

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

LUPUS ET HLA

Mémoire de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie

Session : Juin 2016.

Présenté par :

- EL GHOUL Ahlem
- ZAOUIA Nor El Imane

Encadré par :

-Dr Y.BOUCHEDOUB,
Maitre de conference B

Devant le jury :

- | | |
|--|--------------|
| - Dr O. RENDJA, Maitre assistant en immunologie au CHU Blida | Président |
| - Dr M.L BOUDJELLA, Maitre assistant en immunologie au CHU Blida | Examinateur |
| - Dr L. OULD ALI, Assistante en immunologie au CHU Blida | Examinatrice |

Table de matière

I. Introduction	1
II. Revue de la littérature	3
II.1. Généralités sur les maladies auto-immunes :	4
II.1.1. Tolérance immunologique :	4
II.1.2. Rupture de la tolérance :	5
II.1.3. Classification :	6
II.2. Lupus érythémateux systémique :	7
II.2.1. Définition :	7
II.2.2. Historique :	7
II.2.2.1 : La période classique :	7
II.2.2.2 : La période néoclassique :	7
II.2.2.3 : La période moderne :	8
II.2.3. Epidémiologie :	8
II.2.4. Critères de Classification :	9
II.2.5. Physiopathologie :	9
II.2.5.1. Facteurs environnementaux :	9
a. Agents infectieux :	9
b. Médicaments :	10
c. Les rayons UV :	10
d. Le stress :	11
e. Le tabac :	11
f. Autres :	11
II.2.5.2. Facteurs Hormonaux :	11
a. Œstrogène :	11
b. Progestérone :	11
c. Prolactine :	12
II.2.5.3. Facteurs immunologiques :	12
II.2.5.3.1. Cellules :	12
a. Cellules apoptotiques :	12
b. Lymphocytes T :	12
c. Lymphocytes B :	13
d. Cellules dendritiques :	14

e. Les polynucléaires :	14
II.2.5.3.2. Auto-anticorps:	15
II.2.5.3.3. Cytokines :	16
a. Interféron type I:	16
b. Autres cytokines:	17
II.2.5.3.4. Système du complément:	17
II.2.5.4. Facteurs génétiques et épi génétiques:	19
II.2.5.4.1. Epigénétique et Lupus:	19
II.2.5.4.2. Facteurs génétiques :	19
A. Facteurs polygénique de la voie de l'IFN type I :	20
B. Facteurs monogéniques:	21
a. Déficits monogéniques:	21
b. Facteurs monogéniques de la voie de l'IFN I:	21
c. Facteurs de régulation:	21
d. polymorphismes changeant le code :	22
C. Complexe majeur d'histocompatibilité (CMH):	22
C.1. Organisation génétique du CMH:	22
C.2. Structure des molécules du CMH classe I et II:	22
C.3. Caractéristiques du CMH:	25
C.4. Nomenclature OMS 2010:	26
C.5. HLA et maladies :	26
C.6. HLA et lupus :	26
II.2.6. Manifestations cliniques :	28
II.2.6.1. Manifestations générales :	28
II.2.6.2. Atteintes rhumatologiques :	28
II.2.6.3. Atteintes cutanées :	29
II.2.6.4. Atteintes rénales:	31
II.2.6.5. Atteintes pulmonaires :	32
II.2.6.6. Atteintes neurologiques :	32
II.2.6.7. Atteintes cardiovasculaires :	33
II.2.6.8. Atteintes hépatiques et digestives :	34
II.2.6.9. Atteintes hématologiques :	34
II.2.7. Formes cliniques :	34

II.2.7.1. Grossesse et LES:	34
II.2.7.2. Lupus néonatal:	35
II.2.7.3. Lupus pédiatrique :	35
II.2.7.4. Formes débutant chez le sujet de plus de 50 ans :	36
II.2.7.5. Lupus masculin :	36
II.2.7.6. Lupus associé au SAPL :	36
II.2.7.7. Lupus induit :	36
II.2.8. Manifestations biologiques :	37
II.2.8.1. Les auto-anticorps antinucléaires (AAN):	37
II.2.9. Diagnostic du lupus :	40
II.2.10. Prévention :	42
II.2.11. Traitement:	42
<input type="checkbox"/> La biothérapie :	43
<input type="checkbox"/> Traitements non pharmacologiques :	43
III. Matériel et méthodes.....	45
III.1. Matériel :	46
III.1.1. Matériel biologique :	46
III.1.1.1. Population d'étude :	46
III.1.1.2. Critères d'inclusion :	46
a. Définition du cas :	46
b. Critères d'inclusion des cas :	46
c. Critères d'inclusion des témoins :	46
III.1.1.3. Modalités de recueil des données pour l'étude :	46
III.1.2. Matériel non biologique :	47
III.1.2.1. Fiche de renseignement :	47
III.1.2.2. Tubes de prélèvement :	47
III.1.2.3. Appareillage :	47
III.1.2.4. Matériel informatique :	47
III.2. Méthodes:.....	47
III.2.1. Etude génétique :	47
III.2.1.1. Extraction de l'ADN :	48
III.2.1.1.2. Mode opératoire :	48
III.2.1.2. PCR-SSP:	48

III.2.1.2.1. Principe de la technique:.....	48
III.2.2.2.2. Réactifs:.....	48
III.2.1.2.3. Mode opératoire:.....	49
III.2.1.3 Lecture et interprétation des résultats :.....	52
IV. Résultats et discussion.....	54
IV.1. Résultats :.....	54
IV.1.1. Données épidémiologique:.....	55
IV.1.1.1. Sexe:.....	55
IV.1.1.2. Age:.....	55
IV.1.2. Données génétiques:.....	56
IV.1.2.1. Etude du polymorphisme des allèles HLA classe-I chez les patients lupiques et les témoins:..	56
IV.1.2.1.1 Distribution des allèles HLA-A chez les deux populations:.....	56
IV.1.2.1.2. Distribution des allèles HLA-B chez les deux populations:.....	58
IV.1.2.1.3. Distribution des allèles HLA-C chez les deux populations :.....	60
IV.1.2.1.4. Distribution des associations les plus fréquentes entre les allèles HLA de classe I chez les deux populations:.....	62
IV.1.2.2. Etude du polymorphisme des allèles HLA classe-II chez les patients lupiques et les témoins:.....	62
IV.1.2.2.1. Distribution des allèles HLA-DRB1 chez les deux populations:.....	62
IV.1.2.2.2. Distribution des allèles HLA-DQB1 chez les deux populations:.....	64
IV.1.2.2.3 Distribution des associations les plus fréquentes entre les allèles de classe II :.....	65
IV.1.2.3. Etude des associations entre les deux classes HLA et la susceptibilité au LES :.....	66
IV.2. Discussion:.....	70
V. Conclusion.....	71
VI. Références.....	73
VII. Annexes.....	80

Remerciements :

Au terme de ce présent travail, nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et pour cela il n'ya rien de mieux que الحمد لله

Nous sommes tout aussi reconnaissantes à toutes les personnes ayant contribué à la réalisation de ce mémoire.

Un grand merci de notre part à Dr. Boucheddoub, maitre assistant et maitre de conférence, tuteur de ce mémoire de fin d'étude pour l'aide, le temps, et les conseils qu'il nous a accordé ainsi qu'au Pr. Meghlaoui chef d'unité d'immunologie au CHU Blida

Et bien sur, toute l'équipe du laboratoire d'immunologie, CHU Hassiba ben Bouali, Blida pour sa précieuse contribution.

Nous remercions également Dr. Rendja, Dr. Boudjella et Dr Ould Ali d'avoir accepter d'être membres de jury pour l'évaluation de cette étude.

Remerciements :

Je remercie du fond du cœur ma 'maman' de m'avoir soutenue toute ces années, mon frère à qui je dois tout mes bons souvenirs et mon mari d'avoir été toujours à mes cotés. Zaza ... de tes yeux, j'ai eu le courage qu'il me fallait....merci encore.

Ahlem, on a passé de très bons moments ensemble... merci pour ton aide et ta compréhension.

Enfin, je dédie ce modeste travail à ma petite princesse Mayar et à toi 'papa'.

Nor El Imane

Remerciements :

Je remercie Dieu Tout Puissant de m'avoir guidé et m'avoir aidé à réaliser ce projet.

Je tiens aussi à remercier mes parents ainsi que mes frères et sœur pour leur soutien et support durant toutes mes années d'études.

Je suis aussi reconnaissante quant à l'aide que j'ai reçu, de loin ou de près, de la part de mes amis et mes proches.

Un remerciement particulier à toi Imane pour tous les souvenirs qu'on a partagés ensemble

Je dédie ce modeste travail à ma grand-mère, que Dieu bénisse son âme, pour ses encouragements et ses prières

Ahlem

Liste des Tableaux :

Tableau 1	<i>Facteurs polygénique de la voie de l'IFN type I</i>	<i>Page20</i>
Tableau 2	<i>Déficits monogéniques liés au LES</i>	<i>Page21</i>
Tableau 3	<i>Association HLA-DRB1 avec le LES dans les différentes populations</i>	<i>Page27</i>
Tableau 4	<i>Syndromes neuropsychiatriques rencontrés dans le LES</i>	<i>Page33</i>
Tableau 5	<i>Incidence des principaux anticorps antinucléaires et anti cytoplasmes au cours du lupus érythémateux systémique</i>	<i>Page40</i>
Tableau6	<i>scores pondérés des critères préliminaires du LES</i>	<i>Page41</i>
Tableau 7	<i>Les quantités de réactif à utiliser pour le typage de chaque classe</i>	<i>Page50</i>
Tableau 8	<i>Répartition des deux populations selon l'âge</i>	<i>Page55</i>
Tableau 9	<i>Distribution des allèles HLA-A chez les deux populations</i>	<i>Page57</i>
Tableau10	<i>Distribution des allèles HLA-B chez les deux populations</i>	<i>Page59</i>
Tableau11	<i>Distribution des allèles HLA-C chez les deux populations</i>	<i>Page61</i>
Tableau12	<i>Détermination des associations les plus fréquentes entre les allèles de classe I</i>	<i>Page62</i>
Tableau13	<i>Distribution des allèles HLA-DRB1 chez les deux populations</i>	<i>Page63</i>
Tableau14	<i>Distribution des allèles HLA-DQB1 chez les deux populations</i>	<i>Page64</i>
Tableau15	<i>Les associations les plus fréquentes entre les allèles HLA classe II</i>	<i>Page65</i>
Tableau16	<i>Associations les plus fréquentes des deux classes d'HLA</i>	<i>Page67</i>

Liste des figures :

<i>Figure1</i>	<i>Tolérance centrale et périphérique aux antigènes du soi</i>	<i>Page5</i>
<i>Figure2</i>	<i>Physiopathologie du LES</i>	<i>Page 18</i>
<i>Figure3</i>	<i>Schéma détaillant les gènes de CMH classe I (a) et de classe II (b), leurs ARNm ainsi que leurs produits protéiques</i>	<i>Page24</i>
<i>Figure4</i>	<i>Nomenclature HLA de l'OMS (2010)</i>	<i>Page26</i>
<i>Figure5</i>	<i>mains de Jaccoud</i>	<i>Page29</i>
<i>Figure6</i>	<i>Erythème en vespertilio</i>	<i>Page30</i>
<i>Figure7</i>	<i>Lupus subaigu</i>	<i>Page30</i>
<i>Figure8</i>	<i>Lupus discoïde chronique</i>	<i>Page31</i>
<i>Figure9</i>	<i>Lupus néonatal</i>	<i>Page35</i>
<i>Figure10</i>	<i>Schéma du principe de la technique PCR-SSP et de l'interprétation de l'électrophorèse sur gel</i>	<i>Page49</i>
<i>Figure11</i>	<i>Image du gel sur logiciel Image Lab</i>	<i>Page52</i>
<i>Figure12</i>	<i>Analyse gel sur HLA Fusion</i>	<i>Page53</i>
<i>Figure13</i>	<i>Répartition des patients selon le sexe</i>	<i>Page55</i>
<i>Figure14</i>	<i>Répartition des sujets selon l'âge</i>	<i>Page56</i>
<i>Figure15</i>	<i>Fréquences des allèles HLA-A retrouvés chez les patients et les témoins</i>	<i>Page58</i>

Figure16	<i>Fréquences des allèles HLA-B retrouvés chez les patients et les témoins</i>	<i>Page60</i>
Figure17	<i>Fréquences des allèles HLA-C retrouvés chez les patients et les témoins</i>	<i>Page61</i>
Figure18	<i>Fréquences des allèles HLA-DRB1 retrouvés chez les patients et les témoins</i>	<i>Page64</i>
Figure19	<i>Fréquences des allèles HLA-DQB1 retrouvés chez les patients et les témoins</i>	<i>Page65</i>
Figure20	<i>Distribution des fréquences des associations entre les deux classes chez les cas et les témoins</i>	<i>Page68</i>

Liste des abréviations :

AAN: Anticorps anti-nucléaire
Ac: Anticorps
ACR: American College of Rheumatology
ADN : Acide Désoxyribonucléique
ADNdb : Acide Désoxyribonucléique double brin
ADNsb: Acide Désoxyribonucléique simple brin
Ag: Antigène
AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
Anti-NMDA: N-Methyl D-Aspartate
Anti-SRA: Anti-Scavenger
AP-1: Activating Protein 1
ARN: Acide ribonucléique
BAFF: B-cell Activating Factor
BAVc : Bloc Auriculo-Ventriculaire congénital
BCR : B Cells Receptor
Blys: B lymphocyte stimulator
CDp : Cellules Dendritiques plasmacytoïdes
CI : Complexes Immuns
CMH: Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMV : Cytomegalovirus
CQ : Chloroquine
CRP : C-Reactive Protein
CV : Cardiovasculaire
DNASE : gène codant pour Dnase
Dnase : enzyme désoxyribonucléase
EBNA-1: Epstein Barr Nuclear Antibodies-1
EBNA-2: Epstein Barr Nuclear Antibodies-2
EBV: Epstein Barr Virus
ELISA: Enzyme-Linked immunosorbent assay

ENA: Extracble Nuclear Antigens
FAN: Facteur Anti-Nucléaire
GWAS: Genome-Wide Association Study
HCQ : Hydroxychloroquine
Hep2: Cellules de carcinome laryngé humain
HLA: Human Leucocyte Antigen
Ig : Immunoglobuline
IF : Immunofluorescence
IFI : Immunofluorescence indirecte
IFN α : Interferon α
IL: Interleukine
IRF: Interferon Regulatory Factor
LB : lymphocyte B
LDC : Lupus Discoïde Chronique
LED: Lupus Erythémateux Disséminé
LES : Lupus Erythémateux Systémique
LESp : Lupus Erythémateux Systémique pédiatrique
LT : Lymphocytes T
LcT : Lymphocyte T cytotoxique
MAI : Maladie Auto-Immune
MALT : Tissu Lymphoïde Associé aux Muqueuses
MO : Microscopie Optique
NETs : Neutrophil Extracellular Traps
NF-KB : Nuclear factor-kappa B
NFS : Numération Formule Sanguine
OMS : Organisation Mondiale de Santé
OR : Odds Ratio
PBR : Ponction Biopsie Rénale
PCNA: Proliferating Cell Nuclear Antigen
PCR : Polymérisation en chaine
PCR-SSP : Polymérisation en chaine Specific Sequence Primers

PKCsigma : Protéine kinase C sigma

PR : Polyarthrite Rhumatoïde

RI : Réaction Immunitaire

SA : Spondylarthrite Ankylosante

SAPL : Syndrome anti-phospholipide

SEP : Sclérose En Plaque

SLICC : Systemic Lupus International Collaborating Clinics

SS : Syndrome de Sjögren

STAT : Signal transducer and activation of transcription

TBE : EDTA tris borates

TCK : Temps de Céphaline Kaolin

TCR : T-Cell Receptor

TGF: Tumor Growth Factor

TLR: Toll Like Receptors

UV: Ultra-Violet

VS : Vitesse de Sédimentation

I. Introduction

Le lupus érythémateux systémique (LES) est une maladie auto-immune non spécifique d'organe qui se caractérise par la diversité de ses manifestations cliniques, sa physiologie complexe ainsi que la production excessive d'auto-anticorps. Cette dernière est considérée, tout comme la formation de complexes immuns, responsable de la majorité des manifestations cliniques, en particulier des atteintes rénales. [64]

Plusieurs mécanismes pathogéniques contribuent à la formation des auto-anticorps et des complexes immuns: une rupture de la tolérance à certains antigènes, en particulier, nucléaires ; une diminution de la clairance des complexes immuns formés et des anomalies de l'activation des lymphocytes B et T. Ces différents mécanismes sont sous la dépendance de plusieurs facteurs dont les facteurs génétiques, qui, grâce aux études familiales chez l'homme et à l'analyse des modèles murins de maladie lupique, commencent à être mieux éclaircis.

Parmi ces facteurs génétiques, nous focalisons cette étude sur les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité CMH, et la nature de l'association des allèles HLA au LES. La littérature rapporte les résultats de nombreuses études effectuées sur les différentes populations du monde, définissant les allèles dits de susceptibilité et ceux de protection qui semblent être influencés par la variabilité interethnique. Certains ont été reconnus comme inducteurs chez une population donnée alors qu'ils étaient protecteurs chez d'autres. En Algérie, cette association n'a pas encore été bien étudiée.

Le travail ci-présent s'agit d'une étude descriptive réalisée au niveau de l'unité d'immunologie au CHU Hassiba Ben Bouali- Blida, sur 133 sujets, provenant majoritairement de la région du centre ; recrutés de l'année 2011 jusqu'à ce jour, dans le but d'identifier les allèles HLA qui peuvent être à l'origine de prédisposition chez les sujets malades ou de protection chez les sujets sains.

Quels sont ces allèles ? Et sont-ils compatibles avec les données de la littérature ? A toutes ces interrogations, et grâce aux techniques qui nous ont été fournies, nous essayerons de répondre.

Le but de ce travail est donc d'étudier les différents phénotypes de notre population afin d'analyser les prédispositions génétiques des malades lupiques et d'obtenir ainsi les plus récentes « data ».

II. Revue de la littérature

II.1. Généralités sur les maladies auto-immunes : [29]

L'auto-immunité est un processus physiologique tolérant qui aboutit à la formation de clones auto-réactifs mais de très faible affinité envers les constituants du soi. Dans des conditions bien particulières environnementales, génétiques, hormonales et avec certaines anomalies de l'éducation des lymphocytes, ce processus devient pathologique faisant apparaître des maladies auto-immunes.

II.1.1. Tolérance immunologique : [47] [52]

La tolérance peut se définir comme l'ensemble des mécanismes qui permettent d'inhiber spécifiquement et de façon prolongée une réponse immune agressive vis à- vis d'un antigène. Les mécanismes de tolérance naturelle sont acquis au cours du développement. Ils sont multiples et ont pour objectif de prévenir les réactions d'auto-immunité. Ceci est possible par le biais de deux types de tolérance (*figure 1*)

A- Tolérance centrale :

La tolérance centrale se déroule au niveau de la moelle osseuse pour les lymphocytes B et du thymus pour les lymphocytes T lors des processus de différenciation. Elle aboutit à l'élimination des lymphocytes auto-réactifs.

B- Tolérance périphérique :

Elle a pour but d'éliminer les LT auto réactifs qui ont échappé aux mécanismes de la tolérance centrale. Elle se déroule au niveau des organes lymphoïdes périphériques (rate, ganglions, MALT)

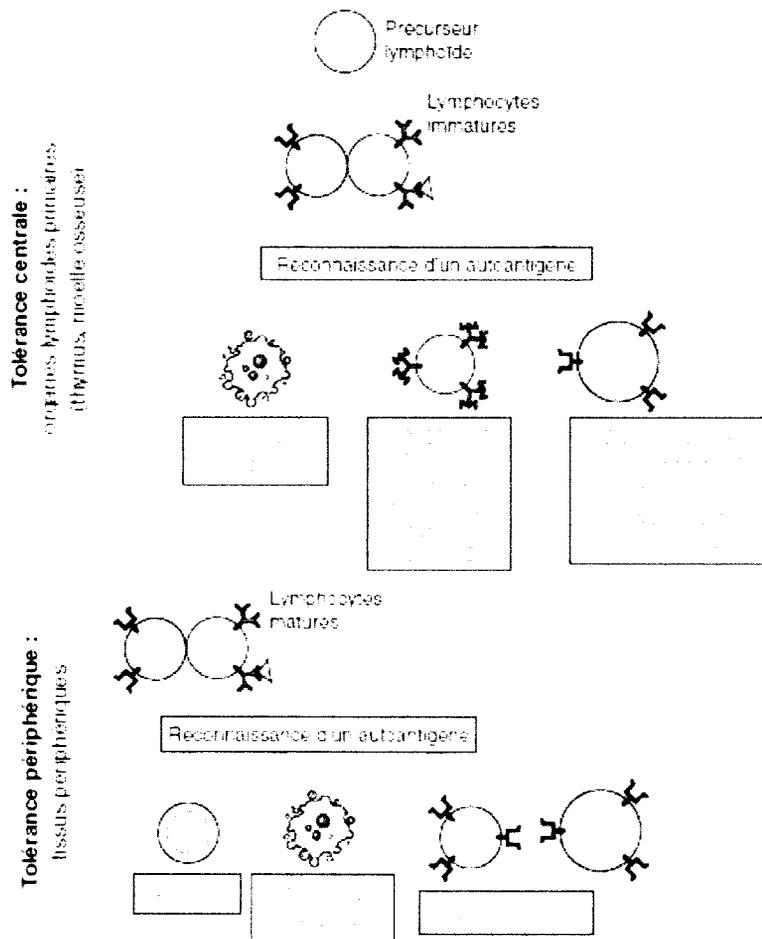


Figure 1. Tolérance centrale et périphérique aux antigènes du soi

Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique Abul K.

Abbas, Andrew H. Lichtman

Traduction de la 3e édition

anglaise : Pierre L. Masson

II.1.2. Rupture de la tolérance : [25]

La tolérance immunitaire peut être rompue, aboutissant alors à l'activation de lymphocytes auto-réactifs et à l'apparition de maladies auto-immunes. L'auto-immunité traduit donc l'absence de rétrocontrôle.

Plusieurs mécanismes de la rupture ont été évoqués au cours des dernières années permettant ainsi une meilleure compréhension de la physiopathologie auto-immune.

- Plusieurs facteurs peuvent permettre à des LB d'échapper à une délétion clonale : rareté de l'antigène, expression en faible quantité sur des tissus périphériques, défauts génétiques affectant la délétion.
- Un défaut de sélection négative des LT CD4+ apparaît pour deux raisons : les capacités d'élimination clonale sont dépassées car les quantités d'auto-antigènes disponibles sont insuffisantes ou encore l'absence d'un répertoire polyclonal T.

- Un défaut de délétion périphérique Fas/FasL : L'antigène Fas est impliqué dans l'élimination des clones T autoréactifs mais aussi dans la délétion des cellules T activées par un antigène étranger. Des mutations du gène Fas, entraînent un défaut d'apoptose des lymphocytes T et B.
- Un mimétisme moléculaire peut entrer en jeu et activer des LT autoréactifs ignorants en vers des antigènes que normalement elles ne rencontrent jamais ou rarement.
- Rupture d'anergie : il est possible de rendre anergiques des lymphocytes T CD4+ en les activant par leur TCR en absence de seconds signaux costimulateurs. Cet état anergique se caractérise par un défaut de transcription du gène de l'interleukine 2. Il a aussi été montré que les LB prolifèrent en présence d'anticorps anti-CD40, ainsi toute stimulation capable de délivrer de seconds signaux efficaces entrainera une levée d'anergie.

Qu'est ce qu'une maladie auto-immune ? [9]

Les maladies auto immunes résultent de l'échec des mécanismes qui maintiennent la tolérance des cellules circulantes B et T vis à vis du soi. Les lésions observées sont dues à la mise en jeu d'une réaction immunitaire acquise vis-à-vis des constituants du soi. Ces lésions peuvent être tissulaires ou cellulaires incriminant des LT et /ou des plasmocytes produisant des auto-anticorps.

II.1.3. Classification : [29]

Il existe dans la littérature plusieurs classifications :

- selon les organes cibles (classification de référence) :

MAI spécifiques d'organes (S.O) : la réaction immunitaire est dirigée contre un Ag cible spécifique d'un seul organe.

MAI non spécifiques d'organes ou systémiques : la RI est dirigé contre des Ag cibles présents dans plusieurs organes (ubiquitaires).

- Selon les mécanismes pathogènes :
 - *MAI à auto-anticorps* : anémie hémolytique auto-immune
 - *MAI à complexes immuns* : lupus érythémateux disséminé
 - *MAI à LcT* : diabète insulino-dépendant, SEP

II.2. Lupus érythémateux systémique :

II.2.1. Définition : [3] [56]

Maladie inflammatoire auto-immune chronique des tissus conjonctifs d'étiologie mal connue. Il est considéré comme le prototype des maladies auto-immunes non spécifiques d'organe (connectivites). Touchant préférentiellement la femme jeune en âge de procréer, sa présentation clinique est polymorphe, avec un degré de gravité variant d'une poussée bénigne à une atteinte grave. Les tissus et les organes les plus souvent touchés sont les articulations, les reins, les séreuses, le système nerveux central ainsi que les cellules sanguines.

II.2.2. Historique : [26] [54]

L'histoire du lupus peut être divisée en trois périodes distinctes : la période classique, néoclassique et moderne.

II.2.2.1 : La période classique :

Le mot Lupus (loup en latin) a été attribué au médecin Rogerius du 13ème siècle qui utilisait ce terme pour désigner les éruptions faciales qui font penser aux morsures de loup.

Quelques siècles avant, de nombreux savants tels que Hippocrate, Raazes, Avicenne... avaient décrit plusieurs atteintes cutanées sous diverses dénominations sans qu'une corrélation soit établie entre elles.

De Morbei cutanii, issu en 1572, est le premier ouvrage de dermatologie décrivant le lupus, cette appellation est rendu ensuite exclusive aux éruptions rouges de la face.

En 1808 fut établit les 2 types du lupus : Lupus tuberculeux et lupus vulgaris par Willan.

Cazenave changea par la suite (en 1851) l'appellation en « lupus érythémateux » notamment après l'observation de certaines lésions dermatologiques.

En 1866 Von Hebra adopta le terme du « lupus érythémateux » en indiquant que cette affection est identique à celle de Cazenave.

II.2.2.2 : La période néoclassique :

Cette période commença alors quand KAPOSI avait décrit le caractère systémique de la maladie en 1872 ; Il a par la suite identifié 2 types de lupus érythémateux : le lupus discoïde concernant la forme cutanée et le lupus disséminé associé aux complications viscérales.

Les travaux d'Osler et Jodasshon ont permis la substitution du terme disséminé et l'appellation est devenu donc « lupus érythémateux systémique » ou « maladie lupique » et ce en 1904.

II.2.2.3 : La période moderne :

Au 20ème siècle, la biologie du lupus a connu son expansion.

D'abord grâce à Hauck en 1910, en annonçant la positivité de la réaction de fixation du complément de Wasserman et le sérum de malades lupiques. Par la suite en 1948 c'est à Hargrave d'imposer un autre détour dans l'histoire du lupus grâce à la découverte de la cellule LE (Lupus Erythémateux),

L'immunologiste suisse Peter Miescher montra que le facteur sérique du LE était un Anticorps antinucléaire. Ce dernier réagit avec les sous unités constitutionnelle de la chromatine ; les nucléoprotéines. Seligman, à son tour, arrive à précipiter l'ADN grâce à ces anticorps qui vont donc devenir des marqueurs sérologique du Lupus.

Dans les années 50, deux découvertes révolutionnent la pratique d'immunologie :

Le test faux positif de la syphilis ainsi que l'immunofluorescence des anticorps antinucléaires.

En 1953, Coons va mettre au point la technique d'immunofluorescence indirecte que Friou et Holborow appliqueront en 1957, mais sa généralisation va devoir attendre les premiers microscopes équipés d'un éclairage UV en 1968, et ce n'est qu'à partir de 1975 que les cultures de cellules Hep-2 commencent à être utilisées pour la mise en évidence des anticorps antinucléaires.

Un autre type d'anticorps ; les anti-ENA (Extracble Nuclear Antigens) est découvert en 1961 par Anderson, après avoir observé que les anticorps des malades lupiques précipitent avec des antigènes solubles des noyaux de thymus. Le premier anti-ENA qui fut appelé anti-Sm a été identifié en 1966 par Tan chez une patiente lupique ; Mrs Smith

En 1954, Leonard nota pour la première fois l'occurrence du lupus systémique chez les membres de la même famille. L'incidence familiale du lupus, ainsi que l'association du lupus à certain marqueurs génétiques a été établie au cours de ces deux dernières décennies.

L'application de techniques de biologie moléculaire a facilité l'étude de gènes HLA classe II qui va enrichir l'aspect clinico-sérologique de la maladie.

II.2.3. Epidémiologie : [3] [58]

Le LES est une maladie à prédominance féminine avec un sex-ratio de 9/1 selon les principales séries de la littérature, or il est de 6,1 au Liban, 10 en Europe, 11 au Japon et 6 en Tunisie.

Elle touche particulièrement les femmes jeunes en âge de procréer (80%) et est rare chez les enfants ou après 50 ans. Le lupus masculin est peu fréquent mais souvent grave.

C'est une pathologie particulièrement fréquente chez les afro-américains ; La maladie est deux à cinq fois plus fréquente chez les sujets noirs vivant aux États-Unis ou dans les pays de zone Caraïbes que chez les sujets blancs.

En France, sa prévalence est de 47.1 pour 100.000 habitants. Aux états unis, la prévalence est estimée à 15-50 cas par 100 000 habitants.

II.2.4. Critères de Classification : [58]

L'ACR proposait une liste de critères destinés à classer correctement les patients souffrant de la maladie afin d'uniformiser les pratiques et d'inclure des patients homogènes dans des études. Il est apparu que ces critères n'étaient pas exhaustifs, demandaient à être complétés et validés, d'autant qu'ils étaient de plus en plus utilisés comme outil diagnostique. (Voir Annexe 1)

Ces critères ont été récemment remplacés (2010) par les critères du SLICC (Systemic Lupus International Collaborating Clinics) validés sur un échantillon de lupiques (près de 800 patients) et de sujets contrôlés. Ces critères sont plus sensibles (94% *versus* 86%, $p < 0,0001$) et de spécificité comparable (92% vs 93%, $p = 0,39$).

Le diagnostic est posé si le patient possède 4 critères parmi les critères cliniques et immunologiques (au moins un de chaque) ou le critère histologique rénal en présence de FAN et d'anti-DNA. (Voir Annexe 2)

II.2.5. Physiopathologie :

Les énormes progrès de la recherche scientifique ont permis de dévoiler quelques secrets de cette maladie, par ce fait même d'améliorer la prise en charge des malades.

Un contexte génétique précis ainsi qu'un environnement particulier peuvent conditionner l'apparition ou le déclenchement de la maladie, dont plusieurs éléments jouent un rôle primordiale dans l'amplification et la persistance de la réponse auto-immune.

II.2.5.1. Facteurs environnementaux : [58]

La maladie lupique est une maladie cliniquement hétérogène dont le risque est apparenté à diverses contributions environnementales et génétiques complexes.

Les facteurs exogènes sont représentés par les agents infectieux, les médicaments et les rayons UV alors que les hormones représentent le facteur endogène prédominant.

a. Agents infectieux :

La découverte de lésions d'ordre humoral et cellulaire à la fois chez des souris atteintes de glomérulonéphrite a poussé les recherches vers l'établissement de la relation étroite entre le virus de

la chorioméningite lymphocytaire et la présence de complexe immuns. Des observations similaires ont été établies pour le poliovirus, CMV et l'Epstein Barr virus.

➤ Bactéries :

Mise à part leur rôle pathogène direct, les infections bactériennes sont considérées comme cause primordiale dans le déclenchement et le maintien d'une réponse immunitaire chez un lupique.

➤ Virus:

Parvovirus B19: il serait à l'origine de la formation d'auto anticorps anti ADN chez près de 68% des patients.

Les expériences ont démontré un mimétisme séquentiel entre les anticorps anti Sm, anti ADN, et anti SSA et les anticorps EBNA-1 et EBNA-2 issu de l'EBV.

La réponse humorale au cours de l'infection à EBV se traduit par la sécrétion d'anti corps anti EBNA-1. Chez les lupiques, ces anticorps perdent leur tolérance vis-à-vis des antigènes du soi en raison des réactions croisées.

L'EBV est un virus à ADN capable d'interagir avec les récepteurs et d'activer les cellules dendritiques sécrétrices d'interférons α et β (indicateur primordial dans le lupus) et ensuite d'activer les LT auto réactifs.

L'infection par l'EBV est dite chronique en raison du dérèglement de l'apoptose, bloquée par la protéine Bcl2-like exprimé par ce virus.

b. Médicaments :

Certains médicaments peuvent induire chez les personnes à risques des manifestations lupiques avec un risque potentiellement faible pour la majorité. Plusieurs classes ont été incriminées notamment les médicaments photo-sensibilisants comme la griséofulvine

Comme médicament, les vaccins constituent un large spectre de particules bactériennes, virales, adjuvants... qui peuvent déclencher une réponse auto-immune avec un potentiel de poussées lupiques.

c. Les rayons UV :

L'exposition au soleil, les brûlures thermiques sont reconnues comme facteurs de risque du lupus. Il semble que la période aout-janvier voit une plus grande fréquence de poussées viscérales corrélée aux atteintes cutanées et à la durée d'ensoleillement estival. Cependant, le rôle de la vitamine D a été prouvé majeur dans la régulation de l'immunité et donc il faudrait songer à une substitution nutritionnelle chez les patients lupiques.

Les rayons UV ont aussi été mis en cause comme pathogène et l'exposition aux rayonnements des lampes de bronzage est fortement déconseillée.

Ils peuvent causer la libération de radicaux libres, par dénaturation de l'ADN cellulaire, qui modifient la structure des Ag nucléaires du soi SSA, SSB et Sm en les exprimant à la surface et donc augmenteraient leur immunogénicité en faveur du lupus.

d. Le stress :

L'étude de Stojanovich et al. a montré que 75.8% des malades reconnaissent que le stress est un facteur déclenchant des poussées dans la majorité des cas mais on ne peut valider cette observation du fait que la maladie en elle-même est génératrice de stress.

e. Le tabac :

Le tabac est reconnu comme facteur déclenchant du fait de son action pro-inflammatoire.

Le tabagisme actif a aussi un impact sur l'évolution de la maladie en augmentant le risque d'atteinte neurologique, cutanée et des séreuses.

f. Autres :

La silice, certains solvants tels que les pesticides, les teintures, le vernis et bien d'autres substances font l'objet de plusieurs études épidémiologique afin de prouver leur implication dans le déclenchement de la réaction lupique.

II.2.5.2. Facteurs Hormonaux :

La grande prévalence du lupus chez la femme en âge de procréer laisse supposer un rôle potentiel des facteurs hormonaux notamment les œstrogènes.

a. Œstrogène :

La présence de récepteurs d'œstrogène à la surface de la plupart des cellules immunitaires lui confère une activité immuno-modulatrice.

Des données récentes ont démontré l'étroite liaison entre les œstrogènes et quelques mécanismes de la physiopathologie des maladies auto-immunes. Ces hormones auraient un rôle très important dans la survie de LB auto réactifs et la sécrétion d'INF- α .

Les œstrogènes peuvent être endogènes comme exogènes (*Contraceptifs hormonaux, Traitement substitutif*)

b. Progestérone :

De nombreuses observations épidémiologiques ont conduit à la reconnaissance de la grossesse comme étant un facteur de risque de poussées lupiques, cependant le rôle de la progestérone n'a

pas été prouvé, on admet même que ça pourrait avoir un rôle protecteur en limitant la sécrétion d'IFN α par les cellules dendritiques plasmacytoïdes CDp.

c. Prolactine :

L'hyperprolactinémie a été corrélée dans plusieurs études et en dehors de la grossesse avec le lupus à un taux de 15 à 33 % des patients. Elle est dans certaines études associée à une atteinte spécifique d'organe et dans d'autres liée à des marqueurs sérologiques du LES.

Or, tout ces facteurs externes cités ci-dessus ne font que favoriser le développement du lupus, mais ne pourraient en aucun cas l'enclencher sauf en cas de prédisposition génétique.

II.2.5.3. Facteurs immunologiques :

II.2.5.3.1. Cellules :

a. Cellules apoptotiques :

Les corps apoptotiques constituent le produit d'une mort cellulaire programmée appelée l'apoptose. Entourés par une portion de membrane, ces corps apoptotiques renferment un matériel nucléaire et sont ainsi responsables en condition physiologique d'un déclenchement de réaction toléro-gène aboutissant à l'élimination de ceux-ci par les macrophages. [3]

Cependant un phénomène de faute d'élimination de ces corps apoptotiques par des cellules spécialisées ou par inhibition par des anti-SRA (anti-scavenger) peut conduire à :

- L'activation des récepteurs Toll et des récepteurs de la fraction fc des IgG avec production de cytokines pro-inflammatoire (INF alpha et IL-8) par les macrophages et les cellules dendritiques.
- La présentation exagérée d'auto-antigènes apoptotiques par les cellules dendritiques accompagnée d'une activation de lymphocytes B et T autoréactifs.

Un terrain inflammatoire favorise la survenue d'une réponse auto-immune dirigée contre les corps apoptotiques, avec apparition de néo-épitopes et l'exposition d'épitopes cryptiques.

Ceci pourrait expliquer toutefois la coexistence d'auto-anticorps antinucléaires et anticorps anti membrane cellulaire car les corps apoptotiques peuvent renfermer à la fois des composants nucléaires (ADNdb, nucléosomes, protéines RNP SSA et SSB) et les phospholipides. [54]

b. Lymphocytes T : [3]

Les lymphocytes sont responsables du déclenchement ainsi que du maintien des manifestations inflammatoires au cours du LES.

Au cours des poussées lupiques, les lymphocytes T CD4+ et T CD8+ ont des phénotypes caractéristiques de cellules activées avec quelques particularités comme la surexpression de la cyclo-oxygénase qui semble être responsable de leur résistance à l'anergie et à l'apoptose, et une expression accrue des facteurs de transcription. On remarque également une diminution significative dans la production de l'IL-2, il s'ensuit une réduction du taux d'apoptose favorisant ainsi la survie des lymphocytes autoréactifs.

c. Lymphocytes B : [58]

Il existe chez les sujets lupiques une hyper activation des lymphocytes B (activation polyclonale) dont les origines sont multiples, associée donc à une hypersécrétion d'anticorps.

Cette activation est facilitée par deux phénomènes importants :

- Une faible expression des récepteurs Fc gamma IIB conduisant à une diminution du seuil d'activation des LB.
- Un nombre élevé de lymphocytes B naïfs auto-réactifs circulants.

Dans le lupus, les cellules dendritiques ainsi que les lymphocytes T CD4+ produisent davantage de molécules de co-stimulation mettant ainsi les lymphocytes B sous une pression constante conduisant à leur différenciation en cellules productrices d'Ac, parmi ces signaux :

- ligand CD40 soluble ou membranaire,
- Blys (B lymphocyte stimulator), IL-4, IL-10, IL-15, TGF beta, IFN α , IL-6, IL-17, IL-21, sont des cytokines qui contrôlent et amplifient l'activation des lymphocytes B,
- *TLR7/TLR9*: Les TLR sont responsables souvent de la reconnaissance des composants microbiens conduisant par la suite à la libération de facteurs de transcriptions comme le facteur AP-1 (Activating Protein 1), NF-KB et certains IRF responsables eux même de la sécrétion de cytokines pro inflammatoires et l'activation des cellules dendritiques et des lymphocytes ce qui explique donc le lien entre les diverses infections microbiennes et la poussée du Lupus systémique.

En réalité, le matériel génétique issu d'une mauvaise clairance après une apoptose et qui se trouve en contact avec des LB engage simultanément les TLR et les BCR afin d'activer les lymphocytes B autoréactifs de façon indépendante des lymphocytes T. voici quelques exemples :

*ADN contenant des séquences CpG hypo-méthylées rencontrées souvent dans les génomes bactériens mais qui semblent être fréquentes chez les sujets lupiques au niveau des corps

apoptotiques parmi les débris nucléaires ; l'ADN est reconnu par le BCR alors que la séquence CpG l'est par le TLR 9.

*IgG2a sont des antinucléosomes qui forment des complexes immuns avec l'ADN associé aux protéines nucléaires, l'anticorps est reconnu grâce au BCR alors que l'ADN grâce au TLR 9.

*Des complexes immuns d'auto-antigènes associés à l'ARN se lient au BCR et TLR7 en même temps afin d'activer les LB auto-réactifs.

- *BAFF* :

Il a été prouvé dans les modèles murins ainsi que chez l'homme que dans le lupus il existe une surexpression de BAFF ; facteur indispensable à la survie des lymphocytes B.

Les lymphocytes B sont les plus ciblés par la biothérapie, grâce au développement d'Ig anti-CD20 ou anti-Blys qui n'ont par contre pas encore prouvé leur efficacité dans les études randomisées.

d. Cellules dendritiques: [13]

Ces dernières années, un grand progrès de la science a permis d'élucider le rôle important des cellules dendritiques plasmacytoïdes productrices d'IFN alpha dans le déclenchement des réponses auto-immunes dans le lupus érythémateux systémique sachant qu'elles seraient le producteur majeur de l'interféron alpha au cours de la maladie. Les CD plasmacytoïdes peuvent être stimulées soit par coactivation des récepteurs Fc IIA et de TLR7 ou TLR9 par les complexes immuns contenant de l'ADN ou de l'ARN soit par un virus comme l'EBV, notant ainsi que la dépendance au 17-œstradiol des hommes et des femmes conduisait à une sécrétion accrue de l'interféron alpha par les CD p.

Parmi les caractéristiques de ces cellules dendritiques, on a constaté une augmentation de la production de l'IL8 qui est une cytokine pro inflammatoire associée le plus souvent à une augmentation des taux des anticorps anti-ADNdb et Anti-cardiolipine.

e. Les polynucléaires : [3]

Au cours du lupus, le taux des polynucléaires immatures semble être significativement élevé principalement lors des poussées de la maladie. Il s'est avéré que ces cellules sont responsables de lésions tissulaires plus précisément endothéliales, de la sécrétion de l'interféron alpha et de la production des auto-Ag. Les deux types de polynucléaires impliqués au cours du LES sont les neutrophiles et les basophiles.

Les polynucléaires neutrophiles, et en plus de leur rôle dans l'ingestion du matériel apoptotiques et leur transformation en cellules LE caractéristiques du lupus, peuvent sous l'effet de l'interféron alpha relâcher les NETs (neutrophil extracellular traps) par NETose (une mort spécifiques des polynucléaires par désintégration de leur membrane et de leur chromatine) qui sont des particules formées d'ADN, de fragments membranaires et de plusieurs protéines dont la LL37 (issue de la dégradation d'une autre protéine hCAP-18 (human Cathelicidin Antimicrobial Protein). Suite à une interaction avec les cellules CDp et les LB autoréactifs, les NETs vont donc mettre le matériel génétiques qu'elles contiennent en contact avec les TLR en le protégeant de toute dégradation ou altération, stimulant de cette façon la production d'avantage d'interféron alpha et d'auto-anticorps. Les NETs sont responsables des lésions tissulaires sachant qu'elles sont délétères pour les cellules endothéliales. Ceci pourrait expliquer leur présence en excès dans la peau et les reins des patients lupiques.

II.2.5.3.2. *Auto-anticorps*: [3]

Des auto-anticorps d'isotypes différents notamment G ont une forte affinité vis à vis des différents composants nucléaire tels que :

- La chromatine et ses composants: ADN natif (ADNdb), ADN simple brin (ADNsb), ARN, histones et nucléosomes.
- Les antigènes solubles: SSA, SSB, Sm, U1-RNP

Ils peuvent être associés aussi à d'autres auto-anticorps, comme ceux qui sont dirigés contre les ribosomes, les facteurs du complément, les protéines du cytosquelette et même des molécules exprimées à la surface des cellules hématopoïétiques.

Mécanismes lésionnels :

Bien que ces anticorps sont présents des années avant l'installation de la maladie, les lésions peuvent être le résultat d'une fixation directe sur le déterminant antigénique responsable ainsi de déplétion cellulaire (anémie, cytopénie) ou des manifestations psycho neurologiques (Ac Anti-NMDA) caractéristiques de la maladie, ou bien suite à un dépôt de complexes immuns formés in situ ou dans la circulation sanguine, ces CI vont systématiquement activer la voie classique du complément et participer à enclencher une réaction inflammatoire causant le recrutement de cellules immunitaires diverses afin de les éliminer, cependant et par défaut de clairance, ces CI peuvent s'accumuler en cas de déficit génétique en C1q par exemple. Ce mécanisme expliquerait donc la glomérulopathie lupique due principalement au dépôt des CI, Or le modèle murin avait montré qu'il pourrait y avoir une glomérulonéphrite lupique même en l'absence d'auto-anticorps anti nucléaires.

Le lupus peut impliquer également des lésions d'origine vasculaire, il s'agit rarement d'atteinte directe des parois vasculaires comme dans le cas des vascularites mais souvent due à :

- Des anticorps anti-phospholipides, qui vont enclencher une réaction inflammatoire associée à une surproduction de thromboxanes A₂, de facteur tissulaire en plus d'une inhibition de fibrinolyse en agissant sur la protéine C et l'annexine 5, tout cela va donc créer un terrain favorable de coagulation en présence évidemment d'un facteur déclenchant de celle-ci (infection, intervention chirurgicale).

- Lésions endothéliales conduisant à une atteinte de la microcirculation. En cas de chronicité, il y a plus de risque d'accidents coronaires ou vasculaires cérébrales par formation de plaques d'athérosclérose.

L'accumulation des débris cellulaires notamment nucléaires ainsi que l'infiltration des tissus par les cellules immunitaires, dont le LT cytotoxique, semblent être impliqués dans l'inflammation tissulaire de la maladie par activation et libération de cytokines pro inflammatoires.

II.2.5.3.3. Cytokines :

a. Interféron type I: [29]

De nombreuses études expérimentales sur des patients lupiques ont déterminé l'interféron type I, notamment l'interféron alpha comme acteur principal et crucial de ce prototype des maladies auto-immunes systémiques.

- *Augmentation du taux d'interféron I et l'expression génétique induite par l'interféron au cours du lupus:*

La production de l'INFI ainsi que l'expression génétique des IFI persiste au cours du lupus; cette corrélation a été établie dans de nombreuses études transversales.

- *Activation génétique de la voie de l'interféron type I:*

Les Toll-like receptors TLR endosomaux ainsi que les composants de leurs cascades de signalisation sont prouvés, selon des données de la GWAS, responsables d'une partie de l'augmentation de la production de l'interféron type I et de la susceptibilité au LES.

- *Mécanismes conduisant à la production de l'IFN I au cours du lupus:*

La littérature avait décrit le rôle primordial des TLR et des différents capteurs cytoplasmiques des acides nucléiques dans l'induction de la production de l'interféron I, cependant, on a élucidé récemment l'implication d'un autre mécanisme par le biais des complexes immuns à ADN ou ARN fournissant plus d'information sur le rôle pathogénique de ces derniers au cours du lupus qui consiste en l'amplification et la persistance de l'inflammation.

- *Interféron I dans l'immunopathogénie du LES:*

Selon les résultats de plusieurs études sur des modèles murins et humains, l'interféron I peut altérer la fonction des cellules des lignés lymphoïdes et myéloïdes dont le blocage aurait permis la restauration de l'architecture des tissus endommagés.

Quant à l'interféron alpha, son implication dans l'activation des LT autoréactifs ainsi que les LB notamment dans le Switch des Ig, a été décrite dans de nombreux articles, et principalement dans l'accélération de la maladie. Elle joue un rôle dans l'altération des deux organes les plus associés à la morbidité et la mortalité des patients lupiques ; le rein et le système cardiovasculaire.

b. Autres cytokines: [3]

En plus du rôle important de l'interféron alpha qui est la cytokine clé du lupus, d'autres cytokines peuvent être impliquées dans la pathogénie et considérablement élevées telles que :

-l'interféron gamma dont le mécanisme d'activation cellulaire est proche de celui de l'interféron alpha.

-Le Bly (B cell stimulating factor), une cytokine membre de la famille des TNF ligand de 3 récepteurs dont le BAFF-R, il joue un rôle dans la survie et la sélection des LB immatures ainsi que dans la prolifération et la différenciation des LB matures en plasmocytes.

-CCL22 est une chimiokine, qui au cours des atteintes rénales et cérébrales, est responsable du recrutement et de l'activation des leucocytes.

-L'IL 10 et l'IL21 sont surexprimés au cours du LS en raison de leur rôle central dans la différenciation plasmocytaire.

II.2.5.3.4. Système du complément: [5]

Le système du complément constitue un lien important entre l'immunité innée et adaptative grâce à sa fonction régulatrice des LB ainsi que son rôle dans la clairance des corps apoptotiques et des complexes immuns.

Certaines carences héréditaires en complément constituent l'un des facteurs de susceptibilité du LES suggérant que le système du complément chez les sujets normaux peut avoir un rôle protecteur contre la maladie.

Les déficits complets (homozygotes ou hétérozygotes composites) en protéines de la phase précoce de la voie classique (C1q, C1r, C1s, C4, C2) sont associés à une prédisposition au lupus érythémateux systémique (LES).

On retrouve 93% des patients lupiques avec un déficit en C1q, 57% avec un déficit en C1r/C1s, 75% avec un déficit en C4 et 10% en C2, le déficit en C3 n'est cependant pas trop impliqué dans la maladie.

Le rôle pathogénique des déficits complets se manifeste par de nombreux mécanismes, comme le défaut de clairance des corps apoptotiques.

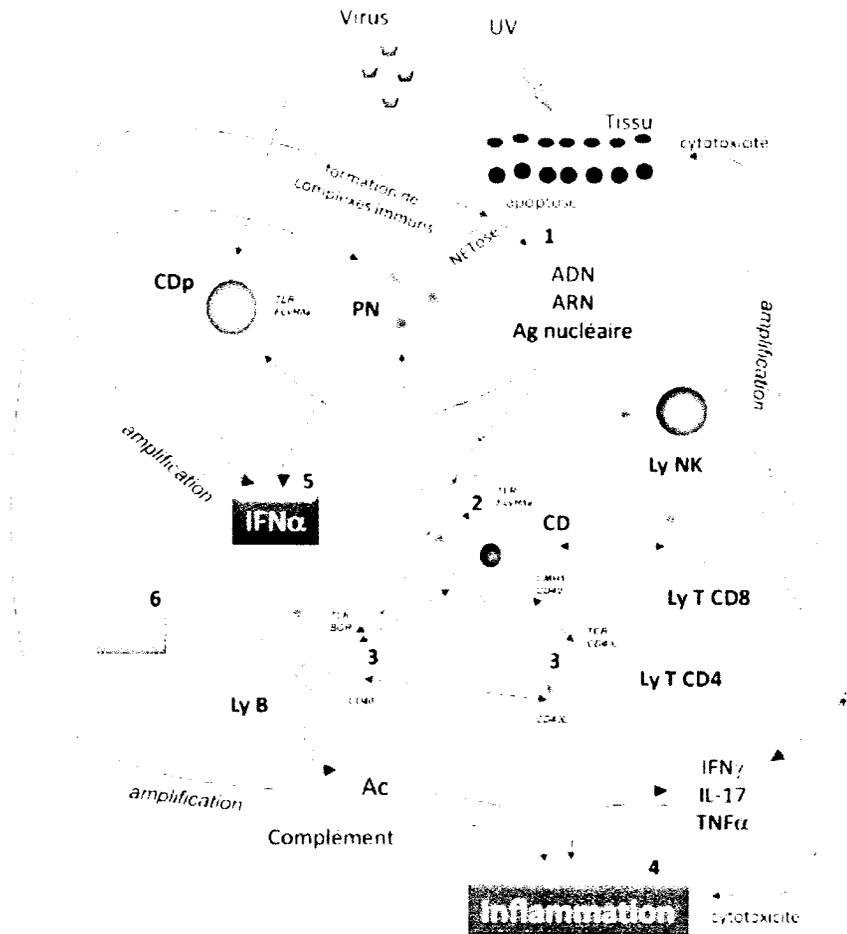


Figure 2. Physiopathologie du LES. (1) un excès de production et/ou un défaut de clairance des cellules en apoptose induisent l'accumulation de débris cellulaires, Les polynucléaires neutrophiles fournissent une seconde source d'auto-Ag, les NETs ; (2) les cellules dendritiques captent ces auto-Ag et activent les lymphocytes T auto-réactifs ; (3) les cellules dendritiques, les lymphocytes T CD4 et CD8 et les lymphocytes B interagissent par l'intermédiaire de molécules de co-stimulation ; (4) le dépôt tissulaire de complexes immuns, l'activation du complément, la sécrétion de cytokine et la cytotoxicité lymphocytaire induisent l'inflammation tissulaire; (5) l'IFN α est la cytokine chef d'orchestre la réaction auto-immune. Il est produit par les cellules dendritiques plasmacytoïdes et les polynucléaires neutrophiles, Il active de nombreuses cellules immunitaires ; (6) BlyS augmente la survie et la sélection des lymphocytes B immatures auto-réactifs, la survie, l'activation et la prolifération des lymphocytes B matures et la production des plasmoblastes et des plasmocytes auto-réactifs.

II.2.5.4. Facteurs génétiques et épi génétiques:

II.2.5.4.1. Epigénétique et Lupus: [11]

Le terme épigénétique définit les modifications transmissibles et réversibles de l'expression des gènes ne s'accompagnant pas de changements de séquences nucléotidiques. Les supports de l'information épigénétiques sont au premier plan l'ADN lui-même, les histones et l'ARN non codant.

-Anomalie de méthylation de l'ADN : l'observation de profils de méthylation de jumeaux monozygotes discordants dans le lupus dont le patrimoine génétique est identique avait mis en exergue l'implication de la dérégulation épigénétique dans la pathogénie des maladies auto-immunes notamment le lupus. Dans le cas du lupus idiopathique ou induit, il s'agit d'une hypométhylation provoquée par des agents inhibiteurs de la méthylation de l'ADN tels que les UV ou la procainamide, et ceci concerne spécifiquement des LT CD4+. Ce phénomène pourrait expliquer la prédominance féminine dans le lupus (sex-ratio 1/9 H/F) sachant que la méthylation de l'ADN représente un mécanisme important d'inactivation physiologique de l'un des chromosomes X chez la femme.

-Modifications biochimiques des histones : Même si les constatations chez les souris sont prometteuses car on a pu identifier les modifications au cours du LES s'agissant d'une augmentation de la méthylation des histones (sauf pour le H3K4 : lysine(k) en position 4 du H3) et une diminution d'acétylation des histones (H3 et H4), chez l'homme le paradoxe rend difficiles la mise en place de solutions thérapeutiques car des résultats d'hypo et d'hyper acétylation ont été rapportés.

-Micro-ARN: De nombreuses études ont bien démontrées l'implication de miARN (une des classes de l'ARN non codant qui joue un rôle dans la régulation de l'expression génétique des cellules ainsi que leur fonctions majeures telles que la prolifération et la différenciation) dans le lupus, cependant les conséquences fonctionnelles restent non élucidées. Par exemple le Mir-146a est soupçonné régulateur négatif de la signalisation de TLR, comme il peut cibler le STAT1 et l'IRF5 (acteurs de la voie de l'IFN I).

II.2.5.4.2. Facteurs génétiques : [28] [50]

L'observation des formes familiales de la maladie et les études de concordance entre les jumeaux avaient renforcé l'hypothèse de l'implication génétique dans la pathogénie lupique; résultat observé à un taux de concordance clinique de 23 à 57% chez les jumeaux monozygotes et de 3 à 10% chez les jumeaux dizygotes, soumis bien évidemment au même environnement. Or, la concordance sérologique avait atteint un taux nettement élevé de 70 à 80% chez les jumeaux monozygotes, contre seulement 15 à 20% chez les dizygotes.

L'association génétique la plus significative est représentée par la région du Complexe Majeur d'Histocompatibilité CMH constituant le facteur génétique le plus fort. D'autres gènes situés dans ou près de cette région sont aussi impliqués dans la maladie.

A. Facteurs polygénique de la voie de l'IFN type I : [50]

Les différents facteurs de la voie de l'IFN type I sont résumés dans le *Tableau 1*.

Tableau 1. Facteurs polygénique de la voie de l'IFN type I

Locus	Gène	Effet
IRFs (IRF5, IRF7, IRF8)	Interferon regulatory factors	-Augmentation de la sécrétion de l'IFN -Production d'auto-anticorps (anti-La, anti-Ro, anti-ADNdb)
STAT4	Signal transducer and activation of transcription 4 protein	-Augmentation de la sensibilité des cellules mononuclées du sang à l'interféron. - Anticorps anti-ADNdb -Néphrite
IFIH1	Interferon -induced helicase C domain-containing protein 1	-Augmentation de la sécrétion de l'IFN α -Anti-ADNdb -Augmentation de l'apoptose -Augmentation de l'expression des gènes proinflammatoires
SPP1	Ostéopontine	-Augmentation de la sécrétion de l'IFN α

B. Facteurs monogéniques: [50]**a. Déficiences monogéniques:**

L'ensemble des déficiences et leurs origines est résumé ci-dessous dans le **Tableau 2**.

Tableau 2. Déficiences monogéniques liées au LES

Déficit	Son Origine
<u>Déficiences complètes:</u>	-Gene <i>C1q</i> non lié au CMH (98% des patients porteurs de ce déficit développent à terme une maladie lupique). -Déficit partiel en <i>C4AQ0</i> ; gène lié au CMH codant pour la fraction C4A de la protéine C4 dont la délétion est englobée dans l'haplotype A1B8DR3.
<u>Défaut apoptotique:</u>	De nombreuses études ainsi que des modèles murins ont suggérés l'implication des mutations de <i>Fas</i> et du <i>FasL</i> dans la pathogénie du lupus, en raison de leur implication dans l'apoptose des lymphocytes T autoréactifs, ces derniers développent une résistance au <i>FasL</i> .
<u>Déficit en Dnase I:</u>	Des mutations des <i>DNASE1</i> et <i>DNASE1L3</i> sont responsables de la diminution de la désoxyribonucléase I (DnaseI)-une enzyme indispensable à l'apoptose- ce qui va donc entraîner une accumulation de l'ADN. Ce dernier deviendra un néo-antigène induisant la production d'auto-anticorps anti-ADNdb.
<u>Déficit en protéine kinase C sigma (PKCsigma):</u>	la protéine kinase C sigma est impliquée dans le control de la prolifération cellulaire, de la signalisation et de l'apoptose des lymphocytes B. Une diminution de l'activité de cette protéine résulte d'une mutation du gène <i>PRKCD</i> , conduisant à une résistance des récepteurs des LB, une diminution de l'apoptose calcium-dépendante ainsi qu'une augmentation de la prolifération des LB.

b. Facteurs monogéniques de la voie de l'IFN I: [50]

Concerne les loci *TREX1*, *TMEM173* et *ACP5*. (Voir annexe 4)

c. Facteurs de régulation: [50]

Regroupe les facteurs *TNFAIP3*, *TNIP3*, *BLK*, *ETS1*, *PRDM1* et *IKZF1*. (Voir annexe 5)

d. polymorphismes changeant le code : [50]

Concerne les loci, PTPN22 et ILT3. (Voir annexe 6)

Voir Annexe 7 pour un schéma explicatif montrant une carte physique des gènes de susceptibilité au LES.

C. Complexe majeur d'histocompatibilité (CMH):

Le système Human leukocyte antigen HLA connu aussi sous le terme ; complexe majeur d'histocompatibilité CMH, est situé sur le bras court du chromosome 6 chez l'homme. Il s'agit d'un système caractérisé par son polygénisme et son polymorphisme qui sont à l'origine de nombreuses études réalisés dans le cadre de transplantation ou de l'auto immunité. [46]

La fonction physiologique des molécules de CMH est de présenter des peptides dérivés d'antigènes protéiques aux LT spécifiques de ces antigènes. [52]

C.1. Organisation génétique du CMH: [59]

Le Locus CMH code non seulement pour le CMH mais aussi d'autres protéines. Il contient deux ensembles de gènes hautement polymorphes, appelés gènes du CMH de classe I et de classe II. Ces gènes codent les molécules du système HLA de classe I et de classe II qui présentent les peptides aux lymphocytes T. Outre ces gènes polymorphes, le locus du CMH contient de nombreux gènes non polymorphes. Certains de ces gènes non polymorphes codent pour des protéines participant à la présentation des antigènes, tandis que d'autres codent des protéines dont la fonction reste inconnue.

Les trois blocs de gènes de ce complexe sont organisés ainsi:

- Les gènes de CMH de classe I, exprimés par toutes les cellules nucléées,
- Les gènes de CMH de classe II, exprimés uniquement par des cellules capables de présenter des antigènes aux cellules T CD4+.
- Les gènes CMH de classe III codant pour les facteurs C4, C2 et le facteur B du complément, les isoenzymes de la 21-hydroxylase, et d'autres molécules d'inflammation.

C.2. Structure des molécules du CMH classe I et II: [59]

Avec une structure générale similaire, les molécules de CMH de classe I et II sont des protéines membranaires, présentant à leurs extrémités amino-terminales un site de liaison au peptide sous forme de sillon ou de gouttière. La différence réside donc dans les sous unités ; leurs nature, structure et organisation.

Molécules CMH de classe I : Les molécules de classe I contiennent en plus de la chaîne alpha codée par le locus CMH, une molécule codée en dehors de ce locus qui est la beta 2 microglobuline, Les deux chaînes sont liées d'une manière non covalente.

En forme de sillon ; les 2 domaines alpha1 et alpha2 constituent le site de liaison au peptide, sachant que les cotés et les sommets de la gouttière sont en contact avec le récepteur des LT, et c'est réellement le plancher de cette gouttière qui présente le peptide aux LT.

C'est donc en ces domaines là ; alpha 1 et alpha 2 que se trouve les résidus polymorphes de cette classe qui sont propres à chaque individu, alors que le domaine alpha 3 est constant et dont le rôle est la reconnaissance du corécepteur CD8.

Molécules CMH de classe II : Les molécules de classe II sont formées de 2 chaînes alpha et bêta dont les domaines alpha 1 et bêta 1 constituent la gouttière, dans laquelle se situent les résidus polymorphes. Or le domaine bêta 2 qui est non polymorphe contient le site de liaison au corécepteur CD4.

En conclusion, les lymphocytes T CD8+ ne reconnaissent que les peptides qui leur sont présentés par les molécules CMH de classe I, alors que les lymphocytes T CD4+ reconnaissent les peptides présentés par les molécules CMH de classe II, et ceci en raison de la reconnaissance des corécepteurs ; phénomène indispensable dans le processus d'activation des LT.

C.3. Caractéristiques du CMH: [59]

- *Codominance* : Les allèles hérités de chaque parent sont exprimés de façon équivalente, et dont l'arrangement forme ce qu'on appelle des haplotypes CMH. L'intérêt de la codominance réside dans l'augmentation du nombre des molécules CMH capables de présenter les peptides aux LT.
- *Polymorphisme*: Un nombre colossal de différents allèles fait que dans une population non consanguine, il n'existe pas de similitude des gènes et des molécules entre au moins deux individus. Notant que les variations génétiques responsables de ce polymorphisme ne sont pas induites par des recombinaisons génétiques comme dans le cas des récepteurs antigéniques des lymphocytes. Par voie de conséquent, les individus sont capables donc de présenter un nombre important de peptides microbiens et d'y répondre.
- *Distribution distincte des molécules de CMH de classe I et II sur les différentes cellules* : Les molécules de CMH de classe I sont exprimées par toutes les cellules nucléées de l'organisme pouvant ultérieurement être détruites par les LT CD8+ (cytotoxiques) en cas d'infections (principalement virales). Cependant les molécules de CMH de classe II sont exprimées par les cellules dendritiques, les macrophages et les LB qui vont par la suite interagir avec les LT CD4+. Cette classe moléculaire est également exprimée par les cellules épithéliales thymiques et endothéliales, ainsi que sur d'autres types cellulaires suite à une induction par l'interféron gamma.
- *Large spécificité* : L'intégration de seulement un ou deux résidus d'ancrage au niveau des poches de la molécule de CMH, limite le nombre de peptides présentés par celle-ci à un seul. Or, elle est capable de présenter différents peptides sachant que chaque individu ne possède que quelques molécules de CMH différentes.
- *Nature peptidique des antigènes* : Les molécules de CMH ne lient que des antigènes de nature peptidique, il en résulte que les LT restreints au CMH ne répondent en aucun cas aux autres antigènes.
- *L'acquisition des peptides lors de la biosynthèse des molécules de CMH* : Les molécules de CMH présentent des peptides (microbiens) provenant des différents compartiments de la cellule hôte. De ce fait, les LT restreints au CMH constituent des médiateurs de l'immunité dirigée contre les microbes intracellulaires.
- *La présence d'un peptide est indispensable pour une expression stable d'une molécule de CMH* : Les molécules vides sont dégradées à l'intérieur de la cellule, et seules les molécules contenant un peptide sont exprimées suffisamment longtemps pour que les LT puisse les reconnaître, ils sont par la suite dissociés.

➤ Les molécules de CMH présentent aussi bien des molécules de soi que des molécules microbiennes :

Les molécules de CMH sont capables de capturer des peptides d'origine microbienne suite à un apprêtement antigénique comme ils peuvent capturer des peptides de soi assurant un control constant par les LT de l'intégrité cellulaire sachant que les antigènes endocytés sont présentés par les molécules de classe II alors que les protéines cytoplasmique par les molécules de classe I.

C.4. Nomenclature OMS 2010: [47]

La nomenclature du système HLA a été mise au point par un groupe d'experts de l'OMS qui en garantit la mise à jour et la pérennité. Elle permet d'intégrer les nouveaux allèles HLA au fur et à mesure de leur découverte. Un groupe d'allèle appartenant à un locus est déterminé par des techniques de basse résolution s'il apparait juste après le locus. Les sous-type, appelés aussi variant, sont déterminés par des techniques de haute résolution et sont précédés de deux points (:). La figure 3 décrit cette nomenclature.

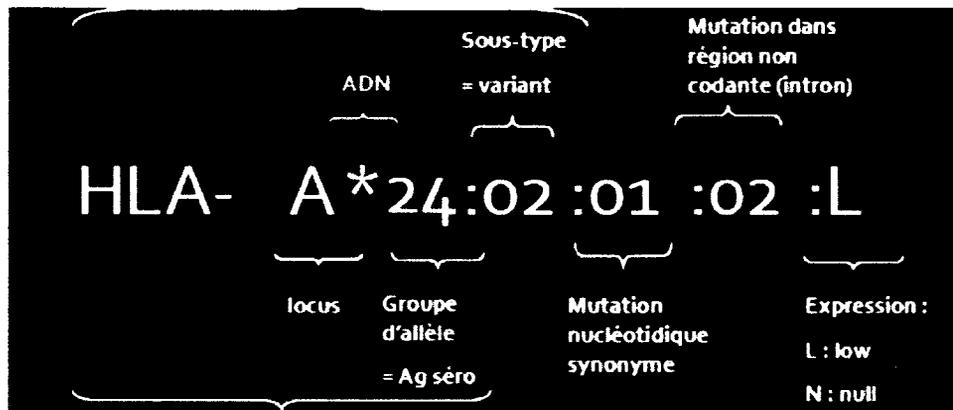


Figure 4. Nomenclature HLA de l'OMS (2010)

C.5. HLA et maladies : [44]

L'association HLA et maladie était sujette à plusieurs études concernant plus de 500 maladies dont la majorité sont des maladies auto-immunes (MAI), afin de définir les marqueurs de susceptibilité ou de protection vis à vis de celles-ci. Or, les individus présentant des allèles de susceptibilité ne vont pas certainement développer la maladie en question, et les sujets déjà atteints ne présentent pas tous des allèles de risque dans leur génome.

Parmi les maladies qui ont montré une forte association aux molécules HLA, on cite ; le diabète type I, la polyarthrite rhumatoïde (PR), la spondylarthrite ankylosante (SA) et les maladies allergiques. Récemment, il s'est avéré que certaines maladies infectieuses, cancers et maladies induites par les médicaments, ont montré eux aussi des résultats d'association au système HLA.

C.6. HLA et lupus :

De nombreuses études réalisées sur différents groupes ethniques avaient établi l'association des molécules HLA de classe II au LES, notamment les haplotypes contenant les allèles DR2 et/ou DR3. Ces haplotypes sont impliqués directement dans la pathogénie de la maladie, ses manifestations cliniques, la néphropathie lupique et la production des auto-anticorps [49]. Les allèles HLA-DRB1*03:01 et -* 15:01 se sont avérés les plus impliqués dans la susceptibilité au LES chez les européens, -* 15 :03 chez les afro-américains, -* 08 :02 chez la population hispanique et -*15 :01 -*15 :02 chez la population asiatique [20] ; en voici quelques exemples sur le tableau 3 ci-dessous. Les haplotypes associés le plus souvent au LES et qui contiennent les allèles cités ci-dessus comprennent: HLA-A*03:01 – HLA-B*07:02 – HLA-C*07:02 –HLA-DRB1*15:01 – HLA-DQA1*01:02 –HLA-DQB1*06:02 et HLA-A*01:01 – HLA-B*08:01 – HLA-C*07:01 – HLADRB1* 03:01 – HLA-DQA1*05:01 – HLA-DQB1*02:01 [15]

Tableau 3 : Association HLA-DRB1 avec le LES chez les différentes populations [49]

Population	Sample tested patient/control	HLA susceptibility	OR
American	87/215	DRB1*03:01 Canadian	2.5
Chinese*	53/78	DRB1*15:01 African-American	10.7 7.7, 14.2
		DRB1*03:01, DRB1*08:01	
Mexican	81/69	DRB1*03:01, DRB1*15:01	2.07
Latin American	74/118	DRB1*	1.75
		DRB1*03:01	2.14
Brazilian	55/308	No association	
Taiwanese	115/555	DRB1*03:01, DRB1*15:01	2.11, 2.09
Pottapais	238/225	DRB1*03:01	3.4
Egyptian	65/15	DRB1*15:01	4.7
European	5701/12117	DRB1*03:01	1.89
Japanese	679/617	DRB1*15:01	2.0
Japanese	150/524	DRB1*15:01	2.17
Sardin	80/550	DRB1*15:01	1.45
Indian	55/117	DRB1*03:01	4.7

OR, odds ratio.

*Relative risk.

Grace à une technique génétique d'imputation dans une étude publiée récemment sur des variants des gènes HLA-DRB, on a révélé que seul le gène HLA-DRB1 influençait la susceptibilité au LES indépendamment des gènes HLA-DRB3, HLA-DRB4 et HLA-DRB5 [25]. Les positions 11-13-26

des acides aminés au niveau de la gouttière (ou sillon) des molécules HLA expliquent donc cette association grâce à une étude menée sur la même population. [24]

A la recherche d'autres associations entre les molécules HLA non classiques et le LES, dont HLA-G, une étude comparative menée sur une population danoise et italienne supporte cette hypothèse en se basant sur des résultats statistique significatifs. [36]

En raison des variations dans les résultats d'associations entre le LES et le système HLA autour du monde, une équipe chinoise a réalisé une méta-analyse regroupant 25 études cas-témoins dans différents pays, qui vise à élucider la contribution des gènes HLA-DR3, DR4, DR8, DR9, DR11, DR14 et DR15 dans la susceptibilité au LES et la néphropathie lupique. Quant à la susceptibilité au LES, les résultats ont indiqué que les allèles HLA-DR3, DR9 et DR15 constituent des facteurs de risque, alors que les allèles DR4, DR11 et DR14 peuvent avoir un rôle de protection. Cependant, le risque de développer une néphropathie lupique était significativement élevé pour les allèles DR3 et DR15 par rapport aux allèles DR4 et DR11 avec la possibilité que ces derniers soient des facteurs de protection. [51]

II.2.6. Manifestations cliniques : [58]

II.2.6.1. Manifestations générales :

Souvent témoins de l'évolution de la maladie

- a. Fièvre : signe le plus fréquent, elle est accompagnée d'une recherche d'agent infectieux souvent en cause et très fréquent sur ce terrain.
- b. Asthénie : quantifiable par un score, la fatigue n'est pas corrélée à l'activité du lupus mais aux manifestations de fibromyalgie et de dépression.
- c. Anorexie, nausées, amaigrissement ...

II.2.6.2. Atteintes rhumatologiques :

Touchent principalement les mains, les chevilles et les genoux et concernent 90% des patients

A. Arthralgies et arthrites : souvent accompagnées de myalgies, elles sont intenses et résistantes aux AINS. Elles sont présentes chez 50 à 80% des malades diagnostiqués selon leurs origines.

Contrairement à la PR, les arthrites de LES n'évoluent pas vers la destruction articulaire mais plutôt vers des ruptures tendineuses entraînant des déformations « mains de Jaccoud » (*figure 5*)

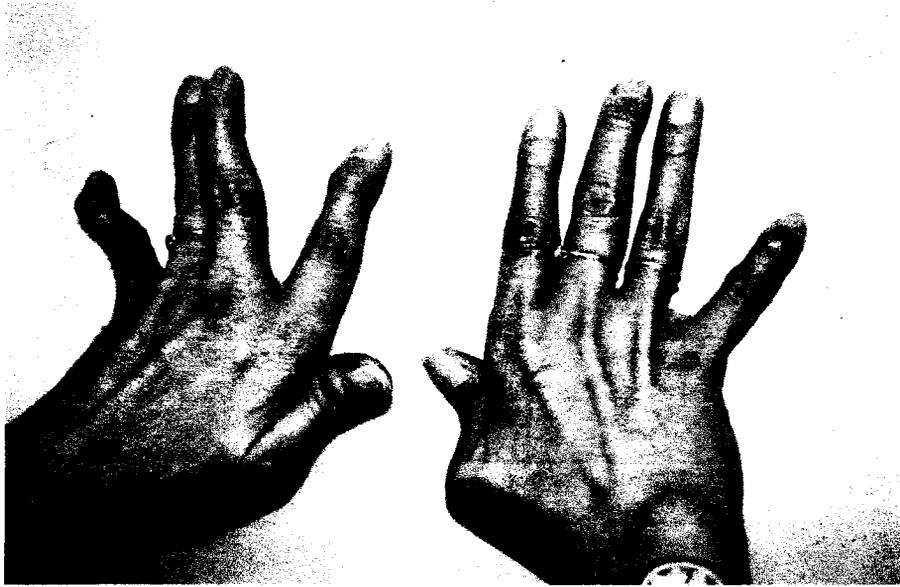


Figure 5 « mains de Jaccoud » Lupus Erythémateux Dan Lipsker

Il existe aussi une forme déformante et destructrice mais plus rare associant lupus et PR appelée « rhupus ».

B. Ostéonécroses aseptiques : ce sont des infarctus osseux se traduisant par des douleurs mécaniques d'apparition brutale. Un rôle favorisant des corticoïdes est soutenu par tous les auteurs.

C. Arthrites septiques : le genou est le siège le plus fréquent d'infections chez un patient recevant une corticothérapie souvent généralisée.

D. Muscles : souvent sous forme de myalgie, les patients se plaignent de douleurs inflammatoires. La biopsie montre une atrophie des fibres avec l'histologie d'une myosite interstitielle et un infiltrat lymphoïde.

II.2.6.3. Atteintes cutanées :

La peau et les phanères sont particulièrement touchés au cours du lupus avec des variations allant d'un simple érythème en vespertilio jusqu'aux ulcérations en forme de morsures de loup. Ces atteintes concernent 60% des patients lupiques.

Leur classification se fait selon le niveau d'atteinte : derme, hypoderme et jonction dermo-épidermique

On distingue le lupus aigu, subaigu et chronique.

-*Lupus cutané aigu*: forme touchant le tissu cutané se caractérisant par un érythème (rougeur) qui s'accompagne parfois de desquamations affectant les parties exposées au soleil notamment visage, décolleté, dos des doigts en épargnant les articulations. Le signe le plus marquant est une rougeur en forme de papillon qui couvre le front, le nez et les joues. Elle peut s'accompagner d'un œdème du visage.



Figure 6. Erythème en vespertilio

-*Lupus subaigu* : peut prendre soit la forme d'une éruption érythémateuse et papuleuse avec clinique psoriasiforme soit une forme annulaire extensive avec contour polycyclique dans les zones photo-exposées. Après disparition, elle laisse souvent une dépigmentation avec atrophie. Il n'existe pas en général de formes graves ou d'atteintes organiques. Ce type est généralement associé aux Ac anti-SSA et à un déficit en C2.

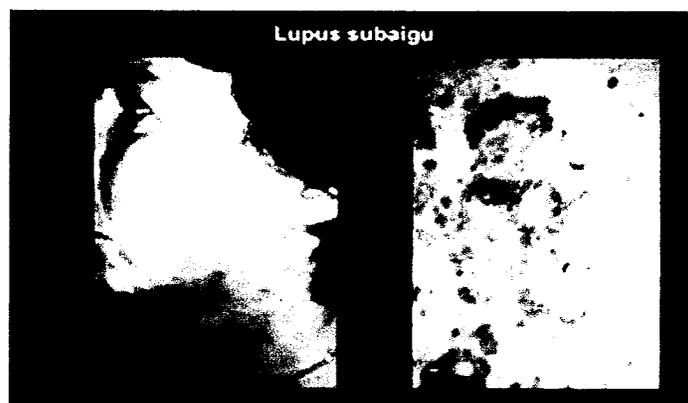


Figure 7. Lupus subaigu

-*Lupus chronique* : érythème, lésions papulo-squameuses d'hyperkératose très infiltrées centrifuges, atrophie siégeant les oreilles, les membres, le cuir chevelu laissant une alopecie définitive. Le LDC est souvent isolé sans atteintes viscérales.



Figure 8. Lupus discoïde chronique

La vascularite qui caractérise le lupus peut toucher les vaisseaux de la peau entraînant des nécroses, thromboses, syndrome de Raynaud. Les lésions peuvent être discrètes et punctiformes apparaissant sous forme de taches purpuriques au niveau des doigts et des orteils et sur le pourtour des ongles. Cette vasculopathie est souvent le marqueur d'un SAPL s'agissant d'ulcère de jambes, de gangrènes distales, nécroses cutanée et bien d'autres atteintes traduisant l'évolution et l'activité de la maladie.

L'atteinte des muqueuses nasales, génitales, rectales et surtout buccales (ressemble aux aphtes mais moins creusante) est le fait d'un lupus en activité.

L'alopecie en plaques, plus rarement diffuse, peut accompagner les poussées et régresse après la fin de la poussée.

On peut aussi observer des striations et des onycholyses au niveau des ongles.

II.2.6.4. Atteintes rénales : [4] [37]

L'insuffisance rénale est bien plus rare (10%) pendant le lupus que l'atteinte rénale qui elle est beaucoup plus fréquente (30 à 75%) mais le plus souvent silencieuse se traduisant par une protéinurie chez près de 64% des malades lupiques avant 1975 et arrivant à 30% durant les années 90 selon la cohorte de l'hôpital John Hopkins. Cette atteinte est généralement présente dès la première poussée et conditionne le pronostic (cause majeure de décès). Le plus souvent, elle se manifeste par une glomérulonéphrite (50 à 80%)

Sur le plan biologique, on constate une augmentation de la créatinine dans le sang, une protéinurie et une hématurie variant entre 50 et 80% dans la littérature avec hyperleucocyturie.

La néphropathie est bien plus fréquente dans les populations asiatiques (70 %) que hispaniques et afro-américaines (40–50 %) ou caucasienne (20%). Des facteurs génétiques, immunologiques ainsi que socio-économiques et culturels sont mis en cause sans pour cela être précisés.

On reconnaît aujourd'hui trois mécanismes possibles de la physiopathologie rénale : Un dépôt glomérulaire de complexes immuns circulants ; reconnaissance et fixation d'auto anticorps sur les parois glomérulaires et rénales ou encore la présence d'anticorps anti phospholipide aboutissant au micro thromboses vasculaires.

Il existe plusieurs classes de glomérulonéphrite selon le degré des lésions glomérulaires. Une première classification OMS en 1974 a été établie décrivant cinq classes ensuite plusieurs actualisations ont été apportées arrivant à la toute dernière modification proposée par l'association internationale de Néphrologie en 2004. Elle propose le maintien de six classes de glomérulonéphrite lupique, définies selon les anomalies visibles en microscopie optique (MO) ou en immunofluorescence (IF).

La généralisation de la PBR et l'utilisation des immunosuppresseurs ont permis, ces dernières années l'amélioration du pronostic des patients mais au prix de complications infectieuses importantes.

II.2.6.5. Atteintes pulmonaires :

Elles se présentent généralement sous forme de :

Toux (présente chez 15 à 40% des malades), dyspnée

L'atteinte pleurale uni- ou bilatérale survient à un moment quelconque de l'évolution chez 25 à 50 % des malades.

La fibrose pulmonaire est l'une des rares manifestations lupiques (3 à 10%) et exceptionnellement révélatrice.

Le tableau le plus grave est représenté par une hémorragie intra-alvéolaire avec insuffisance respiratoire aiguë fort heureusement d'incidence rare.

II.2.6.6. Atteintes neurologiques :

La prévalence d'atteintes neurologiques de tout genre est de 27% dans une cohorte européenne de mille patients avec LES. C'est une cause majeure de décès. De nombreux anticorps anti-neuronaux (anti ADN n, anti NMDA, anti RP....) sont présents mais leur relation avec les manifestations est encore incertaine.

Tableau 4 : Signes neuropsychiatriques rencontrés dans le LES. [42]

Système nerveux central	Système nerveux périphérique
<ul style="list-style-type: none"> • Méningite aseptique[†] • Atteinte cérébrovasculaire • Syndrome démyélinisant^{**} • Céphalées[‡] • Convulsions • Etat confusionnel aigu^{***} • Myélite transverse • Mouvements anormaux (chorée) • Dysfonction cognitive[†] • Troubles de l'humeur^{***} • Troubles anxieux^{***} • Psychose^{***} 	<ul style="list-style-type: none"> • Syndrome de Guillain-Barré • Atteinte du système nerveux autonome • Mononeuropathie • Myasthénie • Atteinte des paires crâniennes • Plexopathie • Polyneuropathie

II.2.6.7. Atteintes cardiovasculaires : [40]

C'est toujours la péricardite qu'on évoque en premier lorsqu'on parle d'atteinte cardiaque mais il existe aussi d'autres manifestations tout aussi cliniquement significatives.

On dénombre, dans la plupart des cohortes, une mortalité de 7 à 30%.

Péricardite :

La péricardite peut être aiguë ou chronique, unique ou récidivante. Elle se présente par des douleurs thoraciques typiquement augmentées en position couchée, soulagées en position assise et penché en avant, à caractère respiro-dépendant avec ou sans dyspnée. La plupart du temps, l'évolution est plutôt bénigne.

Myocardite :

La prévalence clinique de la myocardite, chez les patients atteints de LES, est relativement faible (de l'ordre de 9% en moyenne).

Valvulopathies :

Les atteintes valvulaires sont souvent sous-diagnostiquées, car la plupart du temps asymptomatiques.

Athérosclérose :

Plusieurs études ont montré, une prévalence d'athérosclérose plus importante chez ces patients que dans la population générale. Des calcifications coronariennes sont visibles chez environ 30% de patients lupiques asymptomatiques contre 8,6% dans une population générale.

Infarctus du myocarde :

Une jeune patiente lupique de 40 ans a un risque 50 fois supérieur de faire un infarctus du myocarde qu'une femme bien portante du même âge. Ce risque CV élevé a une double origine : une maladie athéromateuse précoce et évolutive et une tendance prothrombotique.

II.2.6.8. Atteintes hépatiques et digestives :

L'hépatomégalie bien que rare est observée chez 10% des patients ; l'ictère dans 3% des cas. On diagnostique le plus souvent une hépatite lupique en dépit d'une hépatite auto immune (type 1 ou 2) par la présence d'anticorps anti ADNdb et anti Sm qui sont toujours absents en cas d'hépatite auto-immune.

Les atteintes digestives sont surtout iatrogéniques. Les symptômes sont variables selon les malades mais on a noté des nausées, des douleurs abdominales, de la diarrhée et de l'anorexie chez 10 à 50% des cas accompagnant généralement une poussée. On a également observé mais dans de rares cas une perforation intestinale ou pancréatite toute les deux issues d'un mécanisme de vascularite ainsi qu'un syndrome de malabsorption.

II.2.6.9. Atteintes hématologiques :

Une splénomégalie modérée est présente chez 10 à 20 % des patients.

Les adénopathies sont plus fréquentes avec un taux de 20 à 60 % et atteignent surtout les ganglions superficiels.

Une anémie généralement inflammatoire est observée chez 25 à 50 % des patients et est habituelle en cas d'insuffisance rénale chronique.

L'anémie hémolytique s'associe volontiers à une thrombopénie auto-immune, aux thromboses et aux anticorps anti phospholipides.

La leucopénie est notée dans 20 à 80 % des cas.

La thrombopénie s'observe chez 10 à 50 % des cas. Elle est plus souvent modérée, associée à un syndrome des anticorps anti phospholipides, avec accidents de thrombose : On parle d'une thrombopénie de consommation.

Un anticoagulant lupique est dépisté dans environ 20 % des cas et se traduit par un allongement du TCK. Il est associé au SAPL et en particulier aux thromboses veineuses.

II.2.7. Formes cliniques :**II.2.7.1. Grossesse et LES: [12]**

La grossesse chez une femme lupique constitue une période à risque de complications maternelles, fœtales ou néonatales.

Les complications maternelles sont essentiellement des poussées de la maladie avec des manifestations de sévérité variable pouvant aller jusqu'à l'apparition d'une atteinte rénale ou neurologique centrale. Cependant, il faut être très attentif au risque de thrombose et d'autres manifestations thrombotiques liées à un SAPL, syndrome qui peut aussi favoriser la survenue d'une toxémie gravidique, d'une pré-éclampsie et/ou d'une insuffisance placentaire.

Le risque fœtal est surtout celui d'une perte fœtale précoce (1^{er} trimestre) ou tardive liée à un SAPL. Il existe aussi des risques de prématurité et d'hypotrophie liés à une poussée de lupus maternel ou plus rarement une atteinte fœtale liée aux Ac anti-Ro/SS-A.

II.2.7.2. Lupus néonatal: [12]

Le lupus néonatal est secondaire au passage transplacentaire des anticorps anti-SSA/Ro et anti-SSB/La maternels. Il peut se manifester par un bloc auriculo-ventriculaire congénital (BAVc) irréversible, conséquence d'une myocardite induite par les anti-Ro/SS-A et/ou anti-La/SS-B. Ce BAVc survient dans 1 ou 2 % des cas, généralement entre 16 et 26 SA. Lorsqu'une femme a eu un enfant avec BAVc, le risque de récurrence du BAVc est de 10 à 17 % lors d'une grossesse ultérieure

Une cytopénie et/ou des signes cutanés sont parfois aussi observés, mais contrairement au BAVc, ces manifestations sont réversibles.



Figure 9. Lupus néonatal

II.2.7.3. Lupus pédiatrique : [8] [39] [58]

Le LES à début pédiatrique est habituellement plus sévère que chez l'adulte. Il débute à l'adolescence le plus souvent mais peut également concerner le jeune enfant chez qui il doit faire rechercher une anomalie génétique associée. Il se caractérise par une plus grande fréquence des

manifestations rénales, une sévérité plus grande, une sex-ratio féminin/masculin plus faible et une implication plus grande de facteurs génétiques que dans le LES commençant à l'âge adulte. Le LESp pourrait en partie être associée à plusieurs pathologies monogéniques rares et distinctes, à côté des classiques formes polygéniques.

Un début dans le jeune âge doit faire rechercher un déficit en C2 ou en C4, plus rarement en C1q. Les traitements actuels ont permis une diminution considérable de la mortalité qui est cependant encore de 15 à 20 %, mais la morbidité à long terme reste importante.

II.2.7.4. Formes débutant chez le sujet de plus de 50 ans : [58]

Avec un sex-ratio de 5/1, ces formes concernent 10% des LE. Il y a des manifestations qui s'exacerbent tels que les pleuro-péricardites et l'atteinte parenchymateuse pulmonaire et d'autre qui s'atténuent tel les manifestations cutanées. Le syndrome de Sjögren est souvent associé avec présence d'anti SSA ou SSB.

II.2.7.5. Lupus masculin : [58]

Différentes études ont essayé à travers les années de comparer entre lupus féminin et lupus masculin pour conclure une fréquence plus importante du lupus masculin pour les âges des extrémités (enfants et plus de 50 ans) avec des pronostics identiques entre les deux sexes. Cependant, les manifestations arthritiques semblent être estompées en dépit de l'atteinte neurologique, rénale ou encore du risque coronarien.

II.2.7.6. Lupus associé au SAPL :

Ce syndrome est défini par l'association de thromboses veineuses ou artérielles, de pertes fœtales répétées et d'une thrombopénie. L'originalité majeure de ce syndrome est qu'il est défini par un groupe d'auto anticorps originaux appelés anticorps anti phospholipides. On retient l'appellation de syndrome apparenté au lupus ou "lupus-like syndrome" lorsqu'il est associé à des manifestations évoquant le lupus.

Les manifestations cliniques du SAPL dépendent directement de la localisation (unique ou multiple) des thromboses. Les plus décrites sont les manifestations cutanées sous forme de livedo, cardiaques plus précisément des Valvulopathies et neurologiques.

Au plan biologique, on retrouve un ou plusieurs des anticorps anti phospholipides suivants : fausse sérologie syphilitique, anticoagulant de type antiprothrombinase, anticorps anticardioline de type IgG ou IgM, à titre élevé, persistant à plusieurs dosages.

II.2.7.7. Lupus induit : [58]

Le plus souvent iatrogène, le lupus induit est observé dans 10% des cas. La physiopathologie du lupus médicamenteux reste multifactorielle et imprécise. Néanmoins, les études ont pu écarter l'hypothèse d'une hypersensibilité du fait de :

- 1- Absence de réponse humorale (anticorps) ou cellulaire (LT) spécifique de la drogue.
- 2- Nécessité d'une exposition prolongée au médicament.
- 3- Nécessité de réapparition des symptômes après 24 à 48 h de la reprise de la molécule.

Les études décrivant les molécules les plus incriminées ont pu élucider quelques mécanismes concernant la procainamide, la quinidine et les anti- TNF.

Dans le cas de l'anti arythmique procainamide (hydralazine), une dérégulation de l'expression des gènes serait à l'origine des manifestations par hypométhylation de l'ADN et perte de tolérance vis-à-vis des antigènes du soi.

Une altération de la phase d'élimination des déchets de l'apoptose et donc dérégulation de la clairance physiologique des corps apoptotiques a été rapportée avec la quinidine.

Les anti-TNF bloquent les cellules sécrétrices de TNF en favorisant leur apoptose et donc limitent la fonction des phagocytes dans l'élimination des corps apoptotiques. Il a aussi été rapporté qu'ils agissent sur les cellules dendritiques en bloquant leur maturation provoquant ainsi une diminution de l'INF- α .

II.2.8. Manifestations biologiques : [33] [36] [58] [63]

Différents signes biologiques peuvent évoquer et orienter le diagnostic vers un lupus ainsi qu'évaluer le pronostic de la maladie

- Présence d'un syndrome inflammatoire
- Une élévation de la VS par hypergammaglobulinémie sans élévation de la CRP sauf en cas de complication infectieuse et une cytopénie périphérique qui se présente généralement sous forme d'une anémie inflammatoire normochrome normocytaire.

II.2.8.1. Les auto-anticorps antinucléaires (AAN)

Les anticorps antinucléaires (AAN) constituent un marqueur biologique quasi constant du lupus érythémateux systémique 99 % chez les Nord-américains, 98 % en Inde, 96 % dans les études européennes et brésiliennes et 97 % dans une étude tunisienne. Ils sont le plus souvent présents plusieurs années avant le début de la clinique. Un titre supérieur au 160 est considéré positif. Le dépistage se fait actuellement par deux méthodes différentes par IFI sur frottis cellulaire de cellules

Hep2 et par ELISA pour caractériser les isotypes. La fluorescence observée peut être homogène (anti ADN natif) ou mouchetée (antigènes solubles : Sm)

- Les Ac anti-antigènes insolubles :

a. *Les anticorps anti ADNdb :*

Ils sont considérés comme le marqueur sérique le plus important de cette pathologie. Moins spécifiques que les Ac anti-Sm ou les Ac anti- PCNA ou bien encore les Ac anti-ribosomes P, ils sont cependant beaucoup plus fréquents et leurs sensibilité et spécificité pour le LES leur confèrent une bonne valeur diagnostique pour la pathologie lupique. Leur pouvoir néphritogène a été mis en évidence dans de nombreux modèles expérimentaux. Une constatation importante est l'association négative de HLA-DR6 avec la présence d'anticorps anti-ADNdb chez les patients atteints de LED.

b. *Les anticorps anti-nucléosomes :*

Ils ont pour cible les nucléosomes et, par définition, ils ne sont dirigés ni contre les histones individuelles ni contre l'ADN. Inversement, les anticorps anti-ADN ou anti histones peuvent réagir avec des épitopes d'ADN ou d'histones présents dans les nucléosomes. 16 à 30 % des lupiques ont des anticorps anti nucléosomes sans anticorps anti-ADN natif et anti histone. Considérés initialement comme associés à la néphropathie lupique, ils sont retrouvés chez des patients n'ayant pas d'atteinte rénale et leur titre est corrélé à l'activité clinique. Certains modèles pathogéniques suggèrent l'intervention de ces Ac dans l'activation du complément par interaction au niveau de la membrane basale glomérulaire avec leurs cibles libérées par excès d'apoptose cellulaire.

c. *Les anticorps anti-histones :*

la présence des anticorps anti histones seuls et non associés aux anticorps anti ADNdb est un signe qui oriente vers le diagnostique d'un lupus induit.

- Les Ac anti-antigènes solubles :

a. *Les anticorps anti-Sm : [38]*

La fréquence des Ac anti-Sm varie au cours du LES, selon la technique utilisée mais aussi selon l'origine ethnique des malades. La sensibilité est particulièrement élevée chez les sujets de race noire, de l'ordre de 50 % par rapport aux populations caucasiennes où les anti-Sm sont retrouvés dans 10 à 20 % seulement des cas de LES. La sensibilité de 36,9 % observée dans une série tunisienne et les 30 % de l'étude koweïtienne d'Al Mekaimi et al. semblent définir les populations maghrébines et arabes comme intermédiaires.

Les associations entre HLA-DR4 -DR3 et anti-Sm / RNP ont été signalés dans d'autres populations noires.

b. *Les anticorps anti-SSA et anti-SSB* : [18]

Les Ac anti-SSA ont une forte valeur prédictive pour le diagnostic du LES, particulièrement pour les patients positifs en AAN mais sans anti-ADNdb ou anti-Sm.

Ces anticorps ont été associés à plusieurs maladies auto-immunes et impliqués dans leur pathogénie. Cependant, il n'existe pas dans la littérature beaucoup d'études sur la relation entre les différents gènes HLA et leur prévalence. Néanmoins, une étude a été faite sur une population japonaise décrivant l'association entre HLA-DPB1*05:01 et les anti-SSA ou anti-SSB alors qu'une association négative significative a été établie entre DPB1*02:01 et les Ac anti-SSB.

Les allèles HLA-DRB1*08:03 ont été rapportés associés avec les anticorps anti-SSB alors que HLA-DRB1*15:01 l'ont été avec les Ac anti-SSA dans les formes primaires du SS, LES et les patients asymptomatiques.

L'association de HLA-DR3 et anti-Ro / La observés chez des patients jamaïcains a également été rapportée chez les patients lupiques dans d'autres groupes ethniques : les Caucasiens, les Afro-Américains, les Mexicains et les Noirs d'Afrique du Sud.

▪ *Autres auto-anticorps* :

D'autres auto anticorps peuvent avoir une valeur diagnostique ou pronostique au cours du lupus :

a. *Ac anti ribosomes* :

Ils sont fréquemment associés aux Ac antinucléaires au cours du LED où ils apparaissent comme des marqueurs spécifiques mais peu sensibles, leur fréquence variant selon les études de 10 à 42 % et sont souvent la cause des manifestations neuropsychiques notamment les états dépressifs. D'autre part Sato et al suggèrent que la présence de ces Ac révèle l'existence de formes cliniques actives. En effet, ces auteurs ont détecté des Ac anti-P chez 42% des patients lupiques avec une maladie active contre seulement 8% chez les patients en phase silencieuse.

b. *Ac antiPL* : La fausse sérologie syphilitique est présente chez 10 % des lupiques, l'anticoagulant circulant chez 20 %, et les anticorps anticardioline chez 30 à 40 %. Ces anticorps peuvent disparaître au moment des accidents thrombotiques.

c. *Ac anti PCNA (proliferating cell nuclear antigen)* : [54]

Ces Ac sont rares, avec une prévalence < 5 %. Ils ont été décrits dans des maladies auto-immunes autres que le LES (comme par exemple la sclérodémie, le syndrome de Gougerot-Sjögren ou les thyroïdites auto-immunes) et également dans des pathologies comme l'hépatite virale ou les cancers. Depuis leur découverte, plusieurs publications ont rapporté les Ac anti-PCNA comme étant des marqueurs spécifiques de LES. En pratique médicale courante, l'association entre Ac anti-PCNA et LES semble moins forte avec les techniques utilisées actuellement.

d. *Facteurs rhumatoïdes* : Le test au latex est positif chez environ 20 % des lupus généralement à début tardif et avec moins d'atteintes rénales.

e. *Ac anti Clq* : Retrouvés chez 50 % des lupus, ils entraînent une hypocomplémentémie profonde (baisse du C3 et du CH50). Leur absence est témoin d'un bon pronostic en faveur de l'absence de l'atteinte glomérulaire.

f. *Complément* : une hypocomplémentémie est observée au cours du lupus dans 40 à 60% des cas. Elle est la résultante soit d'un déficit congénital partiel ou complet (C2) soit d'une consommation par les CI (C3, C4, CH50). Elle témoigne dans ce dernier cas d'une atteinte rénale. L'incidence des principaux anticorps antinucléaires et anti cytoplasmes au cours du lupus érythémateux systémique est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : Incidence des principaux anticorps antinucléaires et anti cytoplasmes au cours du lupus érythémateux systémique. Systemic lupus erythematosus O. Meyer

Type d'anticorps	Fréquence(%)	Spécificité (0 à +++)
Antinucléaires (dépistage)	98	0
ADN natif	70	0
Histones (H2A-H2B)	50-80	+ médicament
Nucléosomes (chromatine)	60-80	++
Sm	5-30	+++
U1RNP	30-40	+
Ro (SSA)	30	0
La (SSB)	10	0
Ribosomes	10-20	+
Protéine P ribosomale	5-20	++
Cardiolipine/phospholipides	40	0

II.2.9. Diagnostic du lupus :

Le diagnostic précoce du lupus est toujours difficile malgré la mise à jour récente (1997) des critères diagnostiques. La nouvelle version a supprimé les cellules L.E et la "fausse sérologie syphilitique". Il faut rappeler que ces critères "dépoüssiérés" servent surtout de critères de classification destinés aux travaux scientifiques. En pratique quotidienne, ils servent de "cadre de réflexion" mais leur utilisation ne doit pas conduire à la dictature des critères car l'expérience montre que de nombreux patients ont un "vrai" lupus même s'ils ne répondent pas à un nombre de critères suffisants pour affirmer "officiellement" le diagnostic. Pour améliorer le diagnostic précoce, la tendance actuelle est donc de remplacer ces critères cumulatifs par des systèmes d'arbres décisionnels ou par des critères diagnostiques pondérés :

Lupus érythémateux disséminé si score cumulé > 2, sensibilité : 92% ; spécificité : 96%

Tableau 6 : scores pondérés des critères préliminaires du LES .Histoire des auto-anticorps .Jean SIBILIA
Service de Rhumatologie Hôpital de STRASBOURG.

Critère	Score pondéré
Cytopénie	1,5
Erythème malaire	1,0
Sérite	0,6
Alopécie	0,6
Photosensibilité	0,6
Protéinurie > 3,5 g/24h	1,0
Cylindres cellulaires	1,5
Psychose ou convulsions	0,7
Lupus discoïde	1,5
Phénomène de Raynaud	0,3
Sérologie cardiolipine positive	0,5
Arthrite	0,1
Ulcérations nasales ou orales	0,1
Biologie FAN +	0,5
FAN + anti-ADN -, anti-Sm -	0,3
FAN + anti-ADN +, anti-Sm -	1,3
FAN + anti-ADN -, anti-Sm +	1,3
FAN + anti-ADN +, anti-Sm +	1,4
FAN -	-1,8

Éléments de surveillance biologique d'un lupus érythémateux systémique :

NFS, plaquettes, VS, fibrine, CRP

Protéinurie/24 h, Créatinine

Cholestérol total, HDL cholestérol, triglycérides, Glycémie

FAN, anti-ADN natif, Anti-Ro/SSA, anti-La/SSB (si grossesse), Antiphospholipides, anticoagulant circulant

CH50, C3, C4, cryoglobulinémie

II.2.10. Prévention : [32] [56]

Les mesures préventives reposent sur l'éviction des facteurs déclenchant : exposition solaire (écran total, protection vestimentaire), contraception (il faut proposer un progestatif et éviter les œstrogènes).

Dans le lupus idiopathique, il n'y a pas de contre-indication médicamenteuse même pour les médicaments présumés inducteurs mais il faut signaler une fréquence plus importante de réactions allergiques médicamenteuses. Une simple surveillance est préconisée.

Une prévention de l'athéromatose est justifiée en identifiant et en éliminant les facteurs de risque associés : cholestérol, tabac, diabète, hypertension. Une prévention des complications de la corticothérapie, en particulier de l'ostéoporose cortisonique, est nécessaire.

II.2.11. Traitement: (29) [56]

Le traitement dépend de l'évolutivité et de la gravité de la maladie.

Les progrès thérapeutiques ont été significatifs, principalement dans 3 axes :

- Les manifestations viscérales les plus sévères, en particulier les néphropathies et le syndrome des antiphospholipides sont relativement bien contrôlées par les corticoïdes, les immunosuppresseurs et les anti-coagulants. Dans certaines circonstances exceptionnelles (syndrome catastrophique des antiphospholipides, manifestations polyviscérales sévères), des modalités thérapeutiques d'exception, comme l'intensification de l'immunosuppression avec greffe de moelle ou de cellules souches périphériques, ont permis d'améliorer des situations désespérées.
- Une meilleure prise en charge et une meilleure planification des grossesses ont transformé le pronostic et la vie des jeunes femmes lupiques.
- Un meilleur contrôle et une meilleure prévention des infections et de l'athéromatose ont permis d'améliorer considérablement la qualité de vie et la survie des patients atteints de lupus.

Le traitement de fond repose sur les amino-4-quinoléines (hydroxychloroquine ou chloroquine), et/ou les corticoïdes.

- *Hydroxychloroquine*

L'hydroxychloroquine (HCQ) a l'AMM en « traitement d'appoint ou en prévention des rechutes des lupus systémiques ». L'HCQ doit être prescrite en prévention des rechutes à tous les patients lupiques (sauf contre indication). Un examen ophtalmologique initial recherche une éventuelle rétinopathie dont l'existence peut contre-indiquer ce traitement.

- *Chloroquine*

La chloroquine (CQ) a également l'AMM dans le traitement préventif des rechutes de lupus systémique

- *Corticoïdes*

La corticothérapie **n'est pas indiquée en traitement de fond initial**. En revanche, lorsqu'une corticothérapie a été instaurée à l'occasion d'une poussée, de faibles doses de corticoïdes peuvent être maintenues au long cours.

▪ **La biothérapie :**

Cinq traitements biologiques ont été analysés quant à leur capacité à devenir une nouvelle référence dans le traitement du lupus : l'infliximab, l'abatacept, le rituximab, l'épratuzumab et le bélimumab.

-L'*infliximab* n'a fait l'objet que de petites études ouvertes améliorant la fonction rénale pour des temps prolongés suite à une cure d'induction courte, alors que l'atteinte articulaire répond à une prise continue difficile à gérer en raison d'effets secondaires sérieux. Il n'y a pas d'étude randomisée et contrôlée publiée.

-L'*abatacept* : contrairement aux espérances provenant de son efficacité chez l'animal, n'a pas montré d'efficacité dans une étude randomisée et contrôlée, mais un changement des paramètres de métrologie permettrait d'arriver à une conclusion favorable pour le lupus rénal.

- Contrairement à dix ans d'expériences en études ouvertes, le *rituximab* ne confirme pas son efficacité dans deux études randomisées et contrôlées, mais la quantité de corticoïdes autorisés ne lui permettait peut-être pas de se distinguer.

-L'*épratuzumab* tire mieux son épingle du jeu, mais les études randomisées et contrôlées ont dû être arrêtées ; le médicament était globalement bien toléré sans plus d'effet indésirable comparativement au placebo, mais malheureusement il n'était pas plus efficace.

- Enfin, le *bélimumab* confirme une efficacité pour la posologie haute de 10 mg/kg dans deux études, comprenant un très grand nombre de patients souffrant par ailleurs de LED d'évolutivité relativement modérée.

Le traitement des différentes situations au cours du lupus érythémateux se fait selon les symptômes et la clinique par des anti-inflammatoire non stéroïdien, des antis malarique de synthèse et de l'anti vitamine K.

▪ **Traitements non pharmacologiques :**

Une rééducation associée au port d'orthèses et une prise en charge ergothérapique peuvent se discuter. En cas d'Ostéonécroses symptomatique avérée, une décharge articulaire est justifiée. En cas de destruction articulaire, une chirurgie prothétique peut être discutée en fonction de la douleur et du handicap.

La ponction du liquide péricardique n'est en pratique nécessaire qu'en cas de tamponnade ou si un processus septique surajouté est craint. Dans les formes chroniques constrictives, résistantes au traitement corticoïde, la résection du sac péricardique peut être nécessaire.

III. Matériel et méthodes

III.1. Matériel :

III.1.1. Matériel biologique :

III.1.1.1. Population d'étude :

Il s'agit d'une étude cas-témoins réalisée sur 133 sujets qui ont bénéficié d'un typage HLA au niveau de l'unité d'immunologie au CHU Hassiba Ben Bouali, comprenant :

- 54 patients lupiques.
- 79 sujets témoins

III.1.1.2. Critères d'inclusion :

a. Définition du cas :

Est retenu comme cas, un sujet chez lequel un diagnostic de la maladie lupique a été confirmé après avoir effectué un bilan d'auto-immunité (recherche d'auto-anticorps).

b. Critères d'inclusion des cas :

Il s'agit de patients lupiques, externes ou hospitalisés dans les différents services notamment les services de rhumatologie et de médecine interne, qui se sont présentés au niveau de l'unité pour un typage HLA. Avec une majorité féminine, et un sexe ratio de 26F/1H, nos patients se répartissent en 52 sujets de sexe féminin et 2 sujets de sexe masculin dont la moyenne d'âge est de 37 ans avec les extrêmes de 10 et 73 ans.

c. Critères d'inclusion des témoins :

Les témoins sélectionnés sont des adultes sains indemnes de toutes pathologies ou manifestations lupiques dont le nombre est de 79. Parmi lesquels on compte 46 sujets de sexe féminin et 33 sujets du sexe masculin, avec une moyenne d'âge de 42 ans. L'exploration de la population témoin s'est effectuée au niveau de l'unité d'immunologie au CHU Hassiba Ben Bouali.

III.1.1.3. Modalités de recueil des données pour l'étude :

Un entretien était prévu avec le patient après consentement de celui-ci, durant lequel un questionnaire était posé. Ce dernier a permis de recueillir toutes les informations nécessaires dont les résultats du dernier bilan immunologique. Et pour finir, un prélèvement sanguin a été réalisé afin de pouvoir effectuer le typage.

III.1.2. Matériel non biologique :

III.1.2.1. Fiche de renseignement :

Propre à chaque malade, elle permet de rapporter les informations recueillis durant le questionnaire.
(Annexe 8)

III.1.2.2. Tubes de prélèvement :

- Tubes EDTA
- Tubes secs
- Tubes ACD
- Cupules

III.1.2.3. Appareillage : (Annexe 9)

- Centrifugeuse Thermo Scientific®
- Bio-Robot EZ1 (Qiagen®)
- Thermocycleur pour PCR type 9700 Applied biosystems®
- Four à micro-onde (pour la préparation du gel d'agarose)
- Chambre de migration
- Générateur pour cuve d'électrophorèse BIO-RAD.
- Lecteur Gel Doc™ XR+ (BIO-RAD)

III.1.2.4. Matériel informatique :

- HLA Fusion™ Software (One Lambda) version 2.0 (voir la page d'accueil du logiciel sur l'Annexe 10)
- Image Lab software (Bio-Rad) version 2.0.1
- Epi Info™ 6

III.2. Méthodes:

III.2.1. Etude génétique :

Faisant appel à la technique de biologie moléculaire, le typage des deux classes HLA a été réalisé par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), plus précisément PCR-SSP (Specific Sequence Primers) qui représente l'étape d'amplification, après avoir extrait de l'ADN à partir du sang total des patients à l'aide du kit Qiagen®. Or, l'identification des allèles nécessite une étape de post-amplification qui consiste en la lecture du gel de migration.

III.2.1.1. Extraction de l'ADN:

On a réalisé une extraction automatisée à l'aide de l'automate Bio-Robot EZ1 (Qiagen®) et en utilisant son Kit commercial, EZ1® DNA Blood

III.2.1.1.1. Principe de la technique:

L'extraction et la purification des acides nucléiques sont les premières étapes dans la plupart des études de biologie moléculaire et dans toutes les techniques d'ADN recombinant. L'objectif des méthodes d'extraction des acides nucléiques dans le cas présent est d'obtenir des acides nucléiques purifiés, des cellules sanguines mononuclées, afin de pouvoir mener une réaction de polymérisation en chaîne (PCR). La qualité et la pureté des acides nucléiques comptent parmi les facteurs les plus critiques pour l'analyse PCR.

III.2.1.1.2. Contenu du Kit:

- Barrettes de réactif
- Tubes à échantillon
- Tube d'élution
- Tubes à filtre
- Carte de programmation

III.2.1.1.3. Mode opératoire:

- Sortir la barrette du réactif et bien l'agiter avant de la déposer dans son support.
- Déposer les différents tubes dans leur support comme suit : Les tubes à échantillon dans la position 4, les tubes à filtre dans la position 2, et les tubes d'élution (cupules) dans la position 1.
- A l'aide d'une pipette, prendre 200µl du sang total après avoir bien agiter le tube et mettre cette quantité dans le tube à essais.
- Commencer par mettre le support des barrettes dans l'automate, ensuite le support des tubes.
- Insérer la carte
- Fermer l'automate et l'allumer.
- Appuyer sur la touche Start, et sélectionner le volume de l'échantillon et le volume d'élution.
- A la fin, on récupère l'ADN dans les tubes à élution.

Voir quelques images prises lors de la manipulation montrant quelques étapes sur l'annexe 11.

III.2.1.2. PCR-SSP:

III.2.1.2.1. Principe de la technique:

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) permet une amplification exponentielle *in vitro* d'une séquence cible de l'ADN à partir de deux amorces oligonucléotidiques complémentaires des extrémités 3' des deux brins d'ADN encadrant la séquence à amplifier sous l'action d'une ADN polymérase thermostable, chaque amorce est allongée dans le sens 5' → 3'.

Chaque cycle d'amplification comporte une succession de trois étapes :

- Dénaturation de l'ADN double brin par la chaleur.
- Hybridation des amorces avec leurs séquences complémentaires. La température d'hybridation est variable selon chaque amorce.
- Extension des amorces par la Taq polymérase qui va incorporer les nucléotides pour synthétiser un nouveau brin d'ADN par le jeu de la complémentarité des bases (A, G, C, T).

La PCR-SSP utilise l'amplification d'un groupe d'allèle avec des amorces spécifiques d'une région polymorphe. La présence ou l'absence d'un allèle est déterminée en fonction de l'amplification ou de la non amplification obtenue.

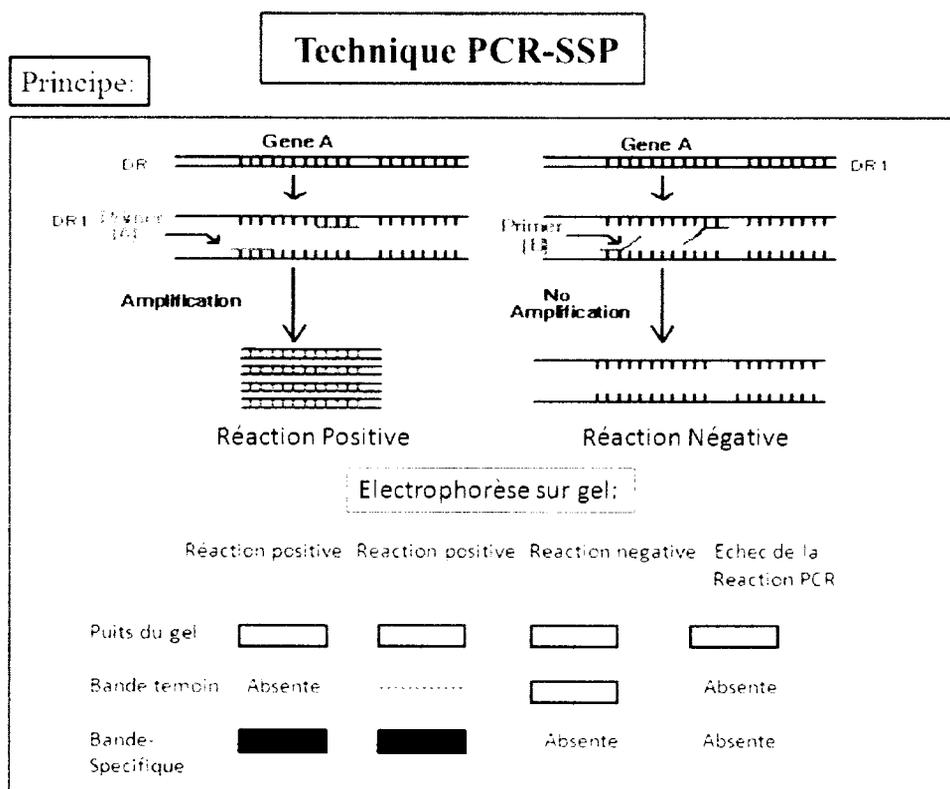


Figure 10. Schéma du Principe de la technique PCR-SSP et de l'interprétation de l'électrophorèse sur gel

III.2.2.2.2. Réactifs:

- Les amorces sont pulvérisées sur les parois des 96 puits de la plaque.
- Taq polymérase
- Micro-SSP™ D-Mix

III.2.1.2.3. Mode opératoire:

On suit au laboratoire le protocole One Lambda pour la technique de PCR-SSP.

a. Préparation de la plaque:

- On commence d'abord par la décongélation de la plaque Micro SSP™ en la mettant à température ambiante, après avoir coupé la partie de la plaque à utiliser, on remet immédiatement la partie non utilisée à la température de conservation.
- Agiter les échantillons d'ADN au vortex.
- Retirer la feuille adhésive de la plaque qui couvre la plaque.
- Sortir la Taq polymérase du congélateur
- Ajouter 1µl de diluant ADN dans le puits du contrôle négatif de la plaque.
- Ajouter la Taq polymérase dans le tube du D-Mix.
- Les quantités de l'ADN, Taq polymérase et du D-Mix pour le typage de chaque classe sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau 7. Les quantités de réactif à utiliser pour le typage de chaque classe

Classe HLA	Volume d'ADN	Volume de Taq polymérase	Volume du D-Mix
Classe I	111	5.6	1000
Classe II	59	3.0	540

- Fermer le tube, et l'agiter au vortex pendant 5 secondes, ensuite le mettre dans la centrifugeuse pour pouvoir récupérer le liquide sur les parois du tube.
- A l'aide d'une pipette, rajouter 9µl du mélange D-Mix/Taq polymérase au puits du contrôle négatif.
- Ensuite, mélanger la quantité nécessaire d'ADN au mélange D-Mix/Taq polymérase.
- Boucher le tube et agiter au vortex pendant 5 secondes, et le mettre ensuite à la centrifugeuse, pour faire descendre tout le liquide sur les parois au fond du tube.
- A l'aide d'une pipette, prélever 10µl du mélange ADN/D-Mix/Taq polymérase, et le distribuer dans tout les puits de la plaque excepté celui du contrôle négatif (le dépôt du

mélange doit être fait légèrement sur les parois en évitant de toucher le fond des puits afin d'éviter d'éventuelles contaminations).

- Tapoter légèrement la plaque afin de s'assurer que l'échantillon soit bien descendu dans chaque puits.
- Couvrir la plaque avec la feuille adhésive fournie, pour éviter toute perte due à une évaporation durant la PCR.
- Placer soigneusement la plaque dans le thermocycleur.
- Déposer le « Pressure Pad » sur la plaque avant de fermer le couvercle du thermocycleur.
- Entrer le numéro de programme et sélectionner l'option 10µl du volume de la réaction.
- Démarrer le programme, ce dernier durera 1h16 mn. La dernière étape maintiendra l'échantillon à 4° jusqu'à l'arrêt du programme.
- Enlever la plaque du thermocycleur, et retirer délicatement la feuille adhésive, ou bien conserver la plaque couverte à -20°C pour effectuer l'électrophorèse ultérieurement.

Voir quelques photos prises lors de la manipulation démontrant quelques étapes en Annexe 12.

b. Préparation du gel d'agarose:

- Ajouter 2.5g d'agarose dans 100ml de tampon TBE 1* avec 0.5µg/ml de bromure d'éthidium (cette quantité est suffisante pour 3 gels)
- On chauffe le mélange pendant 3 min au four à micro-onde, jusqu'à obtention d'une solution homogène.
- A l'aide de trois pieds à hauteur réglable, on ajuste le niveau de la base.
- Couler 30ml de gel dans la boîte tout en s'assurant qu'il recouvre toute la surface de manière uniforme grâce à des mouvements oscillatoires de va-et-vient, on place ensuite rapidement les peignes sur le gel.
- Après 15 min de refroidissement, les peignes doivent être retiré soigneusement, dont les empreintes serviront de puits pour y déposer l'ADN amplifié.
- Ajouter 10ml de tampon TBE 1* avec 0.5µl de bromure d'éthidium à la surface du gel de façon à ce qu'il recouvre tous les puits.

Voir en Annexe 13 quelques photos prises lors de la manipulation.

c. Electrophorèse sur gel (Post-PCR):

- A l'aide d'une pipette multicanaux, le matériel génétique amplifié est transféré à partir de la plaque sur les le gel en assurant 3-4 lavages entre les lignes afin d'éviter la contamination.

- Placer les électrodes provenant du générateur dans la chambre de migration afin de mettre celle-ci dans un champ permettant donc la migration qui durera 3 à 5 minutes
- Retirer le gel et le mettre dans le transilluminateur à UV pour effectuer la lecture.

III.2.1.3 Lecture et interprétation des résultats :

La lecture des résultats de migration se fait à partir de l'image du gel prise grâce au Gel Doc (Bio-Rad) à l'aide du logiciel Image Lab.

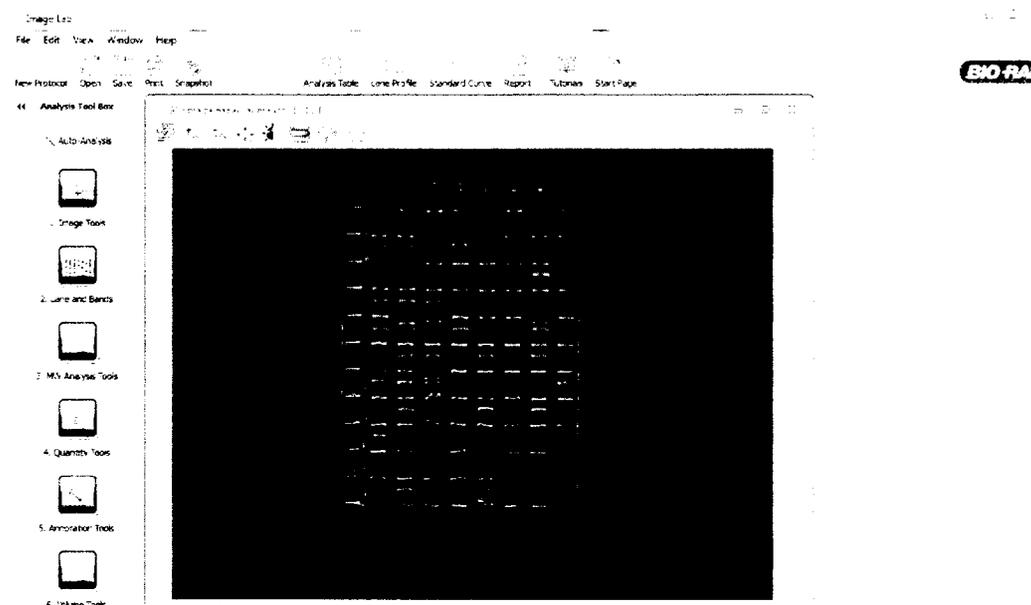


Figure 11. Image du gel sur logiciel Image Lab

L'interprétation des résultats nécessite un autre logiciel le « HLA Fusion » sur le quel on indique la présence ou l'absence d'amplification dans chaque puits par un score, après transmission de l'image du gel sur ce logiciel. Ce dernier propose plusieurs combinaisons alléliques correspondant au puits positifs.

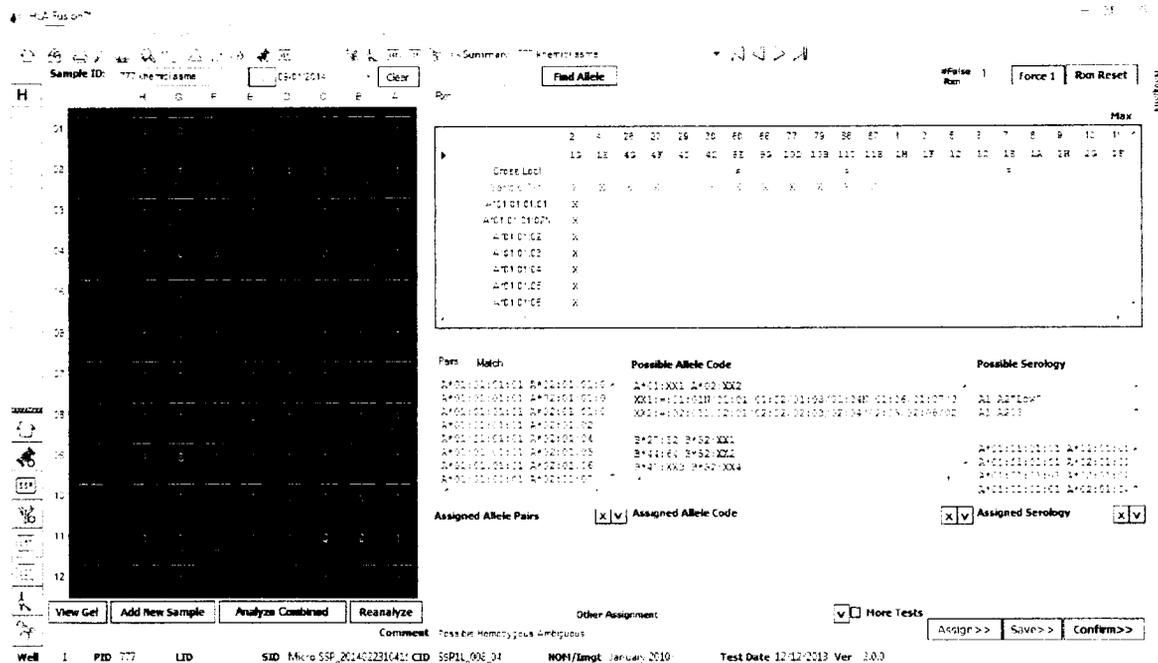


Figure 12. Analyse gel sur HLA Fusion

III.2.2. Etude statistique:

Afin d'atteindre notre objectif d'identifier les allèles HLA dits prédisposants ou protecteurs chez notre série de cas et de témoins, nous avons réalisé une étude descriptive, en comparant les fréquences de chaque allèle chez les deux populations, ainsi que de certaines association entre les allèles de la même classe ou des deux classes confondues.

L'estimation du risque a été évaluée grâce au test χ^2 , nous avons calculé pour cela les valeurs de l'Odds ratio (OR), le P et l'intervalle de confiance à 95% (IC95%).

Ces calculs ont été réalisés à l'aide d'un logiciel statistique : Epi Info™ 6

Interprétation :

Un allèle est considéré prédisposant, quand la valeur du P est significative (<0.05), la valeur de l'OR >1 et l'IC95% ne comprend pas la valeur 1, dans le cas ou ce dernier comporte la valeur 1, l'allèle est considéré potentiellement protecteur avec une augmentation significative de la fréquence de l'allèle en question chez les témoins.

IV. Résultats et discussion

IV.1. Résultats :

IV.1.1. Données épidémiologique:

IV.1.1.1. Sexe:

Une prédominance nettement féminine a caractérisé notre série avec un sexe ratio de 26F/1H, soit 96.29% de la population étudiée. (Fig. 9)

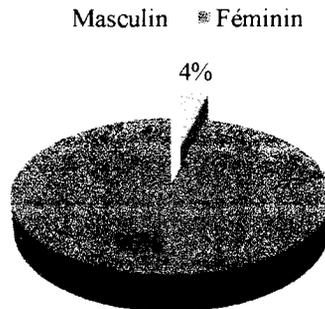


Figure 13. Répartition des patients selon le sexe

IV.1.1.2. Age:

Avec une moyenne d'âge de 37 ans, on observe parmi nos patients lupiques une fréquence plus élevée chez les jeunes adultes dont 53.7% entre 20 et 40 ans et 33.33% entre 40 et 60 ans,. La répartition des deux populations selon la tranche d'âge est reportée sur le tableau suivant :

Tableau 8. Répartition des deux populations d'étude selon la tranche d'âge

Age	Patients		Témoins	
	n	Fr %	n	Fr %
0-20	3	5,56	2	2,53
20-40	29	53,7	20	25,32
40-60	18	33,33	45	56,96
60-80	4	7,41	6	7,59
indéterminé	0	0	6	7,59
Total	54	100	79	100

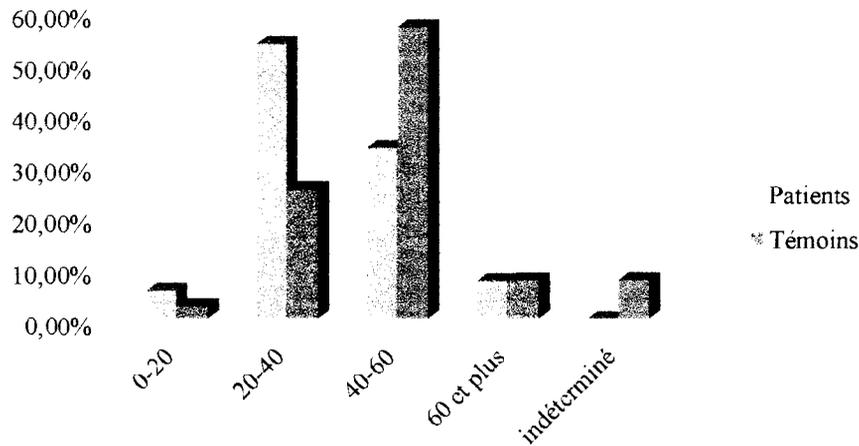


Figure 14. Répartition des sujets selon la tranche d'âge

IV.1.2. Données génétiques:

Dans ce travail, le polymorphisme des gènes HLA de 54 patients lupiques dont 52 femmes et 2 hommes a été étudié. Les témoins (46 femmes et 33 hommes), eux, étaient des donneurs de reins et ne présentaient aucun signe évoquant un lupus ou autre maladie auto-immune.

Après extraction et amplification d'ADN par PCR-SSP, on a pu analyser et comparer les résultats de typage de chaque population. La fréquence des allèles HLA de classe I (A, B, et C) chez les deux populations est représentée dans les tableaux qui suivent.

IV.1.2.1. Etude du polymorphisme des allèles HLA classe-I chez les patients lupiques et les témoins:

IV.1.2.1.1 Distribution des allèles HLA-A chez les deux populations:

Le tableau 9 nous renseigne sur les fréquences des allèles HLA-A retrouvés chez les patients et les témoins avec les valeurs du test khi2, l'Odds ratio (OR) et le P.

Tableau 9. Distribution des allèles HLA-A chez les deux populations

Allèles HLA-A	Patients		Témoins		khi2	P	OR	OR CI95
	2N=108		2N=158					
A*1	21	19,44%	12	7,59%	8,289	0,004	2,94	1,38-6,26
A*2	20	18,52%	41	25,95%	2,004	0,157	0,65	0,36-1,18
A*3	6	5,56%	14	8,86%	1,008	0,315	0,61	0,22-1,63
A*11	4	3,70%	3	1,90%	0,816	0,366	1,99	0,44-9,06
A*23	7	6,48%	13	8,23%	0,281	0,596	0,77	0,30-2,01
A*24	9	8,33%	14	8,86%	0,023	0,881	0,94	0,39-2,24
A*25	3	2,78%	2	1,27%	0,795	0,373	2,23	0,37-13,57
A*26	3	2,78%	3	1,90%	0,225	0,635	1,48	0,29-7,45
A*29	5	4,63%	5	3,16%	0,381	0,537	1,49	0,42-5,26
A*30	10	9,26%	20	12,66%	0,741	0,389	0,70	0,32-1,57
A*31	1	0,93%	1	0,63%	0,074	0,786	1,47	0,09-23,72
A*32	4	3,70%	3	1,90%	0,816	0,366	1,99	0,44-9,06
A*33	4	3,70%	10	6,33%	0,887	0,346	0,57	0,17-1,86
A*34	0	0,00%	1	0,63%	0,686	0,407	0,00	-
A*36	3	2,78%	0	0,00%	4,439	0,035	-	-
A*66	0	0,00%	1	0,63%	0,686	0,407	0,00	-
A*68	7	6,48%	13	8,23%	0,281	0,596	0,77	0,30-2,01
A*74	0	0,00%	1	0,63%	0,686	0,407	0,00	-
A*80	1	0,93%	1	0,63%	0,074	0,786	1,47	0,09-23,72

La distribution des allèles HLA-A présentée sur le tableau ci-dessus n'avait montré qu'une seule association significative entre l'allèle A*01 et la susceptibilité de développer la maladie, avec un OR de 2.94 [1.38-6.26] et un $P < 0.005$, les fréquences étaient de 19.44% et 7.59% chez les patients et les témoins respectivement.

Les fréquences des allèles pour chaque population sont présentées sur le diagramme suivant ;

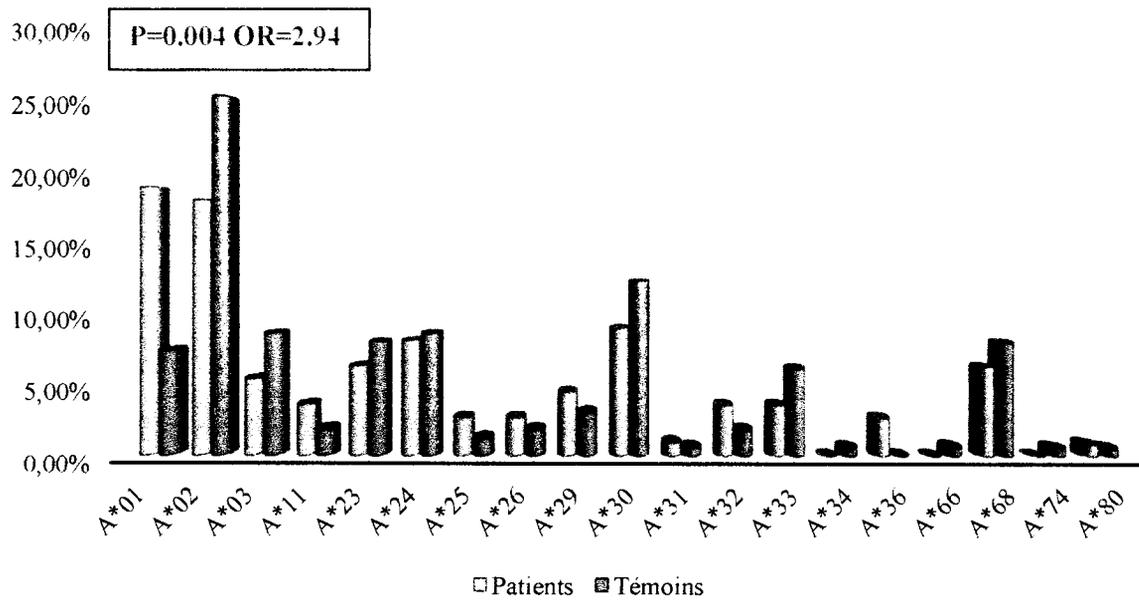


Figure 15. Fréquences des allèles HLA-A retrouvés chez les patients et les témoins

On remarque que les fréquences des allèles A*02, A*03, A*30 et A*33 sont nettement plus élevées chez les témoins que chez les cas, sans qu'une association significative soit établie avec la maladie.

IV.1.2.1.2. Distribution des allèles HLA-B chez les deux populations:

Les fréquences de chaque allèle pour les deux populations sont représentées sur le tableau 10, avec les résultats du test khi2, les valeurs de l'OR et de P.

Tableau 10. Distribution des allèles HLA-B chez les deux populations

Allèles HLA-B	Patients		Témoins		khi2	P	OR	IC (95%)
	2N=108		2N=158					
B*04	1	0,93%	0	0,00%	1,478	0,224	-	-
B*07	11	10,19%	12	7,55%	0,569	0,451	1,39	0,59-3,27
B*08	17	15,74%	9	5,66%	7,435	0,006	3,11	1,33-7,28
B*13	2	1,85%	2	1,26%	0,154	0,695	1,48	0,21-10,68
B*14	7	6,48%	8	5,03%	0,255	0,614	1,31	0,46-3,72
B*15	4	3,70%	7	4,40%	0,080	0,778	0,84	0,24-2,93
B*18	12	11,11%	10	6,29%	1,978	0,160	1,86	0,77-4,48
B*27	1	0,93%	4	2,52%	0,885	0,347	0,36	0,04-3,29
B*35	10	9,26%	6	3,77%	3,436	0,064	2,60	0,92-7,39
B*37	2	1,85%	0	0,00%	2,967	0,085	-	-
B*38	1	0,93%	7	4,40%	2,675	0,102	0,20	0,02-1,67
B*39	1	0,93%	2	1,26%	0,064	0,801	0,73	0,07-8,19
B*40	2	1,85%	3	1,89%	0,000	0,984	0,98	0,16-5,97
B*41	1	0,93%	1	0,63%	0,076	0,782	1,48	0,09-23,87
B*42	1	0,93%	4	2,52%	0,885	0,347	0,36	0,04-3,29
B*44	5	4,63%	18	11,32%	3,658	0,056	0,38	0,14-1,06
B*45	4	3,70%	8	5,03%	0,264	0,607	0,73	0,21-2,47
B*49	2	1,85%	11	6,92%	3,564	0,059	0,25	0,06-1,17
B*50	5	4,63%	11	6,92%	0,598	0,439	0,65	0,22-1,94
B*51	9	8,33%	17	10,69%	0,407	0,523	0,76	0,33-1,77
B*52	2	1,85%	4	2,52%	0,129	0,719	0,73	0,13-4,06
B*53	3	2,78%	4	2,52%	0,017	0,895	1,11	0,24-5,05
B*55	0	0,00%	1	0,63%	0,682	0,409	0,00	-
B*57	2	1,85%	3	1,89%	0,000	0,984	0,98	0,16-5,97
B*58	2	1,85%	5	3,14%	0,421	0,516	0,58	0,11-3,05
B*62	0	0,00%	1	0,63%	0,682	0,409	0,00	-
B*72	0	0,00%	1	0,63%	0,682	0,409	0,00	-
B*82	1	0,93%	0	0,00%	1,478	0,224	-	-

Parmi les allèles B retrouvés chez les deux populations, une seule association a été retrouvée, il s'agit de l'allèle B*08 dont la fréquence chez les patients était de 15.74% et de 5.66% chez les témoins.

Or, l'allèle B*44 est plus fréquent chez les témoins que chez les patients (11.32%-4.63%) avec $p=0.056$ et un $OR < 1$.

Dans un intervalle de confiance de [1.33-7.28] la valeur de l'OR était de 3.11.

Les fréquences alléliques sont représentées sur le diagramme suivant:

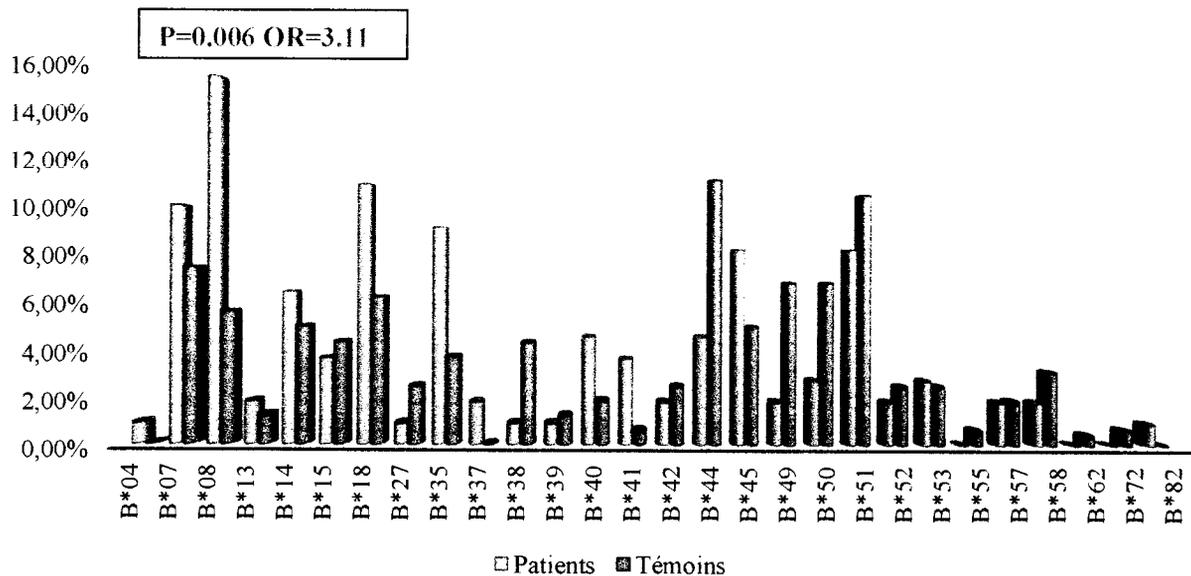


Figure 16. Fréquences des allèles HLA-B retrouvés chez les patients et les témoins

On remarque que les fréquences des allèles B*07, B*18 et B*35 étaient distinctement plus élevées chez les patients que chez les témoins, cependant le test du khi2 n'avait évoqué aucune association significative entre ces allèles et la maladie. Ce qui est le cas aussi pour l'allèle B*44 dont la fréquence était plus élevée chez les témoins que chez les patients.

IV.1.2.1.3. Distribution des allèles HLA-C chez les deux populations :

Les fréquences des allèles HLA-C retrouvés chez les deux populations, les résultats du test khi2 ainsi que l'OR et les valeurs P sont représentées sur le tableau 11.

Tableau 11. Distribution des allèles HLA-C chez les deux populations

Allèles HLA-C	Patients		Témoins		khi2	P	OR	IC (95%)
	2N=108		2N=158					
C*01	2	1,85%	1	0,65%	0,800	0,371	2,87	0,26-32,04
C*02	8	7,41%	13	8,50%	0,102	0,750	0,86	0,34-2,16
C*03	4	3,70%	7	4,58%	0,119	0,730	0,80	0,23-2,81
C*04	12	11,11%	18	11,76%	0,027	0,870	0,94	0,43-2,04
C*05	5	4,63%	11	7,19%	0,721	0,396	0,63	0,21-1,86
C*06	15	13,89%	20	13,07%	0,036	0,849	1,07	0,52-2,20
C*07	30	27,78%	44	28,76%	0,030	0,863	0,95	0,55-1,65
C*08	6	5,56%	7	4,58%	0,129	0,720	1,23	0,40-3,76
C*09	2	1,85%	0	0,00%	2,855	0,091	-	-
C*10	1	0,93%	0	0,00%	1,422	0,233	-	-
C*12	8	7,41%	6	3,92%	1,515	0,218	1,96	0,66-5,82
C*14	3	2,78%	4	2,61%	0,006	0,936	1,06	0,23-4,85
C*15	5	4,63%	7	4,58%	0,000	0,983	1,01	0,31-3,28
C*16	5	4,63%	10	6,54%	0,425	0,515	0,69	0,23-2,09
C*17	2	1,85%	5	3,27%	0,486	0,486	0,56	0,11-2,93

L'étude de la distribution des allèles HLA-C chez les cas et les témoins n'avait révélé aucune association significative sachant que les valeurs du P étaient toutes supérieures à 0.05.

Le diagramme ci-dessous ne montre aucune différence considérable entre les fréquences pour chaque population:

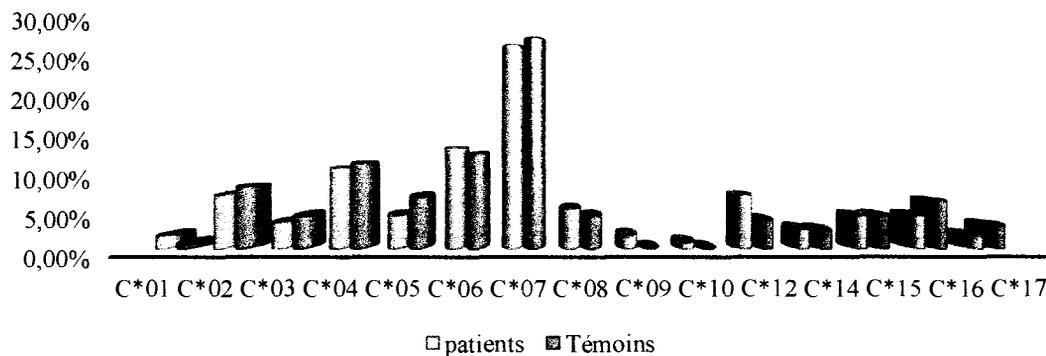


Figure 17. Fréquences des allèles HLA-C retrouvés chez les patients et les témoins

IV.1.2.1.4. Distribution des associations les plus fréquentes entre les allèles HLA de classe I chez les deux populations:

L'étude de la distribution de quelques associations entre les allèles HLA de classe I chez les deux populations accompagnée des résultats du test khi2 est résumée dans le tableau 12.

Tableau12. Détermination des associations les plus fréquentes entre les allèles de classe I

	Patients 2N=108		Témoins 2N=158		khi2	P	OR	IC (95%)
A*02, A*02	3/54	5,56%	6/79	7,59%	0,211	0,646	0,72	0,17-2,99
A*02, A*30	1/54	1,85%	4/79	5,06%	0,914	0,339	0,35	0,04-3,26
A*01, B*08	8/54	14,81%	3/79	3,80%	5,132	0,023	4,41	1,11-17,45
A*02, B*08	7/54	12,96%	3/79	3,80%	3,875	0,049	3,77	0,93-15,31
A*24, B*08	5/54	9,26%	3/79	3,80%	1,693	0,193	2,59	0,59-11,31
A*30, B*44	2/54	3,70%	5/79	6,33%	0,443	0,505	0,57	0,11-3,05
A*01, C*07	15/54	27,78%	7/79	8,86%	8,314	0,004	3,96	1,49-10,52
A*02, C*07	7/54	12,96%	13/79	16,46%	0,306	0,580	0,76	0,28-2,04
B*07, C*07	7/54	12,96%	10/79	12,66%	0,003	0,959	1,03	0,37-2,89
B*08, C*07	13/54	24,07%	8/79	10,13%	4,693	0,030	2,81	1,08-7,36
B*44, C*04	1/54	1,85%	8/79	10,13%	3,481	0,062	0,17	0,02-1,38
B*49, C*07	2/54	3,70%	9/79	11,39%	2,499	0,114	0,30	0,06-1,44
C*07, C*07	7/54	12,96%	10/79	12,66%	0,003	0,959	1,03	0,37-2,89

Après croisement des différents allèles des deux groupes, nous avons pu déterminer la fréquence des associations possibles et d'en tirer les plus fréquentes. Le tableau montre que les associations A*01, B*08 ; A*01, C*07 ; A*02, B*08 ; B*08, C*07 sont bien plus fréquentes chez les sujets avec des pourcentages de 14.81% -3.80% ; 27.78% -10.13% ; 12.96%-3.80% ; 24.07% -10.13% respectivement. En revanche, on remarque une augmentation des associations A*30, B*44; B*44, C*04 ; B*49, C*07 chez le groupe des témoins par rapport au groupe des patients mais cette augmentation n'a pas de signification statistique vu la valeur de p.

L'analyse des autres associations n'a pas révélé une grande différence statistique entre les deux groupes.

IV.1.2.2. Etude du polymorphisme des allèles HLA classe-II chez les patients lupiques et les témoins:

IV.1.2.2.1. Distribution des allèles HLA-DRB1 chez les deux populations:

L'analyse de distribution des allèles HLA-DRB1 chez les deux populations ainsi que les résultats du test Khi 2 sont résumés dans le tableau 13.

Tableau 13. Distribution des allèles HLA-DRB1 chez les deux populations

Allèles HLA-DRB1	Patients		Témoins		khi2	P	OR	IC (95%)
	2N=108		2N=158					
DRB1*01	1	0,99%	13	8,90%	6,993	0,008	0,10	0,01-0,80
DRB1*02	25	24,75%	23	15,75%	3,088	0,079	1,76	0,93-3,32
DRB1*03	31	30,69%	26	17,81%	5,583	0,018	2,04	1,12-3,72
DRB1*04	8	7,92%	19	13,01%	1,590	0,207	0,57	0,24-1,37
DRB1*07	10	9,90%	25	17,12%	2,560	0,110	0,53	0,24-1,16
DRB1*08	2	1,98%	2	1,37%	0,140	0,709	1,45	0,20-10,50
DRB1*09	3	2,97%	0	0,00%	4,390	0,036	-	-
DRB1*10	1	0,99%	4	2,74%	0,921	0,337	0,36	0,04-3,22
DRB1*11	9	8,91%	17	11,64%	0,473	0,491	0,74	0,32-1,74
DRB1*12	1	0,99%	1	0,68%	0,069	0,792	1,45	0,09-23,46
DRB1*13	9	8,91%	13	8,90%	0,000	0,999	1,00	0,41-2,44
DRB1*14	1	0,99%	3	2,05%	0,425	0,515	0,48	0,05-4,65

Comme le démontre le tableau ; la seule association de susceptibilité était établie avec l'allèle DRB1*03, dont la valeur de l'OR est de 2.04 dans un intervalle de confiance [1.12-3.72]. En revanche, on remarque une augmentation significative de l'allèle DRB1*01 chez le groupe des témoins par rapport au groupe des patients lupiques (pratiquement absent), avec un $P < 0.05$ et un $OR < 1$, il est dans ce cas négativement associé à la maladie.

Les fréquences des allèles DRB1*04 et *07 sont également plus élevées chez les témoins que chez les patients mais sans valeur statistique.

On note une augmentation dans la fréquence de l'allèle DRB1*02 chez les patients, or la valeur du p n'est pas significative.

On constate également une valeur significative pour l'allèle DRB1*09, celui-ci n'existe que chez les patients avec une fréquence de 2.97%

Les fréquences des allèles pour chaque population sont représentées sur le diagramme suivant ;

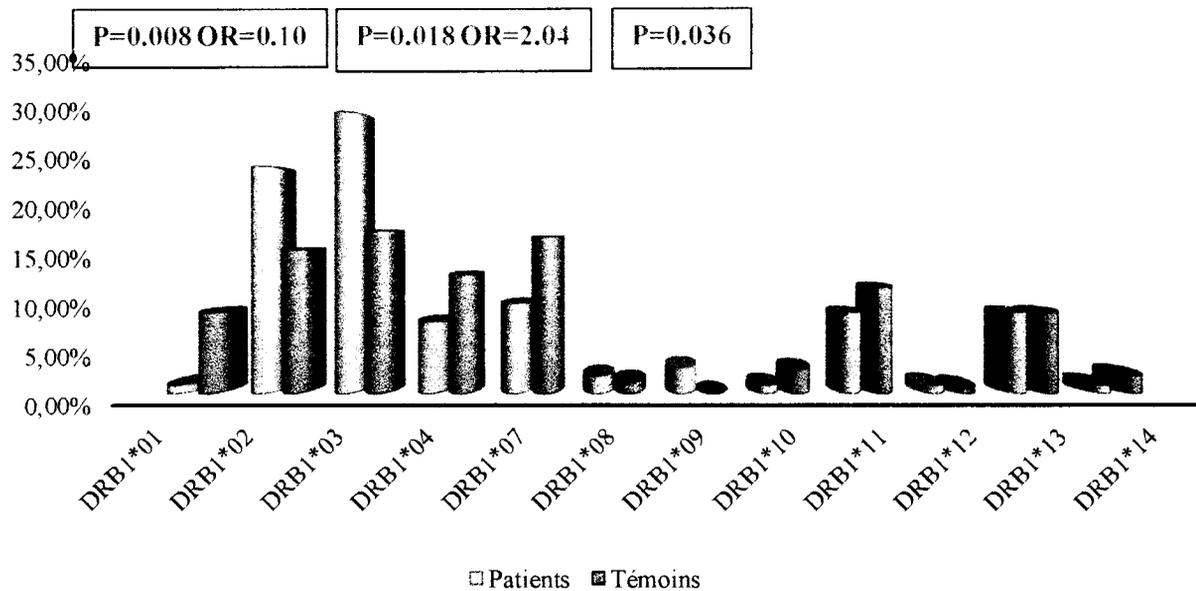


Figure 18. Fréquences des allèles HLA-DRB1 retrouvés chez les patients et les témoins

IV.1.2.2.2. Distribution des allèles HLA-DQB1 chez les deux populations:

Le tableau 14 regroupe les résultats de l'analyse de distribution et du test χ^2 des allèles HLA-DQB1 chez les deux populations.

Tableau 14. Distribution des allèles HLA-DQB1 chez les deux populations

Allèles HLA-DQB1	Patients 2N=108		Témoins 2N=158		khi2	P	OR	IC (95%)
DQB1*02	30	31,25%	41	28,87%	0,155	0,694	1,12	0,64-1,97
DQB1*03	18	18,75%	38	26,76%	2,043	0,153	0,63	0,34-1,19
DQB1*04	5	5,21%	9	6,34%	0,132	0,716	0,81	0,26-2,50
DQB1*05	22	22,92%	28	19,72%	0,353	0,552	1,21	0,64-2,27
DQB1*06	21	21,88%	26	18,31%	0,459	0,498	1,25	0,66-2,38

Les résultats de l'analyse ne montrent aucune association significative entre les allèles HLA-DQB1 retrouvés chez les deux populations et la maladie. Cependant on peut constater que la fréquence de l'allèle DQB1*03 est distinctement plus élevée chez les témoins (26,76%) que chez les patients (18,75%).

Le diagramme des fréquences confirme cette hypothèse sachant que les fréquences des allèles pour chaque population sont proches.

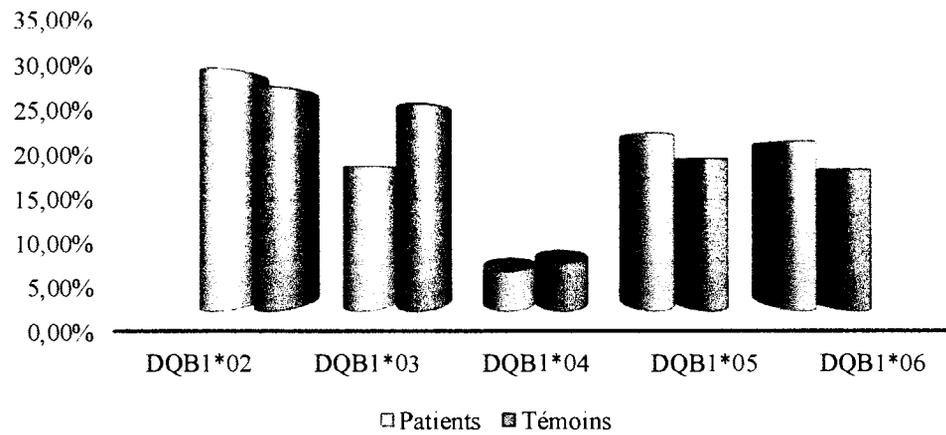


Figure 19. Fréquences des allèles HLA-DQB1 retrouvés chez les patients et les témoins

IV.1.2.2.3 Distribution des associations les plus fréquentes entre les allèles de classe II :

Cette détermination aboutit à un assemblage des données dans le tableau 15.

Tableau15. Les associations les plus fréquentes entre les allèles HLA classe II

	Patients 2N=108		Témoins 2N=158		khi2	P	OR	IC (95%)
DQB1*02, DQB1*03	7	12,96%	14	17,72%	0,546	0,460	0,69	0,26-1,85
DQB1*02, DQB1*05	5	9,26%	11	13,92%	0,660	0,417	0,63	0,21-1,93
DQB1*02, DQB1*06	9	16,67%	12	15,19%	0,053	0,819	1,12	0,43-2,87
DRB1*02, DRB1*07	1	1,85%	5	6,33%	1,493	0,222	0,28	0,03-2,46
DRB1*02, DRB1*02	5	9,26%	2	2,53%	2,912	0,088	3,93	0,73-21,05
DRB1*02, DRB1*03	5	9,26%	8	10,13%	0,027	0,869	0,91	0,28-2,93
DRB1*03, DRB1*03	7	12,96%	1	1,27%	7,763	0,005	11,62	1,39-97,40
DRB1*04DRB1*04	1	1,85%	3	3,80%	0,416	0,519	0,48	0,05-4,72
DRB1*04DRB1*07	0	0,00%	3	3,80%	2,098	0,147	0,00	
DRB1*07DRB1*11	0	0,00%	4	5,06%	2,819	0,093	0,00	
DRB1*03, DQB1*02	19	35,19%	22	27,85%	0,810	0,368	1,41	0,67-2,96
DRB1*01, DRB1*07	0	0	5	6,33%	3,551	0,06	0	
DRB1*02, DQB1*05	10	18,52%	6	7,59%	3,617	0,057	2,77	0,94-8,13
DRB1*07, DQB1*02	8	14,81%	22	27,85%	3,119	0,077	0,45	0,18-1,11
DRB1*01, DQB1*05	7	12,96%	13	16,46%	0,306	0,580	0,76	0,28-2,04

Le calcul de la fréquence de l'association DRB1*03DRB1*03 est de 12.96% chez les patients et de 1.27% chez les témoins avec un OR très élevé atteignant 11.62 et un $p < 0.005$.

Chez les 54 patients, les associations des allèles DRB1*04DRB1*07 ; DRB1*07DRB1*11 ; DRB1*01DRB1*07 étaient absentes alors que leurs fréquences étaient de 3.80%, 5.06%, 6.33% respectivement chez les témoins.

Il semble que l'association DRB1*02, DQB1*05 montre une fréquence plus augmentée chez les patients que chez les témoins (18.52% - 7.59%). De même pour DRB1*02DRB1*02 (9.26% VS 2.53%) mais avec un $p > 5\%$.

Une faible différence de fréquences mais non significative de l'association DRB1*04DRB1*04 entre les deux populations a été observé.

Les associations DRB1*02, DRB1*07 ; DRB1*07, DQB1*02 étaient plus fréquentes dans le groupe témoin par rapport au groupe malade (6.33% -1.85% et 27.85%-14.81% respectivement) mais non significative du point de vue statistique.

Pour les associations des allèles DQB1DQB1, les fréquences étaient statistiquement comparables chez les deux groupes.

IV.1.2.3. Etude des associations entre les deux classes HLA et la susceptibilité au LES :

La détermination de ces associations nous a permis d'enregistrer les résultats sur le tableau 16.

Tableau 16. Associations les plus fréquentes des deux classes d'HLA

	Patients 2N=108		Témoins 2N=158		khi2	P	OR	IC (95%)
A*02, DRB1*02	6	11,11%	14	17,72%	1,097	0,295	0,58	0,21-1,62
A*02, DRB1*03	9	16,67%	11	13,92%	0,189	0,664	1,24	0,47-3,22
A*02, DRB1*04	1	1,85%	11	13,92%	5,695	0,017	0,12	0,01-0,93
A*02, DQB1*02	8	14,81%	16	20,25%	0,641	0,423	0,68	0,27-1,74
A*02, DQB1*03	6	11,11%	17	21,52%	2,429	0,119	0,46	0,17-1,24
A*02, DQB1*05	9	16,67%	15	18,99%	0,117	0,733	0,85	0,34-2,12
A*02, DQB1*06	6	11,11%	13	16,46%	0,748	0,387	0,63	0,23-1,79
A*30, DQB1*03	4	7,41%	10	12,66%	0,939	0,333	0,55	0,16-1,86
A*68, DQB1*02	4	7,41%	10	12,66%	0,939	0,333	0,55	0,16-1,86
B*08, DRB1*03	11	20,37%	6	7,59%	4,696	0,030	3,11	1,07-9,02
B*07, DRB1*02	8	14,81%	6	7,59%	1,775	0,183	2,12	0,69-6,49
B*44, DRB1*07	1	1,85%	10	12,66%	4,937	0,026	0,13	0,02-1,05
B*08, DQB1*05	9	16,67%	3	3,80%	6,472	0,011	5,07	1,30-19,69
B*44, DQB1*02	2	3,70%	12	15,19%	4,493	0,034	0,21	0,05-1,00
B*51, DQB1*06	4	7,41%	10	12,66%	0,939	0,333	0,55	0,16-1,86
B*35, DQB1*02	6	11,11%	2	2,53%	4,176	0,041	4,81	0,93-24,82
B*35, DQB1*05	6	11,11%	2	2,53%	4,176	0,041	4,81	0,93-24,82
C*04, DRB1*07	2	3,70%	11	13,92%	3,799	0,051	0,24	0,05-1,12
C*07, DRB1*11	4	7,41%	8	10,13%	0,289	0,591	0,71	0,20-2,49
C*02, DQB1*05	1	1,85%	10	12,66%	4,937	0,026	0,13	0,02-1,05

On observe que 20.37% des patients présentent l'association B*08, DRB1*03 contre 7.59% des témoins avec un OR (3.11, [1,07-9,02]) confirmant cette augmentation. Alors que cette association semble être la plus fréquente, l'association B*08, DQB1*05 est aussi significative (5,07, [1,30-19,69]) avec p=0.01

Les fréquences de B*35, DQB1*02 et B*35, DQB1*05 sont bien plus augmentées et significatives.

Pour les autres associations, on remarque que les associations A*02, DRB1*04 ; B*44, DQB1*02 ; B*44, DRB1*07 ; C*02, DQB1*05 sont plus fréquentes chez le groupe témoin que chez le groupe malade.

Bien que l'association B*51, DQB1*06 soit plus fréquente chez les témoins, elle n'est pas pour cela significative.

Les résultats montrent que la distribution des allèles A*02DRB1*03 et A*02DRB1*02 est comparable entre les patients et les témoins.

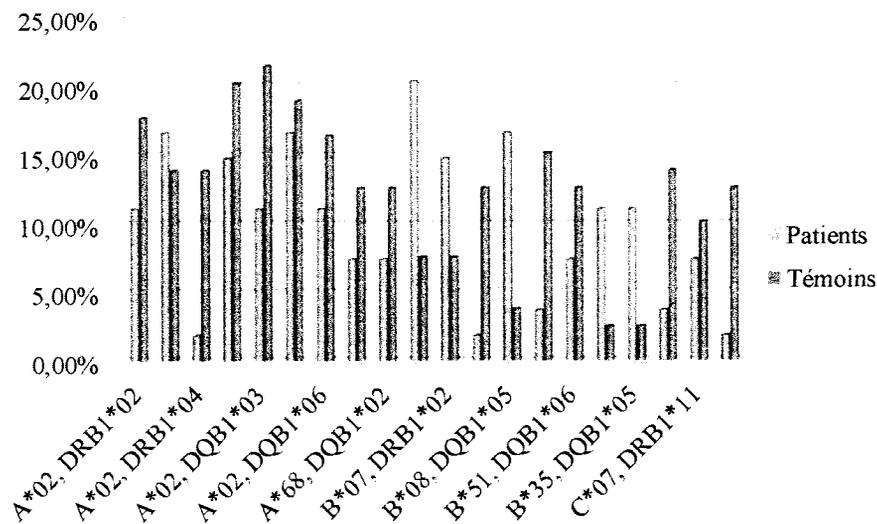


Figure 10. Distribution des fréquences des associations entre les deux classes chez les patients et les témoins

IV.2. Discussion:

Depuis l'établissement de la relation entre les différents loci principalement le CMH et la susceptibilité de développer le LES, des études innombrables ont été réalisées sur plusieurs groupes ethniques afin de définir les allèles responsables de ce risque, à cet égard nous avons focalisé notre étude sur les allèles du complexe majeure d'histocompatibilité.

La dissection des résultats a mené à la définition de seulement trois allèles HLA, potentiellement responsables de la maladie dans notre série; l'allèle A*01 (OR=2.94, IC= 1.38-6.26), l'allèle B*08 (OR=3.11, IC=1.33-7.28) et l'allèle DRB1*03 (OR=2.04, IC=1.12-3.72). Ces trois allèles apparaissent dans l'un des haplotypes principaux retrouvé en Europe [A*01 :01, B*08 :01, C*07 :01, DRB1*03 :01, DQA1*05 :01, DQB1*02 :01] déterminé par une étude [15] qui a révélé les allèles HLA les plus associés au LES chez les européens, cette même étude avait émis une hypothèse précisant que l'association des allèles de classe I soit due principalement au déséquilibre de liaison, et seuls les allèles de classe II, en premier lieu le DRB1, soient à l'origine de la susceptibilité au LES.

Concernant les allèles de classe I (A et B) notre résultat était différent de celui des saoudiens (A*29, B*51) [2] et des irakiens (A*28, A*36, B*12 et B*21) [16].

L'allèle DRB1 était remarquablement sujet à plusieurs études, proposant à plusieurs reprises le DRB1*03 comme allèle de susceptibilité, ce qui est comparable à ce qu'on a retrouvé dans notre analyse, notamment chez les européens [15] et les tunisiens [6] avec le DRB1*15 :01 et chez les pakistanais [16] en plus du DRB1*01, *11 et *14. Le DRB1*03 apparaît encore une fois parmi les allèles de risque dans une méta-analyse de 25 études réalisées à travers le monde avec le DRB1*15 et *09, ce dernier a été retrouvé chez les japonais [25] et les coréens.

L'allèle DQB1*06 apparaît lui aussi parmi les allèles de susceptibilité chez les saoudiens [2], les tunisiens [6] et les égyptiens [1], alors que le DQB1*02 semble plus fréquent chez les européens [15]. Dans notre étude, ces deux allèles se montrent plus fréquents chez les patients lupiques que chez les témoins, sans qu'on puisse les associer à la maladie car les résultats ne sont pas significatifs.

Pour ce qui est de la protection un seul allèle s'est montré significativement associé ; le DRB1*01 dont la valeur du P et de l'OR sont de : $P=0.008$, $OR=0.10$. D'autres allèles semblent être distinctement plus fréquents chez les témoins que chez les cas, comme le montre les résultats (A*02, A*30, B*44, *04, *07 et DQB1*03), mais nous ne pouvons conclure qu'il s'agit d'allèle de protection car l'étude statistique n'avait révélé aucun résultat significatif, et ceci peut être due aux contraintes statistiques, liées probablement au manque d'appariement des témoins et des cas ainsi que la taille de l'échantillon.

Chez les japonais [25], les allèles DRB1*13 et *14 (DR6) sont définis comme allèles de protection, alors que chez les tunisiens, ce sont DRB1*04 et DQB1*03 qui semblent être potentiellement protecteurs [6].

La susceptibilité au lupus du point de vue génétique semble être liée précisément à certaines associations d'allèles et pas à d'autre. De ce fait et d'après nos résultats, les associations les plus incriminées dans la maladie sont à priori des associations d'allèles HLA de classe II tels que DRB1*03, DRB1*03 déjà cité dans la susceptibilité en tant qu'allèle seul dans notre étude.

Remarque faite, Des études ont montré que les sujets ayant un allèle de susceptibilité homozygotes étaient prédisposés à développer un lupus plus sévère. D'autres études ont cité cet allèle associé au DRB1*02 ou encore au DRB1*09 tels chez les japonais [25]. Enfin, le DRB1*03 a été prouvé dans plusieurs études (patients mexicains, hongrois, tunisiens, irakiens, japonais) figurant dans pratiquement la plupart des haplotypes associés au LES.

Une association avec les antigènes HLA de classe I a déjà été décrite chez des patients atteints de lupus avec DRB1*03 mais cette hypothèse propose que c'est due principalement à un déséquilibre de liaison qui existe dans cette région. Les principales associations retrouvées dans notre étude sont B*08,DRB1*03 (20,37%, OR= 3,11) et B*08,DQB1*05 (16.67%, OR= 5.07).

Les associations A*02,DRB1*04 ; B*44,DQB1*02 et C*02,DQB1*05 sont plus fréquentes chez les témoins avec un p significatif. Ceci pourrait leur conférer un caractère protecteur.

Les associations DRB1*01,DRB1*07 ; DRB1*07, DRB1*11 ; B*44,DRB1*07 étaient absentes chez les cas alors que 6.33%, 5.06%, 12.66% respectivement des témoins en possédaient. Ceci peut être du à la présence des allèles DRB1*07 et DRB1*04 largement rapportés dans d'autres études en tant qu'allèles protecteurs tout comme chez les tunisiens [6] (allèle de susceptibilité chez les hongrois)

L'analyse des autres associations n'a pas été significative.

Contrairement à d'autres études, l'association des DQB1 semble ne pas avoir d'effet sur la susceptibilité dans la notre. Cette observation pourrait refléter une particularité de la population algérienne.

La susceptibilité ou la protection vis-à-vis de la maladie est également liée à certains haplotypes. En Europe, on retrouve deux haplotypes fréquemment liés à la susceptibilité au LES :

A*03B*07C*07DRB1*02DQB1*06 et A*01B*08C*07DRB1*03DQB1*02. Dans notre étude, l'haplotype le plus fréquent chez les patients lupiques était A*01B*08C*07 avec une fréquence de 14,81% contre 5,06% chez les témoins (OR=3,26, IC= 0.93-11.44).

V. Conclusion

A la fin de notre étude, nous pouvons retenir qu'il existe un impact réel de la composante génétique, plus précisément le CMH sur la pathogénie du LES, certains allèles sont qualifiés prédisposant, d'autres protecteurs.

Les résultats obtenus se montrent plus similaires à ceux des études réalisées sur les populations européenne et tunisienne qu'à ceux des asiatiques (japonais, pakistanais, saoudiens, irakien..).

Les allèles A*01, B*08, et DRB1*03, s'avèrent potentiellement prédisposant au lupus, alors que l'allèle DRB1*01 est protecteur à l'égard de la maladie.

L'association de certains allèles HLA pourrait augmenter le risque ou protéger davantage le sujet porteur. Les associations de : A*01, B*08 ; A*01, C*07 ; B*08, C*07 ; DRB1*03, DRB1*03 ; B*08, DRB1*03 et B*08, DQB1*05 ont augmenté significativement le risque de développer la maladie, par contre celles de A*02, DRB1*04 ; B*44DQB1*02 ; B*44 DRB1*07; C*02,DQB1*05 ; DRB1*01,DRB1*07 et DRB1*07 ,DRB1*11 semblent le diminuer.

En raison de la taille réduite de notre échantillon, ainsi que le manque d'appariement des cas et des témoins, les données doivent être confirmées par une étude plus large incluant les différentes régions de l'Algérie, en appliquant un tirage au sort adéquat lors de l'échantillonnage.

VI. Références

Articles et ouvrages :

- 1- Abir N. Mokbel , Dina S. Al-Zifzaf, Association of HLA-DQB1*06 with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Egyptians
- 2- Al-Motwee S, Jawdat D, **Association of HLA-DRB1*15 and HLADQB1*06 with SLE in Saudis.**
- 3- A. Mathian, L. Arnaud, Z. Amoura **Physiopathologie du lupus systémique : le point en 2014** (La Revue de médecine interne 35 (2014) 503–511)
- 4- Alexandre Karras , Frank Martinez **Rein et lupus : données récentes** Revue du Rhumatisme 72 (2005) 162–167
- 5- Angela R. Bryan & Eveline Y. Wu **Complement Deficiencies in Systemic Lupus Erythematosus** ; Curr Allergy Asthma Rep (2014) 14:448
- 6- Ayed K, Gorgi Y, The involvement of HLA -DRB1*, DQA1*, DQB1* and complement C4A loci in diagnosing systemic lupus erythematosus among Tunisians.
- 7- B. Bader-Meunier, P. Quartier, G. Deschênes, P. Cochat , E. Haddad, I. Koné-Paut , T. Leblanc, A.M. Prieur, R. Salomon, C. Bodemer, M. Lévy **Childhood-onset systemic lupus erythematosus** Archives de pédiatrie 10 (2003) 147–157
- 8- B. Bader-Meunier , N. Jeremiah, F. Rieux-Laucat **Le lupus systémique à début pédiatrique : une pathologie polygénique ou monogénique ?** La Revue de Médecine Interne Volume 34, Issue 4, April 2013, Pages 230-233
- 9- Chantal André, Frédéric Batteux, Sophie Desplat-Jego, Marie Agnès Dragon-Durey, Sylvain Dubucquoi, Guy Gorochov, Lionel Prin **Mécanismes physiopathologiques de l'auto-immunité**
- 10- Clowse ME et al **Communication: Efficacy and Safety of Epratuzumab in Patients with Moderate-to-Severe Systemic Lupus Erythematosus: Results from Two Phase 3 Randomized, Placebo-Controlled Trials.** ACR 2015, San Francisco, 7-11 novembre 2015
- 11- Corinne Miceli-Richard **Epigénétique et lupus** (Revue du rhumatisme 81 (2014) 381–384)
- 12- D. Lê Thi Huong, B. Wechsler, J.-C. Piette **Pregnancy and systemic lupus erythematosus** La Revue de médecine interne 29 (2008) 725–730
- 13- Dacheng Ding, Hemal Mehta, W. Joseph McCune and Mariana J. Kaplan **Aberrant Phenotype and Function of Myeloid Dendritic Cells in Systemic Lupus Erythematosus** ; Journal of Immunology 2006; 177:5878-5889; (current information as of January 8 2016)
- 14- Daniela Lakomya, Joëlle Goetz, **À propos des anticorps anti-PCNA** 8e Colloque Geai 2014
- 15- David L. Morris, Kimberly E. Taylor, Michelle M.A. Fernando, Joanne Nititham, Marta E. Alarco'n-Riquelme, Lisa F. Barcellos, Timothy W. Behrens, Chris Cotsapas, Patrick M. Gaffney, Robert R. Graham, Bernardo A. Pons-Estel, Peter K. Gregersen, John B. Harley, Stephen L. Hauser, Geoffrey Hom, International MHC and Autoimmunity Genetics Network, Carl D. Langefeld, Janelle

- A. Noble, John D. Rioux, Michael F. Seldin, Systemic Lupus Erythematosus Genetics Consortium, Lindsey A. Criswell, and Timothy J. Vyse **Unraveling Multiple MHC Gene Associations with Systemic Lupus Erythematosus: Model Choice Indicates a Role for HLA Alleles and Non-HLA Genes in Europeans** (The American Journal of Human Genetics 91, 778–793, November 2, 2012)
- 16- Dr. Hyam Raouf Al-Hammamy, Dr. Kais Hasan Abd, **Human Leukocyte Antigens Association with Systemic Lupus Erythematosus In Iraqi Patients**
- 17- Don L. Armstrong, Raphael Zidovetzki **GWAS identifies novel SLE susceptibility genes and explains the association of the HLA region**
- 18- François Lemoine, Yvon Lebranchu, Olivier Boyer, Marie Christine Béné, Yacine Taoufik, **Immunité adaptative : Lymphocytes T régulateurs et notion de tolérance**
- 19- Hiroshi Furukawa, Shomi Oka, Kota Shimada, Shoji Sugii, Atsushi Hashimoto, Akiko Komiya, Naoshi Fukui, Tatsuo Nagai, Shunsei Hirohata, Keigo Setoguchi, Akira Okamoto, Noriyuki Chiba, Eiichi Suematsu, Taichiro Miyashita, Kiyoshi Migita, Akiko Suda, Shouhei Nagaoka, Naoyuki Tsuchiya, Shigeto Tohma **Association of Increased Frequencies of HLA-DPBI*05:01 with the Presence of Anti Ro/SS-A and Anti-La/SS-B Antibodies in Japanese Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus Patients**
- 20- Hiroshi Furukawa, Aya Kawasaki, Shomi Oka, Ikue Ito, Kota Shimada, Shoji Sugii, Atsushi Hashimoto, Akiko Komiya, Naoshi Fukui, Yuya Kondo, Satoshi Ito, Taichi Hayashi, Isao Matsumoto, Makio Kusaoi, Hirofumi Amano, Tatsuo Nagai, Shunsei Hirohata, Keigo Setoguchi, Hajime Kono, Akira Okamoto, Noriyuki Chiba, Eiichi Suematsu, Masao Katayama, Kiyoshi Migita, Akiko Suda, Shigeru Ohno, Hiroshi Hashimoto, Yoshinari Takasaki, Takayuki Sumida, Shouhei Nagaoka, Naoyuki Tsuchiya, Shigeto Tohma **Human Leukocyte Antigens and Systemic Lupus Erythematosus: A Protective Role for the HLA-DR6 Alleles DRB1*13:02 and -*14:03** (PLOS ONE February 2014 | Volume 9 | Issue 2)
- 21- Joëlle Goetz, Arnaud Theulin, Jean Sabilia **Suivi clinicobiologique des grossesses lupiques revue francophone des laboratoires** (6e Colloque • GEAI 2010)
- 22- Kim Heang Ly Service de Médecine Interne A CHU de Limoges DES de Neurologie- Limoges 28-29 juin 2012 par le Pr Eric Hachulla **Critères diagnostiques et classification des maladies systémiques**
- 23- [Kenichi Shimane, Yuta Kochi, **An association analysis of HLA-DRB1 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in a Japanese population: effects of *09:01 allele on disease phenotypes**

- 24-Kwangwoo Kim, So-Young Bang, Hye-Soon Lee, Yukinori Okada, Buhm Han, Woei-Yuh Saw, Yik-Ying Teo & Sang-Cheol Bae. **The HLA-DRb1 amino acid positions 11–13–26 explain the majority of SLE–MHC associations.**(NATURE COMMUNICATIONS 2014)
- 25-Kwangwoo Kim, So-Young Bang, Dae Hyun Yoo, Soo-Kyung Cho, Chan-Bum Choi, Yoon-Kyoung Sung, Tae-Hwan Kim, Jae-Bum Jun, Young Mo Kang, Chang-Hee Suh, Seung-Cheol Shim, Shin-Seok Lee, Jisoo Lee, Won Tae Chung, Seong-Kyu Kim, Jung-Yoon Choe, Swapan K. Nath, Hye-Soon Lee, Sang-Cheol Bae, **Imputing Variants in HLA-DR Beta Genes Reveals That HLA-DRB1 Is Solely Associated with Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus**
- 26-Laurent Gapin, Jean-Pierre Cabaniow, Ricardo Cibotti, Yolanda Bravo De Albal, Philippe Kourilsky, Jean Kanellopoulos **Tolérance et rupture de la tolérance**
- 27-Marc C. Hochberg, **What is the history of lupus?** Lupus; foundation of America (Medically reviewed on July 15, 2013)
- 28-Marc Michel **immunogénétique du lupus**, Volume 6, numéro 7, Août - Septembre 2000, 522-8
- 29- Mary K. Crow **Type I interferon in the pathogenesis of lupus**, doi: 10.4049/jimmunol.1002795 Journal of Immunology 2014; 192:5459-5468; (<http://www.jimmunol.org/content/192/12/5459>)
- 30-Monique Capron **AUTOIMMUNITE-MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES** Pharma IV 2008
- 31- N Christian, MF Smikle, K DeCeulaer, L Daniels, MJ Walravens, FR Barton **Anticorps antinucléaire et HLA classe II chez les patients jamaïcains lupiques.**
- 32- Nils-Olivier OLSSON **techniques utilisées en auto immunité revue francophone des laboratoires mai 2005**
- 33- Olivier Malaise, Christian von Frenckell, Béatrice André et Michel G. Malaise **Traitement du lupus érythémateux disséminé par les médicaments biologiques** (Rev Med Suisse 2013 ; 9 : 1507-11)
- 34- Pascale Chrétien **actualités auto-anticorps revue francophone des laboratoires N* 44bis juillet/aout 2012** 7e Colloque • GEAI 2012
- 35- Petri M et coll. Arthritis Rheum. 2012;64(8):2677-86. **Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus.**
- 36-R. Rizzo, T. V. F. Hviid, M. Govoni, M. Padovan, M. Rubini, L. Melchiorri, M. Stignani, S. Carturan, M. T. Grappa, M. Fotinidi, S. Ferretti, A. Voss, H. Lastrup, P. Junker, F. Trotta and O. R. Baricordi **HLA-G genotype and HLA-G expression in systemic lupus erythematosus: HLA-**

- G as a putative susceptibility gene in systemic lupus erythematosus** (Tissue Antigens Volume 71, Issue 6, pages 520–529, June 2008)
- 37- René Louis HUMBEL, Jean SIBILIA, J.GOETZ **histoire des auto-anticorps** GEAI info N*2 juillet 1999
- 38- S. Béji, H. Kaaroud, F. Ben Moussa, E. Abderrahim, R. Goucha, F. Ben Hamida, H. Hedri, F. ElYounsi, T. Ben Abdallah, A. Kheder, H. Ben Maiz **Néphropathie lupique** La revue de médecine interne 26 (2005) 8–12
- 39- S. Haddouk , M. BenAyed , S. Baklouti , J. Hachicha , Z. Bahloul , H. Masmoudi **Autoanticorps dans le lupus érythémateux systémique : profil et corrélations cliniques** Pathologie Biologie 53 (2005) 311–317
- 40- S. Malaekah, B. Bader-Meunier, G. Rey, N. Jourde-Chiche, M. Eb, A. Belot, L. Chiche **Causes de mortalité liée au lupus systémique pédiatrique en France : résultats de l'étude MORTALUPED** 72e congrès de la Société nationale française de médecine interne, Tours, 10–12 décembre 2015 / La Revue de médecine interne 36S (2015)
- 41- Samuel Chappuis, Pierre Vogt, Stéphanie Petitpierre, Annette Leimgruber, François Spertini, Pierre-Alexandre Bart **Atteintes cardiaques dans les connectivites : l'exemple du lupus érythémateux systémique** Rev Med Suisse 2010;6:804-811
- 42- Sofia Madrane, Camillo Ribi **Atteintes neurologiques centrales du lupus érythémateux systémique** Rev Med Suisse 2012;8:848-853
- 43- Stéphanie Petitpierre, Vincent Aubert, Annette Leimgruber, Pierre-Alexandre Bart, François Spertini **Utilité de la recherche des autoanticorps dans la pratique quotidienne** Rev Med Suisse 2009;5:823-831
- 44- Stephen Ahn, Hee-Back Choi and Tai-Gyu Kim, **HLA and Disease Associations in Koreans**, Immune Network 2011;11(6):324-335
- 45- Thierry Vincent **Autoanticorps anti-cytokines** 8e Colloque Geai 2014
- 46- V. Moalic **Comment est réalisé un typage HLA ?** revue de la réanimation (2008) 17, 407—411
- 47- Vincent Estermans. **Systeme HLA : cour d'introduction DES biologie (2012-2013)**
- 48- Y. Lebranchu **Tolérance, aspects théoriques et cliniques : implications pour la transplantation**
- 49- Y. M. Mosaad, **Clinical Role of Human Leukocyte Antigen in Health and Disease**, Scandinavian Journal of Immunology, 2015, 82, 283–306
- 50- Yogita Ghodke-Puranik, Timothy B. Niewold **Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: A comprehensive review** (Journal of Autoimmunity 64 (2015) 125e136)

- 51- Zhili NIU, Pingan ZHANG and Yongqing TONG. **Value of HLA-DR genotype in systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis.** (International Journal of Rheumatic Diseases 2015; 18: 17–28)
- 52- Abul K. Abbas et Andrew H Lichtman **Les bases de l'immunologie fondamentales et clinique**
3eme édition 2009
- 53- Alan Stevens, James Lowe **Anatomie pathologique générale et spéciale.....496-478**
- 54- Dan Lipsker, Jean Sibilia **Lupus érythémateux** (2013)
- 55- G. David Perkin **Neurologie: Manuel et atlas.....289**
- 56- HAS **Protocole national de diagnostic et de soins janvier 2010**
- 57- Helen Chapel, Mansel Haeney, Siraj Misbah, Neil Snowden **Immunologie clinique: De la théorie à la pratique, avec cas cliniques**
- 58- O. Meyer **Lupus érythémateux systémique** (EMC - Rhumatologie-Orthopédie Volume 2, Issue 1, January 2005, Pages 1–32)
- 59- Owen, Punt and Stranford, **Kuby Immunology, 7eme edition 2013**
- 60- Peter Parham **Le système immunitaire... 300**
- 61- Pierre Amarenco, Patrice Cacoub, Ludovic Drouot, Alec Vahanian **Athérombose....205-207**
- 62- Suzanne C. O'Connell Smeltzer, Doris Smith Suddarth, Brenda G. Bare **Soins infirmiers en médecine et en chirurgie, Volume 5.....1529-1530**
- 63- Revue Francophone des Laboratoires - Juillet/Aout 2014 - n°464 bis
- 64- A. Perdriger et al, **Génétique du lupus érythémateux systémique**, Revue du rhumatisme 70 (2003) 210–216

VII. Annexes

Liste des annexes :

Annexe 1	<i>Critères de classification ACR</i>	<i>Page 82</i>
Annexe 2	<i>Critères SLICC</i>	<i>Page 83</i>
Annexe 3	<i>Mécanismes lésionnels des anticorps</i>	<i>Page 84</i>
Annexe 4	<i>Facteurs monogéniques de la voie de l'IFN I</i>	<i>Page 85</i>
Annexe 5	<i>Facteurs génétiques de régulation</i>	<i>Page 86</i>
Annexe 6	<i>Polymorphismes changeant le code.</i>	<i>Page 87</i>
Annexe 7	<i>Carte physique des gènes impliqué dans la susceptibilité au LES.</i>	<i>Page 88</i>
Annexe 8	<i>Fiche de renseignement</i>	<i>Page 89</i>
Annexe 9	<i>Appareillage</i>	<i>Page 92</i>
Annexe 10	<i>Page d'accueil du logiciel HLA Fusion™</i>	<i>Page 93</i>
Annexe 11	<i>Étapes de l'extraction de l'ADN</i>	<i>Page 94</i>
Annexe 12	<i>Étapes de la PCR</i>	<i>Page 95</i>
Annexe 13	<i>Préparation du gel d'agarose</i>	<i>Page 96</i>

Annexe 1. Critères de classification ACR

- | | |
|--|--|
| <p>1. Rash malaire</p> <p>2. Lupus discoïde</p> <p>3. Photosensibilité</p> <p>4. Ulcérations buccales</p> <p>5. Arthrites non érosives de deux articulations périphériques, au moins</p> <p>6. Atteinte des séreuses
Pleurésie ou péricardite</p> <p>7. Atteinte rénale
Protéinurie $\geq 0,5$ g/jour ou \geq +++ ou cylindres cellulaires</p> | <p>8. Atteinte neurologique
Convulsions ou psychose, en l'absence de cause médicamenteuse ou de trouble métabolique (par exemple urémie, acidocétose, désordre électrolytique)</p> <p>9. Atteinte hématologique</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anémie hémolytique ou • Leucopénie ($< 4000/\text{mm}^3$) ou • Lymphopénie ($< 1500/\text{mm}^3$) ou • Thrombopénie ($< 100\,000/\text{mm}^3$), en l'absence de cause médicamenteuse <p>10. Anomalie immunologique</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anticorps anti-ADN natifs ou • Anticorps anti-Sm ou • Anticorps antiphospholipides <p>11. Anticorps antinucléaires par immunofluorescence ou test équivalent, en l'absence de médicament inducteur</p> |
|--|--|

Sm: antigène Smith; ADN: acide désoxyribonucléique.

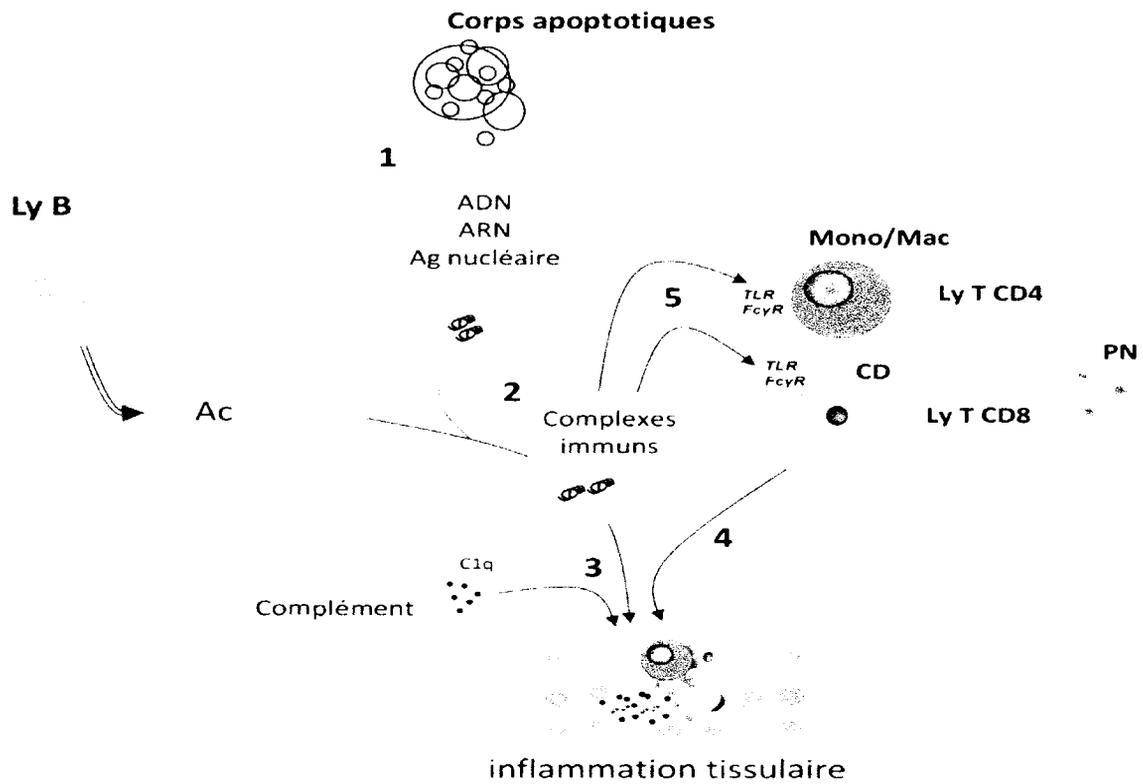
Elaborés par l'American College of Rheumatology en 1982 et révisés en 1997.

La présence simultanée ou successive d'au moins quatre des onze critères permet d'affirmer l'existence d'un lupus érythémateux systémique (LES) avec une sensibilité et une spécificité de 96%. Il s'agit de critères de classification et non de diagnostic. Ces critères ont été élaborés à partir de patients ayant un LES à expression rhumatologique et surreprésentent les atteintes dermatologiques. Ils ont pour but de distinguer les patients avec un LES dans un collectif atteint de maladies inflammatoires diverses. Ils ne sont pas adaptés pour poser le diagnostic chez un patient individuel.

Annexe 2. Critères SLICC

Critères cliniques	<ol style="list-style-type: none"> 1. Lupus cutané aigu ou subaigu. 2. Lupus cutané chronique. 3. Ulcération nasale et/ou orale. 4. Alopécie 5. Polyarthrite non érosive (au moins deux articulations touchées) et vue par un médecin ou arthralgies inflammatoires avec dérouillage matinal. 6. Pleurésie ou péricardite. 7. Atteinte rénale, protéinurie supérieure à 0,5 g/24 heures ou cylindre urinaire, ou hématurie. 8. Atteinte neurologique : convulsion, psychose, mononévrite multiple, myélite, neuropathie crânienne ou périphérique, encéphalite. 9. Anémie hémolytique. 10. Leucopénie inférieure à 4 000/mm³ (au moins une fois) ou lymphopénie inférieure à 1 000/mm³ (au moins une fois). 11. Thrombopénie inférieure à 100 000/mm³ (au moins une fois).
Critères immunologiques	<ol style="list-style-type: none"> 1. Présence d'un titre anormal de facteur antinucléaire recherché par un test de référence. 2. Présence d'anti-DNA à un taux significatif. 3. Présence d'anti Sm. 4. Présence d'anticorps antiphospholipides : soit sérologie syphilitique dissociée positive à 2 déterminations à 6 mois d'écart, soit anticoagulant circulant de type lupique ou titre anormal d'anticorps anticardioline et IgG et/ou IgM, soit anticorps antiBeta2GP1 5. Baisse du complément, soit C3 bas soit C4 bas soit CH50 bas 6. Test de Coombs direct positif en absence d'anémie hémolytique.
Critère histologique	Présence d'une lésion rénale de néphrite lupique.

Annexe 3. Mécanismes lésionnels des anticorps



Annexe 4. Facteurs monogéniques de la voie de l'IFN I

Locus	Gène	Effet
TREX1	Dnase type III	Accumulation de l'ADN endogène dont la conséquence est l'activation de la production de l'IFN TLR-indépendante.
TMEM173	STING (Stimulator of Interferon Gene)	Induction de la sécrétion de l'IFN β via le TBK1 et IRF3, et la production de TNF α et l'IL6 via le NF-Kappa B
ACP5	TRAP (tartrate-resistant acid phosphatase)	Induction et persistance de la sécrétion de l'IFN par l'OPN qui est hyper active car elle n'est pas déphosphorilée par TRAP.

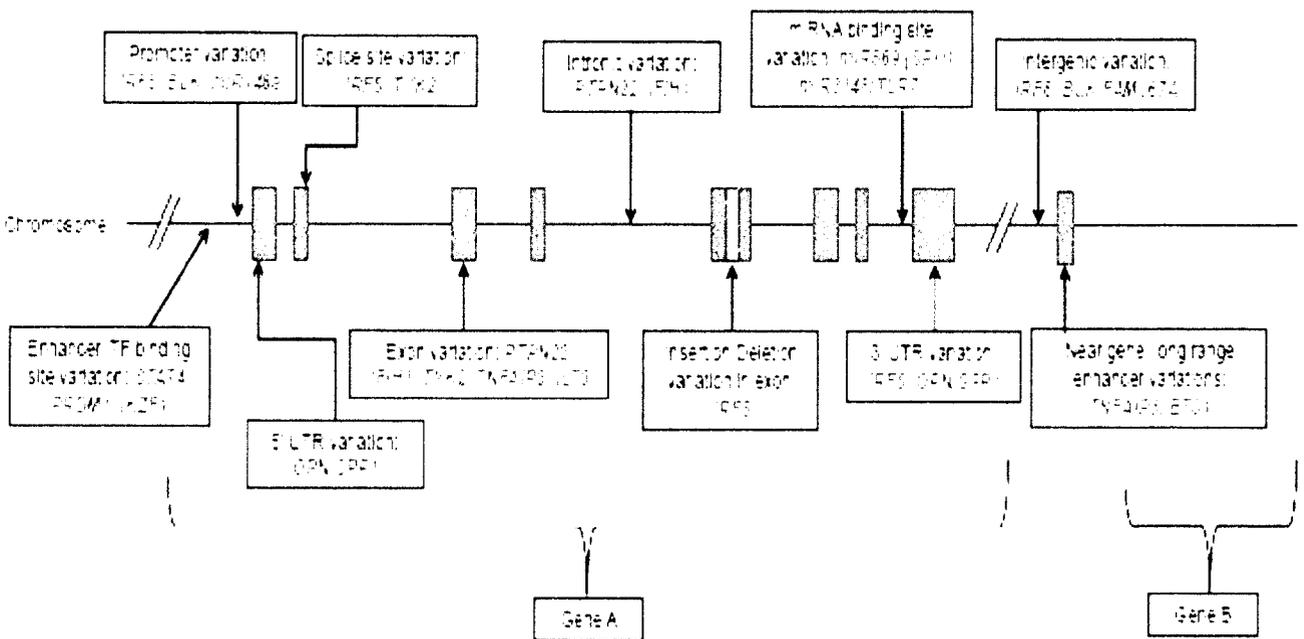
Annexe 5. Facteurs génétiques de régulation

Locus	Gene	Effet
-TNFAIP3	-TNF	α Diminution de l'activité de l'enzyme A20 dont le rôle est d'altérer
-TNIP1	induced protein -TNFAIP3 interacting protein 1	l'ubiquitination; il en résulte une augmentation de l'activité proinflammatoire de la voie NF- κ B
BLK	B lymphoid tyrosine kinase	Diminution de l'expression du BLK responsable de la signalisation intracellulaire, de la différenciation et de la prolifération des LB.
ETS1 et PRDM1	PR domain zinc finger protein 1(= BLIMP1)	Diminution de l'ETS1 ; un facteur de transcription qui agit comme régulateur négatif des LB et des Th17 en inhibant la BLIMP1 codée par le PRDM1.
IKZF1	IKAROS family zinc finger	Diminution du IKZF ; facteur de transcription responsable de la régulation de la prolifération et de la différenciation des lymphocytes ainsi que de la régulation de la tolérance à travers les récepteurs de signalisation des LB.

Annexe 6. Polymorphismes changeant le code.

Locus	Gene	Effet
PTPN22	Tyrosine-protein phosphatase non receptor type 22	Perte de la fonction de la PTPN22 ; une phosphatase qui régule l'activation et la signalisation les LB et des LT via leurs récepteurs antigéniques. Récemment associée aussi à une augmentation des taux d'INF I et de TNF α et une production d'avantage d'AC anti-ADNdb.
ILT3	Immunoglobulin-like transcript 3 receptor	Perte de la fonction de ce récepteur immunosuppresseur qui génère un feedback négatif régulant la production des IFN I.

Annexe 7. Carte physique des gènes impliqué dans la susceptibilité au LES.



Annexe 8. Fiche de renseignements

Université Saad Dahleb de Bida
 Faculté de médecine
 Département de médecine
 Hôpital Hassiba Benbouali
 Laboratoire: Unité d'Immunologie

Blida le

Fiche technique (LED)

Dr Bouchedoub Y

Nom: Prénom: Date de naissance:
 CHU: Service: Médecin traitant:
 Origine: Adresse: N de Tél:

ANTECEDENTS :

Personnels :

- I. Maladie auto immune Oui : non :
- a. Si oui laquelle :
- b. LED :
- c. PR :
- d. Syndrome de sharp :
- e. Syndrome sec :
- f. Thyroïdite auto immune :
- g. Hépatite auto immune :
- h. Autres : Préciser :

- Allaitement Au sein : artificielle : mixte :
- Grossesses : Oui : non :
- Si oui
- Grossesse menée à terme : nombre :
- Césarienne : nombre :
- Mort in utero : nombre :
- ABRT : oui : nombre : non :
- Accouchement prématuré : oui : nombre : non :

Familiaux :

- Maladie auto immune Oui : non :
- Si oui laquelle
- LED :
- PR :
- Syndrome de sharp :
- Syndrome sec :
- Thyroïdite auto immune :
- Hépatite auto immune :
- Autres : Préciser :

Conditions socioéconomiques :

Profession :

Habitat : Citadin Rural Semi-rural **Histoire de la maladie :**

Date de début :

Date du diagnostic :

Le(s) signes révélateurs :

Signes cliniques :Fievre oui non Signes cutanés : oui non livido vespertilo autres préciser ;Signes articulaires oui non monoarthrite polyarthrite Autres préciser ;Signes rénaux : oui non Insuffisance rénale oedèmes des membres Autres préciser ;Signes neuropsychitriques : oui non céphalées AVC Autres préciser ;Autres signes : préciser ;

Bilan immunologique

FR : Taux :
 Anti CCP : Taux :

Anti C1Q : Taux :
 CH50 : Taux :

Profil protéique

Alb	Trsf	Haptog	Oroso	C3	C4	IgM	IgA	IgG

- **AAN (FAN): par IFI sur cellules Hep2 : Aspect et titre:**

Homogène :
 Moucheté :
 Homogène périphérique :
 Nucléolaire :
 Centromère :

Antigènes solubles : par ELISA

Sm: SSA: SSB: RNP:

CL70: JO1:

Anti Ribosomes : par ELISA : Taux :

Anticorps anti DNA: par IFI sur Crithidia luciliae.

APL : par ELISA

B2GP1 : IgG: IgM ANTI CARDIOLIPINES : IgG : IgM :

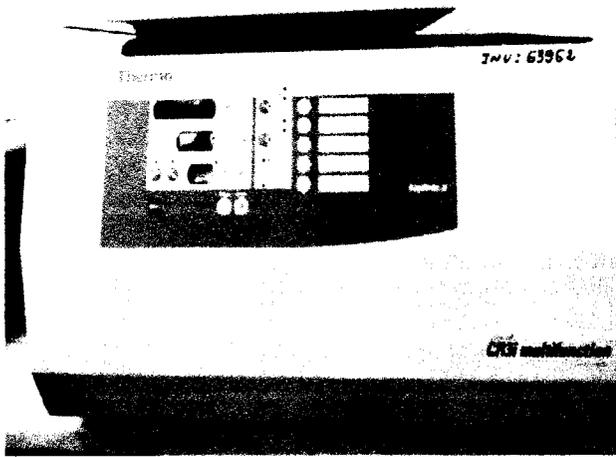
ANCA : par ELISA

MPO : PR3 :

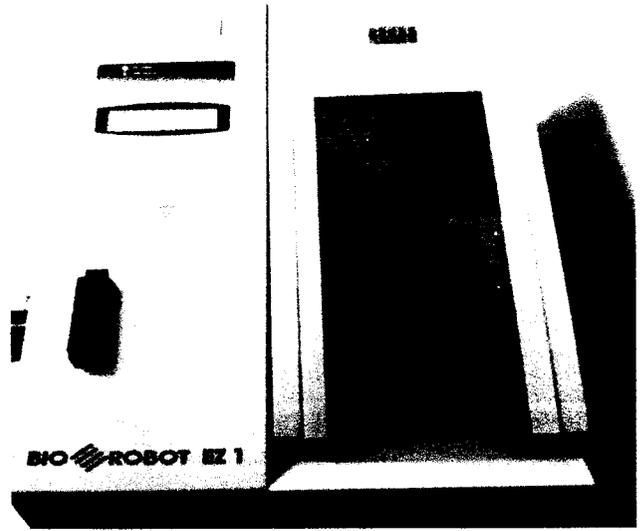
- **TYPAGE HLA : par Biologie Moléculaire**

HLA I : HLA A : HLA B : HLA C
 HLA II : HLA DR HLA DQ

Annexe 9.Appareillage



Centrifugeuse Thermo Scientific®



Bio-Robot EZ1 (Qiagen®)



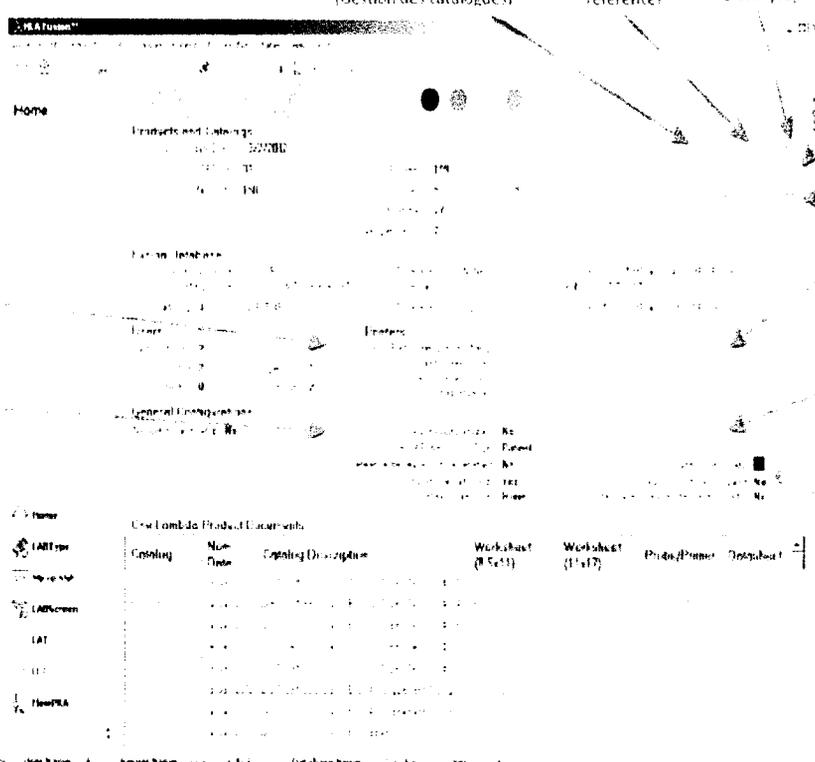
Lecteur Gel Doc™ XR+ (BIO-RAD)



Thermocycleur type 9700 Applied biosystems®

Annexe 10. Page d'accueil du logiciel HLA Fusion™ [Manuel d'utilisation du logiciel HLA Fusion™ One Lambda, Inc.]

Pages d'accueil Fusion



Permet d'ouvrir la fenêtre Catalog Management (Gestion des catalogues)

Permet d'ouvrir la fenêtre Reference File Update (Mise à jour du fichier de référence)

Permet d'ouvrir la fenêtre Analysis Product Selection (Selection du produit d'analyse)

Notification indiquant que de nouveaux catalogues ou des catalogues mis à jour sont disponibles

Permet de rechercher des mises à jour du logiciel Fusion

Permet d'ouvrir la fenêtre de configuration des imprimantes

Permet d'ouvrir la fenêtre de configuration de Fusion pour effectuer des réglages généraux (*journal de bord, activation du téléchargement automatique, type de patient, etc.*); configurer les imprimantes, les URL et les chemins de repertoire

si la consignation d'audit est activée
si elle est désactivée

Permet d'ouvrir l'écran Users List (Liste des utilisateurs)

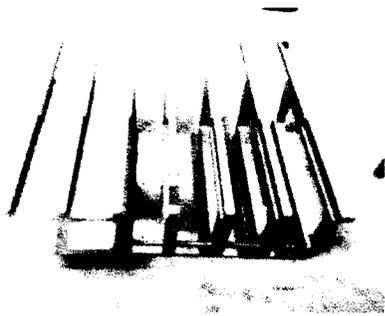
Permet d'ouvrir la fenêtre Navigator Search Criteria (Critères de recherche du navigateur)

Explorateur Fusion : cliquez sur l'un des boutons pour ouvrir le produit correspondant

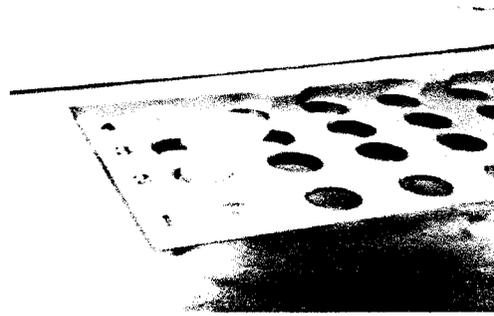
Barre d'état

| Case |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Case 1 | Case 2 | Case 3 | Case 4 | Case 5 | Case 6 | Case 7 | Case 8 |

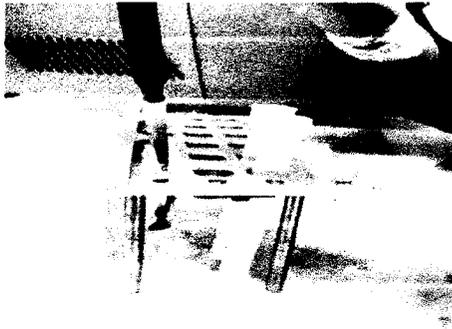
Annexe 11. Etapes de l'extraction de l'ADN



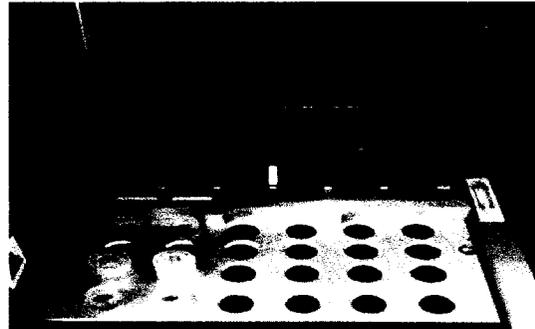
Déposer les barrettes de réactifs dans leur support



Déposer les différents tubes dans leur support numéroté



Mettre la quantité de sang indiquée dans le tube à échantillon



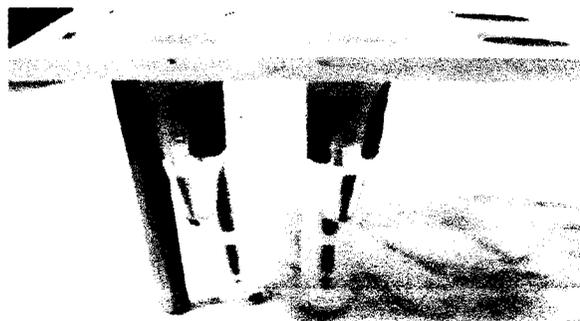
Remettre les support dans l'automate



Insérer la carte

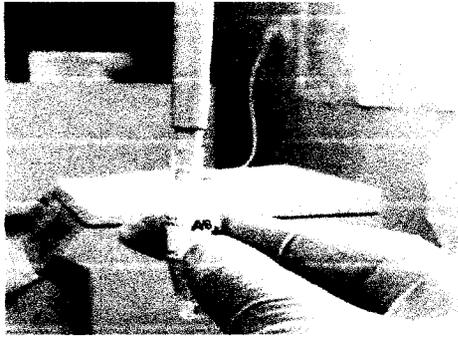


Allumer et programmer l'automate



Récupérer l'ADN extrait dans les tubes à élution

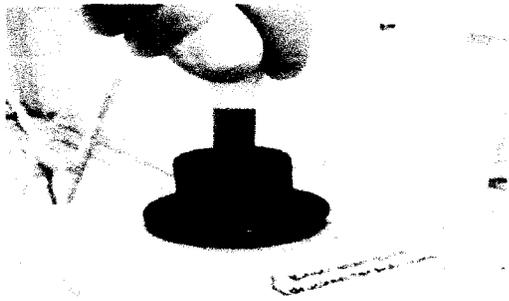
Annexe 12. Etapes de la PCR



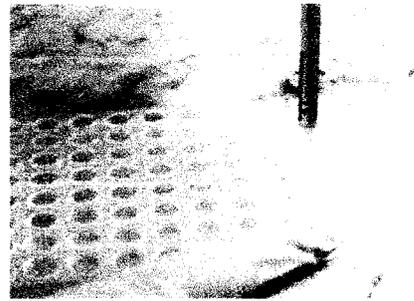
Prélever la quantité nécessaire d'ADN



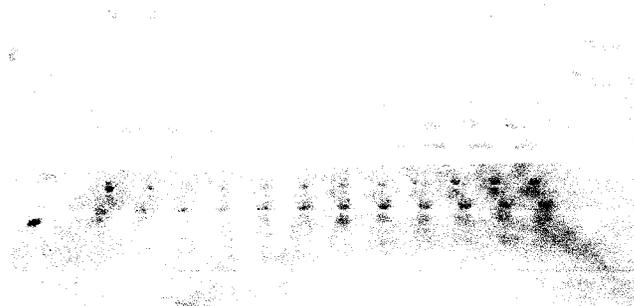
Taq polymérase



Agiter le mélange ADN-Taq Polymérase-DMix



Distribuer le mélange sur les puits de la plaque à raison de 10 μ l/puits

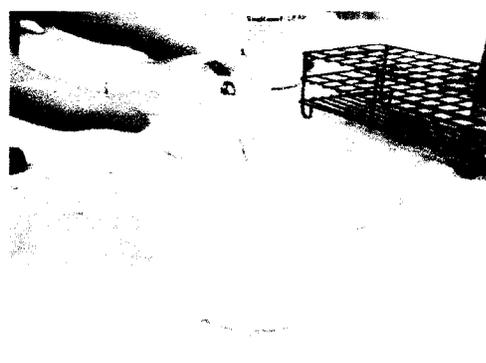


Plaque prête à couvrir pour la mettre dans le thermocycleur

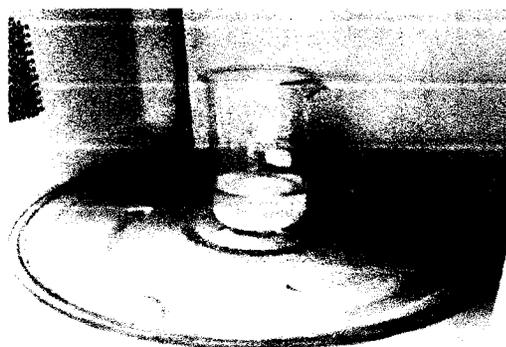
Annexe 13. Préparation du gel d'agarose



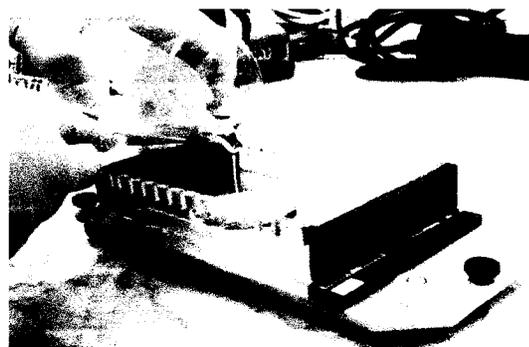
La poudre d'agarose



Ajouter le TBE à la poudre



Rechauffer le mélange Agarose-TBE- Bromure d'éthidium



Couler le gel dans la chambre



Déposer les peignes



Aspect du gel après refroidissement

Résumé :

Le lupus érythémateux systémique est une maladie auto-immune non spécifique d'organe à déterminisme complexe, impliquant des facteurs génétiques qui, dans un environnement particulier et sous l'influence d'événements aléatoires, peuvent être responsables du développement progressif et chronique d'une réponse immunitaire anormale.

Parmi ces facteurs, les allèles du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) semblent être les plus incriminés. De ce fait, leur association à la maladie est le sujet de notre analyse; dans le but d'identifier les allèles de prédisposition ou de protection chez les populations étudiées.

Matériel et Méthodes :

Nous avons analysé statistiquement les résultats du typage HLA de 133 sujets, dont 54 patients lupiques et 79 témoins, réalisé par la technique PCR-SSP.

Résultats :

Nous avons identifié trois allèles significativement associés à la susceptibilité au LES : A*01 (P=0,004, OR=2,94, IC=1,38-6,26) ; B*08 (P=0,006, OR=3,11, IC=1,33-7,28) et DRB1*03 (P=0,018, OR=2,04, IC=1,12-3,72), ainsi qu'un seul allèle protecteur: le DRB1*01 (P=0,008, OR< 1). Les associations A*01, B*08 ; A*01, C*07 ; B*08, C*07 ; DRB1*03, DRB1*03 ; B*08, DRB1*03 et B*08, DQB1*05 se sont avérées, elles aussi liées à la susceptibilité contrairement aux associations A*02, DRB1*04 ; B*44DQB1*02 ; B*44 DRB1*07; C*02,DQB1*05 ; DRB1*01,DRB1*07 et DRB1*07 ,DRB1*11 qui peuvent avoir un effet protecteur.

Conclusion :

Notre étude montre que les deux populations étudiées (cas et témoins) sont porteuses de certains allèles HLA qui peuvent être à l'origine de leur protection ou susceptibilité de développer le LES.

Mots clés : maladie auto-immune, lupus, allèle, HLA, PCR,

Abstract:

SLE is a complex auto-immune disease, of which the pathogenesis involves multiple genetic factors that, in a particular environment and under some random circumstances, could be responsible for the progressive and chronic development of an abnormal immune response.

Among these factors the major histocompatibility complex (MHC) alleles seem to be the most implicated ones. Thereby, their association to the disease is the subjected of our analysis in order to identify susceptibility or protection alleles in both studied populations.

Patients and methods:

A total of 133 subjects (54 SLE patients and 79 control subjects) were genotyped using PCR-SSP technique of which the results were statistically analyzed.

Results:

A*01 (P=0.004, OR=2,94, CI=1,38-6,26) ; B*08 (P=0,006, OR=3,11, CI=1,33-7,28) et DRB1*03 (P=0,018, OR=2,04, CI=1,12-3,72) as well as, A*01, B*08 ; A*01, C*07 ; B*08, C*07 ; DRB1*03, DRB1*03 ; B*08, DRB1*03 and B*08, DQB1*05 combinations were significantly associated with SLE susceptibility, whereas DRB1*01 (P=0,008, OR< 1) is negatively associated to the disease and A*02, DRB1*04 ; B*44DQB1*02 ; B*44 DRB1*07 ; C*02,DQB1*05 ; DRB1*01,DRB1*07 and DRB1*07 ,DRB1*11 combinations could potentially have a protective role.

Conclusion:

Our study shows that both SLE patients and control subjects carry particular HLA alleles that could be responsible either for susceptibility or protection.

Key words: auto-immune disease, lupus, allele, HLA, PCR

- EL GHOUL Ahlem
- Ahlem.ghl@gmail.com

- ZAOUIA Nor El Imane
- Imane2427s@gmail.com

Résumé : Le lupus érythémateux systémique est une maladie auto-immune non spécifique d'organe à déterminisme complexe, impliquant des facteurs génétiques qui, dans un environnement particulier et sous l'influence d'événements aléatoires, peuvent être responsables du développement progressif et chronique d'une réponse immunitaire anormale. Parmi ces facteurs, les allèles du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) semblent être les plus incriminés. De ce fait, leur association à la maladie est le sujet de notre analyse; dans le but d'identifier les allèles de prédisposition ou de protection chez les populations étudiées.

Matériel et Méthodes : Nous avons analysé statistiquement les résultats du typage HLA de 133 sujets, dont 54 patients lupiques et 79 témoins, réalisé par la technique PCR-SSP.

Résultats : Nous avons identifié trois allèles significativement associés à la susceptibilité au LES : A*01 (P=0.004, OR=2,94, IC=1,38-6,26) ; B*08 (P=0,006, OR=3,11, IC=1,33-7,28) et DRB1*03 (P=0,018, OR=2,04, IC=1,12-3,72), ainsi qu'un seul allèle protecteur: le DRB1*01 (P=0,008, OR< 1). Les associations A*01, B*08 ; A*01, C*07 ; B*08, C*07 ; DRB1*03, DRB1*03 ; B*08, DRB1*03 et B*08, DQB1*05 se sont avérées, elles aussi liées à la susceptibilité contrairement aux associations A*02, DRB1*04 ; B*44DQB1*02 ; B*44 DRB1*07 ; C*02,DQB1*05 ; DRB1*01,DRB1*07 et DRB1*07 ,DRB1*11 qui peuvent avoir un effet protecteur.

Conclusion : Notre étude montre que les deux populations étudiées (cas et témoins) sont porteuses de certains allèles HLA qui peuvent être à l'origine de leur protection ou susceptibilité de développer le LES.

Mots clés : maladie auto-immune, lupus, allèle, HLA, PCR,

Abstract: SLE is a complex auto-immune disease, of which the pathogenesis involves multiple genetic factors that, in a particular environment and under some random circumstances, could be responsible for the progressive and chronic development of an abnormal immune response. Among these factors the major histocompatibility complex (MHC) alleles seem to be the most implicated ones. Thereby, their association to the disease is the subjected of our analysis in order to identify susceptibility or protection alleles in both studied populations.

Patients and methods: A total of 133 subjects (54 SLE patients and 79 control subjects) were genotyped using PCR-SSP technique of which the results were statistically analyzed.

Results: A*01 (P=0.004, OR=2,94, CI=1,38-6,26) ; B*08 (P=0,006, OR=3,11, CI=1,33-7,28) et DRB1*03 (P=0,018, OR=2,04, CI=1,12-3,72) as well as, A*01, B*08 ; A*01, C*07 ; B*08, C*07 ; DRB1*03, DRB1*03 ; B*08, DRB1*03 and B*08, DQB1*05 combinations were significantly associated with SLE susceptibility, whereas DRB1*01 (P=0,008, OR< 1) is negatively associated to the disease, and A*02, DRB1*04 ; B*44DQB1*02 ; B*44 DRB1*07 ; C*02,DQB1*05 ; DRB1*01,DRB1*07 and DRB1*07 ,DRB1*11 combinations could potentially have a protective role.

Conclusion: Our study shows that both SLE patients and control subjects carry particular HLA alleles that could be responsible either for susceptibility or protection.

Key words: auto-immune disease, lupus, allele, HLA, PCR