

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE BLIDA I



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

MEMOIRE DE PROJET DE FIN D'ETUDE EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLOME DE MASTER EN SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité

GENETIQUE PHYSIOLOGIE

Thème

**Etude d'association du gène *ARTS1* avec la spondylarthrite
Ankylosante dans une population du grand Alger.**

Présenté par

Mlle DJILALI Meriem

Soutenu publiquement le 28/06/2015 devant le jury composé de :

Mme ZEROUTI. K	MAB	FSNV	Présidente
Mme AISSANI.R	MAA	FSNV	Examinatrice
Mme AMROUN. H	MCA	IPA	Promotrice
Mr MOHAMED SAID. R	MAA	FSNV	Co-Promoteur
Mr MEÇABIH. F	MAA	IPA	Invité

Promotion 2014/2015

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à remercier Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, j'exprime mes sincères remerciements envers ma promotrice Mme AMROUN.H, de m'avoir accepté au de sein son service, d'avoir accepté de m'encadrer et surtout de m'avoir proposé ce thème.

Je remercie mon Co-promoteur et mon chef d'option Mr MOHAMED SAID.R, pour son aide durant tout mon cursus universitaire et en particulier durant la réalisation de ce travail.

Je remercie Mme ZEROUTI.K, d'avoir accepté de présider mon jury et Mme AISSANI.R, d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer mon travail.

Je remercie tout le personnel de l'Institut Pasteur d'Algérie, en particulier l'équipe du service d'immunogénétique Unité HLA, dont je cite:

-Mr MEÇABI.F, pour ses conseils, son temps, et son aide qui m'a été précieuse.

-Dr OUARET.N et SALHI.N, pour leur présence à mes cotés durant la réalisation de la partie pratique de ce mémoire.

Enfin, je remercie profondément tous les enseignants qui m'ont encouragé et soutenu pendant mon cursus.

A mes parents ;

A toute personne qui m'aime et qui espère voir mon bonheur !!

Résumé.

La spondylarthrite ankylosante est un rhumatisme inflammatoire chronique notoire par des manifestations rhumatismales au niveau axial et/ou périphérique, qui peuvent être diversement associées à des manifestations extra-articulaires. Son déclenchement dépend à la fois de facteurs environnementaux et de plusieurs facteurs génétiques de susceptibilité dont essentiellement le gène *HLA-B27* (50% du risque) et le gène *ARTS1* (26% du risque). Hormis la détermination de la fréquence du gène *HLA-B27*, notre étude vise à étudier l'association du SNP rs30187 (C : Allèle majeur ; T : Allèle mineur prédisposant) du gène *ARTS1* avec la SA, par le biais d'une technique de discrimination allélique technologie TaqMan, et ce, dans le cadre d'une étude cas-témoins (241 patients et 236 témoins sains). On note au vu des résultats, que la fréquence du gène *HLA-B27* est nettement plus élevée chez les patients (65.56%) par rapport aux témoins sains (3.81%), et la fréquence des patients (37.40%) génotypés comme étant homozygotes pour l'allèle T prédisposant à la maladie du SNP étudié, est significativement plus élevée par rapport aux témoins sains (24.23%), et ce, en particulier chez les patients *HLA-B27* négatifs. En conclusion, le SNP rs30187 du gène *ARTS1* semble être associé indépendamment du *HLA-B27* dans notre population.

Mots clés : Spondylarthrite ankylosante, *HLA-B27*, *ARTS1*, discrimination allélique technologie TaqMan.

Abstract.

Ankylosing spondylitis is a chronic inflammatory joint disease known by rheumatic manifestations on axial level / or peripheral, as they may be variously associated with extra-articular manifestations. Its release depends on both environmental factors and many genetic susceptibility factors including primarily the *HLA-B27* gene (50 % risk) and the *ARTS1* gene (26 % risk). Apart from the determination of the *HLA-B27* gene frequency, this study aims is to investigate the association of the SNP rs30187 (C: Major allele; T: minor allele predisposing) of *ARTS1* gene with AS disease, and this, on a context of case-control study including 241 patients and 236 healthy controls. The Genotyping was performed by a TaqMan probe assay using the allelic discrimination real-time PCR method. According to our results, the frequency of *HLA-B27* gene is significantly higher in patients (65.56%) compared to healthy controls (3.81%), and the frequency of patients (37.40%) genotyped as homozygote for the minor allele predisposing for this disease of the SNP studied, is significantly higher than healthy controls (24.23%), especially on patients genotyped as negatives for the HLA-B27. In conclusion, the SNP rs30187 of the *ARTS1* gene seems to be associated independently of HLA- B27 in our population.

Key Word: Ankylosing spondylitis, *HLA-B27*, *ARTS1*, Allelic discrimination TaqMan technology.

الملخص.

التهاب الفقار اللاصق هو مرض التهابي مزمن معروف بمظاهر الروماتيزمية على المستوى المحوري / أو الهامشي، كما قد تكون مرتبطة بأشكال مختلفة من الأضرار الخارج مفصلية. صدوره يعتمد على عوامل بيئية و على الكثير من عوامل القابلية الوراثية و التي نجد منها في المقام الأول الجين *HLA-B27* (50٪ من الخطر) والجين *ARTS1* (26٪ من الخطر). بصرف النظر عن تحديد وتيرة الجين *HLA-B27*، تهدف هذه الدراسة إلى استقصاء الارتباط بين تعدد الأشكال rs30187 من الجين *ARTS1* (C : أليل رئيسي ؛ T : أليل طفيف مهيب للمرض) مع التهاب الفقار اللاصق و ذلك من خلال تقنية التمييز الأليلي التكنولوجيا TAQMAN وهذا في إطار دراسة من نوع "مرضى-شواهد" (241 مريضا و 236 من الأصحاء). وفقا لنتائجنا، نسبة الجين *HLA-B27* هي أعلى بكثير عند المرضى (65.56%) مقارنة بالأصحاء(3.81%) ، ونسبة المرضى (37.40%) المحددين كمتماثلين للأليل الطفيف المهيب لهذا المرض من تعدد الأشكال المدروس SNP rs3018 ، هي أعلى بكثير من تلك الموجودة عند الأصحاء(24.23%) ، و ذلك بصفة خاصة عند المرضى الغير حاملين للجين *HLA-B27*. في الختام، يبدو أن SNP rs30187 من الجين *ARTS1* مرتبط بشكل مستقل عن *HLA-B27* في سكاننا.

الكلمات المفتاحية : التهاب الفقار اللاصق ، *HLA-B27* ، *ARTS1* ، التمييز الأليلي التكنولوجيا TAQMAN .

Liste des figures.

Figure 1. Le concept de SpA et ses différentes formes.....	7
Figure 2. Hypothèses expliquant le rôle de <i>HLA-B27</i> dans la SA.	10
Figure 3. Fraction de l'héritabilité à la spondylarthrite ankylosante (SA) attribuable à chaque locus de susceptibilité.....	13
Figure 4. Les quatre stades de la spondylarthrite ankylosante.....	14
Figure 5. Hypothèses concernant la survenue du processus inflammatoires au niveau de l'enthèse.	15
Figure 6. Différenciation des lymphocytes indifférenciés en lymphocytes T helper 17.....	16
Figure 7. Physiopathologie du stade II de la spondylarthrite ankylosante. Mécanismes inflammatoires et érosion osseuse.....	17
Figure 8. Schéma d'une articulation sacro-iliaque normale, enflammée et ankylosée ; Un rachis normal, inflammatoire et ankylosé	18
Figure 9. Les différents stades, depuis la position normale jusqu'à l'ankylose dans une mauvaise position, pouvant concerner un patient atteint d'une SA.	20
Figure 10. Structure de la région du cluster de gènes qui entoure <i>ERAPI1</i>	22
Figure 11. Traitements des peptides antigéniques par ERPA1	28
Figure 12. Principe de la PCR TaqMan.	35
Figure 13. Répartition des patients en fonction de du type d'atteinte.....	39
Figure 14. Répartition des patients selon le début juvénile et la présence ou l'absence de coxite.	39
Figure 15. Un exemple de résultat de la discrimination allélique.....	40
Figure 16. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du gène <i>ARTS1</i> retrouvées chez les patients et les témoins.....	41
Figure 17. Fréquences de <i>HLA-B27</i> chez les patients et les témoins.....	42
Figure 18. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du gène <i>ARTS1</i> en fonction du sexe des patients.	45
Figure 19. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du gène <i>ARTS1</i> en fonction de l'âge de début de la maladie.	46

Liste des tableaux.

Tableau I. Résultats des études d'association pan-génomiques réalisées dans la SA.....	12
Tableau II. Principaux SNPs d'ERAP1 associés à la SA.....	26
Tableau III. Caractéristiques démographiques de la population étudiée.	31
Tableau IV. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du gène ARTS1 retrouvées chez la population étudiée.	41
Tableau V. Fréquence du <i>HLA-B27</i> chez les patients et les témoins.	42
Tableau VI. Stratification du <i>HLA-B27</i> en fonction des génotypes du gène ARTS1.	43
Tableau VII. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques chez les patients et les témoins <i>HLA-B27</i> positif.....	44
Tableau VIII. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques chez les patients et les témoins <i>HLA-B27</i> négatifs.	44
Tableau IX. Répartition des fréquences alléliques et génotypiques du gène <i>ARTS1</i> en fonction du sexe des patients.	45
Tableau X. Répartition des fréquences alléliques et génotypiques du gène ARTS1 en fonction de l'âge de déclaration de la maladie.	46

Liste des abréviations.

ARTS1: Aminopeptidase Régulator of TNFR1 Shedding

β 2m : β 2 microglobuline

CAST : Calpastatin

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

DAMPs : Damages Associated Molecular Patterns

ERAP1: Endoplasmic Reticulum Associated Aminopeptidase 1

ERAP2: Endoplasmic Reticulum Associated Aminopeptidase 2

GWAS: Genome-Wide Association Studies

HGNC: HUGO Gene Nomenclature Committee

HLA : Human Leukocyte Antigen

IFN-g : Interféron-gamma

IL-1 : Interleukine-1

IL-17 : Interleukine 17

IL23R : Récepteur de l'Interleukine 23

IL-6 : Interleukine-6

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LNPEP : Leucyl/cystinyl aminopeptidase

LT CD4+ : Lymphocytes T-CD4+

LTh0: Lymphocyte indifférenciés

LTh17: Lymphocyte T helper 17

MAF : fréquence de l'allèle mineur

NFk-B: Nuclear Factor-kappa B

PAMPs: Pathogen Associated Molecular Patterns

PR : Polyarthrite Rhumatoïde

PRR: Pattern Recognition Receptors

RANK: Factor Receptor Activator of NFk β

RE : Réticulum Endoplasmique

RER : Réticulum Endoplasmique Rugeux

SA: Spondylarthrite Ankylosante

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

SpA : Spondylarthropaties

TAP: Transporters associated with antigen processing

TLR: Toll Like Receptor

TNF- α : Facteur de Nécrose Tumorale

Ub: Ubiquitine

UAA : Uvéite Antérieure Aiguë

UPR: Unfolded Protein Response

VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.

Glossaire.

Arthrite réactionnelle : un sous type de SpA, c'est une arthrite aseptique survenant dans les semaines qui suivent une infection extra-articulaire (génitale et/ou digestive) (Sibilia *et al.*, 2005).

Etude d'association Pan-génomique : est une analyse de nombreuses variations génétiques chez de nombreux individus, afin d'étudier leurs corrélations avec des traits phénotypiques.

Maladie de Crohn : est une maladie chronique du tube digestif d'origine inconnue et conséquence d'une interaction entre l'environnement et un terrain génétique (Lamoril *et al.*, 2007).

Prévalence : le nombre de cas, anciens ou nouveaux, à un instant donné (Bossard, 2013).

Rectocolite hémorragique : est une maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI) qui affecte l'extrémité distale du tube digestif, c'est-à-dire le côlon et le rectum qui est toujours touché (Dalibon, 2015).

Rhumatisme psoriasique: est une affection chronique inflammatoire caractérisée par une inflammation synoviale et enthésique et par un psoriasis (Rosales Alexander *et al.*, 2014).

SNPs non synonymes : un polymorphisme conduisant à un remplacement d'un acide aminé par un autre ; Ces SNPs sont aussi appelés polymorphismes codants (Talpin, 2013).

Spondylarthrite indifférenciée : correspond au développement de signes cliniques spécifiques d'une spondylarthropathie, mais qui manquent les critères permettant de la rattacher à l'un des autres sous-groupes (Brebant *et al.*, 2006).

Syndesmophytes : ponts osseux à base étroite et direction verticale, discrets ou diffus aboutissant au maximum à l'aspect de "colonne bambou" (El Maghraoui, 2004a).

Uvéite antérieure aiguë : est une inflammation oculaire d'intensité variable couvrant l'iritis (atteinte de l'iris), la cyclite (atteinte du corps ciliaire) et l'iridocyclite (atteinte de l'iris et du corps ciliaire) (Sellami *et al.*, 2006).

Sommaire.

Introduction	1
Chapitre I : Rappels Bibliographiques.....	4
I-Généralités sur la spondylarthrite ankylosante.....	5
I.1-Définitions.....	6
I.1.1- Spondylarthrite Ankylosante.	6
I.1.2- Spondylarthropathies.	6
I.3- Epidémiologie.	7
I.3.1- Prévalence.	7
I.3.2- L'âge.....	8
I.3.3- Le Sexe.....	8
I.4- Etiologie.	8
I.4.1- Génétique.	8
I.4.2- Environnement.....	13
I.5- Physiopathologie.	14
I.5.1- Stade I : Inflammation.	14
I.5.2- Stade II : inflammation et érosion osseuse.	16
I.5.3- Stade III : synthèse osseuse excessive.	17
I.6- Manifestations cliniques.....	17
I.6.1- Manifestations rhumatismales.	17
I.6.2- Manifestations extra-articulaires.....	19
I.7- Diagnostic.....	19
II- Le gène <i>ERAP1</i> et la spondylarthrite ankylosante.	20
II.1- Le gène <i>ERAP1</i>	21
II.1.1- Nomenclature.....	21
II.1.2- Structure du gène et la régulation de son expression.....	21
II.1.3- L'enzyme ERAP1.....	23
II.1.4- Fonction biologiques.	23
II.2- Association spondylarthrite ankylosante et <i>ERAP1</i>	26
II.2.1- Polymorphismes causaux.	26

II.2.2- <i>HLA-B27</i> et <i>ERAP1</i>	27
Chapitre II : Matériels et Méthodes	29
II.1- Matériels.....	30
II.1.1- Matériel biologique.....	30
II.1.1- Matériel non biologique.....	31
II.2- Méthodes.....	31
II.2.1- Extraction d'ADN par Salting Out.....	31
II.2.2- La Discrimination allèlique par la technologie TaqMan.....	32
II.3- Outils statistiques.....	36
Chapitre III : Résultats	37
III.1- Traitement de la cohorte étudiée.....	38
III.1.1 - Répartition des patients en fonction des manifestations cliniques.....	38
III.2- Résultats de la discrimination allélique.....	40
III.2.1- Distribution des fréquences alléliques et génotypiques.....	41
III.3- Fréquence du gène <i>HLA-B27</i> chez les patients et les témoins.....	42
III.4- Stratification du <i>HLA-B27</i> en fonction de la distribution des génotypes.....	43
III.5- Distribution génotypique en fonction du statut <i>HLA-B27</i>	44
III.5.1- <i>HLA-B27</i> positif.....	44
III.5.2- <i>HLA-B27</i> Négatif.....	44
III.6- Répartition des fréquences alléliques et génotypiques en fonction du sexe des patients.....	45
III.7- Répartition des fréquences alléliques et génotypiques en fonction du début de la maladie.....	46
Chapitre IV : Discussion	47
Conclusion.....	51
Annexes	
Références bibliographiques	

Introduction

La spondylarthrite ankylosante (SA) est le sous type emblématique d'un groupe d'affections homogènes communément appelés spondylarthropathies (SpA) ou plus récemment, spondylarthrites (Robinson, 2014b). Elle occupe par sa fréquence le deuxième rang des rhumatismes inflammatoires chroniques après la polyarthrite rhumatoïde (Costantino *et al.*, 2013). C'est une maladie à prédominance masculine avec un sex-ratio de 2H/1F, et dont l'âge moyen de déclaration des symptômes est estimé à 26 ans. (Dean *et al.*, 2014). Elle affecte principalement le squelette axial et les articulations sacro-iliaques (Astier *et al.*, 2013b). Au cours de son évolution, des dommages structuraux et fonctionnels peuvent survenir, tels qu'une rigidification de la colonne vertébrale (ankylose), aboutissant à un handicap progressif, avec pour conséquence une altération de la qualité de vie (Montacer *et al.*, 2009).

La SA est une pathologie multifactorielle au déterminisme complexe, dont la physiopathologie est probablement la résultante d'une réponse immunitaire inappropriée à une infection bactérienne survenant sur un terrain génétique de susceptibilité, représenté essentiellement (50% du risque génétique global) par l'antigène tissulaire *HLA-B27* (Costantino *et al.*, 2014; El Maghraoui, 2004b). Ce dernier, bien qu'il soit présent chez 90% des cas caucasiens (Vegvari, 2009), et 60% des cas en Algérie (Amroun, 2009), son rôle exact demeure toujours incertain, d'autant plus, il n'est ni suffisant, ni nécessaire à sa survenue (Costantino et Breban, 2014). Un état de fait, qui a incité les recherches dans ce domaine qui ont fini par être fructueuses, notamment par la découverte de l'association de la SA avec un 2ème gène responsable sur 26% du risque génétique global, il s'agit d'*ARTSI* (Aminopeptidase Régulator of TNFR1 Shedding) (Burton *et al.*, 2007).

ARTSI code pour une aminopeptidase localisée essentiellement au niveau du réticulum endoplasmique (ERAP1), qui a comme principale fonction le traitement des peptides antigéniques avant leur chargement sur les molécules HLA de classe I dont le *HLA-B27*, pour y être présentés aux cellules immunitaires (Tsui *et al.*, 2014). Curieusement, l'association de ce gène avec la SA n'est valable que chez les cas *HLA-B27* positifs, ce qui suggère qu'ERAP1 peut être le maillon reliant la molécule *HLA-B27* et la SA longtemps investigué (Abdullah *et al.*, 2014).

Ce présent travail, réalisé au laboratoire d'immunogénétique et de transplantation du département d'Immunologie de l'Institut Pasteur d'Algérie, en tenant compte de la particularité que présentent les patients SA Algériens vis-à-vis du statut *HLA-B27*, vise principalement à étudier un polymorphisme (SNP rs30187) du gène *ARTS1* par le biais d'une technique de discrimination allélique technologie TaqMan, et son association avec la SA, et ce, dans le cadre d'une étude cas-témoins. Dans un deuxième temps, cette étude vise à analyser la corrélation de cet SNP avec certaines manifestations cliniques caractérisant la SA.

Chapitre 1

Rappels Bibliographiques.

1-Généralités sur la spondylarthrite
ankylosante.

I.1-Définitions.

I.1.1- Spondylarthrite Ankylosante.

La spondylarthrite ankylosante (SA), également dénommée spondyloarthrite axiale, spondylite ankylosante, maladie de Bechterew ou encore pelvispondylite rhumatismale (Clémentine, 2014; El Maghraoui, 2004a) est un rhumatisme inflammatoire chronique, évoluant par poussées (Astier, 2012) et affectant essentiellement les structures axiales dont le rachis (colonne vertébrale) et les articulations sacro-iliaques (articulation joignant le sacrum à l'os iliaque) (Moalic, 2010; Pham, 2008; Toussirot *et al.*, 2006), ce qui cause initialement une érosion osseuse et articulaire, et mène éventuellement à l'ankylose (Lea *et al.*, 2012). Méritant le terme de maladie polygénique complexe (Moalic, 2010), la SA est dotée d'une physiopathologie méconnue, qui fait appel à des facteurs environnementaux et une réponse immunitaire aberrante, sous un prétexte de prédisposition génétique (Moalic, 2010; Schaeffer *et al.* ; Toussirot et Wendling, 2006).

Occupant par sa fréquence le deuxième rang des rhumatismes inflammatoires chroniques après la polyarthrite rhumatoïde (PR) (El Maghraoui, 2004a; Talpin, 2013), la SA est responsable d'un handicap progressif, source d'un retentissement fonctionnel sur le plan social et professionnel (Abdullah et Haroon, 2014; Montacer *et al.*, 2009; Toussirot et Wendling, 2006). Egalement, elle constitue le chef de file d'un groupe de pathologies partageant des particularités communes, regroupées sous le vocable de spondylarthropathies (Toussirot et Wendling, 2006).

I.1.2- Spondylarthropathies.

En raison de sa plus grande prévalence et sa sévérité sur le plan structural, la SA est considérée comme le sous-type emblématique des spondylarthropathies (SpA) (Costantino et Breban, 2014; Talpin, 2013; Toussirot et Wendling, 2006), un groupe homogène d'affections dont la lésion élémentaire est une atteinte inflammatoire des enthèses axiales et/ou périphériques (Sibilia *et al.*, 2005).

Ce groupe rassemble outre la SA, le rhumatisme psoriasique (RP), les arthrites réactionnelles (AR), les rhumatismes associés aux entéropathies inflammatoires (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique), les spondylarthrites à début juvénile et les spondylarthrites indifférenciées (Figure.1) (Sibilia *et al.*, 2005; Toussirot et Wendling,

2006). Une réunification justifiée par la présence de manifestations cliniques (articulaires et extra-articulaires) et d'aspects radiologiques communs et aussi par l'existence d'un même terrain génétique prédisposant représenté par l'antigène leucocytaire humain (HLA) B-27 (El Maghraoui, 2004a; Toussirot et Wendling, 2006).



Figure 1. Le concept de SpA et ses différentes formes (Talpin, 2013).

I.2- Epidémiologie.

I.2.1- Prévalence.

La prévalence de la SA reflète la prévalence locale du HLA-B27 dans presque toutes les populations à travers le monde qui ont été étudiés systématiquement (Astier *et al.*, 2013c; Braun *et al.*, 2007; Keidel *et al.*, 2013). Selon Dean *et al.* (2014), la prévalence globale est estimée entre 0,1 et 1.4%.

En Afrique Noire, la maladie existe avec une faible prévalence même en l'absence du HLA-B27 (El Maghraoui, 2004a), ce que l'on explique par la sélection négative du HLA-B27 par le Plasmodium falciparum (les personnes porteuses du gène HLA-B27 sont plus sensible au paludisme) (Rat, 2014). Pour ce qui est de l'Algérie, l'indivisible travail dans ce contexte porté sur une population du grand Alger, et qui date de 1985, estime la prévalence à 0,5% (Hachemi, 1985).

I.2.2- L'âge.

Alors qu'une SA peut débuter à n'importe quel âge, il est bien éblouissant que sa prévalence décline avec l'âge (Astier *et al.*, 2013c). L'âge moyen de son apparition est de 26 ans, ainsi les premiers symptômes apparaissent dans 80% des cas avant l'âge de 30 ans, contre seulement 5 % des cas après 45 ans (Astier *et al.*, 2013c; Braun et Sieper, 2007).

Des formes à début juvénile (avant 16 ans) existent et représentent 10 à 20 % des cas (El Maghraoui, 2004a), ils sont connues pour être plus sévères avec un privilège en faveur d'une atteinte des articulations périphériques (pieds, genoux, hanches) (SKORZEWSKI, 2010). La fréquence de ces formes juvéniles diffère d'un continent à l'autre, elle est de 10 à 15 % en Europe, tandis qu'elle est de 30% dans les pays du Maghreb (Sibilia *et al.*, 2005).

I.2.3- Le Sexe.

A l'échelle mondiale, la prédominance masculine est confirmée par la plupart des études, ce qui se traduit par un sex-ratio moyen de 2-3hommes pour 1 femme (Astier *et al.*, 2013c; Braun et Sieper, 2007). Les formes féminines ne diffèrent pas des formes masculines, même si certains auteurs ont signalés une atteinte périphérique plus fréquente et une atteinte radiologique moins sévère (Abdullah et Haroon, 2014; El Maghraoui, 2004a).

I.3- Etiologie.

Comme pour de nombreuses maladies complexes, l'étiologie de la SA n'a pas encore été à ce jour élucidée (Abdullah et Haroon, 2014). Cependant, il est évident que le dérèglement du système immunitaire à l'origine du processus inflammatoire et donc à l'origine des manifestations cliniques, est soutenu par une coexistence entre facteurs génétiques et environnementaux (Moalic, 2010; Rat, 2014; Végvári *et al.*, 2009).

I.3.1- Génétique.

L'existence de formes familiales de la SA, le taux de concordance chez les jumeaux, autant, l'hérédité chez les apparentés d'un sujet atteint d'une SA, sont tous des arguments qui plaident en faveur d'un terrain génétique prédisposant (Toussirot et Wendling, 2006).

I.3.1.1- Caractère héréditaire de la SA.

Grâce à des études familiales, l'indice de récurrence de la SA chez les apparentés au premier degré, c'est-à-dire le risque d'être malade si l'on a un parent malade rapporté au risque dans la population générale, a été évalué à 80 (Costantino et Breban, 2014). De même, l'étude des jumeaux renforce l'implication des facteurs génétiques dans la SA, en tenant compte du taux de concordance de survenue d'une SA, qui est de 67% et de 23% pour les jumeaux mono et dizygote respectivement (Toussiro et Wendling, 2006). Une différence assez significative, qui montre le rôle capital des facteurs génétiques dans la prédisposition à la maladie.

I.3.1.2- Facteurs génétiques de susceptibilité à la SA.

I.3.1.2.1- Le gène *HLA-B27*.

Quoique plus de 40 ans sont écoulés sur la découverte de l'association du *HLA-B27* avec la SA, authentifiant ainsi l'une des plus fortes associations entre une pathologie dite complexe et une molécule HLA, son rôle exact dans la pathogénie de la SA demeure toujours non élucidé (Braem *et al.*, 2012; Breban, 2014; Costantino et Breban, 2014).

Le *HLA-B27* est pratiquement une condition préalable pour le développement d'une SA, si on tient compte que 90% des patients atteints de SA sont *HLA-B27* positif et que le risque relatif de développer une SA est d'environ 100 si on est porteur de cet antigène (Breban *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2013). En ce qui concerne le risque génétique globale représenté par le *HLA-B27*, il est de 20.1% selon Costantino et Breban (2014), de 37% selon Chen *et al.* (2013), alors qu'il peut aller jusqu'à 50% selon Pharm (2008).

L'antigène *HLA-B27*, fait partie du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I (A, B, C), et partage avec les membres de cette famille une même organisation moléculaire comportant une chaîne lourde, supportant un polymorphisme alléliques, et une chaîne légère non polymorphe ou $\beta 2$ microglobuline ($\beta 2m$) (Astier *et al.*, 2013c; Sibilia *et al.*, 2005). Le rôle classique de HLAB27 est de présenter les peptides sur la surface cytoplasmique de la cellule (Abdullah et Haroon, 2014).

Plusieurs hypothèses (voir figure 2) tentent d'expliquer en partie son implication dans la pathogénie de la SA, tout en soulevant des questions assez pertinentes concernant cette

molécule (Braem et Lories, 2012). Par exemple, si l'on tient les hypothèses qui font incriminer la forme moléculaire anormale de la molécule HLA-B27 exprimé à la surface des cellules des patients, on ne sait toujours pas si les sujets B27 positifs sains expriment aussi ces formes moléculaires anormales (Toussirot et Wendling, 2006).

Quant aux polymorphismes causaux, ils concernent la chaîne lourde de la molécule HLA-B27 (la chaîne $\beta 2m$ est non polymorphe), et il s'agit des sous-types B*2701 à B*2712 pour lesquels l'association à la SA est connue, avec une prédominance du sous-type B*2705 (sous-type ancestral) et à l'exception des sous-types B*2706 et B*2709 (Robinson *et al.*, 2012; Sibilia *et al.*, 2005).

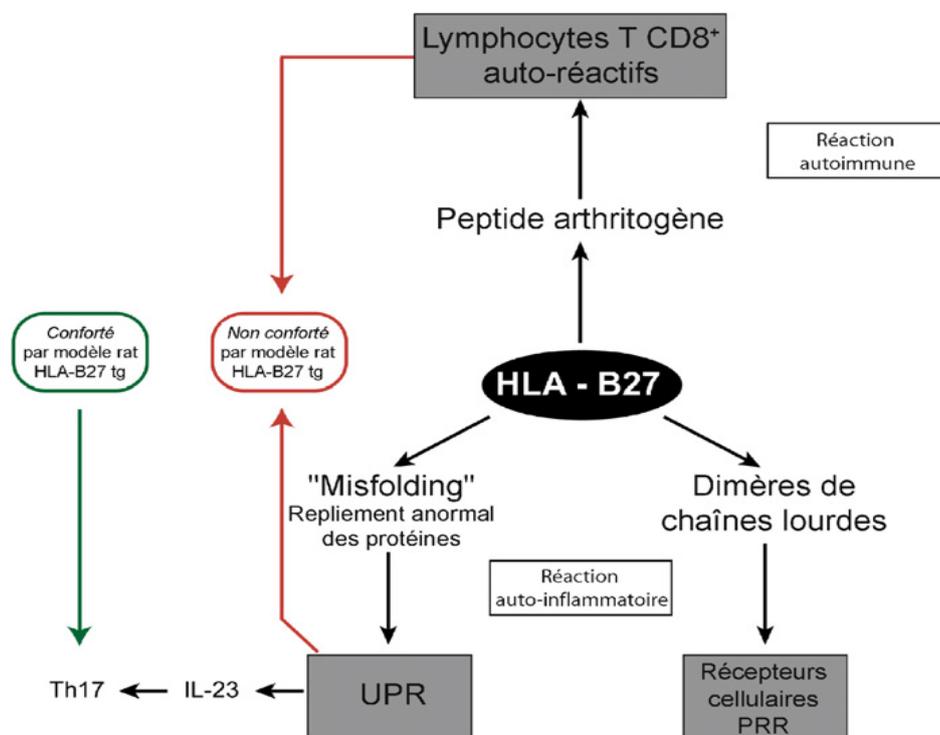


Figure 2. Hypothèses expliquant le rôle de *HLA-B27* dans la SA (Braem et Lories, 2012).

Les trois principales hypothèses sont en lien avec l'interaction conventionnelle entre les récepteurs des lymphocytes T et la présentation des peptides arthritogènes par l'antigène HLA-B27, la génération d'une forme mal repliée de HLA-B27 conduisant à une réponse UPR (unfolded protein response) et la formation de dimères de chaînes lourdes qui peuvent être reconnus par les récepteurs cellulaires PRR (Pattern Recognition Receptors) (Braem et Lories, 2012). La conséquence présumée du misfolding (anomalies de repliement) et de la dimérisation est une réaction auto-inflammatoire (Braem et Lories, 2012). La présentation de l'auto-antigène entraîne une réponse auto-immune contre les propres peptides (Braem et

Lories, 2012). Il est intéressant de noter que les données du modèle de rat transgénique pour HLAB27 échouent dans la confirmation de l'hypothèse auto-immune liée aux lymphocytes CD8 et à un moindre degré de l'hypothèse UPR, mais des observations récentes suggèrent un rôle des cellules T helper 17 (Braem et Lories, 2012).

Si le gène *HLA-B27* semble un composant génétique important dans la susceptibilité à la maladie, il n'est cependant ni nécessaire, ni suffisant à sa survenue, puisque d'authentiques SA (et SpA) peuvent survenir chez des sujets B27 négatifs. Cela suggère bien évidemment l'intervention d'autres facteurs génétiques (Costantino et Breban, 2014; Toussirot et Wendling, 2006).

I.3.1.2.2- Identification de nouveaux gènes de susceptibilité à la SA.

Depuis qu'on a réalisé que le *HLA-B27* n'est qu'un seul composant dans un grand amalgame, il est devenu semblant que la SA est une maladie polygénique (Robinson et Brown, 2012), ainsi la chasse pour d'autres gènes prédisposant a commencé. Cela a coïncidé avec le développement d'une nouvelle approche qui permet de faire des études portant sur l'ensemble du génome, ce que l'on appelle des études d'associations génome entier (GWAS : Genome-Wide Association Studies), ainsi la majorité des gènes de susceptibilité à une spondylarthrite en dehors du HLA-B27 ont été identifiés grâce à ce type d'études (Costantino et Breban, 2014).

En 2007, grâce à une large GWAS mené par Burton et al (les paramètres de cette étude sont au niveau du tableau N° I), réalisée sur 14436 SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) non synonymes répartis sur l'ensemble du génome, ainsi que 897 SNPs localisés dans le CMH, a rapporté en plus de la réplique de l'association indiscutable avec le CMH, une association remarquable avec deux autres gènes en dehors du CMH; il s'agit du gène *ERAPI1* (Endoplasmic Reticulum Associated Aminopeptidase) ou Aminopeptidase Régulateur of TNFR1 Shedding (*ARTS1*), et le gène codant pour le récepteur de l'interleukine 23 (*IL23R*), qui contiennent des polymorphismes significativement associés à la maladie (Abdullah et Haroon, 2014; Costantino et Breban, 2014; Robinson, 2014a). Depuis, plusieurs autres études ont pu confirmer ces résultats, ainsi d'autres locus de susceptibilités ont été découverts (Costantino et Breban, 2014; Robinson, 2014a; Talpin, 2013); les études et leur résultats sont résumés au niveau du tableau N° I.

Il est à noter que l'ensemble des nouveaux locus découverts n'explique qu'une très faible fraction de la prédisposition génétique à la maladie (Costantino et Breban, 2014). En effet, la fraction du risque attribuable à l'ensemble des facteurs de susceptibilité identifiés en dehors du CMH a été estimée à 4,3 % contre 20,1 % pour *HLA-B27* (Figure.3) (Costantino et Breban, 2014). La majeure partie de la susceptibilité génétique à la SA reste donc encore à expliquer.

Tableau I. Résultats des études d'association pan-génomiques réalisées dans la SA (Costantino et Breban, 2014).

Etudes	Populations	Nombre de cas-témoins	Facteurs génétiques identifiés (hors CMH)
Burton et al.	Caucasienne	Découverte : 922/1466 Réplication : 471/625	<i>IL23R, ERAP1</i>
Reveille et al.	Caucasienne	Découverte : 2053/5140 Réplication : 898/1518	<i>IL23R, ERAP1, 2p15, 21q22 ANTXR2, IL1R2a</i>
Evans et al.	Caucasienne	Découverte : 3023/8779 Réplication : 2111/4483	<i>IL23R, ERAP1, 2p15, 21q22, KIF21B, RUNX3, IL12B, LTBR-TNFRSF1A ANTXR2, PTGER4, CARD9, TBKBP1a</i>
Lin et al.	Chinois Han	Découverte : 1837/4231 Réplication : 2100/3496	<i>EDIL3-HAPLN1, ANO6, 2p15</i>
IGAS et al.	Caucasienne et asiatique	Découverte : 10 619/15 145	<i>RUNX3, IL23R, GPR25-KIF21B, 2p15, PTGER4, ERAP1, IL12B, CARD9, LTBR-TNFRSF1A, NPEPPS, 21q22 IL6R, FCGR2A, UBE2E3, GPR35, BACH2, ZMIZ1, NKX2-3, SH2B3, GPR65, IL27-SULT1A1, NOS2, TYK2, ICOSLG</i>

Certes, l'identification de ces nouveaux locus est en elle-même un progrès et un pas en avant afin de dévoiler les acteurs moléculaires gouvernant la SA, ouvrant ainsi une nouvelle dimension à l'étude de la pathogénie de la maladie, sauf qu'il reste à identifier les polymorphismes causaux à l'intérieur de chacun des locus de susceptibilité et d'essayer d'en comprendre les conséquences fonctionnelles, ce qui permettra dans le futur une meilleure prise en charge des patients suite au développement de stratégies thérapeutiques ciblés (Alvarez-Navarro *et al.*, 2014; Costantino et Breban, 2014).

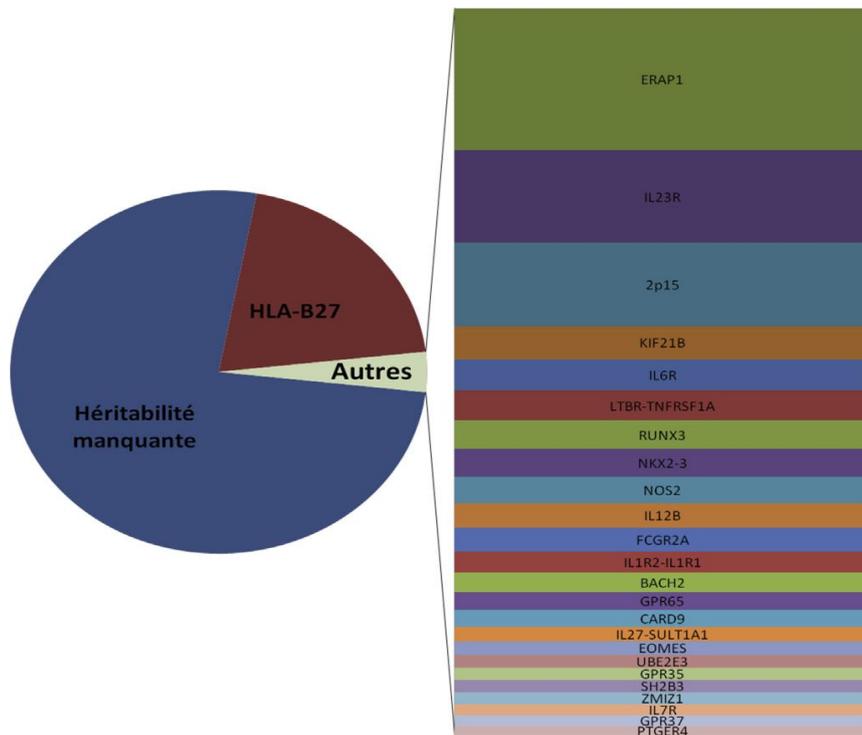


Figure 3. Fraction de l’héritabilité à la spondylarthrite ankylosante (SA) attribuable à chaque locus de susceptibilité (Costantino et Breban, 2014).

I.3.2- Environnement.

Si le rôle des facteurs génétiques dans la susceptibilité à une SA ou encore à une SpA est indiscutable, de même les facteurs environnementaux semblent être vraisemblablement nécessaires au déclenchement et peut être à l’entretien de la maladie (Schaeverbeke *et al.* ; Sibia *et al.*, 2005).

En ce qui concerne la SA, des données parlent d’une association entre cette affection et certaines maladies inflammatoires chroniques et estiment que 5 à 10 % des patients porteurs d’une SA présentent également une maladie de Crohn ou une rectocolite hémorragique (Schaeverbeke *et al.*). Autant, le rôle de *Klebsiella pneumoniae* et des entérobactéries a été évoquée sans pouvoir être explicitement confirmé (Sibia *et al.*, 2005).

Au-delà des micro-organismes, certaines études parlent du tabagisme, comme étant un facteur associé à des formes plus sévère de spondylarthrite, tant au plan clinique qu’en terme de progression radiologique (Tillett *et al.*, 2013). Encore, Selon une méta-analyse récente (Zhao *et al.*, 2014) qui s’est intéressé aux taux sériques de la vitamine D chez des patients atteints d’une SA, une carence en vitamine D pourrait également constituer un facteur de risque.

I.4- Physiopathologie.

Dans ses premières phases, la SA est caractérisé par une atteinte inflammatoire localisée électivement au niveau des enthèses (et au tissu synovial (Astier *et al.*, 2013c)), ce qui se traduit initialement par une érosion osseuse, puis par un processus cicatriciel consistant en une prolifération osseuse (Keidel *et al.*, 2013; Sibia *et al.*, 2005; Toussirot et Wendling, 2006). Cette dernière, dans les formes les plus évoluées de la maladie, devient excessive, provoquant ainsi une véritable fusion osseuse (ankylose) (Lea et Lee, 2012; Toussirot et Wendling, 2006).

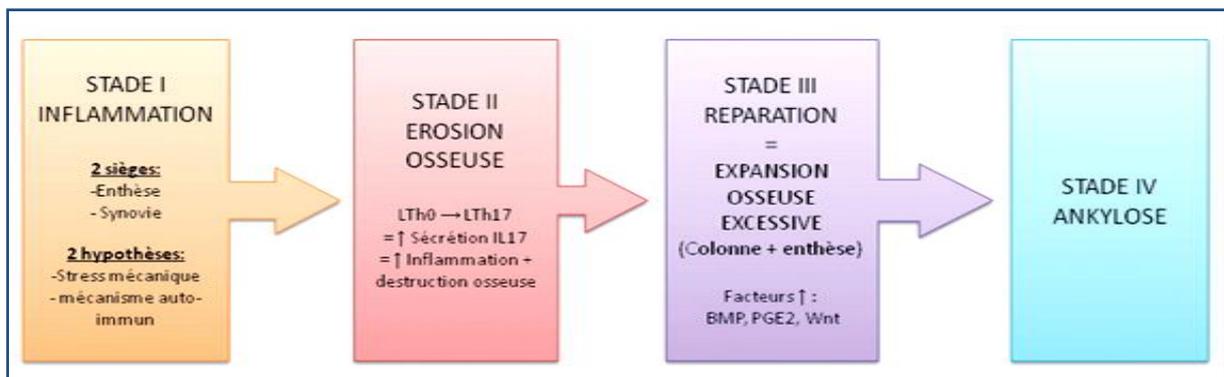


Figure 4. Les quatre stades de la spondylarthrite ankylosante (Astier *et al.*, 2013c).

I.4.1- Stade I : Inflammation.

Le processus inflammatoire survient principalement au niveau de deux tissus: l'enthèse et le tissu synovial (Astier *et al.*, 2013c).

I.4.1.1- L'enthèse.

Les enthèses constituent une zone de jonction, entre deux tissus très différents à savoir le muscle et l'os (Claudepierre *et al.*, 2005). C'est un territoire d'insertion dans l'os des ligaments, des tendons et des capsules (Claudepierre et Voisin, 2005).

Ce qui est intrigant dans la pathogénie de la SA, est la survenue du processus inflammatoire de manière particulière au niveau de l'enthèse (Sibia *et al.*, 2005; Toussirot et Wendling, 2006). Chose qui a incité de façon considérable les travaux portant sur ce tissu jonctionnel, ainsi deux grandes hypothèses ont été dégagées afin d'expliquer cette prédilection (figure.5) (Claudepierre et Voisin, 2005).

La première hypothèse fait incriminer le stress mécanique à lequel l'enthèse est soumise. Ce stress, via la stimulation du facteur de transcription Nuclear Factor-kappa B (NFk-B), peut induire l'expression de nombreux gènes codant pour certaines cytokines et des molécules d'adhésions (Astier *et al.*, 2013c; Claudepierre et Voisin, 2005). En plus, le stress mécanique peut induire des microtraumatismes qui seront responsable d'une part d'une augmentation de la vascularisation locale, ce qui pourra favoriser l'arrêt ou le dépôt d'antigènes bactériens (PAMPs : Pathogen Associated Molecular Patterns) au niveau de ce site (Astier *et al.*, 2013c; Claudepierre et Voisin, 2005), d'autre part ils favorisent la libération, de certains signaux de danger appelés DAMPs (Damages Associated Molecular Patterns) émises par les cellules endommagées (Astier *et al.*, 2013c). Il s'agit d'une explication plausible si l'on considère la survenue d'une SA comme étant la conséquence d'une réponse immunitaire inadapté à une infection bactérienne survenant sur un terrain génétique de susceptibilité (El Maghraoui, 2004a).

La deuxième hypothèse fait appel à un mécanisme auto-immun dont les cibles sont le collagène de type II et l'aggrécane (Principal protéoglycane du cartilage) (Astier *et al.*, 2013c; Claudepierre et Voisin, 2005). En effet, 62% des patients touchés par la SA possèdent des lymphocytes T-CD4+ (LT CD4+) dirigés contre le domaine G1 de l'aggrécane (Astier *et al.*, 2013c; Claudepierre et Voisin, 2005).

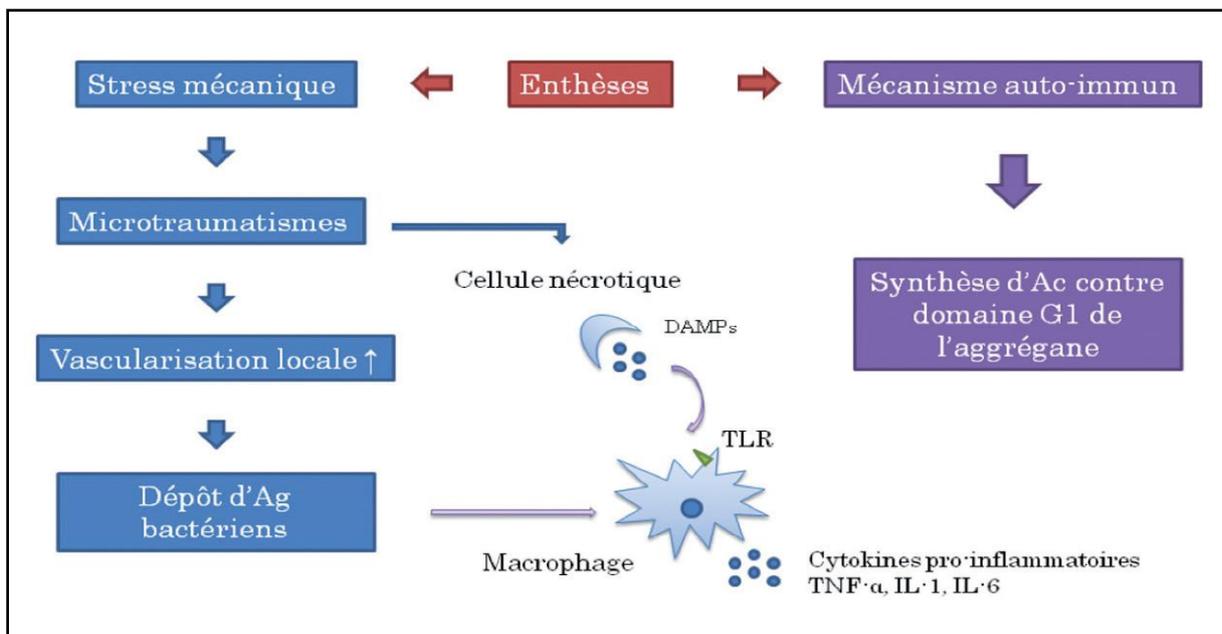


Figure 5. Hypothèses concernant la survenue du processus inflammatoires au niveau de l'enthèse (Astier *et al.*, 2013c).

I.4.2- Stade II : inflammation et érosion osseuse.

Les motifs moléculaires connus sous le nom de PAMPs et de DAMPs seront reconnus par une famille de récepteurs exprimés à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) appelés les Toll Like Receptor (TLR), il s'ensuit une activation de ces cellules qui, après traitement des antigènes, ils les apprêtent sous forme d'épitopes aux lymphocytes T naïfs (LTCD4+) ou LTh0 (lymphocyte indifférenciés). Ces derniers subissent une différenciation en LTh17 Sous l'action de l'Interleukine-6 (IL-6) et l'interleukine-1b (IL-1b) sécrétés par les CPA. Ces dernières sécrètent aussi de l'IL-23 qui permet la stabilisation et l'expansion de la lignée Th17 (Astier *et al.*, 2013c).

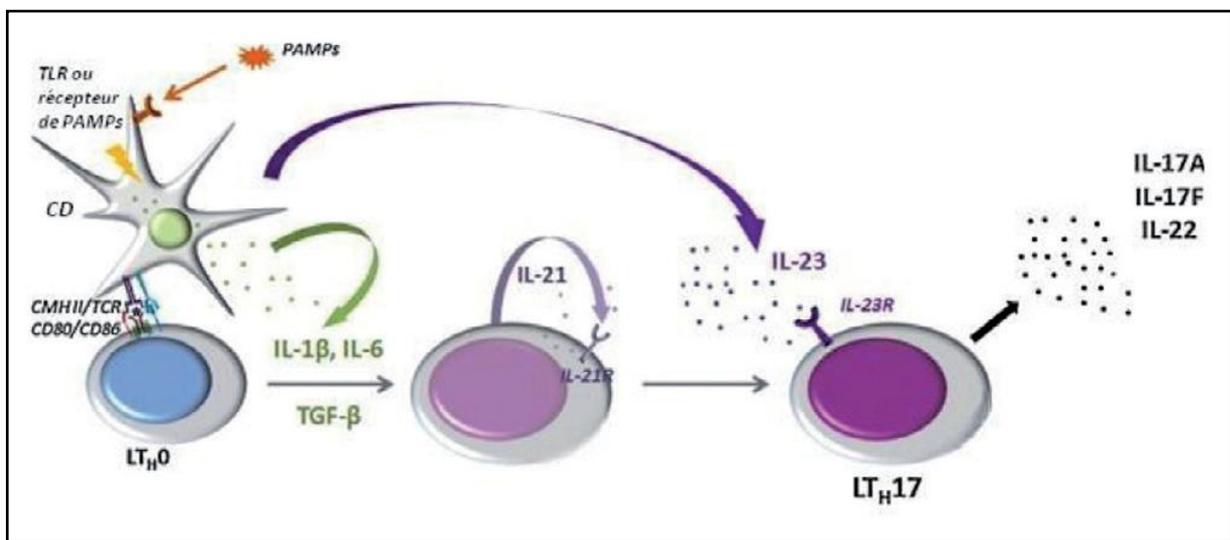


Figure 6. Différenciation des lymphocytes indifférenciés en lymphocytes T helper 17 (Astier *et al.*, 2013c).

Les lymphocytes Th17 sécrètent à leur tour de l'interleukine 17 (IL-17A et IL-17F). L'IL-17 augmente le recrutement des cellules immunitaires au niveau du foyer inflammatoire, qui suite à leur activation, elles se mettent à synthétiser de l'IL-1, de l'IL-6 et du facteur de nécrose tumorale (TNF- α) (cytokines pro-inflammatoires). Il favorise également la sécrétion par les chondrocytes, les cellules dendritiques et les macrophages des métalloprotéinases matricielles (MMP) et du monoxyde d'azote (NO) responsables d'une destruction articulaire. Enfin, il augmente l'expression du facteur Receptor Activator of NF κ B (RANK) (Chang *et al.*) à la surface des ostéoclastes. L'ostéoclastogenèse, et donc l'érosion osseuse, peut être déclenchée par l'interaction entre RANK et son ligand RANKL, présent à la surface de certains LTh (Astier *et al.*, 2013c).

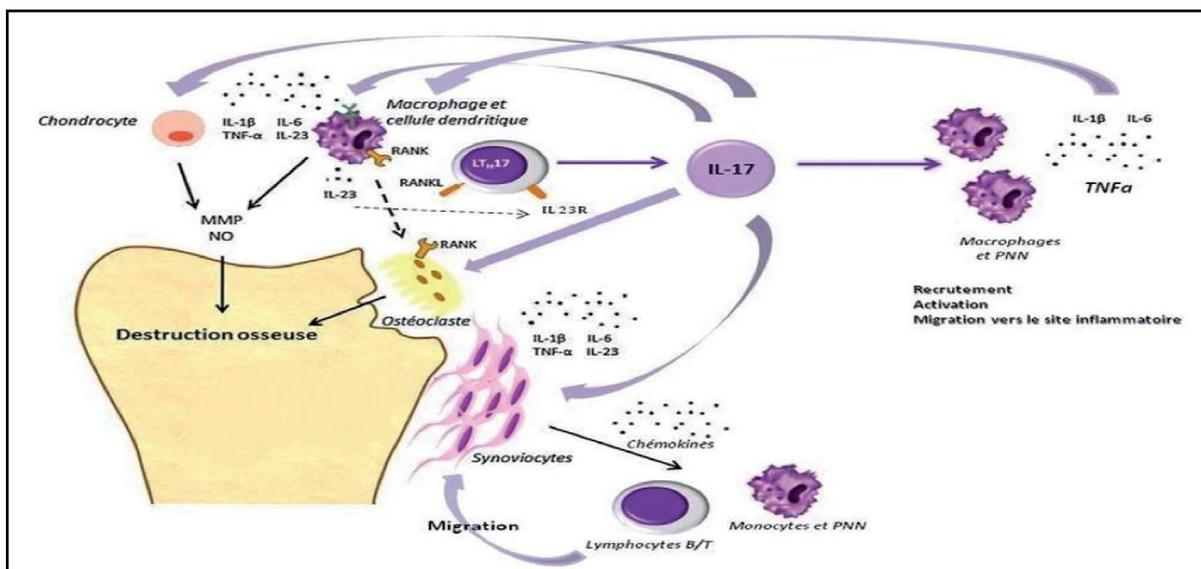


Figure 7. Physiopathologie du stade II de la spondylarthrite ankylosante. Mécanismes inflammatoires et érosion osseuse (Astier *et al.*, 2013c).

I.4.3- Stade III : synthèse osseuse excessive.

La synthèse osseuse excessive assurée par les ostéoblastes, touche pratiquement tous les compartiments du squelette. Dans le cas de la colonne vertébrale, des dépôts osseux d'orientation verticale, nommés syndesmophytes, comblent les espaces intervertébraux. Lorsque plusieurs vertèbres sont atteintes consécutivement, la colonne prend un aspect en bambou, elle est alors appelée bamboo spine (Astier *et al.*, 2013c).

I.5- Manifestations cliniques.

La SA est une maladie à début insidieux qui se caractérise par des périodes de douleurs entrecoupées de périodes de rémissions plus ou moins longues suivant les individus (Bossard, 2013; El Maghraoui, 2004a). Elle se caractérise principalement par des manifestations rhumatismales au niveau axial et/ou périphériques, qui peuvent être diversement associées à des manifestations extra-articulaires, comme le psoriasis, les maladies inflammatoires intestinales, les uvéites antérieures aiguës...etc (Astier *et al.*, 2013b; Sibia *et al.*, 2005; Talpin, 2013).

I.5.1- Manifestations rhumatismales.

Les manifestations rhumatismales de la SA sont composées de deux types d'atteintes, axiales et périphériques (Astier *et al.*, 2013b).

I.5.1.1- Atteinte axiale : syndrome pelvirachidien.

La symptomatologie pelvirachidienne s'explique essentiellement par des enthésopathies (affection dont le site élémentaire est l'enthèse) axiales qui peuvent toucher le pelvis (bassin), le rachis (colonne vertébrale) mais aussi la paroi thoracique (Sibilia *et al.*, 2005).

a- Atteinte des articulations sacro-iliaques.

La maladie débute dans deux tiers des cas par une atteinte lombo-pelvienne qui se manifeste par des pyalgies (douleurs fessières) et des lombalgies (douleurs au bas du dos). Les douleurs fessières, fréquemment révélatrices de la maladie notamment lorsqu'elles sont à bascule ou s'accompagnent d'une boiterie à la marche, traduisent une sacro-ilite (inflammation de l'articulation sacro-iliaque) (Figure.8), répondant ainsi à l'un des principaux critères de diagnostic modifiés de New York (voir annexe 1) (Astier *et al.*, 2013b; El Maghraoui, 2004a; Sibilia *et al.*, 2005).

b- Atteinte du rachis.

Des rachialgies inflammatoires (douleurs au niveau de la colonne vertébrale) sont quasi constantes au cours de la SA (El Maghraoui, 2004a). Le risque principal de ces atteintes, comme dans les cas des articulations sacro-iliaques, est l'évolution vers une ankylose osseuse du rachis. L'ankylose serait responsable d'une perte définitive de la souplesse rachidienne (raideur); raideur pouvant se faire dans une position normale ou anormale (Figure.9) (Talpin, 2013).

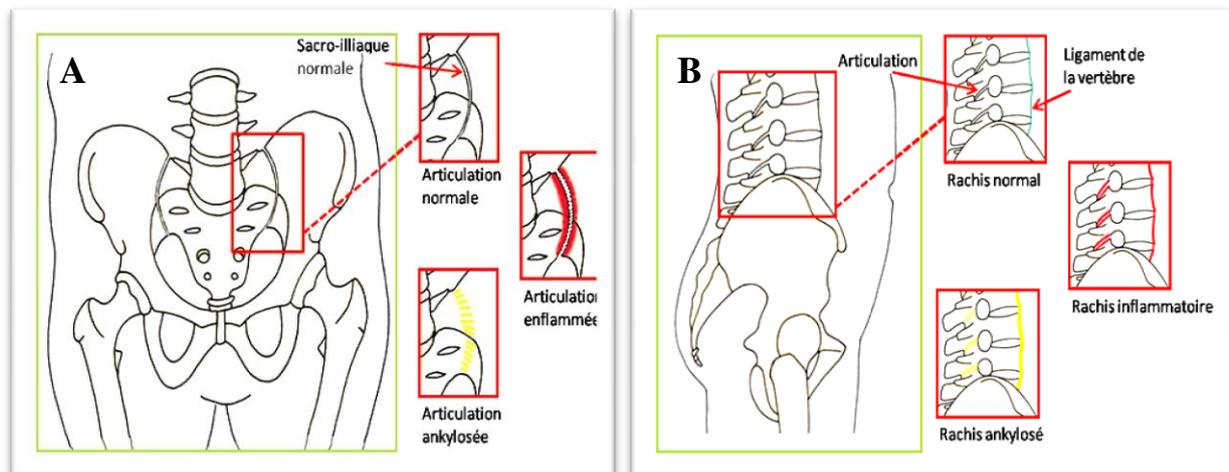


Figure 8. Schéma d' A) une articulation sacro-iliaque normale, enflammée et ankylosée ; B) un rachis normal, inflammatoire et ankylosé (Maxime *et al.*, 2005).

I.5.1.2- Atteinte périphériques.

Au cours de l'évolution de la SA, 60 % des patients développent des arthrites périphériques, associant une atteinte synoviale et une enthésopathie. En sus des grosses articulations (hanches et épaules) qui sont préférentiellement touchées, les articulations des membres inférieurs sont les plus fréquemment touchées comme les genoux, les chevilles et les pieds. Viennent ensuite les coudes, poignets et mains (Astier, 2012; Astier *et al.*, 2013b).

I.5.2- Manifestations extra-articulaires.

De nombreuses manifestations extra-articulaires sont possibles au cours de la maladie, mais elles ne sont pas obligatoires (Astier, 2012). L'atteinte la plus commune qu'un patient souffrant d'une SA risque de développer, est une atteinte oculaire consistant en une uvéite antérieure aiguë (UAA) avec un risque compris entre 20 et 40%, et qui est augmenté si le patient est HLA-B27 positif (Astier *et al.*, 2013b; Sibilialia *et al.*, 2005). Une inflammation intestinale est retrouvée chez 25 à 50% des patients atteints de SA (Astier *et al.*, 2013b). Aussi, 10 à 25% des malades sont sujets à une atteinte cutanée consistant souvent en un psoriasis (Astier *et al.*, 2013b). Une atteinte cardiaque, pulmonaire et rénale peuvent également être présentes chez des sujets ayant une SA (Figure.6) (Astier *et al.*, 2013b; El Maghraoui, 2004a; Samia *et al.*, 2012; Sibilialia *et al.*, 2005; Talpin, 2013).

I.6- Diagnostic.

Un diagnostic précoce est capital car le pronostic en dépend (El Maghraoui, 2004a). Sauf que, le début insidieux de la maladie (M. Picozzia *et al.*, 2002) ainsi que l'efficacité des anti-inflammatoires non stéroïdiens chez les patients auto-médiqués (El Maghraoui, 2004a), retardent souvent le diagnostic, qui est généralement établi après 5 à 8 ans en moyenne (Pertuiset, 2008; Wendling *et al.*, 2010). Une reconnaissance précoce et un traitement continu doivent permettre d'éviter l'évolution défavorable vers l'ankylose en mauvaise position (El Maghraoui, 2004a) comme illustrée au niveau de la figure N°9.

A la différence de l'imagerie par résonance magnétique (IRM), qui est devenu un outil de choix pour le diagnostic précoce de la SA (et des SpA) de part sa capacité à visualiser précocement les lésions inflammatoires des sacro-iliaques et des structures vertébrales (Pertuiset, 2008; Wendling *et al.*, 2010), les critères de New York modifiés (adaptation des critères de Rome et de New York originaux en 1984) (Wendling *et al.*, 2010), bien qu'ils

soient référentiels et indispensables aux études cliniques, la performance pour un diagnostic précoce leur manquent (El Maghraoui, 2004a; Wendling *et al.*, 2010).

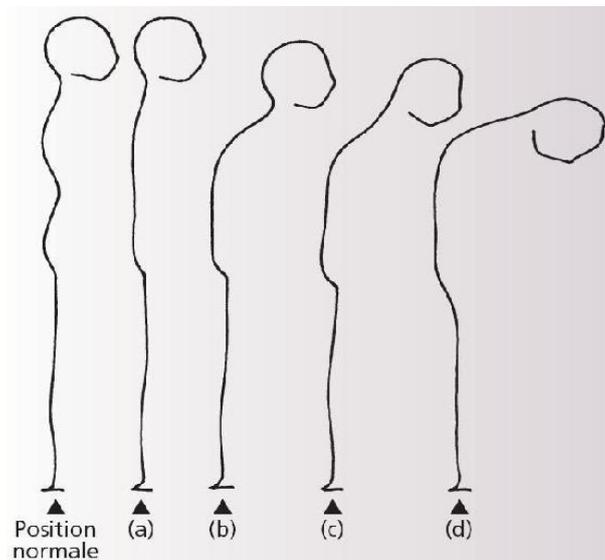


Figure 9. Les différents stades, depuis la position normale jusqu'à l'ankylose dans une mauvaise position, pouvant concerner un patient atteint d'une SA (Maxime *et al.*, 2005) .

La recherche de l'antigène *HLA-B27* est une stratégie de plus en plus adoptée non seulement chez les personnes à risque, mais aussi chez des sujets jeunes souffrants de lombalgies (Pertuiset, 2008).

11- Le gène ERAP1 et la
spondylarthrite ankylosante.

II.1- Le gène *ERAP1*.

La découverte de l'association d'*ERAP1* avec la SA (34 ans après la découverte de l'association avec le *HLA-B27*) a apportée de nouvelles idées et a renouvelée l'excitation dans le domaine de recherche de la SA, notamment que ce gène est responsable de 26% du risque génétique total témoignant ainsi la 2^{ème} plus forte association (Haroon, 2010).

II.1.1- Nomenclature.

Découvert initialement comme étant responsable du clivage du récepteur du TNF α , d'où son premier nom *ARTSI*, puis en 2002 et suite à la découverte de sa 2^{ème} fonction consistant dans le traitement des peptides antigéniques avant leur chargement sur les molécules HLA de classe I au niveau du réticulum endoplasmique (RE), son nom est devenu *ERAP1*, un nom approuvé par le Comité de la nomenclature de l'Organisation du Génome Humain (HGNC) (Haroon, 2012).

II.1.2- Structure du gène et la régulation de son expression.

Le gène humain *ERAP1* possède une structure morcelée, composée de 20 exons séparés par 19 introns, et qui s'étend sur 47,38 kilobases (Alvarez-Navarro *et al.*, 2014; Hattori *et al.*, 2013; Talpin, 2013). Il fait partie d'un cluster de gènes localisé sur le bras long du chromosome 5, composé de *CAST* du côté télomérique, d'*ERAP2* et de *LNPEP* du côté centromérique (Figure.10) (Talpin, 2013).

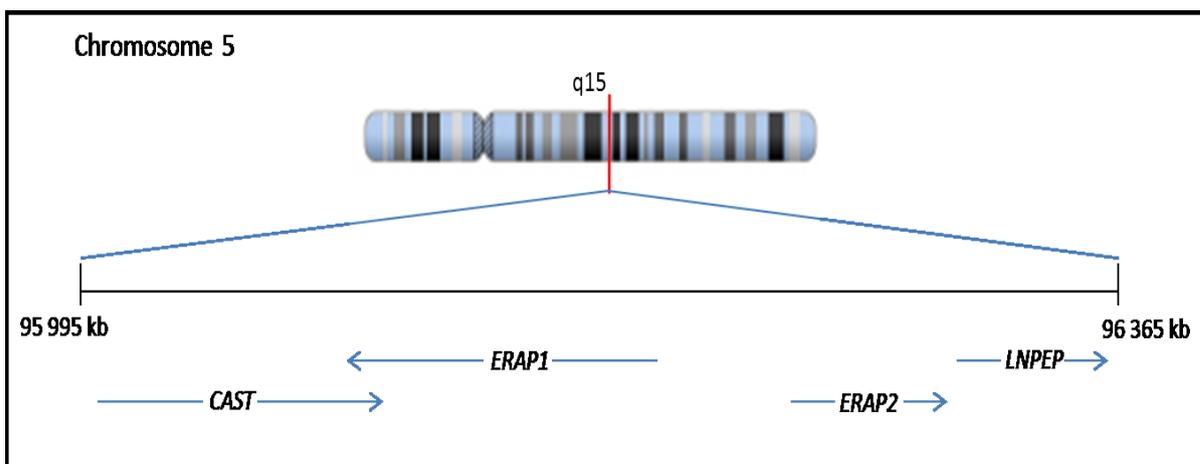


Figure 2. Structure de la région du cluster de gènes qui entoure *ERAP1* (Talpin, 2013).

ERAP1 est exprimé de manière ubiquitaire dans divers tissus humains, avec une surexpression observée au niveau du cœur, du placenta et de la rate (Hattori et Tsujimoto, 2013). Le promoteur du gène *ERAP1* est dépourvu de la boîte TATA, ce qui est pratiquement le cas des gènes constitutifs, également appelé gènes de ménage ou encore d'entretien, dont l'expression est qualifiée de constitutive (sans mécanisme de régulation) et dont le produit est indispensable à la vie de la cellule, quoique la transcription d'*ERAP1* peut être régulée à la hausse par l'interféron-g (IFN-g) et le TNF- α (Alvarez-Navarro *et al.*, 2014; Cifaldi *et al.*, 2012; Hattori et Tsujimoto, 2013).

II.1.3- L'enzyme ERAP1.

La protéine codée par ce gène, et qui porte son nom, est une aminopeptidase appartenant à la famille des enzymes M1 métallopeptidase de zinc (Cifaldi *et al.*, 2012; Nigil, 2012). Son ARN pré-messager composé de 2826 nucléotides (Nigil, 2012) est sujet d'un épissage alternatif, qui sera à l'origine de deux isoformes N-glycosylés de 948 (ERAP-a) et de 941 (ERAP-b) acides aminés (Alvarez-Navarro *et al.*, 2014; Hattori et Tsujimoto, 2013). D'après Kim *et al.*, l'isoforme ERAP-b est le plus abondant, et ce, dans divers lignées cellulaires étudiées (Fierabracci *et al.*, 2012).

II.1.4- Fonction biologiques.

Deux sortes de fonctions sont attribués à ERAP1, il s'agit de fonction immunologique et non immunologique (Cifaldi *et al.*, 2012).

II.1.4.1- Fonctions immunologiques.

II.1.4.1.1- Traitement des peptides antigéniques.

L'enzyme ERAP1 réside essentiellement au niveau du RE, où elle assure sa principale fonction caractéristique, probablement de concert avec ERAP2 (Alvarez-Navarro *et al.*, 2014), et qui consiste dans le traitement des peptides antigéniques avant leur chargement sur les molécules HLA de classe I (Chen *et al.*, 2013; Cifaldi *et al.*, 2012; Nguyen *et al.*, 2011).

Mécanisme.

Avant qu'ERAP1 ajuste les peptides endogènes à la taille adéquate pour y être chargés sur les molécules HLA de classe I, ces peptides sont sujets à une dégradation par le système ubiquitine-protéasome, qui fonctionne en deux temps (Kuby *et al.*, 2008). Le substrat est d'abord marqué par conjugaison covalente de chaînes d'ubiquitine (Ub), une petite protéine ubiquitaire et très conservée de 76 acides aminés, grâce à une cascade enzymatique spécialisée (Souweine *et al.*, 2001). Ce marquage permettra ensuite la reconnaissance et la dégradation des substrats polyubiquitinylés par le complexe protéolytique présent dans toutes les cellules, le protéasome (Souweine *et al.*, 2001). En plus de ce protéasome dit standard, les cellules immunitaires en possèdent un 2ème appelé immunoprotéasome dont le rôle est identique à celui de son coéquipier le classique, mais avec un avantage en terme de rapidité (Kuby *et al.*, 2008).

Une fraction des peptides générés dans le cytosol par le protéasome gagnent le réticulum endoplasmique rugueux (RER) (Alvarez-Navarro *et al.*, 2014), et ce, suite à leur translocation via une protéine hétérodimérique de transport ancrée à sa membrane, appelée TAP (Transporters associated with antigen processing) (Alvarez-Navarro *et al.*, 2014; Kuby *et al.*, 2008). Cette dernière transporte préférentiellement des peptides de 8 à 16 acides aminés, tandis que les molécules HLA de classe I (dont la chaîne α et la β 2-microglobuline sont synthétisées sur les polysomes le long du RER), plus précisément leur niche de fixation, exige une restriction stricte quant à la taille des peptides qui vont lui être chargée, celle-ci est comprise entre 8 et 9 acides aminés (Cifaldi *et al.*, 2012; Kuby *et al.*, 2008). Subséquemment, la majorité des peptides transportés requièrent un clivage de leur région N-terminale afin d'optimiser leur tailles et ainsi leur liaisons aux molécules HLA-I (Alvarez-Navarro *et al.*, 2014). Justement, c'est à ce niveau là qu'intervient ERAP1 où elle assure, probablement de concert avec ERAP2, l'ajustement de la taille des peptides, qui vont enfin être chargés sur les molécule HLA-I afin d'y être présenter aux lymphocytes T CD8+(Alvarez-Navarro *et al.*, 2014).

Apparemment, ERAP1 semble avoir une propriété unique appelé le mécanisme de la « règle moléculaire », qui implique que son activité soit fortement dépendante de la taille du peptide qu'elle va traiter, d'une façon à ce que les peptides dont la taille est inférieur de 8-9 acides aminés sont marginalisés (non dégradés), ce qui rend cette aminopeptidase idéale pour la génération d'optimum ligands pour les molécule HLA-I (Alvarez-Navarro *et al.*, 2014).

Ce rôle fût approuvé expérimentalement sur des souris dont l'orthologue du gène *ERAP1* humain *Eraap* est délété (knockout) (Haroon, 2012; Nguyen *et al.*, 2011). Cela à aboutit non seulement à une diminution de l'expression des molécules HLA-I à la surface cellulaire, mais aussi à un changement significatif du répertoire peptidique présenté par ces molécules (Haroon, 2012; Nguyen *et al.*, 2011).

II.1.4.1.2- Clivage des récepteurs de cytokines.

Bien qu'ERAP1 soit normalement retenue dans le RE par le biais de certaines protéines de liaisons (inconnues), toutefois dans certaines circonstances aboutissant à une surexpression induite par l'INF-g ou le TNF α , cette enzyme est retrouvée en tant qu'une protéine extracellulaire sécrétée, probablement par faute de saturation des protéines de liaisons, ainsi elle pourra assurer d'autres taches outre le traitement des peptides antigéniques (Cifaldi *et al.*, 2012; Haroon, 2010).

Parmi ces fonctions, ERAP1 assure le clivage des récepteurs de certaines cytokines pro-inflammatoires exprimés à la surface cellulaire, tel que le TNFR1 et les récepteurs de l'IL-1 et l'IL-6, non pas par son activité aminopeptidase, mais plutôt par le recrutement d'autres enzymes suite à la formation d'un complexe ERAP1-TNFR1 (Cifaldi *et al.*, 2012). Une suggestion témoignée par la corrélation inverse existante entre le taux de TNFR1 exprimés à la surface cellulaire qui diminue en fonction de l'augmentation de l'expression d'ERAP1 (Haroon, 2010). Les récepteurs ne sont donc plus fonctionnels et l'action des cytokines est atténuée, affectant ainsi le processus inflammatoire (Astier, 2012; Talpin, 2013).

II.1.4.2- Fonctions non-immunologique.

ERAP1 est censé jouer un rôle dans la régulation de la pression artérielle, de part son implication dans le système rénine-angiotensine, où elle clive efficacement l'angiotensine II (peptide actif hypertenseur) en angiotensine III et IV (peptides inactifs), parallèlement, elle converti la kallidine en bradykinine (peptide hypotenseur) (Alvarez-Navarro *et al.*, 2014; Cifaldi *et al.*, 2012; Keidel *et al.*, 2013).

Encore, l'expression d'ERAP1 au sein des cellules endothéliales en voie de différenciation, permet la prolifération, la migration et la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants (Angiogenèse), et ce, par l'activation du facteur de

croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) (Cifaldi *et al.*, 2012; Haroon, 2010; Hattori et Tsujimoto, 2013).

II.2- Association spondylarthrite ankylosante et ERAP1.

L'association SA et *ERAP1* fût découverte pour la première fois en 2007 (Chen *et al.*, 2013). Un peu plus tard, cette association s'est avérée authentique que chez les sujets HLA-B27 positifs (Chen *et al.*, 2013). Cette condition selon laquelle le statut HLA-B27 influence l'association de la SA avec un deuxième gène (*ERAP1*) est l'un des plus importants exemples de synergie génétique dans une maladie polygénique identifiés jusqu'ici (Keidel *et al.*, 2013), suggérant ainsi que le *HLA-B27* et *ERAP1* agissent de concert dans la pathogénèse de la SA (Haroon, 2010).

II.2.1- Polymorphismes causaux.

Sachant qu'un SNP est un changement dans la séquence d'ADN d'une base nucléotidique par une autre et la plus basse fréquence de l'allèle à ce locus dans la population est appelée fréquence de l'allèle mineur (MAF), cinq (05) SNPs (voir tableau N°II) ont été identifiées comme étant associée à la SA (Keidel *et al.*, 2013; Nigil, 2012). Le risque conféré par ces polymorphismes est en relation avec la susceptibilité et non avec la sévérité de la maladie (Keidel *et al.*, 2013).

Tableau II. Principaux SNPs d'*ERAP1* associés à la SA (Keidel *et al.*, 2013).

ERAP1 SNP	Position de l'acide aminé	Brin sens		Base changé + acide aminé changé Allèle majeur → Allèle mineur	Allèle prédisposant a la SA	Activité enzymatique reporté sur le peptide synthétisé
		Allèle majeur	Allèle mineur Brin anti-sens			
rs30187	528	CG	TA	ACG → ATG R(Arg) → K(Lys)	L'allèle mineur (codant la lysine)	528R activité diminué p/p au type sauvage
rs27044	730	GC	CG	GAA → CAA E(Glu) → Q(Gln)	L'allèle mineur (codant la glutamine)	730E augmente ou diminue l'activité p/p au type sauvage (tout dépend du substrat)
rs17482078	725	GC	AT	CGA → CAA R(Arg) → Q(Gln)	L'allèle majeur (codant l'arginine)	725Q diminue l'activité p/p au type sauvage
rs10050860	575	GC	AT	GAC → AAC D(Asp) → N(Asn)	L'allèle majeur (codant l'aspartique)	Pas de différence 575D diminue l'activité p/p au type sauvage
rs2287987	349	AT	GC	ATG → GTG M(Met) → V(Val)	L'allèle majeur (codant la méthionine)	Inconnue

Type sauvage *ERAP1*: Arg528; Gln730; Arg725; Asp575; Met349.

Selon certaines études, certains SNPs contribuent de manière individuelle dans la susceptibilité à la SA, c'est le cas de deux SNP représentés par le rs30187 et le rs27044, codant pour la lysine et la glutamine respectivement (Abdullah et Haroon, 2014). La MAF de ces SNPs s'est avérée significativement élevée chez les patients souffrant d'une SA comparativement aux contrôles sains (Abdullah et Haroon, 2014). En outre, il existe des preuves à partir d'études cas-témoins que certains haplotypes *ERAPI*, tels que les haplotypes rs27044/10050860/30187 -CCT et rs17482078/10050860/30187/2287987 - CCTT, peuvent soit conférer une protection contre ou un risque accru au développement d'une SA (Abdullah et Haroon, 2014).

L'allèle mineur T, du SNP le plus associé à la maladie, le rs30187, est situé dans l'exon 11 et codant le variant K528R, augmente le risque de SA ; l'acide aminé concerné est très proche du site catalytique de l'activité aminopeptidase (Talpin, 2013). Des preuves expérimentales ont montrés que le variant 528R est moins efficace dans le traitement des peptides par rapport à la protéine sauvage (528K), suggérant un défaut de l'activité catalytique dans la SA (Talpin, 2013).

II.2.2- HLA-B27 et *ERAPI*.

La restriction de l'association du gène *ERAPI* à la SA aux cas HLA-B27 positifs, en particulier aux sous-types HLA-B2704 et HLA-B2705, suggère qu'*ERAPI* peut être le maillon reliant la molécule HLA-B27 et la SA longtemps investigué (Abdullah et Haroon, 2014). Actuellement, les axes de recherches visent une probable implication d'*ERAPI* dans l'un des mécanismes expliquant le rôle du HLA-B27 dans la susceptibilité à la SA (figure.2) (Haroon, 2010). Il est à noter que les conséquences fonctionnelles décrites ci-dessus sont déterminée expérimentalement et qu'ils ne sont valables que chez les cellules exprimant les sous-types B2704 et B 2705 (Chen *et al.*, 2013).

En effet, l'association *ERAPI* avec la SA soutient une hypothèse actuellement attrayante connu comme l'hypothèse du peptide arthritogène qui peut exister suite à un traitement aberrant, du à une réduction de l'activité enzymatique d'*ERAPI* (causé par un SNP donné), qui génère ainsi des peptides anormalement longs (Haroon, 2010; Maksymowych *et al.*, 2009).

Logiquement, la majorité de ces peptides ne peuvent être liée aux molécules HLA-B27, ce qui aboutit soit, à une augmentation de l'expression de chaînes lourdes libres sous forme de

monomères ou de dimères à la surface cellulaire soit, à leur accumulation au niveau du RE aboutissant ainsi à une réponse UPR (Chen *et al.*, 2013). Dans les deux cas, une réaction auto-inflammatoire est au rendez-vous (Braem et Lories, 2012). La seconde fraction de ces peptides va être tout de même présentée par les molécules HLA-B27 (les sous-types B2704 et B 2705) (Chen *et al.*, 2013). Ces complexes HLA-B27-Peptide, une fois présentés aux TCR des LT CD8 +, peuvent être hautement immunogènes, ainsi une réponse auto-immune méditée par des cellules T cytotoxiques HLA-B27- spécifique serait initiée, résultant ainsi un processus inflammatoire caractérisant une SA (Chen *et al.*, 2013).

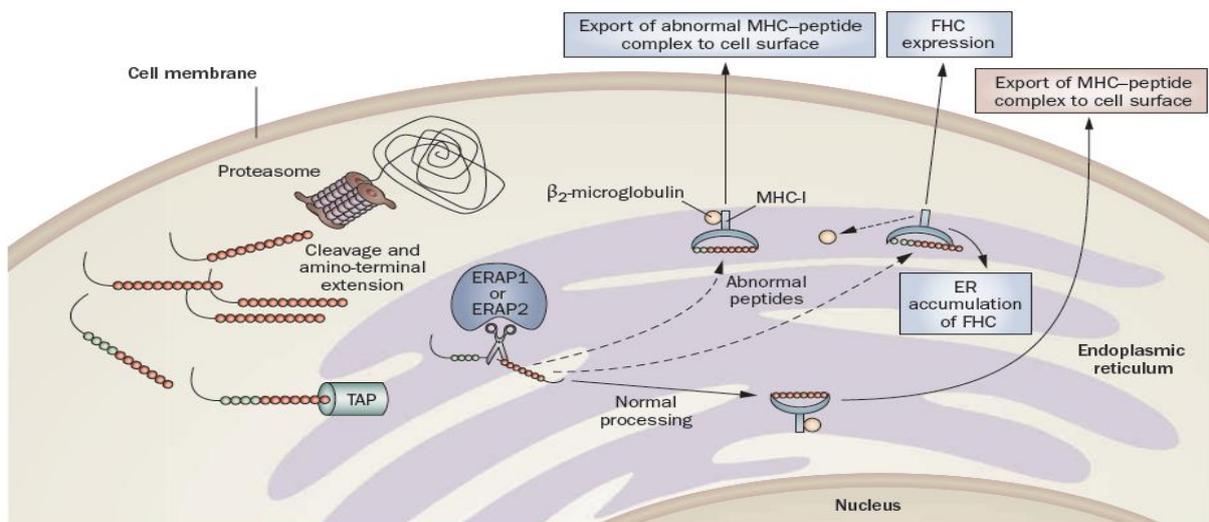


Figure 3. Traitements des peptides antigéniques par ERPA1.

Enfin, une autre hypothèse qui met en valeur la deuxième fonction immunologique d'ERAP1 consistant dans le clivage des récepteurs de certaines cytokines pro-inflammatoires dont le TNF- α , IL-1R et IL-6R (Keidel *et al.*, 2013; Nigil, 2012). Une perte de cette fonction (suite à un polymorphisme) semble être particulièrement participante dans la pathogénèse de la SA notamment que les cytokines concernées sont impliqués d'une façon ou d'une autre dans le processus pathologique de la SA (Nigil, 2012). Le cluster du gène IL-1 s'est révélé être associé à la SA dans un certain nombre d'études (Lea et Lee, 2012), et l'IL-6 est une cytokine cardinale impliquée dans la génération de LTh 17, sans nier le rôle crucial du TNF- α (Keidel *et al.*, 2013; Nigil, 2012). L'incapacité de certains mutants d'*ERAP1* à assurer ce clivage (en recrutant d'autres enzymes), est corrélé avec un maintien de l'activité pro-inflammatoire de ces cytokines, aggravant ainsi les manifestations clinique de la SA (Pham, 2008).

Chapitre II : Matériels et Méthodes.

Ce présent travail, s'est déroulée au service d'immunogénétique et de transplantation du département d'Immunologie de l'Institut Pasteur d'Algérie pendant 4 mois et cela à partir du 15 Février jusqu'au 15 Juin. Il consiste en une étude cas-témoins, qui a pour objectif l'analyse du polymorphisme de type SNP du gène *ARTS1* dans une population de patients Algériens atteint de SA et de comparer les résultats à ceux d'une population de témoins sains.

Dans notre étude, la discrimination allélique du gène *ARTS1* s'est réalisée à partir d'une cohorte d'ADN préalablement extraite de 241 patients et de 236 témoins sains. N'empêche, nous avons pu réalisés le procédé d'extraction d'ADN sur une trentaine de patients non inclut dans notre étude. On s'est également servi de certains données concernant notre population d'étude, tel le statut HLA-B27 (patients et témoins) et certains signes cliniques décrits chez nos patients.

II.1- Matériels.

II.1.1- Matériel biologique.

Le sang a constitué le matériel biologique de base exploité afin d'extraire de l'ADN. Les prélèvements sanguins ont été réalisés sur des tubes contenant de l'EDTA (Éthylène Diamine Tétra-Acétique), sur lesquels l'identifiant du patient, nom et prénom et la date du prélèvement sont mentionnés. Le reste des renseignements cliniques concernant le patient a été mentionné sur une fiche appropriée.

II.1.1.1- Description de la cohorte étudiée.

Notre étude a porté sur 241 patients atteint de SA répartis en 166 hommes et 65 femmes, (10 sujets non déterminés) avec un sex ratio de (2-3H/1F), âgés de 15 à 71ans, avec une moyenne d'âge de 35 ans \pm 12. Ces sujets ont été recrutés au niveau du service de Rhumatologie de l'établissement hospitalier spécialisé de Douéra. Ce groupe a été comparé à une population de témoins sains qui sont pour la pluparts des donneurs dans le cadre de la transplantation rénale, composé de 236 sujets dont 110 hommes, et 126 femmes, avec une moyenne d'âge de 41 ans \pm 13.

Tableau III. Caractéristiques démographiques de la population étudiée.

Caractéristiques	Patients (n=241)	Témoins (n=236)
Age (moyenne \pm SD)	35 \pm 12	41 \pm 13
Hommes	166	110
Femmes	65	126
Sex ratio	2.55	1.16

II.1.1- Matériel non biologique.

Une liste du matériel/ appareils utilisé afin de réaliser ce travail est retrouvée en annexe N° 2.

II.2- Méthodes.

L'extraction d'ADN est un pré-requis indispensable à une très large gamme de techniques de biologie moléculaire (Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) avec ses différentes variantes, séquençage, puce à ADN...etc), intéressant à la fois le domaine médical (diagnostic) et le domaine de la recherche. Ce procédé peut se faire à partir de divers matériels biologiques dont essentiellement le sang. Divers protocoles en existent, toutefois ils partagent pratiquement le même schéma de principe, consistant en une lyse cellulaire, une élimination des protéines et enfin la purification de l'ADN.

II.2.1- Extraction d'ADN par Salting Out.

II.2.1.1- Principe.

IL s'agit d'une technique de routine, qui permet d'avoir une grande quantité d'ADN (à partir de 5ml de sang), elle est sans danger contrairement à son alternative par phénol-chloroforme (une exposition au chloroforme semble être associée à un risque de cancer). Son principe consiste à traiter le lysat cellulaire par une solution saline de haute concentration. Le traitement par les sels permet l'élimination, par précipitation, des protéines dénaturées (après centrifugation). L'ADN extrait peut être ainsi conservé à 4°C plus d'un an, ou encore à -20°C pour une conservation à long terme.

II.2.1.2- Mode opératoire.

A- Préliminaires.

Ce type d'extraction se fait à partir du sang (environ 5ml), qui est prélevé sur EDTA; un anticoagulant et un inhibiteur de nucléases. La solution de Lyse des Globules Rouges (SLR), des Globules blancs (SLB), le détergent SDS (Sodium dodecyl sulfate) et le chlorure de sodium (NaCl) doivent être également préparés. La protéinase K (PK), commercialisée sous forme lyophilisé, doit également être reconstituée.

B- Lyse des globules rouges.

Les érythrocytes étant des cellules énucléées (dépourvus de noyau : le siège du matériel génétique), doivent être éliminés en premier, et ce, en mélangeant le sang (5ml) contenu dans des tubes de 15ml avec une solution hypotonique (Tris 10 mM, EDTA 10 mM) ; c'est une solution qui contient une concentration faible de solutés dissous par rapport à celle retrouvée au niveau du cytoplasme des hématies. Afin de remédier la différence de concentrations en solutés qui existe de part et d'autre de la membrane, cette solution va diffuser du milieu extracellulaire (le moins concentré) vers le milieu intracellulaire (le plus concentré), ainsi les globules rouges deviennent turgescents et finissent par éclater : hémolyse. L'ajout de cette solution, suivi d'une congélation (-20°C pendant 20 Mn en agitant tous les 5Mn) et d'une centrifugation (10 Mn à 2500 tr/Mn à température ambiante) permis d'avoir un culot de globules blancs.

C- Lyse des globules blancs.

Le culot de globules Blanc est resuspendu dans 1.5 ml de SLB (Tris 10 mM, EDTA 5mM). A ce mélange, on ajoute 150µl du détergent SDS à 10%, qui va déstabiliser la membrane cellulaire et nucléaire des leucocytes, et 10 µl d'une enzyme appartenant à une famille de protéases à sérine appelée PK (10 mg/ml). Cette dernière, va digérer les protéines associée à l'ADN, et ce, en clivant les liaisons peptidiques de préférence au niveau du carboxyle des acides aminés à chaîne latérale hydrophobes ou aromatiques. Son activité est stimulée par le SDS. En sus de ce traitement chimique, un traitement thermique pouvant aller d'une heure (à 56°C) à une nuit entière (à 37°C), permet d'optimiser l'activité de la PK. Suite à cette étape, le tube contient un mélange d'ADN, et le lysat cellulaire : fragments de protéines, résidus la membrane et toutes les molécules du cytoplasme.

D- Purification.

La purification permet de séparer l'ADN du reste du lysat cellulaire, et ce, en rajoutant une solution hautement saturée de NaCl 6M (35g NaCl + 100ml Eau distillé), suivi d'une forte agitation. Le sel va entrer en compétition avec les protéines qui captaient auparavant les molécules d'eau. Ces dernières finissent par relarguer les protéines qui suite à une centrifugation (25 Mn à 3500 tr/Mn à température ambiante), finissent par tomber au fond du tube. On rajoute au surnageant transvasé dans un nouveau tube, 3ml de l'éthanol absolu glacial (conservé à -20°C) assisté par 4 à 5 agitations légères, on observe la formation d'une masse opaque avec un aspect visqueux, sous forme de méduse : c'est l'ADN. Le tube doit repasser par une centrifugation, qui va mettre la méduse d'ADN au fond du tube. Ainsi, on pourra éliminer le surnageant contenant le reste des cellules sans toucher à l'ADN, à laquelle on rajoute 1ml de l'éthanol 70% suivi d'une centrifugation ce qui permettra de laver la méduse de toutes les impuretés. Cet alcool doit être éliminé afin de laisser sécher l'ADN (1 à 2 h) avant d'y être resuspendue dans 200µl d'eau ultra pure, puis conservé à + 4 C°.

II.2.1.3- Contrôle qualitatif et quantitatif de l'ADN.

L'estimation de la concentration de l'ADN se fait par la mesure de l'absorbance à 260nm. Sachant qu'une unité de DO à 260nm est l'équivalent de 50µg/ml d'ADN. Il est possible d'évaluer la quantité d'ADN d'un échantillon par la formule suivante : Facteur de dilution × 50 × DO à 260nm. On doit vérifier également, que le rapport DO 260/DO 280 est compris entre 1.8 et 2.2. Si ce rapport est inférieur à 1.8, l'ADN est contaminé par les protéines. S'il est supérieur à 2, il y a contamination par l'ARN.

II.2.2- La Discrimination allélique par la technologie TaqMan.

Les SNP désignent des polymorphismes d'une seule paire de base du génome, entre individus d'une même espèce. Ils sont à l'origine de l'existence de différentes versions d'un même gène, ce que l'on appelle des allèles. Chaque individu en possède deux versions allélique du même gène (l'une d'origine paternelle, l'autre maternelle), et qui peut être soit identiques (homozygote pour l'allèle 1, ou pour l'allèle 2), soit différentes (hétérozygote), ce qui détermine le génotype de l'individu.

De manière générale, les techniques de discrimination allélique permettent la reconnaissance et la distinction d'un allèle donné d'un autre, et ce, en une position donné. En

effet, de nombreuses techniques sont utilisées afin d'identifier ces polymorphismes (et donc de déterminer le génotype), tel le séquençage, la détection utilisant les propriétés d'enzyme de restriction (restriction fragment length polymorphism ou RFLP) et bien évidemment d'autres techniques.

Contrairement à ces procédés, qui nécessitent tous du temps après l'étape de la PCR, la technique de discrimination alléliques TaqMan, et qui consiste en une PCR en temps réel, également appelé PCR quantitative, les dépasse en terme de rapidité vu qu'elle permet d'avoir un résultat immédiat en 2 heures de temps et de génotyper jusqu'à 96 échantillons à la fois, et ce, sans étape de post PCR, ce qui diminuera significativement les problèmes de contamination post-PCR.

II.2.2.1- Principe.

La technologie TaqMan est basée sur l'activité 5'-exonucléasique de la Taq polymérase pour hydrolyser une sonde hybridée à sa séquence cible sur l'amplicon durant l'étape d'hybridation/extension de la PCR. Un fluorochrome émetteur (reporter) (ex. FAM : 6-carboxyfluorocéin) est fixé à l'extrémité 5' de la sonde d'hybridation et son émission est inhibée par un second fluorochrome suppresseur (quencher) présent à l'extrémité 3' comme le NFQ (non fluorescent Quencher). Lorsque stimulé, le fluorochrome émetteur transfère son énergie au fluorochrome suppresseur voisin par le principe FRET (fluorescence resonance energy transfer) qui dissipe cette énergie sous forme de chaleur plutôt que d'émettre de la fluorescence. Étant donné que l'activité 5'-exonucléasique de la Taq polymérase est spécifique à l'ADN double brin, les sondes libres en solution demeurent intactes et aucune fluorescence n'est émise. Lors de l'étape d'hybridation, la sonde et les amorces se fixent à leurs séquences complémentaires respectives. A l'étape suivante, la Taq polymérase débute l'élongation du nouveau brin d'ADN à partir de l'amorce jusqu'à ce qu'elle rencontre sur son passage la sonde hybridée qu'elle déplace et hydrolyse avec son activité 5'-exonucléasique. Le reporter est alors libéré de l'environnement du suppresseur permettant ainsi l'émission de fluorescence qui augmente à chaque cycle proportionnellement au taux d'hydrolyse de la sonde (figure 11) (Elyse et Alain, 2002).

Comme la Taq polymérase hydrolysera la sonde seulement lorsque celle-ci est hybridée à sa séquence complémentaire, les conditions de température de l'étape de polymérisation doivent être ajustées de façon à permettre à la sonde de rester hybridée durant cette étape. La majorité des sondes ont une température de dissociation autour de 70°C ou de 5 à 10°C plus élevée que

les amorces. Par conséquent, la technologie TaqMan utilise une étape combinée d'hybridation et de polymérisation à 60-62°C assurant l'hybridation et la stabilité de la sonde durant l'extension. Ceci permet aussi une activité 5-exonucléasique maximale de la Taq polymérase mais, l'efficacité de l'activité de polymérisation de l'enzyme sera légèrement réduite à cette température suboptimale (Elyse et Alain, 2002).

Les principes à respecter dans le design des sondes TaqMan sont aussi applicables aux autres sondes linéaires et comprennent comme règles générales (Elyse et Alain, 2002) :

- 1) Une longueur de 20-40 nucléotides ;
- 2) Un contenu en G-C variant de 40- 60% ;
- 3) Aucune séquence permettant une hybridation ou un chevauchement avec les amorces ;
- 4) Un A, un C ou un T à l'extrémité 5' parce qu'un G supprime la fluorescence de l'émetteur même après clivage ;
- 5) Un Tm de 5 à 10°C plus élevé que les amorces afin de s'assurer qu'elles s'hybrident avant les amorces et qu'elles demeureront hybridées pendant l'étape combinée d'hybridation et de polymérisation .

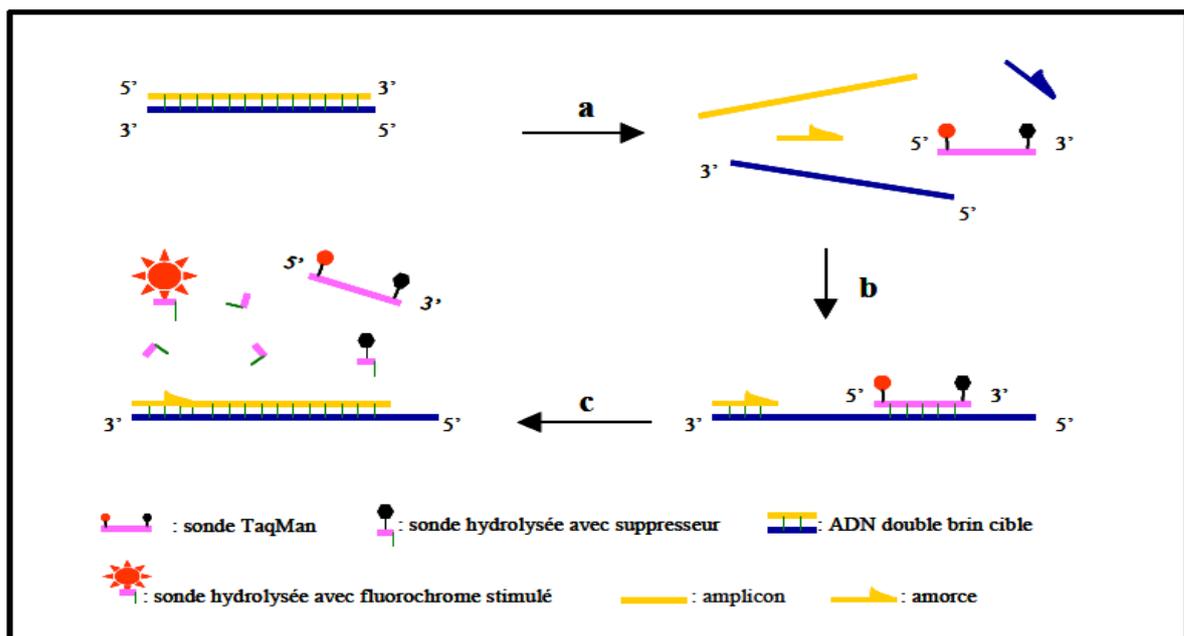


Figure 4. Principe de la PCR TaqMan.

(a) Durant l'étape de dénaturation, la sonde est libre en solution. (b) À la température d'appariement, la sonde et les amorces s'hybrident à leurs séquences cibles respectives et la proximité des fluorochromes permet l'inhibition de la fluorescence. La polymérisation débute. (c) La polymérase déplace et hydrolyse la sonde. Le fluorochrome émetteur est libéré de l'environnement du suppresseur permettant ainsi l'émission de la fluorescence.

II.2.2.2- Mode opératoire.

↳ Caractéristiques du SNP discriminé dans le gène *ARTS1*.

SNP	Allèle mineur	Localisation / position	Acide aminé changé	Référence
rs30187	T	Chr.5:Exon11 96150086	Lys528Arg	C 3056885_10

La discrimination allélique a été réalisée en ayant recours à deux sondes fluorescentes TaqMan MGB (Minor Groove Binder) bi-marquées :

- ☐ L'extrémité 5' des sondes est marqué par un fluorochrome qui peut être FAM pour l'allèle muté et VIC pour l'allèle normal.

↳ Composition de la sonde.

[VIC / FAM]

TGTGATGGTTATTAGGGGAAAACCC [C/T] TCTGCAGTGTCCAAGTGTTCATCAT

- ☐ L'extrémité 3' des sondes est marqué par un Quencher non fluorescent (NFQ) ; à lequel une molécule marquée MGB est accrochée. Cette dernière a une structure moléculaire lui permettant de s'insérer dans les petits sillons de la double hélice formée par la sonde et sa séquence cible complémentaire ce qui a pour avantage d'améliorer la sensibilité et la spécificité de la technique.

A. Etape de pré-PCR.

Après avoir équilibré l'AD-Mix (contient les sondes et les amorces) et le Master-Mix (contient le tampon, dNTP et la Taq polymérase) avec la température du laboratoire, on prépare le Mix dont les composants sont représentés au niveau du tableau ci-dessous.

Composant	Volume
Eau distillée	4.25µl * (96+4)
Master-Mix [TaqMan® Genotyping Master Mix. Part N° 4371355 Applied Biosystem]	5µl * (96+4)
L'AD-MIX	0.25µl * (96+4)
ADN	1µl

Une fois le milieu réactionnel (le Mix) préparé et vortexé, on dépose 9.5µl dans les 96 puits de la plaque à PCR. Les ADN à tester (94 Patients/témoins) sont également vortexés et à partir d'eux, 1µl est déposé dans chaque puits correspondant. Les deux derniers puits de la plaque étant réservés aux contrôles négatifs, 1µl d'eau distillée est déposé à la place de l'ADN. La plaque est ensuite fermée à l'aide d'un papier adhésif (transparent) puis on doit s'assurer de l'absence de bulle d'air (une légère centrifugation de la plaque est souvent nécessaire). Enfin, on met la plaque dans l'appareil de la PCR temps réel (7500 Real-Time PCR System) selon le programme standard suivant :

Le programme standard est :

- 1 cycle : 95°C 10 mn] Dénaturation totale
- 40 cycles :
 - 95°C 15 sec] Dénaturation
 - 60°C 60 sec] Hybridation et Elongation

B. Lecture des résultats.

L'analyse et la lecture de la fluorescence se fait en point final avec le logiciel 7500 software v2.01 de l'appareil ABI 7500 (Applied Biosystems) en considérant qu'une augmentation du signal :

- En VIC uniquement indique une homozygotie pour l'allèle C ;
- En FAM uniquement indique une homozygotie pour l'allèle T ;
- En VIC et en FAM une hétérozygotie.

II.3- Outils statistiques.

L'Equilibre d'Hardy Weinberg (EHW) qui permet de vérifier l'excès d'homozygotie pour un allèle donné à été calculé pour les témoins au moyen d'un test de chi-deux ($\alpha=0.05$).

L'étude statistique a été effectuée avec le logiciel Compare2 qui a permis de comparer les fréquences alléliques et génotypiques des patients à celle des témoins et de calculer le rapport Odd's Ratio (OR) qui permet de quantifier le degré d'association d'un marqueur (*ARTS1*) à une maladie (SA) avec un intervalle de confiance (IC) de 95%. Les valeurs $p < 0.05$, calculées également par le même logiciel ont été considérées comme statistiquement significatives.

Chapitre III : Résultats.

III.1- Traitement de la cohorte étudiée.

III.1.1 - Répartition des patients en fonction des manifestations cliniques.

A- Atteinte axiale.

Parmi les 241 patients, 164 (68%) d'entre eux présentent une atteinte axiale contre 77 patients (32%) qui ne la présentent pas.

B- Atteinte périphériques.

Pour l'atteinte périphérique, elle concerne seulement 33 patients (14%) versus 208 patients (86%) qui sont à l'abri de cette atteinte.



Figure 5. Répartition des patients en fonction de du type d'atteinte.

C- Forme juvénile.

La maladie s'est déclarée chez 38 patients (16%) avant leurs 16 ans à l'opposé de 203 patients (84%), qui ont vu le développement de leur pathologie après cet âge.

D- Coxite

Parmi nos patients, 113 patients (47%) présentent une coxite (inflammation de l'articulation de la hanche) versus 128 patients (53%) qui ne l'avait pas développé.

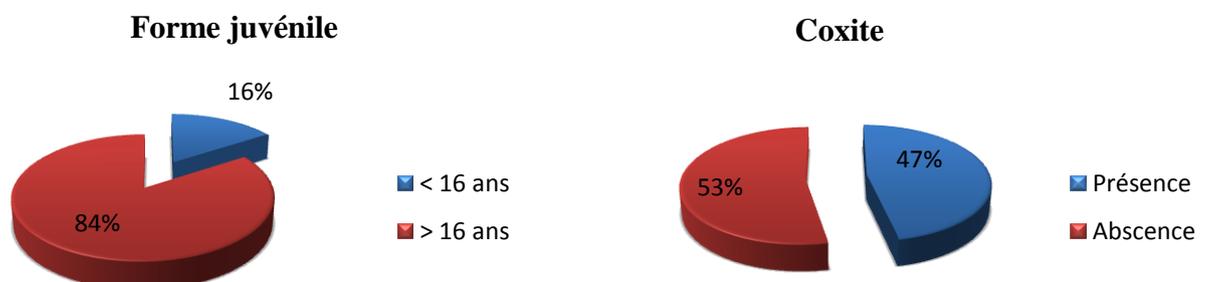


Figure 6. Répartition des patients selon le début juvénile et la présence ou l'absence de coxite.

III.2- Résultats de la discrimination allèle.

Dans notre étude d'association, 241 patients (166 Hommes ,65 Femmes, 10 ND), avec une moyenne d'âge de 35ans présentant une SA, et de 236 témoins sains (110 Hommes, 126Femmes), avec une moyenne d'âge de 41ans, ont été génotypés par la technique de discrimination allèle TaqMan.

D'après l'exemple ci-dessous, le résultat s'affiche sous forme de nuages orientés selon deux axes, l'un représentant l'allèle C, le deuxième l'allèle T. Ainsi, à partir de cette représentation graphique on peut distinguer trois (03) nuages, représentant 3 populations distinctes, en bleu les individus homozygotes pour l'allèle T (T/T), en rouge les individus homozygotes pour l'allèle C (C/C) et enfin, en vert, les individus hétérozygotes, c'est-à-dire ayant les deux allèles(C/T).

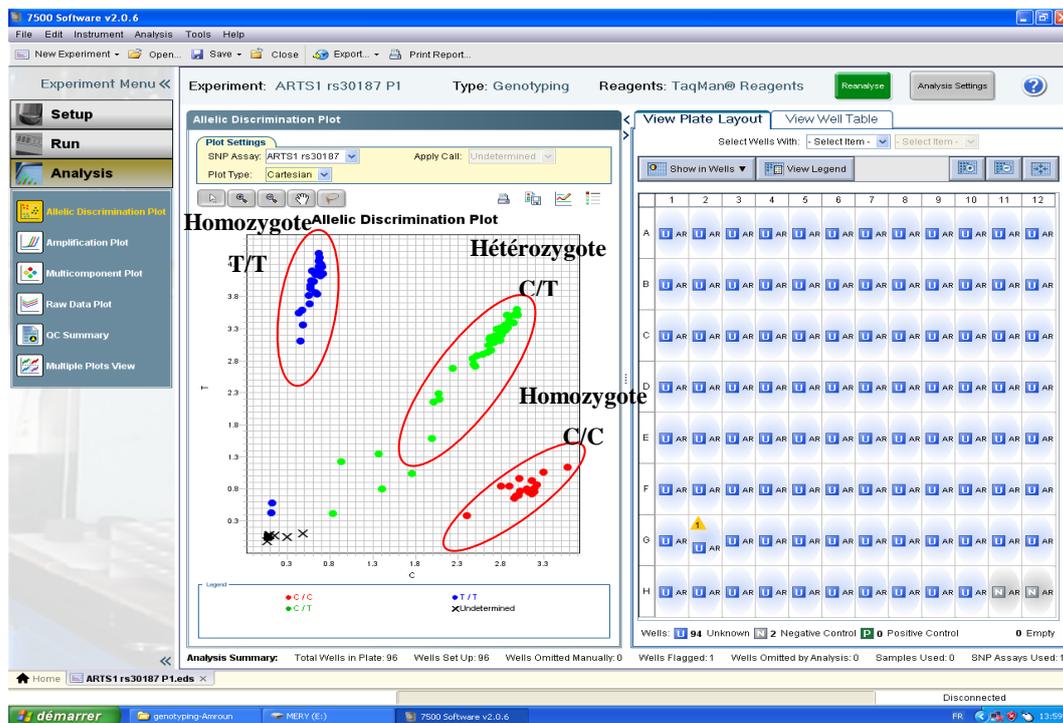


Figure 7. Un exemple de résultat de la discrimination allèle.

Notre population de témoins semble répondre à certains critères permettant de calculer l'équilibre de Hardy-Weinberg. En effet, il s'agit d'une population diploïde à reproduction sexuée, d'effectif important (236) et de sex-ratio équilibré (1.16). La soumission de nos témoins à cet équilibre permet d'éviter le risque d'une association artéfactuelle.

III.2.1- Distribution des fréquences alléliques et génotypiques.

D'après nos résultats représentés au niveau du tableau N°IV, la fréquence de l'allèle mineur T du gène *ARTS1* est de 58,71% chez les patients alors qu'elle est de 51,48% chez les témoins. La comparaison de ces fréquences alléliques est statistiquement non significative. Par contre, la comparaison des fréquences génotypiques entre patients et témoins s'est avérée significative par rapport aux sujets homozygotes pour l'allèle T (TT), cette fréquence est de 35,27% chez les patients tandis qu'elle est de 24,15% chez les témoins avec un $p=0.008$ et un Odd's Ratio de 1.71 (Intervalle de Confiance de 1.13-2.60). Ceci suppose que les sujets homozygotes TT ont probablement 1.71 fois plus de risque de développer une SA que les sujets ayant un génotype CC ou CT.

Tableau IV. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* retrouvées chez la population étudiée.

	Patients (n=241)	Témoins (n=236)	X ²	P	OR (IC : 95%)
Allèle C	198	228	2.519	0.112	
	(41,29%)	(48,52%)			
Allèle T	284	244	2.519	0.112	
	(58,71%)	(51,48%)			
Génotype CC	43	50	0.850	0.357	
	(17,84%)	(21,19%)			
Génotype CT	113	129	2.882	0.090	
	(46,89%)	(54,66%)			
Génotype TT	85	57	7.049	0.008 [7.9E-3]	1.71 1.13 to 2.60
	(35,27%)	(24,15%)			

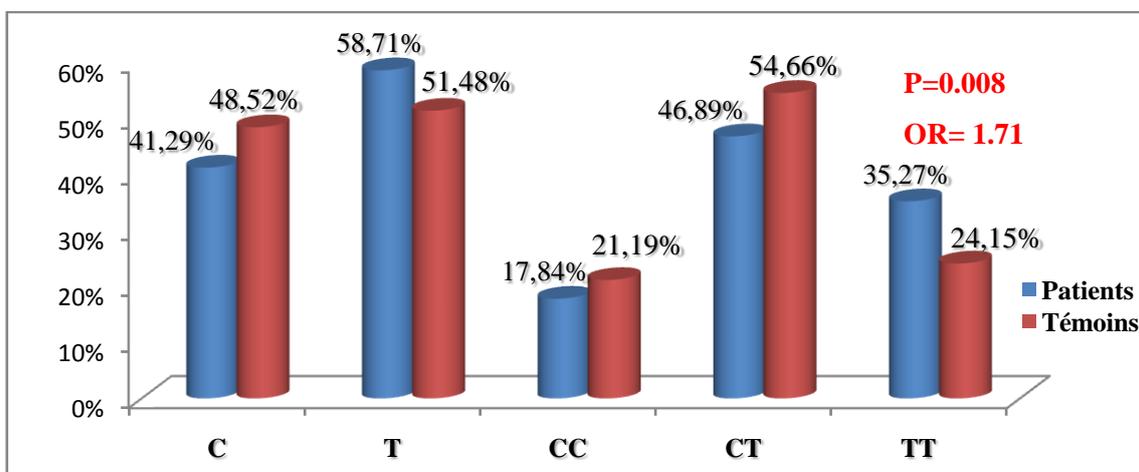


Figure 8. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* retrouvées chez les patients et les témoins.

III.3- Fréquence du gène *HLA-B27* chez les patients et les témoins.

Le tableau N° V rapporte la fréquence du gène *HLA-B27* retrouvés chez les patients et les témoins.

Tableau V. Fréquence du *HLA-B27* chez les patients et les témoins.

	patients (n=241)	Témoins (n=236)	X ²	p	OR (IC : 95%)
HLA-B27+	158 (65.56%)	9 (3.81%)	199.800	0.000	48.01 (23.03 - 110.90)
HLA-B27-	83 (34.43%)	227 (96.19%)	199.800	0.000	0.02 (0.01 - 0.04)

D'après nos résultats, la fréquence du gène *HLA-B27* est nettement plus élevée chez les patients (65.56%) par rapport aux témoins sains (3.81%). C'est un résultat hautement significatif (p=0.000), avec un OR de 48.01 (IC =23.03 - 110.90). C'est-à-dire que les sujets *HLA-B27* positifs ont probablement 48 fois plus de risque de développer une SA par rapport aux sujets *HLA-B27* négatifs. A l'opposé, les sujets témoins sont majoritairement (96.19%) *HLA-B27* négatifs, alors que seuls 34.43% des patients le sont. Le degré de significativité de ce résultat est de 0.000, avec un OR de 0.02 (IC= 0.01 - 0.04). Cela indique que l'absence de *HLA-B27* à possiblement un effet protecteur (bénéfique) contre le développement d'une SA.

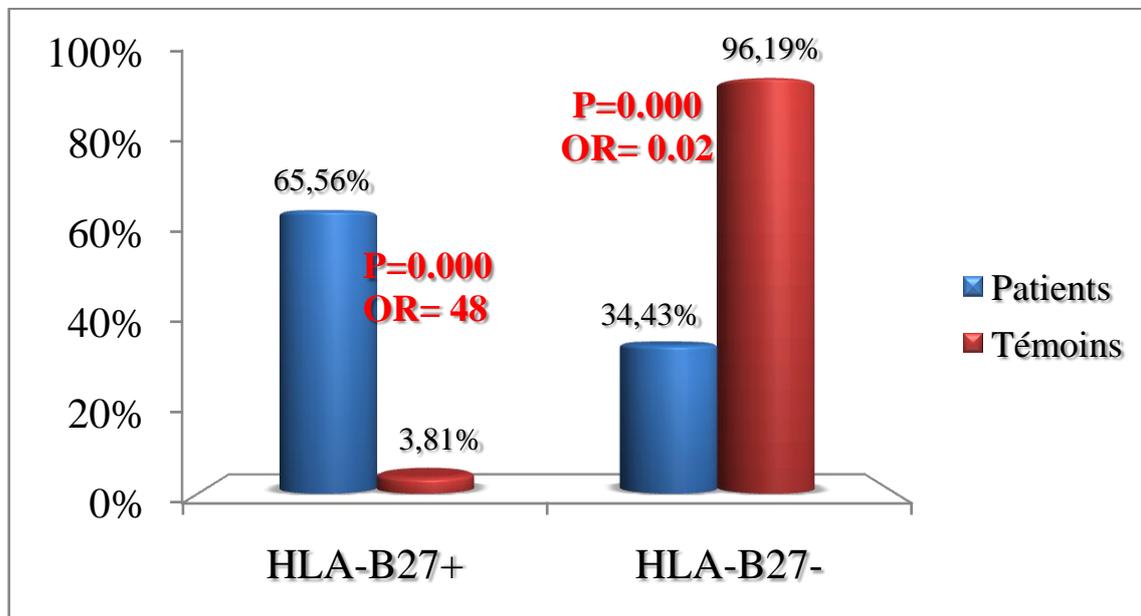


Figure 9. Fréquences de *HLA-B27* chez les patients et les témoins.

III.4- Stratification du *HLA-B27* en fonction de la distribution des génotypes.

Le tableau N° VI représente la répartition du *HLA-B27* en fonction de la distribution des génotypes chez les patients et les témoins.

Tableau VI. Stratification du *HLA-B27* en fonction des génotypes du gène *ARTS1*.

	CC		CT		TT	
	Patients (n=43)	Témoins (n=50)	patients (n=113)	témoins (n=129)	patients (n=85)	témoins (n=57)
B27+	31 (72.09%)	1 (2%)	73 (64.60%)	6 (4.65%)	54 (63.53%)	2 (3.51%)
p	0.000 [1.3E-12]		3.3E-23		7.3E-13	
OR (IC: 95%)	126.58 (16.56 - 5258.16)		37.41 (14.60 - 111.23)		47.90 (11.01 - 421.07)	
B27-	12 (27.91%)	49 (98%)	40 (35.40%)	123 (95.35%)	31 (36.47%)	55 (96.49%)
p	0.000 [1.3E-12]		0.000 [3.3E-23]		0.000 [7.3E-13]	
OR	0.01 (0.00 - 0.06)		0.03 (0.01 - 0.07)		0.02 (0.00 - 0.08)	

Cette stratification à montré une forte association du *HLA-B27* avec la SA indépendamment du génotype *ARTS1*. En effet, la comparaison entre patients et témoins s'est avérée toujours significative avec un OR de 126.58, 37.41, et 47.90 pour les génotypes CC, CT et TT respectivement. Ceci montre que le gène *HLA-B27* reste un facteur de susceptibilité majeur à la SA quelque soit le génotype du gène *ARTS1*. De même, l'absence du *HLA-B27* semble jouer un rôle protecteur indépendamment du génotype du gène *ARTS1*.

III.5- Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* en fonction du statut *HLA-B27*.

III.5.1- *HLA-B27* positif.

Le Tableau N° VII rapporte les fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* retrouvées à la fois chez les patients et les témoins. La comparaison de ces fréquences ne montre aucune différence significative entre patients et témoins dans le groupe *HLA-B27* positifs.

Tableau VII. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques chez les patients et les témoins *HLA-B27* positif.

	HLA-B27 Positifs		P
	Patients (n=158)	Témoins (n=9)	
Allèle C	134 (42.41%)	8 (44.44%)	0.904
Allèle T	182 (57.59%)	10 (55.55%)	0,904
Génotype CC	31 (19.62%)	1 (11.11%)	0.528
Génotype CT	73 (46.20%)	6 (66.66%)	0.232
Génotype TT	54 (34.18%)	2 (22.22%)	0.460

III.5.2- *HLA-B27* Négatif.

Le tableau N° VIII rapporte la comparaison des fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* entre patients et témoins *HLA-B27* négatifs. En effet, 37.40 % des patients (31) sont porteurs du génotype TT contre 24.23% des témoins (55). La signification de ce résultat est de 0.022 avec un OR de 1,86. Les patients ne portant pas le *HLA-B27* et homozygotes pour l'allèle T du gène *ARTS1*, ont probablement 1.86 fois plus de risque de développer une SA.

Tableau VIII. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques chez les patients et les témoins *HLA-B27* négatifs.

	HLA-B27 Négatif		p	OR
	Patients (n=83)	Témoins (n=227)		
Allèle C	64 (38.55%)	220 (48,46%)	0.121	-
Allèle T	102 (61.45%)	234 (51.54%)	0.121	-
Génotype CC	12 (14.46%)	49 (21.58%)	0.162	-
Génotype CT	40 (48.19%)	123 (51.19%)	0.350	-
Génotype TT	31 (37.40%)	55 (24.23%)	0.022	1.86

III.6- Répartition des fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* en fonction du sexe des patients.

Notre population de patients est répartie entre 166 hommes et 65 femmes (le sexe de 10 patients est non déterminé). La distribution des génotypes du gène *ARTS1* en fonction du sexe représenté au niveau du tableau N° IX, s'est avérée significative en ce qui concerne les individus homozygotes pour l'allèle T (TT). En effet, 68 patients (40.96%) de sexe masculin sont homozygotes pour l'allèle T contre seulement 14 femmes (21.54%). Le degré de significativité de ce résultat est de 0.006. Le OR est de 2.53 (IC= 1.25 - 5.33), ce qui suppose que les hommes ayant un génotype TT, ont 2.53 plus de risque de développer une SA que les femmes.

Tableau IX. Répartition des fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* en fonction du sexe des patients.

	H (n=166)	F (n=65)	P	OR (IC : 95%)
Allèle C	122 (36.75%)	64 (49.23%)	0.188	
Allèle T	210 (63.25%)	66 (50.77%)	0.082	
Génotype CC	25 (15.06%)	14 (21.54%)	0.237	
Génotype CT	73 (43.98%)	37 (56.92%)	0.076	
Génotype TT	68 (40.96%)	14 (21.54%)	0.006	2.53 (1.25 - 5.33)

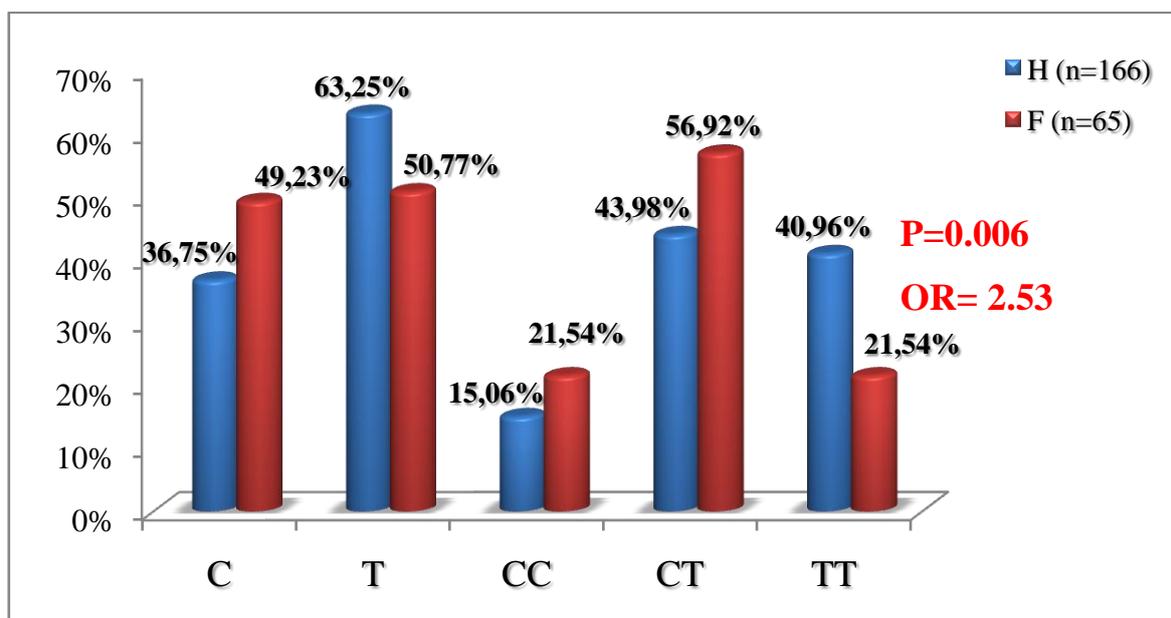


Figure 10. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* en fonction du sexe des patients.

III.7- Répartition des fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* en fonction du début de la maladie.

Le tableau N°X regroupe les fréquences alléliques et génotypiques en fonction de l'âge de début de la maladie. Seule la fréquence du génotype CC paraît significative, elle est de 20.20% chez les patients dont la pathologie s'est manifestée après 16 ans, alors qu'elle est de 5.26% chez les sujets à début juvénile. Le degré de signification est de 0.027 avec un OR de 0.22 (IC= 0.02 - 0.92), ce qui signifie probablement qu'un génotype CC exerce un rôle protecteur vis-à-vis l'âge de déclaration de la maladie.

Tableau X. Répartition des fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* en fonction de l'âge de déclaration de la maladie.

	Début juvénile (n=38)	Début non juvénile (n=203)	P	OR (IC : 95%)
Allèle C	24 (31.58%)	174 (42.86%)	0.195	
Allèle T	52 (68.42%)	232 (57.14%)	0.195	
Génotype CC	2 (5.26%)	41 (20.20%)	0.027	0.22 (0.02 -0.92)
Génotype CT	20 (52.63%)	93 (45.81%)	0.387	
Génotype TT	16 (42.11%)	69 (33.99%)	0.520	

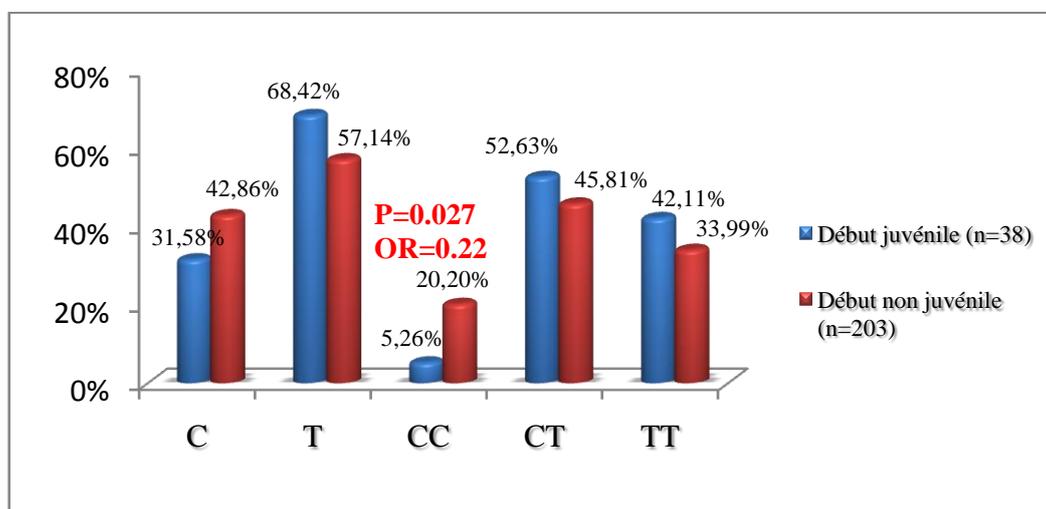


Figure 19. Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du gène *ARTS1* en fonction de l'âge de début de la maladie.

L'analyse de la distribution des génotypes en fonction du type d'atteinte et en fonction de la présence ou l'absence de coxite n'a pas révélée de différence significative.

Chapitre IV : Discussion

Dans un premier temps, notre étude d'association nous a permis de confirmer l'association indiscutable du *HLA-B27* avec la SA qui a été mise en évidence depuis 1973. On note que 65.56% de nos patients sont porteurs de cet antigène alors que d'après la littérature cette fréquence est de l'ordre de 90-95% (chez patients Anglais (Sheehan, 2004)), 93.2%, chez des patients New-Zélandais (Roberts et al., 2013), 73% chez des patients Qatariens (Mustafa et al., 2012), 71% chez des patients Jordaniens (Mustafa et al., 2012), 70% chez des patients Turcs (Gunal et al., 2008) et de 62.5% chez des patients Serbes (Vojvodić et al., 2012). En effet, notre fréquence corrobore le plus avec celles retrouvés chez nos voisins marocains (63%) (Belkhou et al., 2013) et tunisiens (62%) (Kchir et al., 2010), mais aussi avec celle retrouvés auparavant en Algérie (60.27%) (Amroun, 2009). A titre informatif, la fréquence du *HLA-B27* est de l'ordre de 55%, de 9.7% et de 7.8% chez des patients originaires du Burkina Faso (Ouedraogo et al., 2009), du Mali (Kalidi et al., 1988) et de la Gambie (Allsopp et al., 1992) respectivement. L'intensité de l'association du gène *HLA-B27* avec la SA est fonction de l'origine de la population étudiée. En Afrique Noire où la SA est rare, le vecteur du paludisme « *Plasmodium falciparum* » constitue un 2^{ème} facteur contribuant à la baisse de cette fréquence, de sorte que les personnes porteuses de l'allèle *HLA-B27* deviennent plus sensibles au paludisme (Rat, 2014).

Dans un deuxième temps, dans notre travail on s'est intéressé à l'étude de l'un des polymorphismes du gène *ARTS1* (responsable de 26% du risque génétique global) les plus associés avec la susceptibilité à la SA, consistant dans le SNP rs30187 (C : allèle majeur / T : allèle mineur prédisposant), et codant pour le variant R528K. Selon notre analyse, l'association de ce variant avec cette pathologie multifactorielle semble être démontrée, sachant que 35.27% de nos patients sont homozygotes pour l'allèle T prédisposant à la maladie versus 24.15% témoins sains. De ce fait, notre étude, unique dans son genre dans les pays du grand Maghreb, avec un OR de 1.71, rejoint plusieurs études qui ont portées sur diverses populations réparties à travers le monde. En effet, la découverte de cette association remonte à l'an 2007, lors d'une large étude d'association menée par (Burton et al., 2007) sur une population Anglaise. La publication de ce résultat au grand public a nécessité tout d'abord sa confirmation sur une nouvelle cohorte d'origine caucasienne et de manière intéressante, l'association a été confirmée avec un OR de 1.3 dans les deux études. Depuis, ce variant a été sujet pour un nombre importants d'études où il représente un risque de 1.26/ 1.29/1.31/ 1.34/ 1.35/ 1.38/ 1.55 et 2.70 chez des patients portugais (Pimentel-Santos et al., 2009), Espagnols (Szczypiorska et al., 2011), Français (Kadi et al., 2013), Canadiens

(Maksymowych et al., 2009), Anglo-australiens (Evans et al., 2011), Taïwanais (Wang et al., 2012), Belges (Kadi et al., 2013), et Iraniens (Mahmoudi et al., 2012) respectivement, et à l'exception de deux études portés sur la population Turque (Cinar et al., 2013) et hongroise (Pazar et al., 2010) où l'analyse de ce variant était non significative. Alors que la majorité des études précédentes ont soulignées la restriction de l'association de ce variant aux individus HLA-B27 positifs, curieusement notre étude retrouve une association significative avec un OR de 1.86 chez les sujets *HLA-B27* négatifs, ce qui suggère l'implication du SNP du gène *ARTS1* dans la susceptibilité à la SA indépendamment du *HLA-B27* dans notre population. Un patient *HLA-B27* négatif portant le génotype TT a probablement 1.86 fois de risque de développer la SA.

D'une part, ce résultat peut être expliqué par le gradient Nord-Sud à lequel la fréquence du *HLA-B27* est soumise. Cette particularité caractérisant la population maghrébine et qui fait que le *HLA-B27* soit absent chez environ 40% de nos patients, laisse sans doute la place à d'autres gènes, à des facteurs environnementaux et éventuellement à d'autres hypothèses. D'autre part, il est bon à savoir que les résultats obtenus suite a des études cas-témoins, reproduits un peu partout dans le monde et portant sur les différents SNP du gène *ARTS1* retrouvés comme conférant un risque de développer une SA, à savoir le rs30187, rs27044, rs17482078, rs10050860, rs2287987, rs27037 et le rs27434, ont toujours étaient contradictoires par rapport a ceux trouvés initialement par Burton et al en 2007. La cause de cette différence valait la recherche, et encore une fois l'hétérogénéité en fonction des races et des ethnies est proposée comme un éventuel facteur.

La prédominance masculine dans la SA à toujours été rapportée, et notre cohorte la confirme, avec un sex ratio de 2-3H/1F. De manière intéressante, la stratification des génotypes du SNP étudié en fonction du sexe s'est avérée significative. En effet, 40.96% des patients de sexe masculin sont homozygotes pour l'allèle T, contre seulement 21.54% de patients du sexe opposé. Un génotype TT semble majorer de 2.53 la prédisposition des hommes à la SA.

Dans notre étude, le début juvénile a également été analysé. En effet, un génotype CC semble avoir un effet protecteur contre une survenue précoce de la maladie. Dans l'étude de (Hinks et al.), bien que l'association de l'allèle mineur (allèle T) du SNP rs30187 a été signalée avec un groupe d'arthrites reliées aux enthèses (ARE : forme d'arthrite juvénile

partageant des symptômes en communs avec la SA), aucun rôle protecteur n'a été signalé par rapport à l'allèle majeur (allèle C) de ce variant.

À l'échelle fonctionnelle, ERAP1 semble être associée de part son implication dans la voie de traitement et de présentation du peptide antigénique dans la SA, mais aussi à une variété de pathologies caractérisées par un désordre immunitaire dont le Psoriasis, la maladie de Crohn et la Sclérose multiple (Stratikos et al., 2014). En effet, le SNP rs30187 a été retrouvé comme associé au psoriasis, une manifestation cutanée rencontrée chez environ 10 à 25% des patients atteints de SA, et dont la prédisposition est fortement liée à l'allèle HLA-C*06. Curieusement, l'association de ce variant avec le psoriasis est également indépendante de l'HLA-C*06, et ce, en particulier chez les patients dont la tranche d'âge est comprise entre 10 et 20 ans (Lysell et al., 2013).

L'explication probable de l'association d'ERAP1, fait appel à l'une des théories qui attire actuellement le plus d'attention, celle du peptide arthritogène. En effet, la localisation de la Lysine, l'acide aminé codé par l'allèle mineur T du SNP rs30187 est très proche du site catalytique de l'enzyme ERAP1. Selon des preuves expérimentales, cette localisation semble être responsable d'une diminution de l'activité enzymatique ce qui va influencer péjorativement sur le traitement des peptides antigéniques au niveau du RE (Evans et al., 2011). Une altération fonctionnelle qui aura comme conséquence la génération de peptides anormaux, eux même à l'origine du déclenchement du processus inflammatoire.

CONCLUSIÓN

Unique dans son genre à l'échelle Arabo-africaine, notre étude d'association de type cas-témoins qui a porté sur une cohorte importante composée de 241 patients atteints de SA, et de 236 témoins phénotypiquement sains, rapporte pour la première fois, depuis la découverte de l'association du gène *ARTSI* avec la SA, la validité de cette association chez des patients *HLA-B27* négatifs. Selon nos résultats, les sujets homozygotes pour l'allèle mineur T du SNP rs30187 du gène *ARTSI* semblent être prédisposés au développement d'une SA, et ce, en particulier chez les sujets *HLA-B27* négatifs. On pourra conclure à l'issue de cette étude, que le gène *ARTSI*, pourrait être un gène de susceptibilité à la SA chez les patients *HLA-B27* négatifs dans notre population.

Nos résultats, bien que soumis à l'équilibre d'Hardy Weinberg requièrent de la confirmation sur un échantillon plus important. La confirmation d'un tel résultat ouvrira de nouvelles pistes d'investigations, notamment que l'association du gène *ARTSI* avec la SA ne se limite pas au SNP rs30187, bien au contraire, une liste d'environ sept SNP rapportés comme associé à la SA dans d'autres études, valent la peine d'être analysés.

Ce modeste travail, nécessite également d'être suivi d'une étude fonctionnelle qui s'intéressera à étudier par quel biais ce variant prédispose à la maladie, si c'est de part son implication dans la voie de traitement et de présentation antigénique, il sera important d'évaluer l'effet de ce variant sur l'activité enzymatique d'ERAP1 et son influence sur le traitement des peptides antigéniques. La seconde possibilité fait impliquer la deuxième fonction d'ERAP1, consistant dans le clivage des récepteurs de certaines cytokines pro-inflammatoires jouant un rôle clé dans la physiopathologie de la SA, il sera important de mener des études de corrélation entre le taux d'expression d'ERAP1 et le taux de ces récepteurs exprimés à la surface cellulaire.

Références bibliographiques

- ABDULLAH, H. & HAROON, N. (2014). The role of Endoplasmic Reticulum Aminopeptidase 1(ERAP1) in Ankylosing Spondylitis. *Indian Journal of Rheumatology*, 9, 14-18.
- ALLSOPP, C. E., HARDING, R. M., TAYLOR, C., BUNCE, M., KWIATKOWSKI, D., ANSTEY, N., . . . HILL, A. V. (1992). Interethnic genetic differentiation in Africa: HLA class I antigens in The Gambia. *American Journal of Human Genetics*, 50, 411-421.
- ALVAREZ-NAVARRO., CARLOS LÓPEZ DE CASTRO & A., J. (2014). ERAP1 structure, function and pathogenetic role in ankylosing spondylitis and other MHC-associated diseases. *Molecular Immunology*, 57, 12-21.
- AMOR, B.-P. (2009). Cinquante ans dans la spondylarthrite ankylosante. *Rhumatologie Pratique*.
- AMROUN, H. (2009). facteurs de predisposition génétique aux spondylarthropathies a Alger. *These de doctorat en sciences medicales faculté de Medecine d'Alger*.
- ASTIER, F. (2012). La spondylarthrite ankylosante et la place de l'immunothérapie dans son traitement *Université de Limoges*, 138.
- ASTIER, F. & GUILLOT, X. (2013a). Les traitements de la spondylarthrite ankylosante. *Actualités Pharmaceutiques*, 52, 10-15.
- ASTIER, F., GUILLOT, X. & BONNET, C. (2013b). Manifestations cliniques et diagnostic de la spondylarthrite ankylosante. *Actualités Pharmaceutiques*, 52, 6-9.
- ASTIER, F., GUILLOT, X. & COOK-MOREAU, J. (2013c). Épidémiologie, étiologie et physiopathologie de la spondylarthrite ankylosante. *Actualités Pharmaceutiques*, 52, 1-5.
- BELKHOUB, A., BAKRI, Y., YAKOUBI, H., AMINE, M., RADOUANE, N. & EL HASSANI, S. (2013). Prévalence du gène HLA B-27 dans la spondylarthrite ankylosante au Maroc. *Revue Marocaine de Rhumatologie*, 25, 38-41.
- BOSSARD, S. (2013). la spondylarthrite ankylosante : conseils officinaux. *UNIVERSITE DE NANTES*, 111.
- BRAEM, K. & LORIES, R. J. (2012). Un aperçu de la physiopathologie de la spondylarthrite ankylosante : contribution des modèles animaux. *Revue du Rhumatisme*, 79, 11-16.
- BRAUN, J. & SIEPER, J. (2007). Ankylosing spondylitis. *The Lancet*, 369, 1379-1390.
- BREBAN, M. (2014). Immunopathologie actuelle. *Revue du Rhumatisme Monographies*, 81, 235-239.
- BREBAN, M., MICELI-RICHARD., CORINNE ZINOVIEVA., ELENA MONNET & OMINIQUE SAID-NAHAL, R. (2006). La génétique des spondylarthropathies. *Revue du Rhumatisme*, 73, 665-672.
- BURTON, P. R., CLAYTON, D. G., CARDON, L. R., CRADDOCK, N., DELOUKAS, P., DUNCANSON, A., . . . BROWN, M. (2007). Association scan of 14,500 nonsynonymous SNPs in four diseases identifies autoimmunity variants. *Nat Genet*, 39, 1329-37.
- CHANG, S.-C. M., FRANK BHUTANI & NIDHI GOLDBERG, A. L. (2005). The ER aminopeptidase, ERAP1, trims precursors to lengths of MHC class I peptides by a “molecular ruler” mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 17107-17112.

- CHEN, B., LI, D. & XU, W. (2013). Association of ankylosing spondylitis with HLA-B27 and ERAP1: Pathogenic role of antigenic peptide. *Medical Hypotheses*, 80, 36-38.
- CIFALDI, L., ROMANIA, P., LORENZI, S., LOCATELLI, F. & FRUCI, D. (2012). Role of endoplasmic reticulum aminopeptidases in health and disease: from infection to cancer. *Int J Mol Sci*, 13, 8338-52.
- CINAR, M., AKAR, H., YILMAZ, S., SIMSEK, I., KARKUCAK, M., SAGKAN, R. I., . . . PAY, S. (2013). A polymorphism in ERAP1 is associated with susceptibility to ankylosing spondylitis in a Turkish population. *Rheumatol Int*, 33, 2851-8.
- CLAUDEPIERRE, P. & VOISIN, M.-C. (2005). Les enthèses : histologie, anatomie pathologique et physiopathologie. *Revue du Rhumatisme*, 72, 34-41.
- CLÉMENTINE, B. (2014). La spondylarthrite ankylosante à propos d'un cas : Diagnostic, prise en charge, thérapeutiques et évolution de la pathologie au cours d'une vie. *Université de POITIERS* 105.
- COSTANTINO, F. & BREBAN, M. (2013). Génétique des spondylarthrites. *réalités en rhumatologie # 53_Avril/Mai 2013*, # 53_Avril/Mai
- COSTANTINO, F. & BREBAN, M. (2014). Génétique : les nouveaux éléments. *Revue du Rhumatisme Monographies*, 81, 230-234.
- DALIBON, P. (2015). Maladie de Crohn et rectocolite ulcéro-hémorragique, de grandes similitudes. *Actualités Pharmaceutiques*, 54, 20-24.
- DEAN, L. E., JONES, G. T., MACDONALD, A. G., DOWNHAM, C., STURROCK, R. D. & MACFARLANE, G. J. (2014). Global prevalence of ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford)*, 53, 650-7.
- EL MAGHRAOUI, A. (2004a). La spondylarthrite ankylosante. *La Presse Médicale*, 33, 1459-1464.
- EL MAGHRAOUI, A. (2004b). Ostéoporose et spondylarthrite ankylosante. *Revue du Rhumatisme*, 71, 573-578.
- ELYSE, P. & ALAIN, H. (2002). La PCR en temps réel: principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 2, 2-11.
- EVANS, D. M., SPENCER, C. C., POINTON, J. J., SU, Z., HARVEY, D., KOCHAN, G., . . . DONNELLY, P. (2011). Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. *Nat Genet*, 43, 761-7.
- FIERABRACCI, A., MILILLO, A., LOCATELLI, F. & FRUCI, D. (2012). The putative role of endoplasmic reticulum aminopeptidases in autoimmunity: Insights from genomic-wide association studies. *Autoimmunity Reviews*, 12, 281-288.
- GUERINI, F. R., CAGLIANI, R., FORNI, D., AGLIARDI, C., CAPUTO, D., CASSINOTTI, A., . . . SIRONI, M. (2012). A Functional Variant in ERAP1 Predisposes to Multiple Sclerosis. *PLoS ONE*, 7, e29931.
- GUNAL, E. K., SARVAN, F. O., KAMALI, S., GUL, A., INANC, M., CARIN, M., . . . OCAL, L. (2008). Faible fréquence d'HLA-B27 chez des patients atteints de spondylarthrite ankylosante en Turquie. *Revue du Rhumatisme*, 75, 433-437.
- HACHEMI, D. (1985). Etude du système HLA dans la population. application en rhumatologie. *Thèse de Doctorat en Sciences médicales, Alger*.

- HAROON, N. (2012). Endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 and interleukin-23 receptor in ankylosing spondylitis. *Current Rheumatology Reports*, 14, 383-389.
- HAROON, N. I., ROBERT D. (2010). Endoplasmic reticulum aminopeptidases: biology and pathogenic potential. *Nat Rev Rheumatol*, 6, 461-467.
- HATTORI, A. & TSUJIMOTO, M. (2013). Endoplasmic reticulum aminopeptidase: biochemistry, physiology and pathology. *Journal Of Biochemistry*, 154, 219-228.
- HINKS, A., MARTIN, P., FLYNN, E., EYRE, S., PACKHAM, J., BARTON, A., THOMSON, W. (2011). Subtype specific genetic associations for juvenile idiopathic arthritis: ERAP1 with the enthesitis related arthritis subtype and IL23R with juvenile psoriatic arthritis. *Arthritis Res Ther*, 13, R12.
- KADI, A., IZAC, B., SAID-NAHAL, R., LEBOIME, A., VAN PRAET, L., DE VLAM, K., . . . BREBAN, M. (2013). Investigating the genetic association between ERAP1 and spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*, 72, 608-13.
- KAHN, M.-F. (2014). Histoire de la spondylarthrite ankylosante. *Revue du Rhumatisme Monographies*, 81, 216-217.
- KALIDI, I., FOFANA, Y., RAHLY, A. A., BOCHU, V., DEHAY, C., GONY, J. & HORS, J. (1988). Study of HLA antigens in a population of Mali (West Africa). *Tissue Antigens*, 31, 98-102.
- KCHIR, M. M., HAMDI, W., LAADHAR, L., KOCHBATI, S., KAFFEL, D., SAADELLAOUI, K., . . . MAKNI, S. (2010). HLA-B, DR and DQ antigens polymorphism in Tunisian patients with ankylosing spondylitis (a case-control study). *Rheumatol Int*, 30, 933-9.
- KEIDEL, S., CHEN, L., POINTON, J. & WORDSWORTH, P. (2013). ERAP1 and ankylosing spondylitis. *Current Opinion in Immunology*, 25, 97-102.
- KUBY, J., KINDT, T. J., OSBORNE, B. A., GOLDSBY, R. A. & SAUTÈS-FRIDMAN, C. 2008. *Immunologie: Le cours de Janis Kuby*, Dunod.
- LAMORIL, J., DEYBACH, J. C. & BOUIZEGARÈNE, P. (2007). Maladie de Crohn et génétique: connaissances actuelles. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 22, 137-150.
- LEA, W.-I. & LEE, Y. H. (2012). Associations entre les polymorphismes du gène codant pour l'interleukine-1 et la prédisposition à la spondylarthrite ankylosante : méta-analyse. *Revue du Rhumatisme*, 79, 317-322.
- LYSELL, J., PADYUKOV, L., KOCKUM, I., NIKAMO, P. & STÅHLE, M. (2013). Genetic Association with ERAP1 in Psoriasis Is Confined to Disease Onset after Puberty and Not Dependent on HLA-C*06. *The Journal of Investigative Dermatology*, 133, 411-417.
- M. PICOZZIA., M. WEBERA., R. A. FREYB & BAUMBERGERC, H. (2002). Spondylarthrite ankylosante (maladie de Bechterew) Diagnostic précoce et tableau polymorphe de cette maladie. *Forum Med Suisse*.
- MAHMOUDI, M., JAMSHIDI, A. R., AMIRZARGAR, A. A., FARHADI, E., NOURIJELYANI, K., FALLAHI, S., . . . NICKNAM, M. H. (2012). Association between endoplasmic reticulum aminopeptidase-1 (ERAP-1) and susceptibility to ankylosing spondylitis in Iran. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 11, 294-300.

- MAKSYMOWYCH, W. P., INMAN, R. D., GLADMAN, D. D., REEVE, J. P., POPE, A. & RAHMAN, P. (2009). Association of a specific ERAP1/ARTS1 haplotype with disease susceptibility in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum*, 60, 1317-23.
- MAXIME, D., ANDRÉ, K. & MICHEL, R. (2005). Spondylarthrite ankylosante en 100 questions. *institut de rhumatologie*.
- MOALIC, V. (2010). Immunogénétique de la spondylarthrite ankylosante. *Immuno-analyse Biologie Spécialisée*, 25, 123-128.
- MONTACER, K., MEHDI GHANNOUCHI, M., HAMDI, M., AZZOUZ, W., KOCHB. . . ., D., SAADELLAOUI, S., . . . BÉCHIR, M. (2009). Impact of the ankylosing spondylitis on the professional activity. *Joint Bone Spine*, 76, 378-382.
- MUSTAFA, K. N., HAMMOUDEH, M. & KHAN, M. A. (2012). HLA-B27 Prevalence in Arab Populations and Among Patients with Ankylosing Spondylitis. *J Rheumatol*, 39, 1675-7.
- NGUYEN, T. T., CHANG, S.-C., EVNOUCHIDOU, I., YORK, I. A., ZIKOS, C., ROCK, K. L., . . . STERN, L. J. (2011). Structural Basis For Antigenic Peptide Precursor Processing by the Endoplasmic Reticulum Aminopeptidase ERAP1. *Nature structural & molecular biology*, 18, 604-613.
- NIGIL, H. (2012). The Role of Endoplasmic Reticulum Aminopeptidase 1 (ERAP1) in the Pathogenesis of Ankylosing Spondylitis. *Institute of Medical Sciences University of Toronto*, 222.
- OUEDRAOGO, D. D., TIENO, H., KABORE, H., PALAZZO, E., MEYER, O. & DRABO, J. Y. (2009). Ankylosing spondylitis in rheumatology patients in Ouagadougou (Burkina Faso). *Clin Rheumatol*, 28, 1375-7.
- PAZAR, B., SAFRANY, E., GERGELY, P., SZANTO, S., SZEKANECZ, Z. & POOR, G. (2010). Association of ARTS1 gene polymorphisms with ankylosing spondylitis in the Hungarian population: the rs27044 variant is associated with HLA-B*2705 subtype in Hungarian patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*, 37, 379-84.
- PERTUISET, E. (2008). Diagnostic précoce des spondylarthropathies. *La Revue de Médecine Interne*, 29, 596-605.
- PHAM, T. (2008). Physiopathologie de la spondylarthrite ankylosante. Actualités. *Revue du Rhumatisme*, 75, 925-930.
- PIMENTEL-SANTOS, F. M., LIGEIRO, D., MATOS, M., MOURAO, A. F., SOUSA, E., PINTO, P., . . . BRANCO, J. C. (2009). Association of IL23R and ERAP1 genes with ankylosing spondylitis in a Portuguese population. *Clin Exp Rheumatol*, 27, 800-6.
- RAT, A.-C. (2014). Épidémiologie de la spondyloarthrite au xxie siècle. *Revue du Rhumatisme Monographies*, 81, 225-229.
- ROBERTS, R. L., WALLACE, M. C., JONES, G. T., VAN RIJ, A. M., MERRIMAN, T. R., HARRISON, A., . . . STEBBINGS, S. M. (2013). Prevalence of HLA-B27 in the New Zealand population: effect of age and ethnicity. *Arthritis Research & Therapy*, 15, R158-R158.
- ROBINSON, P. C. (2014a). The genetics of ankylosing spondylitis and anterior uveitis. *The University of Queensland Diamantina Institute AUSTRALIA* 480.
- ROBINSON, P. C. & BROWN, M. A. (2012). The Genetics of Ankylosing Spondylitis and Axial Spondyloarthritis. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 38, 539-553.

- ROBINSON, P. C. B., MATTHEW A. (2014b). Genetics of ankylosing spondylitis. *Molecular Immunology*, 57, 2-11.
- ROSALES ALEXANDER, J. L., CANTERO-HINOJOSA, J., SALVATIERRA, J., MAGRO CHECA, C., GONZÁLEZ-GAY, M. Á. & RAYA ÁLVAREZ, E. (2014). Évaluation du risque cardiovasculaire selon l'indice SCORE national calibré chez les patients atteints de rhumatisme psoriasique sans maladie cardiovasculaire clinique évidente et facteurs de risque classiques d'athérosclérose. *Revue du Rhumatisme*, 81, 154-158.
- SAMIA, B., HAZGUI, F., ABDELGHANI, K., BEN HAMIDA, F., BEN GOUCHA, R., HEDRI, H., . . . BEN KHEDER, A. (2012). Atteinte rénale au cours de la spondylarthrite ankylosante. *Néphrologie & Thérapeutique*, 8, 220-225.
- SCHAEVERBEKE, T., TRUCHETET, M.-E. & RICHEZ, C. Rôle des facteurs d'environnement dans les spondyloarthrites. *Revue du Rhumatisme Monographies*.
- SELLAMI, D., BEN AMOR, H., KHEMEKHEM, R., KAMMOUN, B., KHARRAT, W., BEN ZINA, Z. & FEKI, J. (2006). UVEITE ANTERIEURE ET HLA B 27. *Service d'Ophthalmologie CHU Habib Bourguiba SFAX*, N°11/12, 1 - 5.
- SHEEHAN, N. J. (2004). The ramifications of HLA-B27. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 97, 10-14.
- SIBILIA, J., PHAM, T., SORDET, C., JAULHAC, B. & CLAUDEPIERRE, P. (2005). Spondylarthrite ankylosante et autres spondylarthropathies. *EMC - Médecine*, 2, 488-511.
- SKORZEWSKI, E. (2010). La spondylarthrite ankylosante : les traitements actuels et la prise en charge globale des patients. *UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1* 194.
- SOUWEINE, B., COMBARET, L., TAILLANDIER, D. & ATTAIX, D. (2001). La protéolyse ubiquitine-protéasome-dépendante : une machinerie complexe spécialisée dans la destruction sélective et hautement régulée des protéines. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 15, 23-31.
- STRATIKOS, E., STAMOGIANNOS, A., ZERVOUDI, E. & FRUCI, D. (2014). A role for naturally occurring alleles of endoplasmic reticulum aminopeptidases in tumor immunity and cancer pre-disposition. *Front Oncol*, 4, 363.
- SZCZYPIORSKA, M., SANCHEZ, A., BARTOLOME, N., ARTETA, D., SANZ, J., BRITO, E., . . . MULERO, J. (2011). ERAP1 polymorphisms and haplotypes are associated with ankylosing spondylitis susceptibility and functional severity in a Spanish population. *Rheumatology (Oxford)*, 50, 1969-75.
- TALPIN, A. (2013). Complexe majeur d'histocompatibilité et génomique fonctionnelle dans les spondylarthropathies *UNIVERSITE PARIS DESCARTES*, 232.
- TILLET, W., JADON, D., SHADDICK, G., CAVILL, C., KORENDOWYCH, E., DE VRIES, C. S. & MCHUGH, N. (2013). Smoking and delay to diagnosis are associated with poorer functional outcome in psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*, 72, 1358-61.
- TOUSSIROT, E. & WENDLING, D. (2006). Immunogénétique de la spondylarthrite ankylosante. *La Revue de Médecine Interne*, 27, 762-771.
- TSUI, F. W., TSUI, H. W., AKRAM, A., HAROON, N. & INMAN, R. D. (2014). The genetic basis of ankylosing spondylitis: new insights into disease pathogenesis. *Appl Clin Genet*, 7, 105-15.

- VÉGVÁRI, A., SZABÓ, Z., SZÁNTÓ, S., GLANT, T. T., MIKECZ, K. & SZEKANECZ, Z. (2009). Origine génétique de la spondylarthrite ankylosante. *Revue du Rhumatisme*, 76, 1278-1283.
- VEGVARI, A. S., Z. SZANTO, S. GLANT, T. T. MIKECZ, K. SZEKANECZ, Z. (2009). The genetic background of ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine*, 76, 623-8.
- VOJVODIĆ, S., ADEMOVIĆ-SAZDANIĆ, D. & BUSARČEVIĆ (2012). Human Leuk Antigen-B27 and Disease Susceptibility in Vojvodina, Serbia. *Balkan Journ Medical Genetics : BJMG*, 15, 55-60.
- WANG, C. M., HO, H. H., CHANG, S. W., WU, Y. J., LIN, J. C., CHANG, P. Y., . . . CHEN, J. Y. (2012). ERAP1 genetic variations associated with HLA-B27 interaction and disease severity of syndesmophytes formation in Taiwanese ankylosing spondylitis. *Arthritis Res Ther*, 14, R125.
- WENDLING, D., PRATI, C., TOUSSIROU, É. & ORNETTI, P. (2010). Spondylarthrite, spondylarthropathies : critères de diagnostic et de classification. *Revue du Rhumatisme Monographies*, 77, 43-47.
- ZHAO, S., DUFFIELD, S. J., MOOTS, R. J. & GOODSON, N. J. (2014). Systematic review of association between vitamin D levels and susceptibility and disease activity of ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford)*, 53, 1595-603.

Annexes

Annexe N°1

Critères de classification de la spondylarthrite ankylosante : critères de New York modifiés.

Critères cliniques

Lombalgies avec raideur de plus de trois mois, améliorées à l'effort, mais ne cédant pas au repos

Limitation des mouvements du rachis lombaire à la fois dans le plan frontal et sagittal

Limitation de l'ampliation thoracique par rapport aux valeurs normales corrigées pour l'âge et le sexe

Critère radiologique

Sacro-iliite radiologique :

bilatérale de grade ≥ 2 OU unilatérale de grade 3 ou 4

Diagnostic

SPA définie : critère radiologique + au moins un critère clinique

SPA probable :

Présence des trois critères cliniques

Ou critère radiologique sans aucun de ces critères cliniques

Annexe N°2

Matériels labo :

- Plaque à PCR 96 puits.
- Tube 15 ml pour extraction.
- Eppendorf.
- Micropipettes (P20, P100, P200, P1000) et pointes adaptées (embouts jaune, bleu...).
- Pipette pasteur.
- Pipette crémaillère.

Appareillage :

- Centrifugeuse (à tubes, à Eppendorf, à plaque PCR).
- Bain-marie à 55°C ou 37°C.
- Réfrigérateur (+4°C, -20°C, - 80°C).
- L'appareil ABI 7500 (Applied Biosystems) couplé à un ordinateur.
- Nanodrop.
- Vortex.