



Unité de pédagogie et de recherche en immunologie
Faculté de médecine et de pharmacie
Université Mohammed V - Rabat - Maroc



Mémoire pour l'obtention du DIPLOME NATIONAL DE SPECIALITE EN IMMUNOLOGIE

**MARQUEURS IMMUNOLOGIQUES DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE :
A PROPOS DE 65 CAS**

Présenté par : Dr. Imane YAKHLEF

Sous la direction du : Pr. Malika ESSAKALLI

Juillet 2021

Table des matières

<i>Liste des abréviations</i>	3
<i>Liste des figures</i>	4
<i>Liste des tableaux</i>	5
1. Introduction	1
2. Immunopathologie de la PR	2
2.1. Facteurs de risque	2
2.1.1. Facteurs de risque génétiques	2
2.1.1.1. Système HLA	2
2.1.1.1.1. Organisation génétique du CMH.....	2
2.1.1.1.2. Propriétés.....	3
2.1.1.1.3. Structure moléculaire (figure 2)	4
2.1.1.1.4. Fonctions du CMH	5
2.1.1.2. Autres gènes	6
2.1.2. Les facteurs de risque environnementaux.....	7
2.1.2.1. Le tabagisme	7
2.1.2.2. Les facteurs hormonaux	7
2.1.2.3. Les agents infectieux.....	7
2.1.2.4. Le déficit en vitamine D.....	7
3. Diagnostic de PR	8
3.1. Critères ACR	8
3.2. Les autoanticorps dans la polyarthrite rhumatoïde.....	8
3.2.1. Facteur rhumatoïde	8
3.2.2. Anticorps antipérimucléaires (APN) et antikératine (AKA)	9
3.2.3. Anticorps anti-peptides citrullinés (anti-CCP).....	9
3.2.4. Anticorps anti-protéines carbamylées.....	9
4. Etude : marqueurs immunologiques et PR	10
4.1. Objectif de L'étude.....	10
4.2. Matériel et méthodes	10
4.2.1. Patients.....	10

4.2.2. Témoins	11
4.2.3. Extraction d'ADN et typage HLA	11
4.2.4. Recherche des autoanticorps.....	11
4.2.5. Analyses statistiques.....	11
4.3. Résultats	12
4.4. Discussion	21
<i>Résumé</i>	23
<i>Références</i>	24

Liste des abréviations

ACR	: American College of Rheumatology
Anti-CCP	: Anti-peptides cycliques citrullinés
CI	: complexes immuns
CMH	: Complexe majeur d'histocompatibilité
EULAR	: European Ligue Against Rheumatism
FR	: Facteur rhumatoïde
HLA	: Human leucocyte antigen
PR	: Polyarthrite rhumatoïde

Liste des figures

Figure 1: Position des gènes du CMH de classe I et II sur le bras court du chromosome 6 (19).	3
Figure 2: Structure moléculaire des molécules de classe I et de classe II du CMH.	5
Figure 3: L'interaction entre le récepteur pour l'antigène (TCR) du lymphocyte T, son corécepteur (CD4 ou CD8) et le complexe CMH-peptide (19).....	6

Liste des tableaux

Tableau 1: Fréquence des allèles HLA-DRB1* et -DQB1* chez les patients marocains atteints de PR et les témoins sains	13
Tableau 2: Fréquence des génotypes HLA-DRB1*/-DRB1* chez les patients marocains atteints de PR et les témoins sains.....	15
Tableau 3: Recherche des auto-anticorps chez les patients atteints de PR	17
Tableau 4: Fréquence des allèles HLA-DRB1* et -DQB1* chez les patients marocains atteints de PR en fonction du FR	18
Tableau 5: Fréquence des allèles HLA-DRB1* et -DQB1* chez les patients marocains atteints de PR en fonction des anti-CCP.....	20

1. Introduction

La PR est une maladie inflammatoire chronique d'étiologie auto-immune qui se caractérise par une inflammation symétrique des articulations synoviales. Elle affecte 1% de la population mondiale (1). Sa prévalence dans les populations occidentales est de 0,5 à 1% et elle est relativement similaire en Europe, en Amérique du Nord, en Asie et en Afrique du Sud (2). Les femmes sont 4 fois plus touchées entre l'âge de 35 et 55 ans (3,4).

La PR est extrêmement variable dans son évolution clinique, à la fois en termes de ses caractéristiques cliniques et de la gravité de sa présentation. En effet, la symptomatologie clinique peut aller d'un gonflement léger et indolent à une maladie fulminante conduisant rapidement à une destruction articulaire, une déformation et une altération des activités de la vie quotidienne (5).

Les facteurs de risque génétiques et environnementaux jouent un rôle clé dans la pathogenèse de la maladie (6,7). La probabilité d'hérédité de la PR est estimée à environ 60% (8). Le CMH s'avère être le facteur de risque génétique le plus important de la PR et représente 30 à 50% de la susceptibilité génétique globale. L'hypothèse de l'épitope partagé (SE) décrit la relation entre les molécules HLA-DRB1 et PR (9). Les allèles HLA-DRB1 codant pour le SE (DRB1*01, *04, *10 et *14) sont associés à la gravité structurelle de la PR et ont été plus récemment liés à la production d'anticorps anti-CCP (10). Le FR et les anticorps anti-CCP sont des auto-anticorps impliqués dans la pathogénie de la PR. Ces autoanticorps peuvent être principalement détectés dans le sérum et le liquide synovial des patients atteints de PR (11). Ils peuvent former des CI dans les articulations, entraînant l'activation du complément et l'activation directe des cellules immunitaires conduisant à la sécrétion de chimiokines et de cytokines qui peuvent augmenter la réponse immunitaire et contribuer à l'inflammation chronique et à la destruction osseuse (12). Ces anticorps sont détectables avant même l'apparition des signes cliniques. Les FR et les anti-CCP font partie des critères immunologiques de l'ACR/EULAR pour le diagnostic de la PR (13).

La sensibilité des FR (67%) et des anti-CCP (69%) pour la PR sont similaires, cependant les anti-CCP sont plus spécifiques pour la PR par rapport au FR (95 % vs 85 %) (14). Le FR n'est pas spécifique de la PR car elle peut se positiver dans d'autres maladies.

La présence d'auto-anticorps peut aussi être impliquée dans l'évaluation du risque d'évolution destructrice d'une polyarthrite débutante, ainsi que du développement d'une maladie plus sévère avec plus d'érosions articulaires au fil du temps (15). Cependant, leur valeur pronostique doit être associée à d'autres paramètres pour aboutir à un score composite (16).

2. Immunopathologie de la PR

2.1. Facteurs de risque

La PR est une maladie auto-immune multifactorielle issue de différents facteurs : génétiques, environnementaux, hormonaux, alimentaires, psychologiques.

2.1.1. Facteurs de risque génétiques

L'analyse moléculaire a révélé que l'association HLA et PR se limite à certains sous-types de DRB1*04 et de DRB1*01 qui ont en commun une séquence d'acides aminés (épitope partagé) à la position 70-74, correspondant à la troisième région hypervariable de la chaîne DRB1 (9). Cette séquence d'acides aminés est située dans la région impliquée dans la liaison des molécules du CMH aux antigènes pour leur présentation aux récepteurs des cellules T. Par contre, les allèles comprenant la séquence DERRA à la position 70-74, au niveau de la troisième région hypervariable, pourraient jouer un rôle protecteur (17).

2.1.1.1. Système HLA

Le CMH est un ensemble de gènes qui codent pour des glycoprotéines membranaires HLA (human leucocyte antigen). Les molécules HLA assurent la fonction de présentation de l'antigène et un rôle majeur dans la compatibilité tissulaire (18).

2.1.1.1.1. Organisation génétique du CMH

C'est un ensemble de gènes étroitement liés situés sur le bras court du Chromosome 6 (figure 1). Le CMH est composé de trois régions principales contenant chacune des gènes codant des produits qui se distinguent par leur structure, expression, régulation et fonction. Les régions du CMH I et II codent pour des molécules HLA alors que la région CMH III code pour des molécules non HLA.

- La région CMH-I : contient les 3 gènes HLA de classe I classique, HLA-A, HLA-B, HLA-C, et les gènes HLA non classiques, HLA-E, HLA-F, HLA-G ainsi que les gènes MIC-A et MIC-B.

- La région CMH-II : abrite les gènes HLA-DR, DQ et DP et d'autres gènes de classe II (DO, DM) et des gènes non apparentés.

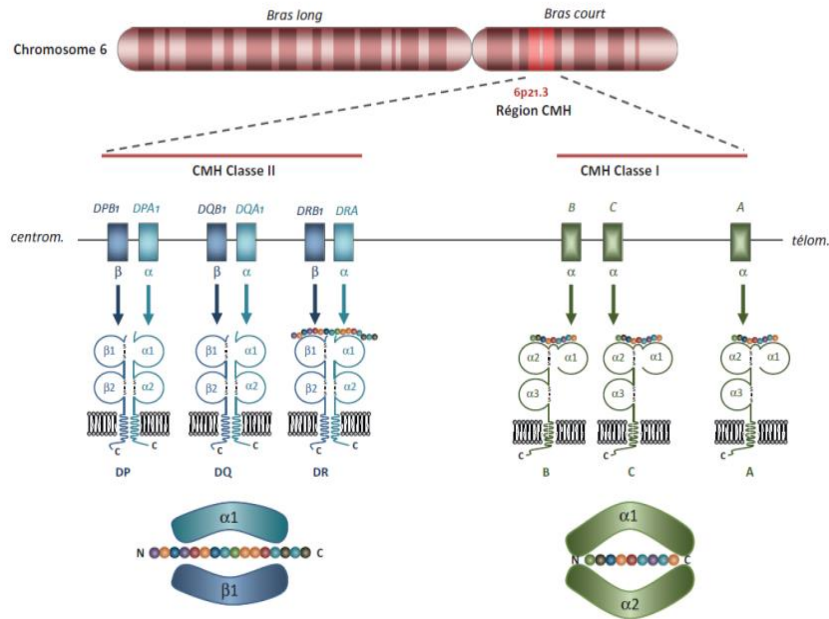


Figure 1: Position des gènes du CMH de classe I et II sur le bras court du chromosome 6 (19).

2.1.1.1.2. Propriétés

Les gènes du CMH sont caractérisés par :

- **Polymorphisme génétique multi-allélique** : il existe dans l'espèce humaine un très grand nombre d'allèles pour chaque gène HLA classique. Ce sont donc les gènes les plus polymorphiques du génome humain. Cette caractéristique rend chaque individu quasiment unique.

- **Transmission « en bloc »** : selon les lois de Mendel, l'ensemble des gènes HLA de l'un des chromosomes 6 paternels et de l'un des chromosomes 6 maternels sont transmis sous forme d'haplotype (« bloc ») aux enfants. Au sein d'une famille, la probabilité d'une identité HLA entre frères ou sœurs est ainsi de 25%.

- **Codominance** : C'est la co-expression des molécules HLA codées par chaque haplotype sur la membrane cellulaire. Un individu hétérozygote exprime sur ses cellules les produits des deux allèles donc : 2 HLA A, 2 B, 2 C, 2 DR, 2 DQ et 2 DP (12 en tout).

- **Déséquilibre de liaison** : Ceci signifie que la probabilité de trouver associés deux allèles de deux gènes est supérieure au simple hasard. Association fréquente du HLA-B8 à HLA-A1 dans la population caucasienne.

2.1.1.1.3. Structure moléculaire (figure 2)

- **Les molécules HLA de classe I**

Elles sont composées d'une chaîne α lourde codée dans la région I du CMH, d'un poids approximatif de 44 kDa, reliée d'une façon non covalente à une chaîne légère : β_2 microglobuline (12 kDa) (B2M). La chaîne α est polymorphe et comporte 3 parties : la partie extracellulaire formée de 3 domaines ($\alpha 1$, $\alpha 2$ et $\alpha 3$). La partie transmembranaire, hydrophobe et une courte queue intracytoplasmique. Les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$, très variables, délimitent une poche formant un site de liaison et peut accueillir des peptides antigéniques (8 à 10 acides aminés). Le domaine $\alpha 3$ est plus constant et porte un site d'interaction avec la molécule CD8 des lymphocytes T cytotoxiques. La β_2 microglobuline est totalement extracellulaire et s'associe de façon non covalente au niveau du domaine $\alpha 3$. C'est un composant essentiel de la molécule nécessaire à sa stabilité et à son expression à la surface cellulaire. Les molécules CMH classe I sont exprimées à la surface de la quasi-totalité des cellules nucléées de l'organisme.

- **Les molécules HLA de classe II**

Elles sont composées d'une chaîne α et d'une chaîne β , toutes deux codées dans la région II du CMH. Les deux chaînes sont associées d'une façon non covalente à la membrane cellulaire. Chaque chaîne est organisée en domaines : 2 domaines externes $\alpha 1$, $\alpha 2$ et $\beta 1$, $\beta 2$ respectivement, un domaine hydrophobe transmembranaire et un domaine intra cytoplasmique C terminal. Les domaines $\alpha 1$ et $\beta 1$ forment ensemble le site de liaison du peptide. Contrairement aux molécules de classe I, la fente de liaison aux peptides des molécules de classe II est « ouverte », ce qui permet l'accommodation de peptides plus gros de 15 à 20 acides aminés de long. Le domaine $\beta 2$ comporte pour sa part le site de liaison du corécepteur CD4 des lymphocytes T helper. Les molécules CMH de classe II ont une expression plus restreinte que celle de la classe I et sont décelables à la surface des lymphocytes B, des monocytes, des macrophages et des cellules dendritiques

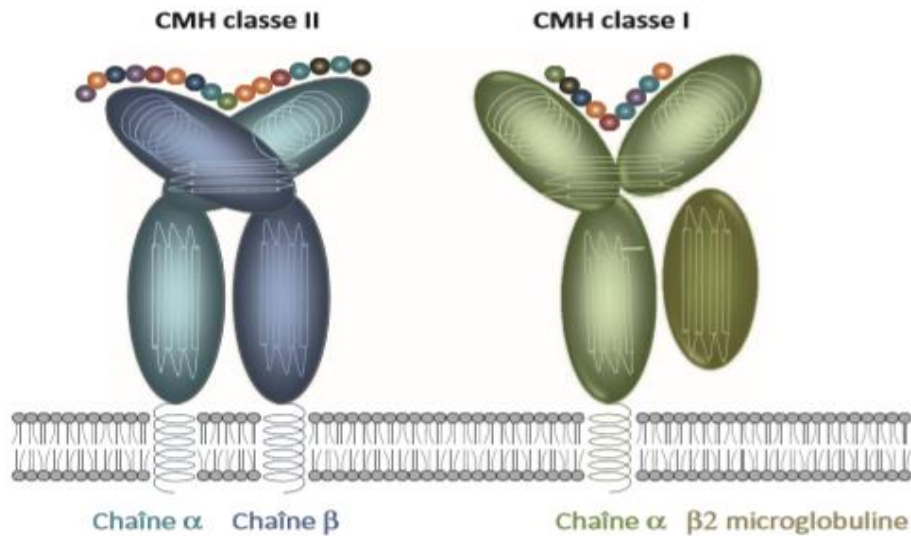


Figure 2: Structure moléculaire des molécules de classe I (en vert) et de classe II (en bleu) du CMH.

2.1.1.1.4. Fonctions du CMH

- **La sélection thymique :**

Les molécules HLA présentent des peptides aux lymphocytes T via leur TCR et cette reconnaissance spécifique permet tout d'abord d'assurer deux types de sélection du répertoire T dans le thymus. La sélection positive qui permet aux seuls LT dont le TCR reconnaît le CMH de survivre et la sélection négative qui élimine tous les L T qui reconnaissent de façon exagérée le CMH et peptides du soi. Ces deux processus génèrent des LT matures restreints au CMH du soi et auto tolérants.

- **La présentation des peptides :**

La fonction essentielle des molécules du CMH est de fixer des peptides antigéniques et de les présenter à la surface cellulaire aux lymphocytes T.

Ces molécules présentent les peptides dérivés de protéines endogènes (peptides du soi synthétisées par les cellules ou protéines virales) aux lymphocytes T CD8. Alors que les molécules CMH de classe II présentent des peptides provenant de la dégradation de protéines exogènes, telles que les bactéries, aux lymphocytes T CD4. Cette répartition dans les fonctions s'effectue par des interactions moléculaires spécifiques entre les CD8 et les molécules classe I du CMH, et entre les CD4 et les molécules classe II du CMH (figure 3).

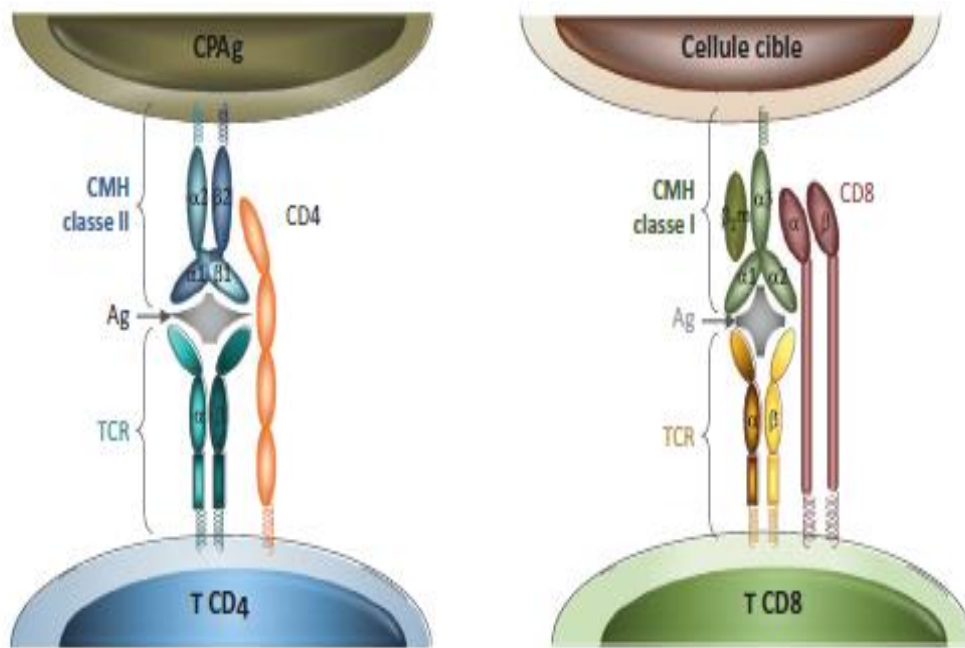


Figure 3: L'interaction entre le récepteur pour l'antigène (TCR) du lymphocyte T, son corécepteur (CD4 ou CD8) et le complexe CMH-peptide (19).

- **CMH et cellules Natural killer (NK) :**

Les cellules NK possèdent à leur surface des récepteurs d'activation ainsi que des récepteurs d'inhibition de leur cytotoxicité. Les récepteurs inhibiteurs sont reconnus par certaines molécules HLA classe I. L'expression normale de ces molécules à la surface des cellules saines empêche physiologiquement la destruction de ces dernières par les cellules NK.

- **Autres fonctions**

Les molécules L'HLA-E et HLA-G pourraient jouer aussi un rôle important au cours de la gestation en empêchant les cellules du système immunitaire maternel d'attaquer les cellules fœtales portant des antigènes paternels.

2.1.1.2. Autres gènes

Gène codant la protéine (PTPN22) « Protein tyrosine phosphatase, non receptor type 22 » est l'association la plus forte avec la PR, après HLA-DRB1 (20).

Le gène PADI4 code l'enzyme peptidyl arginine deiminase 4 (PADI4) qui est impliqué dans la citrullination protéique, un événement clé sous-jacent à la pathogénie de la PR (21).

2.1.2. Les facteurs de risque environnementaux

2.1.2.1. Le tabagisme

Une étude a révélé que les femmes qui fumaient au moins 25 cigarettes par jour pendant plus de 20 ans présentaient un risque relatif modeste (RR) de 1,4 par rapport aux femmes n'ayant jamais fumé (22).

2.1.2.2. Les facteurs hormonaux

L'incidence de la PR est 2 à 3 fois plus élevée chez la femme que chez l'homme. La nulliparité est positivement corrélée à la susceptibilité à la PR, tandis que la grossesse et l'allaitement sont associés à la rémission de la maladie(23).

2.1.2.3. Les agents infectieux

Plusieurs données indiquent une relation intéressante entre la maladie parodontale et la polyarthrite rhumatoïde. La parodontite est un processus inflammatoire des gencives caractérisé par une colonisation bactérienne chronique et a été fortement associée à la destruction progressive des tissus parodontaux (24).

2.1.2.4. Le déficit en vitamine D

Une relation inverse entre la survenue et l'activité d'une PR et le taux de vitamine D a été documentée dans la plupart des études épidémiologiques. Cependant, l'amélioration de l'activité de la PR lors d'une supplémentation en vitamine D ne permet pas de trancher de façon définitive sur l'effet immunomodulateur de la vitamine D au cours de la PR (25).

3. Diagnostic de PR

3.1. Critères ACR

Les critères diagnostics les plus récents ont été élaborés conjointement par l'ACR et la Ligue européenne contre le rhumatisme (European Ligue Against Rheumatism EULAR) (13). Selon ces critères, le patient est atteint de PR s'il / elle a au moins une articulation enflée - non expliquée par une autre maladie Et/ou au moins 6 points lorsqu'il est noté comme suit :

- Atteinte de 2 à 10 grosses articulations (et pas de petites articulations) : 1 point
- Atteinte de 1 à 3 petites articulations : 2 points
- Atteinte de 4 à 10 petites articulations : 3 points
- Atteinte de plus de 10 articulations (dont au moins une petite articulation) : 5 points
- Facteur rhumatoïde et / ou anti-CCP faiblement positif : 2 points
- Facteur rhumatoïde et / ou anti-CCP fortement positif : 3 points
- Protéine c-réactive élevée (CRP) ou vitesse de sédimentation (VS) : 1 point
- Durée > 6 semaines : 1 point

Par rapport aux anciens critères de diagnostic ACR de la PR, ces nouveaux critères permettent de diagnostiquer la PR à un stade plus précoce.

3.2. Les autoanticorps dans la polyarthrite rhumatoïde

Chez les adultes, la PR est généralement classée en deux types : la polyarthrite rhumatoïde séropositive et la polyarthrite rhumatoïde séronégative. La présence simultanée du FR et des anti-CCP indiquent une PR séropositive (26).

3.2.1. Facteur rhumatoïde

La recherche du FR représente toujours une étape nécessaire lors du diagnostic de cette affection, et leur présence est le critère de diagnostic biologique retenu par l'ACR. Le FR de type IgM est l'isotype le plus fréquent et le plus souvent utilisé dans le diagnostic de la PR. En revanche, son utilité en tant que biomarqueur est limitée par sa faible spécificité. En effet, le FR peut être identifié dans d'autres affections, notamment les maladies auto-immunes. Les techniques classiques d'agglutination initialement utilisées sont le Waaler-Rose et test au latex (27). Actuellement, Les techniques automatisables telles que la néphélométrie ou

l'immunoabsorption par enzyme liée (ELISA) ont progressivement remplacé les méthodes classiques en raison de leur simplicité et de leur plus grande reproductibilité (28).

3.2.2. Anticorps antipérimucléaires (APN) et antikératine (AKA)

Ce sont les premiers anticorps étudiés et recherchés par immunofluorescence indirecte. Ils reconnaissent la filagrine et son précurseur, la profilagrine (29,30). Ces deux anticorps ont une très bonne spécificité, supérieure à 90 % pour les AKA (31). Cependant, leur recherche n'est plus recommandée pour le diagnostic de la PR à cause de leur faible sensibilité due à la subjectivité de leur détection et l'absence de standardisation de l'antigène.

3.2.3. Anticorps anti-peptides citrullinés (anti-CCP)

Les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP) représentent un marqueur diagnostique de haute sensibilité et spécificité dans la PR (28) et sont recommandés par les critères ACR/EULAR (European League Against Rheumatism). Ils sont présents chez 50 à 70% des patients atteints de PR et sont connus pour reconnaître plusieurs antigènes citrullinés, tels que l' α -énolase, le fibrinogène, la filaggrine, la vimentine et le collagène de type II (CII) (32). Les anti-CCP peuvent être présents pendant de nombreuses années avant que les symptômes articulaires ne se développent, et sont prédictifs de la progression vers la PR. De plus, la présence de ces anticorps est étroitement associée à une progression radiologique et au pronostic sévère de la maladie (32). Cependant, les anti-CCP pouvaient être détectés dans d'autres maladies auto-immunes (33,34)

La recherche d'anticorps anti-CCP par méthode Elisa s'est développée ces dernières années. Ainsi, des tests de 1^{ère} génération ont été utilisés puis de 2^{ème} génération et offrent une meilleure sensibilité et spécificité pour le diagnostic de la PR. Toutes les trousse actuelles utilisent cette source de peptides CCP2. Des kits anti-CCP3 et anti-MCV (vimentine mutée citrullinée) ont été développés mais qui montrent peu d'intérêt supplémentaire par rapport aux anti-CCP2 (35,36).

3.2.4. Anticorps anti-protéines carbamylées

Les anticorps anti-CarP ciblent les protéines carbamylées (37) qui résultent de la conversion des lysines en homocitrullines. La prévalence de ces anticorps est plus élevée chez les patients atteints de PR par rapport aux témoins (38,39). Ces Anticorps, impliqués dans la pathogenèse de la PR, peuvent apparaître des années avant l'apparition de la maladie (40). Leur présence est prédictive de la progression vers la destruction articulaire, en particulier chez les patients atteints de PR anti-CCP négatifs (41).

4. Etude : marqueurs immunologiques et PR

4.1. Objectif de L'étude

De nombreuses études ont rapporté le rôle de certains allèles HLA dans la pathogenèse de la PR ainsi que dans la progression et la sévérité de la maladie.

Une première étude sur l'association entre la PR et les molécules HLA de classe II a montré une fréquence significative de l'allèle HLA-DRB1*04 chez 49 patients marocains atteints de PR récente avec FR Positif (42).

L'objectif principal de notre travail est d'étudier la fréquence des allèles HLA classe II (HLA-DR et -DQ) sur un échantillon de 65 patients de la cohorte (Evolution et Suivi des Polyarthrites Récentes Indifférenciées au Maroc) ESPRIM (43). Par ailleurs nous nous sommes intéressées également à évaluer la fréquence des autoanticorps : anti-CCP et FR chez ces patients et à étudier l'association des molécules HLA-DR et -DQ dans les différents sous-groupes selon le statut anti-CCP et FR.

4.2. Matériel et méthodes

4.2.1. Patients

Il s'agit d'une étude cas-témoins rétrospective portant sur 65 patients marocains issus de la base ESPRIM. Cette cohorte marocaine multicentrique regroupe 200 patients âgés de 18 à 75 ans, recrutés entre décembre 2008 et mars 2012 ayant une arthrite indifférenciée ou une polyarthrite rhumatoïde évoluant depuis moins d'un an. Ils ont été suivis tous les six mois durant les deux premières années, puis tous les deux ans, avec une période de suivi de dix ans (43). Tous les patients remplissaient les critères diagnostiques de l'American College of Rheumatology (ACR) de 2010. Une biothèque (buffycoat et sérums), stockés à J0 de l'inclusion des patients, est conservée au laboratoire d'immunologie du « service de transfusion, d'immunologie et banque de cellules » du CHU IBN SINA. La cohorte ESPRIM a été approuvée par le Comité d'éthique de la recherche biomédicale de Rabat.

Les patients de notre étude ont bénéficié d'un typage HLA ainsi qu'une recherche d'autoanticorps : anti-CCP et FR.

4.2.2. Témoins

180 volontaires sains appariés par âge, sexe et origine ethnique ont été attribués comme témoins. Les résultats du typage HLA des témoins ont été extraits à partir de la base de données du service d'immunologie qui correspond à un total de 647 Marocains non apparentés (44).

4.2.3. Extraction d'ADN et typage HLA

L'ADN a été extrait à partir du buffycoat en utilisant le mini-kit QIA Amp DNA Blood (Qiagen). Le typage HLA HLA-DRB1 * et -DQB1 * a été réalisé par PCR-SSP à l'aide des plaques Micro SSP2L (One Lambda) en utilisant des plaques de génotypage HLA génériques. Tous les modes opératoires ont été effectués conformément aux recommandations du fabricant. L'analyse des données ainsi que l'interprétation des résultats de la PCR-SSP a été réalisée à l'aide du logiciel HLA Fusion (One lambda). Toutes les analyses ont été réalisées dans le laboratoire d'histocompatibilité du service de transfusion du CHU Ibn Sina de Rabat, Maroc.

4.2.4. Recherche des autoanticorps

Les Anticorps anti-CCP ont été recherchés par un test ELISA (Anti-CCP ELISA, Euroimmun, seuil de détection = 5 UI/ml). La recherche du facteur rhumatoïde a été effectuée par technique ELISA (ZEUS ELISA Rheumatoid Factor (RF) IgM Test System, seuil de détection = 6 UI/ml).

4.2.5. Analyses statistiques

Le calcul a été effectué à l'aide du progiciel SPSS pour Windows (version 20). A partir de modèles de régression logistique, nous avons obtenu des odds ratios et des intervalles de confiance à 95%, qui expriment la force de l'association entre les gènes HLA et le risque de PR et du statut sérologique. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour une valeur de p inférieur à 0,05.

4.3. Résultats

Notre échantillon était composé d'une majorité de femmes (87,7%) avec une moyenne d'âge de 47 ans. Les fréquences des allèles HLA-DRB1 et -DQB1, observée chez les 65 patients atteints de PR et les 180 témoins sains, figurent dans le tableau 1. Ces résultats montrent que la fréquence des allèles DRB1*04 ($p = 0.029$; OR= 1,87 ; 1,06 <IC< 3,30) et DRB1*11 ($P = 0.047$; OR=1,96 ; 1 < IC< 3,83) et DQB1*03 ($p= 0.003$; OR=1,94 ; 1,25<IC<3,02) chez les patients atteints de PR était significativement plus élevée que dans le groupe témoin. La fréquence des allèles DRB1*03 et *10 étaient plus élevées chez les patients atteints de PR que les témoins, mais cette différence est statistiquement non significative.

En revanche, la fréquence de HLA-DQB1*06 ($p= 0.011$; OR= 0,51 ; 0,309<IC<0,86) était significativement plus élevée chez le groupe témoin que chez les patients atteints de PR. De même les fréquences des groupes d'allèles DRB1*01, *07, *13, *14 et *15 étaient plus élevées dans le groupe témoin que chez les patients atteints de PR, mais cette différence est non statistiquement significative.

Tableau 1: Fréquence des allèles HLA-DRB1* et -DQB1* chez les patients marocains atteints de PR et les témoins sains

Groupe HLA DRB1/DQB1	Control (2n=360)		PR (2n=130)		OR (95% CI)	P value
	Effectif	Pourcentage	Effectif	Pourcentage		
DRB1						
DRB1*01	28	7,8	5	3,8	0,474 (0,179-1,256)	0,133
DRB1*03	42	11,7	20	15,4	1,377 (0,775-2,446)	0,276
DRB1*04	37	10,3	23	16,9	1,876 (1,067-3,300)	0,029
DRB1*07	68	18,9	15	11,5	0,56 (0,308-1,02)	0,058
DRB1*08	20	5,6	5	4,6	0,680 (0,250-1,851)	0,682
DRB1*09	1	0,3	2	1,5	5,609 (0,504-62,387)	0,161
DRB1*10	12	3,3	8	6,2	1,902 (0,759-4,763)	0,170
DRB1*11	24	6,7	16	12,3	1,965 (1,008-3,83)	0,047
DRB1*12	1	0,3	2	1,5	5,609 (0,504-62,387)	0,161
DRB1*13	51	14,2	15	11,5	0,793 (0,428-1,461)	0,453
DRB1*14	11	3,1	2	1,5	0,496 (0,108-2,267)	0,366
DRB1*15	62	17,2	13	10	0,534 (0,283-1,008)	0,053
DRB1*16	3	0,8	2	1,5	1,859 (0,307-11,295)	0,5
DQB1						
DQB1*1	4	1,1	2	1,5	1,391 (6,252-7,684)	0,705
DQB1*2	109	30,3	31	23,8	0,721 (0,454-1,144)	0,165
DQB1*3	77	21,4	45	34,6	1,946 (1,253-3,023)	0,003
DQB1*4	17	4,7	11	8,5	1,865 (0,849-4,095)	0,12
DQB1*5	49	13,6	19	14,6	1,086 (0,613-1,926)	0,77
DQB1*6	102	28,3	22	16,9	0,515 (0,309-0,86)	0,011

Chez les 65 patients atteints de PR, les fréquences des génotypes RB1*11 / DRB1*13 ($p=0.01$; OR= 14,91 ; $1,70<IC<130,23$) et DRB1*03 / DRB1*11 ($p<0.001$, OR= 7,12 ; $1,78<IC<28,43$) étaient significativement plus élevées par rapport aux témoins. L'association DRB1*03 / DRB1*04 ($p=0,05$; OR= 19,83 ; $0,95<IC<413,73$) étaient également plus fréquente chez ces patients, cependant la différence n'était pas statistiquement significative (tableau 2).

La fréquence des génotypes DRB1*13 / DRB1*15, DRB1*7/DRB1*13, DRB1*7 / DRB1*14 et DRB1*7 / DRB1*15 a été plus élevée chez les sujets témoins par rapport aux patients atteints de PR mais de façon non statistiquement significative. Certains génotypes n'ont pas été observés chez les patients atteints de PR (DRB1*01 / DRB1*07, DRB1*10 / DRB1*15, DRB1*11 / DRB1*15, DRB1*03 / DRB1*07, DRB1*07 / DRB1*14, DRB1*08 / DRB1*13).

Tableau 2: fréquence des génotypes HLA-DRB1*-/DRB1* chez les patients marocains atteints de PR et les témoins sains

Génotypes	Control (n=180)		PR (n=65)		OR (95% CI)	P value
	Effectif	Pourcentage	Effectif	Pourcentage		
DRB1*1 / DRB1*1	3	1,7	1	1,5	0,922 (0,094-9,023)	0,94
DRB1*1 / DRB1*11	1	0,6	0	0	0,345 (0,001 – 146,886)	0,73
DRB1*1 / DRB1*13	6	3,3	1	1,5	6,453 (0,054-3,837)	0,46
DRB1*1 / DRB1*14	1	0,6	0	0	0,345 (0,001 – 146,886)	0,73
DRB1*1 / DRB1*15	6	3,3	1	1,5	0,453 (0,054-3,837)	0,46
DRB1*1 / DRB1*3	0	0	1	1,5	19,122 (0,045-8152,294)	0,34
DRB1*1 / DRB1*4	2	1,1	2	3,1	2,825 (0,390-20,482)	0,30
DRB1*1 / DRB1*7	5	2,8	0	0	0,338 (0,22-5,136)	0,43
DRB1*1 / DRB1*8	1	0,6	0	0	0,345 (0,001-146,880)	0,73
DRB1*10 / DRB1*11	1	0,6	0	0	0,345 (0,001-146,880)	0,73
DRB1*10 / DRB1*13	1	0,6	1	1,5	2,577 (0,159-41,781)	0,50
DRB1*10 / DRB1*15	5	2,8	0	0	0,338 (0,022-5,136)	0,43
DRB1*11 / DRB1*11	0	0	1	1,5	19,122 (0,045-8152,294)	0,34
DRB1*11 / DRB1*13	1	0,6	5	7,7	14,917 (1,709-130,233)	0,01
DRB1*11 / DRB1*15	8	4,4	0	0	0,334 (0,039-2,886)	0,31
DRB1*12 / DRB1*13	1	0,6	2	3,1	5,683 (0,507-63,750)	0,15
DRB1*13 / DRB1*13	1	0,6	0	0	0,345 (0,001-146,880)	0,73
DRB1*13 / DRB1*14	2	1,1	1	1,5	1,391 (0,124-15,598)	0,78
DRB1*13 / DRB1*15	9	5,6	1	1,5	0,297 (0,037-2,390)	0,25
DRB1*13 / DRB1*16	1	0,6	1	1,5	2,797 (0,172-45,375)	0,46
DRB1*15 / DRB1*15	6	3,3	2	3,1	0,921 (0,181-4,680)	0,92
DRB1*3 / DRB1*10	2	1,1	1	1,5	1,391 (0,124-15,598)	0,78
DRB1*3 / DRB1*11	3	1,7	7	10,8	7,121 (1,783-28,435)	0,00
DRB1*3 / DRB1*13	8	4,4	2	3,1	0,683 (0,141-3,301)	0,63
DRB1*3 / DRB1*14	2	1,1	1	1,5	1,391 (0,124-15,598)	0,78
DRB1*3 / DRB1*15	9	5,0	2	3,1	0,603 (0,127-2,868)	0,52

DRB1*3 / DRB1*4	0	0	4	6,2	19,837 (0,951-413,737)	0,05
DRB1*3 / DRB1*7	15	8,3	0	0	0,323 (0,066-1,579)	0,16
DRB1*3 / DRB1*8	3	1,7	2	3,1	1,873 (0,306-11,470)	0,49
DRB1*4 / DRB1*10	2	1,1	3	4,6	4,306 (0,703-26,377)	0,11
DRB1*4 / DRB1*11	6	3,3	1	1,5	0,453 (0,054-3,837)	0,46
DRB1*4 / DRB1*13	7	3,9	0	0	0,335 (0,034-3,357)	0,35
DRB1*4 / DRB1*15	4	2,2	4	6,2	2,885 (0,700-11,891)	0,14
DRB1*4 / DRB1*4	3	1,7	3	4,6	2,855 (0,561-14,516)	0,20
DRB1*4 / DRB1*7	7	3,9	1	1,5	0,386 (0,047-3,201)	0,37
DRB1*4 / DRB1*8	2	1,1	2	3,1	2,825 (0,390-20,482)	0,30
DRB1*4 / DRB1*9	1	0,6	0	0	0,345 (0,001-146,880)	0,73
DRB1*7 / DRB1*10	0	0	3	4,6	19,594 (0,590-651,237)	0,09
DRB1*7 / DRB1*11	3	1,7	1	1,5	0,336 (0,061-2,739)	0,30
DRB1*7DRB1*13	8	4,4	1	1,5	0,527 (0,092-3,019)	0,47
DRB1*7 / DRB1*14	5	2,8	0	0	0,940 (0,101-8,720)	0,95
DRB1*7 / DRB1*15	8	4,4	1	1,5	0,336 (0,041-2,739)	0,30
DRB1*7 / DRB1*16	1	0,6	1	1,5	2,797 (0,172-45,375)	0,46
DRB1*7 / DRB1*7	6	3,3	2	3,1	0,921 (0,181-4,680)	0,92
DRB1*7 / DRB1*8	4	2,2	1	1,5	0,688 (0,075-6,266)	0,74
DRB1*7 / DRB1*9	0	0	2	3,1	0,345 (0,001-146,880)	0,73
DRB1*8 / DRB1*10	1	0,6	0	0	0,345 (0,001-146,880)	0,73
DRB1*8 / DRB1*11	1	0,6	0	0	0,345 (0,001-146,880)	0,73
DRB1*8 / DRB1*13	5	2,8	0	0	0,338 (0,022-5,136)	0,43
DRB1*8 / DRB1*14	1	0,6	0	0	0,345 (0,001-146,880)	0,73
DRB1*8 / DRB1*15	1	0,6	0	0	0,345 (0,001-146,880)	0,73
DRB1*8 / DRB1*16	1	0,6	0	0	0,345 (0,001-146,880)	0,73

L'analyse de la recherche des autoanticorps a montré que 44 patients (67,7%) étaient anti-CCP+, 56 patients (86,2%) FR+ (tableau 3).

Tableau 3: Recherche des auto-anticorps chez les patients atteints de PR

Variables	N = 65 Effectif (%)
Facteur Rhumatoïde *	
Négatif	9 (13,8%)
Positif	56 (86,2%)
Anti-CCP *	
Négatif	21 (32,3%)
Positif	44 (67,7%)
Anti-CCP+/FR+ *	42 (64,62%)
Anti-CCP+/FR- *	2 (3,08%)
Anti-CCP-/FR+ *	14 (21,54%)
Anti-CCP-/FR- *	7 (10,77%)

Les 65 patients atteints de PR ont été divisés en deux sous-groupes : FR positif (n = 56) et sous-groupe FR négatif (n = 9). Par rapport au groupe témoin, la fréquence de HLA-DRB1*04 dans le sous-groupe FR positif était significativement plus élevée (P = 0,044 ; OR: 8,71 ; IC à 95%: 1,06–71,54) (Tableau 4).

Tableau 4: Fréquence des allèles HLA-DRB1* et -DQB1* chez les patients marocains atteints de PR en fonction du FR

Groupe HLA DRB1/DQB1	FR positif n=56		FR Négatif (n=9)		OR (95% CI)	P value
	Effectif	Pourcentage	Effectif	Pourcentage		
DRB1						
DRB1*01	6	12,2	0	0	2,959 (0,235-37,259)	0,401
DRB1*03	17	34,7	3	18,8	2,302 (0,575-9,209)	0,238
DRB1*04	18	36,7	1	6,3	8,71 (1,06-71,547)	0,044
DRB1*07	9	18,4	4	25	0,675 (1,176-2,585)	0,566
DRB1*08	3	6,1	2	12,5	0,457 (0,069-3,012)	0,415
DRB1*09	1	2,0	1	6,3	0,313 (0,18-5,305)	0,421
DRB1*10	6	12,2	2	12,5	0,977 (0,177-5,401)	0,978
DRB1*11	10	20,4	5	31,3	0,564 (0,159-1,999)	0,375
DRB1*12	0	0	2	13,5	0,045 (0,001-3,334)	0,158
DRB1*13	6	37,5	6	37,5	0,375 (0,108-1,301)	0,122
DRB1*14	1	6,3	1	6,3	0,313 (0,18-5,305)	0,421
DRB1*15	2	12,5	2	12,5	1,575 (0,303-8,19)	0,589
DRB1*16	1	6,3	1	6,3	0,313 (0,018-5,305)	0,421
DQB1						
DQB1*1	1	2	0	0	2,717(0,006-180,801)	0,747
DQB1*2	24	49	6	37,5	1,6 (0,503-5,087)	0,426
DQB1*3	30	61,2	8	50	1,579 (0,507-4,918)	0,431
DQB1*4	6	12,2	2	12,5	0,977 (0,177-5,401)	0,978
DQB1*5	15	30,6	4	25	1,324 (0,366-4,781)	0,669
DQB1*6	14	28,6	5	31,3	0,88 (0,258-2,997)	0,838

Les patients ont été subdivisés également en sous-groupe anti-CCP-positif (n = 44) et anti-CCP négatif (n = 21). Par rapport au groupe témoin, la fréquence deHLA-DRB1*04 dans le sous-groupe anti-CCP positif était plus élevée de façon statistiquement significative ($p=0.026$; $OR=5,981$; $1,234<IC<28,992$) (tableau 5).

Tableau 5: Fréquence des allèles HLA-DRB1* et -DQB1* chez les patients marocains atteints de PR en fonction des anti-CCP

Groupe HLA DRB1/DQB1	Anti-CCP Positif n=44		Anti-CCP négatif (n=21)		OR (95% CI)	P value
	Effectif	Pourcentage	Effectif	Pourcentage		
DRB1						
DRB1*01	5	11,9	1	4,3	2,564 (0,280-23,460)	0,404
DRB1*03	13	31	7	30,4	0,839 (0,275-2,557)	0,757
DRB1*04	17	38,6	2	9,5	5,981 (1,234-28,992)	0,026
DRB1*07	10	23,8	3	13	1,765 (0,430-7,236)	0,430
DRB1*08	2	4,8	3	13	0,286 (0,44-1,858)	0,190
DRB1*09	2	4,8	0	0	3,794 (0,051-282,055)	0,544
DRB1*10	7		1	4,3	3,560 (0,428-29,645)	0,240
DRB1*11	7	16,7	8	34,8	0,307 (0,093-1,016)	0,053
DRB1*12	1	2,4	1	4,3	0,465 (0,028-7,820)	0,595
DRB1*13	9	21,4	6	26,1	0,643 (0,194-2,128)	0,469
DRB1*14	0	0	2	8,7	0,061 (0,001-4,577)	0,204
DRB1*15	6	14,3	5	21,7	0,804 (0,207-3,120)	0,753
DRB1*16	2	4,8	0	0	3,794 (0,051-282,065)	0,544
DQB1						
DQB1*1	1	2,4	0	0	3,715 (0,009-1609,22)	0,672
DQB1*2	20	47,6	10	43,5	0,917 (0,323-2,598)	0,870
DQB1*3	24	57,1	14	60,9	0,810 (0,279-2,346)	0,697
DQB1*4	4	9,5	4	17,4	0,738 (0,165-3,575)	0,738
DQB1*5	15	35,7	4	17,4	2,198 (0,627-7,711)	0,219
DQB1*6	11	26,2	8	34,8	0,244 (0,144-2,308)	0,616

4.4. Discussion

La PR est une pathologie auto-immune multifactorielle, avec une influence considérable des facteurs de risque génétiques. En effet, la probabilité d'hérédité de la PR est estimée à environ 60% (8). L'association génétique la plus forte se situe au sein du locus du CMH de classe II. Les groupes d'allèles HLA-DRB1*04, sont les plus fortement associés à la PR. Des variations entre les allèles de susceptibilité et de protection ont été notées en fonction des populations étudiées.

Dans notre étude, l'analyse de la distribution des allèles DRB1 a montré une augmentation significative de la fréquence des allèles HLA-DRB1*04 chez les patients marocains atteints de PR. Ceci confirme le résultat précédemment publié par Atouf et al (42) et suggère le rôle de cet allèle dans la prédisposition à la maladie dans la population Marocaine. Cette association a été rapporté dans plusieurs études (45–49). Les allèles HLA-DRB1 associés à la PR diffèrent en fonction des groupes ethniques. Ainsi d'autres allèles HLA de prédisposition ont été incriminés dans la PR. C'est le cas des allèles DRB1*09 chez les japonais (50), DRB1*01 chez les juifs israéliens (51) et le DRB1*10 chez les Brésiliens (52), Saoudiens (53) et Taïwanais (54). Il est intéressant de noter qu'il existe d'autres variantes du gène HLA-DRB1 qui semblent conférer une protection contre la maladie. C'est le cas des groupe d'allèles DRB1*13, DRB1*11, DRB1*07, DRB1*08 et DRB1*15, qui se sont révélés significativement plus faible chez les patients atteints de PR par rapport au groupe témoin dans de nombreuses études (48,55–58). Cependant, nos résultats montrent que HLA-DRB1*11 serait un allèle de susceptibilité et non pas de protection. Ceci implique qu'une autre étude sur un échantillon plus large peut aider à conclure concernant le rôle du DRB1*11 dans la susceptibilité à la PR. L'allèle DRB1 *07, rapporté comme étant un allèle de protection par Atouf et al (42), n'a pas été retrouvé, il est à noter que dans notre étude, cet allèle était sous-représenté chez les patients atteints de PR par rapport aux témoins mais de façon non statistiquement significative.

Notre étude s'est intéressée aussi à l'association du gène DQB1* à la PR chez la population Marocaine. Nos résultats suggèrent la prédisposition de l'allèle DQB1*03 à la maladie et un rôle protecteur de l'allèle DQB1*06. Toutefois, compte tenu du fort déséquilibre de liaison qui existe entre les locus DRB1 et DQB1, il est difficile de conclure de façon définitive.

L'analyse des génotypes HLA DRB1*-DRB1* a révélé une association significative des deux génotypes DRB1*11 / DRB1*13 et DRB1*03 / DRB1*11 et la PR dans la population

marocaine et pourraient représenter donc des génotypes à risque pour la survenue de la PR. Ces résultats sont différents de ceux trouvés par Biljana et ses collaborateurs (59), qui ont constaté que le génotype DRB1*04 / DRB1*04 et DRB1*04/ DRB1*03 étaient les plus fréquents chez les patients atteints de PR.

La fréquence des autoanticorps retrouvée chez nos malades (67,7% des patients sont anti-CCP+ et 86,2% sont FR+) ainsi que la fréquence du profil anti-CCP+/FR+ (64,62%) sont comparables aux résultats déjà publiés (60,61).

Nous avons également étudié l'association entre les allèles HLA-DRB1* et les autoanticorps dans le sérum des patients atteints de PR. La PR anti-CCP positive et anti-CCP négative sont deux sous-types de PR cliniquement et génétiquement distincts (62). Des études antérieures ont montré des corrélations significatives entre la présence d'allèles SE et la positivité des anticorps anti-CCP chez les patients atteints de PR (38,39,63). Dans notre étude, l'allèle HLA-DRB1*04 était associés à la présence d'anticorps anti-CCP et des FR. Ce résultat semble être cohérent avec la plupart des rapports précédemment publiés (64,65). Cependant, le DRB1*11 qui a été noté comme allèle de prédisposition à la PR n'est pas impliqué dans le statut sérologique, ceci est dû probablement au fait que le DRB1*11 est associé à la prédisposition à la maladie mais non pas à sa sévérité contrairement au DRB1*04.

De plus, plusieurs études ont souligné que le DRB1*09 et le DRB1*03 semblait être plus élevée chez les patients atteints de PR sans anticorps anti-CCP par rapport aux patients atteints de PR avec anticorps anti-CCP (37,66–68). Dans notre étude, vu le nombre faible de patients sans anticorps anti-CCP, nous n'avons pas pu soulever une association entre les allèles HLA-DRB1 et le statut séronégatif des patients atteints de PR.

En conclusion, notre étude constitue la 2^{ème} étude qui s'est intéressée à l'étude de l'association HLA classe II et la PR. Nous avons pu confirmer les résultats concernant l'allèle DRB1* 04 qui a été rapporté comme étant un allèle de prédisposition. Il serait intéressant de compléter par un typage spécifique pour identifier l'allèle spécifique portant l'épitope partagé d'une part. D'autre part, une étude sur un échantillon plus large serait nécessaire pour confirmer les autres résultats et ceci pour une meilleure connaissance du profil HLA des malades marocains atteints de PR.

Résumé

Objectifs

L'objectif de notre étude est d'évaluer la distribution et l'implication des gènes HLA-DRB1* et -DQB1* chez des patients Marocains atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) récente. Nous nous sommes intéressés également à analyser l'association entre les molécules HLA et la production des autoanticorps anti-CCP et FR chez ces patients.

Patients et méthodes :

65 patients répondant aux critères de PR de l'ACR, ont bénéficié d'un typage HLA classe II (DR et DQ) et de la recherche des anticorps anti-CCP et FR. La fréquence des allèles HLA a été comparée à celle de 180 témoins sains appariés par âge, sexe et origine ethnique.

Résultats :

La fréquence des allèles HLA-DRB1*04 et *11 est augmentée chez les patients par rapport aux témoins ($p = 0.029$; $OR = 1,87$; $1,06 < IC < 3,30$; $P = 0.047$; $OR = 1,96$; $1 < IC < 3,83$ respectivement). 56 patients (86,2%) étaient FR positif et 67,7% des patients ont une positivité de l'anti-CCP. Une augmentation significative de la fréquence des allèles DRB1*04 a été notée également chez les patients séropositifs.

Conclusion :

Nos résultats suggèrent la prédisposition de l'allèle HLA-DRB1*04 à la PR et au statut séropositifs des patients atteints de PR. Ceci pourrait être utile dans la prédiction de l'évolution de la PR et l'établissement d'un diagnostic chez certains patients à un stade précoce de la maladie.

Références

1. Alamanos Y, Voulgari P V., Drosos AA. Incidence and Prevalence of Rheumatoid Arthritis, Based on the 1987 American College of Rheumatology Criteria: A Systematic Review. *Semin Arthritis Rheum.* 2006;36(3):182–8.
2. Hunter TM, Boytsov NN, Zhang X, Schroeder K, Michaud K, Araujo AB. Prevalence of rheumatoid arthritis in the United States adult population in healthcare claims databases, 2004–2014. *Rheumatol Int.* 2017;37(9):1551–7.
3. Dadoun S, Zeboulon-Ktorza N, Combescure C, Elhai M, Rozenberg S, Gossec L, et al. Mortality in rheumatoid arthritis over the last fifty years: Systematic review and meta-analysis. *Jt Bone Spine.* 2013;80(1):29–33.
4. Gabriel SE. The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2001;27(2):269–81.
5. Kobelt G, Lindgren P, Lindroth Y, Jacobson L, Eberhardt K. Modelling the effect of function and disease activity on costs and quality of life in rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2005;44(9):1169–75.
6. Hoovestol RA, Mikuls TR. Environmental exposures and rheumatoid arthritis risk. *Curr Rheumatol Rep.* 2011;13(5):431–9.
7. Kochi Y, Suzuki A, Yamada R, Yamamoto K. Genetics of rheumatoid arthritis: Underlying evidence of ethnic differences. *J Autoimmun [Internet].* 2009;32(3–4):158–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaut.2009.02.020>
8. De Vries R. Genetics of rheumatoid arthritis: Time for a change! *Curr Opin Rheumatol.* 2011;23(3):227–32.
9. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The Shared Epitope Hypothesis. *Arthritis Rheum.* 1987;30(11):1205–12.
10. Holoshitz J. The rheumatoid arthritis HLA-DRB1 shared epitope. *Curr Opin Rheumatol.* 2010;22(3):293–8.
11. Trouw LA, Rispens T, Toes REM. Beyond citrullination: Other post-translational protein modifications in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol [Internet].* 2017;13(6):331–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2017.15>
12. Daha NA, Banda NK, Roos A, Beurskens FJ, Bakker JM, Daha MR, et al. Complement activation by (auto-) antibodies. *Mol Immunol.* 2011;48(14):1656–65.
13. Hua C, Combe B. Les nouveaux critères de classification ACR/EULAR 2010 pour un diagnostic plus précoce de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev du Rhum Monogr [Internet].* 2017;84(4):337–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.monrhu.2017.07.001>
14. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T. Annals of Internal Medicine Review Meta-analysis : Diagnostic Accuracy of Anti – Cyclic Citrullinated Peptide Antibody and Rheumatoid Factor for Rheumatoid Arthritis. *Ann Intern Med.*

- 2015;797.
15. Van Der Woude D, Syversen SW, Van Der Voort EIH, Verpoort KN, Goll GL, Van Der Linden MPM, et al. The ACPA isotype profile reflects long-term radiographic progression in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(6):1110–6.
 16. Des P, Les AP. Les anti-CCP en pratique – Anti-CCP antibodies for the practitioner. 2007;
 17. Anderson KM, Roark CL, Portas M, Aubrey MT, Rosloniec EF, Freed BM. A Molecular Analysis of the Shared Epitope Hypothesis: Binding of Arthritogenic Peptides to DRB1*04 Alleles. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(7):1627–36.
 18. Nicolas A, Jacob F, Pinon H, Michel B, Motta R, Nicolas A, et al. Le complexe majeur d'histocompatibilité : recombinaisons, pressions sélectives et évolution. 9.
 19. Collège des Enseignants d'Immunologie. Immunologie fondamentale et immunopathologie : Vol. 2, Elsevier Masson. 2018. 87–90 p.
 20. Chang X, Yamada R, Sawada T, Suzuki A, Kochi Y, Yamamoto K. The inhibition of antithrombin by peptidylarginine deiminase 4 may contribute to pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2005;44(3):293–8.
 21. Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Immunity* [Internet]. 2017;46(2):183–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2017.02.006>
 22. Krishnan E. Relations entre le tabagisme, le sexe et la survenue d'une polyarthrite rhumatoïde: Des résultats épidémiologiques à visée étiologique: Résultats tirés d'une étude de surveillance des facteurs de risque comportementaux. *Rev du Rhum (Edition Fr)*. 2003;70(12):1078–85.
 23. Le Guern V. Hormones sexuelles et auto-immunité. *La Press Médicale Form* [Internet]. 2020;1(1):36–41. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lpmfor.2020.03.019>
 24. Buxeraud J. Conséquences systémiques des maladies parodontales. *Actual Pharm*. 2017;56(567):47–50.
 25. Qualité C De, Merle L, Eveline B, Dominique B, Verena B, Danielle C, et al. *Rhumatismes Inflammatoires*. 2011;1–78.
 26. Nordberg LB, Lillegraven S, Lie E, Aga AB, Olsen IC, Hammer HB, et al. Patients with seronegative RA have more inflammatory activity compared with patients with seropositive RA in an inception cohort of DMARD-naïve patients classified according to the 2010 ACR/EULAR criteria. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(2):341–5.
 27. Singer JM, Plotz CM. The latex fixation test: I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis. *Am J Med*. 1956;21(6):888–92.
 28. Rochd CHUI, Maroc C. Marqueurs immunologiques de la polyarthrite rhumatoïde. 2014;3–9.

29. Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson-Bessière C, Girbal E, Durieux JJ, et al. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest*. 1995;95(6):2672–9.
30. Larsen HL. Antikeratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Ugeskr Laeger*. 1991;153(22):1567–71.
31. Hoet RM, van Venrooij WJ. The Antiperinuclear Factor (APF) and Antikeratin Antibodies (AKA) in Rheumatoid Arthritis. *Rheum Arthritis*. 1992;299–318.
32. Nicaise-Roland P. Anticorps antiprotéine et peptides citrullinés. *EMC - Biol médicale* [Internet]. 2011;6(4):1–7. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2211-9698\(11\)71448-0](http://dx.doi.org/10.1016/S2211-9698(11)71448-0)
33. Chou C, Liao H, Chen C, Chen W, Wang H, Su K. The Clinical Application of Anti-CCP in Rheumatoid Arthritis and Other Rheumatic Diseases. *Biomark Insights*. 2007;2(201):117727190700200.
34. Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Lama N, Bonacci E, Bobbio-Pallavicini F, Montecucco C, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in primary Sjögren syndrome may be associated with non-erosive synovitis. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(3):1–6.
35. Schellekens GA, Visser H, De Jong BAW, Van Den Hoogen FHJ, Hazes JMW, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum*. 2000;43(1):155–63.
36. Bizzaro N, Tonutti E, Tozzoli R, Villalta D. Analytical and diagnostic characteristics of 11 2nd- and 3rd-generation immunoenzymatic methods for the detection of antibodies to citrullinated proteins. *Clin Chem*. 2007;53(8):1527–33.
37. Shi J, Knevel R, Suwannalai P, Van Der Linden MP, Janssen GMC, Van Veelen PA, et al. Autoantibodies recognizing carbamylated proteins are present in sera of patients with rheumatoid arthritis and predict joint damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(42):17372–7.
38. Verheul MK, Shiozawa K, Levarht EWN, Huizinga TWJ, Toes REM, Trouw LA, et al. Anti-carbamylated protein antibodies in rheumatoid arthritis patients of asian descent. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2015;54(10):1930–2.
39. Humphreys JH, Verheul MK, Barton A, MacGregor AJ, Lunt M, Toes REM, et al. Anticarbamylated protein antibodies are associated with long-term disability and increased disease activity in patients with early inflammatory arthritis: Results from the Norfolk Arthritis Register. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(6):1139–44.
40. Shi J, Van De Stadt LA, Levarht EWN, Huizinga TWJ, Hamann D, Van Schaardenburg D, et al. Anti-carbamylated protein (anti-CarP) antibodies precede the onset of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(4):780–3.
41. Dekkers JS, Verheul MK, Stoop JN, Liu B, Ioan-Facsinay A, Van Veelen PA, et al. Breach of autoreactive B cell tolerance by post-translationally modified proteins. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(8):1449–57.

42. Atouf O, Benbouazza K, Brick C, Bzami F, Bennani N, Amine B, et al. Polymorphisme HLA et polyarthrite rhumatoïde précoce dans la population marocaine. *Rev du Rhum (Edition Fr.)* 2008;75(9):824–30.
43. HAJJAJ-HASSOUNI N. Rheumatoid Arthritis in Morocco: Past and Present. *Int J Med Surg.* 2017;4(s):41–4.
44. Brick C, Atouf O, Bouayad A, Essakalli M. Moroccan study of HLA (-A, -B, -C, -DR, -DQ) polymorphism in 647 unrelated controls: Updating data. *Mol Cell Probes* [Internet]. 2015;29(4):197–207. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcp.2015.04.002>
45. Fries JF, Wolfe F, Apple R, Erlich H, Bugawan T, Holmes T, et al. HLA-DRB1 Genotype Associations in 793 White Patients From a Rheumatoid Arthritis Inception Cohort Frequency, Severity, and Treatment Bias. *ARTHRITIS Rheum.* 2002;46(9):2320–9.
46. Tuokko J, Nejentsev S, Luukkainen R, Toivanen A, Ilonen J. HLA haplotype analysis in Finnish patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2001;44(2):315–22.
47. Van Jaarsveld CHM, Otten HG, Jacobs JWG, Kruize AA, Brus HLM, Bijlsma JWJ. Association of HLA-DR with susceptibility to and clinical expression of rheumatoid arthritis: Re-evaluation by means of genomic tissue typing. *Br J Rheumatol.* 1998;37(4):411–6.
48. Stark K, Rovenský J, Blažičková S, Grosse-Wilde H, Ferencik S, Hengstenberg C, et al. Association of common polymorphisms in known susceptibility genes with rheumatoid arthritis in a Slovak population using osteoarthritis patients as controls. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(3):1–10.
49. Mourad J, Monem F. HLA-DRB1 allele association with rheumatoid arthritis susceptibility and severity in Syria. *Rev Bras Reumatol.* 2013;53(1):47–56.
50. Shimane K, Kochi Y, Suzuki A, Okada Y, Ishii T, Horita T, et al. 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. *Rheumatol (United Kingdom).* 2013;52(7):1172–82.
51. de Vries N, Renningens KS, Tilanus MGJ, Bouwens-Rambouts A, Segal R, Egeland T, et al. HLA-DR1 and rheumatoid arthritis in Israeli Jews: Sequencing reveals that DRB1*0102 is the predominant HLA-DR1 subtype. *Tissue Antigens.* 1993;41(1):26–30.
52. Louzada-Júnior P, Freitas MVC, Oliveira RDR, Deghaide NHS, Conde RA, Bertolo MB, et al. A majority of Brazilian patients with rheumatoid arthritis HLA-DRB1 alleles carry both the HLA-DRB1 shared epitope and anti-citrullinated peptide antibodies. *Brazilian J Med Biol Res.* 2008;41(6):493–9.
53. Al-Swailem R, Al-Rayes H, Sobki S, Arfin M, Tariq M. HLA-DRB1 association in Saudi rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int.* 2006;26(11):1019–24.
54. Liu SC, Chang TY, Lee YJ, Chu CC, Lin M, Chen ZX, et al. Influence of HLA-DRB1

- genes and the shared epitope on genetic susceptibility to rheumatoid arthritis in Taiwanese. *J Rheumatol*. 2007;34(4):674–80.
55. Laivoranta-Nyman S, Möttönen T, Hermann R, Tuokko J, Luukkainen R, Hakala M, et al. HLA-DR-DQ haplotypes and genotypes in Finnish patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2004;63(11):1406–12.
 56. Kinikli G, Ateş A, Turgay M, Akay G, Kinikli S, Tokgöz G. HLA-DRB1 genes and disease severity in rheumatoid arthritis in Turkey. *Scand J Rheumatol*. 2003;32(5):277–80.
 57. Del Rincón I, Escalante A. HLA-DRB1 alleles associated with susceptibility or resistance to rheumatoid arthritis, articular deformities, and disability in Mexican Americans. *Arthritis Rheum*. 1999;42(7):1329–38.
 58. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:685–711.
 59. Klimenta B, Nefic H, Prodanovic N, Jadric R, Hukic F. Association of biomarkers of inflammation and HLA-DRB1 gene locus with risk of developing rheumatoid arthritis in females. *Rheumatol Int* [Internet]. 2019;39(12):2147–57. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00296-019-04429-y>
 60. Uçar F, Çapkin E, Karkucak M, Yücel B, Sönmez M, Alver A, et al. Associations of HLA-DRB1 alleles with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in northern east part of Turkey. *Int J Rheum Dis*. 2012;15(6):538–45.
 61. Benbouazza K, Benchekroun B, Rkain H, Amine B, Bzami F, Benbrahim L, et al. Profile and course of early rheumatoid arthritis in Morocco: a two-year follow-up study [Internet]. 2011. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2474/12/266>
 62. van der Helm-van Mil AHM, Huizinga TWJ. Advances in the genetics of rheumatoid arthritis point to subclassification into distinct disease subsets. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(2).
 63. Holzer M, Zangger K, El-Gamal D, Binder V, Curcic S, Konya V, et al. Myeloperoxidase-derived chlorinating species induce protein carbamylation through decomposition of thiocyanate and urea: Novel pathways generating dysfunctional high-density lipoprotein. *Antioxidants Redox Signal*. 2012;17(8):1043–52.
 64. Mahdi H, Fisher BA, Källberg H, Plant D, Malmström V, Rönnelid J, et al. Specific interaction between genotype, smoking and autoimmunity to citrullinated α -enolase in the etiology of rheumatoid arthritis. *Nat Genet* [Internet]. 2009;41(12):1319–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ng.480>
 65. Gourraud PA, Dieudé P, Boyer JF, Nogueira L, Cambon-Thomsen A, Mazières B, et al. A new classification of HLA-DRB1 alleles differentiates predisposing and protective alleles for autoantibody production in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2007;9(2):1–8.
 66. Trouw LA, Mahler M. Closing the serological gap: Promising novel biomarkers for the

early diagnosis of rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2012;12(2):318–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2012.05.007>

67. Wakitani S, Imoto K, Murata N, Toda Y, Ogawa R, Ochi T. The homozygote of HLA-DRB1*0901, not its heterozygote, is associated with rheumatoid arthritis in Japanese. *Scand J Rheumatol*. 1998;27(5):381–2.
68. Furuya T, Hakoda M, Ichikawa N, Higami K, Nanke Y, Yago T, et al. Differential association of HLA-DRB1 alleles in Japanese patients with early rheumatoid arthritis in relationship to autoantibodies to cyclic citrullinated peptide. *Clin Exp Rheumatol*. 2007;25(2):219–24.