

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



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie
Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le
domaine SNV
Filière : Sciences Biologiques
Option : Génétique

Thème

**Etude transcriptomique de l'expression des profils microRNA
dans la polyarthrite rhumatoïde**

Présenté par :

Soutenu le : 12 Juillet 2023

Nom et prénom : BAIZID Imane

Nom et prénom : MENNAD Bouthaina Achouak

Devant le jury :

Nom	Grade/Lieu	Qualité
Mme BELKHITER S.	MCB /USDB1	Présidente
Mme AISSANI R.	MCB/USDB1	Examinatrice
Mr. MOHAMED SAID R.	MCA/USDB1	Promoteur
Mr. SENINET M.E.	Assistant	Co-promoteur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la patience, la force et le courage pour mener à bien ce modeste travail.

On tient à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à notre promoteur **Mr Mohamed Said** pour ses précieux conseils et son aide inestimable tout au long de notre cursus universitaire, nous remercions vivement notre Co-promoteur **Mr Seninet** pour sa patiente collaboration et son suivi durant tout notre travail.

Nos vifs remerciements vont aux membres de jury, nos enseignantes **Mme Belkheiter**, la présidente et **Mme Aissani** l'examinatrice, qui ont participé à notre formation et ont accepté d'examiner et d'évaluer ce mémoire de fin d'étude.

Ce mémoire n'aurait jamais pu voir le jour sans le soutien et l'amour inconditionnel des membres de nos familles, surtout nos parents qui nous ont toujours encouragées, nous les remercions pour tout ce qu'ils ont fait pour nous.

Nos vifs remerciements vont à tous nos enseignantes tout cycle confondus .

Dédicaces

À ma mère,

Qui a cru en moi depuis le début, merci d'être toujours là pour me reconforter, me soutenir et m'encourager, vous m'avez appris la persévérance et de toujours avoir l'espoir dans la vie.

À mon père,

Qui m'a permis d'avoir l'opportunité de poursuivre mes rêves, vous m'avez appris à avoir confiance en moi et d'être responsable de mes propres choix.

À mon frère et ma sœur,

Amani Malek et Bahaa Eddine, qui m'ont soutenu et aimé, ce travail est le témoignage de ma reconnaissance.

À mes grands-parents,

Mon Papitou Djabri qui m'a accompagné lors de mon premier jour à l'USDB et ma Hbiba Khadidja symbole de la tendresse, je vous aime .

À mes tantes ,

Dahbia , Soraya, Ghania , Imane, merci pour votre amour .

À mes oncles,

Saïd, Mohamed, Toufik et Ibrahim.

À mes cousins et cousines,

Merci pour votre bonne humeur dans les moments les plus stressants de ma vie.

À Ines,

Ma première amie en biologie, nous avons expérimenté la vie ensemble, nous l'avons croquée à pleines dents ensemble, pour en créer un très bon souvenir et une belle expérience.

Dédicaces

A ma très chère mère

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurais point de te remercier comme il se doit, tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A feu mon père

A l'homme qui n'a pas cessé de me conseiller et m'encourager d'aller en avant (que dieu ait son âme)

A mes chers frères, mes sœurs, mes amis et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ma réussite.

Imane

Figures	Titres	Pages
Figure 1	Les processus physiopathologiques associé à la PR	2
Figure 2	Les haplotypes HLA associé à la PR	3
Figure 3	L'influence des facteurs de risque sur la PR	4
Figure 4	La biosynthèse des micro RNA chez l'animal	9
Figure 5	Représentation de l'outil NCBI GEO et son mode d'utilisation.	12
Figure 6	Représentation de l'outil Target Scan et son mode d'utilisation.	13
Figure 7	Représentation de l'outil miRDB et son mode d'utilisation.	14
Figure 8	Représentation de l'outil miRbase et son mode d'utilisation.	14
Figure 9	Représentation de l'outil Biorender et son mode d'utilisation.	15
Figure 10	Représentation venn Diagram du chevauchement dans les gènes significatifs entre les deux groupes d'étude.	16
Figure 11	Représentation volcano plot des gènes exprimés de manière différentielle chez les groupes d'étude « Healthy vs PR ».	18
Figure 12	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR5583 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	19
Figure 13	Représentation schématique de l'effet de miRNA-5583 sur le gène IL6 .	20

Figure 14	Représentation schématique de l'effet de miR sur le gène VEZF1.	20
Figure 15	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR8067 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	22
Figure 16	Représentation schématique du l'effet miR122 sur la pathophysiologie de la PR	23
Figure 17	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR101 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	24
Figure 18	Représentation schématique illustrant l'effet de miR-101 dans l'arthrite inflammatoire.	25
Figure 19	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR142 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	26
Figure 20	Représentation schématique de l'effet de miR-142 sur le gène IKZF2.	27
Figure 21	Représentation schématique de l'effet de miR-142 sur le gène PTPN2.	28
Figure 22	Les structures en épingle à cheveux des séquences du quatre microRNA étudié.	Annexe
Figure23	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR1184-1 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe
Figure 24	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR1247 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe
Figure 25	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR4445 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe
Figure 26	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR4644 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe

Figure 27	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR6893 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe
Figure 28	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR6880 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe
Figure 29	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR4448 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe
Figure 30	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR4423 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe
Figure 31	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR1468 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe
Figure 32	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR1246 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe
Figure 33	Représentation par histogramme du taux d'expression de miR3529 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).	Annexe
Figure 34	Les structures en épingle à cheveux des séquences du microRNA sous-exprimés.	Annexe
Figure 35	Méthode de prédiction des sites de fixation des miRNA utiliser par l'outil Target Scan.	Annexe

<u>Tableaux</u>	<u>Tableaux</u>	<u>Pages</u>
Tableau I	Les facteurs de risque environnementaux impliqués dans la PR.	7
Tableau II	Résultats des miRNA retrouvés par l'analyse NCBI GEO2R	17
Tableau III	Les gènes exprimés de manière significative différentielle.	18
Tableau IV	Prédiction des sites de fixation miRNA 5583 par TargetScan.	21
Tableau V	Prédiction des sites de fixation miRNA-8067 par TargetScan.	23
Tableau VI	Prédiction des sites de fixation miRNA-101 par TargetScan.	25
Tableau VII	Prédiction des sites de fixation miR-142 par TargetScan	28
Tableau VIII	L'effet des 11 miRNA sous-exprimés dans PR	29

Liste des abréviations :

ACCP : AntiCorps dirigés Contre le Peptide citrulliné.

CCL2 : C-C Motif Chemokine Ligand 2.

CRP : C-reactive protein.

FLS : Fibroblast-like synoviocytes.

FR : Facteur Rhumatoïde.

HLA : Human Leucocytes Antigène.

IKZF2 : Zinc Finger Protein Ailos.

IL1 : Interleukin 1.

miR : micro-RNA.

MEC : matrice extracellulaire.

PADI4 : Peptidyl Arginine DéIminase 4.

PDGF : facteur de croissance dérivé des plaquettes.

PR : polyarthrite rhumatoïde.

PTPN22: Protéine Tyrosine Phosphatase Non réceptrice de type 22.

RPTP κ : récepteur protéine tyrosine phosphatase κ .

RTK : récepteur à activité tyrosine kinase.

TNF: Tumor necrosis factor.

TNFAIP3: Tumor necrosis factor alpha-induced protein 3.

VS : vitesse de sédimentation.

Une articulation :

Est composée de deux extrémités osseuses adjacentes recouvertes d'une couche de cartilage. L'espace entre les extrémités constitue la cavité articulaire qui est délimitée par la membrane synoviale des deux côtés et qui contient du liquide synovial. elle assure le maintien de la posture et permet le mouvement (**Constantin et al ., 2018**) .

La membrane synoviale :

Est une fine couche de cellules, formée de deux types de synoviocytes : les cellules synoviales de type A ou de type macrophage et les synoviocytes de type B ou de type fibroblaste (FLS) (**Castro-Sánchez et Roda-Navarro, 2017**). Elle a aussi un rôle dans la défense et la réponse immunitaire intra-articulaire (**Ea et al.,2008**).

Le liquide synovial :

Est défini comme la collection de liquide confiné dans un espace articulaire. Sa production provient de fibroblastes. Des modifications physiologiques du volume et du contenu du liquide synovial se produisent en réponse à un traumatisme, une inflammation et une pénétrance bactérienne, fongique ou virale (**Seidman et Limaïem, 2022**).

Le cartilage articulaire :

Est le tissu conjonctif hautement spécialisé des articulations. Sa fonction principale est de fournir une surface lisse et lubrifiée pour l'articulation et de faciliter la transmission des charges avec un faible coefficient de frottement (**Fox et al., 2009**).

L'arthrose :

Selon l'OMS : « L'arthrose est la résultante des phénomènes mécaniques et biologiques qui rompent l'équilibre entre la synthèse et la dégradation du cartilage et de l'os sous-chondral. » (**Constantin et al., 2018**).

Résumé :

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est l'arthropathie inflammatoire la plus fréquente dans le monde. Elle est caractérisée par la présence d'auto anticorps dirigés contre le peptide citrulliné cyclique (anti-CCP) et le facteur rhumatoïde (FR) .

L'objectif de cette présente étude est d'identifier le profil des micro-RNA exprimés de manière différentielle In Silico à l'aide de divers outils bioinformatiques à savoir (NCBI GEO2R, Limma R, Target Scan Human, miRDB, miRBase, BioRender) chez une population atteintes de PR afin de déterminer le rôle biologique de leurs gènes cible et l'interaction entre ces derniers. Pour cela un total de 46 individus ont été sélectionnés : vingt huit (28) patients atteints d'arthrite rhumatoïde et dix-huit (18) témoins sains .

Quinze (15) micro-RNA exprimés de manière différentielle ont été révélés : miR-101 , miR-142 , miR-1468 , miR-1184-1 , miR-1246 , miRN-1247 , miR-4423 , miR-4445 , miR-4448 , miR-4644 , miR-3529 , miR-6880 , miR-4531 ,miR-6880 ,miR-4531 .Parmi ces gènes 2 micro-ARN sur exprimés chez les patients PR, le miR-5583 et le miR-8067 qui ont comme gène cible IL-6 / VEZF1 et RPTPK / PDGFR qui jouent un rôle protecteur lors de la chronicité de l'inflammation. Par ailleurs 13 micro-ARN ont été retrouvés sous exprimés ont un rôle de régulation négatif qui ont comme gènes cibles : MMP-13, CXCL-12, PTPN2 IKZF2, STAT 3 , SP1, FOXK2, FCRL3, NFAT5, IL12RB1, Dyrk1A, CCR3, VEGFA , DLG1 , CXCL5 ...

Cette étude permet d'explorer des biomarqueurs pronostiques afin d'améliorer le diagnostic précoce de la PR en se basant sur les micro-ARN pour mettre en évidence les voies biologiques importantes pour la transition vers maladie détectable.

Mots clés : Polyarthrite rhumatoïde , micro-ARN ,miR-101 ,miR-142 , gènes cibles

Abstract:

Rheumatoid arthritis (RA) is the most common inflammatory arthropathy in world. She East characterized by the presence car antibody directed against THE peptide citrullinated cyclic (anti-CCP) and the rheumatoid factor (RF) .

The objective of this present study East to identify the profile of the micro-RNA expressed of differential manner In Silico using various bioinformatics tools namely (NCBI GEO2R, Limma R, Target Scan Human, miRDB , miRBase , BioRender) in a population with RA in order to determine the biological role of their target genes and the interaction between these latter. For this a total of 46 individuals were selected: eight (28) patients affected arthritis rheumatoid and eighteen (18) healthy controls .

Fifteen (15) micro-RNA expressed of manner differential have summer revealed: miR -101 , miR -142 , miR-1468 , miR-1184-1 , miR-1246 , miRN-1247 , miR-4423 , miR-4445 , miR-4448 , miR-4644 , miR-3529 , miR-6880 , miR-4531 ,miR-6880 ,miR-4531 .Among these Genoa2 microRNAs overexpressed in RA patients, miR-5583 and miR-8067 which have as target gene IL-6 / VEZF1 And RPTPK / PDGFR which play a protective role during chronicity of inflammation. Furthermore, 13 microRNAs were found underexpressed have a negative regulatory role which have as target genes : MMP-13, CXCL-12, PTPN2 IKZF2, STAT 3, SP1, FOXK2, FCRL3, NFAT5, IL12RB1, Dyrk1A, CCR3, VEGFA, DLG1, CXCL5 ...

This study allows us to explore prognostic biomarkers in order to improve diagnosis early of there PR in se basant on THE micro-RNA For put in evidence THE ways organic important for transition to illness detectable.

Key words: Rheumatoid arthritis, microRNAs, miR-101, miR-142, target genes.

ملخص :

التهاب المفاصل الروماتويدي هو الاعتلال المفصلي الالتهابي الأكثر شيوعاً في جميع أنحاء العالم. ويتميز (RF) وعامل الروماتويد (anti-CCP) بوجود الأجسام المضادة الموجهة ضد البيبتيد السيترووليني الحلقي باستخدام Silico المعبر عنه تفاضلياً في microRNAs الهدف من هذه الدراسة الحالية هو تحديد ملف تعريف ، (NCBI GEO2R ، Limma R ، Target Scan Human ، miRDB ، miRBase ، BioRender) أدوات المعلوماتية الحيوية المختلفة وهي في مجتمع يعاني من التهاب المفاصل الروماتويدي من أجل تحديد (28) مريضاً الدور البيولوجي للجينات المستهدفة والتفاعل بينها. لهذا، تم اختيار ما مجموعه 46 فرداً: ثمانية (28) مريضاً مصاباً بالتهاب المفاصل الروماتويدي وثمانية عشر (18) من الأصحاء ، miR-101: تم الكشف عن خمسة عشر (15) من الرنا الميكروي المعبر عنها تفاضلياً ، -مير-142، -مير-1468، -مير-1184-1، -مير-1246، -مير-1247، -مير-4423، -مير-4445، -مير من بين هذه .4448miR-4644 ، miR-3529 ، miR-6880 ، miR-4531 ، miR-6880 ، miR-4531 ، كجينات 2 من الرناوات الدقيقة التي يتم التعبير عنها بشكل مفرط في مرضى التهاب المفاصل الروماتويدي، كجينات مستهدفة RPTPK / PDGFR و IL-6 / VEZF1 التي تحتوي على miR-8067 و miR-5583 تلعب دوراً وقائياً أثناء الالتهاب المزمن. علاوة على ذلك، تم العثور على 13 من الرنا الميكروي ناقص التعبير ، STAT 3 ، IKZF2 ، PTPN2 ، CXCL-12 ، MMP-13 ، ولها دور تنظيمي سلبي لها دور جينات مستهدفة ، SP1 ، FOXK2 ، FCRL3 ، NFAT5 ، IL12RB1 ، Dyrk1A ، CCR3 ، VEGFA ، DLG1 ، CXCL5...

استناداً إلى RA تستكشف هذه الدراسة المؤشرات الحيوية النذير لتحسين التشخيص المبكر لمرض لتسليط الضوء على المسارات البيولوجية المهمة للانتقال إلى مرض يمكن اكتشافه microRNAs

الكلمات المفتاحية: التهاب المفاصل الروماتويدي، miR-142، miR-101 ، microRNA ، الجينات المستهدفة ، الجينات المستهدفة miR-101 ، miR-142 ، microRNA ، الجينات الرئيسية: التهاب المفاصل الروماتويدي ، microRNA ، miR-101 ، miR-142 ، ، الجينات المستهدفة



Remerciements

Dédicaces

Listes des figures

Listes des tableaux

Abréviations

Glossaire

Résumé

Introduction 1

Chapitre I : Partie bibliographique

I.1- La polyarthrite rhumatoïde..... 2

I-1-1- Epidémiologie de la PR.....2

I-1-2- Physiopathologie de la PR..... 3

I-1-3- Etiologie4

1. Les facteurs génétiques 4

a) Locus HLA associés à la PR..... 5

b) Les gènes non HLA..... 5

2. Les facteurs hormonaux6

3. Les facteurs environnementaux6

I-1-4- Le diagnostic biologique..... 7

1. Test biochimique8

2. Test immunologique..... 8

3. Les Immunoglobulines..... 8

I-1-5 L'épigénétique de la PR.....	8
1. La méthylation.....	9
2. Les microRNA	9
 <i>Chapitre II : Matériel et méthodes</i>	
II.1 Matériel	11
II.2 Méthodes	11
II.2-Recherche des gènes exprimés de manière différentielle	12
2-1-1 NCBI GEO2R.....	12
2-1-2 Target Scan Human (release 7.2)	13
2-1-3 miRDB	13
2-1-4 miRBase	14
2-1-5 BioRender	15
 <i>Chapitre III : Résultats et discussion</i>	
III-1-microARN exprimés chez les PR.....	16
III-2-microRNA retenus pour étude détaillée.....	19
Conclusion.....	32
 Les références bibliographiques	
 Listes des annexes	

Introduction :

Le corps humain possède plus de 400 articulations qui sont recouvertes de cartilage, ce qui permet aux os de glisser les uns sur les autres et formé ainsi une charpente stable, souple et mobile (**Lagorce et al., 2016**).

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie auto-immune systémique chronique associée à la prolifération du tissu synovial, à la formation de pannus, à la destruction du cartilage et à des complications systémiques (**Jang et al., 2022**).

La physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde implique différentes cellules y compris les synoviocytes de type fibroblastes (FLS), les acteurs clés du processus destructeur de la PR, qui est régulée par les micro-ARN (une classe de petits ARN simple brin non codant, qui jouent un rôle de la régulation des gènes). Citant comme exemple le miR-101 qui favorise l'expression de son gène cible MMP -13, intervenant dans la dégénérescence et la destruction du cartilage dans les articulations PR (**Araki et al., 2017**).

De multiples micro-ARN, exprimés de manière différentielle chez les patients atteints de PR sont retrouvés, à l'aide des algorithmes d'analyse bioinformatique et d'apprentissage automatique basés sur les données de profilage d'expression des micro-RNA de GSE124373 de la base de données GEO.

Donc dans cette optique, notre étude se propose d'identifier l'importance biologique des micro-RNA dans la pathogenèse de la PR en vue de développer de nouvelles thérapies utilisant des approches génétiques et ou biologiques qui permettent de mieux diagnostiquer et mieux traiter les maladies chroniques.

Chapitre I
Partie bibliographique

I-1 La polyarthrite rhumatoïde (PR):

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie auto-immune chronique associée à une inflammation systémique qui entraîne de graves complications, une destruction articulaire et une mobilité réduite. La PR touche 1 % de la population mondiale, avec une prévalence plus élevée chez les Européens et les Asiatiques (**Bure et al., 2020**).

La PR est également une maladie systémique pouvant s'accompagner de manifestations extra-articulaires (cardiaques, pulmonaires, vasculaires, nerveuses, oculaires. . .) ayant parfois des répercussions sur le pronostic vitale (**Musset et Ghillani-Dalbin, 2013**). Elle est aussi qualifiée de maladie hétérogène causée par une auto-immunité anormale déclenchée par des facteurs complexes et des interactions environnementales qui contribuent à l'étiologie de cette maladie (**Zamanpoor ,2019**). La polyarthrite est plus fréquente chez les femmes que chez les hommes, suggérant que les hormones et les facteurs génétiques liés au sexe, sont impliqués dans le développement de la maladie. Elle est également fréquente chez les personnes âgées, ce qui est cohérent avec le rôle critique du système immunitaire vieillissant dans cette maladie (**Castro-Sánchez et Roda-Navarro, 2017**).

Sur le plan physiopathologique, la PR évolue en trois phases :

- **Une phase d'initiation** : non spécifique et réversible.
- **Une deuxième phase** : inflammatoire et de recrutement cellulaire aboutissant à la synovite chronique.
- **La troisième phase** : c'est une phase de prolifération synoviale où interviennent des facteurs angiogéniques, et des lésions articulaires (**Sany,2003**).

I-1-1 Epidémiologie de la PR :

La polyarthrite rhumatoïde touche environ 1 adulte sur 200 dans le monde et survient 2 à 3 fois plus fréquemment chez les femmes que chez les hommes. Elle peut toucher des personnes de tout âge, mais son apparition maximale se situe entre 50 et 59 ans (**Smith et Berman , 2022**).

La prévalence moyenne de la PR est estimée à 0,5 – 1,0 % dans le monde. Les facteurs génétiques représentent 60% du risque de développer une PR (**Lieben,2018**). Plusieurs facteurs de risque sont connus pour être associés au développement de la PR,

notamment des facteurs génétiques, sexuels (prédominance féminine, en général, les femmes sont deux à trois fois plus susceptibles de développer une PR que les hommes) et environnementaux (Smolen *et al.*, 2018).

I -1-2 Physiopathologie de la PR :

- Le processus pathologique de la PR représente une inflammation auto-immune de la membrane synoviale des articulations avec prolifération des cellules synoviales et formation de pannus.
- Ce tissu de granulation agressif semblable à une tumeur favorise l'érosion du cartilage articulaire et la destruction des os.
- Le dysfonctionnement du tissu synovial permet aux macrophages, aux fibroblastes et aux lymphocytes activés d'y pénétrer. Les lymphocytes T produisent une variété de cytokines pro-inflammatoires, appartenant principalement aux superfamilles du facteur de nécrose tumorale (TNF) et de l'interleukine (IL) ainsi que des facteurs de croissance.
- Les lymphocytes B sont impliqués dans la production d'auto-anticorps tels que le facteur rhumatoïde (FR) et les anticorps dirigés contre le peptide citrulliné cyclique (anti-CCP) (Nemtsova *et al.*, 2019).

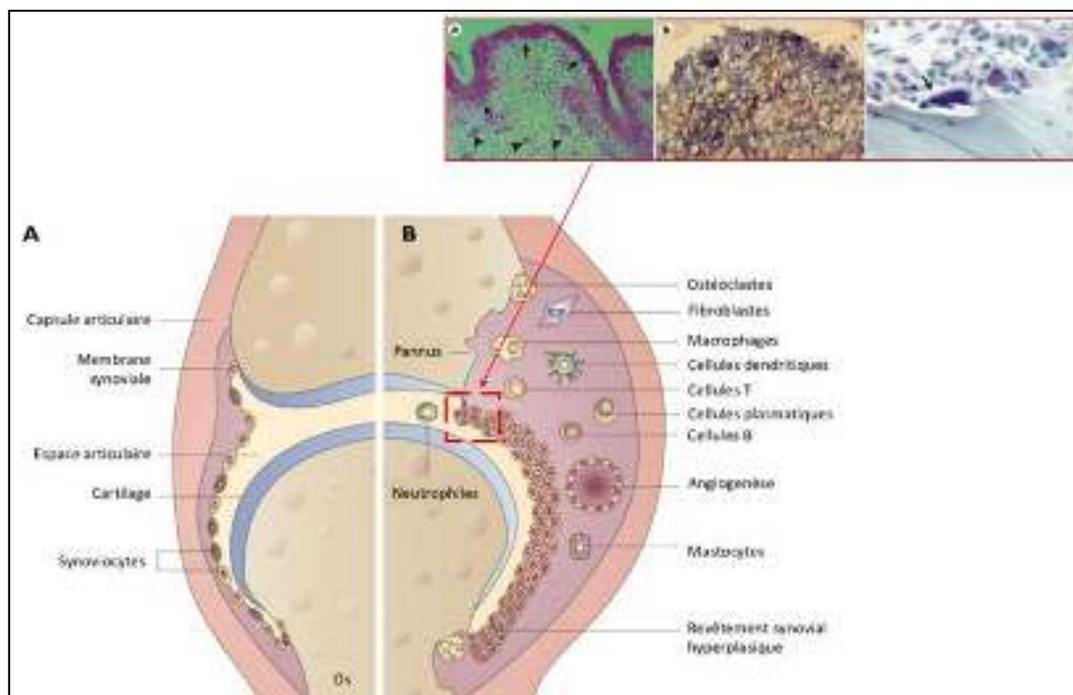


Figure 1 : Les processus physiopathologique associé à la PR (**Castro Sánchez et Roda-Navarro, 2017; Smolen *et al.*, 2018**)

I-1-3 Etiologie :

Bien que l'origine de la maladie soit encore inconnue, ces dernières années plusieurs études ont montré de nombreux facteurs de risque qui sont impliqués dans le développement de la polyarthrite rhumatoïde, notamment la génétique, facteurs hormonaux et les facteurs environnementaux (**Smolen *et al.*, 2018**).

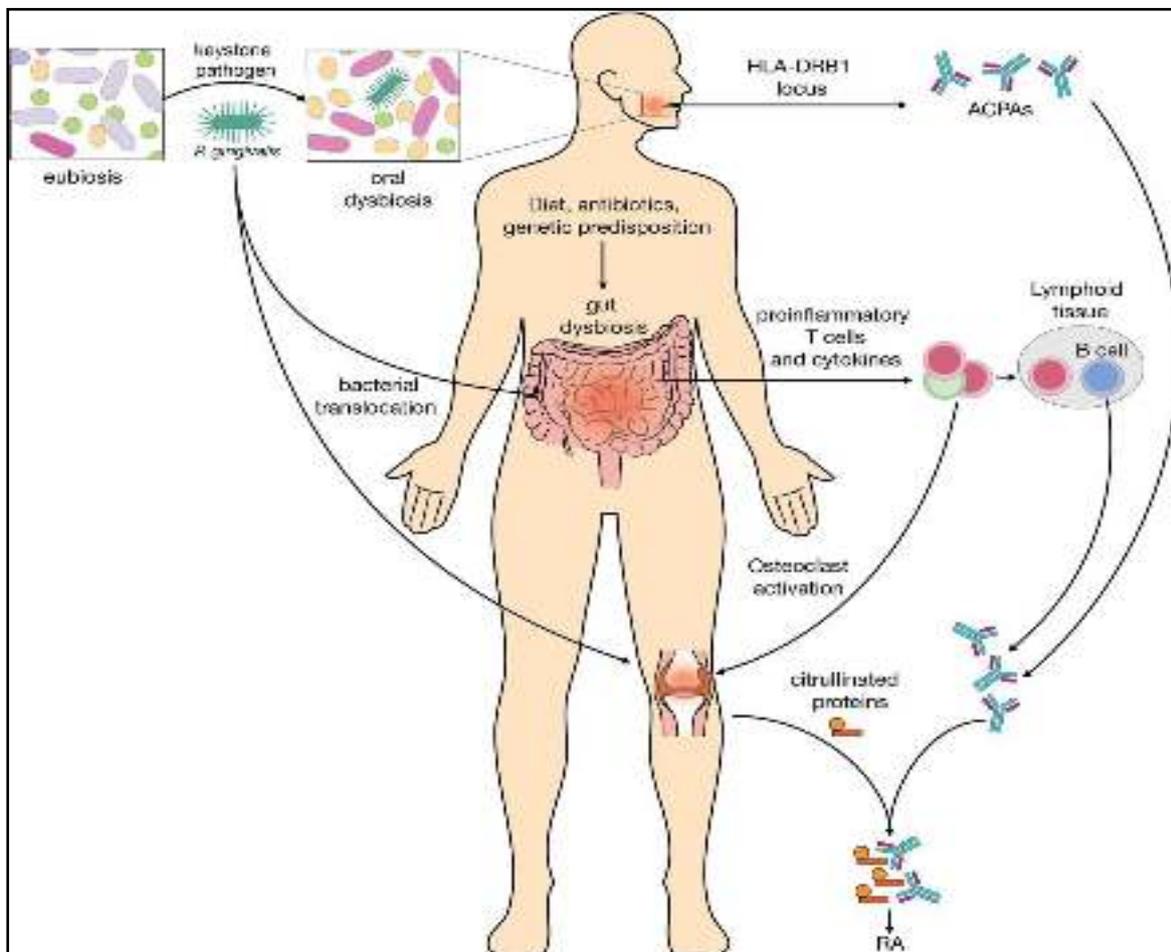


Figure 2 : L'influence des facteurs de risque sur la PR (**Du Teil Espina *et al.*, 2018**)

1. Les facteurs génétiques :

Depuis un certain nombre d'études ont identifié des gènes de susceptibilité à la PR. Cette dernière est une pathologie multifactorielle où le système HLA semble être le principal, mais non unique facteur de prédisposition génétiques (**Viatte et Barton, 2017**).

L'héritabilité de la PR semble être d'environ 40 %, et est plus élevée pour les PR séropositives que pour les PR séronégatives (**Frisell et al., 2016**).

a) Locus HLA associés à la PR:

Le plus grand facteur de risque génétique de PR se situe dans la région de classe II de l'antigène leucocytaire humain (HLA) et code pour la molécule HLA-DRB1.

Les allèles de l'épitope partagé HLA-DRB1 y compris *04:01, *04:04, *04:05, *04:08, *04 :10,*14 :02 ,*10:01, *01:01 et *01:02 (**Figure 3**) sont associés à une susceptibilité accrue à la PR, en particulier aux protéines anti-citrullinées (**Yarwood et al., 2016**).

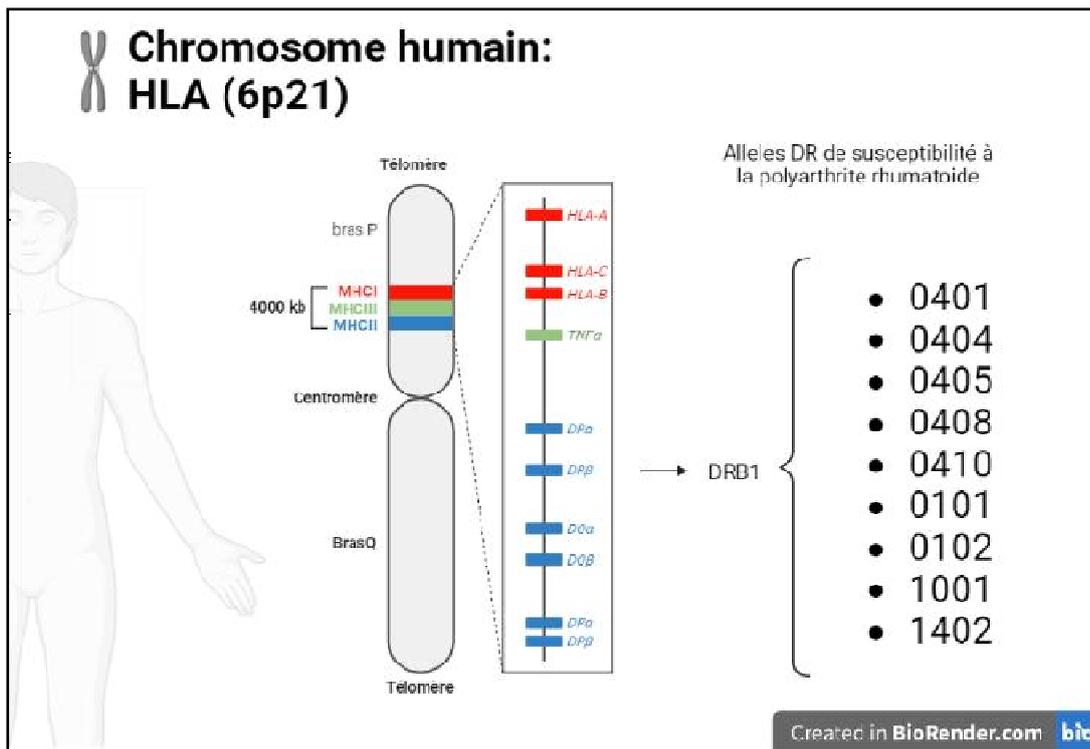


Figure 3 : les haplo-types HLA associé à la PR (**original**)

b) .les gènes non HLA :

PTPN22: (Protéine Tyrosine Phosphatase ,Non réceptrice de type 22) en position 1p13, un gène candidat en raison de son implication dans la signalisation et la régulation des lymphocytes T qui sont des acteurs majeurs de l'inflammation synoviale dans la PR , une hyperréactivité cellulaire généralisée ; qui peut perturber les interactions PTPN22 et PAD et conduire à une hyper-citrullination (**Deane et al.,2017**) .

PADI4 (Peptidyl Arginine DéIminase 4) : une enzyme qui convertit les résidus d'acides aminés arginine en citrulline, et la perturbation de ce processus peut contribuer à la formation d'anticorps anti-citrulline.

STAT4 (Signal Transducers and Activators of Transcription) : code le transducteur de signal et l'activateur de la protéine de transcription 4 (STAT4). Il a été identifié comme un gène candidat pour la PR et d'autres maladies auto-immunes à la suite de GWAS.

TNFAIP3 (Tumor necrosis factor alpha-induced protein 3) : Facteur de nécrose tumorale, protéine 3 induite par alpha(A20) c'est un autre gène candidat PR, situé dans la région 6q23 qui code pour un composant de la voie de signalisation NF-κB, l'enzyme de modification de l'ubiquitine A20 .

CCL2(C-C Motif Chemokine Ligand 2) : un gène qui code pour la protéine chimioattractante, qui recrute les monocytes et les lymphocytes T lors de l'inflammation.

IL1 (Interleukin 1) : un cytokine qui stimule le développement des cellules hématopoïétiques et la différenciation des lymphocytes T et B. un médiateur clé de l'inflammation, son expression est affectée par plusieurs polymorphisme associé à la PR (**Dmitry et al.,2020**) .

2. Les facteurs hormonaux :

La PR se développe fréquemment à des moments où les niveaux d'hormones stéroïdes sexuelles sont en flux, au cours des périodes post-partum et ménopause. L'utilisation des contraceptifs oraux peuvent réduire le risque de formation d'auto-anticorps, et la gravité de la maladie.

L'insuffisance surrénalienne est observée chez les patients atteints. En cas de stress, le cortex surrénalien producteur de cortisol répond mal. Des faibles niveaux de cortisol peuvent favoriser l'inflammation (Sany,2003).

3. les facteurs environnementaux:

La prédisposition génétique ne peut pas totalement expliquer et déclencher le conflit immunitaire responsable de la pathologie. Un système immunitaire doit répondre à un ou plusieurs facteurs environnementaux ((voir Annexe..)Tableau I)

I -1-4 Le diagnostic biologique :

La polyarthrite rhumatoïde est généralement divisée en deux sous-types appelés maladies « **séropositives** » et « **séronégatives** », la séropositivité étant définie comme la présence d'élévations sériques des auto-anticorps du facteur rhumatoïde (FR) et des anticorps plus récemment décrits contre les antigènes protéiques/peptidiques citrullinés (ACPA) (Deane *et al.*,2017).

a) Test biochimique :

VS : Une vitesse supérieure à la normale peut indiquer la présence d'inflammation dans le corps. L'inflammation est l'un des mécanismes de réponse de système immunitaire. L'inflammation peut également être le signe d'une maladie chronique, d'une maladie immunitaire ou d'un autre problème de santé (Hinkle J et Cheever K,2014).

CRP : Les taux de protéine C-réactive sont souvent élevés chez les personnes atteintes de polyarthrite rhumatoïde. Les niveaux de protéine C-réactive (une protéine circulant dans le sang) augmentent significativement en cas d'inflammation. Des concentrations élevées de CRP peuvent indiquer l'activité de la maladie (Constantin *et al.*, 2018).

b) Test immunologique :

Anticorps anti-CCP : Ces auto-anticorps ont toujours reçu plusieurs noms : peptides anticycliques, ou peptides ou protéines anti-citrullinés. Ces anticorps ont des épitopes citrullinés cibles communs par modification post-traductionnelle de diverses protéines, qui sont courantes dans l'inflammation . Cette transformation est appelée déméthylation ou

citrullination et se produit au moyen d'une enzyme, la peptidyl arginine déiminase (PADI), dans la membrane synoviale (**Musset et Ghillani-Dalbin , 2013**).

c) Les Immunoglobulines :

FR : Les facteurs rhumatoïdes sont des auto-anticorps, principalement de type IgM, dirigés contre le segment Fc des IgG humaines et/ou animales. La présence des niveaux élevés de FR a une valeur diagnostique plus élevée de PR.

Le FR d'isotype IgG ou IgA est indiquée à l'exception, qui peut être réalisée en utilisant la technique Elisa ou multiplex (**Musset et Ghillani-Dalbin, 2013**).

I-1-5 L'épigénétique de la PR :

a) La méthylation :

Les premières études ont trouvé une hypométhylation importante de l'ADN dans les fibroblastes synoviaux PR, y compris :

- 1) Une hypométhylation généralisée de l'ADN dans les fibroblastes synoviaux de PR, y compris une hypométhylation du promoteur du gène CXCL12. Dans ces cas, la perte des signaux répressifs de méthylation de l'ADN entraîne une augmentation de l'expression des gènes.
- 2) Un grand nombre de régions génomiques distinctes (hypométhylées et hyperméthylées). La plupart des gènes affectés semblent être impliqués dans l'inflammation, le remodelage de la matrice, le recrutement des leucocytes et les réponses immunitaires (**Glant et al., 2014**)

Dans la PR, l'hypométhylation de l'ADN au niveau de sites CpG spécifiques dans les cellules synoviales de type fibroblaste (FLS) est associée à la surexpression de gènes qui sont essentiels au processus pathologique des patients atteints de PR par rapport aux individus sains (**De Andres et al., 2015**).

b) Les micro RNA :

Les microARN (miARN) constituent une grande famille de petits ARN de ~21-nt non codante, impliqués dans la régulation post transcriptionnels clés de l'expression des

gènes, et participent à la régulation de presque tous les processus cellulaires étudiés à ce jour (Fabian *et al.*,2010).

Dans les cellules eucaryotes, les miARN se lient aux régions 3' non traduites des ARNm cibles, entraînant une répression de la traduction et un silençage génique. Des modifications du profil d'expression des miARN peuvent entraîner une dérégulation des gènes, voire une aberration phénotypique associée (Song *et al.*, 2015).

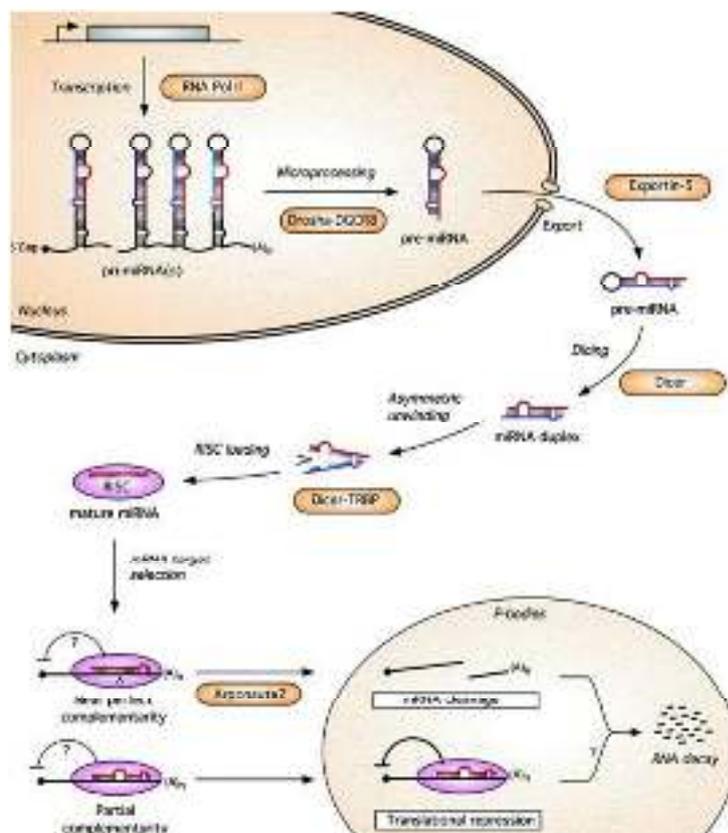


Figure 4 : La biosynthèse des micro RNA chez l'animal (Weinholds et Plastrek ,2005)

Des études récentes ont suggéré que les miARN font la navette entre différents compartiments subcellulaires pour contrôler le taux de traduction, et même la transcription. Les miARN sont essentiels au développement normal des animaux et sont impliqués dans divers processus biologiques. L'expression aberrante des miARN est associée à de nombreuses maladies humaines (**O'Brien et al., 2018**)

Compte tenu de leur rôle de régulateurs de l'expression des gènes, ces molécules ont été largement étudiées et seraient associées à certaines conditions physiologiques et pathologiques spécifiques, proposées comme biomarqueurs.

En fait, la détermination du profil d'expression des microARN peut faciliter la reconnaissance et le diagnostic de la maladie, et peut être utilisée pour surveiller les réponses thérapeutiques et établir le pronostic du patient, aidant ainsi au choix du traitement (**Jorge et al., 2021**).

Chapitre II

Matériel & Méthodes

L'objectif de cette présente étude est d'identifier le profil des micro RNA exprimés de manière différentielle In Silico à l'aide de divers outils bioinformatiques .

II.1 Matériel :

Cette étude a été réalisé avec un micro-ordinateur de marque Dell sous Windows 10, et MS .office 2016.

II.2 Population :

Au total, 43 Chinoises de la ville de Suzhou, en Chine, ont été recrutées, dont 25 patients actifs atteints de PR (âge : 45,60 ans \pm 9,84) et 18 sujets asymptomatiques (âge : 47,11 ans \pm 14,09). Aucune donnée significative des différences d'âge et d'IMC (kg/m²) ont été décelées entre les cas de PR et les témoins .

II.2 Méthodes :

Il s'agit d'une étude d'expression génique transcriptomique In Silico à l'aide de divers outils bioinformatiques à savoir (NCBI GEO2R, Limma R, Target Scan Human, miRDB, miRBase, BioRender) (Voir Figure 5)

1. Les données de la puce à ADN (**GSE124373**) ont été téléchargées de la base de données Gene Expression Omnibus(<https://ncbi.xyz/geo/query/acc.cgi?acc=GSE124373>).
2. Cette étude à pour but d'établir le profilage des microARN à l'échelle du génome dans les cellules mononucléaires du sang périphérique de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) et de témoins sains.
3. Notre étude est basée sur l'indentification du profil de microARN à l'échelle du génome dans les cellules mononucléaires du sang périphérique des patients atteints d'arthrite rhumatoïde (PR) et des témoins sains.
 - La puce Affymetrix miRNA 4.0 a été utilisée pour obtenir des profils d'ARN chez :
 - N =28 patients PR.
 - N =18 témoins sains.

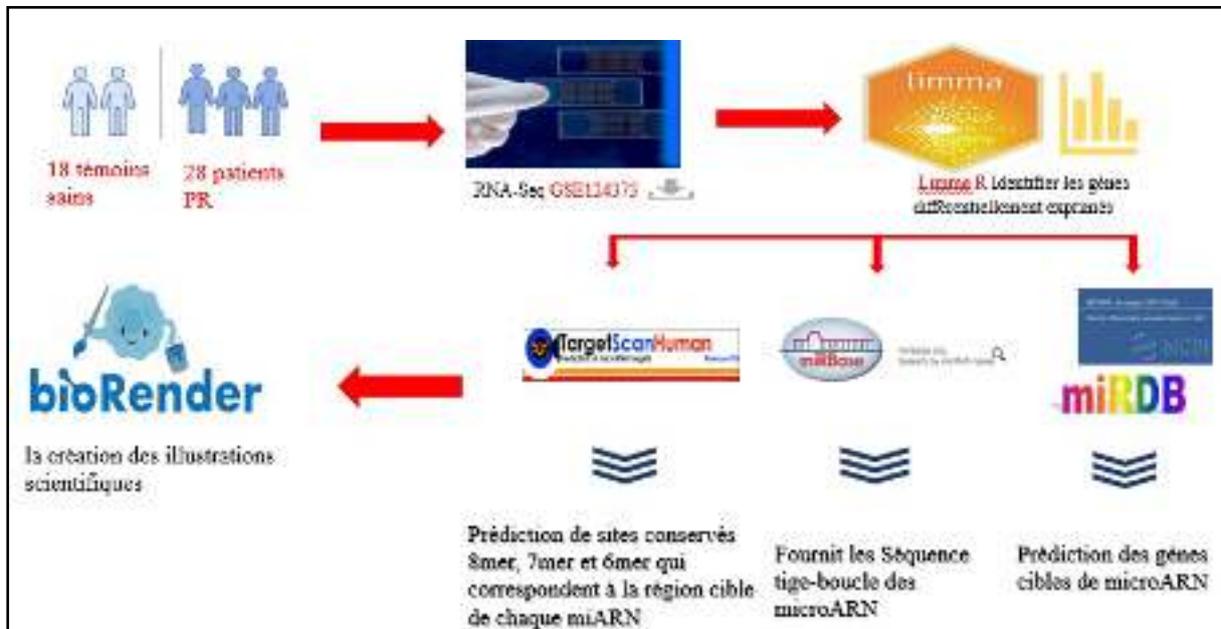


Figure 5 :

II.2-1 Recherche des gènes exprimés de manière différentielle :

2-1-1 NCBI GEO2R :

NCBI GEO2R (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) est un outil qui permet aux utilisateurs de comparer deux ou plusieurs groupes d'échantillons issus à partir de résultats brutes de puces à ADN, RNAseq, CHIPseq, afin d'identifier les gènes qui sont exprimés de manière différentielle. Les résultats sont présentés sous forme de tableau indiquant les paramètres suivants : le nom des gènes, l'identifiant, le P value, la localisation chromosomique du gène, le numéro d'accèsion du gène.

NCBI GEO2R utilise le paquet Limma R (Linear Models for Microarray Analysis) du projet « Bioconductor » qui est basé sur le langage de programmation R pour analyser les données des micros-puces d'expression génique, en particulier l'utilisation de modèles linéaires pour analyser les expériences conçues et l'évaluation de l'expression différentielle. Limma offre la possibilité d'analyser des comparaisons entre de nombreux ARN cible simultanément dans des expériences arbitraires complexes conçues.

Nous avons sélectionné les trois (02) groupes à étudier (patients atteints de PR & témoins sains « healthy ») avec les paramètres suivants : le nom des gènes, l'identifiant, le P value, la localisation chromosomique du gène, le numéro d'accèsion du gène. **(Figure 6)** (Smyth G. K, 2005).



Figure 6 : Représentation de l'outil NCBI GEO et son mode d'utilisation.

2-1-2 Target Scan Human (release 8.0)

Target Scan (<http://www.targetscan.org/>) prédit les cibles biologiques des miARN en recherchant la présence de sites conservés 8mer, 7mer et 6mer qui correspondent à la région graine de chaque miARN Target Scan prédit les cibles biologiques des miARN en recherchant la présence de sites 8mer, 7mer et 6mer conservés qui correspondent à la région d'ensemencement de chaque miARN (McGeary *et al.*, 2019). **(Figure 7et 8)**

2-1-3 miRDB :

miRDB (<https://mirdb.org/mirdb/index.html>) est une base de données en ligne pour la prédiction des cibles miARN et les annotations fonctionnelles. Toutes les cibles de miRDB ont été prédites par un outil bio-informatique, MirTarget, qui a été développé en analysant des milliers d'interactions miARN-cible à partir d'expériences de séquençage à haut débit. Les hôtes miRDB ont prédit des cibles miARN chez cinq espèces : humain, souris, rat, chien et poulet. Les utilisateurs peuvent également fournir leurs propres séquences pour la prédiction de cible personnalisée à l'aide de l'algorithme de prédiction mis à jour. Ces miARN, ainsi que les annotations fonctionnelles associées, sont présentées dans la collection FuncMir dans miRDB. Dans une mise à jour récente, miRDB présente les profils d'expression de centaines de lignées cellulaires et l'utilisateur peut limiter sa recherche de cibles miARN exprimées dans une lignée cellulaire d'intérêt (Liu W et Wang X, 2020). (Figure 8)

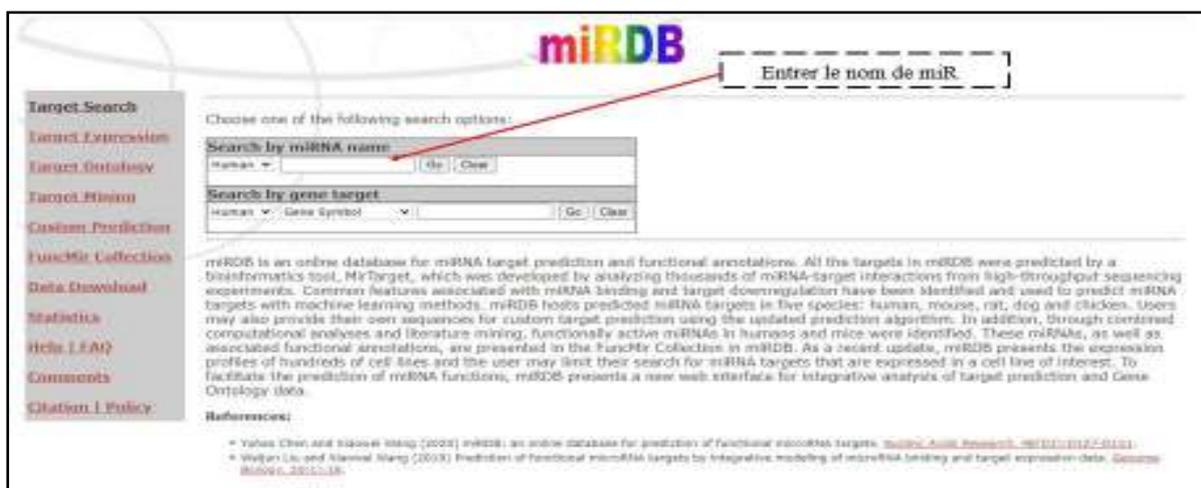


Figure 9 : Représentation de l'outil miRDB et son mode d'utilisation.

2-1-4 miRBase :

miRBase est le principal référentiel public et ressource en ligne pour les séquences de microARN et l'annotation (Figure 9)

Le site Web miRBase (<http://mirbase.org/>) fournit un large éventail d'informations sur les microARN publiés, y compris leurs séquences, leurs précurseurs de biogenèse, les coordonnées et le contexte du génome, les références de la littérature, les données d'expression de séquençage en profondeur et l'annotation communautaire. miRBase agit

également comme un portail pour les informations de tiers sur les gènes et la séquence des microARN, en se connectant à d'autres ressources telles que celles qui incluent des cibles de microARN prédites et validées expérimentalement (Kozomara *et al.*, 2019).



Figure 10 : Représentation de l’outil miRbase et son mode d’utilisation.

2-1-5 BioRender :

BioRender (<https://app.biorender.com/>) est une application en ligne utilisée pour créer, modifier et collaborer sur des diagrammes et des illustrations scientifiques. Il propose une vaste bibliothèque de plus de 40000 icônes à utiliser dans la création d'affiches scientifiques, de présentations, de publications, etc.

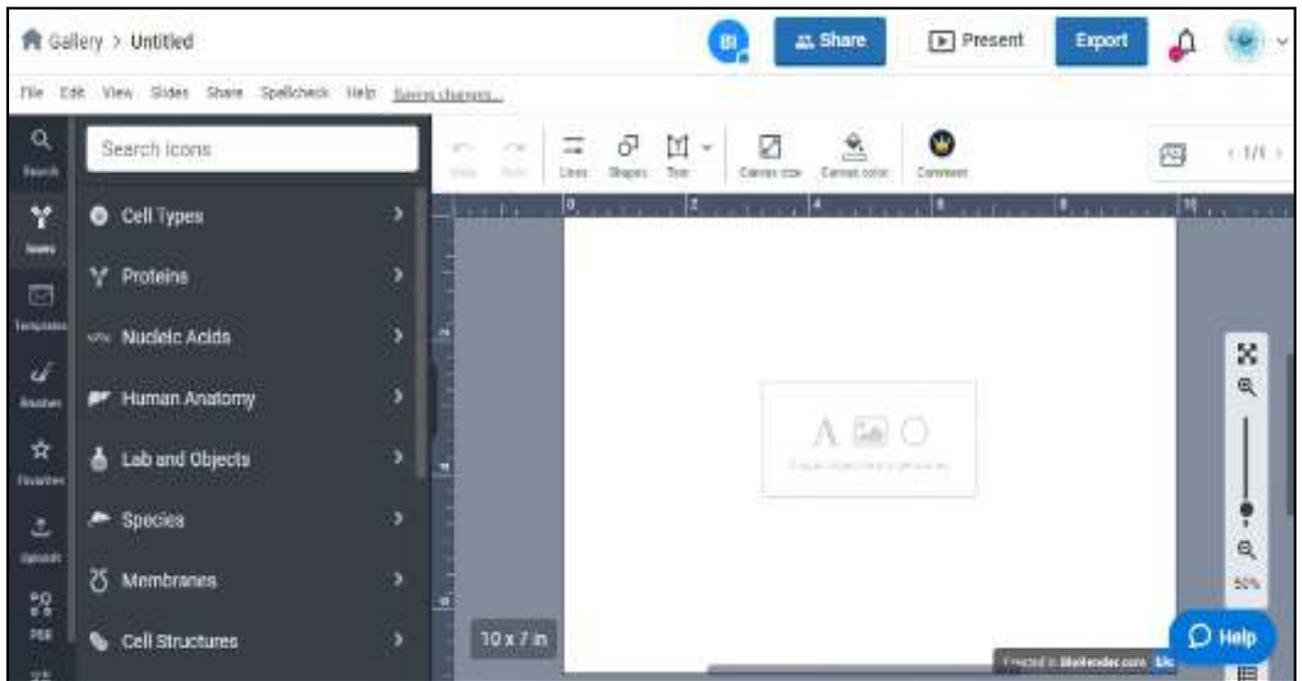


Figure 11 : Représentation de l'outil BioRender et son mode d'utilisation.

Chapitre III

Résultats & Discussions

III-1-microARN exprimés chez les PR :

D'après les résultats obtenus de NCBI GEO qui ont été générés à l'aide de limma nous avons trouvé 2563 gènes (voir **Figure 11**), le vennDiagram représenter ci-dessous nous a permis d'explorer et de télécharger le chevauchement dans les gènes significatifs entre les deux groupes d'étude « PR vs Healthy ».

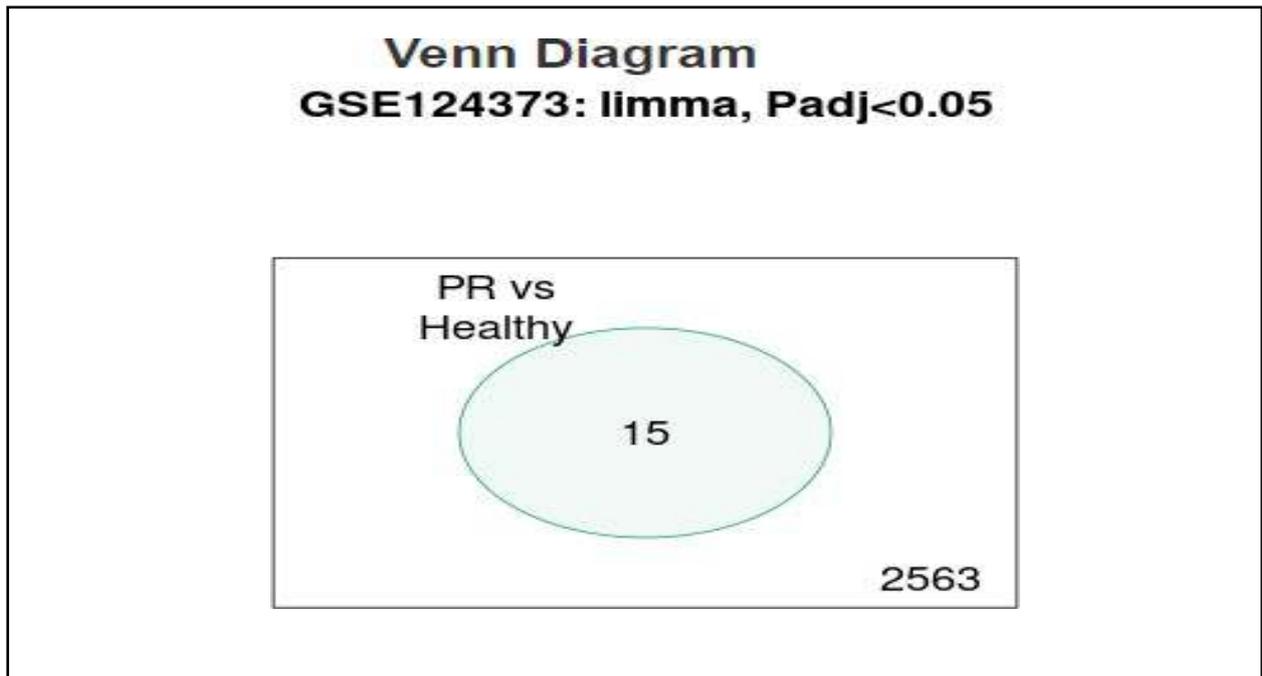


Figure 12 : Représentation venn Diagram du chevauchement dans les gènes significatifs entre les deux groupes d'étude.

D'après le diagramme de Venn illustré dans la **figure 12**, on peut constater le nombre de gène exprimer dans cette étude est de 2563 gènes, parmi les gènes retrouvés dans ces résultats, quinze (15) micro-RNA sont exprimés de manière différentielle chez les différents groupes étudiés PR et témoins sains (Healthy) (**Tableau I**) .

Tableau I : Résultats des miRNA retrouvés par l'analyse NCBI GEO2R.

N°	ID	p-val	Gene symbole	Ch localisation
1	20500186	0,00002905	MIR101	1p31.3
2	20500749	0,00008556	MIR142	17q22
3	20504567	0,00001502	MIR1468	Xq11.1
4	20506716	0,00016581	MIR1184-1	Xq28
5	20506837	0,00000101	MIR1246	2q31.1
6	20506839	0,00023577	MIRN1247	14q32.31
7	20518793	0,00002021	MIR4423	1p22.3
8	20518821	0,00000766	MIR4445	3q13.13
9	20518825	0,00000577	MIR4448	3q27.1
10	20519422	0,00003456	MIR4644	6q27
11	20519547	0,00008334	MIR3529	15q26.1
12	20521820	0,00001503	MIR5583	Unknown
13	20525721	0,00021844	MIR6880	Unknown
14	20525747	0,00028447	MIR6893	Unknown
15	20529777	0,00023295	MIR4531	19q13.31

Généré à l'aide de l'outil limma (volcanoplot) le diagramme volcan montre la signification statistique (valeur $-\log_{10} P$) par rapport à l'ampleur du changement (changement de pli \log_2) pour la visualisation des gènes exprimés de manière différentielle chez les groupes d'étude (**Figure 13**).

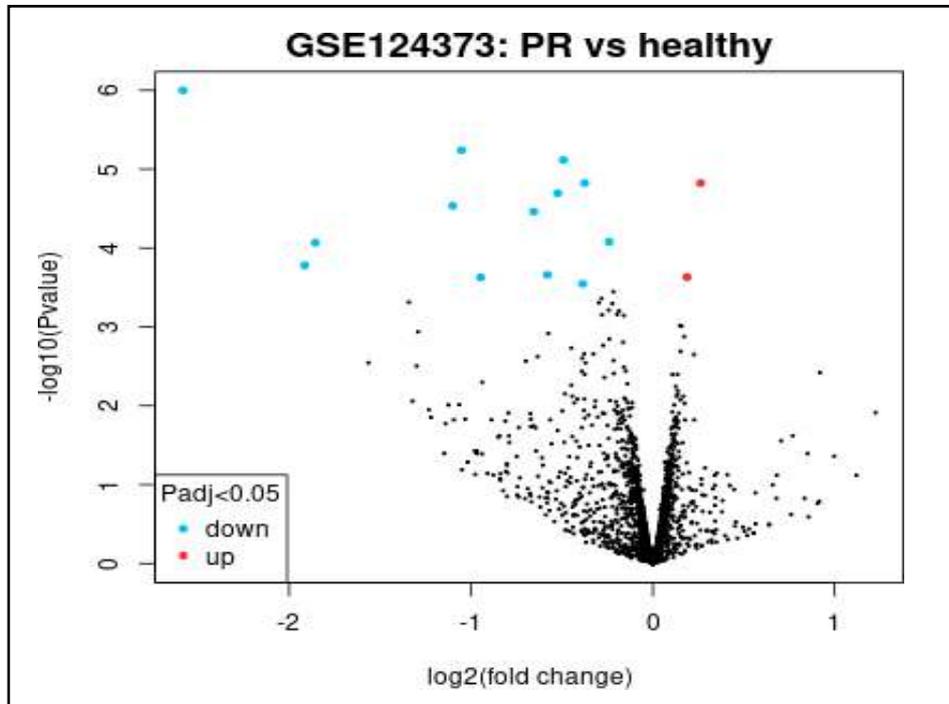


Figure 13 : Représentation volcano plot des gènes exprimés de manière différentielle chez les groupes d'étude « Healthy vs PR ».

Les résultats de l'analyse effectuée par le logiciel Limma mettent en évidence les gènes qui sont significativement exprimés de manière différentielle à un seuil de valeur de p ajusté par défaut de 0,05 (point rouge up-regulated , point bleu down-regulated, point noir other gene).(voir **tableau II**) .

Tableau II : Les gènes exprimés de manière significative différentielle.

Regulation	Gene Symbol
Upregulated	MIR4531, MIR5583.
Downregulated	MIR 101, MIR142, MIR1468, MIR1184-1, MIR1246, MIRN1247, MIR4423, MIR4445, MIR4448, MIR4644, MIR3529, MIR6880, MIR6893.

III-2-microRNA retenus pour étude détaillée

A partir des résultats obtenus du logiciel Limma des gènes exprimés de manière différentielle parmi les 15 microRNA retrouvés, nous avons retenu quatre microRNA à étudier « Deux upregulated ; Deux downregulated ».

✚ miR surexprimés sont :

- D'après les résultats que nous avons retrouvés dans GEOR le microRNA miR-5583 est sur-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles. (voir Figure 14)

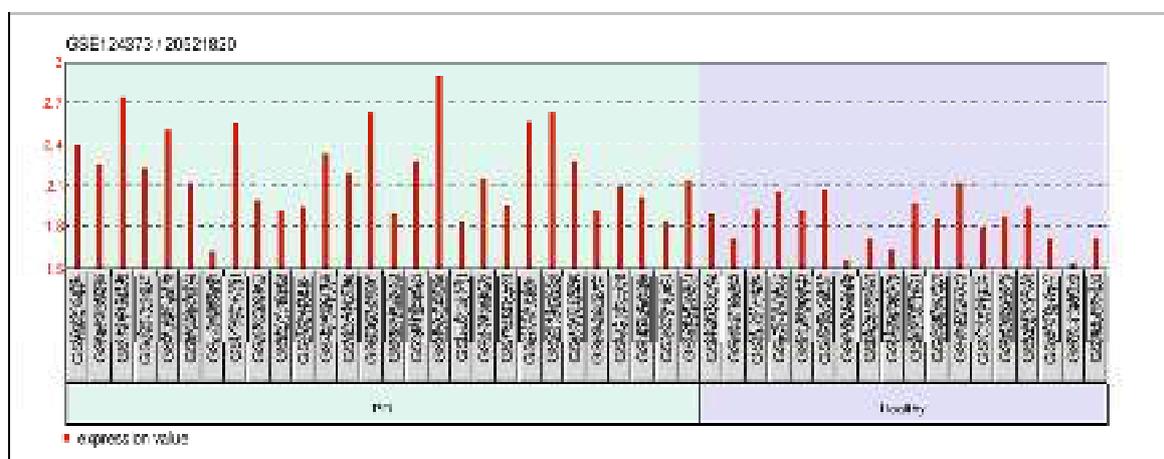


Figure 14 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR5583 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

La grande inflammation chez les patients à la phase chronique a incité la physiologie pour augmenter l'expression de miR 5583 afin d'atténuer la chronicité de la PR qui a ciblé les gènes IL-6 et VEZF1.

Les résultats de nos recherches réalisées sur la base de données miRBD, la sur-expression de miR-5583 induit la répression du gène IL-6 qui code pour une cytokine qui intervient dans l'inflammation et la maturation des lymphocytes B. Le fonctionnement de ce gène est impliqué dans une grande variété d'états pathologiques associés à l'inflammation, y compris la susceptibilité à la polyarthrite rhumatoïde. (Tanaka *et al.*, 2018).

La répression du gène IL-6 agit sur les vaisseaux directement ou indirectement par inhibition du VEGF, entraînant une diminution de l'activité d'angiogenèse et de la perméabilité vasculaire. Ainsi lorsque l'IL-6 baisse dans les cellules stromales de la moelle

osseuse, il bloque l'activateur du récepteur du ligand du facteur nucléaire kappa B (NF- κ B) (**RANKL**), qui est indispensable pour la différenciation et l'activation des ostéoclastes (**Tanaka et al., 2018**) (**Figure 15**).

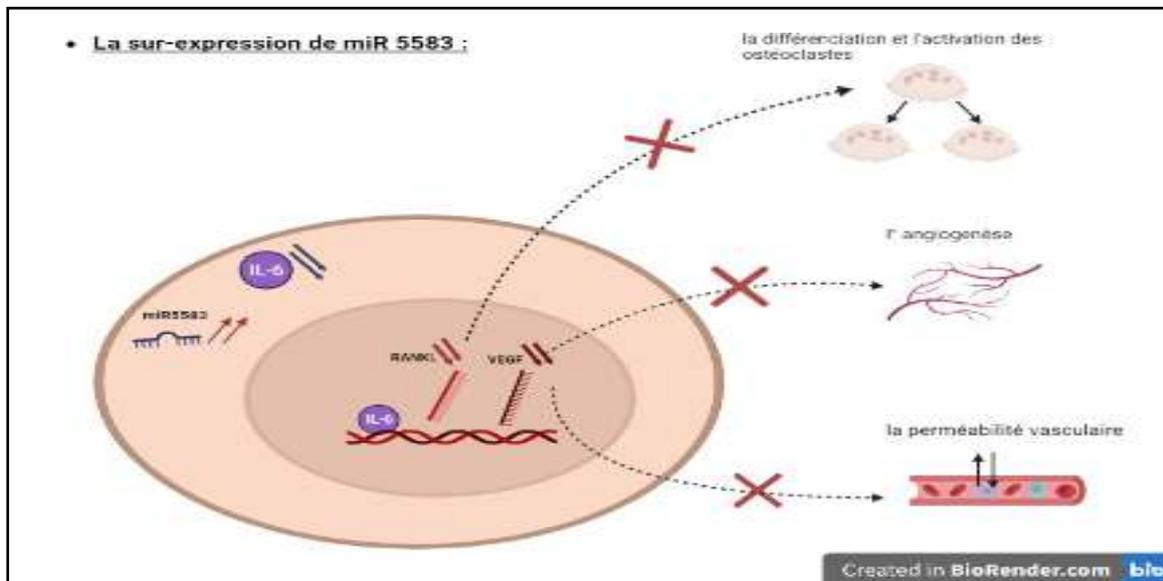


Figure 15 : Représentation schématique de l'effet de miR-5583 sur le gène IL6 (**Original**) .

Nos résultats pris de la base de données miRBD ont montrés que la surexpression de **miR-5583** inhiberait l'expression de gène **VEZF1** liés à l'angiogenèse. (voir **figure 16**)

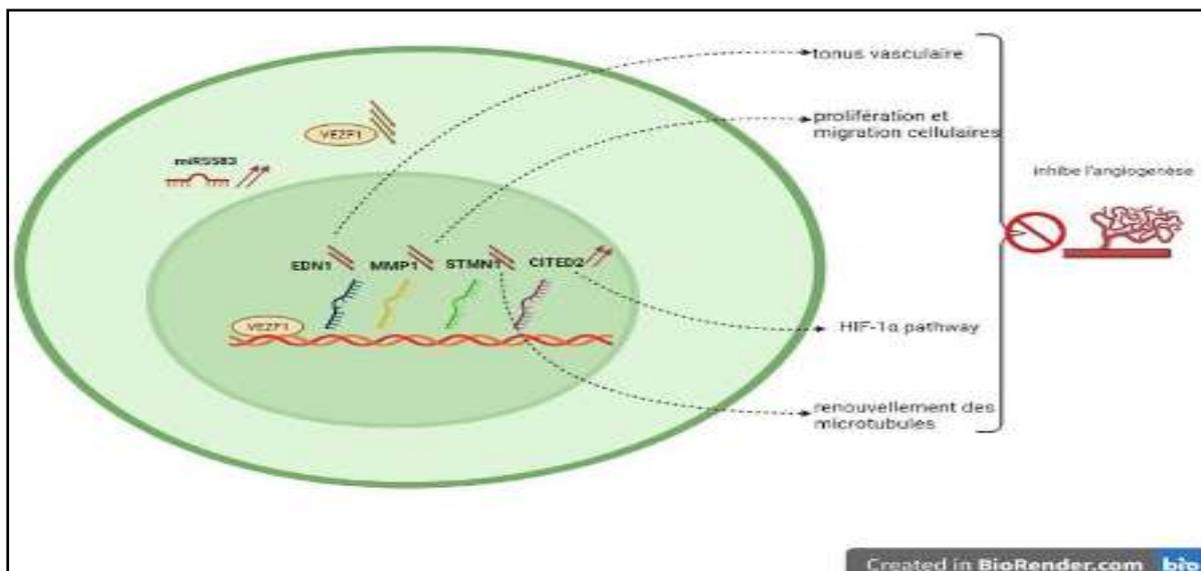


Figure 16 : Représentation schématique de l'effet de miR sur le gène VEZF1 (**Original**) .

Le gène **VEZF1** code un facteur de transcription de doigt de zinc qui est essentiel pour l'angiogenèse du développement et la lymphangiogenèse. Il est donc proposé d'agir comme activateur transcriptionnel de gènes pro-angiogéniques comprenant EDN1 , MMP2 , STMN1 , MMP , CITED2 (**Du et al 2019**) .

La prédiction des cibles biologiques des microARN en recherchant la présence de sites 8mer, 7mer et 6mer conservés qui correspondent à la région de **the seed** de chaque miRNA (voir Annexe..) établie par l'outil TargetScan pour le miR 5583 sont représentées dans le Tableau III.

Tableau III : Prédiction des sites du fixation miR 5583 par TargetScan.

Le nom de gène	Appariement consécutif prévu de la région cible (en haut) et du miARN (en bas)	Type de site
IL-6	<pre> 5' ...UGAAACAUUUUUAUGUAAUAGUU... 3' GUCUUUAUACCCAUAUAAUCAAA </pre>	7mer-m8
VEZF1	<pre> 5' ...GGGAGAUUUUAUUACAUAUAGUUA... 3' GUCUUUAUACCCAUAUAAUCAAA </pre>	8mer
	<pre> 5' ...UGUUUGUGCCUUUUAAUAGUU... 3' GUCUUUAUACCCAUAUAAUCAAA </pre>	7mer-m8
	<pre> 5' ...UUAAGAGAAAUGGAA--AUUAGUUG... 3' GUCUUUAUACCCAUAUAAUCAAA </pre>	

- b) En se basant sur les résultats retrouvés dans GEO2R, le microRNA **miR-8067** est sur-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles (**Figure 17**).

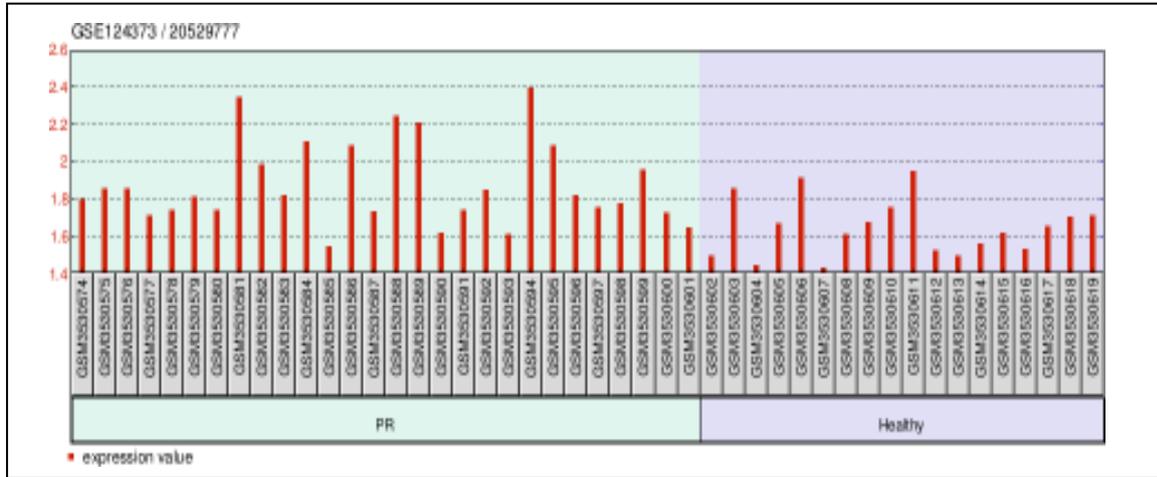


Figure 17 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR8067 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

D'après les résultats nos recherches effectuées sur la base de données miRBD, le microRNA **miR-8067**, qui a été trouvé sur-exprimé chez les patients atteints de PR, a ciblé les gènes **RPTPκ** et **PDGFR**.

Selon **Charbonneau** et ses collaborateurs, le PDGFR est un RTK critique nécessaire au phénotype prodestructif des cellules synoviales de la PR. La signalisation via le TGF- β autocrine et la formation d'invasomes médiée par le PDGFR induisent la dégradation de la matrice extracellulaire (MEC) (**Charbonneau et al., 2016**).

En régulant la phosphorylation de SRC, le RPTP κ favorise l'action pathogène de FLS, médiant l'activation croisée du facteur de croissance et la signalisation des cytokines anti-inflammatoires par TGF β dans FLS PR (voir **Figure 18**) (**Stanford et al., 2014**).

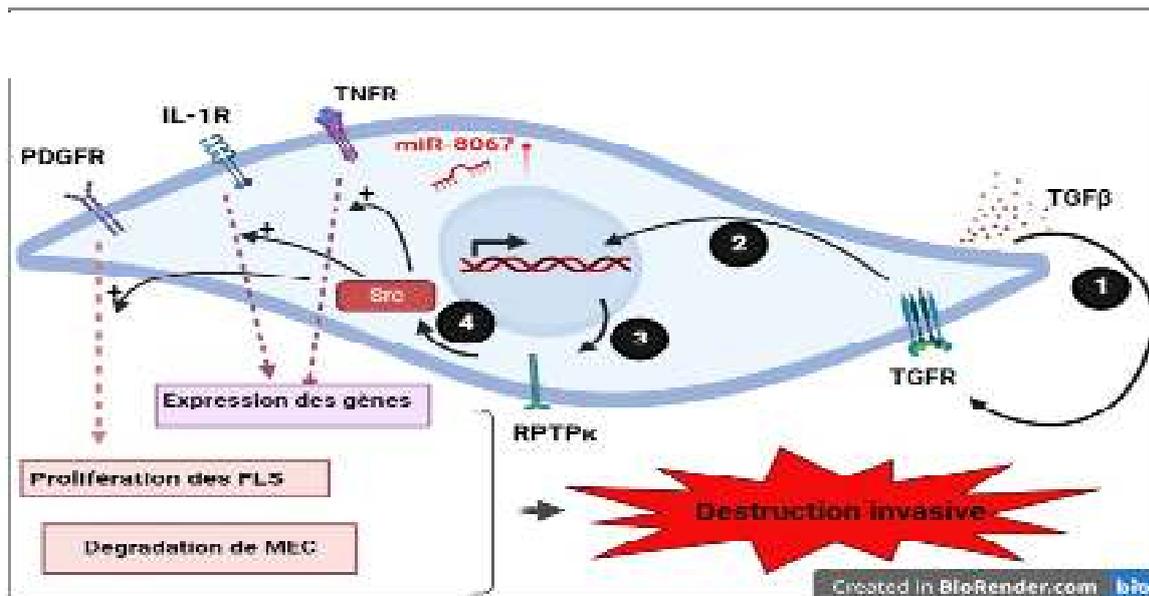


Figure 18 : Représentation schématique de l'effet miR-22 sur la pathophysiologie de la PR (Original).

Le TGFβ guanine se lie au complexe récepteur TGFβ (TβR) , induisant l'activation du SMAD et la transcription de RPTK . RPTK active le SRC , qui favorise la signalisation pro-invasive via le récepteur PDGF (PDGFR) et les récepteurs du TNF et de l'interleukine (IL-1) (TNFR et IL-1R) (voir Figure 18) .

Bien que les gènes RPTK et PDGFR soient les cibles du miR-8067, ils présentent des niveaux d'expression accrus chez les patients atteints de PR, la surexpression du microRNA miR-8067 suggère que ce dernier a un effet protecteur dans la SJF, d'où sa fonction d'inhiber la signalisation médiée par ces récepteurs afin de ralentir la destruction des articulations et d'atténuer les symptômes de la polyarthrite rhumatoïde.

La prédiction des cibles biologiques des microARN en recherchant la présence de sites 8mer, 7mer et 6mer conservés qui correspondent à la région de seed de chaque miRNA établie par l'outil TargetScan pour le miR-8067 sont représentées dans le Tableau IV.

Tableau IV : Prédiction des sites de fixation miR-8067 par TargetScan.

Le nom de gène	Appariement consécutif prévu de la région cible (en haut) et du miARN (en bas)	Type de site
RPTK	<pre> 5' ... CAUCCAGUGUCCUCUUUCUAGA... 3' CUGAUUCAAAUGUCAAGAUC</pre>	8mer

<p>PDGFR</p>	<pre> 5' ...UGAAAUACGUUUGUG-UUUCUAGA... 3' CUGAUUCAAAUGUCAAGAUC </pre>	<p>8mer</p>
---------------------	--	-------------

miR sous-exprimés sont :

- c) D'après les résultats que nous avons trouvés dans GEO2R, le microRNA **miR-101**(voir **Figure 19**) est **sous-exprimé** chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles .

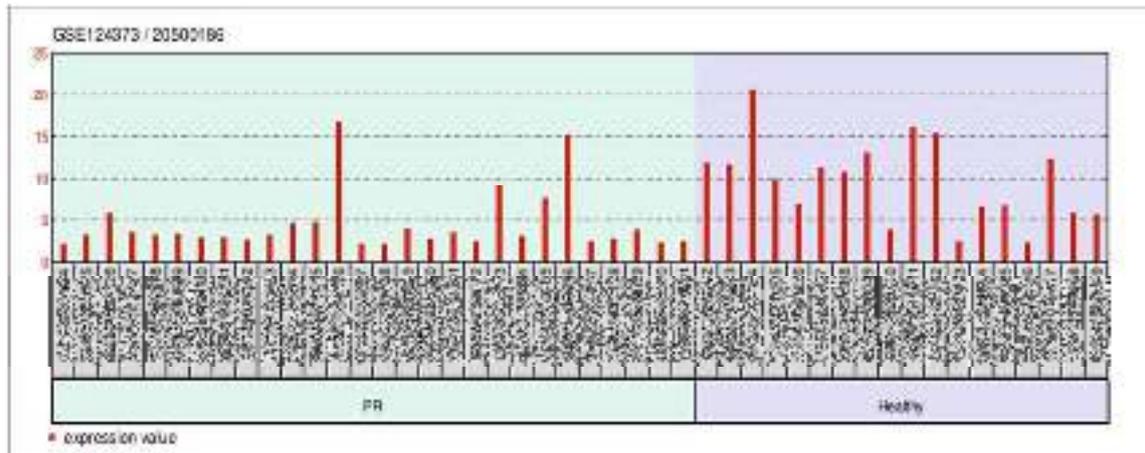


Figure 19 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR101 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

Les résultats extraits de la base de données GEO2R montrent que les gènes cibles de ce microRNA **miR-101** sont **MMP-13** et **CXCL-12** qui sont surexprimés dans la PR.

Selon **Araki** et ces collaborateurs, les fibroblastes de la PR produisent des enzymes dégradant la matrice extracellulaire, y compris les MMP. La MMP-13 est une collagénase 3 qui clive les collagènes, joue un rôle essentiel dans la dégénérescence et la destruction du cartilage dans les articulations PR (**Araki et al., 2017**).

Peng et ses collègues ont rapporté que la chimiokine CXCL-12 est fortement exprimée chez les patients atteints de PR et qu'elle peut participer à la réponse immunitaire à la PR par la médiation de la migration et de l'activation des cellules T et B, et promouvoir la sécrétion de métalloprotéines matricielles (MMP) par les chondrocytes, y compris MMP-1 et MMP-13, et induire des lésions du cartilage articulaire (**Peng et al., 2020**).

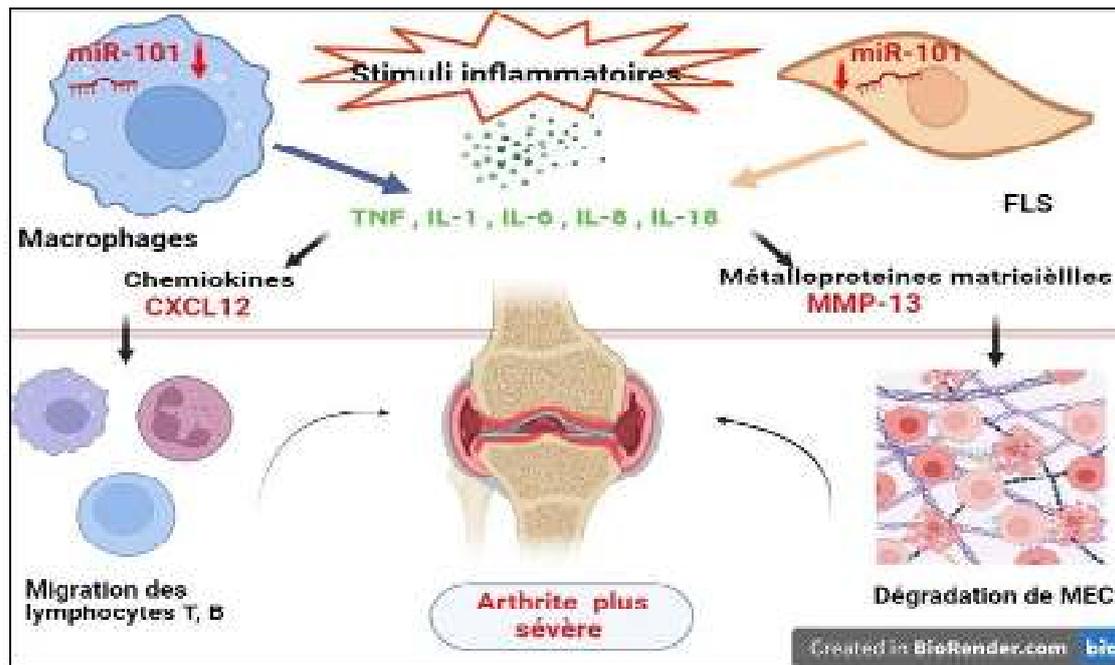


Figure 24 : Représentation schématique illustrant l'effet de miR-101 dans l'arthrite inflammatoire (Original).

Par conséquent, la sous-expression de miR-101 a favorisé la surexpression de gènes cibles impliqués dans le processus inflammatoire de la PR, entraînant un phénotype de destruction osseuse et l'invasion des tissus périphériques, et donc une PR plus sévère.

La prédiction des cibles biologiques des microARN ou recherchant la présence de sites 8mer, 7mer et 6mer conservés qui correspondent à la région de STEB de chaque miRNA établie par l'outil TargetScan pour le miR-101 sont représentées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Prédiction des sites de fixation miR-101 par TargetScan.

Le nom de gène	Appariement consécutif prévu de la région cible (en haut) et du miARN (en bas)	Type de site
MMP-13	<pre> 5' ... CUGCUGUGGGAAAUGGUACUGUA... 3' AAGUCAAUAGUGUCAUGACAU </pre>	8mer

- d) Selon les résultats retrouvés dans NCBI GEO on constate que le **miR-142** est **sous-exprimé** chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à l'expression de ce dernier chez les contrôles. (voir **figure 21**)

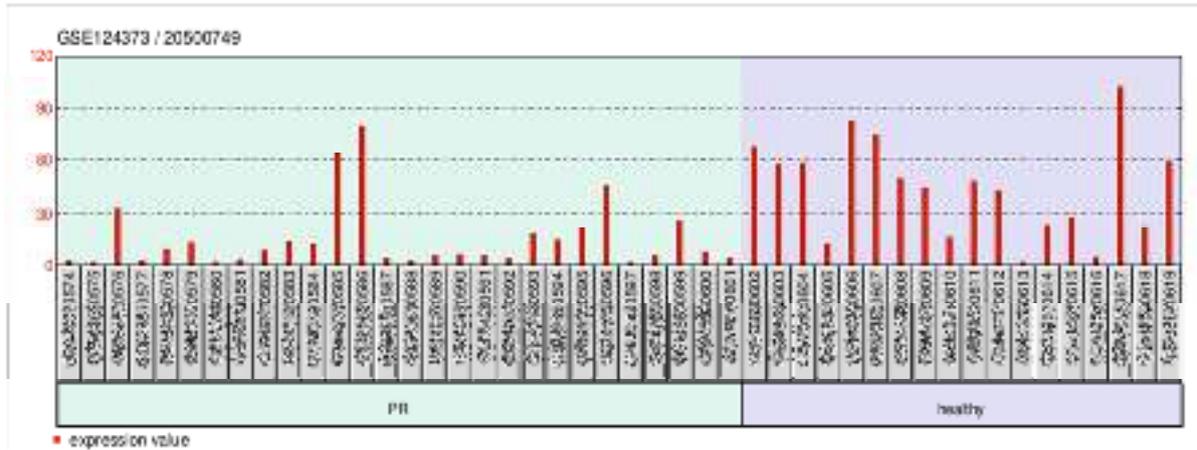


Figure 21 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR142 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

Les résultats obtenus par GEO2R, montre que le **miR-142** est sous exprimé, qui cible le gène **IKZF2** qui code pour une protéine de doigt de zinc Helios, un membre de la famille des facteurs de transcription Ikaros, en stimulant la surexpression de ce gène.

Helios favorise la méthylation de la région TSDR de gene FOXP3, qui est requise pour la régulation de la fonction inhibitrice des lymphocytes Treg (**Zafari et al ., 2018**) .

Donc l'inhibition de FOXP3 induite par cette méthylation, augmente la production des cytokines (IL2, INF γ IL17) , qui jouent un rôle crucial dans la pathogenèse de la PR (**Bettelli et al., 2005**) . (voir **figure 22**)

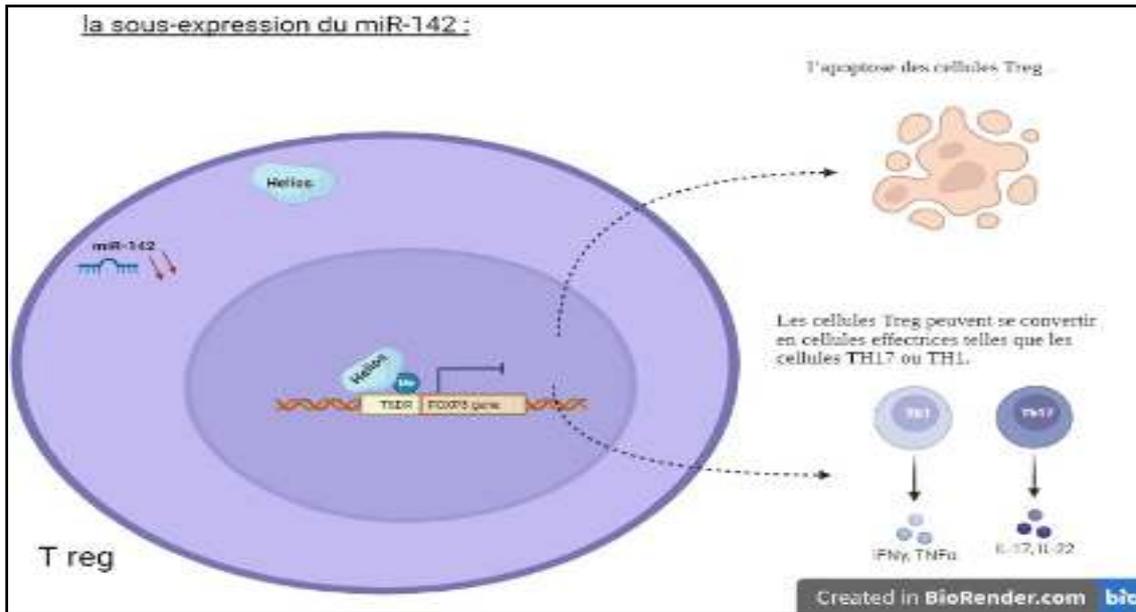


Figure 22 : Représentation schématique de l’effet de miR-142 sur le gène IKZF2 (Original).

A partir de l’analyse GEO2R La sous-expression du miR-142 corrobore avec le taux élevé d’expression du gène PTPN2. La protéine codée par ce gène fait partie de la famille des protéines tyrosine phosphatase (PTP). Cette dernière régule négativement de nombreuses voies de signalisation et processus biologiques tels que la réponse inflammatoire.

D’après **Cerosaletti** et ses collaborateurs le PTPN2 régule négativement la signalisation médiée par les cytokines (IL2/interleukine-2 et interféron) par déphosphorylation des kinases cytoplasmiques JAK1, JAK3 et de leur substrat STAT1 et donc empêche l’expression du gène FOXP3 qui propagent la signalisation en aval des récepteurs des cytokines (**Cerosaletti et al., 2013**). (voir **figure 23**)

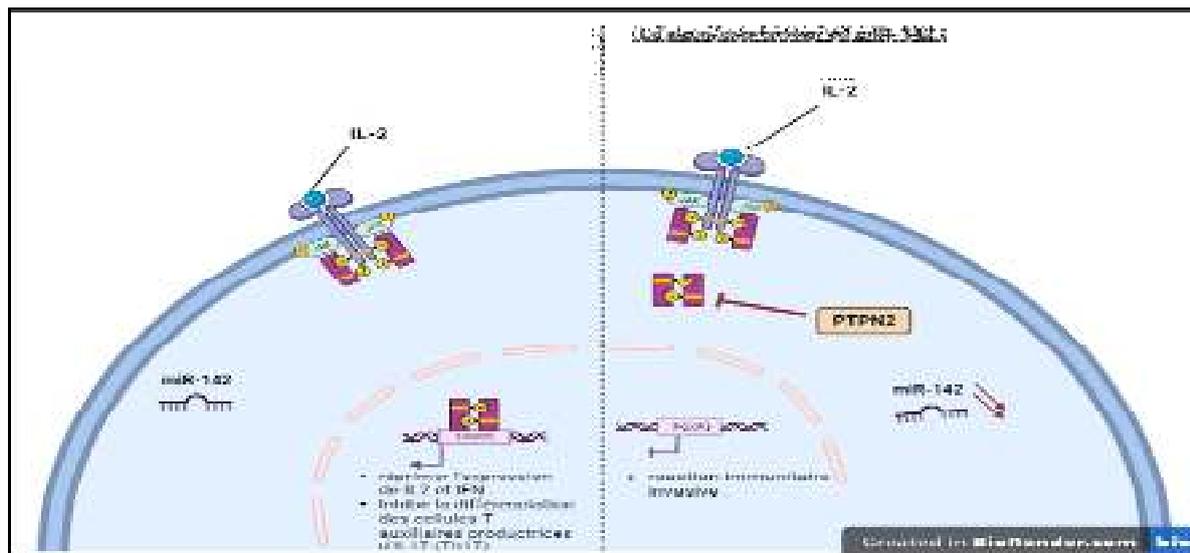


Figure 23 : Représentation schématique de l'effet de miR-142 sur le gène PTPN22 (Original).

La prédiction des cibles biologiques des microARN en recherchant la présence de sites 8mer, 7mer et 6mer conservés qui correspondent à la région de **seed** de chaque miRNA établie par l'outil TargetScan pour le miR-142 sont représentées dans le **Tableau VI**.

Tableau VI : Prédiction des sites de fixation miR-142 par TargetScan.

Le nom de gène Appariement consécutif prévu de la région cible (en haut) et du miARN (en bas) **Type de site**

IKZF2	5' ... AUUUUUUAUUUAAAAACUUUAUA ...	8mer
	3' ... UCAUCACGAAAGAUGAAAUAC	
	5' ... UCAGGCUCUGUUGCACUUUAUA ...	
3' ... UCAUCACGAAAGAUGAAAUAC		
PTPN22	5' ... GCUGUAAAUGCAAU--ACUUUAUA ...	7mer-m8
	3' ... UCAUCACGAAAGAUGAAAUAC	
	5' ... CUUCAGCACUGUUGCACUUUAUA ...	
3' ... UCAUCACGAAAGAUGAAAUAC		
PTPN22	5' ... AUUUUAAAAGUUGCACUUUAUA ...	7mer-m8
	3' ... UCAUCACGAAAGAUGAAAUAC	
	5' ... AUUUUAAAAGUUGCACUUUAUA ...	
3' ... UCAUCACGAAAGAUGAAAUAC		

A titre complémentaire sur les 15 microRNA trouvés dont 4 ayant fait l'objet de notre étude détaillé, nous présentant dans le tableau *VII* ci-dessous les 11 microRNA **sous-exprimés** qui favoriseraient l'expression des gènes cibles impliqués dans la PR

Tableau VII : L'effet des miR sous-exprimés dans PR.

<u>N°</u>	<u>ID</u>	<u>Nom de miR</u>	<u>Gène (s) cible (s)</u>	<u>Fonction</u>
1	20506716	hsa-miR-1184	STAT 3	Agit comme un régulateur de la réponse inflammatoire en régulant la différenciation des lymphocytes T naïfs CD4(+) en lymphocytes T auxiliaires Th17 ou lymphocytes T régulateurs (Treg) (Ganesan et Rasool , 2017) .
			VEGFD	Facteur de croissance actif dans l'angiogenèse, la lymphangiogenèse et la croissance des cellules endothéliales (Paleolog , 2009) .
2	20506839	hsa-miR-1247-3p	SP1	la liaison de Sp1 à la région riche en CG dans sa région de promoteur du gène IL-1 était critique dans la PR. L'IL-1 α serait prédominant au début de l'arthrite. Ces constatations suggèrent que le SP1 joue un rôle important en liant la région riche en CG à l'AR . (LUO et al ., 2013)
3	20518820	hsa-miR-4445-5p	FOXK2	Il régule la prolifération cellulaire, la survie, la régénération des muscles squelettiques, la différenciation myogénique et la genèse et le développement de diverses tumeurs par la régulation transcriptionnelle . (Yu et al., 2022)
4	20519422	hsa-miR-4644	BTLA	Récepteur inhibiteur sur les lymphocytes qui régule négativement la signalisation des récepteurs antigéniques via PTPN6/SHP-1 et PTPN11/SHP-2 . (Carreras et al., 2018)
			FCRL3	Le fcrl3 est associée à l'hyperactivation et à l'hypperréactivité des cellules B, qu'il est un homologue des gènes récepteurs Fcc sont les récepteurs de la portion Fc des molécules IgG est connu sous le nom de facteur rhumatoïde (RF)(Chistiakov et Chistiakov , 2007) .
5	20525748	hsa-miR-6893	VDR	régule l'expression de multiples gènes associés à l'infammation et à la modulation immunitaire comme l'IL-6 (Hussain et al ., 2021) .
			NFAT5	NFAT5 régule l'expression d'une variété de gènes proinflammatoires, y compris cyclooxygénase-2, IL-6 et CCL2 dans des conditions isotoniques . (Choi et al., 2017)

<u>N°</u>	<u>ID</u>	<u>Nom de miR</u>	<u>Gène (s) cible (s)</u>	<u>Fonction</u>
6	20525721	hsa-miR-6880-5p	IL12RB1	rôle central dans la différenciation des cellules T de type 1 (Th1), le gène IL12B pourrait être un important gène candidat fonctionnel pour les maladies à médiation Th1 comme la PR. En outre, une production excessive d'IL-12 a été constatée en RA (Orozco <i>et al.</i>, 2005)
7	20518825	hsa-miR-4448	Dyrk1A	Dyrk1A pourrait favoriser la prolifération, la migration et l'invasion des FLS dans la PR. (Guo <i>et al.</i>, 2018).
8	20518793	hsa-miR-4423-3p	CCR3	L'implication de cette chimiokine dans l'inflammation articulaire induite par la PR (Skrzypkowska <i>et al.</i>,2022)
9	20504567	hsa-miR-1468-3p	VEGFA	Li <i>et al.</i>,2020 ont rapportés que le gène VEGFA favorise l'angiogenèse dans la PR .
10	20506837	hsa-miR-1246	DLG1	DLG1 pourrait être indirectement impliqué dans la progression de la PR (Gang <i>et al.</i>, 2017) .
11	20519547	hsa-miR-3529-3p	CXCL5	Selon Elemam <i>et al.</i>,2020 , le CXCL5 augmente les processus inflammatoires de la PR.

La PR est génétiquement et phénotypiquement hétérogène. Il en résulte une hétérogénéité clinique qui entrave la recherche sur la pathogenèse de la PR et les méthodes de diagnostic efficaces, ainsi que le pronostic et le traitement.

La présente étude avait pour but d'identifier, à l'aide de techniques bioinformatiques, les profils d'expression des gènes microARN liés à la maladie de la PR, qui pourraient être utilisés à l'avenir comme biomarqueurs génétiques afin d'améliorer le diagnostic et le traitement de la PR.

Cette étude montre que :

- ✓ 15 microRNA ont été exprimés de manière différentielle :

Deux microARN étaient surexprimés :

- La surexpression du miR-5583 induit la répression du gène IL-6, une des cytokines impliquées dans l'inflammation, et donc de VEZF1, qui favorise l'angiogenèse.
- miR-8067 est surexprimé chez les patients atteints de PR et cible les gènes RPTP κ et PDGFR qui ont un effet sur la destruction des articulations.

13 microARN étaient sous-exprimés et chez les patients atteints de PR :

- Le miR-101 sous-exprimé cible les gènes MMP-13 et CXCL-12, qui sont impliqués dans la migration et l'invasion des FLS.
- miR-142 est sous-exprimé, cible le gène IKZF2, régule négativement l'expression du gène FOXP3, qui a un effet anti-inflammatoire, et cible ainsi le gène PTPN2, régulant à la baisse la signalisation médiée par les cytokines .
- .hsa-miR-1184 est sous-exprimé cible gène le STAT 3 et VEGFD.
- hsa-miR-1247-3p est sous-exprimé gène cible SP1.
- hsa-miR-4445-5p est sous-exprimé cible le gène FOXK2.
- hsa-miR-4644 est sous-exprimé cible le gène BTLA et FCRL3.
- hsa-miR-6893 est sous-exprimé cible le gène VDR et NFAT5.
- hsa-miR-6880-5p est sous-exprimé cible le gène IL12RB1.
- hsa-miR-4448 est sous-exprimé cible le gène Dyrk1A.
- hsa-miR-4423-3p est sous-exprimé cible le gène CCR3.

- hsa-miR-1468-3p est sous-exprimé cible le gène VEGFA.
- hsa-miR-1246 est sous-exprimé cible le gène DLG1.
- hsa-miR-3529-3p est sous-exprimé cible le gène CXCL5.

Ces résultats indiquent que l'expression de ces microARN a un effet sur la pathogénicité de la polyarthrite rhumatoïde, ce qui peut améliorer considérablement notre compréhension des causes et des événements moléculaires potentiels de la PR, démontrant leur rôle en tant que biomarqueurs génétiques dans le diagnostic et la thérapie.

Références bibliographique

« A »

Anaparti V, Smolik I, Meng X, Spicer V, Mookherjee N, El-Gabalawy H. Whole blood microRNA expression pattern differentiates patients with rheumatoid arthritis, their seropositive first-degree relatives, and healthy unrelated control subjects. *Arthritis Res Ther.* 2017 Nov 10;19(1):249. doi: 10.1186/s13075-017-1459-x. PMID: 29126434; PMCID: PMC5681796.

Araki Y, Mimura T. Matrix Metalloproteinase Gene Activation Resulting from Disordered Epigenetic Mechanisms in Rheumatoid Arthritis. *Int J Mol Sci.* 2017 Apr 25;18(5):905. doi: 10.3390/ijms18050905. PMID: 28441353; PMCID: PMC5454818.

« B »

Bettelli E, Dastrange M, Oukka M. Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa B to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Apr 5;102(14):5138-43. doi: 10.1073/pnas.0501675102. Epub 2005 Mar 24. PMID: 15790681; PMCID: PMC555574.

O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018 Aug 3;9:402. doi: 10.3389/fendo.2018.00402. PMID: 30123182; PMCID: PMC6085463.

Bure IV, Mikhaylenko DS, Kuznetsova EB, Alekseeva EA, Bondareva KI, Kalinkin AI, Lukashev AN, Tarasov VV, Zamyatnin AA Jr, Nemtsova MV. Analysis of miRNA Expression in Patients with Rheumatoid Arthritis during Olokizumab Treatment. *J Pers Med.* 2020 Oct 31;10(4):205. doi: 10.3390/jpm10040205. PMID: 33142700; PMCID: PMC7712090.

« C »

Carreras J, Yukie Kikuti Y, Miyaoka M, Hiraiwa S, Tomita S, Ikoma H, Kondo Y, Shiraiwa S, Ando K, Sato S, Suzuki Y, Miura I, Roncador G, Nakamura N. Genomic Profile and Pathologic Features of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Subtype of Methotrexate-associated Lymphoproliferative Disorder in Rheumatoid Arthritis Patients. *Am J Surg Pathol.* 2018 Jul;42(7):936-950. doi: 10.1097/PAS.0000000000001071. PMID: 29738359.

Castro-Sánchez, P., et P. Roda-Navarro. (2017). « Physiology and Pathology of Autoimmune Diseases: Role of CD4+ T cells in Rheumatoid Arthritis ». <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.70239>.

Cerosaletti K, Buckner JH. Protein tyrosine phosphatases and type 1 diabetes: genetic and functional implications of PTPN2 and PTPN22. *Rev Diabet Stud.* 2012 Winter;9(4):188-200. doi: 10.1900/RDS.2012.9.188. Epub 2012 Dec 28. PMID: 23804260; PMCID: PMC3740690.

Charbonneau M, Lavoie RR, Lauzier A, Harper K, McDonald PP, Dubois CM. Platelet-Derived Growth Factor Receptor Activation Promotes the Prodestructive Invadosome-Forming Phenotype of Synoviocytes from Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Immunol.* 2016 Apr 15;196(8):3264-75. doi: 10.4049/jimmunol.1500502. Epub 2016 Mar 14. PMID: 26976956.

Chistiakov DA, Chistiakov AP. Is FCRL3 a new general autoimmunity gene? *Hum Immunol.* 2007 May;68(5):375-83. doi: 10.1016/j.humimm.2007.01.013. Epub 2007 Feb 15. PMID: 17462505.

Choi S, You S, Kim D, Choi SY, Kwon HM, Kim HS, Hwang D, Park YJ, Cho CS, Kim WU. Transcription factor NFAT5 promotes macrophage survival in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest.* 2017 Mar 1;127(3):954-969. doi: 10.1172/JCI87880. Epub 2017 Feb 13. PMID: 28192374; PMCID: PMC5330733.

Constantin, A., Cantagrel, A., Laroche, M., & Mazières, B. (2018). *Rhumatologie pour le praticien.* Elsevier Health Sciences.

« D »

De Andres MC, Perez-Pampin E, Calaza M, Santaclara FJ, Ortea I, Gomez-Reino JJ, Gonzalez A. Assessment of global DNA methylation in peripheral blood cell subpopulations of early rheumatoid arthritis before and after methotrexate. *ArthritisResTher.* 2015 Aug 29;17(1):233. doi: 10.1186/s13075-015-0748-5. PMID: 26330155; PMCID: PMC4556005).

Deane KD, Demoruelle MK, Kelmenson LB, Kuhn KA, Norris JM, Holers VM. Genetic and environmental risk factors for rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2017 Feb;31(1):3-18. doi: 10.1016/j.berh.2017.08.003. Epub 2017 Sep 18. PMID: 29221595; PMCID: PMC5726551.)

Delmas, Vincent, Dominique Brémond-Gignac, Olivier Clément, Richard Douard,

Du K, Zhao C, Wang L, Wang Y, Zhang KZ, Shen XY, Sun HX, Gao W, Lu X. MiR-191 inhibit angiogenesis after acute ischemic stroke targeting VEZF1. *Aging (Albany NY)*. 2019 May 7;11(9):2762-2786. doi: 10.18632/aging.101948. PMID: 31064890; PMCID: PMC6535071.

Du Teil Espina M, Gabarrini G, Harmsen HJM, Westra J, van Winkelhoff AJ, van Dijk JM. Parlez à votre intestin : l'axe du microbiome bucco-intestinal et son rôle immunomodulateur dans l'étiologie de la polyarthrite rhumatoïde. *FEMS Microbiol Rev*. 2019 Jan 1;43(1):1-18. doi : 10.1093/femsre/fuy035. PMID : 30219863.

« E »

EA, Beloukhova MI, Deviatkin AA, Lukashev AN, Zamyatnin AA Jr. Epigenetic Changes in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Front Genet*. 2019 Jun 14;10:570. doi: 10.3389/fgene.2019.00570. PMID: 31258550; PMCID: PMC6587113.)

Ea, H.-K., C. Bazille, et F. Lioté. « Histologie et physiologie de la membrane synoviale ». *EMC - Appareil locomoteur 3*, n° 3 (janvier 2008): 1-6. [https://doi.org/10.1016/S0246-0521\(08\)41701-1](https://doi.org/10.1016/S0246-0521(08)41701-1).

« F »

Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annu Rev Biochem*. 2010;79:351-79. doi: 10.1146/annurev-biochem-060308-103103. PMID: 20533884.)

Frisell, T., Saevarsdottir, S. & Askling, J. Antécédents familiaux de polyarthrite rhumatoïde : un concept ancien avec de nouveaux développements. *Nat Rev Rheumatol* 12 , 335–343 (2016). <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.52>

« G »

Ganesan R, Rasool M. Interleukin 17 regulates SHP-2 and IL-17RA/STAT-3 dependent Cyr61, IL-23 and GM-CSF expression and RANKL mediated osteoclastogenesis by fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Mol Immunol*. 2017 Nov;91:134-144. doi: 10.1016/j.molimm.2017.09.003. Epub 2017 Sep 11. PMID: 28898718.

Gibofsky A. Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis: A Synopsis. *Am J Manag Care*. 2014 May;20(7 Suppl):S128-35. PMID: 25180621.).

Glant, TT, Mikecz, K. & Rauch, TA Épigénétique dans la pathogenèse de la polyarthrite rhumatoïde. *BMC Med* 12 , 35 (2014). <https://doi.org/10.1186/1741-7015-12-35>

« H »

Hajishengallis, George. « Periodontitis: From Microbial Immune Subversion to Systemic Inflammation ». *Nature Reviews Immunology* 15, n° 1 (janvier 2015): 30-44.
<https://doi.org/10.1038/nri3785>.

Hinkle J, Cheever K. Brunner & Suddarth's Handbook of Laboratory and Diagnostic Tests. 2nd Ed, Kindle. Philadelphia: Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins; c2014. Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR); p. 267–68.

Hussain MZ, Mahjabeen I, Khan MS, Mumtaz N, Maqsood SU, Ikram F, Ahmed SN, Kalim QU, Abbas R, Cheema AA. Genetic and expression deregulation of immunoregulatory genes in rheumatoid arthritis. *Mol Biol Rep.* 2021 Jun;48(6):5171-5180. doi: 10.1007/s11033-021-06518-3. Epub 2021 Jul 1. PMID: 34196898.

« J »

Jang S, Kwon EJ, Lee JJ. Rheumatoid Arthritis: Pathogenic Roles of Diverse Immune Cells. *Int J Mol Sci.* 2022 Jan 14;23(2):905. doi: 10.3390/ijms23020905. PMID: 35055087; PMCID: PMC8780115.

Jorge AL, Pereira ER, Oliveira CS, Ferreira EDS, Menon ETN, Diniz SN, Pezuk JA. MicroRNAs: understanding their role in gene expression and cancer. *Einstein (Sao Paulo).* 2021 Jul 16;19:eRB5996. doi: 10.31744/einstein_journal/2021RB5996. PMID: 34287566; PMCID: PMC8277234.

« K »

Karlson, Elizabeth W., et Kevin Deane. « Environmental and Gene-Environment Interactions and Risk of Rheumatoid Arthritis ». *Rheumatic Disease Clinics of North America* 38, n° 2 (mai 2012): 405-26. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2012.04.002>.

Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res.* 2019 Jan 8;47(D1):D155-D162. doi: 10.1093/nar/gky1141. PMID: 30423142; PMCID: PMC6323917.

« L »

Lagorce, Thibault, Jacques Buxeraud, et Xavier Guillot. « Comprendre l'arthrose ».

Actualités Pharmaceutiques 55, no 555 (avril 2016): 18 22.

<https://doi.org/10.1016/j.actpha.2016.02.005>.

Liesbet Lieben « Rheumatoid Arthritis ». Nature Reviews Disease Primers 4, no 1 (8 février 2018): 18002. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.2>.

Liu W, Wang X. Prediction of functional microRNA targets by integrative modeling of microRNA binding and target expression data. Genome Biol. 2019 Jan 22;20(1):18. doi: 10.1186/s13059-019-1629-z. PMID: 30670076; PMCID: PMC6341724.

« M »

McGeary SE, Lin KS, Shi CY, Pham TM, Bisaria N, Kelley GM, Bartel DP. The

biochemical basis of microRNA targeting efficacy. Science. 2019 Dec

20;366(6472):eaav1741. doi: 10.1126/science.aav1741. Epub 2019 Dec 5. PMID: 31806698;

PMCID: PMC7051167.

Mercadante JR, Marappa-Ganeshan R. Anatomy, Skin Bursa. 2022 Oct 8. In:

Mourelatos Z, Dostie J, Paushkin S, Sharma A, Charroux B, Abel L, Rappsilber J,

Mann M, Dreyfuss G. miRNPs: a novel class of ribonucleoproteins containing numerous microRNAs. Genes Dev. 2002 Mar 15;16(6):720-8. doi: 10.1101/gad.974702. PMID: 11914277; PMCID: PMC155365.

Musset, L., et P. Ghillani-Dalbin. « La polyarthrite rhumatoïde : apport de la biologie au diagnostic et au suivi thérapeutique ». *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 28, n° 5-6 (octobre 2013): 281-86. <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2013.05.001>.

« N »

Nemtsova MV, Zaletaev DV, Bure IV, Mikhaylenko DS, Kuznetsova EB, Alekseeva

« P »

Paleolog EM. The vasculature in rheumatoid arthritis: cause or consequence? *Int J Exp Pathol.* 2009 Jun;90(3):249-61. doi: 10.1111/j.1365-2613.2009.00640.x. PMID: 19563609; PMCID: PMC2697549.

Peng L, Zhu N, Mao J, Huang L, Yang Y, Zhou Z, Wang L, Wu B. Expression levels of CXCR4 and CXCL12 in patients with rheumatoid arthritis and its correlation with disease activity. *Exp Ther Med.* 2020 Sep;20(3):1925-1934. doi: 10.3892/etm.2020.8950. Epub 2020 Jun 26. PMID: 32782501; PMCID: PMC7401245.

Reviews. *DiseasePrimers* 4 (février): 18001. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.1>

« R »

Richez, Christophe, Thomas Barnetche, Thierry Schaeffer, et Marie-Elise Truchetet. « La polyarthrite rhumatoïde : une physiopathologie mieux connue ? » *Revue du Rhumatisme Monographies* 84, n° 4 (septembre 2017): 311-17.
<https://doi.org/10.1016/j.monrhu.2017.07.006>.

« S »

S. Firestein, Arthur Kavanaugh, et al. 2018. « Rheumatoid Arthritis ». *Nature*

Sany, Jacques. Polyarthrite rhumatoïde de l'adulte: conception actuelle. John Libbey Eurotext, 2003.

Seidman AJ, Limaïem F. Synovial Fluid Analysis. 2022 May 8. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 30725799

Smith MH, Berman JR. What Is Rheumatoid Arthritis? *JAMA.* 2022;327(12):1194. doi:10.1001/jama.2022.0786)

Smolen, Josef S., Daniel Aletaha, Anne Barton, Gerd R. Burmester, Paul Emery, Gary Song YJ, Li G, He JH, Guo Y, Yang L. Bioinformatics-Based Identification of MicroRNA-Regulated and Rheumatoid Arthritis-Associated Genes. *PLoS One.* 2015 Sep 11;10(9):e0137551. doi: 10.1371/journal.pone.0137551. PMID: 26359667; PMCID: PMC4567271.

Sophia Fox AJ, Bedi A, Rodéo SA. La science fondamentale du cartilage articulaire : structure, composition et fonction. Santé sportive. 2009 novembre;1(6):461-8. doi : 10.1177/1941738109350438. PMID : 23015907 ; PMCID : PMC3445147.

Sophie Dupont, Christian Latrémouille, Jean Marie Le Minor, Nicolas Pirró, Philippe Sèbe, et Christian Vacher. *Toute l'UE 5-Anatomie-Cours+ QCM: Organisation des appareils et des systèmes-Aspects morphologiques et fonctionnels.* Elsevier Health Sciences, 2019.

Stanford SM, Aleman Muench GR, Bartok B, Sacchetti C, Kiosses WB, Sharma J, Maestre MF, Bottini M, Mustelin T, Boyle DL, Firestein GS, Bottini N. TGF β responsive tyrosine phosphatase promotes rheumatoid synovial fibroblast invasiveness. Ann Rheum Dis. 2016 Jan;75(1):295-302. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-205790. Epub 2014 Nov 6. PMID: 25378349; PMCID: PMC4422771.

StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. PMID: 32119325.

« T »

Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Interleukin (IL-6) Immunotherapy. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2018 Aug 1;10(8):a028456. doi: 10.1101/cshperspect.a028456. PMID: 28778870; PMCID: PMC6071487.

« V »

Viatte S, Barton A. Genetics of rheumatoid arthritis susceptibility, severity, and treatment response. Semin Immunopathol. 2017 Jun;39(4):395-408. doi: 10.1007/s00281-017-0630-4. Epub 2017 May 29. PMID: 28555384; PMCID: PMC5486781.

« W »

Wang HJ, Zhang PJ, Chen WJ, Jie D, Dan F, Jia YH, Xie LX. Characterization and Identification of novel serum microRNAs in sepsis patients with different outcomes. Shock. 2013 Jun;39(6):480-7. doi: 10.1097/SHK.0b013e3182940cb8. PMID: 23612084.

Wienholds E, Plasterk RH. MicroRNA function in animal development. FEBS Lett. 2005 Oct 31;579(26):5911-22. doi: 10.1016/j.febslet.2005.07.070. Epub 2005 Aug 10. PMID: 16111679.

« Y »

Yarwood A, Huizinga TW, Worthington J. The genetics of rheumatoid arthritis: risk and protection in different stages of the evolution of RA. *Rheumatology (Oxford)*. 2016 Feb;55(2):199-209. doi: 10.1093/rheumatology/keu323. Epub 2014 Sep 18. PMID: 25239882; PMCID: PMC4710800.)

Yin F, Luo SL, Yuan F, Peng Z, Zhou W, Fang L, Cai JF. Regulation different network analysis of rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA). *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013 Sep;17(18):2504-11. PMID: 24089231.

« Z »

Zafari P, Yari K, Mostafaei S, Iranshahi N, Assar S, Fekri A, Taghadosi M. Analysis of Helios gene expression and Foxp3 TSDR methylation in the newly diagnosed Rheumatoid Arthritis patients. *Immunol Invest*. 2018 Aug;47(6):632-642. doi: 10.1080/08820139.2018.1480029. Epub 2018 May 31. PMID: 29851536.

Zamanpoor M. The genetic pathogenesis, diagnosis and therapeutic insight of rheumatoid arthritis. *Clin Genet*. 2019 May;95(5):547-557. doi: 10.1111/cge.13498. Epub 2019 Jan 28. PMID: 30578544.)

Liste des Annexe

Liste des Annexes

Tableau I : Les facteurs de risque environnementaux impliqués dans la PR.

Facteurs	Effets
Tabac	L'exposition aux toxines chimiques pourrait provoquer une réaction inflammatoire locale et favoriser l'expression de PADI4 , elles-mêmes capable d'augmenter la citrullination des protéines (Christophe et al., 2017) .
Infections	Des études récentes suggèrent que l'inflammation des gencives et en particulier l'infection par des organismes tels que <i>Porphyromonas gingivalis</i> peuvent être impliqués dans la physiopathologie du développement de la PR. L'hypothèse actuelle est que la citrullination médiée par <i>P. ging</i> des peptides humains peuvent être responsable de la rupture initiale de l'auto-tolérance qui conduit au développement de l'auto-immunité liée à la PR (Karlson et Deane, 2013).
Alimentation	L'apport alimentaire en vitamine D, en antioxydants, en poisson, en protéines et en fer peut être inversement associé au risque de PR. La vitamine D a été impliquée comme facteur étiologique et thérapeutique dans plusieurs maladies auto-immunes, elle a des effets pléotropes sur le système immunitaire, inhibant les cytokines pro-inflammatoires, régulant à la hausse les cytokines anti-inflammatoires, et régulant le système immunitaire inné et adaptatif et prévient le développement de l'arthrite inflammatoire dans les modèles murins induits par le collagène (Karlson et Deane, 2013).

-
- `fit2 <- contrasts.fit(fit, cont.matrix)`
 - `# compute statistics and table of top significant genes`
 - `fit2 <- eBayes(fit2, 0.01)`
 - `tT <- topTable(fit2, adjust="fdr", sort.by="B", number=250)`
 - `tT <- subset(tT,`
`select=c("ID", "P.Value", "Sequence.Length", "Genome.Context", "Target.Genes", "miRNA`
`_ID"))`
 - `write.table(tT, file=stdout(), row.names=F, sep="\t")`
 - `# Visualize and quality control test results.`
 - `# Build histogram of P-values for all genes. Normal test`
 - `# assumption is that most genes are not differentially expressed.`
 - `tT2 <- topTable(fit2, adjust="fdr", sort.by="B", number=Inf)`
 - `hist(tT2$adj.P.Val, col = "grey", border = "white", xlab = "P-adj",`
`ylab = "Number of genes", main = "P-adj value distribution")`
 - `# summarize test results as "up", "down" or "not expressed"`
 - `dT <- decideTests(fit2, adjust.method="fdr", p.value=0.05, lfc=0)`
 - `# Venn diagram of results`
 - `vennDiagram(dT, circle.col=palette())`
 - `# create Q-Q plot for t-statistic`
 - `t.good <- which(!is.na(fit2$F)) # filter out bad probes`
 - `qqt(fit2$t[t.good], fit2$df.total[t.good], main="Moderated t statistic")`
 - `# volcano plot (log P-value vs log fold change)`
 - `colnames(fit2) # list contrast names`
 - `ct <- 1 # choose contrast of interest`
 - `volcanoplot(fit2, coef=ct, main=colnames(fit2)[ct], pch=20,`
`highlight=length(which(dT[,ct]!=0)), names=rep('+', nrow(fit2)))`
 - `# MD plot (log fold change vs mean log expression)`
 - `# highlight statistically significant (p-adj < 0.05) probes`
 - `plotMD(fit2, column=ct, status=dT[,ct], legend=F, pch=20, cex=1)`
 - `abline(h=0)`
 - `#####`
 - `# General expression data analysis`
 - `ex <- exprs(gset)`
 - `# box-and-whisker plot`
 - `dev.new(width=3+ncol(gset)/6, height=5)`
-

- `ord <- order(gs) # order samples by group`
 - `palette(c("#1B9E77", "#7570B3", "#E7298A", "#E6AB02", "#D95F02", "#66A61E", "#A6761D", "#B32424", "#B324B3", "#666666"))`
 - `par(mar=c(7,4,2,1))`
 - `title <- paste ("GSE124373", "/", annotation(gset), sep = "")`
 - `boxplot(ex[,ord], boxwex=0.6, notch=T, main=title, outline=FALSE, las=2, col=gs[ord])`
 - `legend("topleft", groups, fill=palette(), bty="n")`
 - `dev.off()`

 - `# expression value distribution`
 - `par(mar=c(4,4,2,1))`
 - `title <- paste ("GSE124373", "/", annotation(gset), " value distribution", sep = "")`
 - `plotDensities(ex, group=gs, main=title, legend = "topright")`

 - `# UMAP plot (dimensionality reduction)`
 - `ex <- na.omit(ex) # eliminate rows with NAs`
 - `ex <- ex[!duplicated(ex),] # remove duplicates`
 - `ump <- umap(t(ex), n_neighbors = 15, random_state = 123)`
 - `par(mar=c(3,3,2,6), xpd=TRUE)`
 - `plot(ump$layout, main="UMAP plot, nbrs=15", xlab="", ylab="", col=gs, pch=20, cex=1.5)`
 - `legend("topright", inset=c(-0.15,0), legend=levels(gs), pch=20, col=1:nlevels(gs), title="Group", pt.cex=1.5)`
 - `library("mapproj") # point labels without overlaps`
 - `pointLabel(ump$layout, labels = rownames(ump$layout), method="SANN", cex=0.6)`

 - `# mean-variance trend, helps to see if precision weights are needed`
 - `plotSA(fit2, main="Mean variance trend, GSE124373")`
-

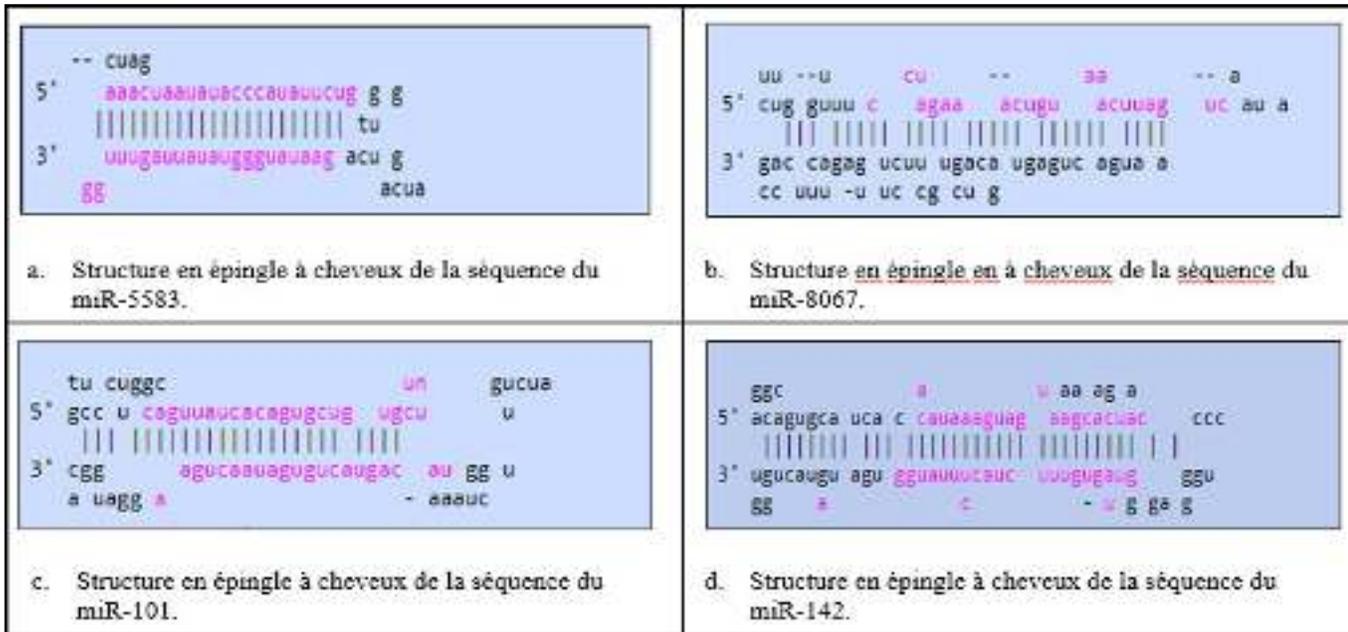


Figure 24 : Les structures en épingle à cheveux des séquences du quatre microRNA étudié. (Kozomara *et al.*, 2019)

- mir1184-1 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles .

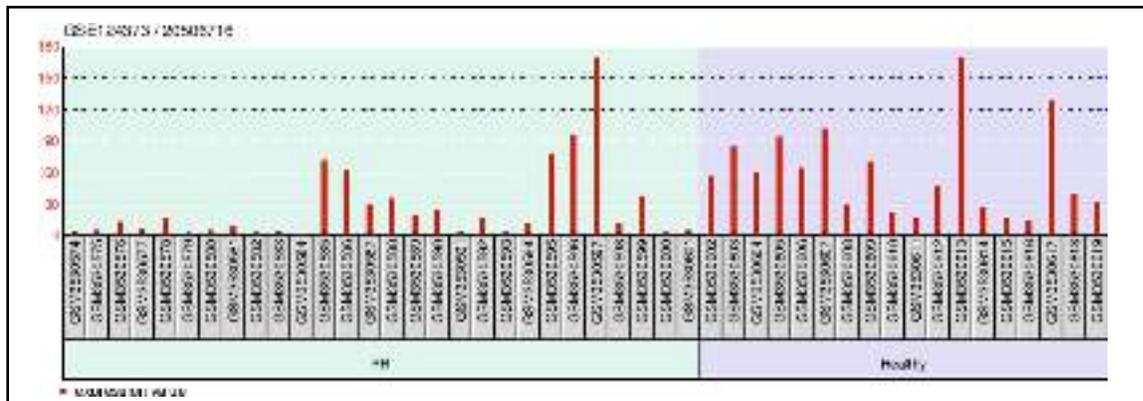


Figure 25 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR1184-1 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

- Mir1247 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles .

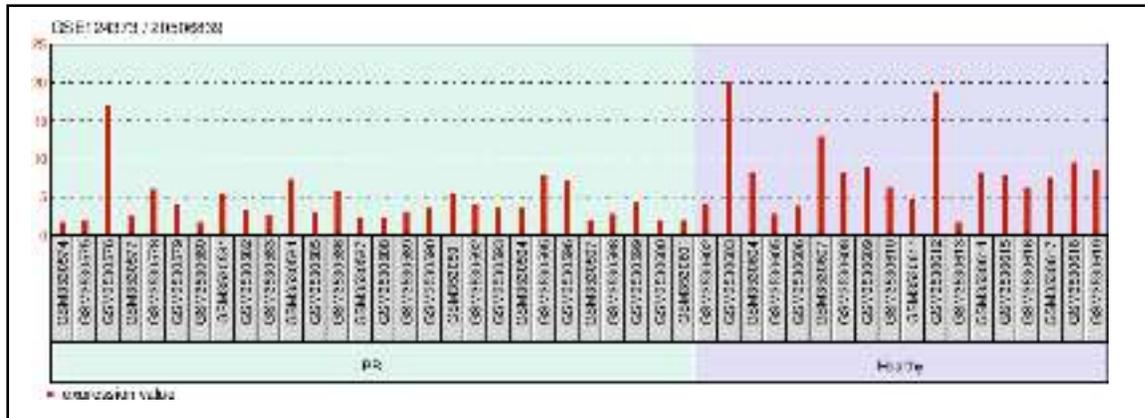


Figure 26 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR1247 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

- Mir4445 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles.

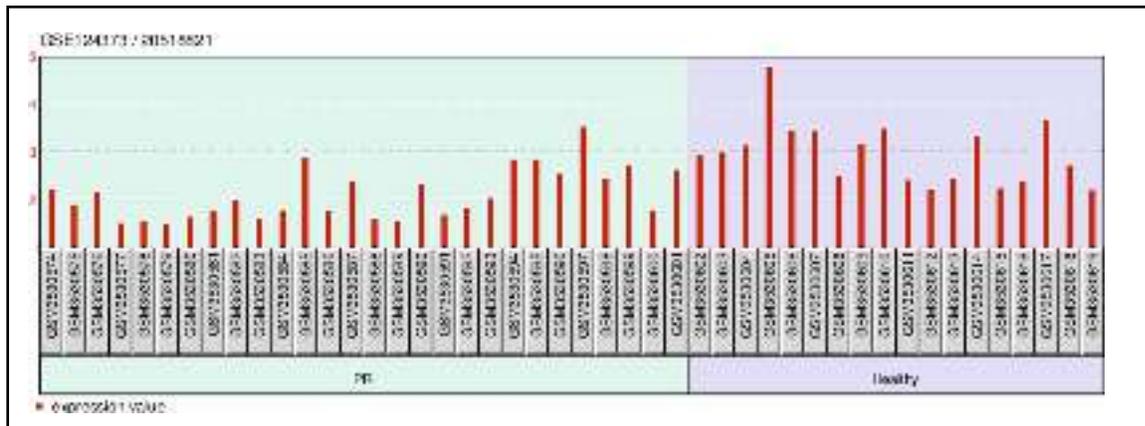


Figure 27 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR4445 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

- Mir4644 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles.

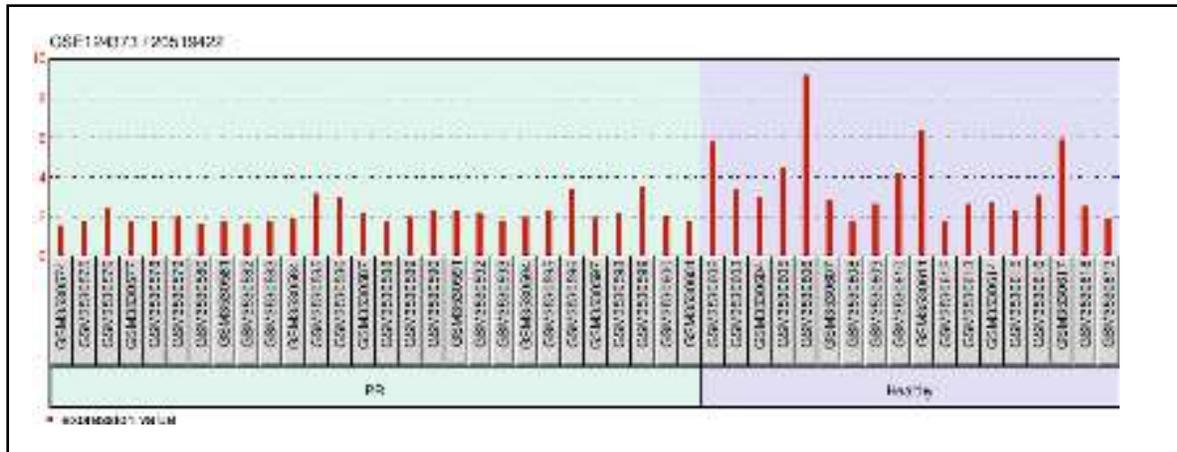


Figure 28 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR4644 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

- Mir6893 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles .

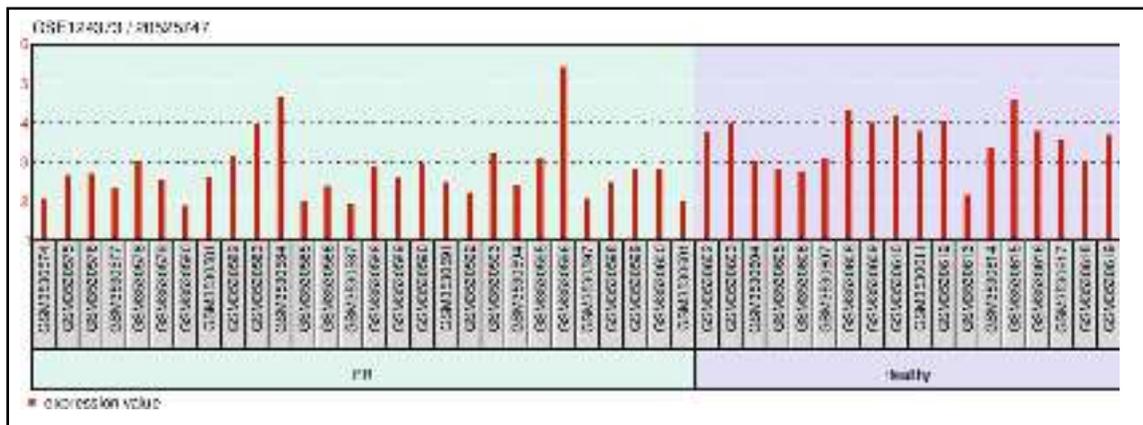


Figure 29 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR6893 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

- Mir6880 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles .

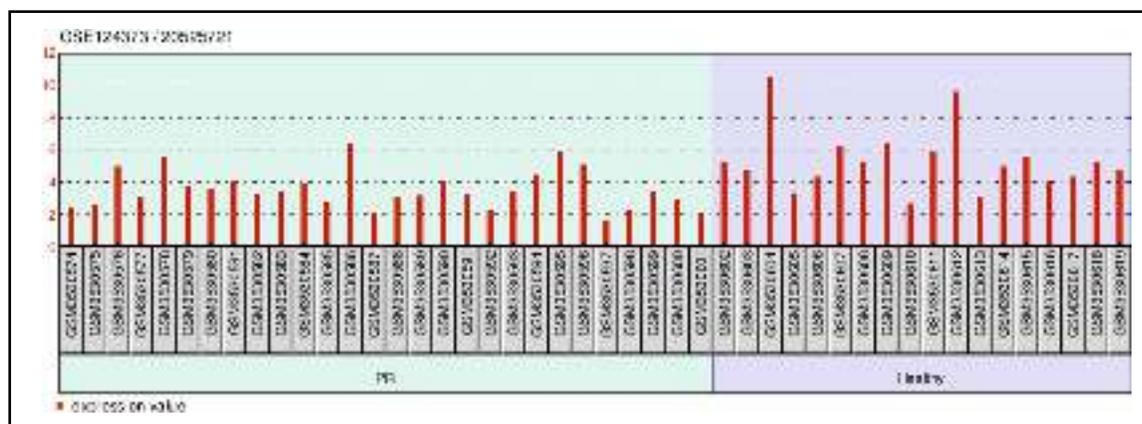


Figure 30 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR6880 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

- Mir4448 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles .

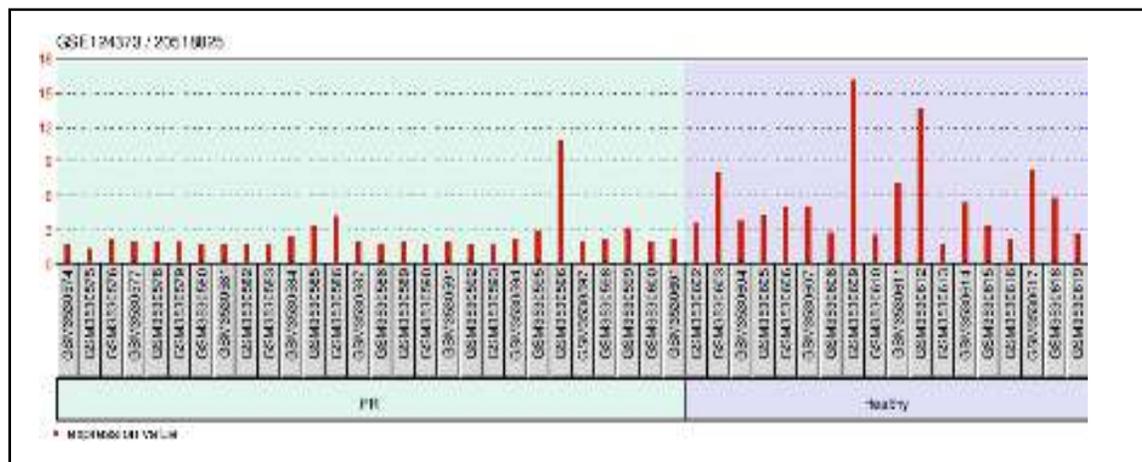


Figure 31 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR4448 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

- Mir4423 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles .

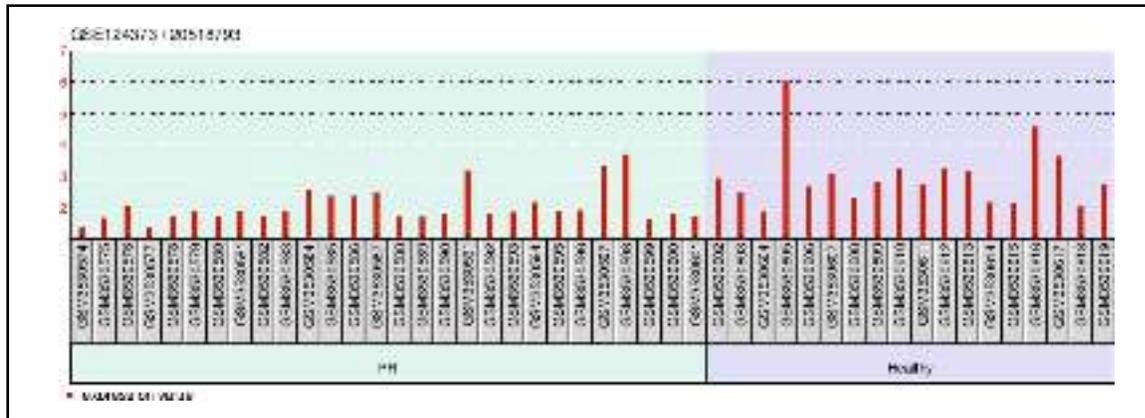


Figure 32 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR4423 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

- mir1468 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles.

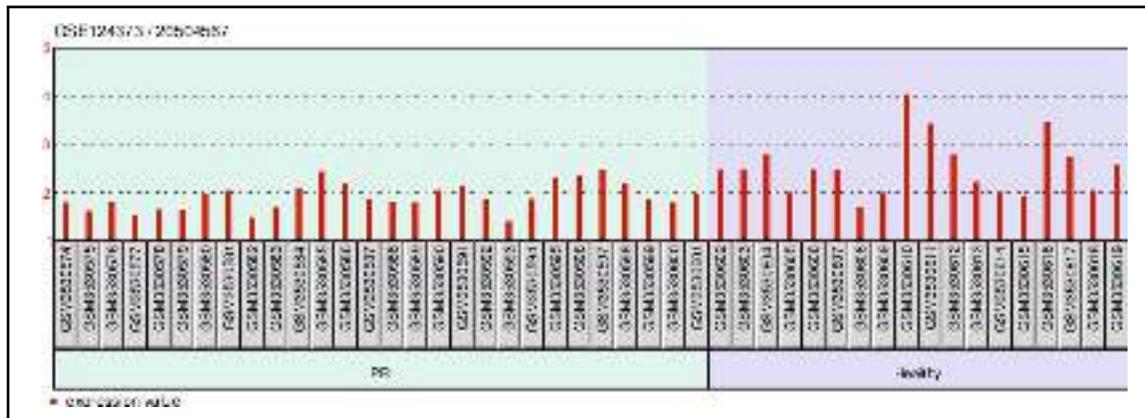


Figure 33 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR1468 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

- Mir1246 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles.

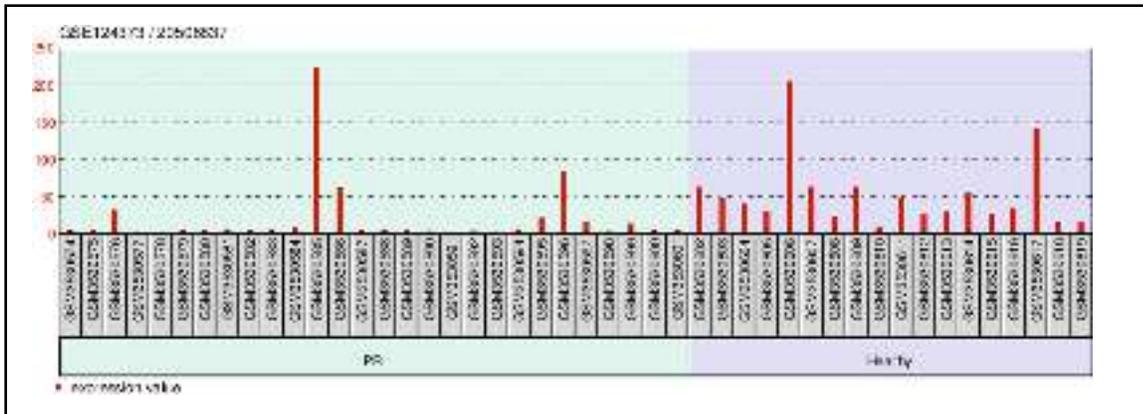


Figure 34 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR1246 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

- Mir3529 est sous-exprimé chez les patients atteints de PR avec une différence significative $p < 0.05$, par rapport à son expression chez les contrôles.

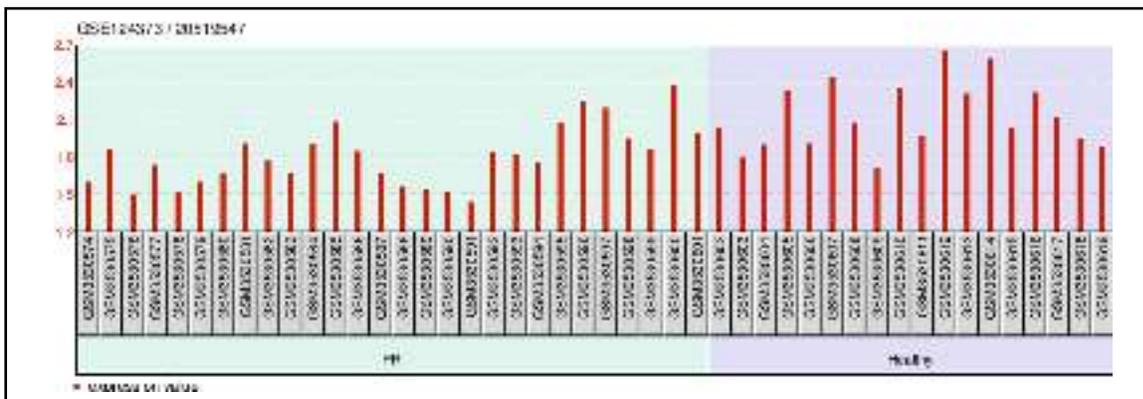


Figure 35 : Représentation par histogramme du taux d'expression de miR3529 chez les groupes d'étude (PR, témoins sains).

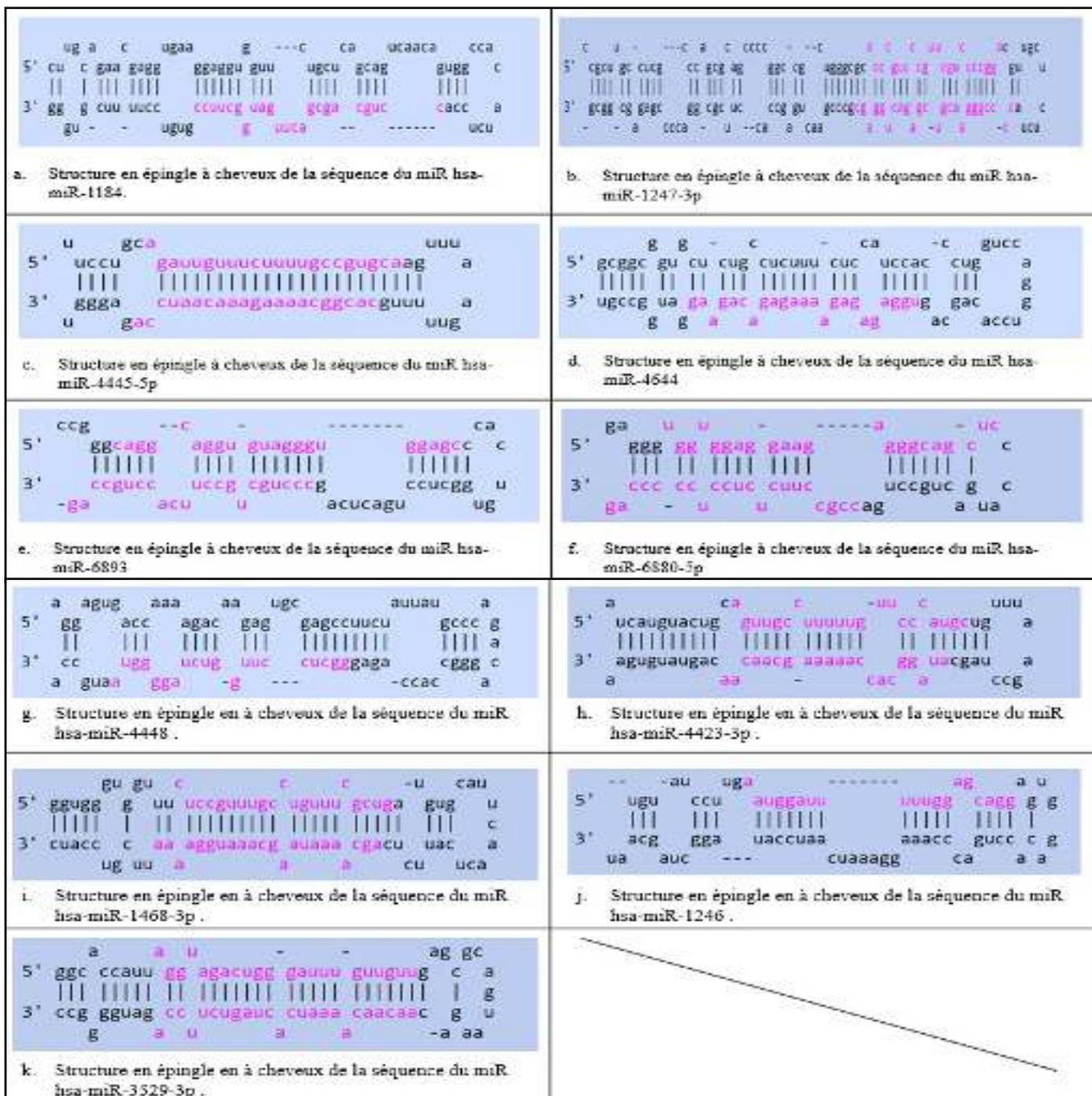


Figure 36 : Les structures en épingle à cheveux des séquences du microRNA sous-exprimés. (Kozomara et al., 2019)

