dans une solution glycérol à 50%.

La concentration approximative de chaque protéine est de 2mg/ml; toutes les concentrations en protéines standards ont été ajustées de manière à présenter une coloration d'intensité égale au bleu de Coomassie G 250.

Les échantillons sont dilués au $1/20^e$ dans un tampon contenant du -tampon TRIS pH 8,35

- 1% de SDS
- 1,5424 g% de dithiothréitol 0,1 M
- 10% de glycérol
- 0,001% de bleu de bromophénol.

Les protéines sont dénaturées par le chauffage des échantillons à 100°C pendant 5 minutes.

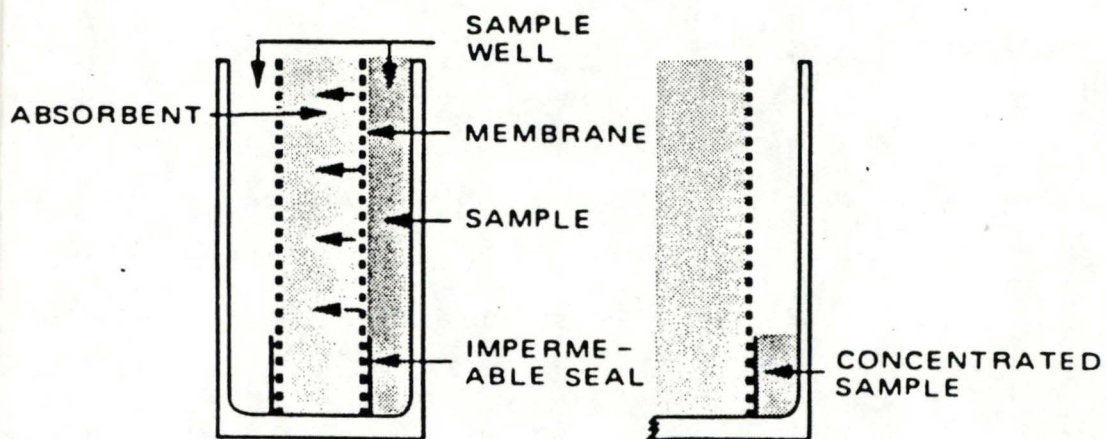


Figure 25: concentration des échantillons de LCR.

PREPARATION DES ECHANTILLONS LCR

- Les échantillons de LCR sont concentrés 60x avant d'effectuer la migration.

La concentration s'effectue par l'intermédiaire d'une membrane semi-perméable: seules l'eau et les protéines dont le P.M. est inférieur à 15000 d pénètrent la membrane et sont absorbées par du papier filtre (fig.25).

Les constituants dont le P.M. est élevé sont progressivement concentrés au fur et à mesure que le volume de l'échantillon diminue.

Le système peut concentrer les liquides 5x, 10x, 20x et 60x. A la concentration 100x, l'emplacement d'une membrane imperméable empêche la concentration de se poursuivre.

Nous avons remarqué que la concentration des LCR s'avérait indispensable pour interpréter les tracés électrophorétiques.

- Les LCR concentrés sont dilués au $1/10^e$ avec du tampon TRIS pH 8,35, 1% de SDS, 0,1 M de Dithiothréitol 1,5424g%, 10% de glycérol et 0,001% de bleu de bromophénol.
- Les LCR concentrés et dilués sont chauffés à 100°C pendant 5 minutes. L'effet du dithiothréitol se marque davantage pour les échantillons chauffés à 100°C pendant 5 minutes que pour les échantillons chauffés à 100°C pendant 1 minute ou à 45°C pendant 10 minutes.
- 25 μ l de chaque échantillon de LCR est déposé dans les alvéoles du gel avant la migration électrophorétique. Ce volume contient en moyenne 55 μ g de protéines.

M A T E R I E L

- Acrylamide: BIO-RAD 161-0100
- BIS-Acrylamide: BIO-RAD 161-0200
- TEMED: BIO-RAD 161-800
- Persulfate d'ammonium: BIO-RAD 161-0700
- Dithiothréitol: BIO-RAD 161-0610
- Standard SDS-PAGE de P.M. faible: BIO-RAD 161-0304
- Standard SDS-PAGE de P.M. élevé: BIO-RAD 161-0303
- Solution d'oxydant: BIO-RAD 161-0443
- Solution d'argent: BIO-RAD 161-0443
- Révélateur: BIO-RAD 161-0443
- Bleu de Coomassie: Sigma B-1131
- Amidoschwarz: Merck 10B N°1167
- SAB: Sigma A-4503
- Antisérums: Anti-IgG de Chèvre: ATAB 012-11
Anti-IgA de Chèvre: ATAB 011603
Anti-IgM de Chèvre: ATAB 013-03
Anti-Céruloplasmine de Chèvre: ATAB 008-11
Anti- α_1 -antitrypsine de Lapin: Behring OSAZ 15
Anti-transferrine de Lapin: Behring OSAX 15
Anti-Hémopexine: Behring 1035
Anti-Orosomucoïde: Behring OSAW 15

B I B L I O G R A P H I E

- M.Bailly (1976)
Les méningites aiguës virales.
Soins, T.21, 20, 21-24.
- S.J.Baloyannis et N.K.Gonatas (1979)
Distribution of anti-HRP antibodies in the central nervous system of immunized rats after disruption of the blood-brain barrier.
J.Neuropath.Exp.neurol., 38, 519-531.
- J.Bory et al. (1976)
Biologie du liquide céphalorachidien.
Journées nationales de l'APDILA, PARIS.
- A.Bouloukos et al. (1980)
Immunoglobulins in cerebrospinal fluid in various neurologic disorders.
Clinical chemistry, vol.26, 1, 115-116.
- Carter et al. (1974)
Effects of histamine and some other substances on molecular selectivity of the capillary wall to plasma proteins and dextran.
Microvasc.Res., 7, 31-48.
- C.Caudie et al. (1977)
Les protéines du liquide céphalorachidien-Méthodes d'étude en pratique courante-Intérêt en neurologie.
Le Pharmacien biologiste, XVII, 131, 31-37.
- H.M.Chapel et al. (1984)
Immunoglobulins and other proteins in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease.
J.Clin.Pathol., 37, 697-699.
- P.Cossa (1942)
Physiologie du Système Nerveux.
(Masson), 160-176.
- A.Dereymacker (1966)
Cours de neurologie.
U.C.L., 36-42.
- Deshmuth et Meyer (1978)
Non invasive measurement of regional cerebral blood flow in Man.
SP Méd. et Sci.Books, 33-40.
- A.Demart et al. (1981)
Nouveau Larousse médical.
- B.Ersmark et al. (1984)
Isoelectric focusing of CSF proteins and the future evolution of multiple sclerosis:a clinical follow-up.
J.Neurol., 231, 117-121.

- K.Felgenhauer (1980)
The process dynamics of viral and bacterial diseases
of the central nervous system.
J.Neurol.Sci.,47,21-34.
- Folkow et al. (1971)
Circulation.
(Oxford University Press),437-439.
- A.Fryden et al. (1978)
Cerebrospinal fluid and serum immunoglobulins and
antibody titers in mumps meningitis and aseptic
meningitis of other etiology.
Inf.Immunity,21,852-861.
- A.Fryden et al. (1979)
Predominance of oligoclonal IgG type lambda in CSF
in aseptic meningitis.
Arch.Neurol.,36,478-480.
- W.F.Ganong (1977)
Physiologie médicale.
(Masson),507-511.
- D.G.Garlick (1970)
Transport of large molecules from plasma to interstitial
fluid and lymph in dogs.
Amer.J.Physiol.,219,1595-1605.
- D.Gay (1986)
Multiple sclerosis associated with sinusitis:case-
controlled study in general practice.
The lancet,815-819.
- D.E.Griffin et al. (1982)
Protein characteristics which influence passage of
proteins from the blood to the CSF.
Neurol.,32,4.
- J.Hamburger (1981)
Traité de médecine.
(Flam.Med.Sci.),2202.
- L.A.Hershey et al. (1980)
The use and abuse of the CSF IgG profile in the Adult:
a practical evaluation.
Ann.Neurol.,vol.8,4,426-434.
- T.Hirase et al. (1984)
CSF proteins in muscular dystrophy Patients.
Brain and Development,vol.6,1,10-16.
- James et al. (1981)
Binding of C-reactive protein to human lymphocytes.
Interactions with a substrat of cells bearing the Fc
receptor.
J.Immunol.,127,2545-2550.

- D.Karcher (1985)
Etude des protéines du LCR.
SLBC,98-100.
- J.Kinnman et al. (1981)
Characterization of antibody activity in oligoclonal
IgG synthesized within the central nervous system
in a patient with tuberculosis meningitis.
J.Clin.Microbiol.,13,30-35.
- M.Koskiniemi et al. (1984)
CSF alterations in Herpes Simplex Virus Encephalitis.
Rev.of infections diseases,vol.6,608-618.
- E.C.Laterre (1965)
Les protéines du LCR à l'état normal et pathologique.
Arsiana Maloine,Paris.
- E.C.Laterre et al. (1980)
Liquor:Biochemica e Pathologia clinica.
Enciclopedia Medica Italiana,8,2187-2245.
- P Livrea et al. (1981)
Intrathecal IgG synthesis in multiple sclerosis:compa-
rison between isoelectric focusing and quantitative
estimation of CSF IgG.
J.Neurol.,224,159-169.
- P.Livrea et al. (1984)
Heterogenous models for blood-cerebro spinal fluid
barrier permeability to serum proteins in normal and
abnormal CSF/serum protein concentration gradient.
J.Neurol.Sci.,64,245-258.
- H.Link et al. (1981)
Viral antibodies in oligoclonal and polyclonal IgG
synthesized within the CNS over the course of mumps
meningitis.
J.Neuroimmunol.,1,287-298.
- P.D.Mehta et al. (1980)
Bound antibody in multiple sclerosis brains.
J.Neurol.Sci.,49,91-98.
- P.D.Mehta et al. (1981)
Oligoclonal IgG bands in plaques for multiple sclerosis
brains.
Neurol.,32,372-376.
- P.D.Mehta et al. (1982)
Identification of virus-Specific Oligoclonal Bands
in Subacute Sclerosing Panencephalitis by Immunofixation
after Isoelectric Focusing and Peroxydase Staining.
J.Clin.Microbiol.,985-987.

- Mold et al. (1981)
C-reactive protein is protective against Streptococcus pneumoniae infection in mice.
J.Exp.Med.,154,1703-1708.
- B.P.Morgan et al. (1984)
Terminal component of complement(C₉) in CSF of patients with multiple sclerosis.
Lancet,ii,251-255.
- F.Müller et al. (1984)
Demonstration of locally synthesized IgM antibodies to Treponema pallidum in the CNS of patients with untreated neurosyphilis.
J.Neuroimmunol.,7,43-54.
- L.M.Nagelkerken et al. (1983)
In vitro stimulated peripheral blood lymphocytes from multiple sclerosis patients produce idiotypes of oligoclonal CSF IgG.
J.Immunol.,131,2238-2331.
- Nahmias et al. (1982)
Herpes Simplex Virus encephalitis:laboratory evaluations and their diagnostic significance.
J.Infect.Dis.,145,829-836.
- N.Papadopoulos et al. (1984)
Combined Immunochemical and Electrophoretic Determinations of Proteins in Paired Serum and CSF Samples.
Clin.Chem.,vol.30,11,1814-1816.
- R.N.Poston (1984)
Basic proteins and immunoglobulin G :a mechanism for demyelinating disease?
Lancet,1268-1271.
- R.Prasad (1983)
Immunoglobulin Levels in Serum and CSF in certain Viral Infections of the CNS.
J.Infect.Dis.,vol.148,3,607.
- Prineas et al. (1981)
Multiple sclerosis:capping of surface IgG on macrophages engaged in myeline breakdown.
Ann.Neurol.,10,149-158.
- M.Prosiegel et al.(1983)
Multivariate analysis of the serum-CSF-protein-relation for the diagnosis of neurological diseases of the CNS.
Acta Neurol.Scand.,68,405-412.
- W.F.Putman
The plasma proteins structure,function and genetic control.
Acad.Press.,vol.1.

- S.I.Rapaport et al. (1979)
A heterogenous pore-vesicle membrane model for protein
transfert from blood to CSF at the choroïd plexus.
Microvasc.Res.,18,105-119.
- H.G.Schwick et al. (1982)
Purified Human Plasma Proteins of unknown function.
Med.Laboratory,vol.11,58-74.
- R.P.Simon et al. (1985)
Neurosyphilis.
Neurol.Rev.,42,606-613.
- C.J.M.Sindic et al. (1980)
The binding of myelin basic protein to the Fc region
of aggregated IgG and to immune complexes.
Clin.Exp.Immunol.,41,1-7.
- C.J.M.Sindic et al. (1982)
The concentration of IgM in the CSF of neurological
patients.
J.Neurol.Sci.,55,339-350.
- C.J.M.Sindic et al. (1985)
Monitoring and Tentative Diagnosis of Herpetic Encepha-
litis by Protein Analysis of CSF.
J.Neurol.Sci.,67,359-369.
- A.K.Salomon (1968)
Characterization of biological membranes by equivalent
pores.
J.Gen.Physiol.,51,3531-3641.
- P.S.Sorensen et al. (1983)
Low CSF concentration of brain-specific protein D₂
in patients with normal pressure hydrocephalus.
J.Neurol.Sci.,62,59-65.
- L.Stendahl-Brodin et al. (1981)
Myelinotoxic activity on tadpole optic nerve of IgG
isolated from CSF and serum of patients with multiple
sclerosis.
Neurol.,31,100-102.
- L.Stendahl-Brodin et al. (1979)
Myelinotoxic activity on tadpole optic nerve of CSF
from patients with optic neuritis.
Neurol.,29,882-886.
- N.Strandberg-Pedersen et al. (1982)
Specificity of immunoglobulins synthetized within the
central nervous system in neurosyphilis.
Acta Path.Microbiol. Immunol.Scand.,Sect.C,90,97-104.
- T.Tabira et al. (1976)
Multiple sclerosis CSF produces myelin lesions in
tadpole optic nerves.
N.Engl.J.Med.,295,644-649.

- T.Tabira et al. (1977)
Myelinotoxicity of CSF fractions from multiple sclerosis patients tested in an vivo model.
Neurol.,27,374.
- A.J.Thompson et al. (1985)
Suspected and clinically definite multiple sclerosis: the relationship between CSF immunoglobulins and clinical course.
J.Neurol.Neurosurg.and Psych.,48,989-994.
- W.W.Tourtellotte et al. (1967)
Multiple sclerosis:Brain immunoglobulin-G and albumine.
Nature,214,683-686.
- W.W.Tourtellotte et al. (1985)
The basis of intra-blood-brain-barrier IgG synthesis.
Ann.Neurol.,vol.17,1,21-27.
- P.Ukkonen et al. (1981)
Local production of mumps IgG and IgM antibodies in the CSF of meningitis patients.
J.Med.Virol.,8,257-265.
- A.Vaheri et al. (1982)
Cerebrospinal fluid IgG bands and virus specific IgG, IgM and IgA antibodies in herpès simplex virus encephalitis.
J.Neuroimmunol.,3,247-261.
- A.Vakaet et al. (1985)
Free light chains in the cerebrospinal fluid:an indicator of recent immunological stimulation.
J.Neurol.Neurosurg.and Psych.,48,995-998.
- B.Vandvik et al. (1978)
Mumps meningitis:Prolonged pleocytosis and occurrence of mumps virus-Specific oligoclonal IgG in the cerebrospinal fluid.
Eur.Neurol.,17,13-22.
- B.Vandvik et al. (1982)
Herpès simplex virus encephalitis:intrathecal synthesis of oligoclonal virus-Specific IgG,IgA and IgM antibodies.
J.Neurol.,228,25-38.
- B.Vandvik et al. (1982)
Mumps meningitis:specific and non-specific antibody responses in the central nervous system.
Acta Neurol.Scand.,65,468-487.
- F.Vartdal et al. (1982)
Neurosyphilis:intrathecal synthesis of oligoclonal antibodies to Treponema pallidum.
Ann;Neurol.,11,35-40.

- N.H.Wadia et al. (1983)
A study of the neurological disorder associated with acute haemorrhagic conjunctivitis due to enterovirus 70.
J.Neurol.Neurosurg.and Psych.,46,599-610.

Références supplémentaires

- H.Link et Tibbling (1977)
Principle of albumine and IgG analyses in neurological disorders- Relation of the concentration of the proteins in serum and CSF.
Scand.J.Clin.Lab.Invest.,37,391-396.
- Schüller et Sagar (1981)
Local synthesis of CSF immunoglobulins.A neurological classification.
J.Neurol.Sci.,51,361-370.
- Schüller et Sagar (1983)
Central nervous system IgG synthesis in multiple sclerosis
Application of a new formula.
Acta Neurol.Scand.,67,365-371.
- W.W. Tourtellotte (1970)
On CSF IgG quotients in multiple sclerosis and other diseases.
J.Neurol.Sci.,10,279-304.
- B.Vandvik et al. (1976)
Oligoclonal measles virus specific IgG antibodies isolated from CSF,brain extracts and sera from patients with subacute sclerosing panencephalitis and multiple sclerosis.
Scand.J.Immunol.,6,913-922.
- Comité national de la sclérose en plaques (1976)
Sclérose en plaques.
Paris.
- Notes de laboratoire.