

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة سعد دحلب البليدة 1
Université SAAD DAHLEB-Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : Sciences Biologiques

Option : génétique.

Thème

Méthode d'étude génétique en pathologie humains exemple : polyarthrite rhumatoïde

Présenté par :

ELKHAD Warda

DAOUADJI Maroua

Devant le jury :

NOM :	Garde	Qualité
Mme MOHAMED MAHMOUD	MCA	Président
Mme GUSSAIBIA. N	MCA/USDB1	Examinateuse
Mr BOUDJELLA.M.	MCA	Promoteur
Mme BENAOUUM.	MCB	Co-promoteur

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué à la Réalisation de cette thèse.

Nous remercions tout particulièrement le Professeur BOUDJELLA MOHAMED L notre Directeur de thèse, pour son encadrement attentif, sa présence constante et ses Précieux conseils tout au long de ce travail. Ses conseils généreux et son vaste Expérience ont grandement enrichi notre réflexion et ont été essentiels à notre Réussite.

Nous adressons également nos sincères remerciements au Mme MOUHAMED MAHMOUD .

Présidente du jury, pour son intérêt pour notre travail et ses commentaires constructifs.

Nous remercions également Mme GUSSAIBIA N, notre examinatrice, pour son Regard critique et ses commentaires judicieux, ainsi Mme BENAOUN. Pour Sa présence et sa contribution à évaluation de cette thèse.

Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à nos familles et à nos proches, Ainsi à tous ceux qui nous ont soutenus moralement et intellectuellement tout au Long de ce processus.

Le travail d'équipe nous a permis de partager cette expérience avec honnêteté et Solidarité. Ce travail commun continuera d'être une étape importante et fructueuse de Notre parcours académique.

Merci à tous ...

Dédicaces

À ceux qui, après Dieu, ont contribué à tout ce que j'ai accompli...

À ma mère bien-aimée, qui ma élevée, a veillé à mon confort et ma comblée de ses prières et de son amour constant.

À mes parents, qui m'ont donné naissance, qui ont été la raison de mon existence et qui ont travaillé dur pour que ma vie soit belle.

À ma chère sœur, Anissa, qui a été comme une seconde mère pour moi, une compagne et une amie infatigable, dont la gentillesse, l'Amour, le soutien et la compassion ont été ma seconde mère dans les moments difficiles.

À ma chère sœur, Salima, dont les paroles encourageantes et bienveillantes ont été une source de compassion et de soutien à chaque étape. Et à Nadia, qui a toujours été proche de mon cœur et dont la présence bienveillante était inestimable.

Je dédie également ce témoignage à mes chères sœurs, Massouda et Hayat, qui ont été une lumière sur mon chemin. Je n'oublierai jamais mes frères, qui ont été mon plus grand et plus précieux soutien, et dont les encouragements et les nobles efforts ont profondément marqué mon parcours jusqu'à ce jour. Je dédie également ce certificat à toute ma famille et à mes amis, ainsi qu'à ma binôme Marwa, qui ma accompagnée dans la préparation de cette thèse, qui a partagé mes efforts et mes difficultés, et qui a partagé ce rêve avec moi, étape par étape.

Je vous exprime ma sincère gratitude et ma reconnaissance pour votre noble esprit et votre patience tout au long de ce parcours, Marwa.

À vous tous, je dédie le fruit d'années de travail acharné, de dévouement et de sincérité.

Grâce à vos encouragements, j'ai fait mes premiers pas vers mon rêve, et grâce à votre amour, j'ai fait mes premiers pas vers la réussite.



WARDA

Dédicaces

À Dieu, Pour Sa grâce, Sa force et Sa protection tout au long de ce chemin.

À ma chère maman, Pour ton amour, tes sacrifices et tes prières qui m'ont portée jusqu'ici.

À la mémoire de mon papa,

Tu n'es plus là pour voir ce jour, mais je ressens ta présence à chaque instant. Ton souvenir m'a guidée comme une étoile dans mes moments d'incertitude. Que ce travail soit un hommage à ta sagesse et à l'amour que tu m'as transmis.

À mon frère Oussama,

Merci pour ton soutien discret, ta présence rassurante et tes encouragements, même dans mes moments de doute.

À Tatline,

Petite étoile qui illumine nos journées par sa joie et son innocence.

À ma sœur Safa et son mari M'Hamed, Pour votre tendresse et vos encouragements réconfortants.

À ma tante maternelle Houria, Pour ton amour et tes prières précieuses.

À mes cousins Mouhamed et Rayan, Pour vos sourires et votre joie de vivre.

À ma cousine Wissal, Pour ta complicité et ton écoute

À Bilal, Pour ton aide précieux et ton soutien sincère.

À mon binôme Warda,

Merci pour ton engagement, ton énergie et cette belle complémentarité qui ont enrichi cette aventure commune. Ensemble, nous avons surmonté les défis et donné le meilleur de nous-mêmes.

À tous mes amis surtout Chourouk, Youssra, Sarah, Aya et Ikram et à toute ma famille,

Merci pour vos encouragements et votre amour



Maroua

Résumé :

La polyarthrite rhumatoïde est un rhumatisme inflammatoire chronique de la membrane synoviale. C'est une maladie multifactorielle principalement auto-immune, touchant environ 0.5 à 1 % de la population générale. Notre étude a pour but de rechercher les différentes techniques utilisées dans le diagnostic génétique de la polyarthrite rhumatoïde, dans le but d'évaluer leur sensibilité, leur spécificité, ainsi que leur pertinence clinique dans la détection des prédispositions génétiques à la maladie. Et établir un profil sérologique et inflammatoire des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde en analysant les biomarqueurs classiques.

Les allèles HLA-DRB1 ont été déterminés chez 40 patients atteints de PR et chez 90 sujets témoins, à l'aide d'une méthode de biologie moléculaire utilisant des amorces spécifiques d'allèles ou de groupe d'allèles (PCR-SSP).

Les fréquences respectives des allèles HLA-DRB1*04 et *01 étaient significativement plus élevées chez nos patients par rapport aux témoins ($p < 0,005$; $p < 0,01$). Chez les patients, il y a une augmentation significative des allèles HLA-DRB1 contenant l'épitope partagé et une nette prédominance d'« homozygotes» ($p < 0,005$) ce qui est associé au développement de formes sévères de la maladie. Il n'y a pas une association entre la présence de l'épitope partagé et la production des auto-anticorps.

L'étude génétique pourrait jouer un rôle important dans la détermination précoce de la sévérité de la PR et donc sa prise en charge thérapeutique. Actuellement, la recherche des allèles du SE ne constitue, en aucun cas, un test génétique de la PR à l'échelon individuel.

Les mots clés : Polyarthrite Rhumatoïde; auto-immune; HLADRB1,PCR-SSP

Abstract:

Rheumatoid arthritis is a chronic inflammatory rheumatism of the synovial membrane. It is a multifactorial disease with autoimmune consequences, affecting approximately 0.5 to 1% of the general population. Our study aims to research the different techniques used in the genetic diagnosis of rheumatoid arthritis, in order to evaluate their sensitivity, specificity, as well as their clinical relevance in the detection of genetic predisposition to the disease. And to establish a serological and inflammatory profile of patients with rheumatoid arthritis by analyzing classic biomarkers.

HLA-DRB1 alleles were determined in 40 patients with RA and 90 control subjects using a molecular biology method using allele-specific or allele-group-specific primers (PCR-SSP).

The respective frequencies of HLA-DRB1*04 and *01 alleles were significantly higher in our patients compared to controls ($p < 0.005$; $p < 0.01$). In patients, there was a significant increase in HLA-DRB1 alleles containing the shared epitope and a clear predominance of homozygotes ($p < 0.005$), which is associated with the development of severe forms of the disease. No association was found between the presence of the shared epitope and the production of autoantibodies.

Genetic testing could play an important role in early determination of RA severity and, therefore, in its therapeutic management. Currently, screening for ES alleles does not constitute a genetic test for RA at the individual level.

Key words: Rheumatoid arthritis; autoimmune; HLADRB1 , PCR-SSP

ملخص

التهاب المفاصل الروماتويدي هو مرض روماتيزمي التهابي مزمن يصيب الغشاء الزليلي. وهو مرض متعدد العوامل ذو عواقب مناعية ذاتية، يصيب ما يقارب 0.5% إلى 1% من عامة السكان. تهدف دراستنا إلى دراسة مختلف التقنيات المستخدمة في التشخيص الجيني لالتهاب المفاصل الروماتويدي، بهدف تقييم حساسيتها وخصوصيتها وأهميتها السريرية في الكشف عن الاستعداد الوراثي للإصابة بالمرض. كما نحدد ملأً مصلياً والتهابياً لمرضى التهاب المفاصل الروماتويدي من خلال تحليل المؤشرات الحيوية

المرضى والطرق: حددت أليلات HLA-DRB1 لدى 40 مريضاً مصاباً بالتهاب المفاصل الروماتويدي و90 فرداً من المجموعة الضابطة باستخدام طريقة البيولوجيا الجزيئية باستخدام بادئات خاصة بالأليل أو مجموعة أليلات (PCR-SSP).

كانت ترددات أليلات HLA-DRB1*04 و*01 أعلى بشكل ملحوظ لدى مرضاناً مقارنةً بالمجموعة الضابطة ($p < 0.005$)؛ لوحظ لدى المرضى زيادة ملحوظة في أليلات HLA-DRB1 التي تحتوي على النمط الجيني المشترك، وهيمنة واضحة للزيجوت المتماثل ($p < 0.005$)، وهو ما يرتبط بتطور الأشكال الحادة من المرض. ولم يُعثر على أي ارتباط بين وجود النمط الجيني المشترك وإنما الأجسام المضادة الذاتية

قد يلعب الفحص الجيني دوراً هاماً في التحديد المبكر لشدة التهاب المفاصل الروماتويدي، وبالتالي في إدارته العلاجية. حالياً، لا يُعد فحص أليلات ES اختباراً جينياً لالتهاب المفاصل الروماتويدي على المستوى الفردي.

التهاب المفاصل الروماتويدي؛ المناعة الذاتية؛ مستضد الكريات البيضاء البشرية (HLA-DRB1).

GLOSSAIRE :

Arthralgie inflammatoire : douleur articulaire causée par une inflammation , souvent présente au repos et la nuit , qui s'améliore avec le mouvement .

Ténosynovite : est une inflammation de la gaine synoviale qui entoure un tendon . elle peut affecter n'importe quel tendon du corps , mais elle touche le plus souvent les poignets , les mains , les pieds et les chevilles .

Arthropathie : le terme arthropathie désigne toute affection ou maladie d'une articulation . c'est un terme générique qui englobe de nombreuses pathologies articulaires , inflammatoires , dégénératives , infectieuses , ou mécaniques .

Déviation cubitale : c'est une déformation des articulations des doigts , qui fait que les doigts s'inclinent vers l'extérieur de la main , du coté de l'ulna (os de l'avant – bras situé du coté du petit doigt) .

Liste des abréviations :

ACCP : Anticorps anti-peptide cyclique citrulliné
AINS :Anti-inflammatoire non stéroïdien
ACR : American college of Rheumatology
BCR :B-Cell Receptor (ou récepteur des lymphocytes B)
CCP : protéine cyclique citrullinée
CMH : complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPA :cellule présentatrice d'Antigène
CRP : protéine C réactive
EULAR : European league Against Rheumatism
FR : Facteur rhumatoïde
HLA : Human Leucocyte Antigen
IL : Interleukine
Ig : Immunoglobuline
MAI : Maladie auto immune
MCP : Métacarpophalangienne
MMPs :Métalloprotéinases
NFS : Formule de numération sanguine
OMS : Organisation mondiale de la santé
PAD : peptidylarginine deiminase
PCR : Polymerase chain reaction
PR : polyarthrite rhumatoïde
TH : T helper
TNF α : tumor necrosis facteur α
T reg : T régulateur

Liste des Tableaux

<i>Tableau 1: Les différant manifestation extra articulaire</i>	9
<i>Tableau 2: Le rôle des différentes LT helpers (Th).....</i>	15
<i>Tableau 3: Répartition des fréquences phénotypiques (FP) chez les patients et témoins.</i>	46
<i>Tableau 4: Répartition des fréquences alléliques chez patients et témoins</i>	47
<i>Tableau 5: Répartition des allèles HLA-DRB1*SE+ chez les patient et témoin</i>	48
<i>Tableau 6: Association des allèles de l'EP et la production des FR dans différents études. ..</i>	51

Liste des Figures

<i>Figure 1: Déformation de la main en (coup de vent).....</i>	6
<i>Figure 2: Différentes atteintes dites en griffes des orteils (la clinique du pied 2011).....</i>	7
<i>Figure 3: Différents phases de la physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde.....</i>	12
<i>Figure 4: Signaux nécessaires à l'activation des LT CD4+ par les CD.....</i>	13
<i>Figure 5: Répartition de patient atteint de PR selon les résultats de la VS.....</i>	43
<i>Figure 6: Répartition de patient atteint de PR selon les résultats de la CRP.....</i>	43
<i>Figure 7: Répartition et des témoins selon les résultats des facteur rhumatoïdes.</i>	44
<i>Figure 8: Répartition des patients et témoins selon les résultats des ACCP.....</i>	45
<i>Figure 9: Répartition des fréquences phénotypiques chez patients et témoins.....</i>	46
<i>Figure 10: Fréquences des allèles HLA-DRB1 chez patients et témoins</i>	47
<i>Figure 11: Répartition des allèles de l'EP chez les patients et les témoins.....</i>	48
<i>Figure 12: Répartition des allèles de l'EP selon la présence des FR.....</i>	50
<i>Figure 13: Répartition des allèles de l'EP selon la présence des ACCP</i>	50

Table de matière

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction **1**

Synthèses Bibliographiques

Synthèses bibliographiques	3
1.1 Historique de la polyarthrite rhumatoïde :	4
1.2 Définition de la polyarthrite rhumatoïde :	4
1.3 Epidémiologie :	5
1.4 Aspect clinique de la (PR) :.....	5
1.4.1 Manifestation articulaire :	6
1.4.2 Manifestation extra articulaire :	9
1.5 Etiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde :.....	9
1.5.1 Facteurs génétique :.....	9
1.5.2 Facteurs hormonaux :.....	10
1.5.3 Facteurs immunitaires :	10
1.5.4 Facteurs environnementaux :	10
1.6 Physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde :	11
1.6.1 La phase d'initiation :.....	12
1.6.2 La phase de recrutement et d'inflammation :	14
1.6.3 Propagation synoviale et de destruction articulaire :	17
1.6.4 L'étape de réparation de l'articulaire :	18
1.7 Diagnostic précoce de la polyarthrite rhumatoïde :	18
1.10 Types de variations génétiques associées à la PR :	20
1.10.1 Mutations rares :	20
1.10.2 SNPs (single nucléotide polymorphismes) :	21
1.10.3 CNVs (copy number variations) :	21
1.11 Méthode d'étude génétique :	21
1.11.1 Etudes de liaison génétique (linkage analysis) :.....	21

1.11.2 Etude d'association candidat gene :	22
1.11.3 Etudes d'association pangénomique (GWAS-Genome-Wide Association Studies) : ..	23
1.11.4 Séquençage de nouvelle génération (NGS).....	23
1.12 Gènes de susceptibilité :.....	24
1.12.1 Gène HLA – DRB1 :.....	25
1.12.2 Gène non – HLA :	25

Objectif

Objectif.....	27
Matériel et Méthodes.....	29
3.1 Matériel :	29
3.1.1 Le matériel biologique :	29
3.2 Méthodes :	30
3.2.1 Prélèvements biologiques :.....	30
3.2.2 Profile sérologiques et inflammatoire :	30
3.2.3 Bilan immunologique :.....	35
3.2.4 Typage HLA :.....	37

Résultats et Discusions

4.1 Bilan inflammatoire :	43
4.2 Bilan d'auto- immunité :	44
4.3 Typage HLA :.....	45
4.3.1 Les allèles HLA-DRB1 et la susceptibilité à la PR :.....	45
4.3.2 Epitope partagé et la susceptibilité à la PR :	48
4.3.3 Epitope partagé et la production des auto-anticorps (ACCP et FR)	50

Conclusion

Références Bibliographiques

Annexe

INTRODUCTION

Introduction

La compréhension des maladies humaines a considérablement évolué grâce aux avancées dans le domaine de la génétique. Les maladies multifactorielles, telles que le diabète de type 2, la sclérose en plaques ou la polyarthrite rhumatoïde (PR), résultent d'interactions complexes entre des facteurs génétiques et environnementaux (Visscher et al. 2017).

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie auto-immune inflammatoire chronique qui affecte principalement les articulations périphériques. Elle touche autour de 0,3 % à 1 % des gens dans le monde avec plus de cas dans les pays riches en particulier en Europe de l'ouest et Amérique du nord.

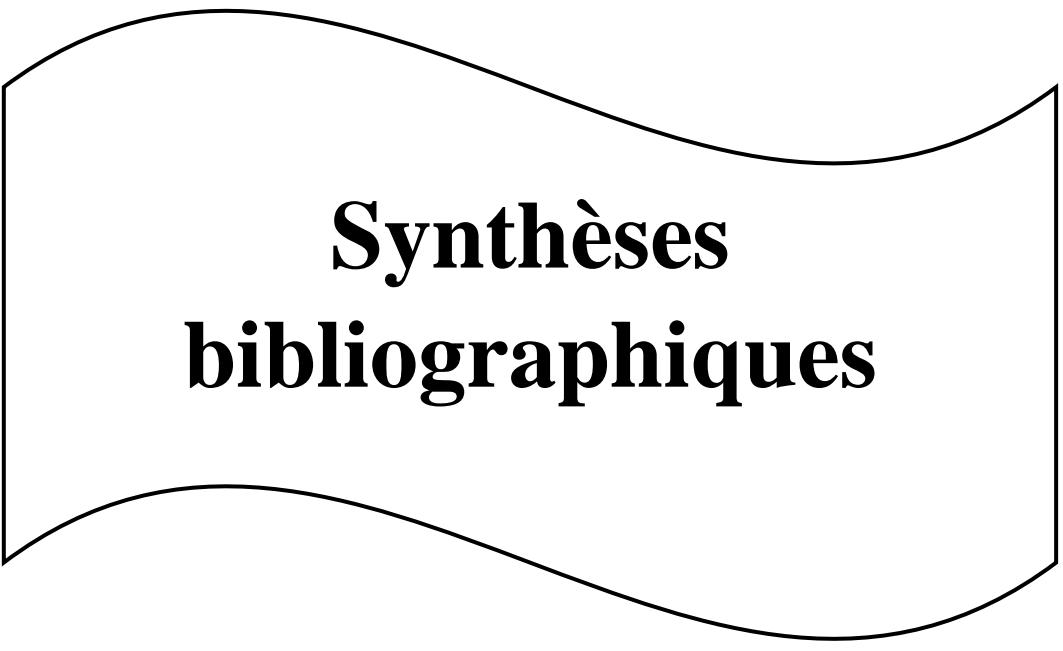
Sur le plan physiopathologique, la (PR) est caractérisée par une inflammation persistante de la membrane synoviale, conduisant à une destruction progressive du cartilage et de l'os. Plusieurs études ont confirmé que les facteurs génétiques contribuent largement à la (PR) dans la population, représentant environ 60 % de la variation de la prédisposition à la maladie (MacGregor et al. 2000).

L'étude de la génétique de la (PR) a permis l'identification de nombreux loci de susceptibilité, notamment dans le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), en particulier l'allèle HLA-DRB1, identifié comme un facteur de risque majeur, notamment chez les patients positifs pour les auto anticorps anti -CCP (Gregersen et al., 1987). L'émergence de technologies telles que les études d'association pangénomiques (GWAS) ont permis d'identifier plus de 100 loci associés à la susceptibilité à la (PR), impliquant des gènes régulant les réponses immunitaires adaptatives et innées tels que PTPN22, STAT4, TNFAIP3 ou TRAF1/C5(Okada et al., 2014).

Les méthodes utilisées pour découvrir ces loci ont considérablement évolué. Bien que les premières études d'association familiale étaient importantes, elles présentaient des limites liées à leur précision dans les maladies complexes. Les études d'association du génome entier (GWAS) ont marqué un véritable tournant, car les progrès des puces à ADN et de la cartographie du génome humain ont permis d'étudier des centaines de milliers de polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) dans de larges cohortes de cas et de témoins (Visscher et al., 2012). Plus récemment, les technologies de séquençage à haut débit (NGS) et les approches intégratives connues sous le nom de génomique multiple ont contribué à une meilleure compréhension des interactions entre les gènes, les réseaux moléculaires et les environnements cellulaires (Zhernakova et al., 2016).

Introduction

Ce mémoire a pour objectif l'étude les différentes techniques utilisées dans le diagnostic génétique de la polyarthrite rhumatoïde, dans le but d'évaluer leur sensibilité, leur spécificité, ainsi que leur pertinence clinique dans la détection des prédispositions génétiques à la maladie. Et établir un profil sérologique et inflammatoire des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde en analysant les biomarqueurs classiques.



Synthèses bibliographiques

1.1 Historique de la polyarthrite rhumatoïde :

L'histoire de l'arthrite reste inconnue. Augustin Landry-Bouvet fut le premier à décrire l'arthrite en 1800, mais cette maladie resta inconnue jusqu'à présent. Jean Martin consacre sa thèse à la polyarthrite rhumatoïde en 1853, détaillant ses symptômes (lésions et déformations). Mais il a également commis une erreur en confondant la polyarthrite rhumatoïde avec le rhumatisme dégénératif. 1859 Alfred Baring Garrod, Il Donne le nom *rheumatoid arthritis*, distinction avec la goutte. C'est la naissance du Terme (Pineda, Carlos A .2022). Jacques Forestier a découvert les sels d'or comme traitement de la polyarthrite rhumatoïde. Il a publié ses résultats dans des revues de langue anglaise pour assurer leur large diffusion. C'est le seul traitement depuis 20 ans. Mais E. Waaler (1940) a fait une autre avancée en découvrant le facteur d'agglutination dans le sérum de patients atteints de polyarthrite. Ce qui a conduit à la découverte du « facteur rhumatoïde » et au concept d'auto-immunité. Avec la découverte de la cortisone et de ses dérivés, de grands progrès ont été réalisés dans le traitement. Les années 1950 voient l'émergence des traitements de base. Les composés connus pour leur activité sur la réponse immunitaire sont utilisés depuis l'émergence du concept d'auto-immunité. Les années 1980 ont vu l'avènement du méthotrexate à faible dose hebdomadaire, qui est devenu le traitement à long terme le plus efficace et le mieux toléré à ce jour (Kahn, M.F. 2009).

1.2 Définition de la polyarthrite rhumatoïde :

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une affection inflammatoire et auto-immune chronique qui cause une inflammation répandue et se manifeste couramment par des douleurs articulaires. Elle est caractérisée par une synovite inflammatoire, une destruction articulaire, une atrophie musculaire et une détérioration des os.

La polyarthrite rhumatoïde peut provoquer des problèmes cardiaques, pulmonaires ou du système nerveux. La PR atteint 0,5 à 1% de la population mondiale (Venetesanopoulou et al ., 2023) et peut survenir à tout âge mais on l'observe surtout entre 40 et 70 ans (Atouf et al .,2008) , À cet âge, la prédominance féminine est très prononcée avec une sex-ratio de 3 femmes pour 1 homme, Comme beaucoup de maladies auto-immunes, c'est une maladie multifactorielle relevant de facteurs immunologiques, psychologiques, endocriniens, environnementaux, et génétiques. Ces derniers ne représentent que 30 % des facteurs favorisant la polyarthrite rhumatoïde et surtout une association avec les gènes HLA qui sont

Synthèses bibliographiques

impliqués dans la présentation antigénique (Firestein, G. S., & McInnes, I. B. 2017) (figure 1).

1.3 Epidémiologie :

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est la maladie rhumatismale inflammatoire chronique la plus fréquente chez l'adulte. Elle touche autour de 0,3 % à 1 % des gens dans le monde avec plus de cas dans les pays riches en particulier en Europe de l'ouest et Amérique du nord. En 2020 il y avait environ 17,6 millions qui avaient cette maladie cela fait 12% d'augmentation depuis 1990(GBD,2021).

La maladie touche plus souvent les femmes avec ratio de prévalence femme/homme d'environ 2.45 :1 et atteint son pic de prévalence durant période 75-79 ans (GBD2021).

La maladie commence souvent entre 40-60 ans mais peut aussi affecter jeunes gens spécialement dans cas de PR juvénile. En 2020, la polyarthrite rhumatoïde à entraîner à peu près 38 300 décès dans le monde, bien que le taux de mortalité ait baissé de 23,8% depuis 1990, parce qu'il y a eu des avancées soin et diagnostic (GBD2021).

En Algérie, l'incidence de la maladie n'a pas été clairement établie à cause du manque d'information et du diagnostic établi tardivement. Une étude menée à Guelma à révéler que la polyarthrite rhumatoïde (PR) touche principalement les femmes âgées, représentant 94% des cas.

En Italie , la prévalence de l'artrite rhumatoïde en Italie est estimée à environ 0 ,7% de la population adulte . ce taux correspond à plus de 400 000 personnes souffrant de la maladie .

L'incidence annuelle est d'environ 6 nouveaux cas pour 10 000 personnes / an .

Le rapport femme / hommes est élevé : la maladie touche les femmes 3 à 5 fois plus que les hommes (Rossini ,M .,et al . 2014) .

1.4 Aspect clinique de la (PR) :

La polyarthrite rhumatoïde présente une hétérogénéité clinique importante. La phase d'initiation peut durer de quelques mois à quelques années avant d'entrer dans la phase de statut. L'apparition, les caractéristiques et l'évolution de la maladie varient d'un patient à l'autre. La présentation clinique initiale varie, mais l'arthralgie inflammatoire est fréquente, ainsi que la raideur articulaire. La maladie se propage progressivement, affectant principalement les articulations des mains et des pieds. La ténosynovite est caractéristique de

ce diagnostic. Ce stade est caractérisé par une arthropathie caractéristique, bilatérale et symétrique avec déformation et destruction articulaire (Wilfried, 2014)

1.4.1 Manifestation articulaire :

Manifestations articulaires et déformation au niveau des mains, pieds, poignets

Les mains :

Déviation cubitale des doigts :

Cette altération, aussi appelée déviation « en coup de vent ». Elle se définit par une déviation vers le bord cubital de l'ensemble des doigts excepté du pouce. Elle atteint principalement la main dominante du patient et elle est induite par l'inflammation des articulations métacarpo-phalangiennes (MCP) des doigts (Wilfried, 2014) (figure 2).

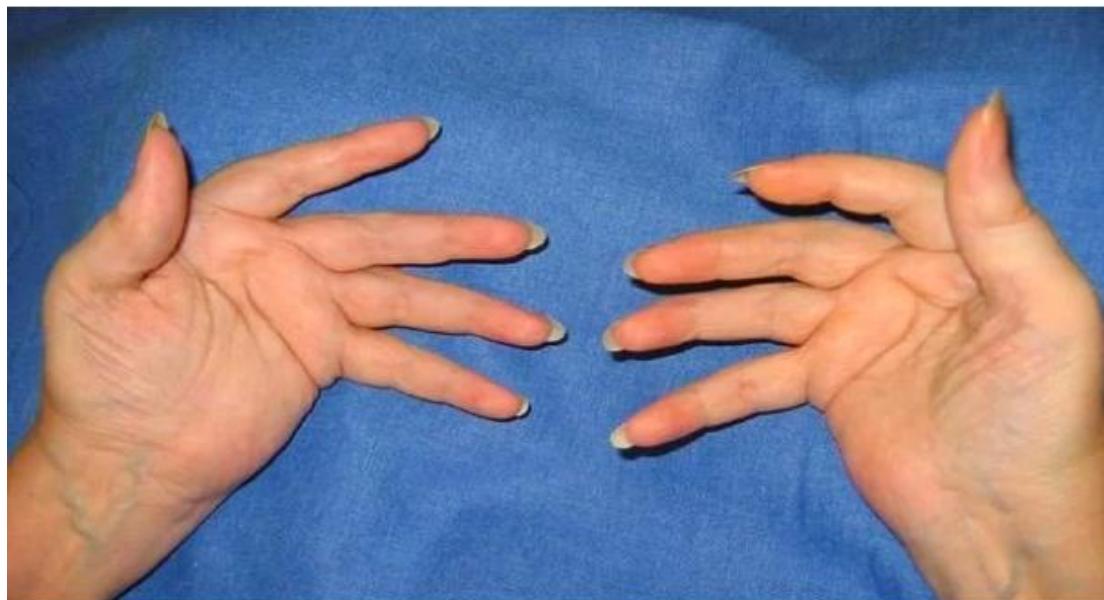


Figure 1: Déformation de la main en (coup de vent) (Wilfried, 2014).

Autre déformation des doigts :

Déformation en col de cygne :

Altérant principalement l'index et le majeur, cette déformation : elle est moins fréquente mais bien plus sévère.

Déformation boutonnière :

Synthèses bibliographiques

Il est situé Dans la plupart des cas de polyarthrite rhumatoïde (36 à 60 %), les cinquième et quatrièmes doigts sont les plus touchés par l'hyperextension de l'articulation interphalangienne distale et la flexion de l'articulation proximale.

Déformation du pouce :

Près de 59 % des patients y souffrent de : Pouce en « Z » et « pouce adducteur »

Le « pouce en Z » se développe en hyperextension :

Articulation interphalangienne et articulation métacarpo-phalangienne fléchisseur .

« Pouce adducteur » :

La déformation survient à la suite d'un défaut d'extension et d'abduction du pouce.

LES PIEDS :

Déformation des orteils en griffe :

Synovite des articulations entre les os métatarsiens et Les phalanges disloquées provoquent des douleurs dans les orteils. Cette déformation provoque un avant-pied plat dans lequel des callosités se développent sous les os métatarsiens, ce qui entraîne une altération de la marche (figure 7).

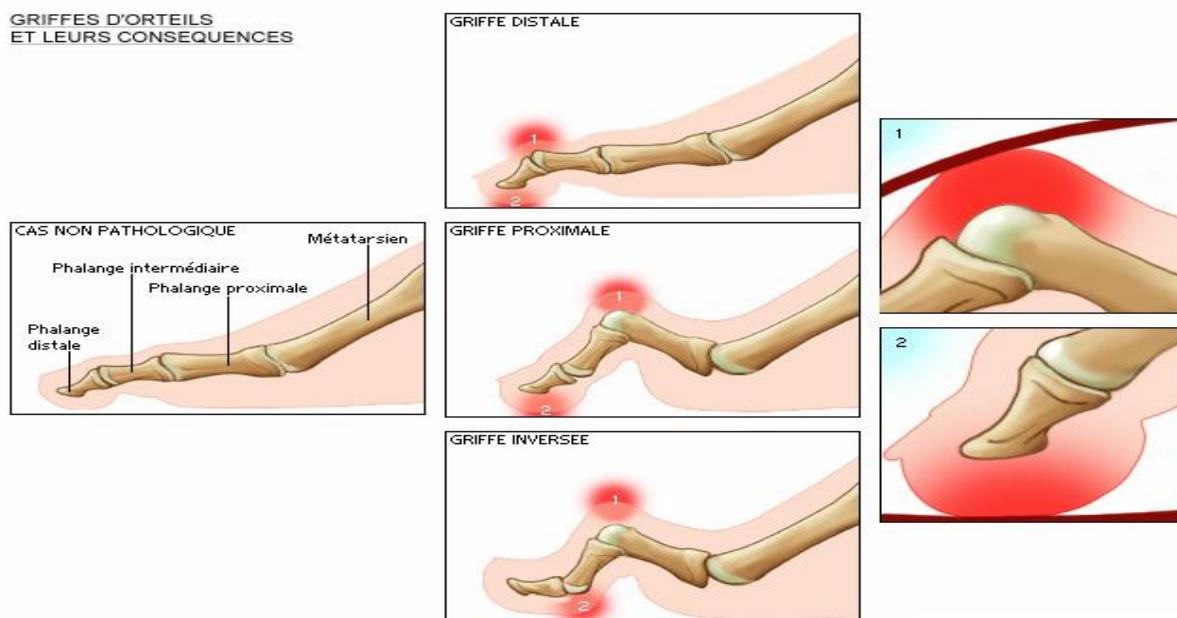


Figure 2: Différentes atteintes dites en griffes des orteils (la clinique du pied 2011).

Les poignets :

Déformation radio-cubitale : Elle est définie comme une luxation dorsale de la tête ulnaire, également connue sous le nom de « Touches de piano ». Ce changement est fréquent et commence relativement tôt en relations publiques. Cela peut également provoquer un gonflement des poignets.

Déformation radio _carpienne :

La déformation du poignet est causée par une luxation des os du carpe. Gonflement dans la synovite et la MCP. L'attaque était également connue sous le nom de Blessure à la « bosse », très douloureuse en se penchant et en étendant. Une installation précoce peut éviter cela .

Autres atteintes articulaires :

Épaules :

Les épaules sont touchées au niveau de l'articulation entre l'omoplate et l'humérus. Chez de nombreuses personnes touchées. Ces dommages entraînent une réduction douloureuse de l'amplitude des mouvements, ce qui provoque une raideur des épaules et des douleurs chroniques au dos (Wilfried ,2014).

Rachis cervicaux :

Principales complications Cette blessure est une luxation de l'articulation, qui peut entraîner une compression de la moelle épinière. Une intervention chirurgicale est nécessaire. Les symptômes les plus courants sont des douleurs dans la partie supérieure du cou(wilfried,2014).

Les hanches :

Dans les stades avancés de l'arthrite environ 15% des patients, on observe les hanches sont touchées, ce qui est très rare, et une intervention chirurgicale est nécessaire, (Sritharan-Mancilla Serra, 2024).

Tendinite dans la polyarthrite rhumatoïde (PR) :

La ténosynovite est un symptôme courant dans les premiers stades de la polyarthrite rhumatoïde. La ténosynovite se produit parce que le tissu synovial ressemble au tissu entourant le tendon, provoquant une réponse inflammatoire similaire. L'inflammation se

Synthèses bibliographiques

produit généralement au niveau des mains, des pieds et des chevilles. Cela entraînera quelques problèmes. Cette complication survient à la suite d'une rupture spontanée du tendon, dans environ 25 % des cas, principalement due à un frottement avec érosion osseuse. (Wilfried, 2014).

1.4.2 Manifestation extra articulaire :

Tableau 1: Les différant manifestation extra articulaire (Wilfried, 2014).

Système	Manifestation
Général	Fatigue, fièvre, amaigrissement, asthénie
Cutané	Nodule rhumatoïde : sous cutanés 10 à 30 %
Oculaire	Syndrome de Gougerot – Sjögren : 21% Sclérite ou épisclérite : 2 à 5%
Pulmonaire	Pleurésie : 2 à 4% Fibrose interstitielle diffuse : 1 à 2%
Cardiaque	Péricardite : 2 à 10 % Lésions valvulaire spécifiques : 3% Trouble de la conduction
Neurologiques	Névrite d'origine ischémique : 1% Neuropathie par compression juxta – articulaire ou cervicale .
Rénale	Amylose 5%

1.5 Etiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde :

1.5.1 Facteur génétique :

Les études portant sur les jumeaux confirment la présence de facteurs génétiques prédisposants à la survenue de La PR. On retrouve en effet 15 à 30 % de PR chez les jumeaux monozygotes contre 5% parmi les jumeaux dizygotes Les facteurs génétiques jouent un rôle important dans la susceptibilité à la PR. (Dumontet, E., & Bigot-Corbel, E.2012).

Synthèses bibliographiques

HLA-DRB1: Le gène HLA-DRB1 est situé sur le chromosome 6 p21.3 et code une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II) essentielle à la présentation de l'antigène aux lymphocytes T CD4+. Certains allèles de ce gène (par exemple, HLA-DRB1, 04 :01, 04 :04, 04 :05, 01 :01) partagent une séquence appelée «épitope partagé», comme QKRAA, QRRAA ou RRAAA : Glutamine-Lysine-Arginine-Alanine-Alani, qui favorise la présentation de peptides citrullinés, induisant ainsi des réponses auto-immunes [Gregson et al, 1987] (.Firestein, G. S.2003).

Autres gènes : Les polymorphismes d'autres gènes (par exemple, PTPN22, STAT4, CTLA4, TRAF1/C5, PADI4) peuvent également affecter le risque de PR en modulant les réponses immunitaires ou l'inflammation, mais leurs effets sont généralement plus faibles que ceux de HLA-DRB1 [Raychaudhuri, 2010].

1.5.2 Facteurs hormonaux :

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie auto-immune plus courante chez les femmes, avec un ratio de 2 :1 à 3 :1. Des facteurs hormonaux comme la gravité et la phase post-accouchement peuvent toucher la sévérité de la maladie. L'œstrogène peut agir sur la production d'IFN- γ et de cellules synoviales du type fibroblastique, ce qui souligne un rôle possible des hormones dans le genre de la pathologie (Dr Bilal Bengana, 2014).

1.5.3 Facteurs immunitaires :

La PR est une maladie auto-immune dans laquelle plusieurs composants du système immunitaire deviennent dérégulés.

Autoanticorps : Le facteur rhumatoïde (FR) et les anticorps anti-peptides citrullinés (ACPA) sont les principaux autoanticorps associés à la PR. Ils précèdent souvent les symptômes cliniques et sont impliqués dans la formation de complexes immuns pro-inflammatoires [Nishimura et al., 2007].

Lymphocytes T CD4+ : Ces cellules sont activées par les cellules présentatrices d'antigènes et produisent des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-17, IFN- γ), qui favorisent l'inflammation et la destruction des articulations [McInnes et Schett, 2011].

Cytokines : TNF- α , IL-1, IL-6 et IL-17 sont les principales cytokines impliquées. Ils activent les ostéoclastes (dégradation osseuse) et les métalloprotéinases (dégradation du cartilage), jouant un rôle central dans la progression des lésions articulaires. (.Firestein, G. S. (2003)

1.5.4 Facteurs environnementaux :

Les facteurs environnementaux peuvent être des facteurs prédisposants pour les individus présentant une susceptibilité génétique.

Tabagisme : une méta-analyse montre que le tabagisme est plus courant chez les patients atteints de PR. Il a été démontré que fumer augmente le risque de PR. Fumer 25 cigarettes ou plus par jour pendant plus de 20 ans. Ce risque semble être le résultat d'une interaction entre les gènes et l'environnement.

Corrélation entre le tabac et les épi allèles partagés HLA-DRB1. La production de topé (SE) et de peptides anticycliques citrullinés est élevée. Enfin, l'association entre les antécédents de tabagisme et la présence d'allèles SE HLA-DRB1 double brin augmentent le risque de développer une PR et de décès prématuré, notamment maladies cardiovasculaires.

Infection : Certaines infections bactériennes ou virales peuvent agir comme déclencheurs en modifiant les protéines de l'hôte (via la citrullination) et en stimulant les réponses auto-immunes [Scher et Abramson, 2011].

Stress et hormones : Le stress chronique et les changements hormonaux (par exemple, la grossesse, la ménopause) sont également suspectés d'influencer le développement ou l'aggravation de la PR, bien que les mécanismes exacts restent à élucider.

1.6 Physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde :

La physiopathologie de la PR implique une réponse immunitaire anormale, s'attaquant aux tissus articulaires, en particulier à la membrane synoviale qui entoure l'articulation. Ce processus est complexe et résulte de l'interaction entre des facteurs génétiques, environnementaux et immunologiques. et Modification des protéines par la citrullination

- **Citrullination :**

Un processus physiologique se produit dans divers tissus du corps appelé citrullination, qui peut conduire à l'arthrite. La citrullination est une réaction enzymatique catalysée par les enzymes peptidyl arginine désaminase (PAD). Cela entraîne la conversion des résidus d'arginine dans les protéines en résidus de citrulline, modifiant ainsi leur structure. Quant à la citrulline Un rôle important dans la stimulation de la réponse auto-immune. Que les protéines citrullinées présentes dans les articulations (comme le collagène et la fibrine) sont reconnues à tort comme étrangères par le système immunitaire, provoquant

une réaction auto-immune. Cette réponse incorrecte conduit à une inflammation chronique et à une destruction progressive du tissu articulaire (Wilfried , 2014).

- Mécanisme immuno-inflammatoire :

Il existe quatre étapes dans ce processus :

- 1 l'étape d'initiation.
- 2 l'étape d'inflammation et recrutement cellulaire.
- 3 L'étape de propagation synoviale et de destruction articulaire.
- 4 L'étape de réparation de l'articulation (Wilfried, 2024) (figure 10).

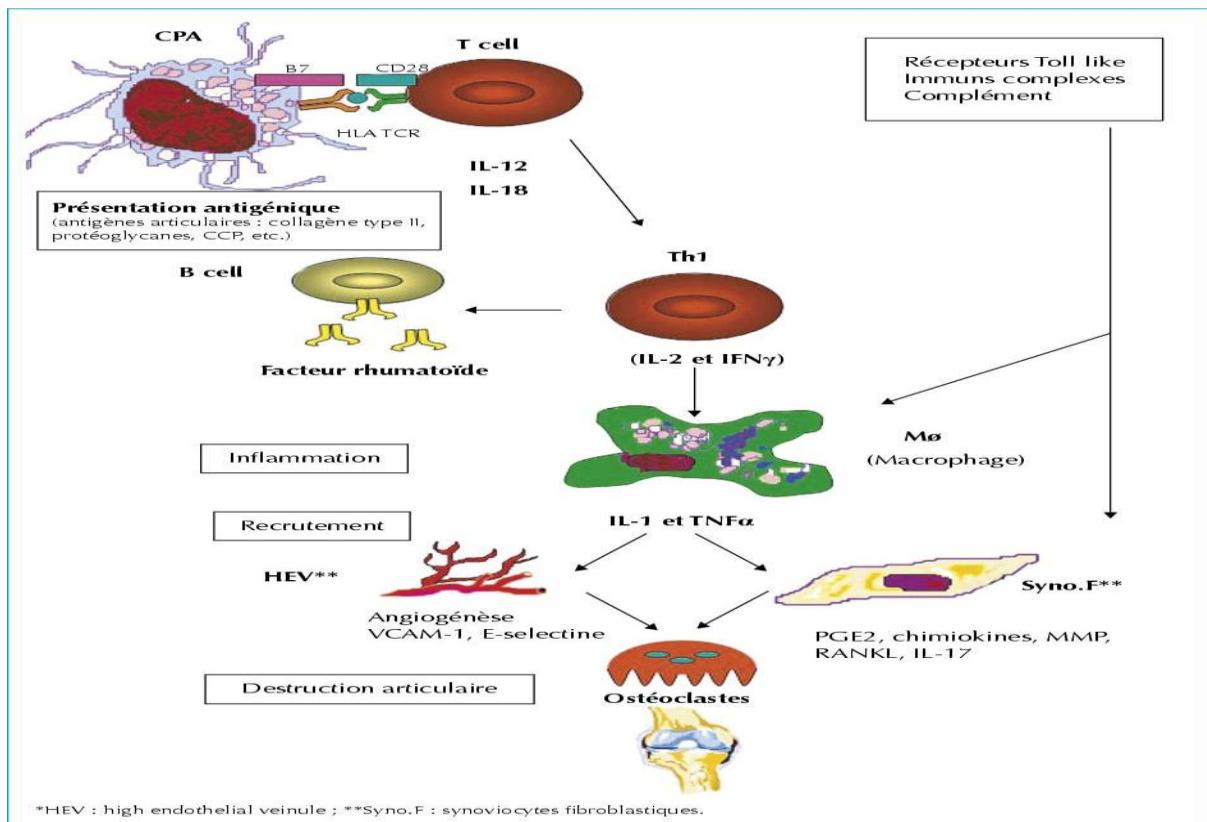


Figure 3: Différents phases de la physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. (B combe, 2004).

1.6.1 La phase d'initiation :

La polyarthrite rhumatoïde commence souvent par l'activation du système immunitaire contre des antigènes souvent présents dans la membrane synoviale, tels que les protéines citrullinées, ce qui conduit à une réponse immunitaire non spécifique. Cela

Synthèses bibliographiques

provoque l'accumulation de monocytes/macrophages et la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1, le TNF- α et l'IL-6. Ces cytokines induisent une réponse inflammatoire locale, puis d'autres cellules immunitaires (LB et LT) interviennent.

Activation des lymphocytes T et B :

Dans la première étape, les antigènes citrullinés sont présentés par des cellules présentatrices d'antigènes (APC) telles que les macrophages et les cellules dendritiques aux lymphocytes T CD4+ via des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II). Appelée Le premier signal antigénique. Cette étape seule ne suffit pas à activer complètement les lymphocytes T. Il doit y avoir Le deuxième signal est le signal de une costimulation impliquant l'interaction entre la molécule CD28 à la surface des lymphocytes T et les molécules CD80/86 exprimées par les cellules présentatrices d'antigènes (Ag).Le troisième signal est le signal de cytokines. Les cytokines sont des molécules de Signalisation produites par les cellules présentatrices d'antigène et d'autres cellules du Système immunitaire en réponse à une infection ou à une menace. Les cytokines aident orienter la réponse immunitaire vers une réponse spécifique (Wilfried ,2014) (figure 11).

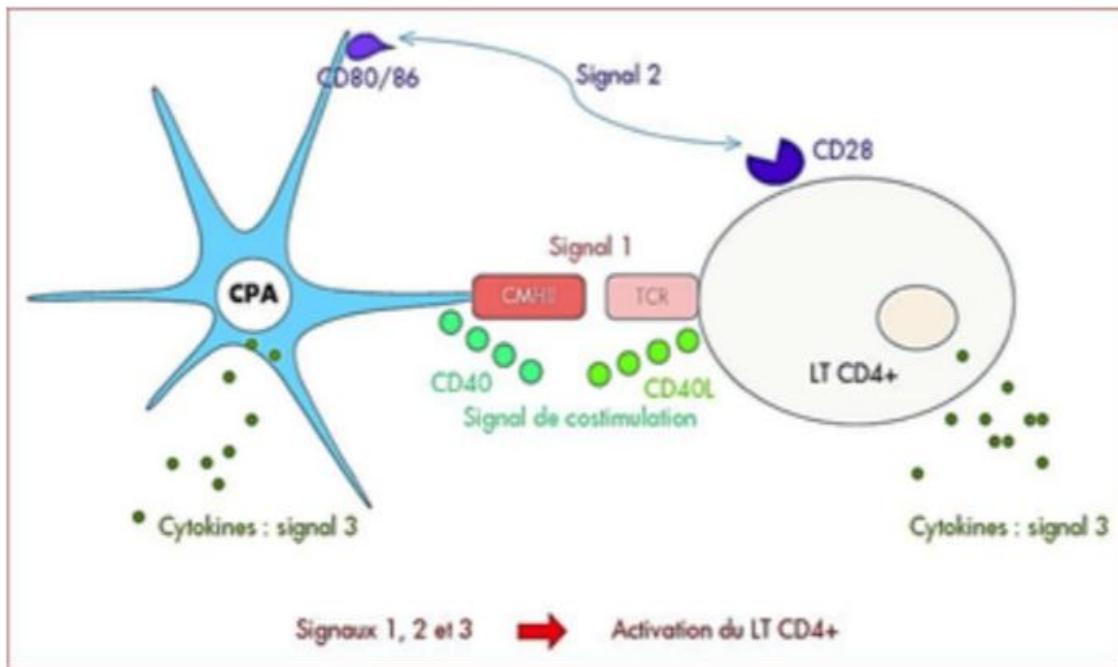


Figure 4: Signaux nécessaires à l'activation des LT CD4+ par les CD (Wilfried,2014).

Une fois activés, les lymphocytes T CD4+ se différencient en plusieurs sous-types en fonction du contexte cytokinique. Th1 sécrète l'interféron gamma (IFN- γ), qui active les macrophages, augmentant ainsi l'inflammation. Les cellules Th17, qui produisent l'IL-17, sont impliquées dans le recrutement des neutrophiles et jouent un rôle central dans

Synthèses bibliographiques

l'inflammation chronique. D'autre part, les cellules B sont également activées, les cellules B reconnaissent l'antigène citrulliné par BCR puis les TFH (cellules folliculaires auxiliaires T) aident les LB en facilitant leur activation et leur différenciation ce qui favorise la production d'autoanticorps. Cette activation séquentielle conduit à une amplification de la réponse inflammatoire, médiée par diverses cytokines pro-inflammatoires (IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-17). De plus, les lymphocytes T activés peuvent exprimer RANKL, une molécule qui stimule la différenciation des ostéoclastes et contribue ainsi à la résorption osseuse comme dans les maladies inflammatoires articulaires.

1.6.2 La phase de recrutement et d'inflammation :

Le recrutement cellulaire et l'inflammation de la synoviale se résument en 3 évènement (Wilfried, 2014)

La migration cellulaire du sang vers l'articulation.

L'infiltrat des cellules de la synoviale.

Le trouble de la régulation des cytokines.

La migration cellulaire du sang vers l'articulation :

La présence de cellules sanguines, en particulier de globules blancs, dans la membrane synoviale, entraînant une inflammation, à mesure que de nouveaux vaisseaux sanguins apparaissent. Au niveau de la membrane synoviale, dès les premiers stades de la polyarthrite rhumatoïde (Wilfred, 2014). Le processus d'angiogenèse dépend de plusieurs facteurs, à savoir : le VEGF, l'endothéline ou Angiostatine. Pour que les cellules impliquées puissent passer du sang à la membrane synoviale, Il contient des molécules d'adhésion qui lui permettent de se coller à la paroi capillaire. De la membrane synoviale avant de pouvoir traverser la paroi endothéliale. Une fois que les cellules migrent En progression, on retrouve principalement dans la membrane synoviale des lymphocytes T de la polyarthrite rhumatoïde, Granulocytes et neutrophiles.

L'infiltrat des cellules de la synoviale :

Les nouvelles cellules qui ont migré dans la membrane synoviale forment l'infiltrat synovial qui A l'origine de l'arthrite, c'est là qu'apparaissent les premiers symptômes de la polyarthrite rhumatoïde. La membrane synoviale présente alors un grand nombre de cellules

Synthèses bibliographiques

différentes qui participent toutes à des interactions complexes, dont certaines ne sont pas encore bien comprises (Wilfred, 2014).

Lymphocyte T :

Initiation de la réponse immunitaire Formation d'infiltration cellulaire Il active également d'autres cellules immunitaires pour se multiplier et se différencier, telles que : les lymphocytes B et les macrophages. La cascade inflammatoire dans la membrane synoviale dépend de l'activation des fibroblastes articulaires, en particulier des fibroblastes auxiliaires CD4+ CD45RO.

Différenciation des cellules LT CD4+ en sous-types Th, c'est-à-dire en cellules auxiliaires : Après activation de la cellule LT CD4+, elle prolifère et se différencie en deux types de cellules : la cellule LT mémoire et la cellule Th auxiliaire, qui est divisée en quatre sous-types, chacun produisant un profil de cytokines spécifique et jouant un rôle fonctionnel distinct :

Tableau 2: Le rôle des différentes LT helpers (Th) (Wilfried, 2014).

Sous type Th	Rôle principal	Cytokine produites
Th 1	Active les LT cytotoxiques ; favorise l'inflammation	IFN-γ, IL-2, TNF-α
Th 2	Active les lymphocytes B	IL-4, IL-5, IL-10
Th 17	Provoque la destruction osseuse et cartilagineuse ; recrute les neutrophiles	IL-17, IL-21, IL-22, IL-23
T régulateurs (Treg)	Maintiennent la tolérance immunitaire ; effets anti inflammatoires	IL-10, TGF-β

Il existe également d'autres types de cellules T impliquées dans Mécanismes provoquant des lésions, comme dans les cellules tueuses naturelles (NK) et les cellules CD8 LT Également de type cytotoxique. Ces cellules sont impliquées dans diverses manifestations (Wilfred, 2014).

Lymphocytes B :

Synthèses bibliographiques

Les lymphocytes B se multiplient et se différencient à l'aide des cellules T et deviennent capables de produire des anticorps et des cytokines pro-inflammatoires. Les lymphocytes B (LB) jouent un rôle fondamental dans la Physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde.

Cellules synoviales :

La membrane synoviale est composée de cellules synoviales qui sont abondantes. Il existe deux types de cellules synoviales : les cellules synoviales de type A, qui sont d'origine macrophage, et les cellules synoviales de type B, qui sont d'origine fibreuse. Dans le contexte de la polyarthrite rhumatoïde (PR), les cellules synoviales de type B présentent une surexpression de facteurs anti-apoptotiques, leur conférant une durée de vie plus longue et une capacité accrue à proliférer. Cela contribue à un épaississement anormal de la membrane synoviale. En revanche, les cellules synoviales de type A amplifient l'inflammation locale. Il produit des radicaux libres, des cytokines pro-inflammatoires, ainsi que des médiateurs tels que les prostaglandines et les leucotriènes, qui favorisent la détérioration des articulations.

La régulation des cytokines :

Les cytokines ont un rôle primordial dans l'immunopathologie de la PR. Dans la polyarthrite rhumatoïde, il existe un déséquilibre majeur entre les cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Les patients présentent une expression accrue des cytokines Th1 (pro-inflammatoires) et une expression diminuée des cytokines Th2 (anti-inflammatoire). De plus, des récepteurs solubles de cytokines, qui jouent un rôle régulateur en neutralisant leurs effets, sont présents en faible quantité, contribuant au maintien de l'inflammation. Les macrophages et les fibroblastes synoviaux s'activent mutuellement en libérant des cytokines et des facteurs de croissance, créant ainsi une boucle inflammatoire (Wilfried, 2014).

Catégories de Cytokines

Cytokines pro-inflammatoires :

TNF α (Tumor Necrosis Factor alpha) : Le TNF α (facteur de nécrose tumorale alpha) est l'une des principales cytokines pro-inflammatoires impliquées dans la physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. C'est un médiateur chimique qui est libéré lors de l'activation du système immunitaire, et on le retrouve également en grande quantité dans la membrane

Synthèses bibliographiques

synoviale. Il est produit principalement par les macrophages activés et les cellules synoviales de type A. Le TNF α stimule la libération d'autres cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1 et l'IL-6, améliore l'expression des molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales et attire les cellules immunitaires vers l'articulation. Il stimule également la production d'enzymes destructrices telles que les métalloprotéases, qui contribuent à la destruction du cartilage et des os.

IL-1 (Interleukine 1) :

Très similaire au TNF α , il agit localement dans l'articulation, est produit par les monocytes et les cellules synoviocytes de type A, participe à l'inhibition de la réparation du cartilage, stimule la production de PGE2 et de métalloprotéinases et stimule les ostéoclastes.

IL-6 (Interleukine 6) :

IL-6, qui possède des propriétés mixtes, devient pro-inflammatoire dans un environnement Th1, stimulant particulièrement la production de CRP par le foie. IL-15, sécrétée par les macrophages et les fibroblastes synoviaux, attire les cellules T CD4, aide à la maturation des cellules B et réduit l'apoptose. Enfin, l'IL-18, de la famille de l'IL-1, oriente la réponse immunitaire vers un profil Th1 et est impliquée dans la persistance de la maladie et la destruction du cartilage.

Cytokines anti-inflammatoires :

Les cytokines anti-inflammatoires sont faibles chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde. L'IL-1Ra prévient les effets nocifs de l'IL-1. Les cytokines agissent en inhibant la production d'IL-1 et de TNF α grâce aux cytokines IL-4, IL-10 et IL-13, réduisant ainsi l'inflammation. D'autres cytokines telles que l'IL-11, l'IL-19, l'IL-20 et l'IL-22 sont également classées comme anti-inflammatoires, bien que leurs fonctions précises ne soient pas bien comprises.

Cytokines régulatrices :

Ces cytokines régulent et équilibrent le système immunitaire. L'IL-2 joue un rôle dans le maintien de l'activation des cellules T et agit comme un facteur de croissance. L'IL-7, produite par les fibroblastes, favorise la croissance des lymphocytes B et T et stimule la production d'anticorps. L'IFN- γ augmente également l'expression des molécules HLA de classe II sur les cellules présentatrices d'antigènes, ce qui conduit à une production amplifiée d'IL-1 et de TNF α , qui contribuent au processus inflammatoire.

1.6.3 Propagation synoviale et de destruction articulaire :

Au début, la membrane synoviale prolifère, entraînant la formation de tissu synovial qui détruit l'articulation. La phase de prolifération de la membrane synoviale commence par des lésions des petits vaisseaux sanguins, ce qui conduit à la formation d'un tissu appelé tissu synovial. Ce stade est également caractérisé par une inflammation sévère. L'apparition de micro-caillots. Pendant ce temps, plusieurs cellules infiltrent la membrane, telles que les lymphocytes T et B, les plasmocytes et les cellules dendritiques. Les cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 affectent également l'épaississement de la membrane. De nouveaux vaisseaux sanguins se forment anormalement dans la membrane et un tissu hypertrophique invasif se développe. La membrane est composée principalement de macrophages activés, de fibroblastes synoviaux et d'ostéoclastes. Il adhère au cartilage articulaire via des molécules d'adhésion (telles que les intégrines) et commence à envahir les structures articulaires adjacentes.

Le tissu conjonctif sécrète de grandes quantités de métalloprotéinases matricielles (MMP), de prostaglandines et d'autres qui dégradent la matrice extracellulaire du cartilage, provoquant sa destruction. Les ostéocytes activés contribuent également à la résorption osseuse sous-chondrale, entraînant une érosion osseuse progressive. Ce processus est exacerbé par des changements génétiques : en particulier l'activation de proto-oncogènes et des mutations dans le gène suppresseur de tumeur P53, qui inhibe la mort des cellules synoviales. Cette résistance à l'apoptose favorise l'accumulation continue de cellules inflammatoires et l'agression synoviale, entraînant une déformation et une perte de la fonction articulaire (Wilfried, 2014).

1.6.4 L'étape de réparation de l'articulaire :

Malgré l'inflammation chronique, les zones en contact avec la moelle osseuse conservent leur capacité de réparation. Ce processus est lié à la voie de signalisation Wnt, qui favorise la formation d'ostéoclastes. La voie stimule également la production d'ostéoprotégérine (OPG), une protéine qui inhibe l'action de RANKL, le principal activateur des ostéoclastes. Ainsi, l'OPG limite la résorption osseuse et joue un rôle protecteur dans la réparation et la stabilité osseuse. (Wilfried, 2014).

1.7 Diagnostic précoce de la polyarthrite rhumatoïde :

- **L'importance d'un diagnostic précoce**

Synthèses bibliographiques

Le micro diagnostic de la maladie avec un traitement ciblé précoce permet de prévenir les lésions articulaires et de réduire l'inflammation, ce qui conduit à une meilleure qualité de vie. (Wilfrid.,2014).

- **Signes cliniques précoces**

Douleurs et gonflements articulaires : notamment au niveau des petites articulations des mains (articulations métacarpo-phalangiennes, articulations interphalangiennes proximales) et des pieds. (Wilfrid.,2014)

Raideur matinale prolongée : dure souvent plus de 30 à 60 minutes et constitue un signe typique d'inflammation.

Atteinte symétrique : les mêmes articulations des deux côtés du corps sont souvent touchées.

Fatigue, faiblesse et parfois une légère fièvre. (Wilfrid.,2014)

- **Tests biologiques :**

Facteur rhumatoïde (FR) : Il est présent chez environ 70 à 80 % des patients, mais il n'est pas spécifique de la polyarthrite rhumatoïde car on le retrouve également dans d'autres maladies auto-immunes ou infections. (Wilfrid.,2014)

Anticorps anti-peptide cyclique citrulliné (ACCP) : hautement spécifiques ($> 95 \%$) et sensibles (environ 70-80 %) pour la polyarthrite rhumatoïde. Leur présence est associée à une forme plus agressive. (Wilfrid.,2014)

Marqueurs inflammatoires : protéine C-réactive(CRP) et vitesse de sédimentation érythrocytaire (VS) élevées. (Wilfrid.,2014)

- **Imagerie médicale :**

Radiographies conventionnelles : bonnes mais peu sensibles et ne permettent pas de détecter l'arthrite à un stade précoce. (Wilfrid.,2014)

Échographie Doppler : Déetecte très tôt la synovite et l'érosion osseuse, souvent avant qu'elles n'apparaissent sur une radiographie(Wilfrid.,2014).

IRM : Très bonne et sensible, elle permet de détecter très tôt l'inflammation et les érosions.

Synthèses bibliographiques

- **Critères diagnostiques actuels :**

Les critères de classification ACR/EULAR 2010 combinent le nombre et la localisation des articulations touchées, les résultats biologiques (RF, anti-CCP), la durée des symptômes et les marqueurs inflammatoires. Il permet l'identification et le diagnostic des patients à un stade précoce.(Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB.2016).

- **Tests génétiques dans la polyarthrite rhumatoïde :**

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie dont les déclencheurs sont multiples, notamment génétiques et environnementaux (tabac et infections). L'héritabilité est estimée entre 40 et 65 %, ce qui indique que la génétique joue un rôle important dans la maladie.

Principaux gènes impliqués :

HLA-DRB1(complexe majeur d'histocompatibilité de classe II) : Les allèles porteurs du « trait commun » sont associés au risque de développer une polyarthrite rhumatoïde. Ces allèles favorisent la présentation de peptides citrullinés aux lymphocytes T, conduisant à l'activation et à l'induction d'une inflammation auto-immune. (Raychaudhuri S.2010), (Okada Y, et al.2014)

Autres gènes identifiés :

PTPN22 : Code une protéine impliquée dans la régulation des lymphocytes T. STAT4, PADI4, TNFAIP3 et d'autres ont été liés, mais avec des effets minimes.

Utilisation clinique des tests génétiques

Il n'existe pas de tests génétiques standardisés pour le diagnostic ou le pronostic individuel, car la sensibilité et la spécificité sont insuffisantes.

Ils peuvent être utiles dans la recherche pour classer les patients ou pour identifier les mécanismes causaux de maladies spécifiques.

La combinaison des gènes et de l'environnement (par exemple, tabac + « modèle commun » HLA-DRB1) augmente significativement le risque, ce qui explique la complexité de la maladie. (Raychaudhuri S.2010), (Okada Y, et al.2014)

1.10 Types de variations génétiques associées à la PR :

Dans les maladies complexes comme la PR, la génétique ne suit pas un mode de transmission simple (comme dans les maladies monogéniques), mais implique plusieurs gènes et leurs interactions avec l'environnement. (Strachan T, Read AP.,2018)(Emery P, et al.2022).

1.10.1 Mutations rares :

Modifications rares et souvent pathogènes de la séquence génétique, pouvant être :

Ponctuelles (ex : substitution d'une base)

Indels (insertion/délétion)

Mutations faux-sens, non-sens ou décalage du cadre de lecture.

1.10.2 SNPs (single nucléotide polymorphismes) :

Un SNP (polymorphisme d'un seul nucléotide) est une différence dans une seule base de l'ADN entre des individus. Une personne peut avoir A, tandis qu'une autre personne peut avoir G.

Ce sont les variations les plus fréquentes dans l'ADN humain (1/300 paires de bases). Certains SNPs peuvent modifier l'expression génique ou la fonction des protéines. Ils servent de marqueurs dans les études d'association.

SNPs (Le single Nucléotides Polymorphisms) sont des variations génétiques fréquentes qui peuvent influencer la susceptibilité à la PR ont été identifiés, notamment HLA-DRB1, PTPN22, STAT4, TRAF1-C5, et PADI4 (Okada Y et al. 2014). Ces variants sont utilisés dans des PRS (polygenic risk scores) pour estimer le risque individuel de développer la PR. Exemple : l'allèle HLA-DRB1 04 :01, codant le motif (shared epitope), est fortement associé à la PR séropositive (Raychaudhuri S.2010).

1.10.3 CNVs (copy number variations) :

Variations du nombre de copies de grands segments d'ADN. Elles peuvent affecter l'expression de gènes impliqués dans l'immunité. (Feuk L, Carson AR, Scherer SW, 2006) (Hindorff LA et al.2009).

1.11 Méthode d'étude génétique :

1.11.1 Etudes de liaison génétique (linkage analysis) :

Méthode statistique utilisée pour localiser des gènes responsables de maladies héréditaires en étudiant la Co-transmission, entre une maladie et des marqueurs génétiques (SNPs) chez des membres d'une même famille.

(Ott, Wang, & Leal ,2015).

Principe : Les gènes qui sont proche les uns des autres sur un même chromosome ont tendance à être hérités ensemble. Cette Co- transmission est appelée liaison génétique (linkage).

Application : utilisée principalement dans les maladies monogéniques (rarement utilisée pour maladies complexes).

Types d'études de liaison :

Liaison paramétrique : utiliser dans les maladies monogéniques claires exemple drépanocytose, mucoviscidose.

Liaisons non paramétriques : utiliser dans les maladies complexes comme polyarthrite rhumatoïde, diabète.

Avantages :

Efficace pour maladies monogéniques.

Efficace pour variants rares à fort effet.

Limite :

Faible résolution non adaptée aux maladies multifactorielle.

1.11.2 Etude d'association candidat gene :

Les études de gènes candidats sont un pilier des études génétiques humaines depuis plusieurs décennies et continueront de jouer un rôle important. Un gène candidat est un gène sélectionné pour une étude approfondie en raison de sa localisation chromosomique, de sa fonction connue. Les études de gènes candidats sont généralement réalisées pour vérifier une hypothèse plausible, mais la plausibilité ne doit pas atténuer l'exigence de preuves statistiques solides et reproductibles. (Gregersen, P. K., & Olsson, L. M. (2009)).L'objectif est de

Synthèses bibliographiques

comparer la fréquence de ces variantes entre un groupe de patients atteints de la maladie (cas) et un groupe de sujets sains (témoins). (Gregersen & Olsson, 2009 ; Viatte et al. 2013). Contrairement aux études génomiques à grande échelle (GWAS), qui explorent tout le génome sans hypothèse préalable, Dans le cas de la polyarthrite rhumatoïde (PR), plusieurs gènes candidats ont été analysés, notamment PTPN22, en raison de son rôle clé dans la régulation de la réponse immunitaire. Une mutation particulière de ce gène, R620W (rs2476601), a été significativement associée à un risque accru de PR, notamment dans les populations d'origine européenne. Cette variation semble altérer la signalisation des lymphocytes T, favorisant l'auto-immunité. L'étude pionnière de (Begovich et al. (2004)) ainsi montre une fréquence plus élevée de cet allèle chez les patients atteints de PR comparés aux témoins sains.

Avantages :

Ciblée, rapide et moins coûteuse que les GWAS.

Idéale quand on a une hypothèse forte sur un gène impliqué.

Limites :

Ne permet pas de découvrir de nouveaux gènes.

Repose fortement sur la qualité de l'hypothèse initiale.

Risque de faux positifs si la taille de l'échantillon est faible.

1.11.3 Etudes d'association pangénomique (GWAS-Genome-Wide

Association Studies) :

La GWAS est un protocole expérimental utilisé pour détecter les associations entre variants génétiques et traits dans des échantillons de populations. (Visscher et al. 2017) Une étude pangénomique est une méthode qui analyse des centaines de milliers à plusieurs millions de variants génétiques (principalement des SNPs) sur l'ensemble du génome pour identifier ceux associés à un trait ou une maladie. Cette méthode compare les fréquences alléliques des variants entre un groupe de cas (individus affectés) et un groupe de témoins (individus non affectés) sans faire d'hypothèse préalable sur les gènes impliqués. Elle est particulièrement utile pour étudier les maladies complexes. Exemple polyarthrite rhumatoïde Les études d'association pangénomique (GWAS) ont largement contribué à identifier de nombreux loci génétiques impliqués dans la susceptibilité à la PR.

Synthèses bibliographiques

- Résultats majeurs : Identification de plus de 100 loci associés à la PR, notamment dans le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH/HLA), en particulier le gène HLA-DRB1, ainsi que des gènes comme PTPN22, STAT4, TRAF1/C5, TNFAIP3. (Okada Y, et al. 2014, Raychaudhuri S, et al .2012).

- Avantage :

Identification de variants génétiques communes à faible effet.

- Limite :

Ne détecte pas bien les variants rares

1.11.4 Séquençage de nouvelle génération (NGS)

Le séquençage de nouvelle génération (NGS) est une technologie de biologie moléculaire qui permet de lire rapidement et de manière massive la séquence des bases de l'ADN ou de l'ARN. Le séquençage de nouvelle génération (NGS) est une révolution technologique qui a un retentissement majeur sur la connaissance de la variabilité, non seulement celle du génome, mais aussi celle du transcriptome, et sur l'appréhension de l'hétérogénéité des maladies génétique mendéliennes (Stoppa-Lyonnet D, Houdayer C .2012).

Cette technologie offre un potentiel considérable pour l'indentification rapide et précise de mutation génétique associées à des pathologie rares ou complexes.

Le NGS est particulièrement utile dans les contextes cliniques pour le diagnostic des maladies héréditaires, la détection de mutation somatiques (Di Resta et al. 2018).

Avantages principaux du NGS :

Haute capacité d'analyse Grande précision et sensibilité Polyvalence et réduction des couts

Limite principale du NGS :

Complexité de l'analyse des données Interprétation difficile des variants Contraintes techniques

NGS et polyarthrite rhumatoïde :

Le séquençage de nouvelle génération (NGS) joue un rôle de plus important dans la compréhension et le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde. Cette technologie permet d'analyser avec précision le profil génétique des patient atteints de PR , en identifiant des

Synthèses bibliographiques

variations génétiques associées à une susceptibilité accrue à la maladie . grâce à des approches telles que le séquençage de L'ARN , les chercheurs ont identifié des signatures transcriptomiques spécifiques au niveau des tissus articulaires , notamment dans la synoviale , grâce au NGS , les chercheurs peuvent également étudier l'expression des gènes dans les cellules immunitaires , ce qui aide à mieux comprendre les mécanismes moléculaires responsables de l'inflammation articulaire . (Liu et al .2019).

Le NGS est utilisé pour :

Identifier des mutations génétiques associées à la PR Découverte de biomarqueurs pour le diagnostic précoce

1.12 Gènes de susceptibilité :

Dans la polyarthrite rhumatoïde (PR), certaines variations génétiques augmentent le risque de développer la maladie (gènes de susceptibilité).

1.12.1 Gène HLA – DRB1 :

Le gène HLA-DRB1, situé dans le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II (chromosome 6), est le principal facteur génétique de la PR. Il code pour une molécule présentatrice d'antigènes aux lymphocytes T CD4+.

Les allèles porteurs du “shared epitope” (SE) — une séquence d'acides aminés commune dans la région peptidique 70–74 — sont fortement associés à la PR séropositive (présence d'anti-CCP).

Le risque est multiplié par 5 à 10 selon le nombre de copies de l'allèle SE et l'exposition au tabac.

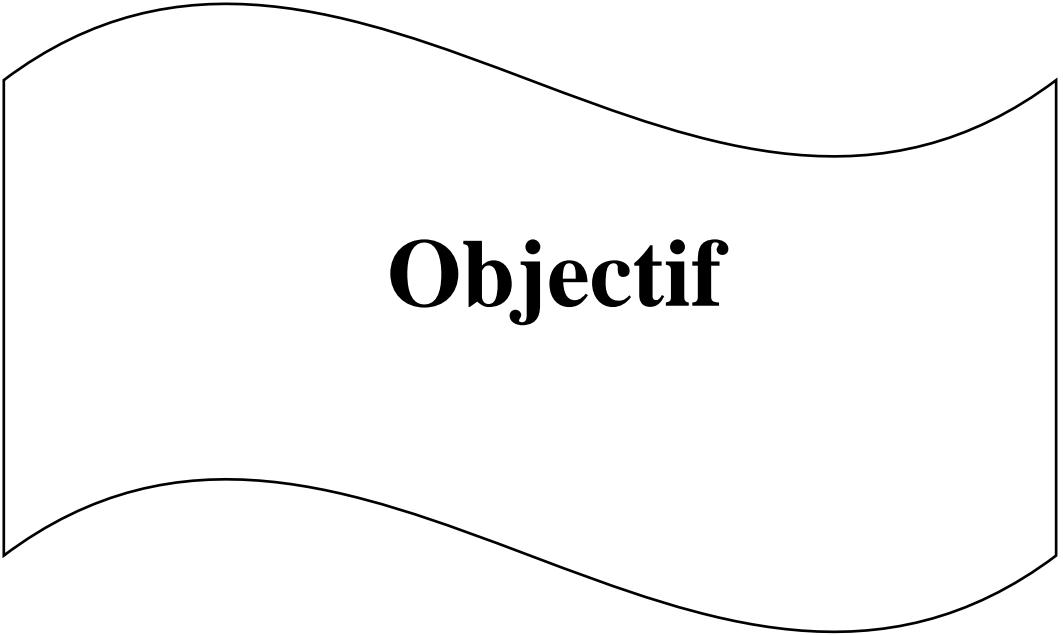
1.12.2 Gène non – HLA :

PTPN22 : code pour une phosphatase régulant les signaux des lymphocytes. L'allèle 620W est associé à un risque accru de PR.

STAT4 : impliqué dans la différenciation des cellules T.

PADI4 : code une enzyme responsable de la citrullination des protéines, créant des néo-antigènes reconnus dans la PR.

CTLA4, TNFAIP3, TRAF1-C5 : gènes régulateurs de l'immunité et de l'inflammation. (Gregersen PK et al. 1987) (Okada Y et al. 2014).



Objectif

Objectif

Objectif :

- Étudier les différentes techniques utilisées dans le diagnostic génétique de la polyarthrite rhumatoïde, dans le but d'évaluer leur sensibilité, leur spécificité, ainsi que leur pertinence clinique dans la détection des prédispositions génétiques à la maladie et établir un profil sérologique et inflammatoire des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde, en analysant les biomarqueurs classiques.
- Évaluer l'importance des anticorps anti-CCP3 dans la détection précoce de la maladie.
- Étude de la typisation HLA (notamment le HLA – DRB104, DRB101).
- Comparer les techniques utilisées en diagnostic immunologique et génétique

Matériel et Méthodes

3.1 Matériel :

3.1.1 Le matériel biologique :

Type et population d'étude :

Il s'agit d'une étude Cas/ Témoin rétrospective qui porte sur 130 patients atteints d'une polyarthrite rhumatoïde.

L'étude est faite au sein de l'unité d'immunologie de l'unité – universitaire (CHU) Frantz fanon de Blida au service transplantation d'organes et de tissus (TOT) sur une durée 3 mois (01 mars 2025 au 01 juin 2025).

Critères d'inclusion :

Tout patient atteint de la polyarthrite rhumatoïde avec un diagnostic établi selon les critères ACR/EULAR 2010 (European League Against Rheumatism).

Age du patient retenu pour l'étude : plus de 16 ans.

Le patient signe un consentement éclairé pour participer à l'étude et pour que des échantillons génétiques soient prélevés.

Critères d'exclusion :

Présence d'une autre maladie auto-immune (lupus, sclérodermie, etc.).

Maladies inflammatoires chroniques non auto-immunes (ex : tuberculose, hépatite chronique).

Grossesse en cours (peut influencer certains profil biologiques).

Echantillon de mauvaise qualité ou quantité d'ADN insuffisante.

Le matériel non biologique :(voir Annexe 1)

3.2 Méthodes :

3.2.1 Prélèvements biologiques :

Prélèvements de sang veineux

Tubes secs ou citratés pour les analyses sérologiques.

3.2.3 Profile sérologiques et inflammatoire :

Bilan inflammatoire :

C'est un bilan biologique qui permet de rechercher des signes biologiques d'une inflammation de l'organisme et d'évaluer la présence et l'intensité d'un état inflammatoire aigu ou chronique.

Deux marqueurs de l'inflammation sont dosés :

Vitesse de sédimentation (VS) :

Principe : est un test sanguin qui mesure la vitesse à laquelle les globules rouges tombent au fond d'un tube vertical en une heure. En cas d'inflammation, certaines protéine dans le sang augmentent et font coller les globules rouges entre eux, formant des amas plus lourds. Ces tombent plus vite, ce qui fait augmenter la VS. Ce test permet donc de détecter la présence d'une inflammation dans le corps, mais il ne précise pas la cause exacte.

Protocole de la technique de dosage de la VS :

1. Préparer le tube de citrate :

Mettre 0,4 ml de citrate 3,8 % dans un tube plastique avec une pipette.

Noter le nom ou numéro du patient sur le tube.

2. Prélever le sang :

Prendre 2 ml de sang veineux avec une seringue stérile.

Retirer l'aiguille et la jeter dans le conteneur adapté.

3. Mélanger sang + citrate :

Ajouter 1,6 ml de sang dans le tube contenant 0,4 ml de citrate.

Mélanger doucement par inversion.

4. Remplir la pipette Westergren :

Aspirer le mélange jusqu'à la graduation 0.

5. Installer et chronométrier :

Placer la pipette bien verticalement dans le support.

Matériel et Méthodes

Lancer la minuterie pour 60 minutes.

6. Lire la sédimentation :

Après 1 heure, lire la hauteur du plasma (en mm).

Protéine C réactive (CRP) :

Par la technique d'agglutination (test au latex) :

Principe : c'est un dosage immunologique sur latex utilisé pour mesurer précisément la concentration de la protéine C-réactive dans le sang. Elle est positive s'il se produit une réaction antigène- anticorps entre la CRP présente dans l'échantillon et l'anticorps anti-CRP qui a été absorbé par les particules de latex.

Protocole de dosage du latex (CRP) :

Ramener les réactifs et les sérum à tester à température ambiante (18-25°C).

Test qualitatif :

Déposer successivement sur la carte:

- goutte du contrôle positif
- goutte du contrôle négatif
- goutte (50 µl) de sérum à tester.
- Placer à côté de chaque dépôt 1 goutte de Latex anti-CRP bien homogénéisé.
- Mélanger les 2 gouttes à l'aide d'un agitateur et les étaler.
- Placer la plaque dans un agitateur, un mouvement de rotation et 3 minutes et observer l'apparition éventuelle d'une agglutination.

Test semi-quantitatif :

Préparer une série de dilutions du sérum à tester en solution de NaCl 8,5 g/l. Répéter le test pour chaque dilution de la même manière que pour le test qualitatif et rechercher la dernière dilution donnant encore une agglutination. La concentration du sérum testé en CRP est estimée en multipliant le titre obtenu par le seuil de sensibilité du test 6mg/l.

Lecteur :

Réaction négative : la suspension reste homogène.

Réaction positive : Agglutination nette en 2 minutes.

Dans les cas de la PR : le taux de CRP dépasse souvent 50mg/l.

La sensibilité du CRP LATEX étant de 6 mg / l. les sérums donnant une réaction positive ont une concentration supérieurs à 6 mg / l de CRP.

3.2.3 Bilan immunologique :

Détection du facteur rhumatoïde :

Par le test au latex :

Principe : c'est un test qualitatif ou semi – quantitatif basé sur une réaction d'agglutination. L'antigène est absorbé sur les particules de latex ensuite s'agrègent en présence de l'anticorps spécifique de l'antigène absorbé.

Protocole de la technique de latex (FR) :

Test quantitatif :

Étapes : Sur la plaque, déposer successivement :

1 goutte du contrôle positif

1 goutte du contrôle négatif

1 goutte (50 µl) de chaque sérum à tester

À côté de chaque goutte, ajouter 1 goutte de réactif latex bien homogénéisé.

Mélanger à l'aide d'un agitateur propre. Et Mettre la plaque en rotation douce pendant 2 minutes.

Lecture :

Réaction positive (agglutination) : Présence de facteurs rhumatoïdes.

Réaction négative (suspension homogène) : Absence de FR ou taux < 8 UI/ml.

Test semi-quantitatif (si test qualitatif positif)

Matériel et Méthodes

Étapes :

Réaliser des dilutions en série (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, etc.) du sérum en solution saline (NaCl 9 g/L).

Tester chaque dilution selon le même protocole que le test qualitatif. Rechercher la dernière dilution montrant une agglutination faible mais visible.

Calcul du titre :

Titre (UI/ml) = Inverse de la dernière dilution positive × 8 (seuil de détection)

Lecteur :

Réaction positive : Agglutination présence de facteur rhumatoïde dont la concentration (valeur supérieur à 8 µl / ml)

Réaction négative : suspension homogène absence de facteur rhumatoïde (valeur inférieur à 8 µl / ml).

Par le test Waaler rose :

Principe : c'est une réaction d'agglutination passive basée sur l'interaction entre des globules rouge de mouton sensibilisés (revêtus d'anticorps IgG de lapin appelés hémolysine) et le FR présent dans le sérum du patient (un anticorps anti-IgG). Si le sérum contient du facteur rhumatoïde, il va réagir avec IgG de lapins fixés sur les globules rouges de mouton, provoquant une agglutination visible.

Protocole de la technique Waaler rose

Test quantitatif :

Étapes : Sur la plaque de test, déposer :

50 µl du sérum à tester

Une goutte de contrôle positif

Une goutte de contrôle négatif. Chaque dépôt dans un cercle distinct.

Ajouter 1 goutte de réactif WR à côté de chaque dépôt. Mélanger avec un agitateur propre pour chaque échantillon, en étalant bien sur tout le cercle.

Matériel et Méthodes

Laisser reposer la plaque sur une surface plane pendant 2 minutes. Tordre délicatement la plaque à 45°, puis la reposer à plat pendant encore 1 minute.

Lecture :

Agglutination visible : test positif → présence de facteurs rhumatoïdes.

Suspension homogène : test négatif → absence ou FR < 8 UI/ml.

Test semi-quantitatif (si test qualitatif positif)

Étapes :

Préparer des dilutions en série du sérum : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, etc. dans une solution saline à 9 g/L (NaCl 0,9 %).

Répéter le test qualitatif pour chaque dilution.

Identifier la dernière dilution montrant une agglutination faible mais visible.

Calcul du titre :

Titre (UI/ml) = Inverse de la dernière dilution positive × 8 UI/ml (seuil de détection)

Détection et mesure des anti- CCP3 :

Par la technique ELISA :

Principe : est une méthode immuno- enzymatique qui repose sur la liaison spécifique antigène – anticorps et sur détection enzymatique. Ce dosage ELISA permet la réalisation d'un dosage semi-quantitatif ou quantitatif *in vitro* pour la détermination d'auto anticorps humains de classe IgG dirigé contre les peptides cycliques citrullinés (CCP). Le coffret contient des barrettes de micro titration de 8 puits de réactif sécables, coatés avec des peptides cycliques citrullinés synthétiques. Lors de la première étape de la réaction, les échantillons patients dilués (sérum ou plasma sur EDTA, héparine ou citrate) sont incubé dans les puits. Dans le cas d'échantillon positifs, les anticorps spécifiques de classe IgG (mais aussi IgA et IgM) se fixeront sur les antigènes correspondants. Pour détecter les anticorps fixés, une seconde incubation est réalisée en utilisant un anticorps anti-IgG humaine couplé à une enzyme (conjugué enzymatique). Ce conjugué est capable de générer une réaction colorée.

Protocole de la technique d'ELISA

Matériel et Méthodes

Matériel nécessaire :

Plaque 96 puits (microtitration)

Anticorps de capture (spécifique de l'antigène)

Antigène (échantillon)

Anticorps de détection

Enzyme conjuguée

Substrat

Solution d'arrêt (souvent H₂ SO₄ 1 M)

Tampons : PBS, PBS-Tween (PBST), tampon de blocage (BSA 1–5%)

Étapes du protocole :

1. Coating de la plaque (capture)

Ajouter 100 µL d'anticorps de capture dilué dans tampon de coating (souvent PBS) dans chaque puits. Incuber une nuit à 4 °C ou 2 h à 37 °C. et Laver 3 fois avec PBST.

2. Blocage :

Ajouter 200 µL de tampon de blocage (ex. BSA 1% dans PBS) pour bloquer les sites non spécifiques. Incuber 1 h à température ambiante. et Laver 3 fois avec PBST.

3. Ajout de l'échantillon (antigène) :

Ajouter 100 µL de l'échantillon ou des standards (sérum, lysat, etc.). Incuber 1 à 2 h à 37 °C ou à température ambiante. et Laver 3 à 5 fois avec PBST.

4. Ajout de l'anticorps de détection :

Ajouter 100 µL d'anticorps de détection. Incuber 1 h à température ambiante et Laver 3 à 5 fois avec PBST.

5. Ajout de l'enzyme conjuguée : Ajouter 100 µL.

Incuber 30 min à 1 h. et Laver 3 à 5 fois avec PBST.

6. Détection (substrat enzymatique) :

Ajouter 100 µL de substrat

Matériel et Méthodes

Incuber 10–30 min dans l’obscurité (la couleur se développe).

7. Arrêt de la réaction

Ajouter 50 µL de solution d’arrêt (souvent acide sulfurique 1 M)

8. Lecture :

La mesure photométrique de l’intensité de coloration doit être faite à la longueur d’onde 450 nm avec une longueur d’onde de référence comprise entre 630nm et 650nm dans les 30 minutes qui suivent l’arrêt de la réaction, avant de mesurer, agiter soigneusement la microplaquette pour s’assurer une bonne homogénéisation de la distribution de la solution d’arrêt.

Calcule des résultats :

1. Dosage semi – quantitatif : calcul du ratio

Formule :

$$\frac{\text{DO du contrôle ou de l'échantillon patient}}{\text{DO du calibrateur 2}} = \text{Ratio}$$

DO du calibrateur 2

D’après le kit EUROIMMUN on interprètent les résultats de la manière suivante :

Ratio	Résultats
≤ 1,0	Négatif
> 1,0	Positif

3.2.4 Typage HLA :

1. Extraction d’ADN :

Objectif :

Obtenir de l’ADN génomique de haute qualité à partir des leucocytes présents dans le Buffy Coat, afin de le préparer pour des analyses de biologie moléculaire (PCR, typage HLA...).

Principe :

Le buffy Coat est une fine couche blanchâtre entre le plasma et les globules rouges, contenant principalement les leucocytes (cellules nucléées riches en ADN).

Matériel et Méthodes

L'extraction repose sur :

- Lyse cellulaire : rupture des membranes pour libérer l'ADN
- Fixation de l'ADN sur une colonne de silice
- Elimination des contaminants (protéines, ARN, débris cellulaire)
- Elution de l'ADN pur dans un tampon stérile

protocole d'extraction d'ADN (Buffy coat)

Prélèvement : le sang est recueilli dans un tube ACD

Procédure :

- Récupérer 200µl du Buffy coat (couche jaunâtre qui contient les leucocytes ou globules blancs et les plaquettes se trouvant entre les érythrocytes ou globules rouges et le plasma) dans un Epen dorff stérile et numéroté.
- Ajouter 200µl du Tampon AL (solution détergente)
- Ajouter 20µl de l'enzyme Protéinase K (elle va dégrader les protéines de la cellule).
- Vortexer
- Placer 10min dans le Thermoblock
(À température 56°C)
- Ajouter 200µl d'éthanol (il sera plus efficace que l'isopropanol pour éliminer les restes de la solution de lyse, car il contient 30% d'eau)
- Vortexer
- Microcentrifugation rapide (quelques secondes)
- Verser le mélange dans un Column stérile numéroté
- Microcentrifugation 13000tr/min pendant 1min
- Jeter la poubelle et la remplacer par autre
- Ajouter 500µl du Tampon WA1
- Centrifugation 13000 tr/min pendant 1 min
- Jeter la poubelle et la remplacer par autre

Matériel et Méthodes

- Ajouter 500µl du Tampon WA2
- Microcentrifugation 14000 tr/min pendant 3min
- Jeter la poubelle et la remplacer par un Epen dorff stérile numéroté
- Ajouter 200µl du Tampon AE
- Laisser 5min
- Microcentrifugation 13000tr/min pendant 1min
- Etiqueter (Nom, Prénom, Numéro et la date du prélèvement)
- Congeler l'ADN récupéré et le tube ACD du sang totale à -20°C

La deuxième étape est le contrôle de qualité de l'ADN :

On a utilisé la méthode d'électrophorèse sur gel d'agarose à PH égale à 8,3. C'est une méthode simple et efficace pour la séparation, l'identification et la purification des fragments d'ADN. Elle consiste à faire migrer dans un gel soumis à un champ électrique des molécules chargées négativement, leurs distances de migration dépendent principalement de leurs poids moléculaires, de la concentration d'agarose et de l'intensité du courant appliqué.

Protocole de contrôle de qualité d'ADN

Préparer un gel d'agarose à 0,8% dans un tampon tris-acétate-EDTA (TAE) (1M tris, 200mM acétate et 50mM EDTA), PH = 8 contenant 0,5µg/ml de Bromure d'éthidium ;

- Préparer les échantillons de la façon suivante :

5µl d'ADN génomique et 5µl de bleu de dépôt (0,05% bleu de bromophénol, 60% glycérol) ; déposer 10 µl dans différents échantillons dans les différents puits du gel et le control positif (ADN humaine) de poids moléculaire variable ;

- Faire migrer le gel dans le tampon Tris acide borique et EDTA (TBE) (0,5M)

Pendant 30min à 100V ;

- Révéler l'ADN par exposition du gel aux rayons UV.

Matériel et Méthodes

La troisième étape est la technique de PCR/SSP : (amplification spécifique par amores alléliques)

Objectif :

Identifier des allèles HLA spécifiques à l'aide de la PCR avec des amores spécifiques de séquence (SSP), pour le typage HLA.

Principe : la PCR – SSP est une techniques d'amplification de l'ADN qui utilisé des amores spécifiques à un allèle HLA donné. Si l'ADN du patient contient cet allèle, les amores s'hybrident parfaitement, permettant ainsi l'amplification du fragment cible par la Taq polymérase. en revanche, Si l'allèle n'est pas présent, aucune amplification n'a lieu . les produits de PCR sont ensuite visualisés sur un gel d'agarose. la présence d'une bande indique un résultat positif, tandis que son absence indique un résultat négatif . Un contrôle interne est toujours inclus pour vérifier la validité de la réaction.

Etapes :

- PCR avec amores spécifiques (HLA)
- Electrophorèse sur gel d'agarose
- Visualisation des bandes sous UV

Protocole de la technique de PCR / SSP :

Sortir de la température de conservation indiquée : le (volume) tube de Micro SSP™ D-Mix correspondant à la plaque d'amores Micro SSP™ sélectionnée, la (les) plaque(s) d'amores, ainsi que le nombre approprié d'échantillons d'ADN.

Décongeler à température ambiante (20 – 25 °C).

Remarque : la plaque et sa feuille adhésive peuvent être coupées en fonction du nombre de tests à effectuer. Replacer immédiatement la partie non utilisée à la température de conservation préconisée.

Agiter les échantillons d'ADN sur Vortex.

Placer la plaque PCR sur un portoir adapté (Robbins Scientific, Cat. #1044-39-5) et retirer la feuille adhésive.

Sortir la Taq Polymérase du congélateur et conserver dans de la glace jusqu'à l'emploi.

Matériel et Méthodes

A l'aide d'un Pipetman® (ou équivalent), ajouter 1 µl de diluant ADN dans le tube de contrôle négatif de la plaque d'amorces.

A l'aide d'un Pipetman® (ou équivalent), ajouter 2µl de la Taq Polymérase (5- unités/µl) dans le tube de D-mix.

Boucher le tube, agiter sur vortex pendant 5 secondes, et centrifuger pour bien faire descendre le liquide au fond du tube.

Préparation du mélange réactionnel

Contrôle négatif :

Ajouter 9 µl de D-mix dans le tube contrôle négatif.

Échantillon ADN :

Ajouter 39 µl d'ADN au tube contenant le D-mix.

Homogénéisation :

Boucher, vortexer 5 s, puis centrifuger brièvement.

Distribution du mélange :

À l'aide d'un Pipetman® P20, distribuer 10 µl dans chaque tube de la plaque Micro SSP™, sauf le contrôle négatif.

S'assurer que l'échantillon touche le fond (amorces lyophilisées).

PCR :

Fermer la plaque :

Couvrir avec la feuille adhésive (nom, prénom, numéro).

Vérifier l'étanchéité.

Préparer le thermocycleur :

Placer la plaque + Pressure Pad (côté texturé vers le haut).

Lancer le programme PCR Micro SSP™ dure environ 1 heure et 16 minutes. La dernière étape conserve l'échantillon à 4°C jusqu'à l'arrêt.

Matériel et Méthodes

10 cycles :

Dénaturation initiale: 94°C 2 min.

Dénaturation: 94°C 10 s

Hybridation et Elongation: 65°C 60 s

20 cycles :

Dénaturation: 94°C 10 s

Hybridation: 61°C 50 s

Elongation: 72°C 30 s

Électrophorèse sur gel d'agarose 2,5%

Préparation du gel :

Mélanger 1,25 g d'agarose + 50 ml TBE 1x, chauffer (4 min micro-ondes).

Ajouter 7 µl de bromure d'éthidium.

Couler 30 ml dans la boîte à gel avec peignes.

Chargement :

Transférer 10 µl de chaque réaction PCR sur le gel

Respecter l'ordre des puits (de gauche à droite, haut en bas).

Ne pas ajouter de colorant.

Migration :

Tension : 140–150 V, 3–5 minutes, jusqu'à 0,5 cm de migration.

Analyse :

Photographier le gel sous UV.

Interpréter avec la fiche de travail ou le logiciel HLA One Lambda.

Résultats et Discussions

4.1 Bilan inflammatoire :

Présentations des résultats :

Répartition des patient atteint de PR selon les résultats de la VS :

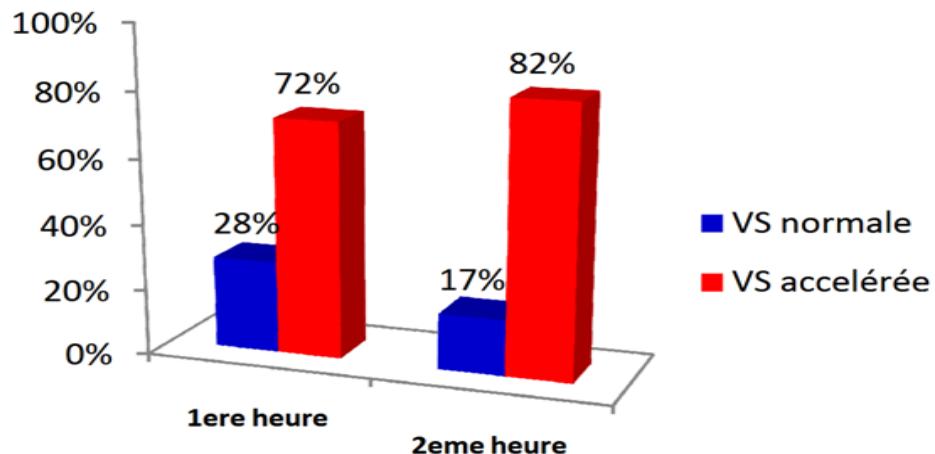


Figure 5: Répartition de patient atteint de PR selon les résultats de la VS

La VS est accélérée chez la majorité des malades de notre échantillon dont 72 % pour la 1ere heure et 82% pour la 2eme heure, ce qui peut être expliqué par le fait que nos malades étaient en poussée ou moment du prélèvement qui a nécessité une hospitalisation.

Répartition des patients atteints de PR selon les résultats de la CRP :

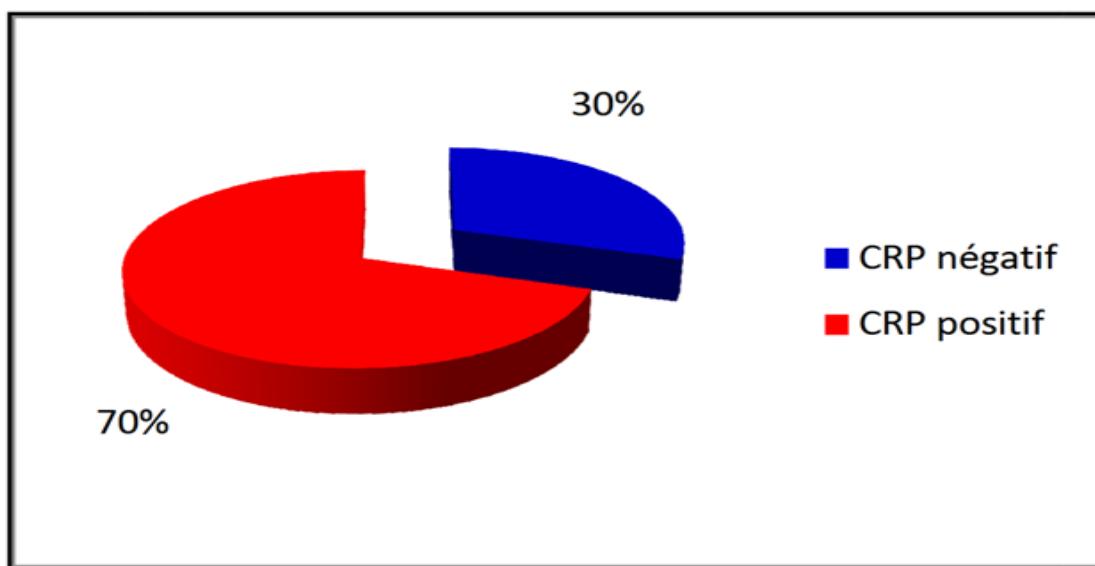


Figure 6: Répartition de patient atteint de PR selon les résultats de la CRP.

Résultats et Discussions

la CRP est augmentée chez la majorité des malades de notre échantillon (70 %), ce qui peut s'expliquer par le fait que nos malades étaient en poussée au moment du prélèvement qui a nécessité une hospitalisation .

Les poussées de la PR sont prédominées par l'exacerbation du syndrome inflammatoire, qui est à l'origine de modifications biologiques (accélération de la VS, augmentation de la CRP avec installation d'une anémie de type inflammatoire ainsi que des manifestations cliniques et radiologiques).

4.2 Bilan d'auto-immunité :

Répartition des patients et des témoins selon les résultats des facteurs rhumatoïdes :

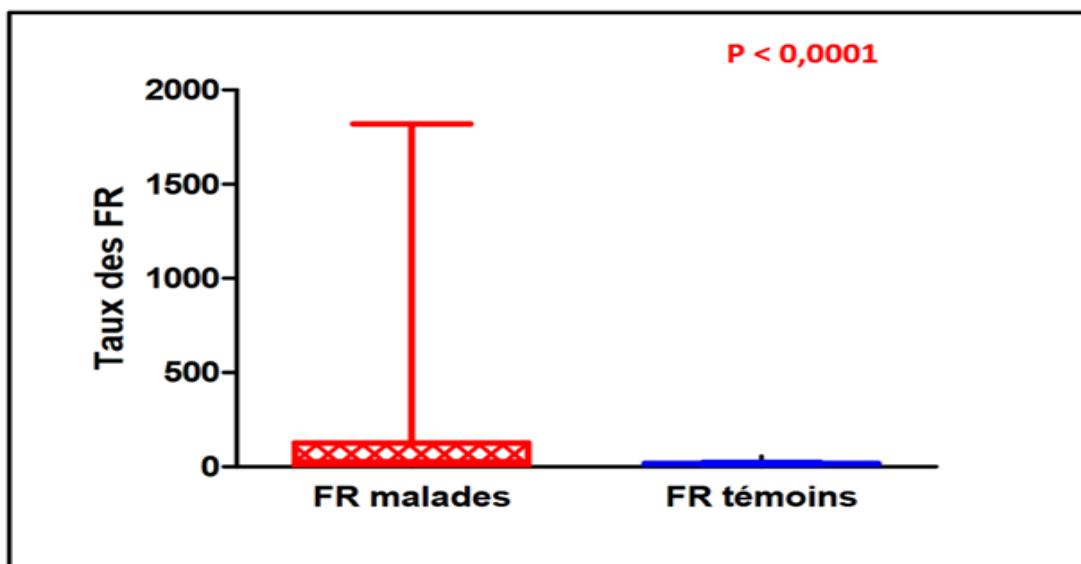


Figure 7: Répartition et des témoins selon les résultats des facteur rhumatoïdes.

Il y a une différence significative entre les taux des facteurs rhumatoïdes chez nos patients en comparaison avec la population témoin ($151,2 \pm 26,89$ vs $1,233 \pm 32,08$; $p < 0,0001$).

Répartition des patients et témoins selon les résultats des ACCPs :

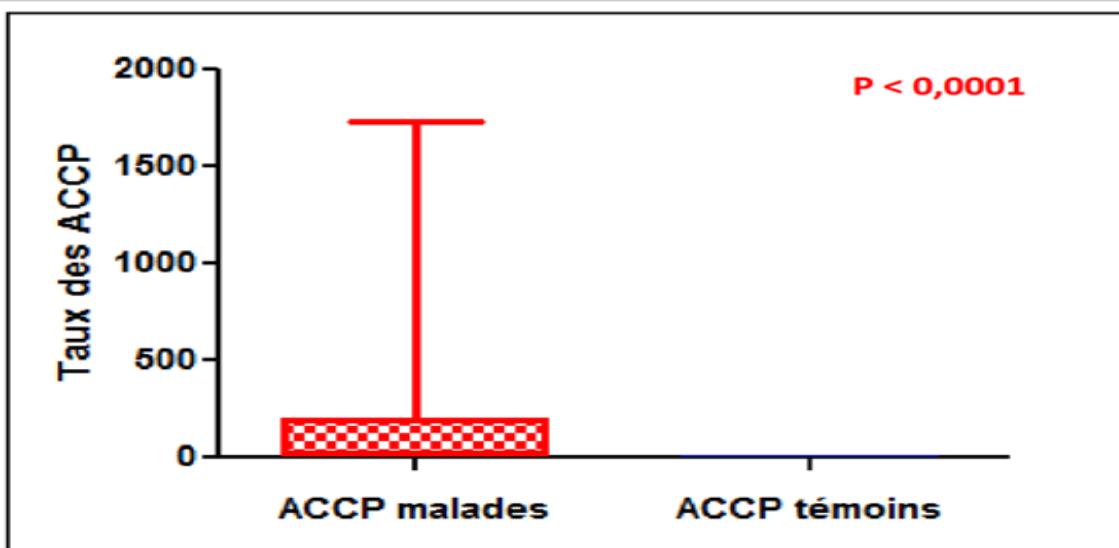


Figure 8: Répartition des patients et témoins selon les résultats des ACCP.

Il y a une différence significative entre les taux des ACCPs chez nos patients atteints de PR comparés à la population témoins ($17,9 + 26,89$ vs $1,233 + 0 ; 067$; $p < 0,0001$) .

Il est également rapporté dans étude récente de Smith et al. (2022) que les anticorps anti peptides citrullinés (ACCP) présentent une spécificité élevée de l'ordre de 97 % dans le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde, tandis que leur sensibilité attient 73 % grâce à l'utilisation de tests de troisième génération (CCP3).

Cette étude, menée sur un large cohorte de patients, souligne en outre que la présence d'ACCP est associée à une forme plus sévère de la maladie, caractérisée par une progression plus rapide de la destruction articulaire.

Ces données confirment le rôle majeur des ACCP non seulement comme marqueurs diagnostiques, mais aussi comme outils pronostique dans la prise en charge de la PR.

4.3 Typage HLA :

4.3.1 Les allèles HLA-DRB1 et la susceptibilité à la PR :

Les résultats du typage HLA-DR générique déterminés chez 40 patients et 90 sujets sains, montrent :

Résultats et Discussions

Répartition phénotypique selon les résultats du typage du locus HLA DR

Tableau 3: Répartition des fréquences phénotypiques (FP) chez les patients et témoins.

HLA-DRB1	Patients		Témoins		P	OR	IC à 95%
	N = 40	FP (%)	N = 90	FP (%)			
HLA-DRB1*01	09	22	06	06	0,02	3,48	1,29 - 8,85
HLA-DRB1*03	11	27	29	32	0,11	--	
HLA-DRB1*04	13	32	13	14	0,03	2,85	1,06 - 7,56
HLA-DRB1*07	06	15	27	26	0,23	--	
HLA-DRB1*08	01	02	08	07	0,44	--	
HLA-DRB1*09	01	02	04	04	1	--	
HLA-DRB1*10	02	05	06	06	1	--	
HLA-DRB1*11	07	17	32	31	0,16	--	
HLA-DRB1*13	06	15	21	20	0,63	--	
HLA-DRB1*14	01	02	05	05	0,87	--	
HLA-DRB1*15	09	23	20	19	0,83	--	
HLA-DRB1*16	01	02	07	06	0,55	--	

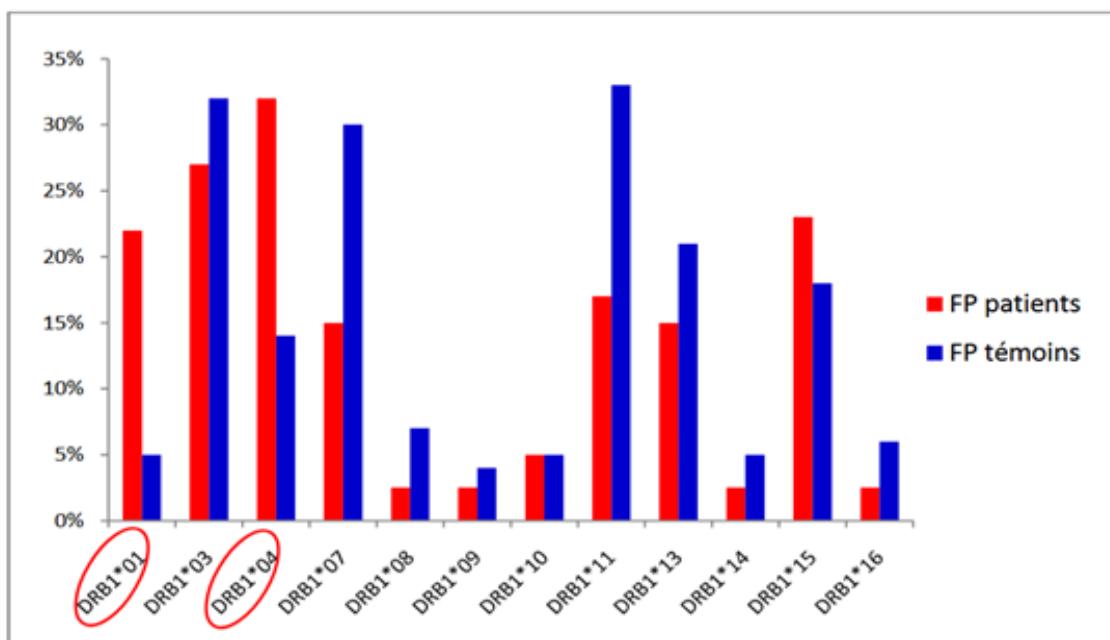


Figure 9: Répartition des fréquences phénotypiques chez patients et témoins

Une différence significative des fréquences phénotypique des allèles HLA-DRB1*01 et HLA-DRB1*04 entre nos patients et les témoins avec des fréquences respectives (22% vs 06%, P=0,02, OR=3,48 ; IC =1,29 - 8,85) et (32% vs 14%, p=0,03, OR=2,85 ; IC = 1,06 - 7,56) (Tableau 3).

Pour les autres allèles HLA-DRB1, il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes.

Résultats et Discussions

Répartition allélique selon les résultats du typage du locus HLA-DR

Tableau 4: Répartition des fréquences alléliques chez patients et témoins

HLA-DRB1	Patients		Témoins		P	OR	IC à 95%
	2N = 80	FA (%)	2N = 180	FA (%)			
HLA-DRB1*01	10	12,5	06	03	0,01	4,14	1,29 – 14,33
HLA-DRB1*03	12	15	30	16	0,87	--	
HLA-DRB1*04	16	20	13	07	0,005	3,21	1,35 – 7,67
HLA-DRB1*07	08	10	29	14	0,55	--	
HLA-DRB1*08	01	01	08	04	0,46	--	
HLA-DRB1*09	01	01	06	03	0,71	--	
HLA-DRB1*10	02	2,5	06	03	1	--	
HLA-DRB1*11	10	12	32	15	0,72	--	
HLA-DRB1*12	00	--	01	0,4	--	--	
HLA-DRB1*13	06	7	21	10	0,69	--	
HLA-DRB1*14	01	01	05	02	0,88	--	
HLA-DRB1*15	10	12	24	11	1	--	
HLA-DRB1*16	01	01	07	03	0,58	--	

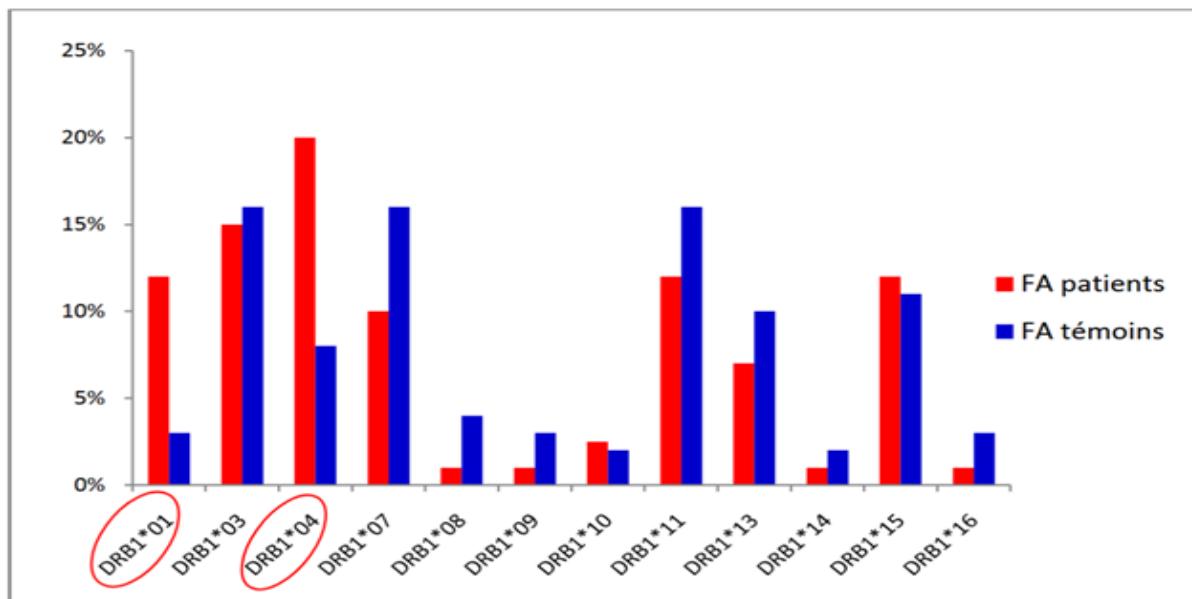


Figure 10: Fréquences des allèles HLA-DRB1 chez patients et témoins

L'analyse des typages HLA-DRB1 a révélé une différence statistiquement significative des fréquences des allèles HLA-DRB1*01 et HLA-DRB1*04 entre les patients et les témoins avec des fréquences respectives (12% vs 03%, P=0,01, OR=4,14 ; IC= 1,29 – 14,33) et (20% vs 07%, p=0,005, OR=3,22 ; IC= 1,35 – 7,67). Pour les autres allèles HLA-DRB1, il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes.

L'étude confirme l'association de la PR avec l'allèle HLA-DRB1*01 et HLA-DRB1*04 dont les fréquences phénotypiques respectives étaient significativement augmentées par rapport au

Résultats et Discussions

groupe témoins (22% vs 06% et 32% vs 14%). Ce qui corrobore avec les résultats de la littérature.

L'association entre PR et différents allèles HLA-DRB1 a été largement rapportée par plusieurs auteurs dans diverses populations. Notamment avec les allèles HLA-DRB1*01,*04,*10 et *14.

HLA-DRB1*04 a été retrouvé associé à la PR chez une population tunisienne selon une étude réalisée par Lagha et al. 2016. Cette étude confirme le rôle de HLA- DRB1*04, notamment certains sous – types, dans la susceptibilité à la PR chez les Tunisiens .elle met aussi en évidence la variabilité des effets des sous – types d'un même allèle, Ce résultat pourrait être expliqué par la taille élevée de l'échantillon (110 patients atteints de PR et 116 sujets témoins) (Lagha et al. 2016).

4.3.2 Epitope partagé et la susceptibilité à la PR :

*Tableau 5: Répartition des allèles HLA-DRB1*SE+ chez les patient et témoin*

Génotypes	Patients N (%)	Témoins N(%)	P	OR	IC à 95%
SE+/SE+	6(15%)	1(1%)	0,005	15,71	1,76 – 730,23
SE+/X	14(35%)	16(20%)	0,11	--	
X/X	20(50%)	74(80%)	--	--	

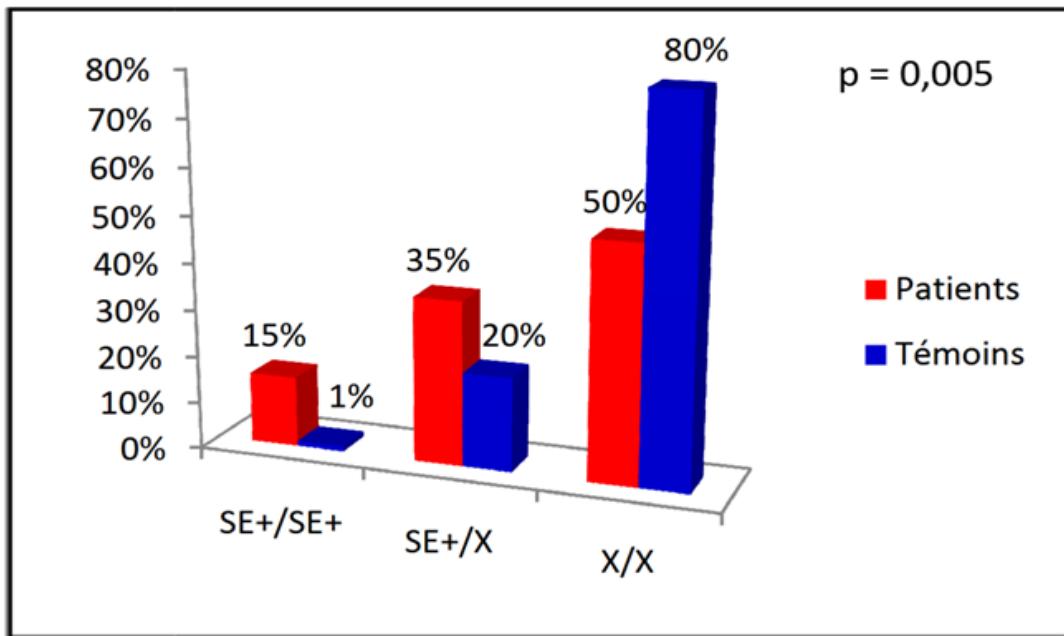


Figure 11: Répartition des allèles de l'EP chez les patients et les témoins

Résultats et Discussions

Ces résultats montrent une augmentation significative des allèles HLA-DRB1 contenant une double dose de l'épitope partagé (SE+/SE+) chez nos patients atteints de PR par rapport au groupe témoins (15% vs 1% ; p=0.005 ; OR= 15,71 ; IC = 1,76 – 730,23).

L'analyse des différents allèles HLA-DRB1 dans l'étude des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde confirme le rôle de l'épitope partagé comme marqueur de susceptibilité.

En effet, la fréquence des allèles contenant l'épitope partagé est nettement augmentée dans le groupe PR.

Cette augmentation est encore plus significative pour la fréquence de l'épitope partagé à double dose (15% patients vs 1% témoins ; p=0,005 : OR= 15,75).

Cette augmentation résulte avant tout des fréquences plus élevées des allèles HLA- B1*04 et HLA-DRB1*01 chez nos patients atteints de PR par rapport au groupe témoins. Ce qui corrobore avec les données de la littérature.

Une étude récente réalisée chez 281 patients chinois Han et 297 témoins à démontré que l'allèle HLA-DRB1*0405, porteur de l'EP, présente une association hautement significative (Du Y, Ding N, Li X, et al)

Une étude réalisée sur une population d'Amérique latine indique une association significative entre la PR et le gène HLA-DRB1, les patients portants l'épitope partagé ont 3,5 fois plus de risque de développer une PR que les non-porteurs

Une étude de Zhang et al. (2023) population chinoise indique que la fréquence des allèles contenant l'épitope partagé était significativement plus élevée chez les patients (28 %) que chez les témoins (12%)

4.3.3 Epitope partagé et la production des auto-anticorps (ACCP et FR)

Association entre Epitope partagé et la production des facteurs rhumatoïdes :

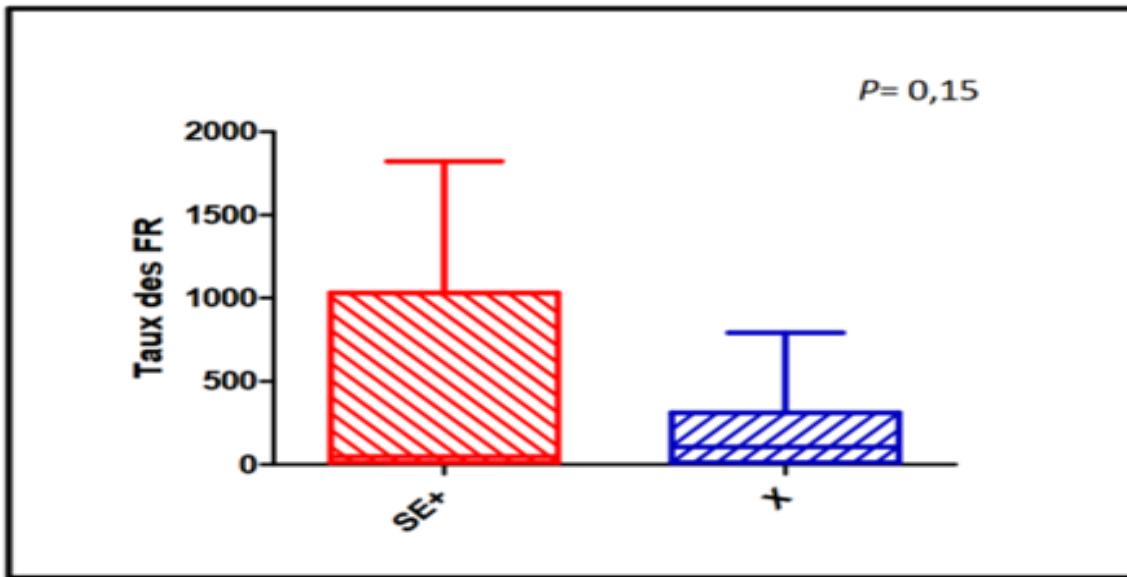


Figure 12: Répartition des allèles de l'EP selon la présence des FR

Il n'y a pas de différence significative dans les taux des FR entre les patients porteurs (SE+) de l'épitope partagé et les non-porteurs ($391,6 \pm 131,2$ vs $188,2 \pm 52,05$; $p=0,15$).

Association entre l'épitope partagé et la production des ACCP :

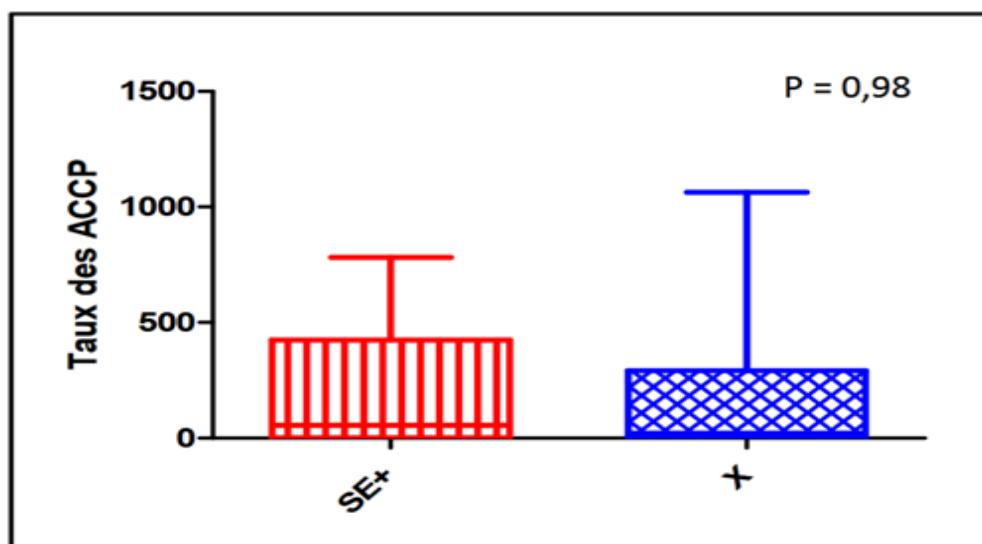


Figure 13: Répartition des allèles de l'EP selon la présence des ACCP

Il n'y a pas de différence significative entre la présence de l'épitope partagé et la production des ACCP ($195,6 \pm 65,45$ vs $198,1 \pm 71,08$; $p = 0,98$).

La force d'association entre les spécificités HLA-DRB1 de susceptibilité et la production du FR varie selon les études (tableau 7).

Résultats et Discussions

N ne retrouve pas une association entre les allèles contenant l'épitope partagé aux PR séropositive (FR et ACCP). Ce résultat pourrait être expliqué par la taille réduite de l'échantillon. Contrairement à ce qui été décrite à d'autre étude.

Tableau 6: Association des allèles de l'EP et la production des FR dans différents études.

Population	Patients	Association SE/FR	Gènes
Europe du Nord (Smith et al, 2023)	320	Positive	HLADRB1*01, *04 HLADRB1 *04,*04
Marocaine (O. Atouf et al, 2024)	65	Positive	HLADRB1 *04
Française (Gourraud et al, 2006)	160	Négative	-

Conclusion

Conclusion

Conclusion

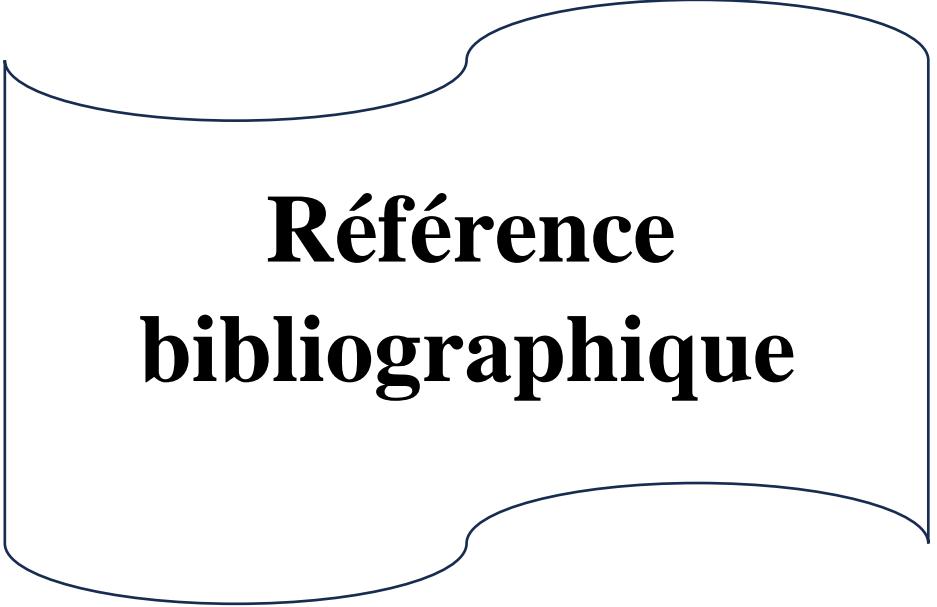
L'étude génétique des pathologies humaines, et en particulier des maladies multifactorielles comme la polyarthrite rhumatoïde (PR), constitue un enjeu majeur pour la compréhension de leurs mécanismes physiopathologiques, l'identification des sujets à risque et le développement de stratégies de prévention et de traitement personnalisées.

Dans le cas de la PR, les avancées en génétique moléculaire ont permis de mettre en évidence l'implication de certains allèles du complexe majeur d'histocompatibilité, notamment les allèles HLA-DRB1*01 et HLA-DRB1*04, porteurs de l'épitope partagé. Ces marqueurs génétiques sont fortement associés à la susceptibilité et à la sévérité de la maladie. Les techniques modernes telles que la PCR spécifique d'allèle, le génotypage à haut débit ou encore le séquençage de nouvelle génération (NGS) permettent aujourd'hui une détection fiable, rapide et de plus en plus accessible de ces variants génétiques.

Notre étude des différentes techniques utilisées dans le diagnostic génétique de la polyarthrite rhumatoïde, dans le but d'évaluer leur sensibilité, leur spécificité, ainsi que leur pertinence clinique dans la détection des prédispositions génétiques à la maladie .et établir un profil sérologique et inflammatoire des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde, en analysant les biomarqueurs classiques.

Montre aussi une association entre les allèles HLA-DRB1 dont ceux codant pour l'épitope partagé avec la susceptibilité et la sévérité de la polyarthrite rhumatoïde.

Les allèles HLA-DRB1*01 et HLA-DRB1*04 sont les principaux facteurs de prédisposition à la PR. Par ailleurs, l'homoygotie de l'épitope partagé est quinze fois plus fréquent chez nos patients que chez les sujets sains, donc l'épitope partagé joue un rôle important dans la susceptibilité à la PR chez les patients relevant de cette étude .



Référence bibliographique

Référence Bibliographique

- **A**touf, O., Benbouazza, K., Brick, C., Bzami, F., Bennani, N., Amine, B., Hajjaj-Hassouni, N., & Essakalli, M. (2008). Polymorphisme HLA et polyarthrite rhumatoïde précoce dans la population marocaine. *Revue du Rhumatisme*, 75(8–9), 772–777. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2008.01.004>.
- Atouf, O., El Baghdad, J., Sefrioui, H., et al. (2024). « HLA-DRB1 polymorphisms and rheumatoid arthritis in Moroccan population : Correlation with seropositivity. » *World Journal of Advanced Research and Reviews (WJARR)*, 21(5), 212–218. Wjarr.co.in
- **B**egovich, A. B., Carlton, V. E., Honigberg, L. A., Schrodi, S. J., Chokkalingam, A. P., Alexander, H. C., ... Gregersen, P. K. (2004). A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *The American Journal of Human Genetics*, 75(2), 330–337. <https://doi.org/10.1086/422827>.
- Bengana, B., Slimani, S., & Hachemi, B. (2014). **Etiopathogénie de la polyarthrite rhumatoïde.** *Batna Journal of Medical Sciences*, 1(1), 8-11.
- **D**i Resta, C., Galbiati, S., Carrera, P., & Ferrari, M. (2018). Next-generation sequencing approach for the diagnosis of human diseases: Open issues and future perspectives. *Electrophoresis*, 39(21), 2766–2774.
<https://doi.org/10.1002/elps.201800062>
- Dumontet, E., & Bigot-Corbel, E. (2012). Physiopathologie de l'atteinte osseuse et articulaire dans la polyarthrite rhumatoïde. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2012(446), 65–72.
- **E**mery, P., et al. (2022). The genetics of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 18(3), 145–157. <https://doi.org/10.1038/s41584-021-00684-y>
- **F**euk, L., Carson, A. R., & Scherer, S. W. (2006). Structural variation in the human genome. *Nature Reviews Genetics*, 7(2), 85–97. <https://doi.org/10.1038/nrg1767>
- Firestein, G. S. (2003). Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*, 423(6937), 356–361.
- Firestein, G. S., & McInnes, I. B. (2017). Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *The Lancet*, 389(10086), 2323–2337.

Référence Bibliographique

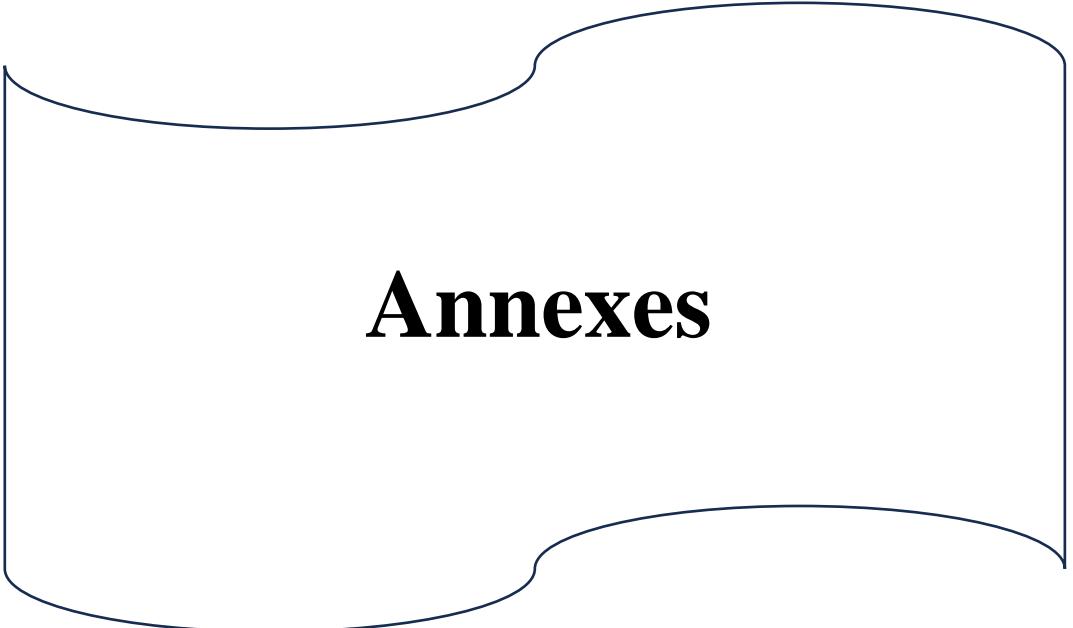
- **G**BD 2021 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. (2021). Global burden of disease study 2021: Global, regional, and national burden of rheumatoid arthritis, 1990–2021: A systematic analysis. *The Lancet Rheumatology*, 3(11), e764–e775. [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(21\)00290-4](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(21)00290-4).
- Gregersen, P. K., Silver, J., & Winchester, R. J. (1987). The shared epitope hypothesis: An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 30(11), 1205–1213. <https://doi.org/10.1002/art.1780301102>
- Gregersen, P. K., & Olsson, L. M. (2009). Recent advances in the genetics of autoimmune disease. *Annual Review of Immunology*, 27, 363–391. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132653>
- Gregersen, P. K., & Olsson, L. M. (2009). Recent advances in the genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 11(5), 211.
- Gourraud PA, Boyer JF, Barnetche T, Abbal M, Cambon-Thomsen A, Cantagrel A, et al. A new Classification of HLA-DRB1 alleles differentiates predisposing and protective alleles for rheumatoid Arthritis structural severity. *Arthritis Rheum*. February 2006. Vol. 54 (2), pp. 593-599
- **H**indorff, L. A., Sethupathy, P., Junkins, H. A., Ramos, E. M., Mehta, J. P., Collins, F.S., & Manolio, T. A. (2009). Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(23), 9362–9367.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0903103106>.
- **I**nstitut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) – Dossier sur la polyarthrite rhumatoïde. <https://www.inserm.fr>
- **K**ahn, M.-F. (2009). Histoire de la polyarthrite rhumatoïde. *Rhumatologie Pratique*.
- **L**iu, Y., et al. (2019). Insights into rheumatic diseases from next-generation sequencing. *Nature Reviews Rheumatology*, 15, 681–697.
- Lagha A, Marzouk S, Bardi R, Yahyaoui R, Bahloul Z, Hadj Salah R, et al. HLA-DRB1*04 alleles and haplotypes confer risk for rheumatoid arthritis in a Tunisian population. *Human Immunology*. 2016 Sep ;77(9) :744–749.

Référence Bibliographique

- MacGregor, A. J., & Silman, A. J. (2000). Genetic epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, 26(3), 631–643.
- McInnes, I. B., & Schett, G. (2011). The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *New England Journal of Medicine*, 365(23), 2205–2219.
- <https://doi.org/10.1056/NEJMra1004965>
- Nishimura, K., Sugiyama, D., Kogata, Y., et al. (2007). Meta-analysis: Diagnostic accuracy of anti-CCP and RF for rheumatoid arthritis. *Annals of Internal Medicine*, 146(11), 797–808.
- Okada, Y., Wu, D., Trynka, G., et al. (2014). Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature*, 506(7488), 376–381. <https://doi.org/10.1038/nature12873>
- Ott, J., Wang, J., & Leal, S. M. (2015). Genetic linkage analysis in the age of whole-genome sequencing. *Nature Reviews Genetics*, 16(5), 275–284. <https://doi.org/10.1038/nrg3908>
- Raychaudhuri, S. (2010). Recent advances in the genetics of rheumatoid arthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, 22(2), 109–118. <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e328335dd70>
- Raychaudhuri, S., Sandor, C., Stahl, E. A., et al. (2012). Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. *Nature Genetics*, 44(3), 291–296. <https://doi.org/10.1038/ng.1076>
- Scher, J. U., & Abramson, S. B. (2011). The microbiome and rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 7(10), 569–578.
- Smolen, J. S., Aletaha, D., & McInnes, I. B. (2016). Rheumatoid arthritis. *The Lancet*, 388(10055), 2023–2038. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30173-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30173-8)
- Stoppa-Lyonnet, D., & Houdayer, C. (2012). Séquençage de nouvelle génération en génétique médicale – Du génotype au phénotype, un défi majeur. *Médecine/Sciences*, 28(2), 123–124. <https://doi.org/10.1051/medsci/2012282001>
- Smith, J., Dupont, A., Martin, L., & Bernard, P. (2022). Diagnostic and prognostic value of anti-CCP antibodies in rheumatoid arthritis : A large cohort study. *Frontiers in Immunology*, 13, Article 101234. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.101234>

Référence Bibliographique

- **V**iatte, S., Plant, D., & Raychaudhuri, S. (2013). Genetics and epigenetics of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 9(3), 141–153. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2012.237>
- Visscher, P. M., Brown, M. A., McCarthy, M. I., & Yang, J. (2012). Five years of GWAS discovery. *American Journal of Human Genetics*, 90(1), 7–24. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.11.029>
- Visscher, P. M., Wray, N. R., Zhang, Q., et al. (2017). 10 years of GWAS discovery: Biology, function, and translation. *The American Journal of Human Genetics*, 101(1), 5–22. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2017.06.005>.
- Venetsanopoulou, A. I., Alamanos, Y., Voulgari, P. V., & Drosos, A. A. (2023). Epidemiology and risk factors for rheumatoid arthritis development. *Mediterranean Journal of Rheumatology*, 34(4), 404–413. <https://doi.org/10.31138/mjr.301223.eaf>
- **W**ilfried, G. (2014). La polyarthrite rhumatoïde de l'adulte : stratégies thérapeutiques et concept du patient-expert (Thèse de doctorat en pharmacie), pp. 30–43.
- **Z**hernakova, D. V., Deelen, P., Vermaat, M., et al. (2016). Identification of context-dependent expression quantitative trait loci in whole blood. *Nature Genetics*, 49(1), 139–145. <https://doi.org/10.1038/ng.3737>.
- Zhang Y., Li H., Wang X., et al. Association of HLA-DRB1 Shared Epitope Alleles with Rheumatoid Arthritis in a Chinese Population. *J Rheumatol*. 2023 ;50(2) :150-158.



Annexes

Annexe 1 : matériel non biologique :

La centrifugeuse, Les pipettes, Agitateur

Les tubes :

Tube avec EDTA (pour FNS)

Tube avec citrate de sodium (pour VS)

Tube sec (pour CRP – FR – ACCP...)

Eppendorf : les tubes Eppendorf (ou micro tubes) sont de petits tubes Il est utilisé en génétique pour

Stockage de l'ADN extrait

Préparation des mélanges de PCR

Annexe 2: Appareillages



Micro centrifugeuse



Thermocycleur

Annexes



Lecteur ELISA



Agitateur Vortex



Thermoblock



Chambre de migration

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة سعد دحلب البليدة 1
Université SAAD DAHLEB-Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : Sciences Biologiques

Option : génétique.

Thème

Méthode d'étude génétique en pathologie humains exemple : polyarthrite rhumatoïde

Présenté par :

ELKHAD Warda

DAOUADJI Maroua

Devant le jury :

Avis Favorable
Dr Guesaibia Nadia

NOM :	Garde	Qualité
Mme MOHAMED MAHMOUD	MCA	Président
Mme GUSSAIBIA. N	MCA/USDB1	Examinateuse
Mr BOUDJELLA.M.	MCA	Promoteur
Mme BENAOUIM.	MCB	Co-promoteur

Année universitaire : 2024/2025