



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 البليدة 1
Université Blida 1



Institut Pasteur

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologies

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

L'intérêt du dosage de l'ostéocalcine, de la CTX-1 de la vitamine D,
et de la métalloprotéinase 3 (MMP-3) chez les patients Algériens atteints de
polyarthrite rhumatoïde

Présenté par :

M^{elle}. BENKOUAR Ferial

et

Mr. BRAHIMI Ayoub

Devant le Jury :

<i>M^{me} KANANE A.</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Présidente</i>
<i>M^{me} AISSANI R.</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>M^{me} BENIDIR M.</i>	<i>MCA</i>	<i>IPA, Alger</i>	<i>Promotrice</i>
<i>M^{me} RAHIM I.</i>	<i>MCB</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Co-Promotrice</i>

Session 2020 / 2021

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu DIEU, le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, la patience et le courage nécessaire afin de mener ce modeste travail à terme. On lui doit ce qu'on est devenu. Louage et remerciement pour sa clémence et sa miséricorde.

C'est avec un grand honneur et grand plaisir qu'on adresse un immense merci à notre promotrice Madame **BENIDIR Mounira**, chef l'laboratoire d'auto-immunité au département d'immunologie de l'institut pasteur de Dely-Brahim (Alger), pour nous avoir accueillies dans son service et d'avoir accepté de nous encadrer, vous avez toujours été disponible malgré vos nombreuses occupations et obligations professionnelles. On vous remercie également pour votre aide, gentillesse ainsi que pour votre appui et votre précieux conseils.

On tient également à témoigner notre gratitude et reconnaissance à notre co-promotrice, Madame **RAHIM I.**, Maitre de conférences B à l'Université de Blida 1, pour le temps qu'elle nous a accordé et d'accepter de co-diriger notre travail, nous avons eu la chance de compter parmi vos étudiants depuis la licence. On la remercie également pour ses qualités pédagogiques, son esprit scientifique, ses encouragements et ses commentaires concernant ce mémoire.

Nous vifs remerciements s'adressent à Madame **KANANE L** pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider la soutenance ainsi qu'à Madame **AISSANI R** qui a bien voulu examiner notre travail et de nous honorer par sa participation au jury.

On remercie vivement le personnels du laboratoire qui nous ont accueilli dès le premier jour à bras ouvert et qui nous ont guidé au cours de notre stage et pour leur gentillesse et leur patience, Particulièrement à M^{me} **KEBBAB Samira** et **HAMDI Adila** pour leurs aide, leur encouragements, leurs nombreux conseils mais aussi pour leur gentillesses et leur bonne humeur. Nous avons partagé de bons moments.

On souhaite en outre remercier le département de formation, service stages et enseignements de l'institut pasteur d'Alger surtout M^{me} **RIHANE Louiza** et M^{me} **BENKOUAR Hayet**.

Nous ne pourrons pas oublier de merci du fond de nos cœurs, nos familles respectives qui nous ont soutenues, encouragées et motivées tout au long de nos études

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Dédicaces

Je dédie ce travail aux deux personnes qui me sont les plus chères, mes parents, à qui je dois tout, et pour qui aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond amour, ma gratitude, ni mon infinie reconnaissance pour l'ampleur des sacrifices et des souffrances que vous avez endurés pour mon éducation et mon bien. Ce travail est avant tout le vôtre, en espérant que vous soyez toujours très fiers de moi.

À ma famille, mes proches et à ceux qui m'ont donnée de l'amour et du soutien pour réaliser ce travail....

Ma grand-mère, ceci est ma profonde gratitude pour son éternel amour, et que ce mémoire soit le meilleur cadeau que je puisse lui offrir.

Mon frère et sœur qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

A toutes mes tantes et tous mes oncles, qui sont toujours présents

Je vous dédie ce travail en témoignage de l'amour que j'ai pour vous et que je suis parvenue à vous rendre fier.

A mes chers amis et collègues, A tous les moments qu'on a passés ensemble à l'université et ailleurs, à tous nos souvenirs

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer

BENKOUAR Ferial

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chères parents, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.

A mes très chers sœurs et mon frère , je suis très reconnaissant pour votre aide et encouragements.

À toute ma grande famille qui m'ont donnée de l'amour et du soutien pour réaliser ce travail

A mes amis, particulièrement dans mes études avec qui j'ai passé des meilleurs moments

Et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans ce travail et qui m'ont aimé et respecté tout au long de ma vie estudiantine.

BRAHIMI Ayoub

Liste des abréviations

ACPA	Anti-Citrullinated Peptides Antibodies
Ac	Anticorps
Ag	Antigène
ASAT	Aspartate amino-transférase
ALAT	Alanine amino-transférase
CRP	Protéine C réactive
CTX-I	Collagène télopeptides carboxy-terminaux de réticulation.
CPA	Cellules présentatrices d'antigène
CMH	Complex majeure d'histocompatibilité
DAS-28	Disease activity score for 28 joints/ score d'activité de la maladie dans 28 articulations
ELISA	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
FR	Facteur Rhumatoïde
HLA	Human Leukocyte Antigen
IL	Interleukine
IRM	Radiologie par résonance magnétique
IFN- γ	Interferon- γ
LB	Lymphocyte B
LT	Lymphocyte T
MMPs	Les metalloproteinase
MEC	Matrice extra cellulaire
NETs	neutrophil extracellular traps
OC	Ostéocalcine.
PR	Polyarthrite Rhumatoïde
RANK	Receptor Activator of NK- κ B
RANK-L	Receptor Activator of NK- κ B Ligand
TGF	Transforming Growth Factor
Th	Lymphocyte T helper
TIMPs	tissue inhibitors of metalloproteinases
TNF α	Le Tumor Necrosis Factor
VEGF	Vascular-Endothelial-Growth Factor
VS	Vitesse de sédimentation

Liste des figures

Figure 1 :	Articulation saine et articulation d'un patient atteint de PR.....	2
Figure 2 :	Facteurs de risques liés au développement de la polyarthrite rhumatoïde.....	4
Figure 3 :	Phase d'initiation de la PR.....	6
Figure 4 :	Articulation normale.....	6
Figure 5 :	Phase de recrutement et d'inflammation.....	7
Figure 6 :	Phase de prolifération synoviale et des lésions articulaires.....	8
Figure 7 :	MMP-3 dans l'inflammation et la destruction des articulations lors de la PR.....	12
Figure 8 :	Schéma de l'étude.....	13
Figure 9 :	Principe de la Laser-néphélométrie dans le dosage du Facteur Rhumatoïde.....	20
Figure 10 :	Principe de la technique ELISA.....	22
Figure 11 :	Répartition des patients PR selon le sexe.....	27
Figure 12 :	Répartition des patients PR et des sujets sains selon de l'âge	28
Figure 13 :	Profil en auto-anticorps des patients PR étudiés.....	30
Figure 14 :	Production moyenne en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains.....	32
Figure 15 :	Production moyenne en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains en fonction du sexe.....	33
Figure 16 :	Production moyenne en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains de sexe féminin en fonction de l'âge.....	35
Figure 17 :	Production moyenne en OCL et CTX-I chez les patientes PR en fonction du statut ménopausique.....	36
Figure 18 :	Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patients PR selon le stade érosif.....	37
Figure 19 :	Production moyenne en MMP-3 chez les patients PR vs. Sujets sains...	23
Figure 20 :	Production en MMP-3 chez les patients PR en fonction de l'érosion et de l'activité génitale.....	39
Figure 21 :	Taux moyen en Vitamine D chez les patients PR vs. Sujets sains.....	40
Figure 22 :	Taux moyen en Vitamine D chez les patients PR en fonction de l'érosion et de l'activité génitale.....	41
Figure 23 :	Algorithme du score MBDA.....	45

Liste des tableaux

Tableau 1	Critères ACR/EULAR 2010 de diagnostic de la PR.....	14
Tableau 2	Interprétation des résultats du dosage de la MMP-3 par ELISA.....	25
Tableau 3	Caractéristiques épidémiologiques des groupes de patients étudiés.....	28
Tableau 4	Principales caractéristiques cliniques et biologiques des patients PR.....	29
Tableau 5	Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains.....	31
Tableau 6	Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains selon le sexe.....	33
Tableau 7	Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains de sexe féminin selon l'âge.....	35
Tableau 8	Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patientes PR selon le statut ménopausique.....	36
Tableau 9	Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patients PR selon le stade érosif.....	37
Tableau 10	Comparaison des taux moyens en MMP-3 chez les patients PR vs. Sujets sains.....	38
Tableau 11	Comparaison des taux moyens en MMP-3 chez les patients PR en fonction de l'érosion et de l'activité génitale.....	39
Tableau 12	Comparaison des taux moyens en Vitamine D chez les patients PR vs. Sujets sains.....	40
Tableau 13	Comparaison des taux moyens en Vitamine D chez les patients PR en fonction de l'érosion et de l'activité génitale.....	41

Sommaire

Résumé	
Introduction	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1 POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.....	2
I.1.1. Définition	2
I.1.2. Épidémiologie	2
I.1.3. Étiologie	3
I.1.3.1. Facteurs environnementaux	4
I.1.3.2. Facteurs génétiques	5
I.1.3.3. Facteurs immunologiques	6
I.1.3.4. Facteurs hormonaux	7
I.1.3.5. Facteurs psychologiques	7
I.2. PHYSIOPATHOLOGIE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.....	8
I.2.1. Phase d'initiation.....	9
I.2.2. Phase d'inflammation et de la destruction articulaire	10
I.2.3. Phase de réparation	12
I.3. DIAGNOSTIC DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE	13
I.3.1. Critères de classification de la polyarthrite rhumatoïde	13
I.3.2. Biologie	14
I.3.2.1. Auto-anticorps associés à la PR	14
I.3.3. Imagerie	15
I.4. BIOMARQUEURS DU REMODELAGE OSSEUX	16
I.4.1. Marqueur de formation osseuse : Ostéocalcine	16
I.4.2. Marqueur de résorption osseuse : CTX-1.....	16
I.4.3. Métalloprotéases Matricielles (MMP).....	17
I.4.3.1. Classification des MMP.....	17
I.4.3.2. Métalloprotéase Matricielle 3 (MMP-3).....	18
CHAPITRE II : MATÉRIEL ET MÉTHODES	
II.1. MATÉRIEL	19
II. 1.1. Matériel biologique.....	19

II.1.2. Matériel non biologique.....	19
II.1.3. Démarche expérimentale	19
II.2. MÉTHODES.....	20
II.2.1. Dosage du Facteur Rhumatoïde par Laser Néphélométrie.....	20
II.2.2. Dosage des ACPA par la technique ELISA	21
II.2.3. Dosage des biomarqueurs du remodelage osseux « Ostéocalcine et CTX-I » par la technique ELISA	23
II. 2-4. Dosage de la MMP-3 par la technique ELISA	24
II. 2-5. Dosage de la Vitamine D	25
II-3. ANALYSE STATISTIQUE.....	26
CHAPITRE III : RÉSULTATS	
III.1. DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES.....	27
III.1.1. Caractéristiques cliniques et biologiques des patients PR.....	29
III.1.2. Profil en auto-anticorps des patients PR.....	30
III.2. ÉTUDE DE LA PRODUCTION DES BIOMARQUEURS « OSTÉOCALCINE ET CTX-1 ».....	31
III.2.1. Production en Ostéocalcine et en CTX-I chez les patients PR et les témoins sains....	31
III.2.2. Production d'Ostéocalcine et de CTX-I chez les patients PR et les témoins sains selon le sexe.....	32
III.2.3. Production en Ostéocalcine et de CTX-I chez les patients PR de sexe féminin et les témoins sains selon l'âge.....	34
III.2.4. Production en Ostéocalcine et de CTX-I chez les patientes PR en fonction du statut ménopausique.....	36

III.2.5. Production moyenne en Ostéocalcine et en CTX-I chez les patients PR en fonction du stade érosif.....	37
III.3. ÉTUDE DE LA PRODUCTION DE LA MÉTALLOPROTÉASE MATRICIELLE 3 (MMP-3).....	38
III.3.1. Production de la MMP-3 chez les patients PR et les témoins sains.....	38
III.3.2. Production moyenne en MMP-3 chez les patients PR en fonction du stade érosif et de la ménopause	38
III.4. DOSAGE DE LA VITAMINE D.....	40
III.4.1. Dosage de la Vitamine D chez les patients PR et les témoins sains	40
III.4.2. Taux moyens Vitamine D chez les patients PR en fonction du stade érosif et de la ménopause.....	40
CHAPITRE IV : DISCUSSION	
Discussion	42
Conclusion et perspectives.....	47
Références bibliographiques.....	48
Annexes	

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une pathologie auto-immune qui affecte près de 1% de la population mondiale et se caractérise par une inflammation articulaire, des altérations cartilagineuses et osseuses notamment associées à des douleurs articulaires chroniques.

Cependant, la précocité du diagnostic est un élément déterminant de la prise en charge optimale de la PR. Ainsi l'objectif de notre étude est d'évaluer l'implication des biomarqueurs du remodelage osseux (CTX-I et OCL), la MMP-3 et la vitamine D dans la sévérité de la PR, chez des patients Algériens.

Notre étude a porté sur 100 patients atteints de PR (âge : 50 ± 13 ans ; sexe ratio : 1 :6 ; durée d'évolution : 8 ± 3 ans), comparés à 60 sujets sains (âge : 29 ± 9 ans ; sexe ratio : 1 :5). Nous avons recherché dans la population étudiée : la CRP et le FR par Néphélométrie-Laser, les ACPA par la technique ELISA (EuroIMMUNTM), les bio-marqueurs du remodelage osseux (OCL et CTX-1), la MMP-3 et le dosage de la vitamine D par la technique ELISA.

L'analyse des résultats obtenus montre clairement que l'OCL ($p < 0,005$) est plus produite chez les sujets sains contrairement au CTX-1 ($p < 0,01$), qui est plus produit chez les patients atteints de PR, notamment, dans sa forme érosive. Ceci est plus accentué chez les patients de sexe féminin comparés aux sujets sains du même sexe ($p < 0,001$).

Quant à la comparaison des patients atteints de PR présentant une forme érosive vs. non érosive, elle a montré que le CTX-1 soit associé à l'érosion ($p < 0,04$). Par ailleurs, pour la MMP-3 et la vitamine D, nos résultats montrent que la MMP-3 est significativement plus produite chez les patients vs. sujets sains tandis qu'aucune différence significative n'a été obtenue pour la vitamine D.

Les biomarqueurs de remodelage osseux (OCL et CTX-1) et le MMP-3 sont directement liés à la sévérité de la PR dans notre population.

Mots clés : Polyarthrite rhumatoïde, remodelage osseux, biomarqueurs, OCL, CTX-1, MMP-3.

Rheumatoid arthritis (RA) is an auto-immun disease that affects nearly 1% of the world's population and is characterized by joint inflammation, cartilage and bone alterations, particularly associated with chronic joint pain.

However, the early diagnosis is a determining factor in the optimal management of RA. Thus, the objective of our study is to evaluate the involvement of biomarkers of bone remodeling (CTX-I and OCL), MMP-3 and vitamin D in the severity of RA, in Algerian patients.

Our study involved 100 patients with RA (age: 50 ± 13 years; sex ratio: 1: 6; development time: 8 ± 3 years), compared to 60 healthy subjects (age: 29 ± 9 years; sex ratio: 1: 5). We looked for in the studied population: CRP and FR by Laser Nephelometry, ACPA by ELISA technique (EuroIMMUNTM), biomarkers of bone remodeling (OCL and CTX-1), MMP-3 and assay of vitamin D by the ELISA technique.

Analysis of the results obtained clearly shows that OCL ($p < 0.005$) is more produced in healthy subjects unlike CTX-1 ($p < 0.01$), which is more produced in patients with RA, in particular, in its erosive form. This is more pronounced in female patients compared to healthy subjects of the same sex ($p < 0.001$).

As for the comparison of patients with RA with an erosive form vs. non-erosive, it showed that CTX-1 is associated with erosion ($p < 0.04$). Furthermore, for MMP-3 and vitamin D, our results show that MMP-3 is significantly more produced in patients vs. healthy subjects while no significant difference was obtained for vitamin D.

Bone remodeling biomarkers (OCL and CTX-1) and MMP-3 are directly related to the severity of RA in our population.

Keywords: Rheumatoid arthritis, bone remodeling, biomarkers, OCL, CTX-1, MMP-3.

التهاب المفاصل الروماتويدي (RA) هو مرض مناعي ذاتي يصيب ما يقرب من 1% من سكان العالم ويتميز بالتهاب المفاصل وتغيرات العضاريف والعظام ، خاصة المرتبطة بالأم المفاصل المزمنة. ومع ذلك ، فإن التشخيص المبكر هو عامل حاسم في الإدارة المثلى لمرض التهاب المفاصل الرثياني. وبالتالي فإن الهدف من دراستنا هو تقييم مشاركة المؤشرات الحيوية لإعادة تشكيل العظام (CTX-I و OCL) و MMP-3 وفيتامين D في شدة التهاب المفاصل الروماتويدي لدى المرضى الجزائريين.

تضمنت دراستنا 100 مريض مصاب بالتهاب المفاصل الروماتويدي (العمر: 50 ± 13 عامًا ؛ نسبة الجنس: 1: 6 ؛ وقت التطور: 8 ± 3 سنوات) ، مقارنة بـ 60 شخصًا أصحاء (العمر: 29 ± 9 سنوات ؛ نسبة الجنس: 1: 5). بحثنا عن الأشخاص الذين تمت دراستهم: CRP و FR بواسطة مقياس النوى بالليزر ، ACPA بتقنية ELISA (EuroIMMUNTM) ، المؤشرات الحيوية لإعادة تشكيل العظام (OCL و CTX-1) ، MMP-3 ومقايسة فيتامين D بتقنية ELISA.

يُظهر تحليل النتائج التي تم الحصول عليها بوضوح أن OCL ينتج أكثر في الأشخاص الأصحاء على عكس (p < 0.01) CTX-1 ، والذي ينتج أكثر في مرضى RA ، على وجه الخصوص ، في شكله التآكلي. يكون هذا أكثر وضوحًا في المرضى الإناث مقارنة بالأشخاص الأصحاء من نفس الجنس (P < 0.001).

بالنسبة للمقارنة بين مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي ذو الشكل التآكلي مقابل غير مسبب للتآكل ، فقد أظهر أن CTX-1 مرتبط بالتآكل (p < 0.04). علاوة على ذلك ، بالنسبة لـ MMP-3 وفيتامين D ، تظهر نتائجنا أن MMP-3 ينتج بشكل أكبر في المرضى مقابل الأشخاص الأصحاء بينما لم يتم الحصول على فرق معنوي لفيتامين D. ترتبط المؤشرات الحيوية لإعادة تشكيل العظام (OCL و CTX-1) و MMP-3 ارتباطًا مباشرًا بشدة التهاب المفاصل الروماتويدي في مجتمعنا.

الكلمات الدالة : التهاب المفاصل الروماتويدي ، إعادة تشكيل العظام ، المؤشرات الحيوية ،

OCL ، CTX-1 ، MMP-3

La Polyarthrite Rhumatoïde (PR) est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques (Combe *et al.*, 2015). Elle affecte 0,5 à 1% de la population mondiale, survenant plus fréquemment chez les femmes (Song et Lin., 2017). La dénomination de la « PR » remonte à 1850 tandis que ses critères de classification n'ont été établis qu'il y a de cela une cinquantaine d'années (Scott *et al.*, 2010). C'est une pathologie multifactorielle impliquant des facteurs environnementaux, génétiques, immunologiques voire même et surtout psychologiques (stress, composante majeure) (Combe *et al.*, 2015).

Sur le plan clinique, la PR se caractérise par la survenue d'arthralgies voire même d'arthrites avec une érosion osseuse pouvant nuire gravement à la fonction physique du patient et à sa qualité de vie (Sparks, 2019). Cette destruction de l'articulation atteinte remet en cause le remodelage osseux qui, à l'état physiologique, est un processus continu se produisant durant la vie. Ledit processus possède des marqueurs biochimiques (BTM, Bone Turnover Markers) classés en biomarqueurs de :

- Résorption osseuse dont le CTX-1 (« Carboxy-Terminal collagen crosslinks » ou « Téloptides du Collagène osseux de type 1 ») ;
- Formation osseuse dont l'OCL (Ostéocalcine) (Gravallese *et al.*, 2015 ; Jinqiao *et al.*, 2016).

Dans les conditions physiologiques, les ostéoclastes de résorption osseuse et les ostéoblastes d'ostéogénèse sont hautement régulées pour assurer l'homéostasie. Cependant, cette dernière est perturbée par l'inflammation liée à la PR et induit une destruction osseuse (Gravallese *et al.*, 2015) et en parallèle, la synoviale produit de nombreuses cytokines pro-inflammatoires ainsi que des protéase, parmi lesquelles figure la MMP-3 (Métalloprotéase Matricielle 3) considérée comme la principale protéase responsable de la dégradation articulaire chez les patients polyarthritiques (Lerner *et al.*, 2019). Dans cette étude, nous nous sommes fixés pour objectifs :

- Principal : Comparer les taux sériques des biomarqueurs de remodelage osseux (OCL et CTX-I), de la MMP-3 et de la Vitamine D des patients PR à ceux de la population témoin ;
- Secondaires :
 1. Évaluer la production des biomarqueurs de remodelage osseux, chez les patients, en fonction du sexe et de l'âge, de la ménopause, afin d'écartier les effets de l'ostéoporose, et la forme de la maladie (érosion ou non) ;
 2. Doser, dans un but pronostique, la MMP-3 et la Vitamine D, en fonction des statuts de la ménopause et de l'érosion osseuse des patients.

I-1. POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

I. 1-1. Définition

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est la maladie rhumatismale inflammatoire auto-immune chronique, la plus fréquente. Il s'agit d'une inflammation persistante des membranes synoviales (synovites) qui touche au moins trois articulations principalement : les poignets, les articulations métacarpo-phalangiennes, les interphalangiennes proximales et les pieds (**Figure 1**). Ces synovites peuvent conduire à des lésions du cartilage et des os ou parfois à une destruction totale des articulations et par conséquent, des pertes de fonction des membres (**Borderie, 2012 ; Hernández et al., 2017 ; Song et Lin., 2017**).

Outre les atteintes poly-articulaires, la PR se caractérise par des manifestations extra-articulaires chez environ 50% des patients. Les poumons, le cœur et le système nerveux peuvent être atteints (**Das et Padhan., 2017**).

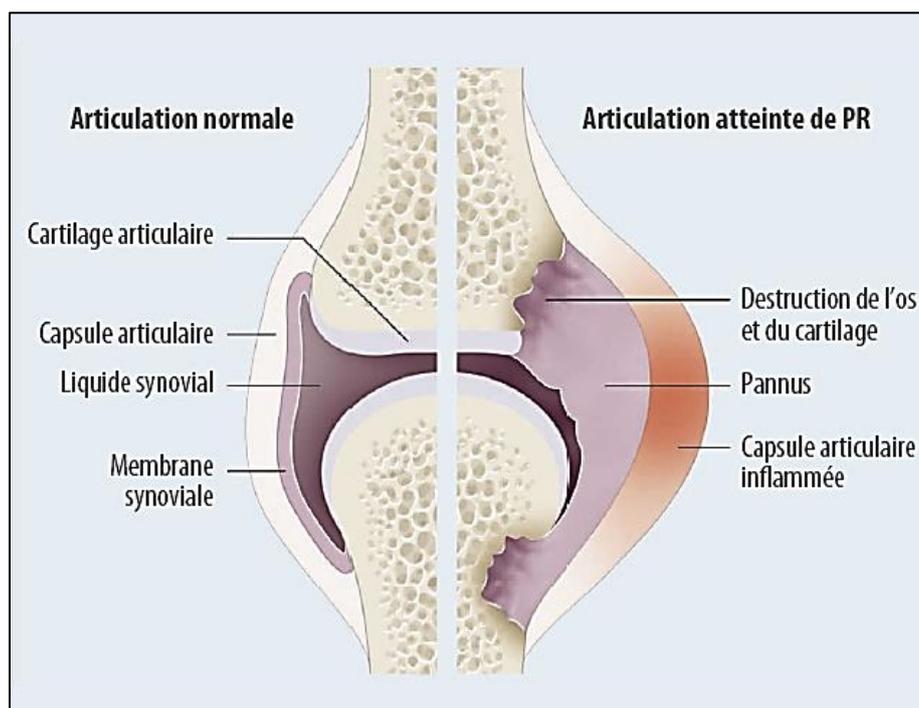


Figure 1. Articulation saine et articulation d'un patient atteint de PR (**Hassan et Gosset., 2015**).

I. 1-2. Épidémiologie

La PR est une pathologie hétérogène dans sa présentation et sa répartition géographique. Sa prévalence et son incidence à travers le monde, malgré différents registres, sont peu documentées (**Roux, 2007 ; Minichiello et al., 2017**).

Cette pathologie est de façon certaine le rhumatisme inflammatoire chronique le plus fréquent : il atteint 0,3 à 1% de la population adulte mondiale, selon les études (**El Bakkouri et Fellah., 2014**).

L'âge moyen d'apparition des premiers signes de la pathologie se situe autour de 50 ans (**Song et Lin., 2017**). Elle touche plus les femmes avec un sex-ratio est de 2 à 5 femmes atteintes pour 1 homme atteint, mais cette différence diminue progressivement au-delà de 70 ans (**Baclé , 2012**).

En Algérie, la prévalence de la PR a été estimée par une seule étude faite en 2010 dans la ville de Barika. La prévalence de la PR de la population locale a été estimée de 0.13%. La prévalence ajustée selon l'âge et le sexe pour l'ensemble de la population de l'Algérie a été estimée à 0.15% (**Slimani et Ladjouze., 2014**).

Les patients atteints de PR ont un risque de mortalité plus élevé que la population générale. Des études menées au cours des 50 dernières années ont systématiquement observé des patients atteints de PR présentant un risque de mortalité 1,5 fois plus élevé que la population générale (**Otón et Carmona., 2020**).

I. 1-3. Étiologie

La polyarthrite rhumatoïde est, à l'image d'autres maladies auto-immunes, une maladie multifactorielle dont l'origine exacte reste encore inconnue (**Sany, 2003 ; Firestein et al., 2017**).

En effet, il semblerait que la PR ne soit pas la conséquence d'une cause unique, mais plus vraisemblablement que plusieurs facteurs présents en même temps chez un même patient en soient responsables. Ces facteurs sont tout aussi bien environnementaux qu'intrinsèques au patient (facteur génétique, trouble hormonal, infection virale, trouble psychologique, facteur alimentaire...). Ainsi, l'interaction de ces facteurs pourrait être à l'origine du dysfonctionnement du système immunitaire et au déclenchement de la maladie (**Figure 2**) (**Sany, 2003 ; Firestein et al., 2017**).

Le ou les antigènes à l'origine du déclenchement de la PR restent incertains en dépit des nombreuses recherches réalisées sur ce sujet. Ce trouble immunitaire pourrait être le résultat de la présence d'antigènes dits « endogènes » (le collagène, la glycoprotéine 39 du cartilage ou bien encore des facteurs rhumatoïdes) ou d'autres dits «exogènes» (protéines de chocs thermiques, agents infectieux, etc.) (**Sany, 2003 ; Firestein et al., 2017**).

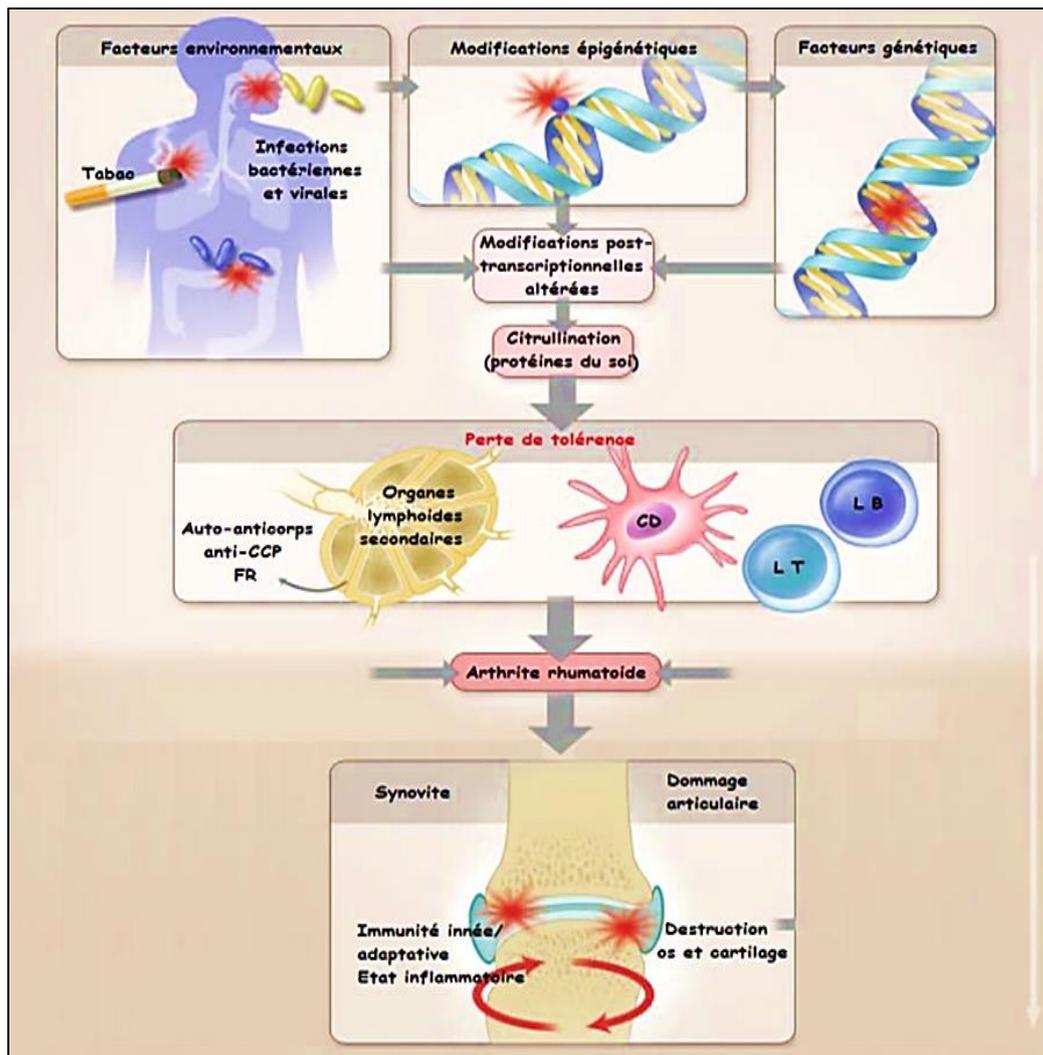


Figure 2. Facteurs de risques liés au développement de la polyarthrite rhumatoïde (McInnes et Schett., 2011)

I.1. 3-1. Facteurs environnementaux

Les prévalences variables de la maladie selon la zone géographique laissent suggérer l'intervention de l'environnement. Plusieurs facteurs sont mis en cause, tels que le tabagisme, la pollution atmosphérique, la consommation d'alcool, des contraceptifs oraux, la carence en vitamine D, et certaines infections (Pradeepkiran, 2019). Néanmoins, seuls le tabagisme et le contact avec certains agents infectieux particuliers ont été le sujet d'études rigoureuses (Oliver et Silman., 2006).

Le tabagisme : L'exposition active à la fumée de cigarette constitue le risque environnemental le plus important associé à une PR augmentant le risque jusqu'à 40% (De Cock et Hyrich., 2019). Celui-ci serait multiplié par deux par rapport à des non-fumeurs

(Chang *et al.*, 2014). L'exposition passive prolongée notamment dans l'enfance pourrait, elle aussi, accroître le risque de PR chez les fumeurs (Seror *et al.*, 2017). La probabilité de développer une PR est augmentée à la fois par la durée et l'intensité du tabagisme avec une influence plus importante de la durée du tabagisme (Costenbader *et al.*, 2006 ; Di Giuseppe *et al.*, 2013 ; Hedström *et al.*, 2018).

Les agents infectieux : la similitude des symptômes entre des arthrites d'origine virale et la PR ainsi que les pics saisonniers de PR ont permis aux chercheurs d'orienter les recherches sur une origine infectieuse à la maladie. Des structures moléculaires similaires entre quelques antigènes infectieux et articulaires pourraient expliquer ce fait. Par l'intermédiaire de ce mimétisme moléculaire, les agents infectieux peuvent ainsi créer un dysfonctionnement immunitaire et ainsi initier la pathologie (Sany, 2003). Plusieurs virus et bactéries sont suspectés, on retrouve *E. coli*, le virus de l'hépatite C, le virus de la rubéole mais seul le virus d'Epstein-Barr ou EBV reste la cible de prédilection (Menkès *et al.*, 2004 ; Ghozani *et al.*, 2012).

I.1. 3-2. Facteurs génétiques

L'existence d'une prédisposition génétique dans la PR a été mise en exergue suite à l'observation d'une agrégation familiale de la pathologie et de l'étude de concordance chez les jumeaux monozygotes et dizygotes. L'héritabilité de la PR est estimée entre 40 et 50% pour les PR séropositives (PR-ACPA+, *anti-citrullinated protein antibodies*) et entre 20 et 30% pour les PR séronégatives (PR-ACPA-) (Frisell *et al.*, 2013; Frisell et Askling., 2016). De nombreuses études ont permis d'identifier des gènes de susceptibilité de la PR. Parmi eux, le plus connu est le locus *HLA* mais il existe d'autres facteurs génétiques non-*HLA* dans la prédisposition à la PR (Viatte et Barton., 2017).

Le marqueur génétique de la PR le mieux étudié et le plus significatif est sans aucun doute une région du gène *HLA-DRB1*, souvent surnommé «l'épitope partagé». Parmi les gènes non-*HLA* associés à un risque de PR ayant les scores d'association les plus élevés nous citons les gènes : *PTPN22* (Protein tyrosine phosphatase, non receptor type 22), *TNF* (Tumor Necrosis Factors), *IL-6*, *CRP* (Protéine C réactive), *CTLA4* (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4), *IL-6*, *IL-10*...etc (Dieudé et Cornélis., 2005; Angelotti *et al.*, 2017; Viatte et Barton., 2017).

I.1. 3-3. Facteurs immunologiques

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie d'origine immunologique (auto-immune), qui débute avec une activation anormale du système immunitaire.

Comme toute maladie auto-immune, la PR résulte d'un dysfonctionnement du système immunitaire qui ne reconnaît pas les propres constituants de l'organisme (les « auto-antigènes ») et va s'attaquer à eux. On parle alors de « rupture de la tolérance ». L'origine de la rupture de tolérance reste le plus souvent énigmatique. Plusieurs cellules et acteurs immunitaires peuvent être impliqués, notamment : les cellules dendritiques, les macrophages, les neutrophiles, les LT et LB qui contribuent différemment à la pathogenèse de la maladie (**Khandpur *et al.*, 2013; Sur Chowdhury *et al.*, 2014; Berthelot *et al.*, 2017; Demoruelle *et al.*, 2017**).

Les neutrophiles activés sont capables de former des filaments extracellulaires composés d'ADN, d'histones et de protéines appelés pièges extracellulaires des neutrophiles ou *neutrophil extracellular traps* (NETs). La formation de NETs entraîne la lyse du neutrophile et cette mort cellulaire est appelée NETose. La NETose semble jouer un rôle dans les mécanismes physiopathologiques de plusieurs pathologies auto-immunes, dont la PR, en modifiant l'exposition des autoantigènes au système immunitaire et en participant à la rupture de tolérance. L'une des hypothèses repose sur la présence d'antigènes cibles des ACPA (*Anti-Citrullinated Protein Antibodies*) produits dans la PR au niveau des NETs qui participe à la synthèse des ACPA dans les synoviales rhumatoïdes (**Khandpur *et al.*, 2013; Sur Chowdhury *et al.*, 2014; Berthelot *et al.*, 2017; Demoruelle *et al.*, 2017**).

Outre la NETose, l'autophagie semble jouer un rôle dans la progression pathologique de la PR. En effet, le taux d'autophagie est augmenté dans les cellules T CD4⁺ des patients polyarthritiques entraînant une perte de leur homéostasie et une augmentation de leur résistance à l'apoptose ce qui pourrait promouvoir la PR (**Van Loosdregt *et al.*, 2016**).

Bien que le rôle exact des lymphocytes T dans la PR reste incertain, il existe des preuves convaincantes suggérant que les lymphocytes T CD4⁺ contribuent de manière significative à la réponse auto-immune chronique de la PR.

Les cellules T-helper de type 1 (Th1) sont fortement activées dans la PR et sécrètent des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IFN- γ , l'IL-2 et le TNF- α (**Meednu *et al.*, 2016**). En

outre, les cellules Th1 activent les macrophages pour agir comme une CPA pour présenter des autoantigènes par les molécules du CMH-II aux cellules T (**Cope, 2008**).

D'autre part, les cellules T-helper de type 2 (Th2) sécrètent des cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-4 et l'IL-5 et jouent un rôle central dans l'activation des cellules B (**Schulze-Koops et Kalden., 2001**).

I.1. 3-4. Facteurs hormonaux

Les données épidémiologiques montrent que la PR est entre deux à cinq fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme (**Cross et al., 2014**), laissant supposer une implication hormonale dans le déclenchement de la pathologie. Toutefois, une augmentation de 20 fois de la concentration d'œstrogène a été observée chez les patients atteints de PR et chez les deux sexes (**Pradeepkiran, 2019**).

D'autre part, la grossesse possède un effet protecteur à la fois sur le déclenchement et l'activité de la PR. En effet, durant la grossesse, les taux circulants des hormones placentaires stéroïdiennes (*i.e.* œstrogènes, progestérone et cortisol) pourraient supprimer directement ou indirectement l'inflammation synoviale en inhibant le système immunitaire maternel et induire une tolérance immune (**Hughes et Choubey., 2014**). Juste après la naissance, le risque de PR est augmenté chez la mère durant les 3 premiers mois et diminue durant les 9 mois suivants. On peut aussi noter que la PR se présente le plus souvent après la ménopause et qu'une ménopause à un âge jeune augmente le risque de PR (**Alpízar-Rodríguez et al., 2016**). Par contre, à l'heure d'aujourd'hui, aucune étude pertinente n'a pu montrer de lien significatif entre la prise d'un contraceptif hormonal oral ou d'une thérapie de remplacement hormonale et le développement d'une PR (**Alpízar-Rodríguez et al., 2016**). Les résultats quant aux rôles protecteurs ou de facteur de risque dans la PR des hormones restent controversées car ils sont fortement dépendants de chacune des phases de la vie d'une femme ainsi que des phases de la pathologie.

I.1. 3-5. Facteurs psychologiques

Les facteurs psychologiques dans la PR semblent participer à l'évolution de la pathologie mais ne semble pas constituer un risque pour développer une PR en tant que tel. La dépression est plus fréquente chez les patients PR (avec une prévalence comprise entre 14 à 48% en fonction des études) et est associée à une augmentation de la douleur ressentie, du stress et de la fatigue conduisant à une diminution de la qualité de vie des patients. La PR est aussi

connue pour augmenter l'anxiété chez les patients (**Matcham et al., 2013; Sturgeon et Zautra., 2016**).

I-2. PHYSIOPATHOLOGIE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

La PR est une pathologie complexe et les mécanismes physiopathologiques mis en jeu sont multiples et varient en termes d'intensité et de localisation, en fonction du stade de la pathologie. L'origine de l'inflammation initiale demeure inconnue. Toutefois, on peut affirmer que la cause de la PR dépend de l'apparition d'un ou de plusieurs auto-antigènes dans un contexte génétique et environnemental, les cytokines tiennent une place centrale et plusieurs catégories de cellules de l'immunité jouent un rôle déterminant avec une réactivité anormale aux stimuli (**Boissier et al., 2019**).

L'inflammation de la membrane synoviale conduit à des pannus synoviaux, à des synovites rhumatoïdes et à des destructions tissulaires touchant toutes les articulations ou également conduisant à des atteintes extra-articulaires, notamment vasculaires (**Boissier et al., 2019**).

On distingue différents mécanismes physiopathologiques de lésions articulaires :

- Des mécanismes enzymatiques non spécifiques par production en large quantité d'enzymes protéolytiques (métalloprotéines dont les collagénases) qui dégradent le cartilage, sous l'action des cytokines pro-inflammatoires.
- Des mécanismes immunologiques à médiation humorale avec la production de facteurs rhumatoïdes, immuno-anti-IgG
- Des mécanismes immunologiques à médiation cellulaire avec une hyperactivité des lymphocytes T CD4 +
- Des mécanismes faisant intervenir diverses interleukines, en particulier des cytokines pro-inflammatoires l'IL-1, le TNF- α et IL-6 par leurs actions sur l'inflammation et la production d'enzymes protéolytiques (collagénases, stromélysines ou MMP), des chimiokines tel que l'IL-8 par son action sur les polynucléaires neutrophiles (**Cantagrel, 2018**).

La physiopathologie de la PR est caractérisée par 3 principales phases (**Bouhdiche et Larafa, 2013**) :

- Phase d'initiation
- Phase d'inflammation de la membrane synoviale et de la destruction articulaire

- Phase de réparation.

I. 2-1. Phase d'initiation

L'initiation est due à une réponse immunitaire non spécifique. Un terrain de prédisposition associé à des facteurs environnementaux entraîne des modifications épigénétiques, puis des modifications post traductionnelles. L'enchaînement de cette cascade conduit vers la perte de la tolérance, puis à des synovites asymptomatiques avant le développement d'une arthrite symptomatique.

Les initiateurs de la réponse inflammatoire sont des auto-antigènes situés dans les articulations (collagène de type II, protéoglycanes, protéines de la matrice) ainsi que des peptides exogènes avec un mimétisme génétique, issus de bactéries ou de virus (activation des récepteurs TLR) (**Beramtane, 2017**).

Les ostéoclastes (macrophages résidents le tissu osseux) activés par les auto-antigènes produisent des cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-1, et l'IL-6 qui participent à l'amplification et à la persistance de l'inflammation (**Pillon et Michiels., 2013**).

De plus, la présentation des auto-antigènes par les cellules présentatrices d'antigène (CPA) aux lymphocytes CD4 via la formation du complexe (CMH II -Epitope -TCR), permet leur activation. Une fois activés, les LT-CD4+ secrètent des cytokines pro-inflammatoires : TNF α , IL-6, IL -2 et INF- γ qui a leurs tour vont participer à l'amplification de l'inflammation par l'activation d'autres cellules immunitaire (Macrophage, fibroblastes, Lymphocyte B) eux-mêmes responsables de la production de cytokines pro-inflammatoires entraînant l'inflammation et plus tardivement la dégradation ostéo-cartilagineuse (**Baclé, 2012**).

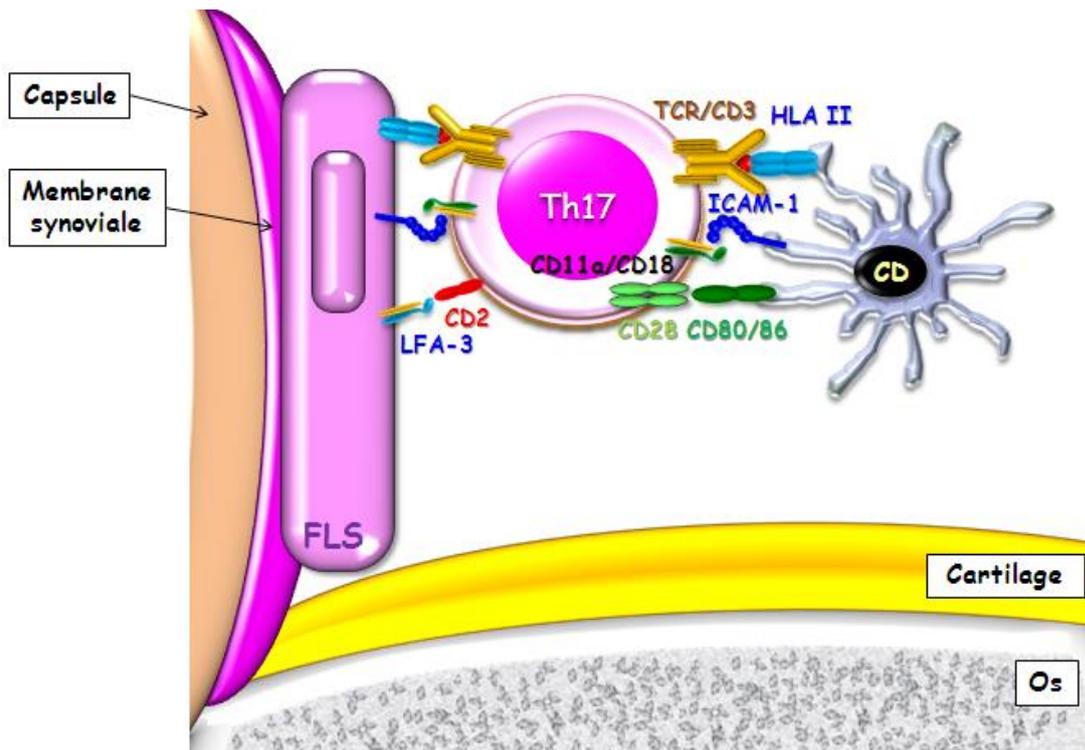


Figure 3. Phase d'initiation de la PR (Benidir, 2009).

I. 2-2. Phase d'inflammation et de la destruction articulaire

Une fois la phase d'initiation est achevée, place à la migration des cellules immunitaires du sang vers la synoviale ce qui mène à la formation d'une synovite qui est facilité par la formation de nouveaux vaisseaux sanguins nommé angiogenèse, dès le premier stade de la PR (Baclé, 2012).

L'angiogenèse est un phénomène qui dépend des facteurs de croissance le VEGF (*Vascular-Endothelial-Growth Factor*), ou l'angiostatine. Les cellules migrantes du sang vers la synovie doivent disposer de molécules d'adhésion qui permettent leur fixation à l'endothélium des capillaires de la synovie avant de pouvoir traverser la paroi endothéliale (Baclé, 2012).

Après cette étape, la synoviale se trouve infiltrer principalement de cellules immunitaires dont les cellules dendritiques, les monocytes/macrophages, les polynucléaires neutrophiles, les mastocytes et les Lymphocyte T (Figure 4 et 5) (Baclé, 2012 ; Benfreha, 2018). Ces différentes cellules sont recrutées au niveau de la membrane synoviale par une action chimiotactique par des chimiokines (MCP-1, MIP-1, IL8) (Benfreha, 2018).

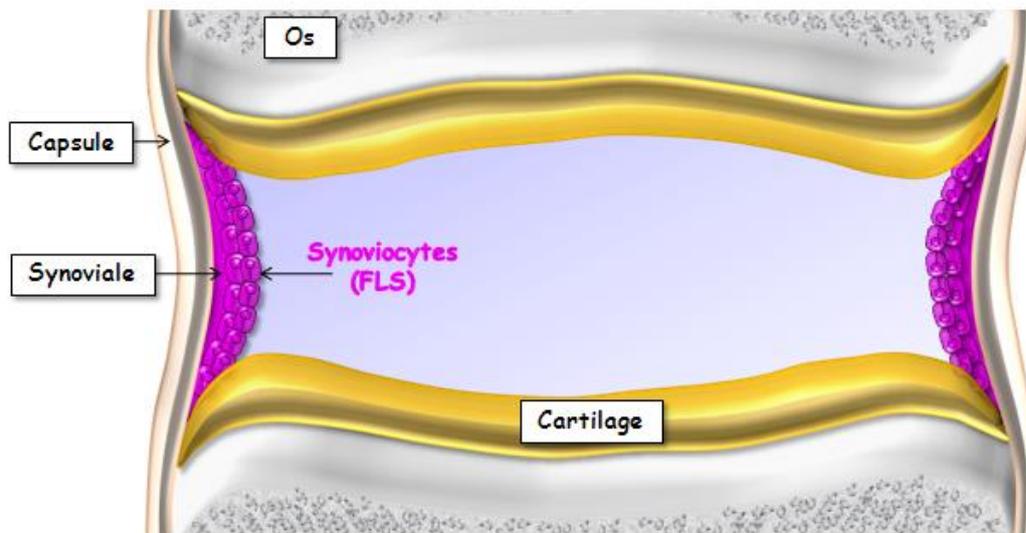


Figure 4. Articulacion normal ((Benidir, 2009).

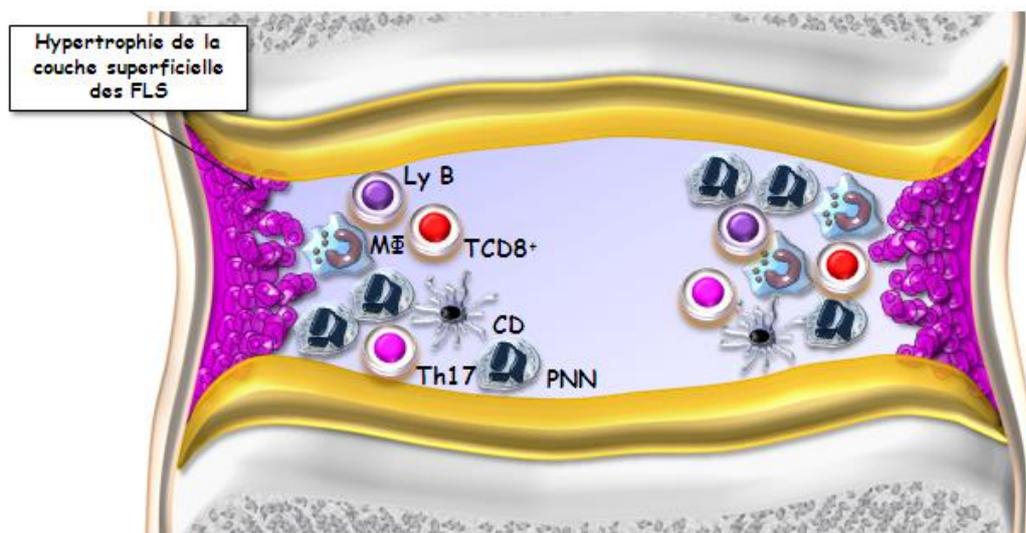


Figure 5. Fase de reclutamiento e inflamacion (Benidir, 2009).

Los linfocitos B pueden considerarse como verdaderas CPA ya que son capaces de presentar antígenos a los linfocitos TCD4. En efecto, son capaces de reconocer auto-antígenos a través de su BCR (Wang, 2011). Los linfocitos B se multiplican y se diferencian en plasmocitos, que producen inmunoglobulinas policlonales y el factor reumatoide (FR) (Figure 5) (Pillon et Michiels., 2013).

La destrucción articular es la consecuencia de la proliferación pseudo tumoral de la sinovial y de la acción de las citocinas. El IL -1 y el TNF α participan al inducir no solo la síntesis de factores de crecimiento necesarios para la proliferación de la sinovial, sino también la producción por los sinoviocitos de metaloproteasas, cathepsinas y colagenasas

responsable de la dégradation des principaux composants du cartilage. Puis, ces différentes molécules (enzymes, cytokines) produites par les macrophages, synoviocytes fibroblastique, et lymphocytes Th1, activent les ostéoclastes provoquant la classique érosion osseuse, caractéristique de la PR (**Figure 6**) (**Behamou et Fautrel., 2009**).

L'IL-6 accompagné d'IL-1 β et d'IL-23, active la différenciation des cellules Th17. Ces derniers sont les majeurs producteurs de l'IL-17 qui avec le TNF- α et l'IL-1 β induisent la production des métalloproteinases de la matrice (MMPs), les désintégrines et les métalloproteinases avec le motif de thrombospondine (ADAMTS, disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs), qui dégradent la matrice cartilagineuse (**Figure 3**) (**Schwartz, 2016**)

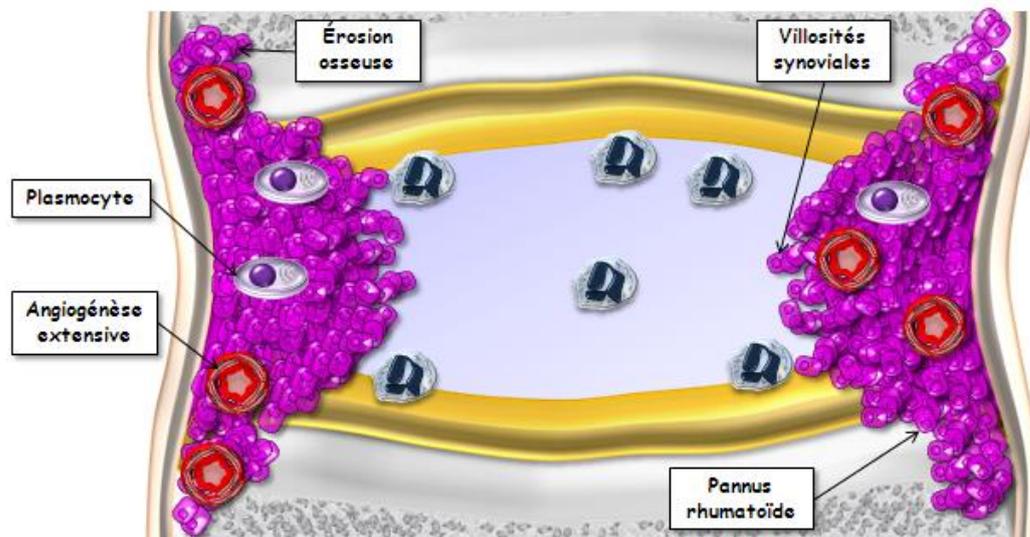


Figure 6. Phase de prolifération synoviale et des lésions articulaires.

I. 2-3. Phase de réparation

Parallèlement à la réponse immunitaire et inflammatoire et aux dommages induits au cours de la PR, l'organisme tente de réparer et minimiser les dégâts. Cette phase résulte en une fibrose articulaire induite par des facteurs de croissance tel que le TGF- β qui stimule les chondrocytes pour sécréter du collagène et des protéoglycanes, dans le but de réparation articulaire. De plus, l'IL-10 et le système des TIMPs (tissu inhibitors of metalloproteinases) freinent les dégradations ostéo-cartilagineuses en inhibant la libération des MMP (matrix metalloproteinases) mais leurs effets sont généralement dépassés par les cascades d'événements décrites précédemment (**Gerhard, 2014**).

I.3. DIAGNOSTIC DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

L'un de défis actuel dans la prise en charge de la PR est de poser, le plus précocement possible, le diagnostic afin d'initier un traitement et arrêter rapidement l'évolution de la maladie ou du moins la ralentir (**Hua et Combe., 2017**). Le diagnostic de PR est clinique, biologique et radiologique :

- **Clinique** : maladie inflammatoire touchant préférentiellement les articulations.
- **Biologique** : existence d'un syndrome inflammatoire, très souvent important, objectivé par une augmentation de la vitesse de sédimentation (VS) et une positivité de la CRP et aussi une production d'auto-anticorps
- **Radiologique** : apparaissent plus tardivement. Ils sont caractérisés dans un premier temps par une déminéralisation des mains. Ultérieurement, l'interligne articulaire est pincée et des érosions apparaissent (**Brazier et al., 2008**).

I. 3-1. Critères de classification de la polyarthrite rhumatoïde

Des critères de classification avaient été définis en 1987 par *l'American College of Rheumatology* (ACR). Ils reposaient essentiellement sur des arguments cliniques et radiologiques (**Musset et Ghillani-Dalbin., 2013**). En 2010 de nouveaux critères permettant d'harmoniser au niveau international la définition précise d'une PR ont été publiés conjointement par ACR et *l'European League Against Rheumatism* (EULAR), ces nouveaux critères sont non plus de classification mais plutôt de diagnostic. (**Hua et Combe., 2017**)

Tableau 1. Critères ACR/EULAR 2010 de diagnostic de la PR (Hua et Combe., 2017).

Domaines	Items	Score
Atteintes articulaire		
	1 grosse articulation	0
	2-10 grosses articulations	1
	1-3 petites articulations	2
	4-10 petites articulations	3
	> 10 articulations dont au moins 1 petite	5
Sérologie	FR et ACPA négatifs	0
	FR et/ou ACPA positifs a taux faibles	2
	FR et/ou ACPA positifs a forts taux	3
Marqueurs d'inflammation	VS et CRP normales	0
	VS et/ou CRP anormales	1
Durée d'évolution	< 6 semaines	0
	≥ 6 semaines	1

I. 3-2. Biologie

La PR s'accompagne dans 90 % des cas d'un syndrome biologique inflammatoire qui se traduit par une augmentation de la vitesse de sédimentation globulaire (VS) et parfois de la protéine C-réactive (CRP) (Sany, 2003)

Certains examens biologiques sont généralement nécessaires dont la numération-formule sanguine ; la vitesse de sédimentation (VS) et la protéine C réactive (CRP) sont augmentés dans la plupart des cas ; bilan hépatocellulaire (aspartate aminotransférase [ASAT], alanine aminotransférase [ALAT], gammaglutamyl-transférases [γ -GT], phosphatases alcalines), créatinémie, bandelette urinaire utilisée à la recherche d'une protéinurie ou d'une hématurie ; examen du liquide synovial (bactériologique, cytologique et biochimique) (Pillon et Michiels., 2013)

I.3. 2-1. Auto-anticorps associés à la PR

✓ Facteur Rhumatoïde

Le facteur rhumatoïde (FR) est un anticorps anti-gammaglobulinique qui appartient le plus souvent à la classe des immunoglobulines M. Il peut aussi être de type IgA, IgG, IgD ou IgE. Il n'y a donc pas un, mais des facteurs « rhumatoïdes ». Quelle que soit la classe

immunoglobulinique de ces facteurs, leur point commun est d'être toujours dirigé contre des immunoglobulines G animales ou humains. La spécificité de ces facteurs est variable et leur hétérogénéité est grande. Les méthodes sérologiques classiques de détection des FR (réaction de Waaler-Rose et le test au Latex) ne mettent en évidence que les FR de type IgM qui sont seuls agglutinants (Sany, 2003).

Ces deux tests sont de moins en moins utilisés et ils ont été remplacés par l'une des techniques suivantes :

- La technique immuno-enzymatique de type ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) qui détermine les différents isotypes : IgM, IgA et IgG.
- La Néphélométrie Laser qui est une technique d'agglutination rapide, automatisée, d'une bonne précision (Combe et al., 2015)

✓ **Anticorps anti-peptide ou protéines citrullinés (ACPA)**

Les ACPA sont des anticorps d'isotype IgG dirigés contre la filaggrine, une protéine qui joue un rôle dans l'assemblage des filaments intermédiaires des kératinocytes (Falgarone, 2011).

Les ACPAs sont recherchés par un test ELISA commercialisé sous le nom d'anti-CCP (anti-Cyclic Citrullinated Peptides). Les ACPAs et les FRs sont présents dès le début de la maladie chez 60 à 70 % des patients, mais les ACPAs ont une spécificité bien plus importante (95 à 98 %) (Cantagrel, 2018)

Ce test ELISA utilise des variants des peptides cycliques citrullinés nommés test de première ou de seconde génération (CCP1 et CCP2) et plus récemment celui de troisième génération (CCP3). La sensibilité et la spécificité des tests ELISA-ACPA varient en fonction du test utilisé (Musset et Ghillani-Dalbin., 2013)

I. 3-3. Imagerie

Elle est indispensable pour évaluer l'atteinte structurale (Cantagrel, 2018). Les signes radiographiques apparaissent plus tardivement (Brazier et al., 2008) au cours de 2 à 3 premières années le plus souvent (Cantagrel, 2018). Les radiographies comportent au minimum un cliché du thorax, des mains et des poignets de face et des pieds de face, à la recherche d'éventuelles lésions érosives ou d'un pincement de l'interligne articulaire. En fonction de l'atteinte, d'autres clichés radiographiques articulaires peuvent être proposés. Il n'y a pas à ce stade, sauf exception, de modifications radiographiques spécifiques. Elles n'apparaîtront que plus tard, lorsque le panus aura progressivement détruit les structures articulaires (Combe, 2007).

L'échographie et l'IRM donnent une image plus précise de la synovite et des lésions structurales, mais leur place respective dans le suivi de la pathologie reste à définir **(Cantagrel, 2018)**

I.4. BIOMARQUEURS DU REMODELAGE OSSEUX

L'os est continuellement remodelé dans un processus par lequel les ostéoclastes résorbent le tissu osseux et les ostéoblastes produisent une nouvelle matrice osseuse qui est ensuite minéralisée. Dans la PR, la principale raison de la perte osseuse est une augmentation de la résorption osseuse, secondaire aux ostéoclastes activés par les cytokines **(Engvall et al., 2008)**

Les marqueurs du remodelage osseux permettent de quantifier l'activité des cellules osseuses. Certains sont spécifiques de la formation (ostéocalcine, phosphatase alcaline osseuse, peptides d'extension du pro-collagène) et d'autres de la résorption osseuse (déoxypyridinoline, télopeptides du collagène I) **(Briot et Roux., 2005)**.

Le remodelage est un phénomène physiologique, indispensable au tissu osseux pour assurer ses fonctions métabolique (mobilisation des ions calcium) et mécanique (maintien de la solidité et réponse tissulaire aux contraintes mécaniques). Ce remodelage osseux résulte de l'activité des cellules ostéoblastiques et ostéoclastiques, activité couplée de manière précise grâce à plusieurs cytokines, et au système RANK–RANK-ligand (RANK, Receptor activator of NF-kB) **(Briot et Roux., 2005)**

I. 4-1. Marqueur de formation osseuse : Ostéocalcine

L'ostéocalcine ou GLA protéine osseuse (BGP, Bone-GLA-Protein) est une protéine non collagénique de la matrice osseuse. Elle est le reflet de l'activité ostéoblastique. C'est donc un marqueur de la formation osseuse.

L'ostéocalcine est un petit peptide de 49 acides aminés, disposés en une seule chaîne. Elle est exclusivement synthétisée par les ostéoblastes matures sous l'action du calcitriol (1,25(OH)₂ D). Sa biosynthèse nécessite trois vitamines : la 1,25-dihydroxyvitamine D₃, la vitamine C et la vitamine K. La 1,25- dihydroxyvitamine D₃ stimule directement la transcription du gène de l'OC (ostéocalcine) qui est transcrit ARNm et traduit en protéine **(Carstanjen et al., 2002)**.

I. 4-2. Marqueur de résorption osseuse : CTX-1

Le CTX-1 est un peptide de 8 acides aminés, sélectionné sur le télopeptide C-Terminal du collagène type 1. Les télopeptides N- et C- terminaux correspondent aux extrémités libres non hélicoïdales d'une molécule de collagène de type 1 **(Briot et Roux., 2005)**. Il est généré par la

cathepsine K, qui est l'enzyme ostéoclastique clé pour la résorption osseuse systémique (Engvall *et al.*, 2008) et peut être mesurés à la fois dans le sérum et dans l'urine (Fardellone *et al.*, 2014).

Une étude portant sur des patients de PR établie et en comparaison avec des témoins a montré que le CTX-1 augmentait chez les patients, ce qui suggère une augmentation de la résorption osseuse chez ces patients (Borderie, 2012).

De plus, les patients qui présentaient des signes radiologiques d'érosion osseuse avaient une concentration de CTX-1 augmentée de 35 % par rapport aux patients sans signe d'érosion. D'autre part, les traitements aux corticostéroïdes ou au méthotrexate n'ont aucun effet sur les taux sériques de CTX-1 (Couret, 2003)

I. 4-3. Métalloprotéases Matricielles (MMP)

Les métalloprotéinases matricielles (MMPs) comprennent une grande famille d'enzymes endopeptidases du Zn qui médient la dégradation des protéines de la matrice extracellulaire (MEC) et autres procédures biologiques importantes. Toutes les MMPs ont un site catalytique liant le Zinc. Par conséquent ces ions sont impliqués dans leur activité et les agents qui chélatent les ions Zn inhibent les MMPs MMP (Nosrati *et al.*, 2019).

Après la synthèse des MMPs dans les cellules, ces dernières les sécrètent sous une forme inactive (pro-enzymes) qui pourrait être activées par le clivage des sites pro-peptides par des sérine-protéases de type furine ou d'autre MMPs (Nosrati *et al.*, 2019).

Les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases (TIMPs) inhibent les MMPs. Ces TIMPs (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, et TIMP-4) peuvent réguler l'activité de toutes les MMP (Nosrati *et al.*, 2019).

I.4. 3-1. Classification des MMP

Les MMP ont été divisées en 5 catégories (Visse, 2003 ; Burrage, 2006 ; Arnaud 2007):

1. **Collagénases** : les MMP-1, -8, -13 qui dégradent les collagènes interstitiels (types I, II et III).
2. **Gélatinases** : MMP-2 et MMP -9, qui ciblent le collagène de type IV dans la membrane basale.
3. **Stromélysines** : MMP-3, 10 et 11, qui dégradent les protéines matricielles non collagéniques.
4. **MMP de type membranaire** : MMP-14,-15,-16,-17,-24 et -25 aussi dénommées MT1-MMP à MT6-MMP, ils interviennent de manière séquentielle dans l'activation protéolytique des MMPs.

5. **Matrilysines** : MMP-7 et MMP-26, les plus simple structurellement et sont spécifiquement exprimées par les cellules cancéreuses d'origine épithéliale.

Autres: enfin, plusieurs MMPs : MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-23 A/B, MMP-27, MMP-28 , plus récemment découvertes , relativement, forment un sixième groupe hétérogène.

I.4 3-2. Métalloprotéase Matricielle 3 (MMP-3)

La MMP-3 fait partie du groupe des stromélysines et aussi connue sous le nom de stromélysine-1 et est encodé par le gène MMP3 localisé sur le chromosome 11 en q22.3. Elle est synthétisée et sécrétée par les fibroblastes synoviaux et les chondrocytes dans les articulations. En plus de dégrader un grand nombre de protéines de la MEC, elle peut activer d'autre MMPs tell que MMP-1, MMP-7 et MMP-9, ce qui rend cette enzyme cruciale dans le remodelage du tissu conjonctif (**Figure 7**) (**Lerner et al., 2019**).

Des taux élevés en MMP-3 sériques ont été signalés dans différentes pathologies et rhumatismes inflammatoires dont la PR (**Yamanaka et al., 2000**).

La MMP- 3 est activement impliquée dans la destruction des articulations chez les patients atteints de PR et elle est retrouvée, en forte concentrations dans le liquide synovial et le sérum des patients (**Ally et al., 2013**).

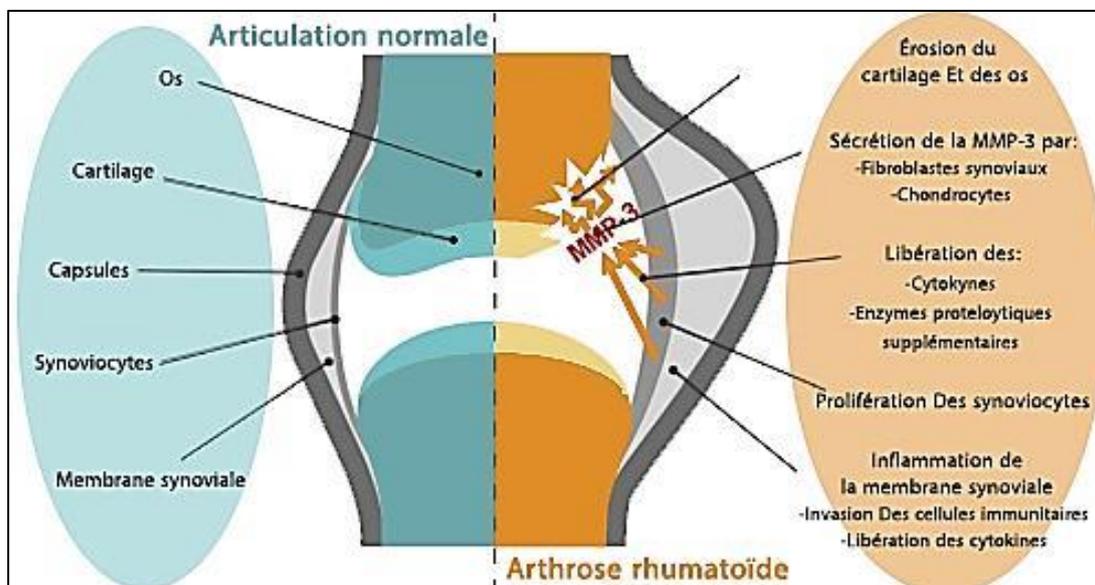


Figure 7. MMP-3 dans l'inflammation et la destruction des articulations lors de la PR (**Reuter et Matthias., 2019**).

Le présent travail s'est déroulé au sein du Laboratoire d'auto-immunité du département d'Immunologie de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA) et ce durant trois mois : du mois d'Avril au mois de Juillet 2021. Il s'agit d'une étude transversale descriptive réalisée sur 160 sujets : 100 patients atteints d'une PR confirmée et 60 témoins sains.

II-1. MATÉRIEL

II. 1-1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé est constitué du sang prélevé à partir des patients PR et des sujets sains :

- Recueilli dans un tube sec puis centrifugé à 3500 tours/min pendant 5 minutes ;
- Le sérum étant récupéré et conservé à -20°C jusqu'à son utilisation. Il servira à l'étude sérologique : dosage des auto-anticorps (FR et ACPA).

Il est à retenir que les valeurs de la CRP, de la VS à la première heure, le DAS-28 et le score radiologique de Sharp modifié par van Der Heijde ont été tirées des dossiers des patients.

Patients et sujets sains:

Le recrutement des patients PR a été fait en collaboration avec les services de Rhumatologie et de Médecine interne des CHU : Douéra, Bab El Oued et Tizi-Ouzou.

Les sujets sains sont des donneurs de sang recrutés au CTS du CHU Hussein Dey (Ex-Parnet) indemnes de toutes pathologie auto-immunes et sans antécédents familiaux de rhumatismes ou de néoplasies (cancers) avec un consentement éclairé (Fiche de consentement, **voir annexe**) ;

II. 1-2. Matériel non biologique

La réalisation de ce travail nécessite une variété d'appareillages et réactifs (**voir annexe**)

II. 1-3. Démarche expérimentale

Nous avons adopté la démarche suivante (**Figure 8**) :

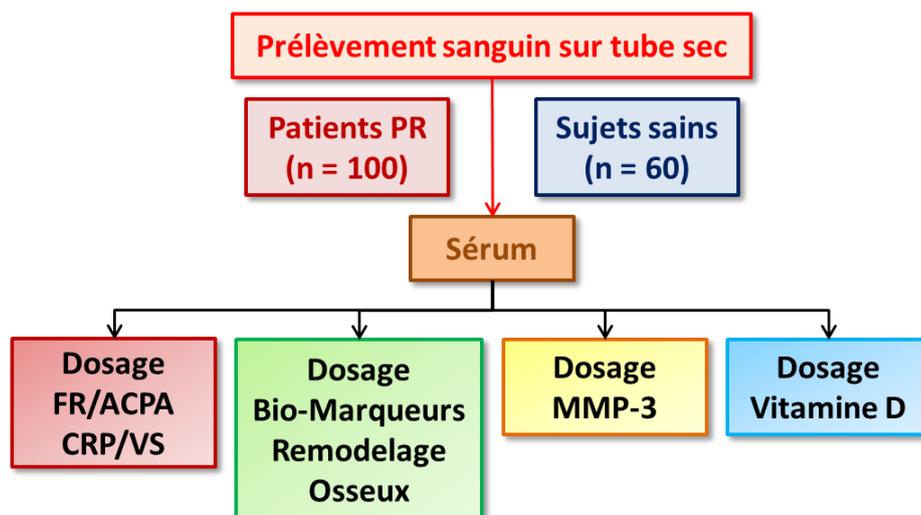


Figure 8. Schéma de l'étude.

II-2. MÉTHODES

II. 2-1. Dosage du Facteur Rhumatoïde par Laser Néphélométrie

Technique permettant le dosage du FR d'isotype IgM. Ce dernier a été réalisé en utilisant le *BN200 Nephelometer Analyzer (Behring-BMD)*.

a. Principe

Des particules de polystyrène recouvertes d'anti-immunoglobuline humaine de mouton, qui forment des complexes immuns lorsqu'elles sont en contact avec le FR IgM. L'intensité de la lumière dispersée par le système est proportionnelle à la concentration du FR. L'exploitation se fait par rapport à un standard de concentration connue (Figure 9).

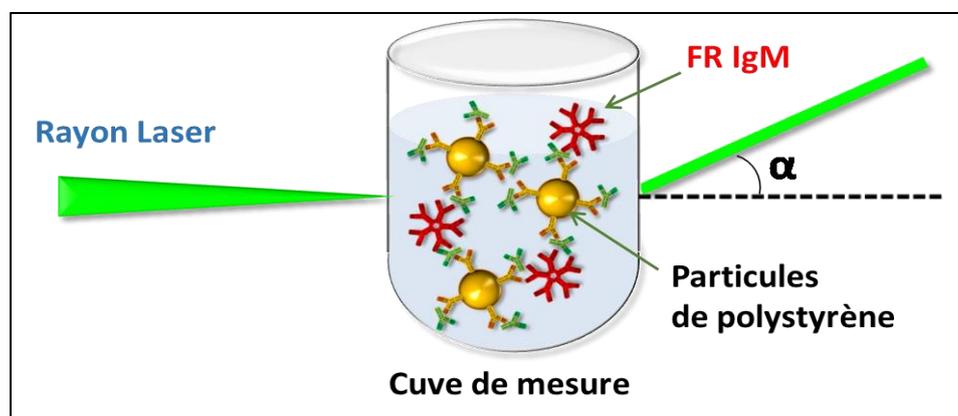


Figure 9. Principe de la Laser-néphélométrie dans le dosage du Facteur Rhumatoïde (Benidir, 2009).

b. Mode Opérateur

La technique consiste à déposer 50 µl du sérum des différentes populations étudiées et 40 µl de l'anti-sérum spécifique (anticorps anti-FR d'isotype IgG humain) ainsi que 190 µl de tampon de réaction, dans une cuve de mesure. L'intensité des rayons (α) dispersés est mesurée à 660 nm. Cette intensité est proportionnelle à la quantité de complexes immuns formés.

c. Interprétation des Résultats

- Résultats Négatif → < 40 UI/ml ;
- Résultats Positif → ≥ 40 UI/ml.

II. 2-2. Dosage des ACPA par la technique ELISA

Le test employé pour la recherche des ACPA est le test anti-CCP3 (*QUANTA Lite® CCP3 IgG ELISA, INOVA Diagnostics, Inc*) : dosage quantitatif par la méthode ELISA, destiné à la détection des anticorps ACPA d'isotype IgG.

a. Principe

Les échantillons dilués sont incubés dans les microplaques coatées avec l'antigène spécifique « peptide cyclique citrulliné synthétiques ». Après, nous rajoutons un conjugué « anti-IgG humaines (lapin) couplé à la peroxydase » qui réagit avec les complexes « Ag-Ac » formés. L'addition du substrat TMB/H₂O₂ (TMB, tétra-méthyl-benzidine) génère une réaction enzymatique colorimétrique (bleu) qui est arrêtée par de l'acide dilué (la couleur vire au jaune). L'intensité de la coloration obtenue avec le chromogène est fonction du taux du conjugué fixé aux complexes « Ag-Ac » et ceci est proportionnel à la concentration initiale des Ac contenus dans les échantillons des patients (**Figure 10**).

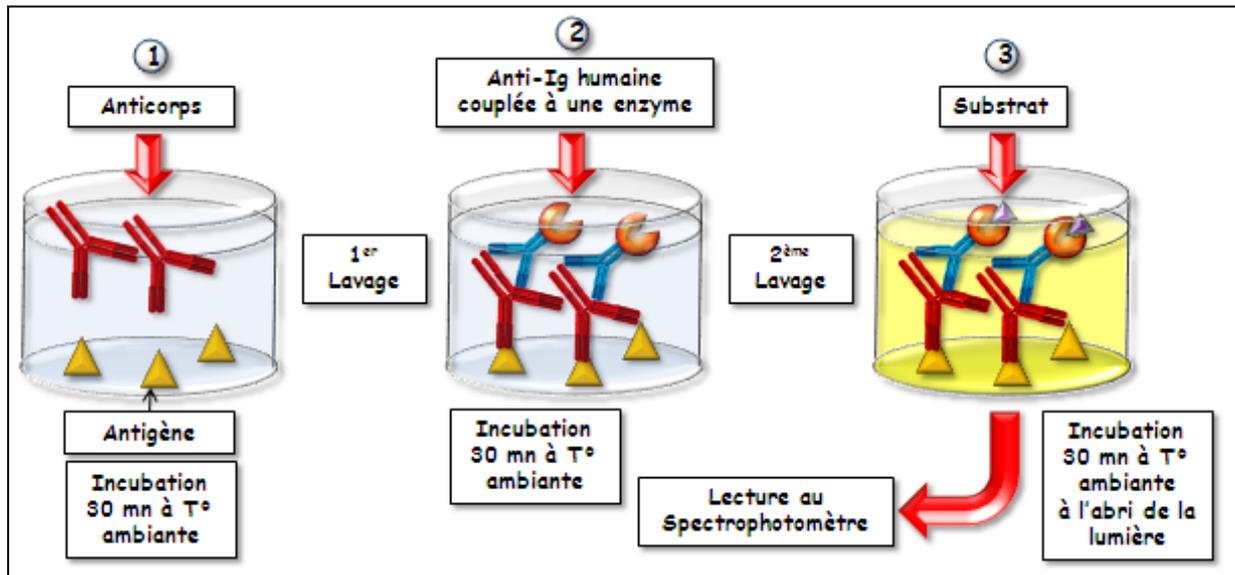


Figure 10. Principe de la technique ELISA (Benidir, 2009).

b. Mode Opérateur

- Déposer 100 µl du sérum de chaque patient, dilué au 1 :101 dans du tampon, dans le micropuits correspondant.
- Déposer 100 µl des calibrateurs ainsi que les contrôles négatif et positif dans les micropuits correspondant.
- Incuber 60 mn à température ambiante (18-25°C).
- Laver 3 fois avec 300 µl du tampon de lavage.
- Déposer 100 µl du conjugué dans chaque micropuits.
- Incuber 30 mn à température ambiante (18-25°C).
- Laver 3 fois avec 300 µl du tampon de lavage.
- Déposer 100 µl du substrat TMB/H₂O₂ dans chaque micropuits.
- Incuber 30 mn à température ambiante (18-25°C), à l'abri de la lumière.
- Déposer 100 µl de la solution d'arrêt (H₂SO₄ 0,5M) dans chaque micropuits.
- Agiter doucement la plaque pendant 5 secondes afin d'assurer une bonne homogénéisation de la distribution de la solution d'arrêt.
- Lire l'absorbance à une longueur d'onde de 450 nm, dans les 30 mn qui suivent l'arrêt de la réaction.

c. Interprétation des Résultats

- Résultats Négatif → < 20 UR/ml ;

- Résultats Positif → ≥ 20 UR/ml.

UR : Unités Relatives.

II. 2-3. Dosage des biomarqueurs du remodelage osseux « Ostéocalcine et CTX-I » par la technique ELISA

a. Principe

*** Dosage de l'Ostéocalcine**

Le coffret « *N-MID® Osteocalcine ELISA* » est une trousse pour le dosage quantitatif de l'Ostéocalcine, un indicateur de l'activité ostéoblastique, dans le sérum. Ce test est basé sur l'utilisation de deux anticorps monoclonaux hautement spécifiques de l'Ostéocalcine humaine. Un Ac reconnaissant la région médiane (séquence des résidus aminés aa « 20 – 29 ») est utilisé pour la capture ; le second Ac, conjugué à la peroxydase, reconnaît la région N-Terminal (aa « 10 – 16 »). L'Ostéocalcine native (aa « 1 – 49 ») ainsi que le fragment N-Terminal MID® (aa « 1 – 43 ») sont également reconnus.

*** Dosage de CTX-I**

Le coffret « *Serum CrossLaps® ELISA* » est une trousse pour le dosage immuno-enzymatique d'une séquence C-Terminale spécifique du collagène de type I dans le sérum humain. Ce coffret contient deux Ac monoclonaux hautement spécifiques dirigés contre le peptide qui possède la séquence d'acides aminés : « Glu-Lys-Ala-His-Asp-b-Gly-GlyArg » où le résidu (D) de l'acide aspartique est l'isomère b, les deux chaînes de ce peptide doivent être liées pour obtenir un signal spécifique.

b. Mode Opérateur

- Mélanger l'anticorps biotinylé, anticorps conjugué à la peroxydase et tampon d'incubation, dans un récipient vide, à raison de 1+1+100.
- Distribuer 50 µl de standards, de contrôles ou d'échantillons dans les micropuits correspondants.
- Ajouter 150 µl de solution d'anticorps anti-CrossLaps* dans tous les micropuits.
- Recouvrir la plaque avec le film adhésif et incuber 120+5 minutes à température ambiante (18-22°C) sous agitation par rotation (300 rpm).

- Laver les barrettes 5 fois manuellement avec 300 µl la solution de lavage diluée.
- Ajouter 100 µl de la solution substrat TMB dans chaque puit,
- Recouvrir la plaque avec un film adhésif et incuber 15+2 minutes à 18-22°C, à l'abri de la lumière, sous agitation par rotation (300 rpm).
- Arrêt de la réaction colorée : Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits.
- Mesure de l'absorbance : Dans les 2 heures, mesurer l'absorbance à 450 nm en utilisant un lecteur de plaque (650 nm comme référence).

II. 2-4. Dosage de la MMP-3 par la technique ELISA

Pour le dosage de la MMP-3, nous avons utilisé le coffret Aeskulisa MMP-3 (*AESKULISA DF MMP-3, AESKU.DIAGNOSTCS, Inc*). Ce test est un dosage quantitatif par la méthode ELISA de type sandwich.

a. Principe

Les échantillons dilués au 1 :10 sont incubés dans les puits revêtus d'un anticorps monoclonal anti-MMP-3 humaine. La MMP-3 présente dans le sérum du patient se lie à l'Ac sur la plaque, tandis que la fraction non fixée est éliminée par lavage des microplaques. Nous rajoutons, par la suite, un conjugué « anti-MMP-3 humaine » couplé à la peroxydase de Raifort qui réagit avec les complexes « Ac - MMP-3 » formés. Le conjugué non fixé est éliminé par lavage. L'addition du substrat TMB génère une réaction enzymatique colorimétrique (coloration bleue) qui est arrêtée par de l'acide dilué (la couleur vire au jaune). L'intensité de la coloration qui se développe, à partir du chromogène, dépend de la quantité de conjugué liée au complexe « Ac - MMP-3 » et qui est, donc, directement proportionnelle à la concentration en MMP-3 dans le sérum.

b. Mode Opérateur

- Diluer les échantillons de sérum à 1 :10 avec le tampon d'échantillon dilué et mélanger.
- Déposer 100 µl du sérum dilué de chaque patient dans les micropuits correspondants.
- Déposer 100 µl des calibreurs ainsi que les contrôles négatif et positif dans les micropuits correspondants.
- Incuber pendant 30 minutes à 20-26 °C.
- Laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage dilué.
- Ajouter 100 µl du conjugué dans chaque micropuits.

- Incuber pendant 30 minutes à 20-26 °C.
- Laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage dilué.
- Déposer 100 µl du substrat TMB/H₂O₂ dans chaque micropuits.
- Incuber pendant 30 minutes à 20-26 °C, à l'abri de la lumière.
- Pipeter 100 µl de la solution d'arrêt (HCl 1M) dans chaque micropuits.
- Incuber pendant 5 minutes au moins.
- Agiter soigneusement la plaque pendant 5 secondes.
- Lire l'absorbance à une longueur d'onde de 450 nm, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

c. Interprétation des Résultats

Tableau 2. Interprétation des résultats du dosage de la MMP-3 par ELISA [ng/ml]

	Négatif	Douteux	Positif
Femmes	0 – 20	20 – 30	> 30
Hommes	0 – 40	40 – 50	> 50

II. 2-5. Dosage de la Vitamine D

a. Principe

Ce coffret de test ELISA est conçu pour la détermination *in vitro* de 25-OH vitamine D dans des échantillons de sérum ou de plasma humain. Dans la première étape d'analyse, les étalons et les échantillons sont dilués avec de la biotine marquée à 25-OH vitamine D et ajouté aux microplaques des puits revêtus d'anticorps de la vitamine D monoclonaux anti-25-OH. Au cours de l'incubation, une quantité inconnue de 25-OH vitamine D dans l'échantillon des patients et une quantité connue de 25-OH vitamine D marquée à la biotine sont en concurrence pour les sites de liaison de l'anticorps dans les puits de la microplaque. La 25-OH vitamine D non liée est éliminée par lavage. Pour la détection de la 25-OH vitamine D marquée à la biotine liée, une seconde incubation est réalisée à l'aide de la streptavidine marquée à la peroxydase. Dans une troisième incubation en utilisant la tétra-méthyl-benzidine de substrat de peroxydase (TMB) la borne peroxydase favorise une réaction colorée. L'intensité de couleur est inversement proportionnelle à la concentration de la vitamine D dans l'échantillon. Les résultats pour les échantillons peuvent être calculés en utilisant directement une courbe standard.

b. Mode Opératoire

- Déposer 200 µl du sérum dilué avec le diluant de biotine dans chacun des microplaques et incubé 2 heures à température ambiante.
- Vider les puits et effectuer un lavage 3 fois en utilisant 300 µl de solution de lavage pour chaque puits.
- Pipeter 100 µl du conjugué « Streptavidine – Peroxydase » à l'intérieur de chaque microplaque et incubé 30 mn à température ambiante (18° - 25°C).
- Effectuer un deuxième lavage comme il a été précédemment décrit.
- Ajouter 100 µl du chromogène/substrat dans chaque microplaque et incubé 15 mn à température du laboratoire dans l'obscurité.
- La lecture photométrique de la densité optique de la coloration des échantillons doit être réalisée après l'ajout de la solution stop, à une longueur d'onde de 450 nm avec une deuxième longueur d'onde de référence 650 nm.

c. Interprétation des Résultats

Suffisance : 30 - 100 ng/ml.

Insuffisance : 20 - 29 ng/ml.

Déficiance : < 20 ng/ml.

II-3. ANALYSE STATISTIQUE

Pour l'analyse statistique, nous avons fait appel au test « t » de Student pour comparer les taux moyens en OCL, CTX-I, MMP-3 et Vitamine D (Analyse quantitative). La différence est statistiquement significative pour un $p < 0,05$.

Le logiciel utilisé est le Graph-Pad Prism version 5.01.

III-1. RESULTATS

III-1.1. DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Les caractéristiques épidémiologiques de la population étudiée sont représentées dans le Tableau 3.

Tableau 3. Caractéristiques épidémiologiques des groupes de patients étudiés

	Patients PR	Sujets sains
Nombre (n)	100	60
Âge [an]	50 ± 13	29 ± 9
Âges extrêmes [an]	22 – 76	18 – 60
Sex-Ratio (H : F)	1 : 6	1 : 5
Durée d'évolution [an]	8 ± 3	-

- **Répartition des patients selon le sexe**

Dans la population malade (patients PR), nous constatons une nette prédominance féminine. En effet, parmi les 100 patients PR, 85 (85%) patients sont de sexe féminin vs. 15 (15%) patients de sexe masculin. Le sex-ratio (H :F) étant de 1 :6 (Tableau 3 ; Figure 11).

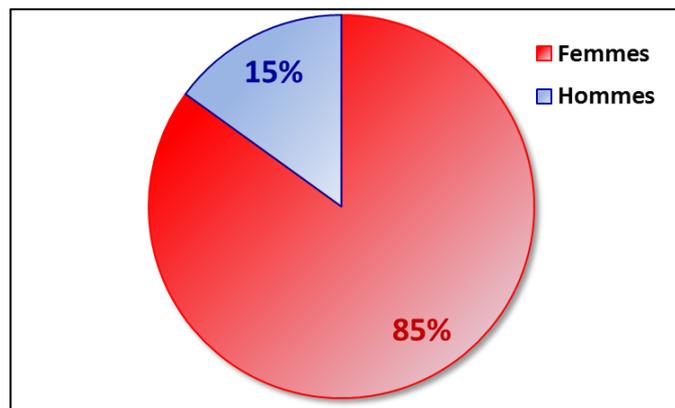


Figure 11. Répartition des patients PR selon le sexe.

- Répartition des patients selon l'âge

Chez les patients PR : les âges extrêmes vont de 22 à 76 ans avec une moyenne de 50 ± 13 ans avec 31% des patients appartenant à la tranche [41 – 50] ans et une majorité de 80% âgée de plus de 40 ans (Figure 12).

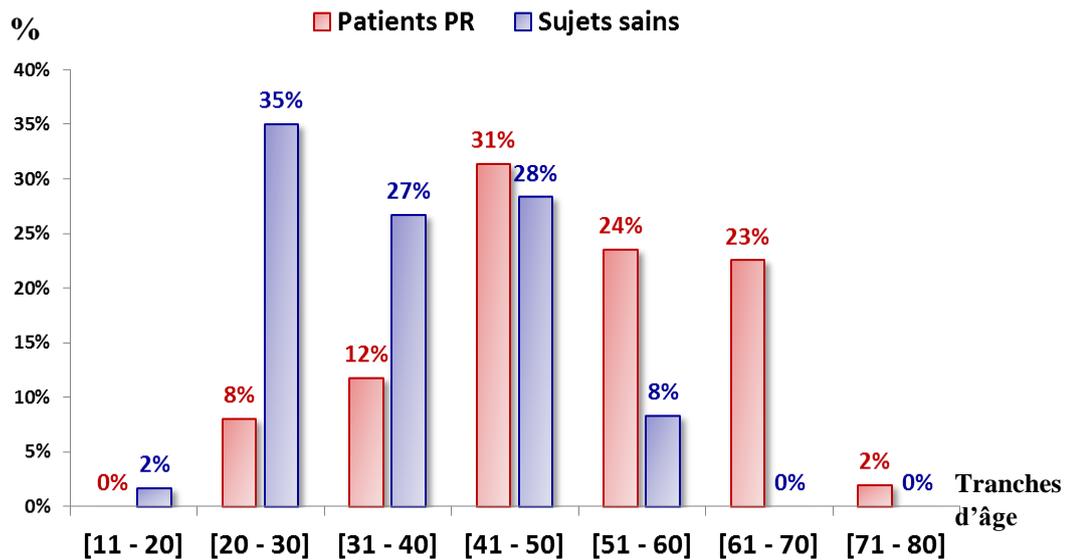


Figure 12. Répartition des patients PR et des sujets sains selon de l'âge.

L'âge des sujets sains étaient entre 18 et 60 ans avec une moyenne d'âge de 28.6 ans. La majorité des sujets sains, soit 37% étaient jeune inclus dans la tranche d'âge comprise entre 21 et 30 ans, suivis par les tranches d'âge comprise entre 31 et 50 ans avec des pourcentages de 27% et 28% pour la tranche d'âge comprise entre 31 et 40 ans et 41 et 50 ans. Les sujets sains dont l'âge compris entre 51 et 60 ans représentaient 8% seulement alors qu'aucuns n'avaient plus de 60 ans (**Figure 12**).

La durée moyenne de l'évolution de la maladie été de 8 ± 3 ans dans notre série de patients atteints de PR (**Tableau 3**).

III. 1-2. Caractéristiques cliniques et biologiques des patients PR

Tableau 4. Principales caractéristiques cliniques et biologiques des patients PR.

		Nombre (%)
Manifestations Cliniques		
Articulaires	Polyarthrite chronique	75 (75%)
Extra-articulaires	Syndrome sec oculobuccal	20 (20%)
Autres		5 (5%)
Marqueurs de l'Inflammation		
	VS H1 accélérée	71 (71%)
	CRP	75 (75%)
Paramètres Immunologiques FR/ACPA		
	PR séropositive « FR et/ou ACPA (+) »	84 (84%)
	PR séronégative « FR et ACPA (-) »	16 (16%)
Activité de la maladie DAS28		
	DAS28 ≤ 2,6	4 (4%)
	2,6 < DAS28 ≤ 3,2	1 (1%)
	3,2 < DAS28 ≤ 5,1	55 (55%)
	DAS28 > 5,1	40 (40%)
Radiologie (Score de Sharp modifié par van Der Heijde)		
	PR érosive	50 (50%)
	PR non érosive	50 (50%)
Thérapeutique		
	Corticothérapie	24 (24%)
	Méthotrexate	60 (60%)
	Autres DMARDs	7 (7%)
	Patients PR Naïfs (sans traitement)	26 (26%)

Les caractéristiques cliniques et biologiques des patients PR, recueillis à partir de fiches de renseignements cliniques, sont décrites dans le Tableau.

Nous constatons que :

- 75% des patients PR présentent une atteinte de plus de deux articulations (Polyarthrite chronique) avec comme signes articulaire principal un syndrome sec oculobuccal (20%).
- La majorité de ces patients ont une VS à la première heure (H1) accélérée avec une CRP positive (71% et 75%, respectivement).
- 84% des patients ont une forme séropositive de PR (produisant au moins un auto-Ac) vs. 16% séronégative (aucun auto-Ac produit).
- 50% ont une forme érosive vs. 50% non érosive (objectivée grâce au score de Sharp modifié par van Der Heijde, calculé par le médecin traitant).
- 55% des patients ont une forme modérément active ($3,2 < \text{DAS28} \leq 5,1$).
- 60% étaient sous Méthotrexate et 24% sous corticothérapie.

III. 1-3. Profil en auto-anticorps des patients PR

L'analyse du profil en auto-anticorps (**Figure 13**) chez les patients PR montre que :

- La majorité des patients (84%) présentent une forme de PR séropositive avec la production du FR et/ou des ACPA :
 - FR (+) ACPA (+) : 60% ;
 - FR (-) ACPA (+) : 15% ;
 - FR (+) ACPA (-) : 9%.
- Tandis que 16% des patients ont une forme séronégative (ne produisant aucun auto-anticorps, ni FR ni ACPA).

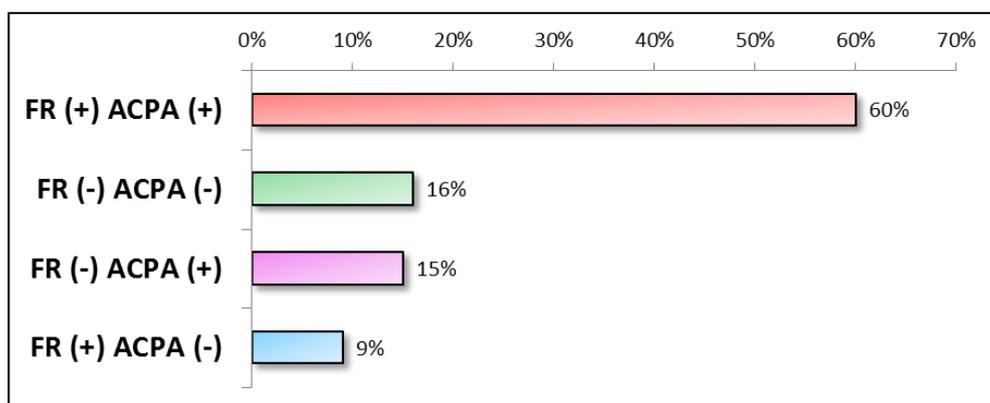


Figure 13. Profil en auto-anticorps des patients PR étudiés.

III-2. ÉTUDE DE LA PRODUCTION DES BIOMARQUEURS « OSTÉOCALCINE ET CTX-1 »

III. 2-1. Production en Ostéocalcine et en CTX-I chez les patients PR et les témoins sains

Nous avons comparé le taux moyen de production des biomarqueurs de remodelage osseux « OCL et CTX-I » chez les patients atteints de PR vs. Sujets sains (**Tableau 5 ; Figure 14**).

Tableau 5. Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains.

	Moyenne ± SEM		(p)
	Patients PR	Sujets sains	
OCL [ng/ml]	7,346 ± 0,840	18,32 ± 1,338	< 0,0001
CTX-I [pg/ml]	234,9 ± 30,85	149,6 ± 8,944	0,0269

* SEM : Erreur Standard de la Moyenne.

L'analyse des résultats obtenus, grâce au test « t » de Student, montre que :

- Les sujets sains produisent significativement plus d'OCL que les patients PR ($p < 0,05$) → l'OCL étant un biomarqueur de formation osseuse ce qui tend à dire que cette formation est ralentie en cas de PR ;
- Les patients PR produisent significativement plus de CTX-I que les sujets sains ($p < 0,0001$) → le CTX-I étant un biomarqueur de résorption osseuse.

Ces résultats montrent que tout individu atteint de PR voit, non seulement, la formation de ses os ralentir (faible production d'OCL) mais, en plus, il produit une substance qui détruit sa charpente osseuse (CTX-I). Ces deux facteurs concourent à l'apparition de déformations articulaires secondaires à la survenue d'érosions osseuses (destruction osseuse).

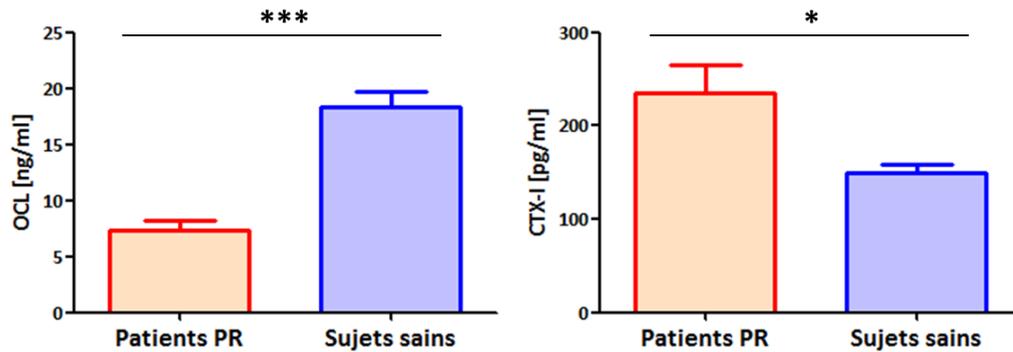


Figure 14. Production moyenne en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains.

(* $p < 0,05$ *** $p < 0,001$)

III. 2-2. Production d'Ostéocalcine et de CTX-I chez les patients PR et les témoins sains selon le sexe

Par la suite, nous avons comparé la production moyenne des biomarqueurs d'intérêt « OCL et CTX-I » chez les patients atteints de PR vs. Sujets sains en fonction du sexe (**Tableau 6**; **Figure 15**).

L'analyse de nos résultats montre que :

- Les sujets sains des deux sexes produisent significativement plus d'OCL que les patients PR :
 - Sexe Masculin : $p < 0,001$;
 - Sexe Féminin : $p < 0,0001$.
- Les patients PR de sexe féminin produisent significativement plus en CTX-I que les sujets sains du même sexe ($p < 0,05$).
- Tandis que les patients PR de sexe masculin produisent des taux plus importants en CTX-I que les sujets sains du même sexe mais sans qu'il y ait de différence statistiquement significative (**Tableau 6**).

Ces résultats montrent clairement que le squelette des patients de sexe féminin est plus sujet à la destruction osseuse du fait d'une production faible en OCL et soutenue en CTX-I comparés aux patients PR du sexe opposé.

Tableau 6. Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains selon le sexe.

	Moyenne ± SEM		(p)	Moyenne ± SEM		(p)
	PR Sexe Masculin	SS Sexe Masculin		PR Sexe Féminin	SS Sexe Féminin	
OCL [ng/ml]	4,625 ± 1,035	18,81 ± 4,220	0,0007	7,815 ± 0,961	18,23 ± 1,390	< 0,0001
CTX-I [pg/ml]	182,4 ± 43,60	151,4 ± 23,44	0,6026	249,2 ± 35,77	138,2 ± 8,618	0,0156

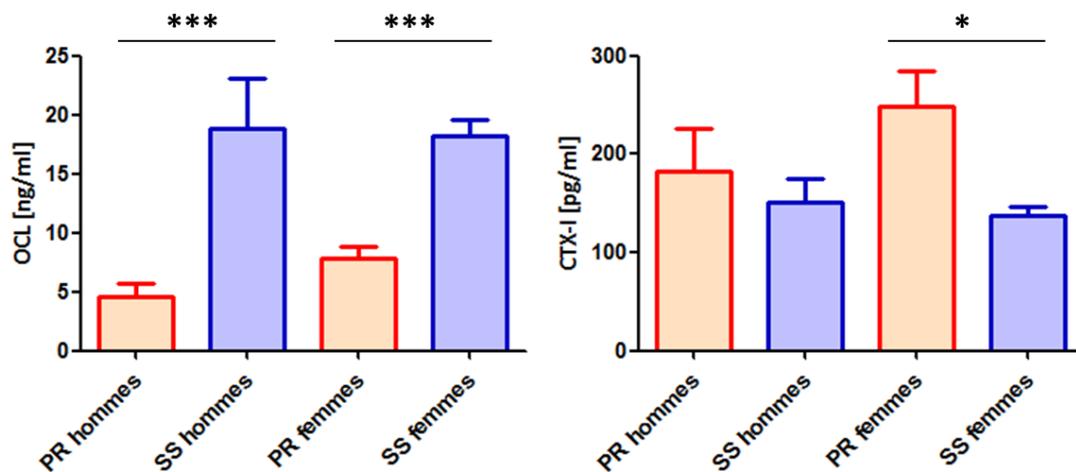


Figure 15. Production moyenne en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains en fonction du sexe.

III. 2-3. Production en Ostéocalcine et de CTX-I chez les patients PR de sexe féminin et les témoins sains selon l'âge

Dans ce qui va suivre, nous avons comparé les taux de production en OCL et CTX-1 chez les patients PR de sexe féminin à différents stades de la vie pour mettre l'accent sur l'importance du statut « activité génitale » et survenue de formes destructrices de la maladie (**Tableau 7 ; Figure 16**).

L'analyse des résultats obtenus montrent que les sujets sains de sexe féminin produisent significativement plus d'OCL que les patients PR du même sexe et de la même tranche d'âge :

- Tranche [20 – 40] ans : $p < 0,001$;
- Tranche [41 – 50] ans : $p < 0,0001$;
- Tranche [51 – 80] ans : $p < 0,05$.

Ce que nous remarquons en analysant bien ces résultats c'est que les patientes PR dont l'âge est compris entre 41 et 50 ans (âge de prédisposition maximale à développer la maladie) produisent de très faibles taux d'OCL comparées aux sujets sains et de manière hautement significative par rapport aux deux autres tranches d'âge. Pour les patientes âgées de plus de 50 ans, la différence est faiblement significative car à partir de cet âge commencent à apparaître les signes de la ménopause et les patientes de même que les sujets sains de sexe féminin seront égaux face au statut « activité génitale » (Baisse des hormones sexuelles féminines). À cet effet, il est logique de croire en le pouvoir protecteur de ces hormones contre l'ostéoporose, de manière générale et la destruction osseuse dans la PR.

Tableau 7. Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains de sexe féminin selon l'âge.

Tranche d'âge [an]	OCL [ng/ml] Moyenne ± SEM		(p)	CTX-I [pg/ml] Moyenne ± SEM		(p)
	PR	SS		PR	SS	
20 – 40	7,947 ± 1,978	17,88 ± 1,673	0,0005	287,7 ± 130,8	131,6 ± 10,61	0,1317
41 – 50	5,541 ± 0,786	17,43 ± 2,609	< 0,0001	191,3 ± 35,59	119,2 ± 18,65	0,1080
51 – 80	9,164 ± 1,698	22,62 ± 6,255	0,0155	256,5 ± 37,96	77,00 ± 24,27	0,2079

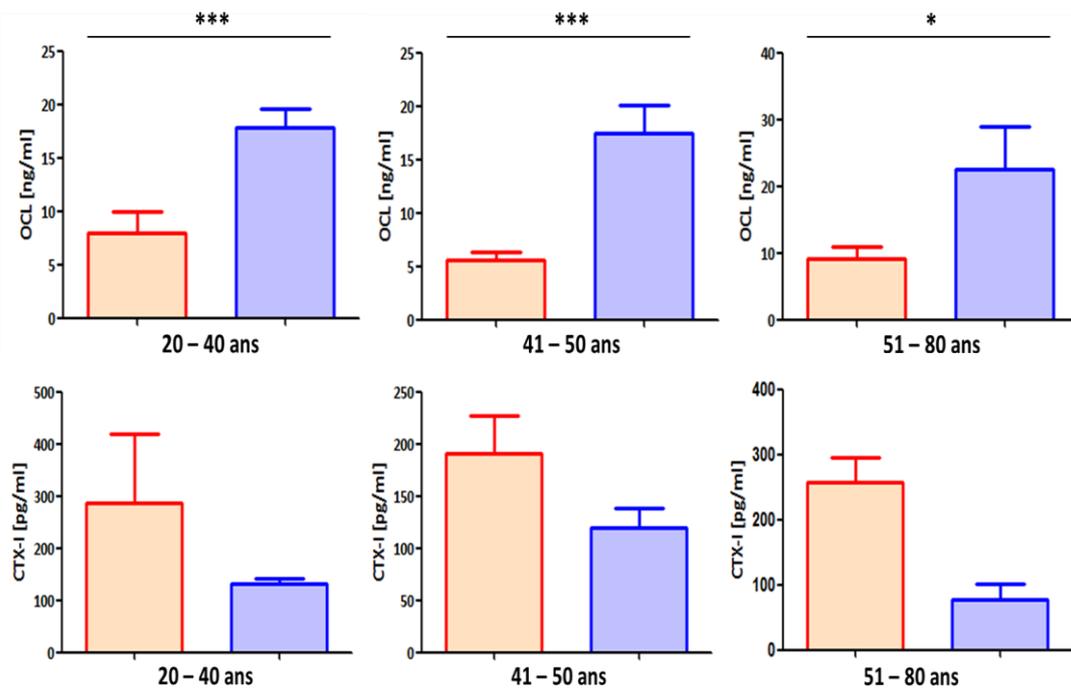


Figure 16. Production moyenne en OCL et CTX-I chez les patients PR vs. Sujets sains de sexe féminin en fonction de l'âge.

III. 2-4. Production en Ostéocalcine et de CTX-I chez les patientes PR en fonction du statut ménopausique

Nous avons comparé la production des biomarqueurs d'intérêt « OCL et CTX-I » chez les patientes PR selon leur stade d'activité génitale « Ménopausées vs. Actives (en âge de procréer) ».

Tableau 8. Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patientes PR selon le statut ménopausique.

	Moyenne \pm SEM		(p)
	Ménopausées	Actives	
OCL [ng/ml]	9,193 \pm 1,577	6,270 \pm 0,983	0,1298
CTX-I [pg/ml]	249,3 \pm 35,12	162,5 \pm 49,80	0,1512

* Actives : Femmes en âge de procréer, génitalement actives.

L'analyse de nos résultats ne montre aucune différence statistiquement significative entre les deux groupes et pour les deux biomarqueurs (**Tableau 8 ; Figure 17**).

Cependant, nous remarquons que les patientes ménopausées produisent des taux plus élevés en CTX-I que les autres et, curieusement, un taux légèrement plus élevé en OCL que celles du second groupe. Ceci pourrait s'expliquer, théoriquement et sans avancer de conclusions trop hâtives, que les patientes ménopausées produiraient plus d'OCL grâce à leur capital « nouveau » en testostérone qui, à partir de cet âge, est produite de manière importante chez les sujets de sexe féminin.

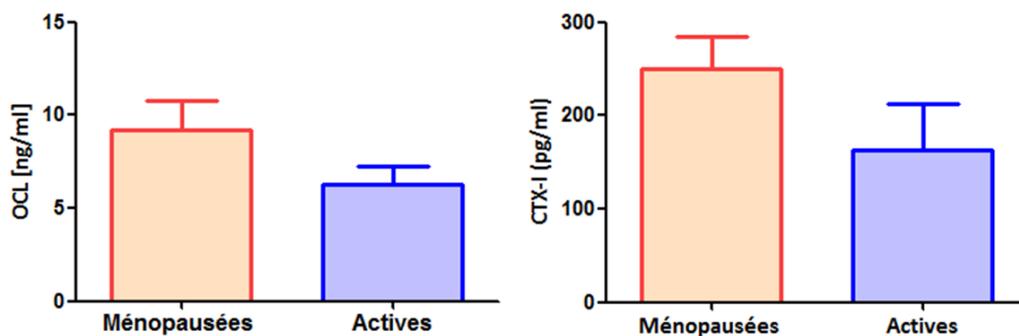


Figure 17. Production moyenne en OCL et CTX-I chez les patientes PR en fonction du statut ménopausique.

III. 2-5. Production moyenne en Ostéocalcine et en CTX-I chez les patients PR en fonction du stade érosif

Nous avons comparé le taux moyen de production des biomarqueurs de remodelage osseux « OCL et CTX-I » chez les patients atteints de PR en fonction de la forme de la maladie : PR érosive vs. PR non érosive (selon le score radiologique de Sharp modifié par van Der Heijde).

Tableau 9. Comparaison des taux moyens en OCL et CTX-I chez les patients PR selon le stade érosif.

	Moyenne \pm SEM		<i>(p)</i>
	PR érosive	PR non érosive	
OCL [ng/ml]	7,127 \pm 1,214	7,565 \pm 1,173	0,7955
CTX-I [pg/ml]	275,0 \pm 57,28	144,1 \pm 9,186	0,0519

L'analyse de nos résultats ne révèle aucune différence statistiquement significative entre la forme érosive et non érosive de la PR quelque soit le biomarqueur dosé. Néanmoins, nous avons relevé une tendance (*p* avoisinant les 0,05) à produire plus de CTX-I dans les formes sévères (érosives, destructrices) que dans les formes relativement bénignes (PR non érosive, non destructrice) ((**Tableau 9 ; Figure 18**)).

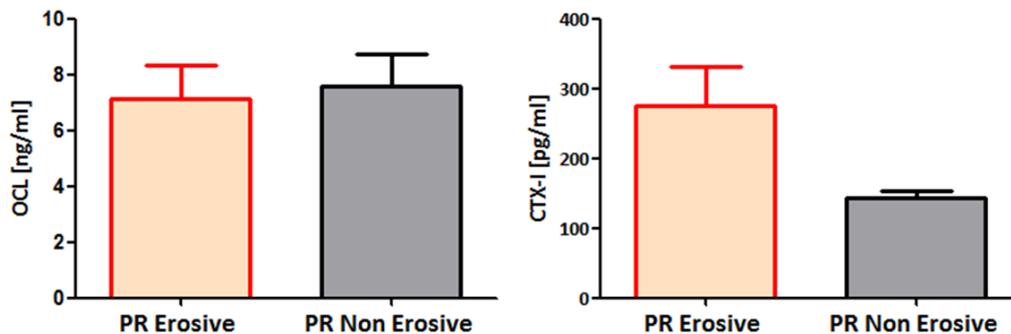


Figure 18. Production moyenne en OCL et CTX-I chez les patients PR en fonction du stade érosif.

III-3. ÉTUDE DE LA PRODUCTION DE LA MÉTALLOPROTÉASE MATRICIELLE 3 (MMP-3)

III. 3-1. Production de la MMP-3 chez les patients PR et les témoins sains

Nous avons comparé le taux moyen de production de la « MMP-3 » chez les patients atteints de PR vs. Sujets sains (Tableau 10; Figure 18).

Tableau 10. Comparaison des taux moyens en MMP-3 chez les patients PR vs. Sujets sains.

	Moyenne \pm SEM		(p)
	Patients PR	Sujets sains	
MMP3 [ng/ml]	54,33 \pm 5,792	19,74 \pm 2,060	< 0,0001

Nos résultats montrent que les patients PR produisent de manière hautement significative plus de MMP-3 que les sujets sains ($p < 0,0001$).

Cette enzyme étant directement liée au processus de destruction articulaire, notamment, chez les pathologies rhumatismales chroniques dont la PR.

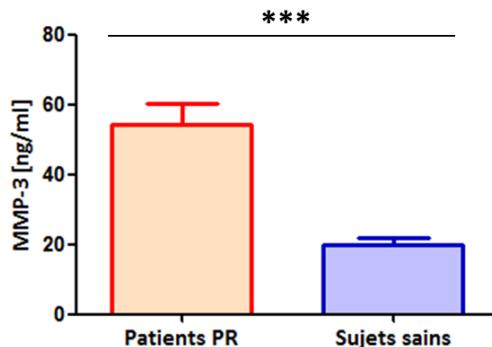


Figure 19. Production moyenne en MMP-3 chez les patients PR vs. Sujets sains.

III. 3-2. Production moyenne en MMP-3 chez les patients PR en fonction du stade érosif et de la ménopause

Dans cette analyse nous avons pris :

- D'un côté, les patients PR des deux sexes afin de les comparer par rapport au stade érosif ;

- De l'autre côté, des patientes PR (sexe féminin) pour les comparer en fonction de leur activité génitale (**Tableau 11 ; Figure 20**).

Tableau 11. Comparaison des taux moyens en MMP-3 chez les patients PR en fonction de l'érosion et de l'activité génitale.

	Moyenne ± SEM		(p)	Moyenne ± SEM		(p)
	PR érosive	PR non érosive		Ménopausées	Actives	
MMP3 [ng/ml]	63,17 ± 9,19	44,48 ± 6,158	0,1136	45,79 ± 6,783	55,47 ± 8,057	0,5131

L'analyse de nos résultats ne révèle aucune différence statistiquement significative entre :

- Forme érosive et non érosive de la PR ;
- Patientes ménopausées et en âge de procréer.

Toutefois, nous remarquons que la forme érosive est associée à un taux élevé en MMP-3 comparée à la forme non érosive. Cette différence pourrait être plus palpable en augmentant l'effectif de l'étude (perspectives).

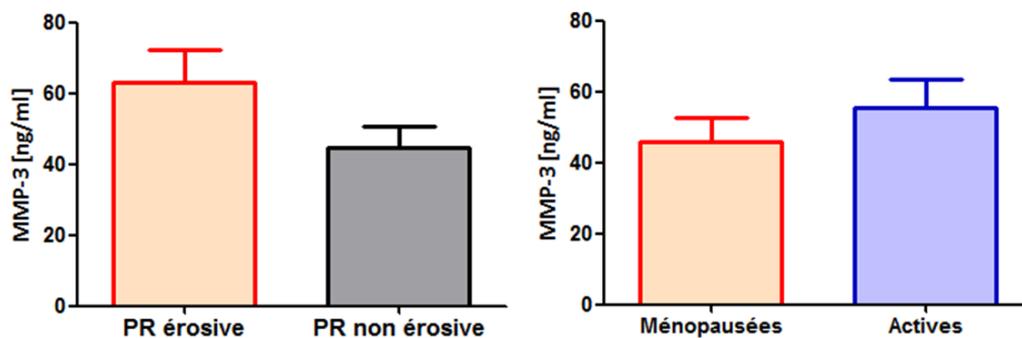


Figure 20. Production en MMP-3 chez les patients PR en fonction de l'érosion et de l'activité génitale.

III-4. DOSAGE DE LA VITAMINE D

III. 4-1. Dosage de la Vitamine D chez les patients PR et les témoins sains

Nous avons comparé le taux sanguin moyen en « Vitamine D » chez les patients atteints de PR vs. Sujets sains (**Tableau 12 ; Figure 21**).

Tableau 12. Comparaison des taux moyens en Vitamine D chez les patients PR vs. Sujets sains.

	Moyenne \pm SEM		(p)
	Patients PR	Sujets sains	
Vit D [$\mu\text{g/ml}$]	10,75 \pm 0,638	10,95 \pm 0,155	0,7780

L'analyse de nos résultats ne révèle aucune différence statistiquement significative entre les patients et les sujets sains. Néanmoins, il est clair que les individus des deux groupes souffrent d'une carence sévère en Vitamine D avec des taux sanguins très faibles. Ceci pourrait être associé à un manque de « standardisation » quant à la mesure de cette vitamine et les conditions du prélèvement qui ne seraient pas acceptées ou encore à une carence effective qui reste à démontrer dans de plus grandes cohortes.

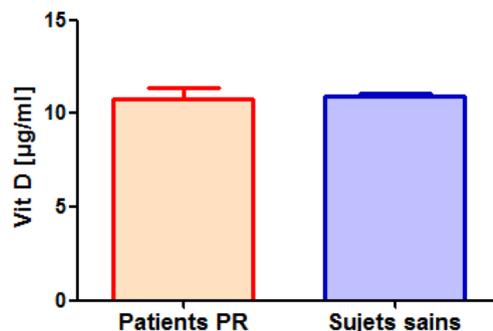


Figure 21. Taux moyen en Vitamine D chez les patients PR vs. Sujets sains.

III. 4-2. Taux moyens Vitamine D chez les patients PR en fonction du stade érosif et de la ménopause

Comme précédemment décrit, dans cette analyse nous avons pris : d'un côté, les patients PR des deux sexes afin de les comparer par rapport au stade érosif et de l'autre côté, des patientes PR (sexe féminin) pour les comparer en fonction de leur activité génitale (**Tableau 13; Figure 22**). L'analyse de nos résultats ne révèle aucune différence statistiquement significative entre les quatre groupes étudiés quant au taux sanguin moyen en Vitamine D.

Tableau 13. Comparaison des taux moyens en Vitamine D chez les patients PR en fonction de l'érosion et de l'activité génitale.

	Moyenne ± SEM		(p)	Moyenne ± SEM		(p)
	PR érosive	PR non érosive		Ménopausées	Actives	
Vit D [µg/ml]	12,33 ± 0,449	13,06 ± 0,829	0,4583	11,81 ± 0,368	13,81 ± 0,622	0,0901

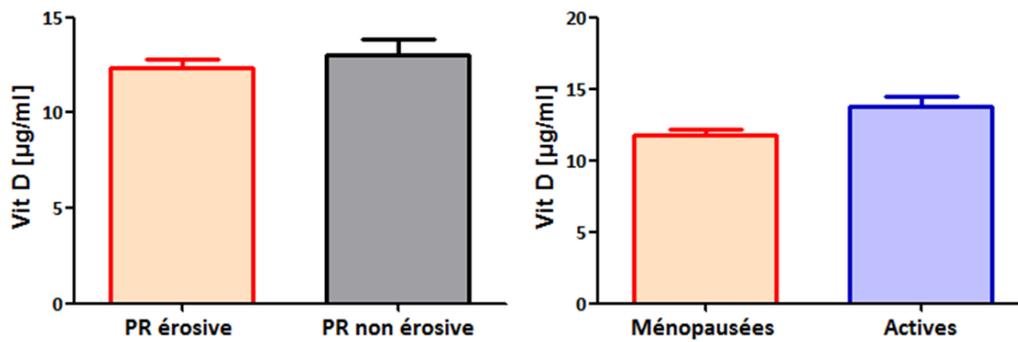


Figure 22. Taux moyen en Vitamine D chez les patients PR en fonction de l'érosion et de l'activité génital

III-2. DISCUSSION

De nombreuses études d'association essaient d'identifier un biomarqueur qui serait impliqué au même titre que les facteurs de risque génétiques (gènes HLA et non-HLA), entre autres, dans la survenue de la PR. La plupart des gènes candidats, sélectionnés sur la base d'hypothèses physiopathologiques, codent pour des protéines impliquées dans des processus aussi divers que la régulation de l'inflammation, la prolifération cellulaire ou le maintien de l'homéostasie vasculaire (**Billaud *et al.*, 2013 ; Fischer *et al.*, 2018**). Dans notre étude, nous nous sommes intéressés au dosage des biomarqueurs du remodelage osseux (OCL et CTX-I), de la MMP-3 et de la Vitamine D.

Après l'analyse de nos résultats nous les avons comparés à ceux déjà publiés, en tenant compte de l'existence de différences basées, entre autres, sur :

- L'ethnie ;
- L'effectif étudié ;
- L'âge et le sexe des patients étudiés ;
- La durée d'évolution de la maladie étudiée ;
- L'existence ou non de complications (érosion osseuse dans la PR) ;
- L'existence ou non de facteurs de risques (sujets apparentés ou non).

Étude des biomarqueurs du remodelage osseux OCL et CTX-I***1. Ostéocalcine***

Nos résultats montrent pour les taux d'OCL, biomarqueur de la formation osseuse, à la comparaison des taux :

- Entre Patients PR et sujets sains : une production significativement plus importante chez ces derniers ;
- En fonction du sexe : un taux significativement plus élevé chez les sujets sains des deux sexes mais avec un accent sur les taux obtenus chez les sujets sains de sexe féminin vs. patients PR du même sexe. Ceci suggère une faible ostéogénèse chez les patients PR des deux sexes ;
- En fonction de l'âge des patientes PR (sexe féminin) : les sujets sains des trois tranches d'âge étudiées [« 20 – 40 » ; « 41 – 50 » ; « 51 – 80 »] ans produisent significativement plus d'OCL que les patientes PR appartenant aux mêmes tranches mais avec une production accrue dans la tranche des [41 – 50] ans ;

- En fonction du statut ménopausique chez les patientes PR : aucune différence entre les groupes « ménopausées vs. femmes en activité génitale » ;
- Par rapport à la forme de la maladie (érosion vs. non érosion) : aucune différence significative entre les deux groupes de patients.

Les études menées sur les patients PR ont démontré que les concentrations en Ostéocalcine (OCL) sont significativement basses chez les patients présentant une forme active (lors d'une poussée de la maladie) comparées à celles observées chez les patients :

- En rémission ;
- De sexe féminin, en péri-ménopause ;
- Présentant une forme non destructrice de la maladie (PR non érosive).

Ces résultats suggèrent une diminution des taux de l'OCL liée au métabolisme osseux défectueux et à l'impact du vieillissement cellulaire et l'interférence d'autres maladies chroniques touchant les personnes âgées (**Vanderschueren, 1990**).

Le taux sanguin de ce biomarqueur est, également, bas chez les patients PR en cas de corticothérapie ou prise de Méthotrexate (DMARDs) (**Seriolo et al., 2002**). Ce taux réduit pourrait s'expliquer par une insuffisance soit :

- Antigénique : faible production ;
- Fonctionnelle : inhibition par les cytokines pro-inflammatoires (IL-1 et TNF α) (**Couret et al., 2003**).

2. CTX-I

L'analyse des résultats que nous avons obtenus montre pour le taux de production de CTX-I, biomarqueur de résorption, à la comparaison des taux :

- Entre Patients PR et sujets sains : une production significativement plus importante chez les patients PR ;
- En fonction du sexe : un taux significativement plus élevé chez les sujets sains de sexe féminin vs. patients PR du même sexe et aucune différence entre les deux groupes de sexe masculin ;
- En fonction de l'âge des patientes PR (sexe féminin) : aucune différence entre les patientes PR appartenant aux tranches d'âge étudiées ;
- En fonction du statut ménopausique chez les patientes PR : aucune différence entre les groupes « ménopausées vs. femmes en activité génitale » ;
- Par rapport à la forme de la maladie (érosion vs. non érosion) : une faible tendance, sans aucune différence significative, à produire plus de CTX-I en cas d'érosion.

L'étude de **Borderie et al. (2012)** a démontré que le taux sanguin en CTX-I, marqueur de résorption osseuse est plus élevé chez les patients PR *vs.* Sujets sains et les patients présentant une forme érosive, objectivée par des signes radiologiques (Score radiologique de Sharp modifié par van Der Heijde), ont un taux sanguin en CTX-I augmenté de 35% *vs.* Patients présentant une PR non érosive (**Borderie et al., 2012**).

Ben Achour et al. (2018) ont démontré, dans leur étude, que les taux sériques de CTX-I sont plus élevés dans la forme érosive de PR *vs.* non érosive (**Ben Achour et al., 2018**).

Shingada et al. (2008) ont émis l'hypothèse que cette augmentation de la production de CTX-I chez les patients PR serait liée à une activité soutenue des ostéoclastes au niveau de la synoviale enflammée favorisant une résorption ostéo-cartilagineuse responsable de la dégradation du collagène et l'accumulation des produits de cette dégradation au niveau sérique (taux élevé en CTX-I) (**Shingada et al., 2008**).

Vidal et al. (2015) dans un modèle murin de PR (CIA, arthrite induite au collagène), ont démontré une augmentation du remodelage osseux avec des niveaux très importants en CTX-I, en rapport avec un taux d'ostéoclastes très élevé aux articulations sites d'inflammation (**Vidal et al., 2015**).

Iwamoto et al. (2003) ont démontré une résorption osseuse accrue chez les patients PR de sexe féminin *vs.* Sujets sains du même sexe suggérant un risque élevé de développer une ostéoporose associée à la PR chez ces patients (**Iwamoto et al., 2003**).

Tokida et al. (2021) ont démontré l'effet néfaste de la ménopause sur le métabolisme osseux avec une augmentation de la résorption osseuse et par conséquent des biomarqueurs liés à cette résorption (CTX-I) (**Tokida et al., 2021**). En effet, cette augmentation est associée à la déficience en œstrogènes qui induit la survie et une forte activation des ostéoclastes (**Islander et al., 2011**).

Par ailleurs, la prise de corticoïdes ou de DMARDs (*Disease-modifying antirheumatic drugs*) n'a aucun effet significatif sur les taux sériques en CTX-I (**Couret et al., 2003**).

Étude de la MMP-3

Nos résultats montrent pour les taux de MMP-3, marqueur de destruction osseuse, à la comparaison des taux :

- Entre Patients PR et sujets sains : une production significativement plus importante chez les patients PR ;
- En fonction du statut ménopausique chez les patientes PR : aucune différence significative entre les deux groupes « ménopauses *vs.* femmes en activité génitale » ;

- Par rapport à la forme de la maladie (érosion vs. non érosion) : aucune différence significative.

Actuellement, de nombreux travaux tendent à associer au développement de la PR, la MMP-3 produite, au niveau des articulations, par les fibroblastes et les chondrocytes (**Reuter et Matthias., 2019**). La MMP-3 est activement impliquée dans la destruction des articulations chez les patients atteints de la PR et elle est retrouvée, en forte concentrations, dans le liquide synovial et le sérum des patients (**Ally et al., 2013**).

Aux États Unis d'Amérique, elle est utilisée, en clinique, comme marqueur faisant partie d'un Score composite d'activité de la PR, le MBDA (*Multi-Biomarker Disease activity*) basé sur douze biomarqueurs sériques de l'inflammation dont la CRP et coté de 0 à 100 points (**Figure 22**) (**Hambardzumyan et al., 2014**).

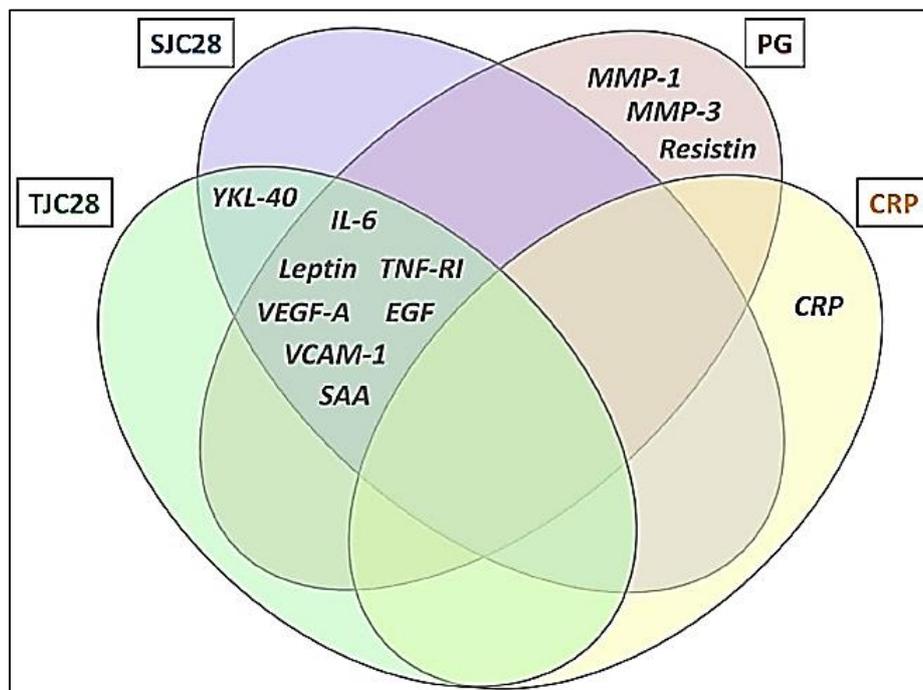


Figure 22. Algorithme du score MBDA.

Ally et al. (2013) ont démontré que les patients PR comparés aux sujets sains produisaient plus de MMP-3 (**Ally et al., 2013**). En effet, chez les patients PR, la destruction exagérée de la Matrice Extracellulaire (MEC) est due à la production à des taux très élevés de la MMP-3 (**Yamanaka et al., 2000**).

La PR est un rhumatisme inflammatoire caractérisé par une destruction articulaire très agressive d'où la nécessité d'une thérapie à base d'un traitement de fond (DMARDs) permettant

de stopper l'évolution de la maladie ou du moins la ralentir et d'éviter aux patients une ou plusieurs érosions osseuses. Cette prise en charge doit être la plus précoce possible d'où la nécessité d'un biomarqueur qui puisse nous éclairer sur l'agressivité de la forme de la PR que présente un patient « x » et justement la MMP-3, biomarqueur révolutionnaire, est un excellent candidat, dans ce cas, permettant d'instaurer un traitement adapté à base de DMARDs (**Yamanaka et al., 2000**).

En outre, selon certaines études dont celle de **Ribbens et al. (2002)** l'élévation du taux sérique de la MMP-3 serait spécifique des Synovites (**Ribbens et al., 2002**). Cependant, cette enzyme est également produite par d'autres cellules, notamment, les cellules glomérulaires, les cellules tubulaires et les cellules mésangiales, ce qui en explique la production dans des pathologies telles que les connectivites. Ceci dit, **Ribbens et al. (2002)** avaient expliqué cette élévation du taux sérique par une éventuelle corticothérapie (36% des patients présentant une connectivite étaient sous corticoïdes) (**Ribbens et al., 2002**).

Dosage de la Vitamine D

Nos résultats n'ont montré aucune différence significative dans les taux sériques en Vitamine D, à la comparaison des taux :

- Entre Patients PR et sujets sains ;
- En fonction du statut ménopausique chez les patientes PR ;
- Par rapport à la forme de la maladie (érosion vs. non érosion).

Les études ont montré au cours des maladies inflammatoires chroniques telle que la PR, une association entre une carence en Vitamine D (concentration sérique basse en la forme inactive de la Vitamine D « 25-OH Vitamin D ») et le maintien de l'inflammation, lors des poussées.

Cette association à la sévérité de la maladie met l'accent sur le rôle potentiel de cette Vitamine dans l'initiation et l'évolutivité de la maladie (**Louisa et al., 2016**).

Notre étude dont l'objectif était de déterminer l'intérêt du dosage des taux sériques des biomarqueurs de remodelage osseux (OCL et CTX-I), de la MMP-3 et de la Vitamine D chez les patients Algériens atteints de PR, a été réalisée au sein du laboratoire d'Auto-immunité de l'Institut Pasteur d'Algérie et au terme de cette étude, il en ressort :

Dans un premier temps, nous avons voulu mettre en évidence l'association de ces biomarqueurs au développement de la PR en comparant leurs taux sériques chez les patients PR par rapport aux sujets sains. En effet, nos résultats ont montré que :

- L'OCL est faiblement produite chez les patients étudiés vs. sujets sains démontrant une ostéogénèse ralentie en cas de PR ;
- Le CTX-I est fortement produit chez les patients PR et est associé à une destruction de la charpente osseuse ;
- La MMP-3 est associée à la dégradation articulaire due à la survenue de synovites caractéristiques de la PR ;
- La Vitamine D est en carence chez les patients PR de même que chez les sujets sains.

Par la suite, nous nous sommes intéressés aux facteurs sexe et âge, quant à la production des biomarqueurs de remodelage osseux (OCL et CTX-I) et il en ressort que les patients PR des deux sexes produisent moins d'OCL, marqueur de formation osseuse, que les sujets sains et les femmes atteintes de PR, en particulier, produisent plus de CTX-I, marqueur de résorption osseuse, que les sujets sains. Ces deux processus, ostéogénèse ralentie et résorption accrue, font que les femmes atteintes de PR sont sujettes à plus de destruction osseuse, plus d'érosion et, donc, plus de déformations articulaires.

En perspectives, il serait intéressant d'analyser sur un plus grand effectif, notamment des patients atteints de PR débutante et naïfs de tout traitement, ce qui permettrait de tirer plus de conclusions et d'inclure ces marqueurs dans les critères de classification afin de permettre un diagnostic le plus précoce possible et une meilleure prise en charge thérapeutique des patients.

- Angelotti, F; Parma, A; Cafaro, G; Capecchi, R; Alunno, A; Puxeddu, I.(2017). One year in review 2017: pathogenesis of rheumatoid arthritis
- Baclé,M (2012). La polyarthrite rhumatoïde de l'adulte, place et rôle du pharmacien d'officine dans sa prise en charge et la délivrance des biothérapies a l'officine. These de doctorat en pharmacie.Rouen, France.Université de Rouen.
- Behamou M, Fautrel B(2009).biothérapie et rhumatismes inflammatoires
- BENFREHA A. (2018). Polyarthrite rhumatoïde : de la physiopathologie à la thérapie (Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie). Université de Limoges : 184 p.
- BERAMTANE RAAF N. (2017). Aspects immunogénétiques de la polyarthrite rhumatoïde en Algérie (Thèse). Universités Ben Youcef BenKhedda. Alger : 315 p.
- Bouhdiche, c,Larafa,I.(2013). L'effet anti inflammatoire de l'extrait aqueux de *Matricaria pubescens* sur la polyarthrite rhumatoïde provoqué chez les rats
- Boissier M-CH, Biton J, Semerano L, Decker P, Bessis N. (2019). L'origine de la polyarthrite rhumatoïde .*Revue du Rhumatisme* 86 : A19-24.
- Cantagrel, A.(2018) Polyarthrite rhumatoïde: chapitre 36
- Chowdhury, C. S., Giaglis, S., Walker, U. A., Buser, A., Hahn, S., & Hasler, P. (2014). Enhanced neutrophil extracellular trap generation in rheumatoid arthritis: analysis of underlying signal transduction pathways and potential diagnostic utility. *Arthritis research & therapy*, 16(3), 1-14.
- Das S, Padhan P. An Overview of the Extraarticular Involvement in Rheumatoid Arthritis and its Management. *J Pharmacol Pharmacother*. 2017 Jul-Sep;8(3):81-86. doi: 10.4103/jpp.JPP_194_16.
- De Cock, D., & Hyrich, K. (2019). Malignancy and rheumatoid arthritis: Epidemiology, risk factors and management. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. doi:10.1016/j.berh.2019.03.011
- Dieudé P, Cornélis F. Genetic basis of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2005 Dec;72(6):520-6. doi: 10.1016/j.jbspin.2005.09.001.
- Demoruelle, M. K., Harrall, K. K., Ho, L., Purmalek, M. M., Seto, N. L., Rothfuss, H. M., ... & Deane, K. D. (2017). Anti-citrullinated protein antibodies are associated with neutrophil extracellular traps in the sputum in relatives of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis & Rheumatology*, 69(6), 1165-1175.

- El Bakkouri J, Fellah H (2014). Marqueurs immunologiques de la polyarthrite rhumatoïde.
- Firestein GS, Iain B. McInnes. (2017). Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Immunity* 46. no2 : 183-196.
- Frisell T, Holmqvist M, Källberg H, Klareskog L, Alfredsson L, Askling J. (2013). Familial risks and heritability of rheumatoid arthritis: role of rheumatoid factor/anti-citrullinated protein antibody status, number and type of affected relatives, sex, and age.
- Hughes, G. C., & Choubey, D. (2014). Modulation of autoimmune rheumatic diseases by oestrogen and progesterone. *Nature Reviews Rheumatology*, 10(12), 740-751.
- Hassan, B ; Gosset, M. (2015) Polyarthrites rhumatoïdes et maladies parodontales
Rheumatoid arthritis and periodontal diseases
- Hernández-Bello, J., Oregón-Romero, E., Vázquez-Villamar, M., García-Arellano, S., Valle, Y., Padilla-Gutiérrez, J. R., ... Muñoz-Valle, J. F. (2017). Aberrant expression of interleukin-10 in rheumatoid arthritis: Relationship with IL10 haplotypes and autoantibodies. *Cytokine*, 95, 88–96. doi:10.1016/j.cyto.2017.02.022
- Gerhard W. (2014). La Polyarthrite Rhumatoïde de l'adulte: Stratégies Thérapeutiques et Concept Du Patient-Expert. (Thèse de doctorat). Universités de lorraine. France : 208 P.
- Ghozlani, I ; Achemlal, L ; Rezqi, A ; Mounach, A ; Bezza, A ; El maghraoui A. (2012). physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. pp. 6-9.
doi:10.24398/A.125.2012
- Guillot, X., Semerano, L., Saldenbergh-Kermanac'h, N., Falgarone, G., & Boissier, M.-C. (2010). *Vitamin D and inflammation. Joint Bone Spine*, 77(6), 552–557. doi:10.1016/j.jbspin.2010.09.018
- Khandpur, R., Carmona-Rivera, C., Vivekanandan-Giri, A., Gizinski, A., Yalavarthi, S., Knight, J. S., ... & Kaplan, M. J. (2013). NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis.
- Matcham, F., Rayner, L., Steer, S., & Hotopf, M. (2013). The prevalence of depression in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatology*, 52(12), 2136–2148. doi:10.1093/rheumatology/ket169

- McInnes, I. B., & Schett, G. (2011). The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *New England Journal of Medicine*, 365(23), 2205–2219. doi:10.1056/nejmra1004965
- Minichiello E, Semerano L, Boissier M -Ch. (2017). Incidence prévalence et sévérité de la polyarthrite rhumatoïde au XXI e siècle. *Revue de rhumatisme monographie* 84.no4 : 303-310.
- Otón, T., & Carmona, L. (2020). The epidemiology of established rheumatoid arthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 101477. doi:10.1016/j.berh.2019.101477
- Pillon, F., & Michiels, Y. (2013). Épidémiologie et physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(531), 1–2. doi:10.1016/j.actpha.2013.09.018
- Pradeepkiran, J. A. (2019). Insights of Rheumatoid Arthritis and Risk Factors and Associations. *Journal of Translational Autoimmunity*,. doi:10.1016/j.jtauto.2019.100012
- Roux CH, Saraux A, Le Bihan E, Fardellone P, Guggenbuhl P, Fautrel B, Masson C, Chary-Valckenaere I, Cantagrel A, Juvin R, Flipo RM, Euller-Ziegler L, Coste J, Guillemin F. (2007) Rheumatoid arthritis and spondyloarthropathies: geographical variations in prevalence in France. *J Rheumatol*.
- Sany ,J (2003). *La polyarthrite de l'adulte : conception actuelle-* Jaques Sany-Google livres.
- Schulze-Koops, H., & Kalden, J. R. (2001). The balance of Th1/Th2 cytokines in rheumatoid arthritis. *Best practice & research Clinical rheumatology*, 15(5), 677-691.
- Slimani, S., & Ladjouze-Rezig, A. (2014). Prevalence of rheumatoid arthritis in an urban population of Algeria: a prospective study. *Rheumatology*, 53(3), 571–573. doi:10.1093/rheumatology/ket446
- Song, X., & Lin, Q. (2017). Genomics, transcriptomics and proteomics to elucidate the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*, 37(8), 1257–1265. doi:10.1007/s00296-017-3732-3
- Sturgeon, J. A., Finan, P. H., & Zautra, A. J. (2016). Affective disturbance in rheumatoid arthritis: psychological and disease-related pathways. *Nature Reviews Rheumatology*, 12(9), 532–542. doi:10.1038/nrrheum.2016.112

- Viatte S, Barton A.(2017).Genetics of rheumatoid arthritis susceptibility, severity, and treatment response. *Semin Immunopathol.* Jun;39(4):395-408.doi: 10.1007/s00281-017-0630-

Annexe I

Tableau 1 Caractéristiques et résultats d'une partie des patients étudiés.

Patients	Age	Sexe	CTX-1	OCL	MMP-3	Vit D	Erosion
1	45	F	0,2	8,2	78	8	1
2	76	F	0,1	8,4	35	7	1
3	42	F	0,09	4,1	12	6	0
4	22	F	0	1,5	91	5	0
5	46	F	0,03	1,7	12	8	0
6	44	F	0,1	7,2	34	11	0
7	52	F	0,1	2,6	98	12	1
8	36	F	0,1	18,8	26	13	0
9	45	F	0,05	3,1	52	14	0
10	35	F	0,03	6	23	11	0
11	61	M	0,2	4,9	152	10	0
12	31	F	0,2	3,6	15	9	0
13	67	F	0,8	15,9	60	8	1
14	47	F	0,06	8,6	12	7	1
15	52	M	0,1	5,5	64	11	0
16	47	F	0,04	3,6	58	11	1
17	31	F	0,1	14,8	35	11	0
18	36	F	2,1	2,6	98	12	1
19	44	M	0,3	13,2	48	13	0
20	44	F	0,06	19,9	66	14	1
21	52	F	0,1	5,2	42	15	0
22	62	F	0,2	2,4	34	19	1
23	53	F	0,01	2,2	13	16	0
24	36	F	0,02	9,4	16	17	1
25	71	F	0,1	3,7	20	14	1
26	45	F	0,2	4,3	145	18	1
27	53	F	0,1	20	228	10	1
28	59	F	0,1	3,2	20	9	0
29	33	F	0,3	6	40	9	0
30	50	F	0,4	3,8	34	8	1
31	61	F	0,4	32	93	4	0
32	42	F	0,2	1,9	46	11	1
33	54	F	1	15	42	12	1
34	68	F	1,15	58	214	13	1
35	69	F	0,2	9,4	57	23	0
36	66	M	0,167	4,43	37	1	0
37	66	F	0,3	13	27	2	0
38	42	F	0,6	11	39	5	0
39	67	F	0,2	4,1	90	15	1
40	52	F	0,12	14,574	9	13	1
41	62	M	0,118	13,858	46	11	0

Annexe II

N° du Dossier / / / / /	INSTITUT PASTEUR D'ALGÉRIE DÉPARTEMENT D'IMMUNOLOGIE LABORATOIRE D'AUTO-IMMUNITÉ	N° de Saisie / / / / / / / / /
-----------------------------------	---	--

Fiche de recueil des données

Nom/Prénom : Date de naissance : Âge : Sexe : Adresse Wilaya : Commune/Code postal : Profession : Hôpital : Service : Médecin Traitant : Cabinet Médical Adresse : Médecin Traitant : Motif d'hospitalisation : Motif de consultation : Date de début de la Symptomatologie : Diagnostic Suspecté : Diagnostic de Certitude : Traitement reçu : Date de réception du prélèvement : Nature du prélèvement : Délais entre premiers symptômes et date de réception du prélèvement : Examens demandés (Guide : Nombre de tests par bilan) 1. Bilan Connectivite / / / / / 2. Bilan SAPL / / / / / 3. Bilan Myopathies inflammatoires / / / / / 4. Bilan Vascularite / / / / / 5. Bilan GEM primitive / / / / / 6. Bilan Coeliaque / / / / / 7. Bilan Diabète / / / / / 8. Bilan Gastrite Atrophique/Anémie de Biermer / / / / / 9. Bilan MIC / / / / / 10. ACPA / / / / / 11. Facteur Rhumatoïde / / / / /	/ / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / / /
Coût des tests : Nombre d'examens normaux : Nombre d'examens pathologiques : Délais de remise des résultats :	/ / / / / / / / / / / / / / / / / /

Annexe III

Formulaire de Consentement libre, éclairé

(Décret N°92-276 du 6 juillet 1992 portant code de déontologie médicale)

Nom :

Prénom :

Sexe :

Date de naissance :

Adresse :

Numéro de tel :

Le Docteur m'a proposé de participer à une étude intitulée :

.....

.....

J'ai reçu oralement et par écrit toutes les informations nécessaires pour comprendre l'intérêt et le déroulement de l'étude, les bénéfices attendus, les contraintes et les risques prévisibles.

J'ai pu poser toutes les questions nécessaires à la bonne compréhension de ces informations et j'ai reçu des réponses claires et précises.

J'ai disposé d'un délai de réflexion suffisant entre les informations reçues et ce consentement avant de prendre ma décision.

En foi de quoi, j'accepte librement et volontairement de participer à cette recherche.

J'accepte que les résultats de cette étude, qui seront toujours anonymes, soient diffusés à des fins scientifiques et en respectant les règles déontologiques de la communauté scientifique.

Par ailleurs, je pourrai éventuellement être sorti(e) de l'étude par le médecin s'il l'estime nécessaire.

Signature :

Je reconnais avoir lu le présent formulaire de consentement et consens volontairement à participer à ce projet de recherche. Je reconnais aussi que le responsable du projet a répondu à mes questions de manière satisfaisante et que j'ai disposé suffisamment de temps pour réfléchir à ma décision de participer. Je comprends que ma participation à cette recherche est totalement volontaire et que je peux y mettre fin en tout temps, sans pénalité d'aucune forme, ni justification à donner. Il me suffit d'en informer le responsable du projet.

Signature du participant :

Date : / / 2021.

Annexe IV

Dans l'évaluation de l'activité de la PR, nous avons recours à des indices, notamment, le DAS 28:

- **DAS 28**

DAS : Disease Activity Score.

28 : 28 articulations testées.

Il s'agit des critères européens proposés par l'EULAR (European League Against Rheumatism) dans la version simplifiée de 1996. L'indice DAS 28 est un **score d'activité de la PR** permettant de mesurer cette dernière à partir d'une analyse statistique multivariée.

C'est un indice composite à quatre variables : le nombre d'articulations douloureuses, le nombre de synovites, l'appréciation globale par le patient (EVA) et la vitesse de sédimentation (VS).

Tableau 2 : valeur du DAS 28 et son interprétation

DAS 28	Interprétation
$DAS \leq 2.6$	PR en rémission
$2.6 < DAS \leq 3.2$	PR faiblement active
$3.2 < DAS \leq 5.1$	PR modérément active
$DAS > 5.1$	PR très active

Annexe V

Clinique de la Polyarthrite rhumatoïde

La PR se manifeste par des atteintes articulaires et extra-articulaire, préférentiellement les articulations périphériques de façon symétrique, elle évolue par poussées ce qui permet de décrire des formes débutantes et des formes évoluées

I.5.1. Forme débutante de la PR

Cette forme peut durer de plusieurs mois à plusieurs années et elle propre à chaque individu. Elle est aussi constante et difficile à diagnostiquer. La PR est bilatérale, symétrique et nue. ces articulation sont douloureuses a la pression « Squeeze-test » et enflées révèlent une ténosynovite.

Dans la majorité des cas (70 %) d'une oligoarthritis distale d'apparition progressive intéressant les poignets, une ou plusieurs articulations métacarpophalangiennes (surtout la deuxième ou la troisième) ou interphalangiennes proximales, parfois les avant-pieds. Les articulations concernées sont douloureuses, partiellement enraidies. Le rythme des douleurs est caractéristique d'un rhumatisme inflammatoire : nocturnes, réveillant les malades, elles sont maximales le matin au réveil, entraînant un enraidissement articulaire qui cède dans la matinée.

Dans 20 % des cas environ, la PR commence comme une polyarthrite aiguë fébrile avec importante altération de l'état général, évoquant volontiers un état infectieux.



Figure 05 : ténosynovite de l'extenseur du carpe (COFER., 2011)



Figure 06 : ténosynovite des fléchisseurs des doigts (COFER., 2011)

4.1 Forme évoluées de la PR

La phase initiale évolue vers une phase d'état ou correspond à l'évolution de la maladie vers une atteinte articulaire. Plusieurs articulations peuvent être touchées, particulièrement : Mains, poignets, pieds et vertèbres cervicales bien que les articulations interphalangiennes distales sont rarement touchés.

Tableau 1: atteinte articulaires de la PR

Localisation articulaire	Manifestations
Les Mains	<ul style="list-style-type: none"> ▪ atteintes dans 90 % des cas La déformation la plus caractéristique : déviation cubitale des doigts. Ou encore des déformations des doigts en boutonnière, ou en col de cygne, des déformations du pouce en Z ou en adduction
Les Poignets	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Atteintes dans 90 % des cas une arthrite radio-cubitale inférieure induisant une gêne à la supination
Les pieds	<ul style="list-style-type: none"> ▪ atteints dans 90 % des cas surtout l'avant-pied et les articulations métatarso-phalangiennes entraînant une gêne à la marche
Les genoux	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Atteintes observées dans 60 % des cas, souvent avec un kyste du creux poplité dont la rupture fait évoquer une phlébite
Le rachis cervical	<ul style="list-style-type: none"> ▪ présente des lésions dans 50 % des cas responsables de cervicalgies avec ou sans irradiation Risque principale de lésions est la luxation atloïdo-axoïdienne.
Les épaules	<ul style="list-style-type: none"> ▪ atteintes chez la moitié des patients (50 % des cas) conduit à une limitation progressive en adduction et en rotation interne en raison d'une synovite rhumatoïde scapulo-humérale
Les coudes	<ul style="list-style-type: none"> ▪ atteintes observées dans 40 % des cas Des lésions induisent une attitude en flexion et conduisant à une gêne à la pronosupination
Les hanches	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Atteintes notée dans seulement 15 % des cas Les lésions articulaires induisent des dégâts souvent importants conduisant fréquemment à une arthroplastie

Si la PR n'est pas suffisamment traitée, des manifestations extra-articulaires peuvent développer. Les plus fréquentes sont les nodules rhumatoïdes (brouillons sous-cutanés fermes près de proéminences osseuses telles que le coude). Une manifestation plus grave est la vascularite rhumatoïde, une inflammation nécrosante des artères petites ou moyennes, touchant principalement la peau, le vasque nerveu et parfois les artères d'autres organes.

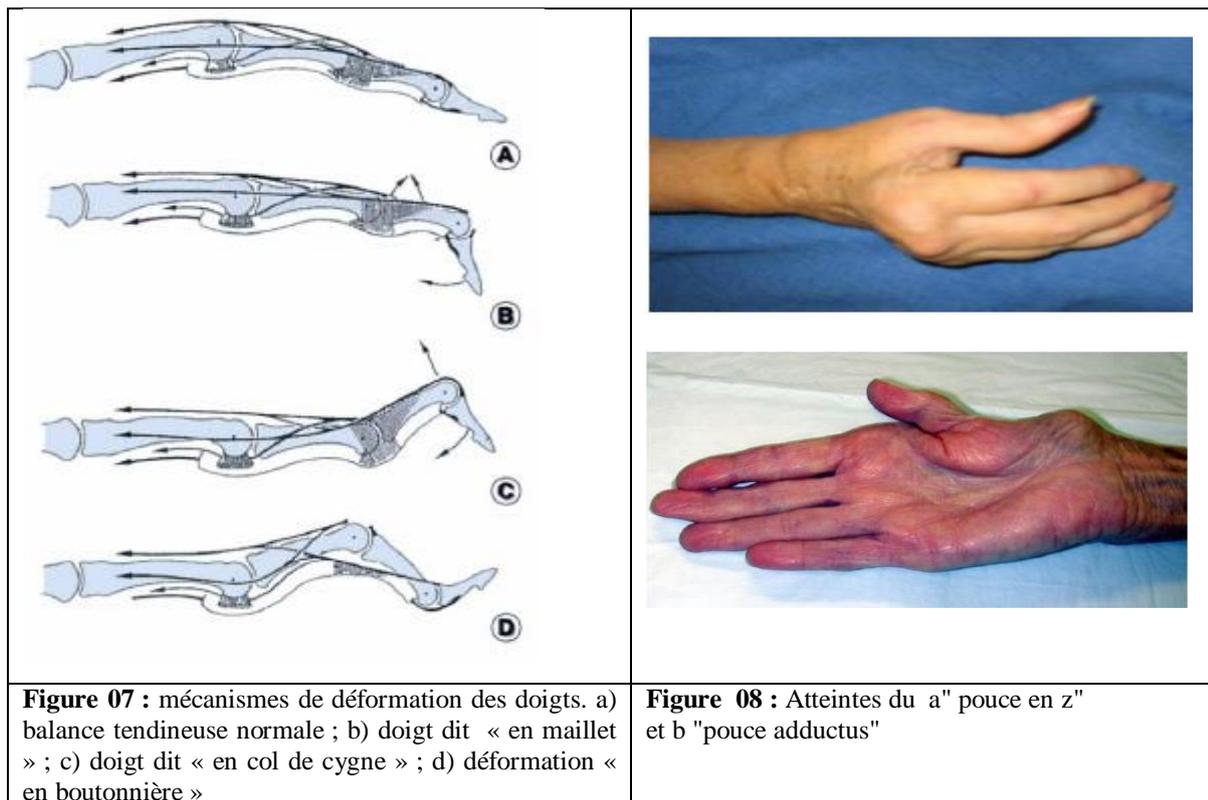


Figure 07 : mécanismes de déformation des doigts. a) balance tendineuse normale ; b) doigt dit « en maillet » ; c) doigt dit « en col de cygne » ; d) déformation « en boutonnière »

Figure 08 : Atteintes du a) "pouce en z" et b "pouce adductus"

Tableau 2 : manifestations extra-articulaires de la PR

Localisation extra-articulaire	Manifestations
Peau	Nodules rhumatoïdes (10 à 20% des cas).
	Vascularite rhumatoïde (1% des cas) : purpura vasculaire avec nécrose des doigts ou des orteils.
Ganglions lymphatiques	Adénopathies superficielles, mobiles et infra-centimétriques (20 à 30% des cas).
Glandes exocrines	Syndrome sec (20 à 25% des cas).
Cœur	Péricardite.
Poumon	Bronchectasies.
	Pleurésie rhumatoïde.
	Fibrose pulmonaire interstitielle diffuse.
	Nodule rhumatoïde.
Œil	Sclérite et épisclérite (1 à 5% des cas) : risque de scléromalacie
Hématologique	Syndrome de Felty.
	Pseudo-syndrome de Felty (lymphocytose à larges lymphocytes granulomateux).
Rein	Amylose AA

Annexe V

Matériels non biologique	Matériels biologique	Appareillage
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Micropipettes permettant de prélever des volumes de : 20 à 25 μL et de 10 à 1000 μL ▪ Chronomètre de laboratoire ▪ Cuve à coloration ▪ Embouts jetable ▪ Gants ▪ Tubes à essai pour préparer les dilutions de sérum ▪ Papier buvard. ▪ Verrerie standard de laboratoire pour la préparation des solutions substrat, de lavage et d'arrêt ▪ Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sang veineux prélevé dans un tube sec ▪ Le kit N-MID® Osteocalcine ELISA ▪ Le kit Sérum CrossLaps® ELISA ▪ Le kit Aeskulina MMP-3 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Lecteur de microplaques ELISA à absorbance. ▪ Laser-néphélométrie

→ Matériel non biologique



Figure présentant des différents matériels non biologiques utilisés

- Lecteur de microplaques ELISA à absorbance.



- Laser-néphélométrie



→ Les différents réactifs utilisés

- Le kit N-MID® Osteocalcine ELISA



Composition du coffret :

Chaque trousse contient les quantités nécessaires pour 96 tests.

○ Le kit Serum CrossLaps® ELISA



o Le kit Aeskulisa MMP-3

