

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Structure de Recherche : Laboratoire de Biologie des Pathologies Humaines

Discipline : Biologie

Spécialité : Immunologie-Biologie moléculaire

Présentée et soutenue le 14/05/2022 par :

Hakima MISSOUM Epouse EL QAZOUI

Titre :

**Prévalence des maladies auto-immunes et étude immunogénétique
de « la Polyarthrite Rhumatoïde » au Maroc.**

JURY

DAKKA Nadia	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences – Rabat	Présidente
ADMOU Brahim	PES, Université Cadi Ayyad, Faculté de médecine et de pharmacie – Marrakech	Rapporteur / Examineur
AMEZIANE ELHASSANI Rabii	PH, Université Mohammed V, Faculté des Sciences – Rabat	Rapporteur / Examineur
RATBI Ilham	PES, Université Mohammed V, Faculté de médecine et de pharmacie – Rabat	Rapporteur / Examineur
El AOUAD Rajae	PES, Académie Hassan II des sciences et techniques – Rabat	Invitée
El MAGHRAOUI Abdellah	Rhumatologue Ex professeur de l'enseignement supérieur, Université Mohammed V, Faculté de Médecine et de Pharmacie – Rabat	Invité
BACHIR Fatima	Expert, Docteur d'état, Institut Scientifique, Université Mohammed V – Rabat	Co-encadrant
BAKRI Youssef	PES, Université Mohammed V, Faculté des Sciences – Rabat	Directeur de thèse

Année Universitaire : 2021 – 2022

Dédicace

*À mes feus parents, Zahra & Taib,
Puisse Dieu vous accueillir dans sa miséricorde.*

À Mon Mari

À mon fils Yaxid

*À Mes Sœurs & Mon
Frère*

Et À toute ma famille

Avant-propos

Avant tout, je remercie DIEU le tout puissant

Le présent travail a été réalisé, dans le cadre de la collaboration entre le laboratoire de biologie des pathologies humaines de la faculté des sciences de Rabat, dirigée par Mme **Nadia DAKKA**, professeur de l'enseignement supérieur et le département d'Immunologie à l'Institut National d'Hygiène (INH).

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon Directeur de thèse, Monsieur **Youssef BAKRI**, Professeur de l'enseignement supérieur à la faculté de science de l'Université Mohamed V de Rabat, pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral, pour ses multiples conseils et pour tout le temps qu'il a consacré à diriger cette recherche. J'aimerais également lui dire à quel point j'ai apprécié sa grande disponibilité. Enfin, j'ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines, d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail.

Je remercie également mon Co-encadrant Madame **Fatima BACHIR**, Docteur d'état à l'Institut Scientifique de Rabat, d'avoir lire et corriger ce travail avec beaucoup d'intérêt et de patience, pour ses conseils avisés et les discussions enrichissantes que nous avons pu avoir. Je vous prie de trouver ici, chère Fatima, le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Je tiens à remercier infiniment Madame **Nadia DAKKA**, Professeur de l'enseignement supérieur de Laboratoire de biologie des pathologies humaines à la faculté des sciences de Rabat, pour me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. L'ampleur de vos connaissances et la rigueur de votre enseignement ont toujours suscité mon admiration. Veuillez trouver ici, l'expression de mon estime et de mon grand respect.

Mes plus sincères remerciements vont pour le Monsieur **Brahim ADMOU**, Professeur de l'enseignement supérieur d'Immunologie à Faculté de médecine et de pharmacie Marrakech, de l'Université Cadi Ayyad Maroc, de nous avoir honoré de sa présence en faisant parti du jury de ma thèse afin d'évaluer mon travail. Je le remercie aussi d'avoir accepté de rapporter cette thèse et de nous faire part de ses remarques qui seront, sans doute, pertinentes et contribueront au perfectionnement de ce travail.

Je remercie vivement Madame **Ilham RATBI**, Professeur de l'enseignement supérieur de Génétique, au Département de génétique médicale à Institut National d'Hygiène Rabat et Enseignant-Chercheur à la faculté de médecine et pharmacie de l'Université Mohamed V de Rabat, qui m'a fait l'honneur d'être rapporteur de mon travail de thèse. Je suis particulièrement honorée de sa présence dans le jury de soutenance. Je vous exprime ici ma plus haute considération.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **Rabii AMEZZIANE EL HASSANI**, Professeur d'habilité à la faculté de science de l'Université Mohamed V de Rabat, d'avoir accepté de rapporter cette thèse qu'il accepte mes sincères remerciements pour avoir consacré son temps à l'analyse de ce travail de recherche.

Je remercie infiniment, Madame **Rajae El AOUAD**, Professeur de l'enseignement supérieur d'immunologie à l'Académie Hassan II des sciences et techniques à Rabat, pour les discussions d'article enrichissant qui m'ont été d'une grande aide afin de mener à bien ce travail.

Je remercie Aussi, Monsieur **Abdellah EL MAGHRAOUI**, Rhumatologue, Ex professeur de l'enseignement supérieur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie-Université Mohammed V de Rabat pour sa contribution active à la réalisation de cette thèse. Je suis particulièrement honorée de sa présence dans le jury de soutenance.

Je tiens à remercier également Monsieur **TOUFIK Hamza**, Docteur rhumatologue au service de rhumatologie à l'hôpital militaire Mohammed V, pour sa contribution active à la réalisation de ce travail et son soutien inconditionnel.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **ALAMI Mohammed**, PhD et statisticien pour son aide dans l'approche statistique des résultats de ce travail et surtout à sa disponibilité malgré ses nombreuses charges et responsabilités. L'expression de mon respect, ma gratitude et ma reconnaissance infinie.

Un grand merci à Monsieur **SEFIANI Aziz**, Professeur de l'enseignement supérieur de Génétique à la faculté de médecine et pharmacie de l'Université Mohamed V de Rabat et chef de Département Génétique médicale à l'Institut National d'Hygiène de Rabat, pour sa contribution de réaliser une partie m'accorder de travailler dans son laboratoire

Un grand merci à mes collègues du laboratoire de génétique, **Dr Fatima Zahra laarabi, Dr Najlae ADADI et Dr Hafid NATEQ** et l'équipe du laboratoire d'Immunologie de l'Institut National d'Hygiène. Ces personnes m'ont inlassablement encouragé et soutenu lors des moments joyeux et durs de ma vie.

Et enfin, à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail, j'exprime ma profonde gratitude.

Résumé

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la prévalence de différentes maladies auto-immunes (MAI) et spécialement l'étude sociodémographique et génétique de la polyarthrite rhumatoïde (PR). Ces maladies demeurent un grand problème de santé publique à l'échelle mondiale ainsi qu'au Maroc.

Pour la première partie de notre étude, nous avons étudié la prévalence de différentes maladies auto-immunes (MAI) et la significations cliniques des profils auto-anticorps qui leur sont associés chez la population marocaine moyennant les données recueillies par le laboratoire d'Auto-Immunité à l'Institut National d'Hygiène (INH) de Rabat entre 2010 et 2016. Cette approche a permis de mettre en exergue la valeur diagnostic des auto-anticorps dans les maladies auto-immunes et a révélé une forte prévalence de ces MAI (29,7%) à l'échelle de la région de Rabat. Les femmes étaient et sont toujours les plus dominantes avec une prévalence élevée au niveau de lupus érythémateux systémique (LES), de la malabsorption intestinale (MI) considérée comme maladie évocateur de maladie cœliaque, et de la polyarthralgie arthrosique (PA) suivie par la polyarthrite rhumatoïde (PR). Cette étude a également montré une forte corrélation significative entre ces MAI et la détection des auto-anticorps. Ces auto-anticorps interviennent dans la prédiction de certaines MAI ou soit confirment le diagnostic de ces maladies.

Dans la deuxième partie de cette thèse, nous avons associé les paramètres sociodémographiques, cliniques, biologiques et thérapeutiques de la PR et sa rémission. Aussi, nous avons identifié les mutations du gène *MEFV* chez une large cohorte marocaine atteinte de la PR sévère établis dans l'hôpital Militaire de Rabat au service de rhumatologie entre Avril 2017 et Décembre 2018 ; inclus 100 patients atteints de PR et 200 individus comme groupe contrôle (GC) qui sont non apparentés de la même population. Tous les patients ont été testés par les anticorps anti-peptide cyclique citrulliné (ACPA), le facteur rhumatoïde (FR) IgM, les anticorps anti-nucléaire (ANA) et analysés par séquençage Sanger des exons 2 et 10 du gène *MEFV*. 13 variants faux-sens mentionnés auparavant dans la Littérature ont été détectés. Les taux des porteurs de mutations du gène *MEFV* étaient de 24 % dans le groupe PR et 4 % dans le groupe témoin. Cette étude suggère que les mutations du gène *MEFV* semblent être un facteur aggravant de la sévérité de la PR.

Mots clés : Maladies rhumatismales auto-immunes systémiques, Maladies auto-immunes spécifiques d'organes, profil des auto-anticorps, prévalence, Polyarthrite rhumatoïde, Mutations du gène *MEFV*.

Abstract

In this study, we were interested in the prevalence of various autoimmune diseases (AID) also the sociodemographic and genetic study of rheumatoid arthritis (RA). These diseases remain a major public health problem in the worldwide.

In the first part of our study, we showed the prevalence of various autoimmune diseases (AID) and their clinical significance in the profile of autoantibodies in the Moroccan population using data collected by the Autoimmunity laboratory at the National Institute of Health (NIH) in Rabat between 2010 and 2016. This approach has highlighted the diagnostic value of autoantibodies in autoimmune diseases and revealed a high prevalence of these AIDs (29.7 %) across the Rabat region; women were still the most dominant with a high prevalence of systemic lupus erythematosus (SLE), intestinal malabsorption (MI), and osteoarthritic polyarthralgia (AP) followed by rheumatoid arthritis (RA). This study also showed a strong significant correlation between these AIDs and the detection of autoantibodies. These autoantibodies are known to either predict certain AIDs or confirm the diagnosis of these diseases.

In the second part, we associated sociodemographic, clinical, biological and therapeutic parameters with RA disease and its remission. In addition, we have identified mutations of the *MEFV* gene in a large Moroccan cohort with severe rheumatoid arthritis (RA) established in the military hospital in Rabat at the rheumatology department, between April 2017 and December 2018. Included 100 patients with RA and 200 individuals of the control group (CG) were unrelated from the same population. All patients were tested for anti-cyclic citrullinated peptide (ACPA), rheumatoid factor (RF) IgM, anti-nuclear (ANA) antibodies and analysed by Sanger sequencing of exons 2 and 10 of the *MEFV* gene. 13 missense variants already reported in the literature were detected. Carrier rates for *MEFV* gene mutations were 24% in the RA group and 4% in the control group. This study suggests that mutations in the *MEFV* gene appear to be an aggravating factor in the severity of RA.

Keywords: Systemic autoimmune rheumatic diseases, Organ-specific autoimmune diseases, autoantibody profile, prevalence, Rheumatoid arthritis, *MEFV* gene mutations.

المخلص

في هذه الدراسة، اهتمنا بانتشار أمراض المناعة الذاتية المختلفة (AID) وخاصة الدراسة الاجتماعية والديموغرافية والوراثية لالتهاب المفاصل الروماتويدي (RA) و تظل هذه الأمراض مشكلة صحية عامة رئيسية في جميع أنحاء العالم بما فيها المغرب.

في الجزء الأول من دراستنا، تم الكشف عن مدى انتشار أمراض المناعة الذاتية المختلفة (MAI) وأهميتها كدراسة سريرية للأجسام المضادة الذاتية لسكان المغرب باستخدام البيانات التي تم جمعها من قبل مختبر المناعة الذاتية في المعهد الصحي (INH) في الرباط. بين عامي 2010 و2016. سلط هذا النهج الضوء على القيمة التشخيصية للأجسام المضادة الذاتية في أمراض المناعة الذاتية وكشف عن انتشار مرتفع لهذه الأمراض (29.7 %) خاصة في جهة الرباط. كانت النساء وما زلن هن الأكثر عرضة لهذه الأمراض مع ارتفاع معدل انتشار الذئبة الحمامية الجهازية (SLE)، وسوء الامتصاص المعوي (MI)، وهشاشة العظام (AP) يليهم التهاب المفاصل الروماتويدي (RA). كما أظهرت هذه الدراسة أيضاً وجود علاقة ارتباط قوية بين هذه الأمراض (MAI) واكتشاف الأجسام المضادة الذاتية. من المعروف أن هذه الأجسام المضادة الذاتية إما تتنبأ ببعض هذه الأمراض أو تؤكد تشخيص الإصابة بها.

في الجزء الثاني من هذه الأطروحة، قمنا بربط الخاصيات الاجتماعية والديموغرافية والسريرية والبيولوجية والعلاجية لالتهاب المفاصل الروماتويدي (RA) مع نسبة التخفيف من حدته. أيضاً، حددنا طفرات جين *MEFV* في مجموعة مغربية كبيرة مصابة بالتهاب المفاصل الروماتويدي الحاد والتي تم إنشاؤها في المستشفى العسكري بالرباط في قسم أمراض الروماتيزم بين أبريل 2017 وديسمبر 2018؛ شمل 100 مريض بالتهاب المفاصل الروماتويدي و200 فرد كمجموعة تحكم لا تربطهم صلة قرابة مع الساكنة المدروسة. تم اختبار جميع المرضى بحثاً عن الأجسام المضادة للبيتيد السيترولين الحلقي (ACPA) وعامل الروماتويد (IgM RF) والأجسام المضادة للنواة (ANA) وتم تحليلها عن طريق تسلسل سانجر للإكسونات 2 و 10 من جين *MEFV*. تم الكشف عن 13 نوعاً مختلفاً من الطفرات المذكورة سابقاً في الدراسات السابقة. معدلات الناقل لطفرات جين *MEFV* هي 24 % في مجموعة المرضى بالتهاب المفاصل الروماتويدي و 4 % فقط في مجموعة التحكم. تشير هذه الدراسة إلى أن الطفرات في جين *MEFV* تبدو أنها عامل تفاقم في شدة التهاب المفاصل الروماتويدي.

الكلمات المفتاحية: أمراض الروماتيزم المناعي الذاتي الجهازية، أمراض المناعة الذاتية الخاصة بالأعضاء، ملامح الجسم المضاد الذاتي، الانتشار، التهاب المفاصل الروماتويدي، الطفرات الجينية لـ *MEFV*.

Liste des abréviations

AAc	Auto Anticorps
AAN	Anticorps Antinucléaire
AAV	ANCA associé au vascularites
ABA	Abatacept
AB/def vit B12	Anémie de Biermer /carence en vitamine B12
AC	Anticorps
ACA	Anticorps Anti-Centromère.
ACAN	Anticorps antinucléaires
ACL	Anti-cardiolipide
ACPA	Anticorps anti-cellules pariétales gastrique Anticorps Anti- protéine citrulliné
ACR	American College of Rheumatology
ADN	Acide DésoxyriboNucléique.
ADNn	Acide DésoxyriboNucléique natif.
ADNds	Désoxyribonucléique double brin (ou double-stranded)
AEm	Anti endomysium
Ag	Antigène
AI	Auto-Immunité
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AIRE	Auto-Immune Régulateur
AJI	Arthrite juvénile idiopathique
AGA	Anticorps anti-gliadine
AH	Anémie hémolytique
ANA	Antinuclear antibodies
ANCA	Anticorps antineutrophile cytoplasmatique
ASMA	Anticorps anti-muscles lisses
anti-CarP	Anti-protéines carbamylées
Anti-β2GP1	Anti β2-glycoprotéine-1
Anti-CCP	Anti-cyclic citrullinés peptides (Anticorps Anti- protéine citrulliné ou ACPA)
Anti -DFS70	Anti -Dense Fine Speckled 70 kD
Anti-Jo-1	Anticorps anti aminoacyl-t-RNA-synthétases.
Anti-LC1	Anti cytosol type 1
Anti-LKM	Anti réticulum endoplasmique
Anti-AMA	Anti-mitochondries type 2
Anti- MPO	Anti -Myélopéroxydase
Anti-PM/Scl	Anti -Polymyosite et sclérodermie
Anti-PR3	Anti-protéinase 3
Anti-RNP/U1 RNP	Anti-Ribonucléoprotéine
Anti- SSA/ Ro52	Anticorps ribonucléoprotéique nucléaires Solubles A.
Anti-Scl-70	Anti topoisomérase I.
Anti-Sm	Anti-Smith.
Anti-Sm/RNP	Anti- Ribonucléoprotéines
Anti-SRP	Anti-signal recognition particule
Anti-SSB/anti-La	Anti-Sjögren's-syndrome-related antigen B
Anti-TG	Anti-Thyroglobuline
Anti-TNFα	Anti-tumor Necrosis Factor α
Anti-TPO	Anti-thyropéroxydase
AP	Arthrite polyarthralgie
APECED	Autoimmune Polyendocrinopathy Candidiasis Ectodermal Dystrophy
aPL	Anti-Phospholipides
ARN	Acide ribonucléique
bDMARDs	Biologic Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs
CBP	Cirrhose biliaire primitive
CDAI	Clinical Disease Activity Scores
CERB	Comité d'éthique de la recherche biomédicale
CENP	Protéines des centromères.
CNTS	Centre National de Transfusion Sanguine

CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPA	Cellule Présentatrice d'Antigène
CRP	C Reactive Protein
CSP	Cholangite sclérosante primitive
DAS	Disease Activity Score
DID	Diabète insulino-dépendant
DMARDs	Disease modifying Anti-Rheumatic Drugs
D Type 1	Diabète de type 1
DM	Dermatomyosite
dNTP	Désoxyribonucléoside triphosphate
ECT	Extractable calf thymus ou extrait de cellules thymiques
EDTA	Acide éthylène-diamine-tétracétique
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ENA	Extractable Nuclear Antigens (Antigènes extractibles Nucléaires)
EULAR	European League Against Rheumatism
FLS	Fibroblastiques
FR	Facteur Rhumatoïde
GOL	Golimumab
GWAS	genome wide association studies
HAI	Hépatite auto-immune
HAQ	Health Assessment Questionnaire
HAS	Haute autorité de santé
HCV	Hépatite C chronique
HEp-2	Human epithelial cell line type 2
HLA	Antigène leucocyte humain (Human Leukocyte Antigen)
HLA-DRB1	Major Histocompatibility Complex, Class II, DR Beta 1
IFI	Immunofluorescence indirecte
IFX	Infliximab,
INFgamma	Interféron gamma
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
INH	Institut National d'Hygiène
IMC	Indice de masse corporelle
IR	Insuffisance rénale
IRM	Imagerie par résonance magnétique
LES	Lupus érythémateux systémique
LB	lymphocytes B
LT	Lymphocyte T
MAI	Maladie Auto-Immune
MC	Maladie cœliaque
MB	Maladie de Behçet
MICI	Maladies inflammatoires chroniques intestinales
MCTD	Maladie mixte du tissu conjonctif
MEFV	<i>Mediterranean fever gene</i>
MI	Malabsorption intestinale
MMP	Matrix metallopeptidases ou métallo protéinases matricielles
MPA	Polyangéite microscopique
MTX	Méthotrexate
NK	Natural Killer (Cellule tueuse naturelle)
NKT	Natural Killer T (Cellule tueuse naturelle T)
NP	Neuropathie
PAD	Peptidyl-arginine déiminases
PBS	Solution saline tamponnée au phosphate ou (Phosphate-Buffered Saline)
PCR	Réaction de Polymérisation en chaine
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen (antigène nucléaire des cellules en prolifération)
PI	Pneumopathie interstitielle
PNN	Polynucléaire neutrophile
PR	Polyarthrite Rhumatoïde
pSS	Syndrome de Sjogren primaire
PTPN22	Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 22

RACH	Récepteur de l'acétylcholine
RIA	Radio-immunologie
RP	Rhumatisme Psoriasique
RTX	Rituximab
SA	Spondylarthrite Ankylosante
SAP	Shrimp phosphatase alcaline
SAPL	syndrome anti phospholipides
SC	Syndrome cholestatique
SDAI	Simplified Disease Activity Score
SE	Shared epitope
SEP	Sclérose en plaque
SMR	Société Marocaine de Rhumatologie
ScS	sclérodémie systémique
STAT4	Signal Transducer and Activator of Transcription 4
TAI	Thyroïdite auto-immune
TCR	Récepteurs de cellules T
TCZ	Tocilizumab
Tb	Thrombocytopénie
TK	Tyrosine Kinase
TLR	Récepteur Toll-like
TMB	Tétraméthylbenzidine
TNF	Tumor Necrosis Factor
Treg	Lymphocyte T Régulateurs
tTG	transglutaminase tissulaire
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VS	vitesse de sédimentation

Liste des tableaux

Tableau 1: Exemple de taux de prévalence des maladies auto-immunes (Puustinen et al. 2019).	9
Tableau 2 : Classification des maladies auto-immunes.	15
Tableau 3 : Critères de classification d'une PR selon l'ACR (1987) (Arnett et al., 1988).	52
Tableau 4 : Nouveaux critères ACR/EULAR de la polyarthrite rhumatoïde (2010).	53
Tableau 5 : Les critères EULAR en fonction du DAS28 (Gaujoux-Viala, 2017).	54
Tableau 6 : Allèles de HLA-DRB1 associées avec la PR.	65
Tableau 7 : Mutations identifiées au niveau du gène MEFV (HGMD_2018).	77
Tableau 8 : PCR primer séquences (F : forward ; R : reverse).	106

Liste des figures

Figure 1 : Différents mécanisme de tolérance.	8
Figure 2 : Association de plusieurs loci, non HLA, étant des facteurs de risque de développer des MAI.12	
Figure 3 : Les facteurs déclenchants des maladies auto-immunes.	13
Figure 4 : Le concept pathogénique "step by step" des maladies auto-immunes.	14
Figure 5 : Continuum des MAI.	18
Figure 6 : Réponse immunitaire innée et adaptative : interactions synoviales dans la polyarthrite rhumatoïde. (Levy et al., 2013).	20
Figure 7 : Les principaux aspects de fluorescence des AAN.	23
Figure 8 : Algorithme utilisé pour la recherche d'anticorps antinucléaires (AAN).	24
Figure 9 : la valeur diagnostique de la recherche des auto-anticorps antinucléaires dans les principales maladies auto-immunes systémiques (Emile et al, 2010).	30
Figure 10 : Stratégie de la recherche des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires ANCA.	31
Figure 11 : La recherche des autoanticorps dans les maladies auto-immunes spécifiques d'organes.	37
Figure 12 : Différentes étapes de la réalisation d'une technique d'immunofluorescence indirecte.	39
Figure 13 : Identification des anticorps antinucléaires solubles (Anti-ECT) Par immunodot (Euroimmune).	40
Figure 14 : Prévalence de la polyarthrite rhumatoïde dans le monde (Bernard Combe & Rincival, 2015).	43
Figure 15 : Arthrosynovite des inter-phalanges proximales	44
Figure 16 : Ténosynovite de l'extenseur ulnaire du carpe.	45
Figure 17 : Tenosynovite des fléchisseurs des doigts.	45
Figure 18 : Atteinte articulaire dans la polyarthrite rhumatoïde (Inserm).	46
Figure 19 : Comparaison d'une articulation normale (à gauche) et d'une articulation chez un atteint de PR (à droite). D'après Smolen et Steiner (Smolen and Steiner 2003).	48
Figure 20 : Mécanismes impliqués dans la physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. Source : (Smolen et al., 2018).	50
Figure 21 : Réaction de désimination ou citrullination. Transformation d'un résidu arginyl en résidu citrullyl sous l'action d'un enzyme appelée peptidyl-arginine désiminase (PAD), en présence de calcium.	58
Figure 22 : Mécanisme expliquant comment les anticorps anti protéines citrullinées produits localement pourraient contribuer à perpétuer l'inflammation et la chronicité de l'arthrite.	59
Figure 23 : Carte de la région HLA. Source : Genome Decoration Page/NCBI.	65
Figure 24 : Position des acides aminés associés avec la PR.	66
Figure 25 : Réseau d'interactions des gènes associés à la PR. (Szklarczyk et al., 2019).	68
Figure 26 : Gene <i>MEFV</i> sur le chromosome 16 avec ses 10 exons.	73
Figure 27 : Liste non exhaustive des mutations <i>MEFV</i> .	74
Figure 28 : Réseau d'interactions des gènes <i>MEFV</i> (Szklarczyk et al., 2019).	75
Figure 29 : Stratégie thérapeutique de la polyarthrite rhumatoïde.	81
Figure 30 : les étapes de l'immunofluorescence indirect (IFI) (Chomel et al., 1982).	89
Figure 31 : Photo logiciel d'immunofluorescence (IFI) de l'automate PhD.	89
Figure 32 : Technique IFI dans l'automate BioRad PhD.	90
Figure 33 : Microscope à UV pour lecture des lames à IFI.	91
Figure 34 : Technique ELISA dans l'automate PhD lx.	94
Figure 35 : Lecteur de plaque ELISA.	94
Figure 36 : Agitateur lors de l'incubation des bandelettes.	101
Figure 37 : Les bandelettes avant le scan.	101

Figure 38 : Résultats positive en se basant sur les bondellettes qui porte ++ ou +++.	102
Figure 39 : Mélange réactionnel et différents cycles de la PCR.	109
Figure 40 : Principe de la réaction de séquence.	110
Figure 41 : Principe de séquençage automatisé d'ADN par la méthode de Sanger.	111
Figure 42 : AAN Positif d'aspect homogène avec mitose positive X40	113
Figure 43 : AAN positif d'aspect mouchète avec mitose négative X40	113
Figure 44 : AAN positif d'aspect centromère avec mitose positive X40	114
Figure 45 : AAN positif d'aspect nucléolaire avec mitose positive X40	114
Figure 46 : AAN positif d'aspect anti membrane nucléaire X40	115
Figure 47 : AAN positif avec un aspect cytoplasmique X20 et X40	115
Figure 48 : Aspect anti-ADN positive avec marquage de fluorescence au niveau de kinétoplaste X40	116
Figure 49 : C-ANCA positive avec fluorescence Cytoplasmique de polynucéaire X40 (Humbel RL, 1997).	116
Figure 50 : Aspect positif anti mitochondrie (M2) sur triple substrat et sur les cellules Hep2	117
Figure 51 : Aspect positif des anticorps anti-muscle lisse (ASMA) sur triple substrat X40	118
Figure 52 : Aspect positive des anticorps anti-cellule pariétale (ACPA) X40 et X10	119
Figure 53 : Aspect positive de LKM1 sur triple substrat de rat X 40 et X 10	119
Figure 54 : Aspect positive anti cytosol de type 1(LC1) sur triple substrat de rat X40	120
Figure 55 : Aspect positive des anticorps anti-endomysium (EmA) x40	120

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre I : Revue bibliographique	6
I. Auto-Immunité (AI)	6
I.1. Historique	6
I.2. Définition	6
I.3. Tolérance immunitaire	7
I.3.1. Auto-immunité physiologique	7
I.3.2. Auto-immunité pathologique	8
II. Les Maladies Auto-Immunes (MAI)	8
II.1. Définition	8
II.2. Epidémiologie	9
II.3. L'étiologie des maladies auto-immunes	10
II.3.1. Sexe et l'âge	10
II.3.2. Facteurs génétiques	11
II.3.3. Facteurs environnementaux	12
II.3.4. Autres facteurs des MAI : Le concept pathogénique "step by step"	14
II.4. Classification des maladies auto-immunes	14
II.4.1. Les maladies auto-immunes spécifiques d'organes	15
II.4.1.1 Diabète de type 1	15
II.4.1.2. Thyroïdites auto-immunes	15
II.4.1.3 Hépatite auto-immune	16
II.4.1.4. La myasthénie	16
II.4.1.5. Maladie cœliaque	16
II.4.2. Les maladies auto-immunes non spécifique d'organe ou systémiques	16
II.4.2.1. Lupus érythémateux systémique	16
II.4.2.2. Le syndrome de Gougerot-Sjögren	17
II.4.2.3. Sclérodermie	17
II.4.2.4. La connectivité mixte	17
II.4.2.5. Nouvelles approche de la classification des maladies auto immune-auto inflammatoire : l'apport de l'approche de biologie des systèmes à la classification des MAI	18
II.5 Mécanisme pathologique effecteur des maladies auto immunes	19
II.5.1. Rôle des auto-anticorps	19
a. Cytolyse de la cellule cible	19
b. Mécanisme de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps	19

c. Modification de la fonction de l'antigène cible	19
d. Formation de complexes immuns	19
II.5.2 Rôle des lymphocytes T	20
II.6. Diagnostic des maladies auto-immunes	21
II.6.1. les marqueurs des maladies auto-immunes	21
II.6.2. Les autoanticorps	21
II.6.2.1. Les anticorps antinucléaires (AAN)	22
II.6.2.2. Anticorps anti-ADN natif	24
II.6.2.3. Anticorps anti-histones	25
II.6.2.4. Anticorps anti-nucléosomes	25
II.6.2.5. Les anticorps d'antigènes nucléaires solubles (ENA)	25
II.6.2.6. Autres auto-anticorps non spécifiques d'organe	31
II.6.2.6.1. Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles : ANCA	31
II.6.2.6.2. Anticorps anti-phospholipides	32
II.6.2.6.3. Facteurs Rhumatoïdes	32
II.6.2.6.4. Les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti CCP).	33
II.6.2.7. Auto-anticorps associés à des maladies auto-immunes spécifiques d'organe	34
II.6.2.7.1. Anticorps anti-mitochondries type 2 (anticorps anti-foie).	34
II. 6.2.7.2 Anticorps anti-muscles lisses (anticorps anti-foie)	34
II.6.2.7.3. Anticorps anti-estomac	34
II.6.2.7.4. Auto-anticorps associés à la maladie cœliaque	35
II.6.2.7.5. Anticorps antithyroïdiens	36
II.7. Techniques et identification des autoanticorps	37
II.7.1. La technique d'immunofluorescence indirect.	38
II.7.2. La technique ELISA	39
II.7.3. Technique ImmunoDot	40
III. La Polyarthrite Rhumatoïde (PR)	41
III.1. Historique	41
III.2. Définition	41
III.3. Epidémiologie, Prévalence et incidence	42
III.3.1. Épidémiologie	42
III.3.2. Prévalence et incidence	42
III.4. Aspects cliniques de la PR	44
III.4.1. PR au début	44
III.4.2. La phase d'état	45
III.4.3. Manifestations extra-articulaires ou les maladies différentiel de la PR	46

IV. La pathogenèse de la PR	48
IV.1. La physiopathologie	48
IV.2. Vue d'ensemble	48
IV.3. Phase pré-PR : activation des systèmes immunitaires inné et adaptatif	49
IV.4. Phase d'inflammation de la membrane synoviale : initiation et propagation	52
IV.5. Phase de destruction articulaire	52
V. Diagnostic de la PR	53
V.1. Critères de classification de la polyarthrite rhumatoïde	53
V.2. Examen radiologique	55
V.3. Evaluation de l'activité de la PR	55
V.4. Diagnostic biologique	56
V.4.1. Examens de biologie générale	56
V.4.2. Diagnostic Immunologique	56
V.4.2.1. Le facteur rhumatoïde (FR)	56
V.4.2.2. Anticorps anti-peptides citrullinés	58
V.4.2.2.1. L'intérêt diagnostique des autoanticorps anti-peptides citrullinés	60
V.4.2.2.2. Valeur diagnostique, anti-CCP versus FR	61
V.4.2.2.3. Autres auto-anticorps	62
VI. Les facteurs de risques de la PR	62
VI.1. Facteurs environnementaux	63
VI.1.1. Le tabagisme	63
VI.1.2. Consommation d'alcool	64
VI.2. Facteurs hormonaux	64
VII. La composante génétique de la PR	65
VII.1. Les gènes HLA (Human Leukocyte Antigen)	65
VII.2. Gènes hors région HLA	68
VII.3. L'épigénétique	70
VII.4. Le gène <i>MEFV</i> facteurs de prédisposition génétique à la PR retenus pour notre étude.	72
VII.4.1. Gene <i>MEFV</i>	73
VII.4.2. Régulation <i>MEFV</i>	74
VII.4.3. les différentes mutations du gène <i>MEFV</i>	75
VII.4.4. Protéine Pyrine/ Marénostrine	76
VII.4.5. Variants du gène <i>MEFV</i>	78
VIII. Traitement	79
VIII.1.2. Traitement de fond non biologique	80
VIII.1.3. Traitement chirurgical	80

VIII.2. Les Biothérapies	81
VIII.3. Nouvelles thérapies ciblée dans la polyarthrite rhumatoïde	83
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	85
I. PATIENTS	85
I.1. Etude de prévalence de la suspicion des maladies auto-immunes au profil de la recherche des auto anticorps	85
I.2 Etude immunogénétique de la Polyarthrite Rhumatoïde	86
II. Méthodes	87
II.1. Prélèvements sanguins	87
II.1.1 Prélèvements sanguins sur tube sec	87
II.1.2 Prélèvement sanguin sur EDTA	88
II.2. Tests immunologiques	89
II.2.1. Technique d'Immunofluorescence indirecte (IFI)	89
A / Principe	89
B/protocole	90
C/.Lecture des lames au microscope à UV	91
II.2.1.1. La recherche des anticorps antinucléaire (AAN) par IFI	92
II.2.1.2. La recherche des anticorps anti ADNn	92
II.2.1.3. La recherche des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) : C-ANCA et P- ANCA	93
II.2.1.4. La recherche des anticorps anti tissu : anticorps anti-mitochondries (AMA/M2), anticorps anti-muscle lisse (ASMA), anticorps anti-cellules pariétales (ACPA), anticorps anti-liver-kidney microsomal antibody (LKM1), anticorps anti-cytosol du foie (LC1) par la technique d'IFI.	93
II.2.1.5. La recherche des anticorps anti-endomysium IgA (EmA IgA)	94
II.2.2. Technique immunoenzymatique : enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)	94
A/ Principe	95
B/ Protocole	95
II.2.2.1. La recherche des anticorps anti antigènes extractible nucléaire : ENA (anti-SSa/Ro, anti-SSb/La, anti-Sm, anti-RNP, anti Sm/RNP, anti-Jo-1 et anti-Scl70.	96
II.2.2.2. la recherche des anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti CCP2)	97
II.2.2.3 La recherche des anticorps anti glycoprotéine β 2GP1 IgG (β 2GPI IgG)	98
II.2.2.4. La recherche des anticorps anti transglutaminase IgA/IgG	99
II.2.2.5. La recherche des anticorps anti Gliadine IgA/IgG	100
II.2.2.6. La recherche des anticorps anti - thyroperoxydase (TPO IgG)	100
II.2.2.7. Facteur Rhumatoïde IgM	101
II.2.3. Technique Immunodot	102
II.2.3.1 La recherche des ANA profil 3 plus DFS70 (IgG)	102

II.3. Test génétique	104
II.3.1 Techniques de l'extraction des acides nucléiques	104
II.3.2. Dosage et contrôle de la qualité de l'ADN extrait	106
II.3.3. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	107
A. Détermination de la séquence à amplifier	107
B. Design des amorces	107
C. PCR et contrôle	108
II.3.4. Séquençage par la méthode Sanger	109
A. Purification du produit de PCR	109
B. Réaction de Séquence	110
C. Purification de la réaction de séquence par Sephadex G50	111
D. Séquençage par méthode Sanger	111
III. Analyse statistique	113
CHAPITRE III : La prévalence de différentes maladies auto-immunes et la caractérisation du profil des auto-anticorps.	115
I. Résultat de lecture des lames des autoanticorps vu au microscope à UV	115
I.1 Lecture des lames des anticorps anti nucléaires sur le substrat des cellules Hep2	115
I.2. Lecture des lames des Ac anti-ADN natif sur un substrat de crithidia luciliae	117
I.3. Lecture des lames des anticorps (ANCA) : C-ANCA et P-ANCA sur substrat de polynucléaires	118
I.4. Lecture des lames des anticorps anti tissu sur substrat des coupes rein- foie-estomac de rat (triple substrat)	119
II. Article 1: Prevalence of autoimmune diseases and clinical significance of autoantibody profile: Data from National Institute of Hygiene in Rabat, Morocco	123
Contexte	123
Abstract	127
1. Introduction	127
2. Materials and methods	128
3. Results	129
4. Discussion	131
5. Conclusion	134
References	135
CHAPITRE IV : La description des caractéristiques sociodémographiques, cliniques, para-cliniques et thérapeutiques et l'identification des facteurs associés à la rémission chez les patients souffrant de PR sévère.	136
Contexte	136
I. Article 2: demographic Characteristics on the Severity of Rheumatoid Arthritis in Morocco	139

II. Article 3: Characteristics and Factors Associated with Remission in Moroccan Patients with severe Rheumatoid Arthritis	148
ABSTRACT	149
1. INTRODUCTION	149
2. MATERIEL AND METHODS	150
3. RESULTS	151
4. DISCUSSION	152
5. CONCLUSION	154
REFERENCES	156
CHAPITRE V: Identifier les mutations MEFV impliquées dans la pathogenèse de la PR et étudier la corrélation génotype-phénotype entre les mutations de ce gène et les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR).	161
Article 4: Correlation genotype-phenotype: <i>MEFV</i> Gene Mutations and Moroccan Patients with Rheumatoid Arthritis	161
Contexte	161
Abstract	163
Introduction	163
Methods	164
Results	165
Discussion	166
Conclusion	167
References	168
DISCUSSION GENERALE	172
1 Prévalence des maladies auto-immunes	172
2 Caractéristiques et facteurs associés à la rémission chez les patients marocains atteints de polyarthrite rhumatoïde sévère	179
a. Caractéristiques socio-démographiques, cliniques et thérapeutiques de la PR	179
b. Immunogénétique de la PR	182
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	186
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	188

Introduction générale

Les maladies auto-immunes (MAI) surviennent suite à un dysfonctionnement du système immunitaire qui, au lieu de défendre l'organisme vis-à-vis d'agressions extérieures, attaque les composants du "soi". Ces composants physiologiques de l'organisme sont alors reconnus par le système immunitaire comme des « auto-antigène ». Le système immunitaire devient ainsi pathogène, au lieu d'être protecteur, induisant des lésions tissulaires ou cellulaires.

Ces MAI demeurent un grand problème de santé publique à l'échelle mondiale, vu leur origine multifactorielle et représentent la 3^{ème} cause de morbidité dans le monde après les maladies cardiovasculaires et les cancers. Elles touchent environ 10% de la population mondiale en particulier les jeunes adultes, et les femmes sont plus sensibles à ces maladies que les hommes (G. S. Cooper et al., 2009; Mascolo et al., 2017) et on dénombre à ce jour environ 100 maladies auto-immunes (Mascolo et al., 2017).

Ces maladies occupent le 2^{ème} ou 3^{ème} poste de prise en charge pour le budget de la santé de la plupart des pays, en raison de la lourdeur des traitements et de la durée de la prise en charge (Dragin et al., 2016).

La complexité de leur spectre est énorme et bien que leur l'étiologie est encore incertaine, il a été démontré que les facteurs génétiques et environnementaux sont impliqués dans le déclenchement du mécanisme pathologique (Mascolo et al., 2017).

(Mascolo et al., 2017)(Mascolo et al., 2017)(Mascolo et al., 2017)(Mascolo et al., 2017) Selon la manifestation clinique, les MAI peuvent être schématiquement divisées comme maladies non spécifiques d'organes ou dite maladie auto-immunes systémiques (comme le lupus érythémateux systémique (LES), la polyarthrite rhumatoïde (PR), le Dermatomyosite (DM) la maladie du tissu conjonctif mixte (MCTD), etc.) ou maladie spécifique d'organe (comme la thyroïdite auto-immune (AIT), la maladie cœliaque (CD), etc.), au cours desquelles la réponse auto-immune n'a pour cible qu'un seul organe.

Néanmoins, il y a souvent des chevauchements entre ces deux groupes qui se manifestent par des signes cliniques très variés (World Health Organization 2006). Ces MAI ne peuvent donc être définies que sur un ensemble de critères cliniques et biologiques déterminés, parmi lesquels le titre des auto-anticorps est fondamental.

Les données sur la prévalence de diverses maladies auto immunes sont insuffisantes, en particulier dans les pays hors Europe ou d'Amérique du Nord (Sardu et al., 2012). Par contre, elles semblent augmenter dans les pays hautement industrialisés (G. Cooper et al., 2009; Scanlin, 2014). Au Maroc, la prévalence des maladies auto-immune n'est pas encore établie. La présente étude permettra de révéler une estimation de prévalence au niveau de la région de Rabat.

De ce fait, la polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie auto-immune systémique d'origine multifactorielle qui pose un problème socioéconomique important au Maroc, et vu sa fréquence élevée, elle a été choisie comme maladie cible de cette étude.

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques, avec une prévalence moyenne de 0,5 à 1 % dans la population mondiale (Guillemin, 2005). L'incidence est plus élevée entre 40 et 60 ans et les femmes sont trois fois plus touchées que les hommes (T. Sokka et al., 2009). La PR est caractérisé par une évolution destructrice des articulations entraînant des répercussions fonctionnelles, psychologiques, sociales et professionnelles.

Les comorbidités sont des affections associées à la PR. Les mécanismes de ces associations peuvent être liés à la PR elle-même, aux effets des traitements utilisés pour l'améliorer, ou bien l'apanage d'une coïncidence (Tobón et al., 2010) . Ces comorbidités entraînent non seulement une aggravation de la maladie, mais aussi une augmentation de la mortalité et des coûts (Littlejohn & Monrad, 2018; Othman et al., 2016) .

La PR est caractérisée par la production d'auto-anticorps dirigés contre les anticorps anti peptides/protéines citrullinés (APCA/anti CCP) et le facteur rhumatoïde (FR) qui représentent des marqueurs biologiques utiles pour confirmer la maladie, évaluer son évolution et son pronostic (Fang et al., 2019; Ibn Yacoub et al., 2012; Singwe-Ngandeu et al., 2010).

Sur le plan diagnostique, les critères ACR/ EULAR 2010 intégrant les paramètres cliniques, biologiques et radiologiques pour poser le diagnostic précoce et faciliter l'introduction des traitements de fond (Richez et al., 2017). Ces traitements sont classés désormais en csDMARDs-conventionnel synthétique (traitements de fond conventionnels) et les bDMARDs-biological (biothérapies).

Dans le contexte des pays en développement comme le Maroc, l'utilisation des agents de biothérapie est limitée par la précarité des systèmes de sécurité sociale et les difficultés socio-économiques (Ibn Yacoub et al. 2012 ; El Maghraoui et al. 2015 ; Tuulikki Sokka et al. 2010).

La PR représente un réel fardeau de santé publique qui justifie une prise en charge spécialisée, précoce, individualisée et multidisciplinaire (Kyburz et al., 2011). Sa prise en charge a connu une révolution durant ces dernières années. Concernant la prise en charge de la PR au Maroc, la Société Marocaine de Rhumatologie (SMR) a élaboré en 2011 des recommandations de bonnes pratiques médicales (mises à jour en 2014) dans le but de standardiser et homogénéiser les normes à suivre (Niamane et al., 2014).

La recherche et la gestion de ces caractéristiques démographiques, cliniques, comorbidités et biothérapies visent à préserver voire à améliorer la qualité de vie du patient et son espérance de vie, pouvant ainsi limiter les conséquences psychosociales.

Bien que l'étiologie du PR reste encore non élucidée. Plusieurs facteurs génétiques, environnementaux et hormonaux ont été impliqués dans la prédisposition à la maladie (Othman et al., 2016). Aujourd'hui, le terrain immunogénétique reste fondamental, comme le suggère le caractère familial fréquent des maladies auto-immunes. Il ne s'agit pas d'affections monogéniques, différents gènes sont candidats, principalement les gènes du système HLA, les gènes de la fraction du complément et les gènes des cytokines (Atouf et al., 2008; Harrold et al., 2019; MacCluer et al., 2009; Roudier et al., 2005). Certains gènes ont un rôle non prouvé dans la pathogenèse de la PR. L'un de ces gènes suspectés est le gène de la fièvre méditerranéenne (*MEFV*) qui pourrait affecter le phénotype de la PR.

De plus, il a été signalé que la présence de mutations du gène *MEFV* pourrait être un facteur de susceptibilité à diverses maladies inflammatoires (Usluer & Bircan, 2007). En outre, il a également été révélé que les mutations du gène *MEFV* pourraient être un facteur aggravant de certaines maladies inflammatoires, notamment la PR (Rabinovich, 2005) (Rabinovich 2005).

Au sein de la population marocaine, aucun travail n'a été publié concernant les mutations du gène *MEFV* chez des patients atteints de la PR.

Objectifs de la thèse

La présente étude vise 3 objectifs :

- Déterminer la prévalence des différentes diverses maladies auto-immunes (MAI) et leur signification clinique au profil des auto-anticorps chez la population marocaine en analysant les données recueillies par le laboratoire d'auto-immunité à Institut National d'Hygiène (INH) de Rabat entre 2010 et 2016. Nous tenterons de mettre en lumière l'intérêt du diagnostic immunologique de la détection des autoanticorps afin de confirmer ou exclure le diagnostic de la suspicion des maladies auto-immunes et d'enrichir les bases de données marocaines.
- Associer les paramètres sociodémographiques, cliniques, biologiques et thérapeutiques avec la rémission chez une large cohorte marocaine atteinte de PR sévère.
- Identifier les mutations du gène *MEFV* impliqué dans la sévérité de cette maladie chez une large cohorte marocaine atteinte de PR.

Cette thèse est composée de cinq chapitres dont trois sont en anglais présentés sous forme d'article.

Le premier chapitre consacré à l'étude bibliographique, propose une présentation des maladies auto-immunes et immunogénétique de la polyarthrite rhumatoïde.

Le second chapitre présente l'ensemble du matériel utilisé, des protocoles suivis, des mises au point effectuées et des méthodes d'analyses appliquées durant ce travail. Nous nous sommes intéressés à l'étude immunologique des maladies auto-immunes et immunogénétique de la polyarthrite rhumatoïde (PR), affectant principalement les articulations et entraînant leur destruction.

Le troisième chapitre est présenté sous forme d'article scientifique décrivant la prévalence de différentes maladies auto-immunes pour une large cohorte de patients et la caractérisation du profile des auto-anticorps pour les patients malades ou non des maladies auto-immunes.

Le quatrième chapitre est présenté également sous forme de deux articles scientifiques révélant la description des caractéristiques sociodémographiques, cliniques, paracliniques et thérapeutiques ainsi que l'identification des facteurs associés à la rémission chez les patients souffrant de PR sévère.

Le cinquième et le dernier chapitre fait objet aussi d'un article scientifique. Cette étude a permet d'identifier les mutations *MEFV* impliquées dans la pathogenèse de la PR, d'explorer

la fréquence et d'étudier la corrélation génotype-phénotype entre les mutations de ce gène et une cohorte de patients marocains atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) sévère.

Enfin les cinq chapitres seront suivis d'une discussion générale et d'une conclusion qui ouvre sur les perspectives des études futurs.

Les références du 3^{ème}, 4^{ème} et le 5^{ème} chapitre sont citées à la fin de chaque article, tandis que le reste des références se retrouvent à la fin du manuscrit.

CHAPITRE I

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Revue bibliographique

I. Auto-Immunité (AI)

I.1. Historique

Le terme auto-immunité est apparu à un moment opportun, alors que le concept de système immunitaire commençait à faire son chemin. En 1901, Ehrlich a utilisé « horreur autotoxicus » pour décrire le fait que le système immunitaire était uniquement conçu pour se protéger des agents pathogènes étrangers et non pour attaquer son hôte. Il a basé sa théorie sur une expérience dans laquelle les chèvres ne développaient pas d'anticorps après immunisation avec leurs propres globules rouges. Il a conclu donc que le corps est protégé contre ses propres constituants.

C'est en 1902 que Charles Richet et Clemens von Pirquet ont commencé à démontrer que le système immunitaire d'une personne est capable de se retourner contre les cellules de celle-ci en se basant sur des études sur l'anaphylaxie et l'allergie.

Deux ans plus tard, Donath et Landsteiner ont découvert le premier anticorps nocif (Autoambozeptor), une auto-hémolysine capable de détruire ses propres globules rouges. Des observations et des rapports ultérieurs ont suivi, mais ce n'est qu'entre 1945 et 1965 que le concept d'auto-immunité a commencé à être accepté. Depuis, de nombreuses maladies auto-immunes ont été décrites et la liste ne cesse de s'allonger (Gebauer, 2017).

I.2. Définition

L'auto-immunité est la rupture des mécanismes de défense qui conduit à l'action pathogène du système immunitaire vis-à-vis des constituants naturels de l'organisme et à l'apparition d'une maladie dite auto-immune (MAI), qui peut être défini par l'activation du système immunitaire du patient contre ses propres antigènes (Ag).

Sur la base de preuves indirectes, l'étiquette d'auto-immunité a été placée sur plus de 100 pathologies. Certaines entités pathologiques sont identifiées comme étant causées par l'auto-immunité en raison soit de la capacité des agents anti-inflammatoires à induire des rémissions temporaires (par exemple, maladie de Cohn, polymyosite, polyarthrite rhumatoïde, psoriasis, etc.) ou de la démonstration d'anticorps spécifiques dirigés contre les composants cellulaires ou subcellulaires (par exemple, diabète de type 1, sclérodermie systémique, hépatite auto-immune, thyroïdite, néphrite de la membrane basale anti-glomérulaire, syndrome d'infarctus post-myocardique) (Monif, 2018).

I.3.Tolérance immunitaire

Le système immunitaire désigne un ensemble de facteurs cellulaires et humoraux ayant pour but de protéger l'organisme des agressions provenant d'agents exogènes (bactéries, virus, parasites) ou endogènes (cellules tumorales) reconnus comme n'appartenant pas au « soi ».

Les principales cellules du système immunitaire jouant un rôle primordial dans le maintien de l'homéostasie sont les lymphocytes T et B capables de reconnaître l'antigène (Ag) via leur récepteur pour l'Ag : TCR (T Cell Receptor) pour les cellules T et BCR (B Cell Receptor) pour les cellules B. La reconnaissance de l'Ag par le TCR nécessite, en outre, que celui-ci soit présenté par une molécule HLA (Human Leukocyte Antigen) du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

Les récepteurs pour l'Ag sont spécifiques d'un Ag donné et l'ensemble des spécificités exprimées par les lymphocytes en constitue le répertoire. Ce répertoire résulte d'un processus génétique d'origine somatique. Il est théoriquement illimité et généré de façon stochastique avant tout contact préalable avec l'Ag par des mécanismes de recombinaison génétique.

La génération de cette diversité est nécessaire à la défense de l'organisme. Elle constitue un avantage sélectif. Néanmoins, le système immunitaire est susceptible de générer des clones T et B capables de reconnaître des Ag du soi encore appelés clones autoréactifs. Ce sont les phénomènes dits de tolérance immunitaire qui permettent de prévenir la survenue de processus auto-immuns grâce à l'élimination ou au contrôle de ces clones autoréactifs.

Dans certaines conditions non physiologiques, une dérégulation du réseau d'interactions cellulaires et moléculaires contrôlant la présence ou l'expansion de cellules auto réactives peut conduire à une rupture de tolérance au soi caractérisée par l'activation et la multiplication de ces cellules et au développement d'une maladie auto-immun (Goodnow et al., 2005) .

I.3.1. Auto-immunité physiologique

L'activation et l'expression des lymphocytes T et des lymphocytes B sont étroitement contrôlées dans les conditions physiologiques. C'est la défaillance des mécanismes de contrôle qui est à l'origine de la survenue de manifestations auto-immunes.

Dans un premier temps, il faut distinguer l'immunité innée, la première ligne de défense de l'organisme, de l'immunité adaptative, dont les acteurs sont les LB et les LT.

Ensuite successivement les mécanismes pouvant contribuer à la survenue de pathologies auto-immunes, qu'il s'agisse d'un défaut de contrôle de la réponse immunitaire humorale ou cellulaire (Bonnotte, 2004).

I.3.2. Auto-immunité pathologique

L'auto-immunité est physiologique, mais le système de régulation de cette auto-immunité peut être défaillant. Il apparaît alors une auto-immunité pathologique, auto agressive, qui va aboutir au déclenchement d'une maladie auto-immune, soit par la prolifération de LB auto agressifs, soit par la prolifération de LT auto agressifs de forte affinité. Ces maladies auto-immunes dépendent de facteurs immunogénétiques et de facteurs d'environnement (Malaise et al., 2012) (Figure 1).

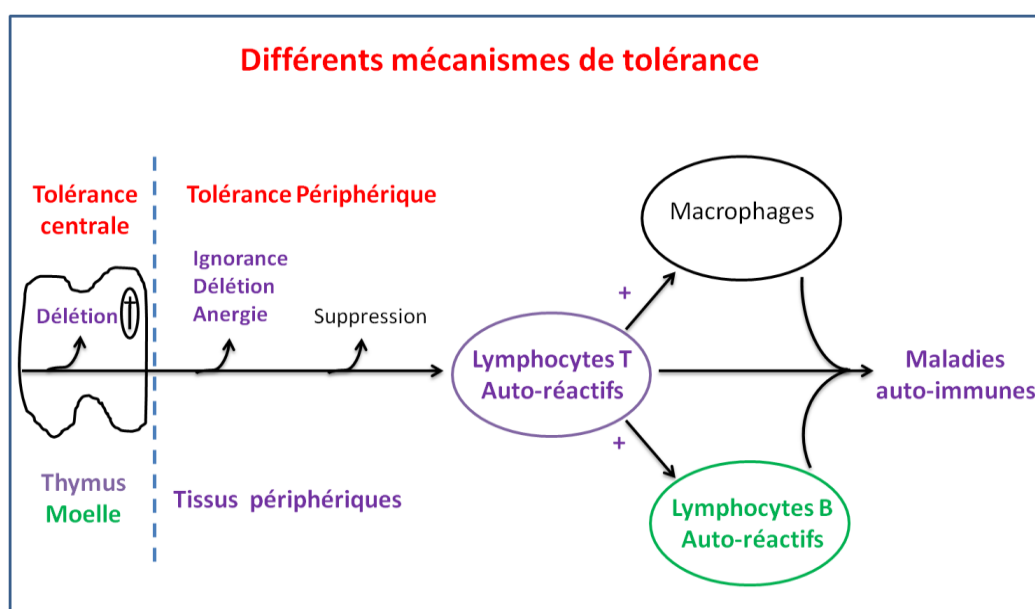


Figure 1 : Différents mécanisme de tolérance.(Malaise et al., 2012)

II. Les Maladies Auto-Immunes (MAI)

II.1.Définition

Les MAI sont des pathologies dues à une dérégulation du système immunitaire ce qui produit une réponse immunologique contre les antigènes du soi. Il apparaît alors une auto-immunité pathologique, auto agressive, qui va aboutir au déclenchement d'une maladie auto-immune, soit par la prolifération de lymphocytes B auto réactifs producteurs d'auto anticorps, soit par la prolifération de lymphocytes T auto agressifs de forte affinité qui se traduit par la rupture de tolérance vis-à-vis les antigènes du soi.

Cette rupture de tolérance peut-être à cause d'un déficit quantitatif ou qualitatif de

certaine population de lymphocytes de régulation (les Tregs), ou de l'émergence d'un clone de lymphocytes T ou B auto-réactif reconnaissant un autoantigène (London & Mouthon, 2013).

II.2. Épidémiologie

Les maladies auto-immunes constituent un problème de santé publique important que l'on situe juste après les cancers et les maladies cardiovasculaires, avec une prévalence globale estimée autour de 5 à 10% de la population mondiale (les maladies rares étant définies par une fréquence de survenue inférieure à 1/2000) (Tableau 1). Dans 80% des cas, ce sont des pathologies à prédominance féminine. (Generali & Selmi, 2019). On dénombre à ce jour environ 100 maladies auto-immunes. Ces affections sont considérées à tort comme des maladies rares, cela pour plusieurs raisons :

- Elles sont parfois méconnues car le diagnostic peut être à établir. Cependant le développement de nouveaux tests utilisables en routine (dosage immuno-enzymatiques) et la découverte de nouveau marqueur est en train de révolutionner le diagnostic des maladies auto immunes.
- Il n'existe pas d'étude épidémiologique à grande échelle permettant d'évaluer la fréquence exacte de ces affections.
- Les valeurs épidémiologiques que l'on peut trouver dans la littérature sont extrêmement variables, ce qui souligne les caractères importants génétiques et environnementaux (Generali & Selmi, 2019).

Tableau 1: Exemple de taux de prévalence des maladies auto-immunes (Puustinen et al. 2019).

MALADIES AUTO-IMMUNES	PREVALENCE
Thyroïdite auto-immune	1/100
Polyarthrite rhumatoïde	40-80/100 000
Syndrome Gougerot-Sjögren	1 à 5/1000
Diabète de type I	2 à 3/1000
Maladie Cœliaque	1/300 à 1/1000
Lupus erythémateux systemique	52/100 000
Hépatite auto-immune	15/100 000
Myasthénie	14/100000
Sclérodermie systémique	0,5/100000

II.3. L'étiologie des maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes sont des pathologies multifactorielles, qui résultent de l'interaction complexe entre un terrain génétique à risque et des facteurs environnementaux favorisants et vont conduire à développer une inflammation chronique. La réaction immunologique implique souvent des auto-anticorps et des lymphocytes T auto-réactifs.

Il est assez fréquent d'observer dans la famille d'un sujet atteint d'une MAI, des parents proches ou éloignés qui présentent la même maladie ou une autre MAI. On a donc associé aux MAI un terrain génétique de prédisposition.

II.3.1. Sexe et l'âge

D'une façon générale, les maladies auto-immunes s'observent préférentiellement chez la femme (par exemple pour la sclérodermie, la prédominance féminine est de 3 à 6 femmes pour 1 homme) et à tout âge.

Chez la femme, ces maladies sont retrouvées en période d'activité ovarienne, avec un pic de fréquence entre 10 et 40 ans pour le lupus érythémateux systémique et entre 30 et 50ans pour la sclérodermie, alors que le syndrome de Gougerot Sjögren touche les femmes dans 90% des cas et s'observe surtout dans la période de la ménopause (âge moyen lors de l'apparition du premier symptôme est de 43 ans) (Armengol et al, 2014).

Plusieurs mécanismes pourraient rendre compte du rôle aggravant des estrogènes et de l'effet bénéfique des androgènes sur les MAI. Les estrogènes augmenteraient la sécrétion de la prolactine et celle des hormones de croissance, qui peuvent jouer un rôle dans la prolifération des lymphocytes T et B (Huck et al, 1996).

Les androgènes semblent exercer principalement des effets inhibiteurs sur la réponse immune en général et l'auto-immunité en particulier par des mécanismes agissant directement sur des cellules du système immunitaire ou sur certains organes cibles. Cela est expliqué par les hormones sexuelles (les œstrogènes ont un rôle particulier dans la production d'IFN de type I par les cellules dendritiques plasmacytoïdes) et par le gène TLR7, localisé sur le bras court du chromosome X (l'expression bi-allélique du gène TLR7 confère une hyperréactivité fonctionnelle aux lymphocytes B) (Gleicher & Barad, 2007; Khalifa et al., 2016; Odhams et al., 2019). Ces observations suggèrent qu'un déficit androgénique pourrait être associé à l'apparition de manifestations immunopathologiques.

II.3.2. Facteurs génétiques

De nombreux facteurs génétiques jouent un rôle dans la sévérité, la progression et la mise en place des MAI (Bianchi et al., 2012). Les études de liaison génétique permettent d'affirmer l'origine génétique d'une maladie en ciblant les individus apparentés. De plus, la concordance de la maladie chez les jumeaux monozygotes, est en faveur de l'influence des facteurs génétiques. Il ne s'agit pas d'affections monogéniques. En effet, différents gènes sont candidats : gènes du système HLA, gènes de la fraction du complément, gènes de cytokines, les récepteurs des cytokines, les protéines impliquées dans la régulation de la réponse immunitaire et dans l'apoptose (Andre et al., 2007).

Les associations génétiques, impliquant certains phénotypes du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH), favorisent l'émergence de maladies auto-immunes et qui peuvent contribuer à une susceptibilité particulière pour ces maladies. Ces gènes codent principalement pour les protéines du CMH de classe I et de classe II (B27, DR2, DR3, DR4, DR5, B8...etc.), Par exemple, le système HLA B27 est un marqueur de susceptibilité de Spondylarthropathie (SPA), de la même façon, le système HLA DR4 pour la Polyarthrite Rhumatoïde (PR), HLA-DR3-DQ2 et HLA-DR4-DQ8 pour le diabète type1, HLA-DR2 et DR3 pour lupus érythémateux systémique (LES), HLA-B51 à la maladie de Behçet et le HLA-A29 aux uvéites (Bonnotte, 2010; Stahl et al., 2010) (Figure 2).

Outres gènes non HLA, d'autres variants semblent être impliqués dans la susceptibilité à la PR, tels que les gènes PTPN22, TRAF1-C5, PADI4 et STAT4. (Ceccarelli et al., 2017)

L'ethnie influence aussi la survenue de certaines MAI. Par exemple, le Diabète de type 1 est plus fréquent chez les personnes de type caucasiennes, tandis que le Lupus est plus grave pour les personnes afro-américaines et hispaniques.

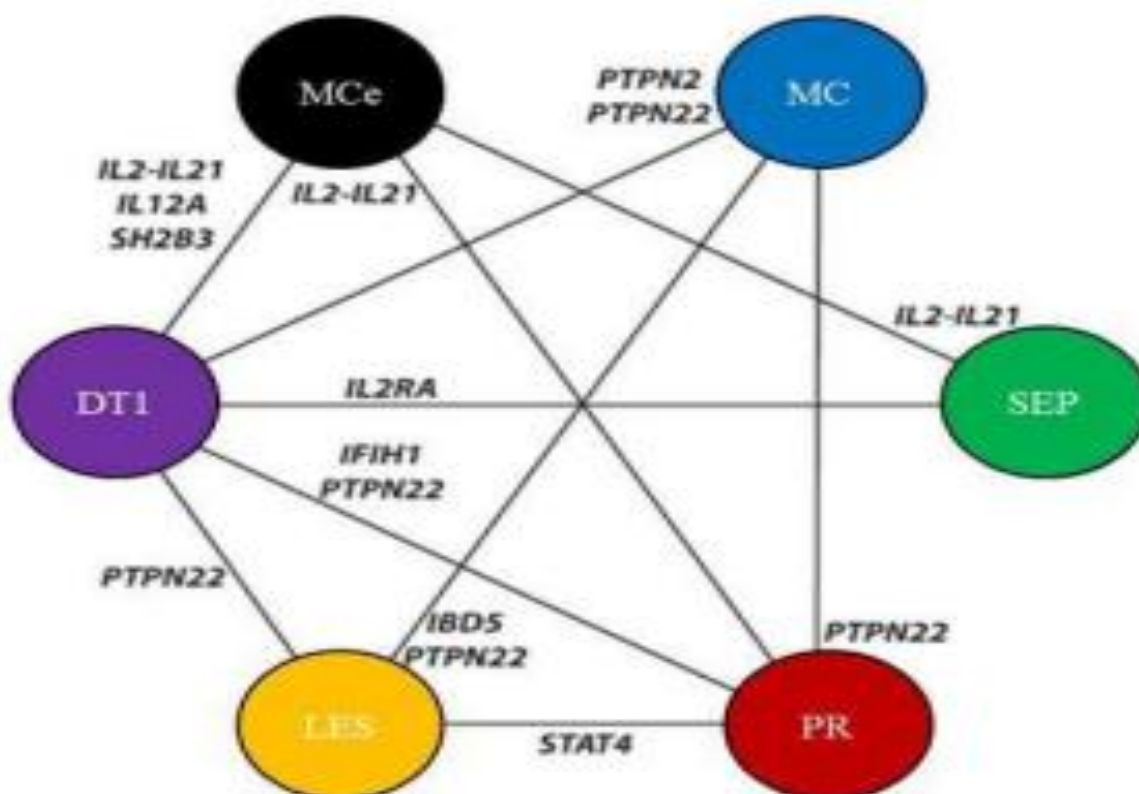


Figure 2 : Association de plusieurs loci, non HLA, étant des facteurs de risque de développer des MAI.(Ceccarelli et al., 2017)

II.3.3. Facteurs environnementaux

La prédisposition héréditaire de la PR peut être renforcée par différents facteurs environnementaux tels que la pollution de l'air ou certaines infections, ainsi que des facteurs comportementaux (Figure 3), notamment tels que :

- **Tabagisme** : est un facteur de risque bien connu pour la polyarthrite rhumatoïde, la sclérose en plaques, la dysthyroïdie auto-immune et la maladie thyroïdienne. (Aristizábal & González, 2013).
- **Alimentation** : le gluten dans la maladie cœliaque par exemple ;
- **Tumeurs** : le Vitiligo secondaire à un mélanome par exemple ;
- **Infections** : les infections bactériennes ou virales et le déclenchement de la PR par exemple : Le virus Epstein-Barr, les infections bactériennes à *E. coli* et les infections à mycobactéries sont les principaux agents en cause. (E. Toussirot & Roudier, 2007)
- **Facteur hormonal** : la grossesse favorise le Lupus par exemple ;
- **Iatrogénie** : beaucoup de médicaments ont été déterminés inducteurs de maladies
- **auto-immunes**, notamment tels que la procainamide induisent l'apparition d'un lupus érythémateux systémique (He et al., 2018). L'interféron alpha (prescrit par exemple

dans le traitement des hépatites virales) (Krupińska et al., 2011). Les anti-tumor necrosis factors alpha peuvent induire une auto-immunité biologique parfois associée à des manifestations cliniques (S. Allaire et al., 2008) et Les médicaments anticancéreux modulant l'immunité et constitue un facteur de risque potentiel d'auto-immunité comme les inhibiteurs des points de contrôle immunitaires (atézolizumab, ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab).

- Dans les maladies thyroïdiennes, L'IFN- α , l'IL-2, le lithium, l'amiodarone et un traitement antirétroviral hautement actif sont les agents les plus couramment associés à un dysfonctionnement de la thyroïde (Aristizábal & González, 2013).
- **Terrain psychologique** : lorsqu'il est fragilisé avec un syndrome dépressif, du stress ou encore un traumatisme, il peut favoriser la perte de la tolérance du soi.
- **Microbiote intestinal** : la dysbiose peut favoriser une modification qualitative et quantitative des différentes espèces colonisant notre système digestif par rapport aux conditions normales, est plus fréquent chez les malades que chez les personnes exemptes de maladies auto-immunes (www.inserm.fr). Cette association se situe à l'interface entre le système immunitaire et l'environnement, et la survenue d'une maladie auto-immune.

Les ultraviolets, le stress ou la nutrition sont aussi suspectés, mais leur rôle reste à démontrer.



Figure 3 : Les facteurs déclenchants des maladies auto-immunes.(Lescoat et al., 2021)

II.3.4. Autres facteurs des MAI : Le concept pathogénique "step by step"

Le concept pathogénique "step by step" dans les maladies auto-immunes est fondé sur le principe qu'un facteur "favorisant" (exposome, infectome ou microbiome), agissant sur un terrain prédisposant (génétique, épigénétique), résulte en une réponse immunitaire excessive" (auto-immunité ↔ auto-inflammation), donnant lieu à des lésions tissulaires débutantes "spécifiques" d'organe et à des destructions tissulaires "excessives" avec des "défauts" de réparation. (Lorenzon et al., 2018) (Figure 4).

Le concept pathogénique "step by step" des MAI

1. tabac (exposome) → citrullination des protéines à niveau tissu lymphoïde bronchopulmonaire (BALT: bronchial associated lymphoid tissu), → production des auto-anticorps (anti-peptides cycliques citrullinés ACCP, et anti-citrulline ACPA), → arthralgies intermittentes, → polyarthrite, → co-morbidité
2. rayons UV (exposome) → production d'auto-antigènes pendant l'apoptose → activation des cellules dendritiques et des cellules B → la production d'IFN et d'auto-anticorps → complexes immuns → inflammation → lésions des organes

Figure 4 : Le concept pathogénique "step by step" des maladies auto-immunes.(Kuhn et al., 2014)

II.4. Classification des maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes sont très nombreuses et sont classées en deux groupes catégories : Les MAI non spécifiques d'organe ou systémique à expression multifocale liées à l'atteinte simultanée de plusieurs organes et comportent essentiellement les connectivites et certaines vascularites. Ces affections sont très différentes les unes des autres dans leur mode d'expression clinique, mais elles ont des caractères communs comme des manifestations systémiques, fatigue, fièvre, myalgies atteinte articulaire, arthrite ou arthralgie et perte de poids, la raison pour laquelle on utilise le terme des maladies systémique rhumatoïdes. Ces derniers comportent 7 affections : le lupus érythémateux systémique (LES), le syndrome de Gougerot-Sjögren (SS), la sclérodermie, la dermatomyosite, la polymyosite, la polyarthrite rhumatoïde (PR), ...) et les vascularites à ANCA (Matsumoto et al., 1999; Yang et al., 2016)

Les MAI spécifiques d'organe dont l'expression clinique dépend de l'atteinte d'un organe cible, (comme le diabète de type I, la myasthénie, la thyroïdite auto-immune, les hépatites auto-immunes (HAI) la myasthénie et les Pemphigus). (Tableau 2).

Tableau 2 : Classification des maladies auto-immunes.. (Mouquet, 2006)

Maladies auto-immunes spécifiques d'organes	Maladies auto-immunes non spécifiques d'organes (maladies auto-immunes systémiques)
Glandes endocrines : ✓ thyroïdites : maladie de Hashimoto et maladie de Basedow ; ✓ maladie d'Addison ; ✓ diabète de type 1 ; ✓ Ovarite auto-immune.	Connectivites : ✓ Polyarthrite rhumatoïde ✓ Lupus systémique ✓ Sclérodémie systémique. ✓ Syndrome de Gougerot-Sjögren. ✓ Myopathies inflammatoires (dont syndrome des antisynthétases) ✓ Connectivite mixte
Foie et tube digestif : ✓ hépatites auto-immunes ; ✓ cirrhose biliaire primitive ; ✓ maladie de Biermer ; ✓ maladie cœliaque.	Vascularites primitives : ✓ Artérite à cellules géantes ✓ Maladie de Takayasu ✓ Maladie de Kawasaki ✓ Périartérite noueuse ✓ Granulomatose avec polyangéite (anciennement maladie de Wegener) ✓ Granulomatose éosinophilique avec polyangéite (anciennement maladie de Churg-Strauss) ✓ Polyangéite microscopique ✓ Vascularite à IgA (anciennement purpura rhumatoïde) ✓ Vascularite à Ac anti-MBG ✓ Maladie de Behçet
Système nerveux : ✓ Myasthénie ; ✓ Lambert-Eaton ; ✓ Guillain-Barré ; ✓ Sclérose en plaques.	
Œil : ✓ Ophtalmie sympathique.	
Peau : ✓ Pemphigus ; ✓ Pemphigoïdes ; ✓ Pelade ; ✓ Vitiligo.	Autre : ✓ Polychondrite atrophiante ✓ Syndrome des antiphospholipides.

II.4.1. Les maladies auto-immunes spécifiques d'organes

II.4.1.1 Diabète de type 1

Le DID est une maladie auto-immune spécifique d'organe. C'est la conséquence d'une carence d'insulino-sécrétion due à la destruction spécifique des cellules β des îlots de Langerhans par un processus auto-immune (Wémeau et al., 2014)

II.4.1.2. Thyroïdites auto-immunes

Les maladies thyroïdiennes (hypothyroïdie, hyperthyroïdie, nodules thyroïdiens) sont les pathologies endocriniennes les plus fréquentes chez les femmes en âge de procréer. La thyroïde peut être le siège de maladies auto-immunes, par l'action des auto-anticorps dirigés contre les cellules thyroïdiennes. Il existe de plus des augmentations des besoins métaboliques et des modifications du système immunitaire pouvant être un facteur de dérégulation ou de révélation de ces maladies thyroïdiennes (Aaltonen et al., 1997).

I1.4.1.3 Hépatite auto-immune

L'hépatite auto-immune (HAI) est une pathologie inflammatoire chronique du foie, de cause inconnue, qui affecte les enfants et les adultes des deux sexes, avec une prédilection pour les femmes (75 %) (Cacoub et al., 2014).

II.4.1.4. La myasthénie

La myasthénie se caractérise par une faiblesse musculaire et une fatigabilité anormale à l'effort. C'est une maladie auto-immune due à la présence d'anticorps dirigés contre des composants de la membrane musculaire localisés au niveau de la jonction neuromusculaire. Dans la majorité des cas, il s'agit d'auto-anticorps dirigés contre le récepteur de l'acétylcholine (RACH) (Berrih-Aknin et al., 2014).

II.4.1.5. Maladie cœliaque

La maladie cœliaque est une maladie complexe. D'une part, c'est une intolérance au gluten, caractérisée par la présence d'anticorps anti-gliadine (qui ne sont pas des aAc), d'isotype IgG et surtout IgA. D'autre part, c'est une maladie auto-immune avec des réponses IgG et surtout IgA contre l'endomysium des fibres musculaires lisses et la réticuline. Le principal autoantigène reconnu par les anticorps anti-endomysium est la transglutaminase tissulaire (tTG). Les IgA anti-endomysium et les IgA anti-tTG sont les aAc les plus sensibles (85 à 100 %) et les plus spécifiques (95 à 100 %) vis-à-vis de la maladie cœliaque et de la dermatite herpétiforme qui en est probablement la forme cutanée (S. MATHIEU, A. STASSEN, N. PAQUOT, 2006).

II.4.2. Les maladies auto-immunes non spécifique d'organe ou systémiques

II.4.2.1. Lupus érythémateux systémique

Le lupus érythémateux systémique (LES) est une maladie auto-immune non spécifique d'organe, affecte préférentiellement les femmes jeunes, mais elle peut toucher aussi les enfants et les personnes âgées. C'est une pathologie inflammatoire chronique rare, caractérisée par la production excessive de divers anticorps dont les plus spécifiques sont dirigés contre certains composants du noyau tels que l'ADN natif et les nucléosomes (Zhang et al., 2017).

Sur le plan clinique ; elle peut être responsable d'une atteinte cutanée, articulaire, rénale, hématologique, cardiaque ou neurologique, les séreuses et/ou d'autres organes. Cette

affection conduit à des expressions cliniques différentes d'un sujet à l'autre avec comme point commun des poussées entrecoupées par des périodes de rémission. (Horvat et al., 2015).

II.4.2.2. Le syndrome de Gougerot-Sjögren

Le syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) est une maladie auto-immune inflammatoire chronique de cause inconnue. Elle est souvent caractérisée par une diminution de la sécrétion des glandes lacrymales, déterminant une xérophtalmie, et par une réduction de la sécrétion des glandes salivaires, responsable d'une xérostomie, d'où la dénomination de "syndrome sec"(Attia, 2010). L'infiltration lymphocytaire des glandes salivaires qui caractérise ce syndrome présente une bonne accessibilité facilitant le diagnostic et la recherche clinique (Chebbi et al., 2015). Le syndrome de Gougerot-Sjögren est divisé en primaire ou secondaire. Ce dernier est associé aux collagénoses, telle qu'une polyarthrite rhumatoïde, un LES, un connectivite 24 mixte, une sclérodermie, une polymyosite-dermatomyosite ou une polychondrite récidivante (Alegria et al., 2015).

II.4.2.3. Sclérodermie

La Sclérodermie systémique est une pathologie touchant le tissu conjonctif, les artérioles et les microvaisseaux, caractérisée par la survenue d'une fibrose cutanée et viscérale ainsi que des phénomènes ischémiques. À ce jour, les thérapies proposées sont limitées et aucun traitement anti fibroses n'a fait preuve d'efficacité (Martis et al., 2014).

II.4.2.4. La connectivité mixte

La connectivité mixte est une maladie inflammatoire chronique qui se manifeste par des symptômes très variables d'une personne à l'autre et qui peut toucher tous les organes. Les principales manifestations sont des douleurs articulaires et musculaires, un gonflement des mains et des doigts et une grande fatigue. Dans certains cas, les poumons, le cœur, les reins et/ou la peau peuvent aussi être touchés (Sobanski et al., 2013). Les connectivites (Maladie mixte du tissu conjonctif) rassemblent un certain nombre de syndromes dont l'étiopathogénie n'est que partiellement comprise, mais dont le point commun réside en une atteinte inflammatoire auto-immune d'un ou de plusieurs organes. La validation de critères de diagnostiques a permis aux cliniciens de les individualiser avec plus de sécurité, en fonction de caractéristiques clinico-biologiques propres à chacune d'entre elles (Mosca et al., 2006). Elle est caractérisée par une réponse immune dirigée contre des constituants du noyau cellulaire qui sont les ribonucléoprotéines (RNP) (Didier et al., 2018).

II.4.2.5. Nouvelles approche de la classification des maladies auto immune-auto inflammatoire : l'apport de l'approche de biologie des systèmes à la classification des MAI

Sur la base de découvertes génétiques et moléculaires, McGonagle et ses collègues ont reclassé les maladies auto immune-auto inflammatoire (McGonagle & McDermott, 2006). Les maladies inflammatoires étaient définies par opposition aux maladies auto-immunes comme une inflammation systémique sans titre élevé d'auto-anticorps ou de cellules T spécifiques d'antigène. En effet, la destruction cellulaire liée à l'inflammation peut déclencher des processus auto-immuns. A l'inverse, la destruction auto-immune des tissus normaux peut déclencher l'inflammation. Les progrès de la biologie moléculaire ont amené à réaliser que les maladies auto-immunes et inflammatoires chroniques ne sont pas deux catégories distinctes de maladies mais qu'elles forment un continuum allant de maladies purement inflammatoires à des maladies purement auto-immunes englobant un large panel de maladies inflammatoires avec des composantes auto-immunes et des maladies auto-immunes avec une composante inflammatoire (Figure 5).

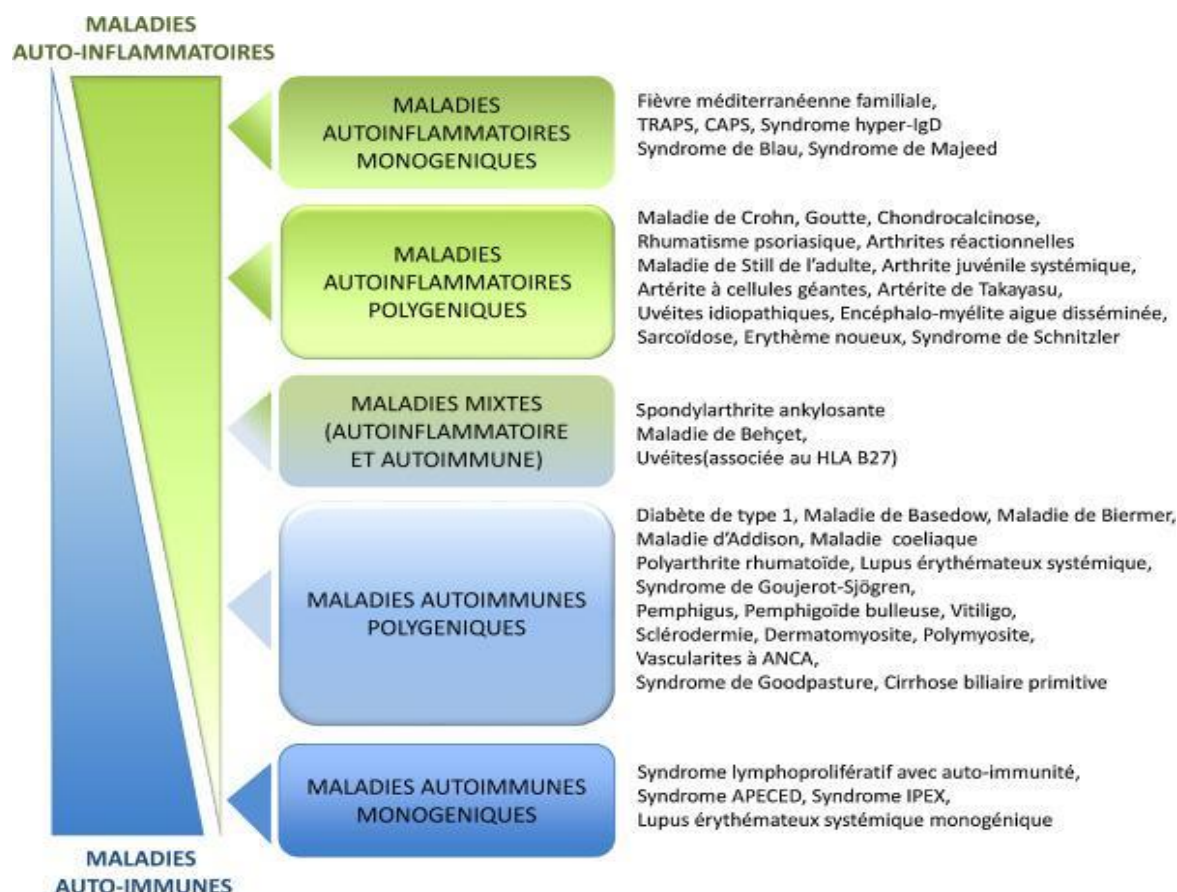


Figure 5 : Continuum des MAI (issue McGonagle, 2006).

II.5 Mécanisme pathologique effecteur des maladies auto immunes

II.5.1. Rôle des auto-anticorps

Les auto-anticorps induisent des lésions cellulaires ou tissulaires par quatre principaux mécanismes :

a. Cytolyse de la cellule cible

Les auto-anticorps fixés à la surface des cellules cibles activent la voie classique du complément ce qui aboutit à la formation du complexe d'attaque membranaire qui forme des pores dans la membrane de la cellule cible et induit la lyse cellulaire. En outre, les monocytaires/macrophagiques peuvent fixer par leurs récepteurs du fragment Fc des IgG (FcγR) des cellules cibles recouvertes des auto-anticorps spécifiques d'un antigène (opsonines) qu'elles expriment, les phagocyter et enfin les détruire. (Rowley & Whittingham, 2015). Ce mécanisme intervient par exemple dans l'anémie hémolytique auto-immune (Bonnotte, 2004; Ludwig et al., 2017; Sebbag, Chapuy-Regaud, Auger, Petit-Teixeira, Clavel, Nogueira, Cornélis, et al., 2004).

b. Mécanisme de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps

Cette cytotoxicité est exercée par les cellules NK (natural killer). Elles s'activent via l'interaction entre leurs FcγR et les autoanticorps recouvrant les cellules-cibles et libèrent de la perforine et des granzymes contenus dans des granules lysosomiaux, qui induisent la mort de la cellule cible.

c. Modification de la fonction de l'antigène cible

Certains auto- anticorps ont la capacité de se lier à des récepteurs membranaires entraine une internalisation de ces récepteurs et une augmentation de leur dégradation. D'autres autoanticorps peuvent bloquer, activer les récepteurs ou sont dirigés contre des antigènes solubles dont les fonctions sont alors perturbées. (Alberto Rubio-Tapia, MD1, Ivor D Hill, MD2, Ciarán P Kelly, MD3 & MD4, and Joseph A Murray, 2013; Cattán, 2006; Oh & Brown, 2003).

d. Formation de complexes immuns

Les complexes antigène-anticorps peuvent se former dans la circulation, parfois les auto-anticorps circulants reconnaissent l'antigène des tissus.

Les complexes immuns in situ conduisent à l'activation de la voie classique du complément, à la libération des anaphylatoxines C3a et C5a capables de recruter et d'activer les polynucléaires neutrophiles qui participent aux lésions inflammatoires.

II.5.2 Rôle des lymphocytes T

Certaines maladies auto-immunes sont liées aux lymphocytes T auto-réactifs. Elles sont dues à une infiltration des tissus cibles par les lymphocytes cytotoxiques qui entraînent une réaction inflammatoire. Les lymphocytes T cytotoxiques (LT CD8) peuvent induire des lésions cellulaires par différents mécanismes de cyto-toxicité (exocytose de molécules cytotoxiques, induction de l'apoptose de la cellule cible, etc.). Ce mécanisme intervient en particulier dans le Diabète juvénile insulino-dépendant dans lequel, on observe une infiltration lymphocytaire T dans les îlots de Langerhans du pancréas, qui entraînent une destruction des cellules bêta et un déficit de production d'insuline (Bonnotte, 2004) (Figure 6).

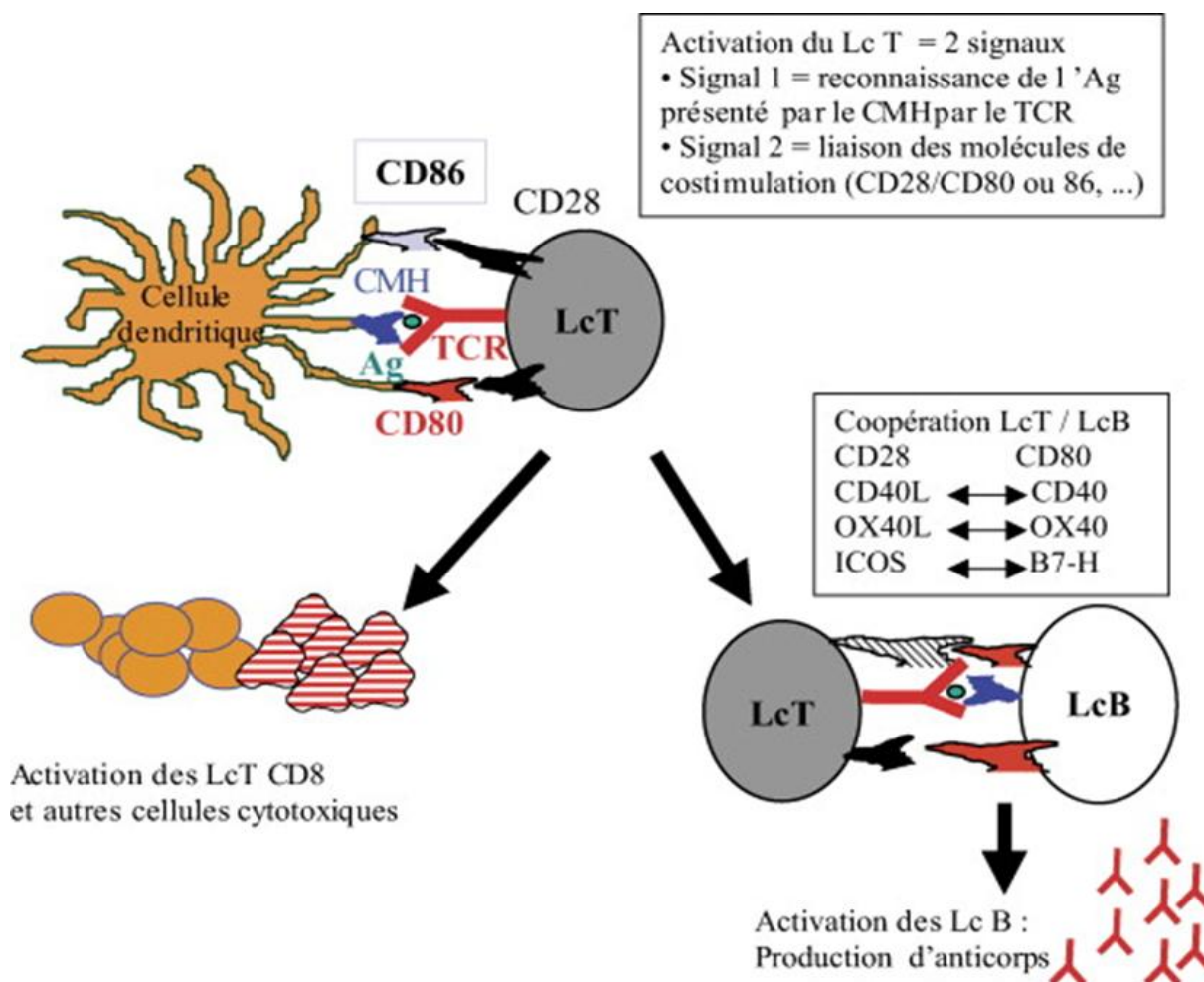


Figure 6 : Réponse immunitaire innée et adaptative : interactions synoviales dans la polyarthrite rhumatoïde. (Levy et al., 2013).

II.6. Diagnostic des maladies auto-immunes

II.6.1. les marqueurs des maladies auto-immunes

Le diagnostic d'une maladie auto-immune est évoqué par le médecin devant un ensemble de signes qui évoquent un dysfonctionnement d'un organe. Le diagnostic sera porté par l'exploration de l'organe touché avec les prises de sang ou les examens d'imagerie, et par la recherche dans le sang des signes d'auto-immunité, et en particulier la recherche d'auto-anticorps.

Les auto-anticorps sont des éléments clés des MAI. Pour qu'une maladie soit définie comme auto-immune les patients doivent avoir dans leur sang des AAc circulants. Les auto-anticorps sont les principaux marqueurs immunologiques des maladies auto-immunes et peuvent, à ce titre, être utilisés pour leur diagnostic. Ainsi, ils sont utiles pour poser un diagnostic étiologique d'un syndrome ou pour suivre l'évolution d'une maladie auto-immune sous traitement (Jean Sibilia & Chatelus, 2003).

Ces anticorps (Ac) devenus néfastes pour l'organisme peuvent survenir des années avant le déclenchement des pathologies et sont des éléments primordiaux pour en établir le diagnostic. La plupart des MAI sont aujourd'hui caractérisées par la présence d'un ou plusieurs AAc aidant au diagnostic du patient. Par exemple, les AAc dirigés contre les microsomes thyroïdiens et la thyroglobuline permettent de diagnostiquer la thyroïdite de Hashimoto ou encore la présence d'anticorps anti-Scl-70 (anti-topoisomérase) ou anti-centromère vont orienter le diagnostic vers une ScS.

II.6.2. Les autoanticorps

Les auto-anticorps sont les témoins de phénomènes d'auto-immunisation physiologiques ou pathologiques. Dans certaines maladies auto-immunes, ils sont d'excellents marqueurs diagnostiques, parfois pronostiques et même des acteurs pathogènes. Cependant, la présence d'un auto-anticorps ne suffit pas à affirmer l'existence d'une maladie auto-immune et cela pour trois types d'auto anticorps que nous allons décrire (J. Sibilia, 2002).

- Les autoanticorps naturels : dans certaines circonstances inflammatoires non spécifiques, ils peuvent être produits en grande quantité et devenir détectables par des tests standards (par exemple, anti-thyroglobuline, antiphospholipides, facteurs rhumatoïdes, etc.).
- Les autoanticorps induits par les médicaments : les bêtabloquants, les antiépileptiques et les antihypertenseurs peuvent, par exemple, induire ces autoanticorps qui sont

surtout des anti-histones ; associés à des signes cliniques, ils définissent un lupus induit.

- Les autoanticorps associés à des affections néoplasiques : ils sont différents de ceux qui caractérisent les maladies auto-immunes.

Certains autoanticorps sont très spécifiques d'une maladie auto-immune comme les anticorps anti-ADN natif et anti-Sm sont spécifiques du lupus systémique et les anti-protéinases 3 sont spécifiques de la maladie de Wegener.

II.6.2.1. Les anticorps antinucléaires (AAN)

La recherche des anticorps anti-nucléaires est le test de dépistage le plus sensible et le plus utilisé pour les maladies auto-immunes systémiques. Elles sont donc des biomarqueurs pouvant être utilisés avec des objectifs divers au cours des MAI non spécifiques d'organe. Ils sont le produit de clones lymphocytaires B auto-réactifs dont l'activation et la différenciation sont la conséquence du processus auto-immun (Tron, 2014) .

Les ANA sont des isotypes IgG, qui regroupent de nombreux auto-anticorps dirigés contre des protéines participant à la structure et aux fonctions du noyau cellulaire (ADN, histones, centromères, antigènes nucléaires solubles...)(Dubucquoi et al., 2004) . Ils sont principalement recherchés au cours des connectivites, incluant le LES, la sclérodermie systémique, le syndrome de Gougerot-Sjogren et la connectivite mixte (Zhang et al., 2017).

Les anticorps antinucléaires (ANA) sont les marqueurs sériques les plus caractéristiques. Leur cible antigénique est généralement localisée dans des complexes supramoléculaires comme le nucléosome, le spliceosome, la particule ribonucléoprotéique Ro et le ribosome (Degenne et al, 2006).

Les Auto-anticorps anti-antigènes nucléaires sont divisés en deux groupes :

- Non soluble la chromatine et ses constituants : Ac anti-ADN natif (ADNn) et anti-ADN simple brin (ADNsb), Ac anti-ARN, anti-histone.

- Antinucléosome solubles : Ac anti-Sm, anti-U1-RNP, anti-SSA et anti-SSB Soluble:

SSA, SSB, ACA, RNP (Meroni & Schur, 2010) .

La recherche des AAN a été détectée par IFI sur les lames cultivées de cellules HEp-2(human epithelial cell line type 2), dérivées d'une lignée tumorale de cellules épithéliales humaines, qui possèdent de gros noyaux et de gros nucléoles. La lecture des lames et leur interprétation se font à l'aide d'un microscope à fluorescence. La fluorescence observée peut

avoir différents aspects, notamment : homogène ou diffus, périphérique, moucheté, nucléolaire et cytoplasmique (Figure 7). L'interprétation des différents aspects de la fluorescence est parfois délicate et peut varier d'un observateur à l'autre.

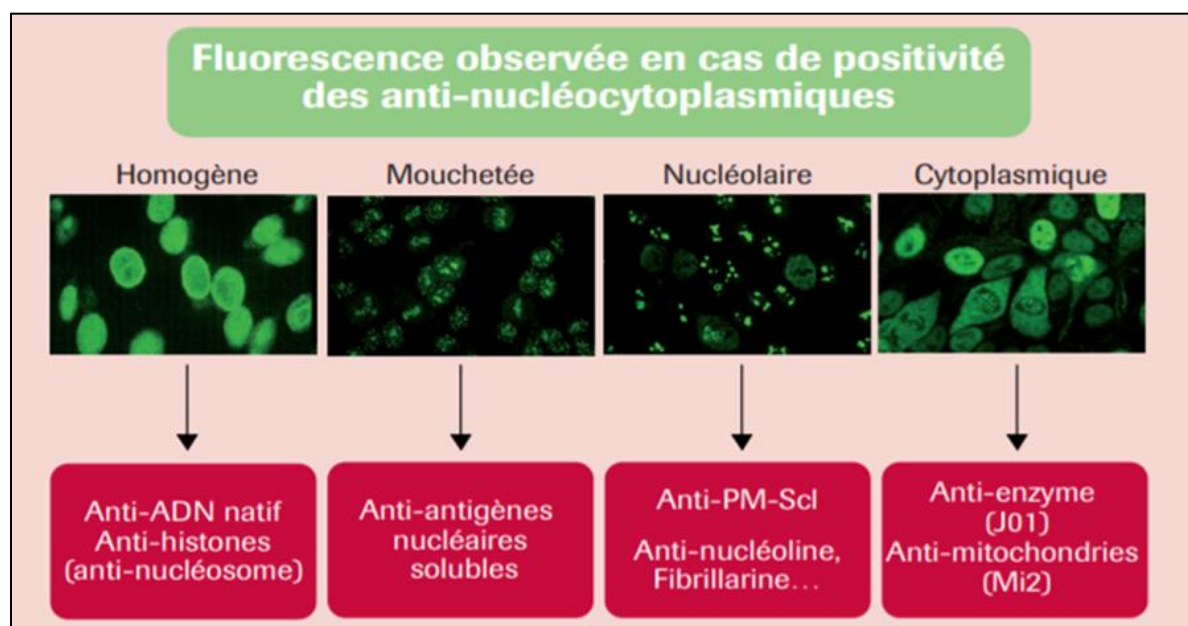


Figure 7 : Les principaux aspects de fluorescence des AAN.(Mahler, Hanly, et al., 2012)

Les différents types de fluorescence correspondent généralement à différentes spécificités (cibles) des anticorps du patient pour des composants cellulaires, qui sont eux-mêmes associés à différentes connectivites. (Conrad et al., 2016). Par exemple, l'aspect homogène est typiquement associé à la présence d'anticorps anti-dsDNA (double-stranded DNA), très évocateurs d'un lupus érythémateux systémique, alors que l'aspect moucheté correspond à la présence d'auto-anticorps connus sous le terme d'ENA (extractable nuclear antigens) rencontrés dans de nombreuses maladies auto-immunes. On décrit parfois aussi une fluorescence de type nucléolaire rencontrée notamment dans un contexte de sclérodermie.

La technique de l'IFI reste la technique plus répandue en raison de son utilité diagnostique et coût efficacité (Charkin, 1999; Meroni & Schur, 2010).

Quand le dépistage des AAN par immunofluorescence s'est révélé positif. Elle fait appel à des techniques immunoenzymatiques ou immunodot pour la recherche des anti-antigènes nucléaires solubles (anti-ENA) (Conrad et al., 2016) (Figure 8).

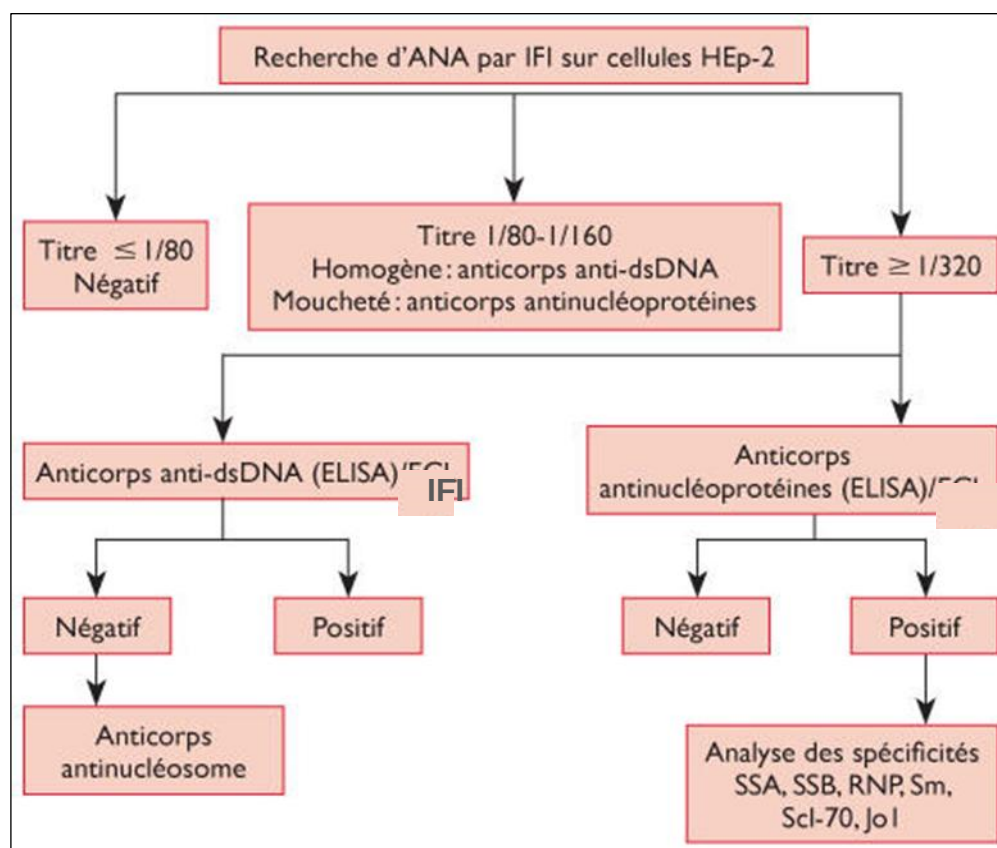


Figure 8 : Algorithme utilisé pour la recherche d'anticorps antinucléaires (AAN). (Petitpierre et al., 2009)

II.6.2.2. Anticorps anti-ADN natif

Dans le noyau des cellules eucaryotes, l'ADN double brin (ADNdb) est associé aux histones. L'ADN natif est donc de l'ADN double brin (ADNdb), entourant des histones, l'ensemble formant les nucléosomes. Les Ac anti-ADNdb, les Ac antinucléosomes et les Ac anti-histones peuvent être recherchés.

Les anticorps anti-ADNn constituent le plus souvent un mélange d'anticorps de faible et de forte affinité. Les anticorps de faible affinité reconnaissent aussi l'ADN dénaturé monocaténaire, mais ils ne sont pas caractéristiques du LES. Ils sont observés dans plus de 50 % des cas dans le lupus induit, dans les autres connectivites et dans les syndromes inflammatoires de toutes étiologies, ainsi que chez les personnes âgées en dehors de toute maladie. Les seuls anticorps anti-ADNn vraiment caractéristiques du LES ont une forte affinité pour l'autoantigène et appartiennent généralement à l'isotype IgG (Arbuckle et al., 2003).

Les anticorps anti-ADN double brin sont recherchés par la technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur *Crithidia luciliae*, ELISA, immunofluorimétrie en flux, EIA...) et par test de FARR.

Par la technique d'IFI, ces anticorps sont plus précisément mis en évidence les Ac anti-ADN du kinétoplaste (kADN), c'est-à-dire de l'ADN à la fois circulaire et double brin (alors que l'ADN humain est double brin mais pas circulaire). En effet, *Critidia luciliae* est un trypanosome flagellé, parasite de la mouche (non pathogène chez l'homme). Il contient un volumineux noyau et un kinétoplaste contenant l'ADNdb. La recherche des Ac anti-ADNdb est donc réalisée par IFI sur culture de flagellés et elle est positive lorsqu'est mise en évidence une fluorescence du kinétoplaste (verte après coloration au bromure d'éthidium ; orange si négative) qu'il y ait ou non une fluorescence du noyau. Cette analyse, spécifique mais trop peu sensible.

II.6.2.3. Anticorps anti-histones

Les histones sont des protéines basiques riches en arginine et en lysine. Ces protéines sont des éléments constitutifs de la chromatine nucléaire et sont couplées à la double hélice d'ADN. Il existe 5 classes différentes d'histones : H1, H2A, H2B, H3 et H4. Des anticorps contre les différentes classes d'histones ont été décrits dans le lupus, mais ne sont pas limités à cette maladie. Ils sont recherchés par technique Elisa ou immunodot.

II.6.2.4. Anticorps anti-nucléosomes

Le nucléosome, unité fondamentale de la chromatine, est composé d'ADN en double hélice et d'histones. Ils sont dirigés exclusivement contre les nucléosomes ou les sous complexes nucléosomiques, et possèdent une faible réactivité envers les histones et l'ADNn.

Des anticorps anti-nucléosomes, généralement d'isotype IgG, sont détectés chez environ 85 % des patients lupiques. Ils précèdent souvent l'apparition des anticorps anti-ADNn, suggérant ainsi fortement et précocement le diagnostic. De plus, ils jouent un rôle pathogénique et sont associés à la survenue de glomérulonéphrites. Ils s'observent au cours d'autres maladies auto-immunes (sclérodermie, syndrome de Sjögren) ainsi que dans l'infection à VIH.

Ils sont recherchés par technique Elisa ou immunodot. Ce sont des marqueurs du LES, couplés (le plus souvent) ou non aux Ac anti-ADNdb. En cas de suspicion clinique forte de LES, d'image de fluorescence évocatrice (marquage intense de la chromatine), et l'absence d'Ac ADNdb, il faut penser à rechercher les Ac anti-nucléosomes, notamment car ils peuvent être d'apparition plus précoce.

II.6.2.5. Les anticorps d'antigènes nucléaires solubles (ENA)

a. Anticorps anti-Smith (anti-Sm)

Les anticorps anti-Sm sont hautement caractéristiques du LES (Didier et al., 2018). Ils sont présents dans 10 à 25 % des sérums de patients en Europe occidentale et sont plus fréquents en Amérique du Nord. Les anticorps anti-Sm précipitent une famille de protéines associées à différentes chaînes d'ARN. Les auto-antigènes reconnus par les anticorps anti-Sm appartiennent à la famille des UsnRNP. Les UsnRNP sont des particules nucléaires composées de petits ARN et de protéines. Les ARN constituant ces particules sont riches en uridine d'où le préfixe Usn RNP. On a identifié 13 UsnRNP. Les anticorps anti-Sm reconnaissent 5 déterminants antigéniques appelés B'/B, D, E, F et G. Ces déterminants antigéniques sont communs aux U1, U2, U4 RNP. Des études immunogénétiques ont montré l'association des anticorps anti-Sm avec l'antigène HLA DR7 (Goetz, 2005).

b. Anticorps anti-RNP (anti-U1RNP)

Les anticorps anti-RNP ont été identifiés par Sharp en 1971 par immunodiffusion dans le sérum de patients atteints de connectivite mixte, dont ils constituent le marqueur sérologique. Ils reconnaissent le polypeptide de 70 kD de la molécule de U1- RNP et les déterminants A et C de la protéine. Observés dans 25 à 30 % de LES, on peut les détecter au cours de la polyarthrite rhumatoïde, de la sclérodermie systémique diffuse, des myosites, et même dans le lupus induit par les médicaments (Goetz, 2005; Zian et al., 2018). Les molécules Sm et U1RNP interviennent dans l'épissage des ARN pré-messagers au cours du processus de synthèse des protéines.

c. Anticorps anti-Ro/SSA

Ils sont constitués par des particules intracellulaires composées de protéines complexées à de petits ARN. Le motif antigénique reconnu par les anticorps est porté par la partie protéique de la ribonucléoprotéine. L'antigène Ro/SSA est composé d'au moins deux protéines de 60 et 52 kD complexées avec de petits ARN cytoplasmiques appelés Y1, Y2, Y3, Y4 et Y5. Ces ARN sont synthétisés dans le noyau sous le contrôle d'une ARN polymérase III. La fonction de la protéine Ro est inconnue. Ces anticorps sont détectés dans 70 % des SSp (Bonaguri et al., 2011; Goetz, 2005; Murng & Thomas, 2017). Ils sont plus rarement observés dans le SS secondaire (5 à 15 % des cas), surtout en cas d'association avec un LES (Conrad et al 2016).

Les anticorps anti-Ro/SSA sont aussi retrouvés chez 10 à 60% des patients avec un LES. (Yoshimi et al., 2012; Zian et al., 2018).

d. Anticorps anti-La/SSB

Le complexe La/SSB est constitué d'une protéine phosphorylée de 48 kD couplée à des ARN transcrits par l'ARN polymérase III. Les ARN identifiés correspondent aux précurseurs de l'ARNt et de l'ARN ribosomal 5S et 7S. Certains ARN d'origine virale peuvent être associés à la protéine La. Ces anticorps sont détectés chez 70 % des patients souffrant d'un SSp primaire (Bonaguri et al., 2011; Goetz, 2005; Murng & Thomas, 2017). En revanche, ils sont observés dans 30 % des SS secondaires. Les anticorps anti-La/SSB sont présents dans 10 % des cas de LES. Leur présence incite à chercher l'association d'un syndrome de Gougerot-Sjögren (Bodolay et al., 2003; Luo et al., 2019).

e. Anticorps anti-Scl 70

Les anticorps anti-Scl 70, dirigés contre l'ADN topoisomérase I, sont spécifiques de la sclérodermie systémique et s'observent dans 20 à 50 % des cas. Ils sont très rarement retrouvés chez des patients avec une autre connectivite ou chez des sujets sains sont associés à la forme cutanée limitée de la sclérodermie systémique (Goetz, 2005; Zian et al., 2018). En IFI sur cellules HEP-2, les anticorps anti-Scl70 se traduisent en général par un aspect assez caractéristique : moucheté, fin et dense, pouvant être associé à un marquage périphérique du nucléole. Les cellules en division présentent un marquage dense de la chromatine (Goetz, 2005; Zian et al., 2018).

f. Anticorps anti-Jo1

L'antigène Jo1 est présent dans le noyau des hépatocytes de veau et les fibres musculaires humaines. Les anticorps spécifiques confèrent à l'immunofluorescence indirecte un aspect moucheté sur cellules HEP-2. Ces anticorps, dirigés contre l'histidyl-ARNt synthétase, font partie du groupe des anticorps anti-synthétases. Les anticorps anti-Jo1 sont présents chez des patients atteints des myosites et chez des patients atteints des myosites avec atteinte pulmonaire. Ils ont un intérêt diagnostique car ils sont spécifiques de ces affections (Bodolay et al., 2003; Merlo et al., 2017).

g. Anticorps anti-centromères

Les anticorps anti-centromères spécifiques d'une forme particulière de Sclérodermie, le syndrome de CREST (qui associe des calcifications sous cutanées, un syndrome de Raynaud, une atteinte œsophagienne, une sclérodactylie et des télangiectasies). Le centromère est la zone du chromosome au niveau de laquelle, pendant la mitose, les deux chromosomes frères restent attachés avant de se diviser, la cellule doit doubler ses chromosomes par réplication de

l'ADN. (Guastafierro et al., 2018; von Mühlen & Tan, 1995). Il existe à ce niveau une structure appelée kinétochore qui permet l'arrimage des chromosomes sur les fibres du fuseau mitotique pour permettre leur migration vers les deux pôles de la cellule. Les anticorps anti-centromères, qui devraient plutôt être appelés anti kinétochore, reconnaissent différentes protéines de cette structure (Conrad et al 2016) (Figure 9).

h. Anticorps anti-PM/Scl

Cet anticorps produit une fluorescence nucléolaire homogène. Il reconnaît des antigènes solubles du noyau constitués de 11 protéines de poids moléculaire de 20 à 110 kD. Leur dénomination traduit un chevauchement entre des signes de myosite et des signes de sclérodermie, avec un risque élevé d'atteinte rénale. Les anticorps anti-PM-Scl sont exclusivement détectés chez les patients atteints du syndrome de recouvrement Polymyosite/Sclérodermie (20-25%), Polymyosite/Dermatomyosite (8-12 %) et Sclérodermie (1-16 %) (Hadj Ali et al., 2015).

i. Anticorps anti-ARN polymerase III

Les anticorps anti-ARN polymerase de type III (anti-RNAPIII) sont parmi les anticorps anti-nucléaires les plus fréquemment identifiés chez les patients avec sclérodermie systémique (ScS), avec une prévalence estimée à 11 % (IC 95 % : 8–14). Les anticorps anti-RNAPIII sont associés avec des caractéristiques cliniques responsables d'un pronostic plus sévère telles que la forme cutanée diffuse et la crise rénale sclérodermique (Sobanski et al., 2014). Ces anticorps, décrits par radio-immunoprécipitation, sont dirigés contre un complexe multiprotéique composé de 8 à 14 sous-unités, permettant la transcription des gènes en ARN.

j. Anticorps anti-Nor 90

Ils reconnaissent un constituant de 90 kD situé au niveau du centre organisateur du nucléole. Ils produisent une fluorescence nucléolaire mouchetée. Ils sont fréquemment retrouvés dans le SSp (Carvajal Alegria et al., 2015).

k. Anticorps anti- DFS70

Les anticorps anti-DFS70 sont des anticorps anti-nucléaires qui sont mis en évidence par immunofluorescence indirecte sur les cellules Hep-2 par un marquage moucheté/granulaire très particulier des noyaux d'où leur appellation de « Dense Fine Speckled » et un marquage des chromosomes des cellules en mitoses. (Mahler et al., 2012).

l. Anticorps anti-PCNA

L'antigène PCNA est une protéine de 36 kD identifiée comme une protéine auxiliaire de l'ADN polymérase delta. En immunofluorescence sur cellules HEp-2, il est présent chez moins de 5 % dans le LES et caractérise une atteinte rénale grave ou neurologique (Feki et al., 2012).

m. Anticorps anti-SRP

Les myopathies nécrosantes auto-immunes (MNAI) avec anticorps anti-signal recognition particule (SRP) sont particulièrement sévères : très nécrosantes, invalidantes et résistantes aux traitements immunosuppresseurs. Les anti -SRP reconnaissent des protéines assurant un signal de reconnaissance pour le transport de particules au sein du cytoplasme et permettent de définir une forme clinique particulièrement grave et résistante au traitement (Guerin-Moreau et al., 2014; Merlo et al., 2017).

n. Anticorps anti-Mi

Les anticorps anti-Mi sont spécifiques d'une enzyme qui remodèle le nucléosome et sont détectés essentiellement au cours des dermatomyosites (Guerin-Moreau et al., 2014).

o. Autres anticorps anti-synthétases

Il s'agit des anticorps anti-thréonyl-ARNt synthétase (anti-PL-7), anti-alanyl-ARNt synthétase (anti-PL-12), anti-isoleucyl-ARNt synthétase (anti-OJ), anti-glycyl-ARNt synthétase (anti-EJ). Ces anticorps ne sont recherchés que dans des laboratoires spécialisés. Ils définissent le syndrome des anti-synthétases, se caractérisant par une myosite, une pneumopathie interstitielle, des arthrites, un syndrome de Raynaud, une hyperkératose desquamante et fissurée des mains, généralement associés à la fièvre et à un syndrome inflammatoire général. En dépit de leur faible fréquence, ces anticorps sont très utiles en clinique car ils sont très spécifiques de ce syndrome (von Mühlen & Tan, 1995).

p. Anticorps anti-PM/Scl

Cet anticorps produit une fluorescence nucléolaire homogène. Il reconnaît des antigènes solubles du noyau constitués de 11 protéines de poids moléculaire de 20 à 110 kD. Leur dénomination traduit un chevauchement entre des signes de myosite et des signes de sclérodermie, avec un risque élevé d'atteinte rénale. Les anticorps anti-PM-Scl sont exclusivement détectés chez les patients atteints du syndrome de recouvrement

Polymyosite/Sclérodémie (20-25%), Polymyosite/Dermatomyosite (8-12 %) et Sclérodémie (1-16 %) (Hadj Ali et al., 2015).

q. Anticorps anti-Ku

Ils reconnaissent une protéine non histonique de la chromatine de 80 kD. Ils peuvent se traduire par une fluorescence nucléolaire mais le plus souvent responsables d'un marquage nucléaire réticulé (Cugnet et al., 2015). Comme les anti-PM/Scl, ils sont fréquemment rencontrés dans les syndromes de chevauchement entre polymyosite et sclérodémie.

r. Anticorps anti-PM1

Ces anticorps sont présents dans 60 % des polymyosites, 17 % des dermatomyosites, et 85 % des polymyosites associées à une sclérodémie. En dehors des chevauchements avec la sclérodémie, cet auto-anticorps ne permet pas de définir une forme clinique particulière de polymyosite (Mosca et al., 2006).

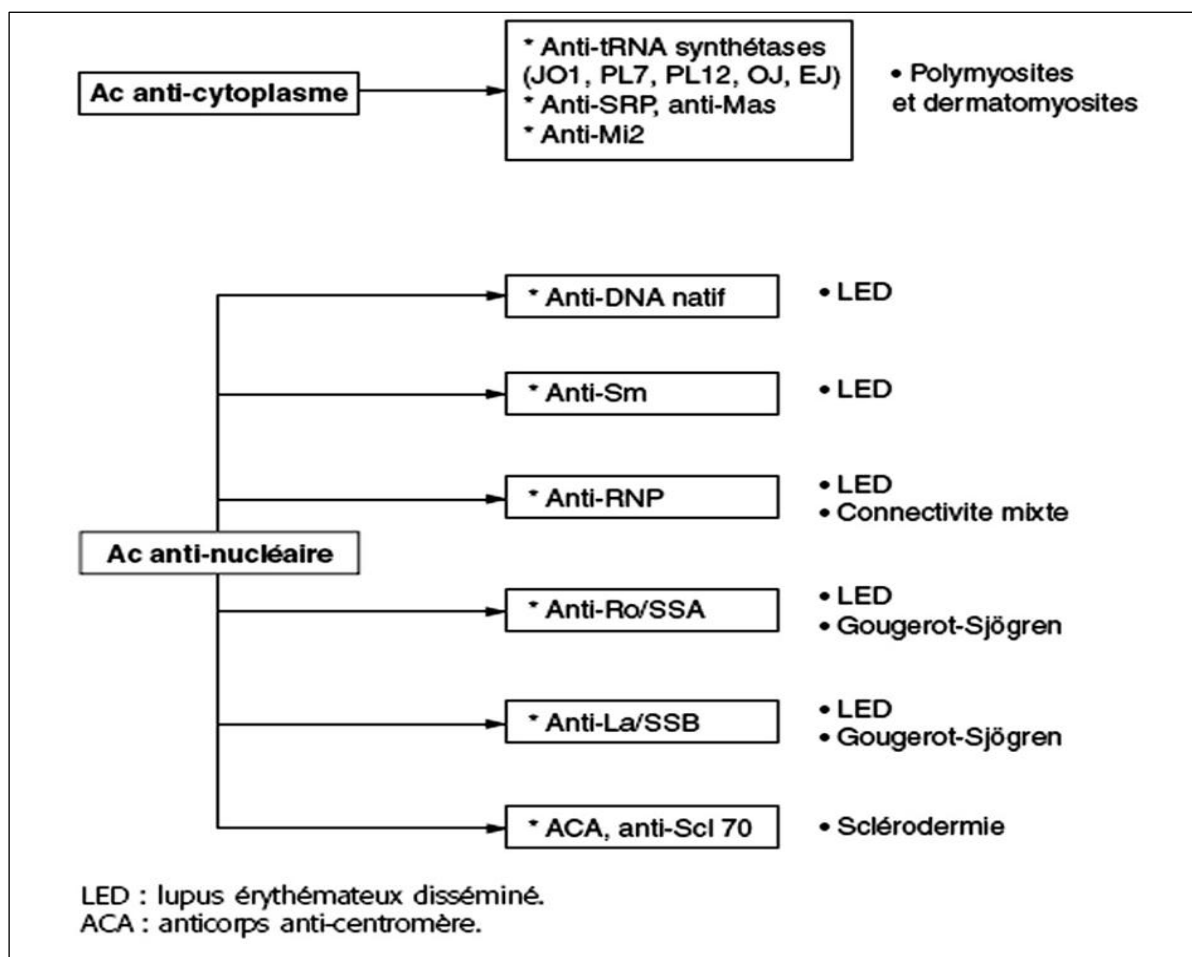


Figure 9 : la valeur diagnostique de la recherche des auto-anticorps antinucléaires dans les principales maladies auto-immunes systémiques (Emile et al, 2010).

II.6.2.6. Autres auto-anticorps non spécifiques d'organe

II.6.2.6.1. Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles : ANCA

Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ou ANCA pour anti neutrophiles Cytoplasm Antibodies) ont un intérêt dans le diagnostic des vascularites auto immunes. Ils sont révélés par la technique d'immunofluorescence indirecte sur des polynucléaires neutrophiles (PNN) fixés à l'éthanol. Deux aspects de fluorescence prédominant : un marquage de la fluorescence cytoplasmique et granulaire définissant les c-ANCA (cytoplasmique ANCA); ils correspondent le plus souvent à des anticorps anti-protéinase 3 (PR3) que l'on peut caractériser et doser par ELISA et qui sont très spécifiques de la granulomatose de Wegener (sensibilité autour de 66 % et spécificité autour de 98 %). Le deuxième aspect d'un marquage périnucléaire définissant les p-ANCA (Périnucléaire ANCA) dont la cible est la myéloperoxydase (MPO), il s'agit, sur des polynucléaires fixés à l'éthanol (mais pas si la fixation est réalisée en formol) (Radice and Sinico 2005 ; Selmi 2017) (Figure 10).

De très nombreuses autres enzymes des polynucléaires peuvent être la cible d'auto anticorps de type P-ANCA (Elastase, Cathepsine G, b-Glucoronidase, Lactoferrine, BPI), qui peuvent également survenir de façon secondaire à une inflammation aiguë, par exemple dans le cadre d'une infection sont actuellement démontrés (Radice & Sinico, 2005 ; Selmi, 2017).

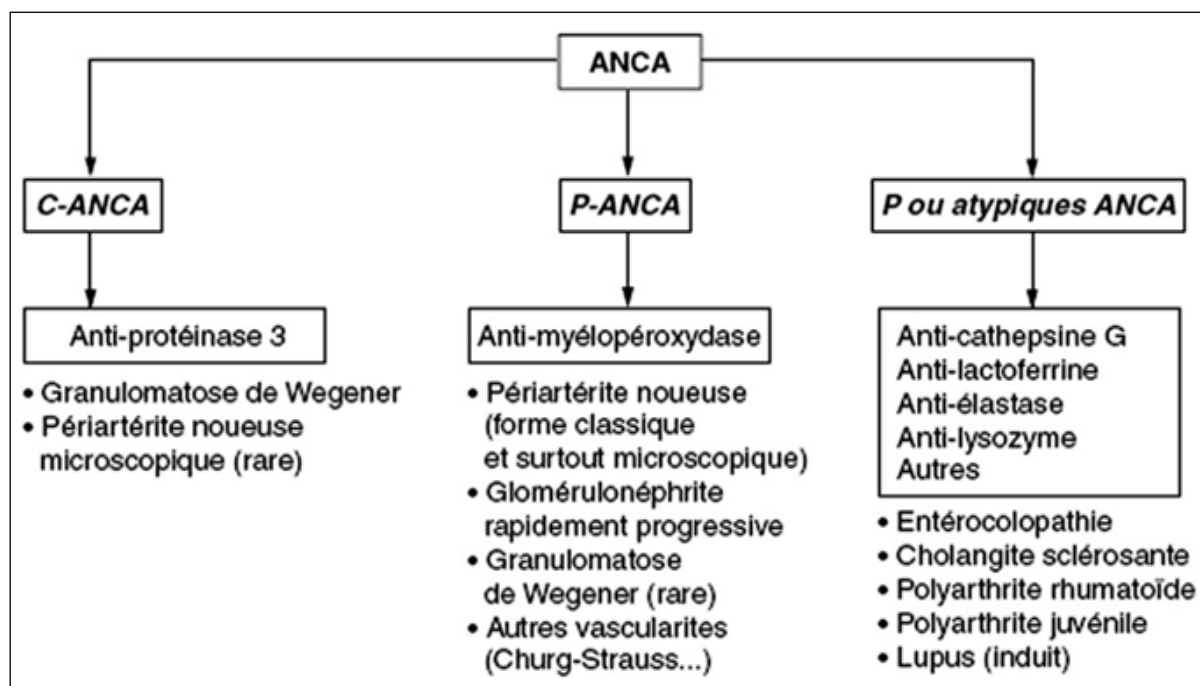


Figure 10 : Stratégie de la recherche des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires ANCA.(Petitpierre et al., 2009)

II.6.2.6.2. Anticorps anti-phospholipides

Les anticorps anti-phospholipides (aPL) représentent une famille d'anticorps dirigés en particulier contre les phospholipides des membranes (exemple anticorps anti-cardiolipines, aCL) ou contre leurs co-facteurs protéiques (β 2-glycoprotéine-1, β 2GP1). Ce sont les marqueurs-clés du syndrome des anti phospholipides (SAPL)(Piette & Dray, 1997). Ce syndrome associe des thromboses, des avortements ou des pertes fœtales répétés et des anticorps anti-phospholipides. Les principaux sont les anti-cardiolipide (ACL), les anticoagulants circulants (ACC) et les anticorps anti-bêta 2 glycoprotéine 1 (anti- β 2GP1).

Les anti- β 2GP1 sont mis en évidence par un test de type ELISA, ne se rencontrent guère dans les infections et sont donc plus spécifiques du SAPL vis-à-vis duquel ils sont cependant moins sensibles que les ACL ou les ACC. Ils sont fréquents dans le lupus systémique(Elkon & Casali, 2008; Piette & Dray, 1997) (Elkon and Casali 2008; Piette and Dray 1997).

Les ACL sont mis en évidence par un test de type ELISA. Ils sont fréquents dans le lupus systémique surtout si celui-ci est compliqué d'un SAPL (dit SAPL secondaire), ainsi que dans le SAPL isolé (dit primaire). Les ACL se rencontrent aussi dans nombre de maladies infectieuses auquel cas ils ne s'accompagnent pas de thromboses, ce qui rend leur présence peu spécifique. Les ACL du lupus et du SAPL se distinguent de ceux que l'on rencontre dans les infections car ils persistent pendant plus de 3 mois à des taux relativement élevés et sont d'isotype IgG.

Les anticoagulants circulants de type lupique, ou lupus anticoagulants, ainsi nommés parce qu'ils ont initialement été mis en évidence chez des patients lupiques, sont des anticorps anti-phospholipides induisant un allongement des tests de coagulation in vitro. Vis-à-vis du SAPL, ils ont à peu près la même sensibilité que les ACL, mais leur recherche en est complémentaire, car ils peuvent être seuls positifs, et réciproquement. (Lynch, 2009; Piette & Dray, 1997).

II.6.2.6.3. Facteurs Rhumatoïdes

Les Facteurs Rhumatoïdes (FR) sont des aAC dirigés contre le fragment constant Fc des IgG humaines et/ou animales. Classiquement, seul l'isotype IgM est recherché, mais il en existe d'isotypes IgA et IgG

. La sensibilité et la spécificité d'une recherche positive de FR dépendent beaucoup du contexte clinique : la sensibilité est d'environ 80 % dans une polyarthrite rhumatoïde évoluant depuis quelques années mais seulement de l'ordre de 30 % au début de la maladie.

La sensibilité et la spécificité des FR dépendent beaucoup du contexte clinique : la sensibilité est d'environ 80 % dans une polyarthrite rhumatoïde (PR) évoluant depuis quelques années mais seulement de l'ordre de 30 % dans les premiers mois de la maladie (contre 0 à 6 % chez les sujets sains) ; la spécificité est médiocre (40 %) si le contexte clinique est mal ciblé (fièvre, baisse de l'état général, arthralgies diffuses), mais bonne (80 %) s'il s'agit de polyarthrites et sont le seul marqueur retenu à ce jour par l'américain college of rheumatology (Regueiro et al., 2019) . En effet, les FR sont fréquents dans les maladies infectieuses chroniques et non exceptionnels dans d'autres maladies auto-immunes et chez les sujets sains (0 à 6 %), surtout âgés. Des titres élevés de FR semblent être associés à un mauvais pronostic ou à PR sévère (S.Rekik & Elleuch, 2014 ; É. Toussiro, 2011).

II.6.2.6.4. Les anticorps anti-peptides cycliques citrulinés (anti CCP).

La recherche des anticorps anti-protéine ou peptides cyclique citruélinés (Anti-CCP : anti peptides cyclic citrullinés ou APCA : anticorps anti proteine citrulliné) avec une sensibilité améliorée a été détectée par la technique ELISA pour la détection semi-quantitative dans le sérum humain. La technique Elisa actuellement la plus utilisée.

Les CCP (Peptides Cycliques Citrulinés) proviennent de la maturation des protéines de notre organisme. Ce sont des produits qui remplissent plusieurs fonctions dans nos cellules. La production par notre système immunitaire d'anticorps contre ses propres peptides cycliques citrulinés est la cause de la polyarthrite rhumatoïde.

Les Anti-CCP est l'un des marqueurs clefs pour aider au diagnostic et à la gestion de la polyarthrite rhumatoïde (PR), y compris le diagnostic de la PR chez les patients atteints de synovite précoce. Il aide également au diagnostic différentiel de la PR par rapport à d'autres maladies du tissu conjonctif telles que le lupus érythémateux systemique (LES) et à la confirmation du diagnostic de la polyarthrite séronégative.

Actuellement, il est recommandé de rechercher en parallèle les FR et les anti-CCP. Ces tests Sont inclus dans les critères de classification de PR par EULAR (Namas et al., 2019; Waldenlind et al., 2014).

II.6.2.7. Auto-anticorps associés à des maladies auto-immunes spécifiques d'organe

II.6.2.7.1. Anticorps anti-mitochondries type 2 (anticorps anti-foie).

Ces anticorps sont retrouvés pour le diagnostic des maladies auto-immunes (MAI) du foie. Les anticorps anti-mitochondries type 2 (M2) sont très caractéristiques de la cirrhose biliaire primitive (CBP), avec une sensibilité et de spécificité de l'ordre 90 à 99 % (Brahim et al., 2017). Ils constituent un groupe d'auto-anticorps qui réagissent avec des antigènes appartenant à des protéines mitochondriales. Ces anticorps sont révélés par la technique d'immunofluorescence sur des coupes de foie, de rein et d'estomac de rat ou de souris (on parle de « triple substrat », dans lesquelles les anticorps se fixent sur le cytoplasme des cellules riches en mitochondries. et on les caractérise par immunofluorescence indirecte sur cellules HEP2 d'aspect de fluorescence cytoplasmique granulaire. L'antigène cible est le plus souvent une sous-unité de 70 kD du pyruvate déshydrogénase. Ces anticorps, à un titre supérieur ou égal à 80, sont très caractéristiques de la cirrhose biliaire primitive (CBP). (Villalta et al. 2005).

II. 6.2.7.2 Anticorps anti-muscles lisses (anticorps anti-foie)

Les anticorps anti-muscles lisses les plus intéressants en clinique sont les anticorps anti actine qui, à un titre supérieur ou égal à 80, sont très spécifiques des hépatites chroniques auto-immunes (en particulier des hépatites auto-immunes de type 1), avec une grande sensibilité.

Ces anticorps ont été détectés par l'immunofluorescence sur « triple substrat », où ils se fixent sur les muscles lisses des vaisseaux sanguins, et on les caractérise par immunofluorescence sur cellules HEP2 où ils se fixent sur les filaments d'actine du cytosquelette. Les autres antigènes du cytosquelette sont la cible d'auto-anticorps de moindre intérêt car beaucoup moins spécifiques (Brahim et al. 2017). IL existe d'autre anticorps anti-tissus comme les anti-LKM (ou anti réticulum endoplasmique) et anti-LC1 (ou anti cytosol) sont présents pour le diagnostic de l'hépatite auto-immune type2.

II.6.2.7.3. Anticorps anti-estomac

Les anticorps anti-cellules pariétales gastriques et anti-Facteur Intrinsèque sont associés à la gastrite atrophique de type A et à l'anémie de Biermer qui paraît en découler par défaut d'absorption de la vitamine B12 (Brahim et al., 2017).

Les anticorps anti-cellules pariétales sont recherchés par immunofluorescence indirecte sur coupes d'estomac de rat ou de souris ; ils reconnaissent l'ATPase H^+/K^+ dépendante (ou pompe à protons) ; Ils sont très fréquents dans l'anémie de Biermer (70 à 100 %), un peu moins dans la gastrite atrophique (20 à 50 %) et surtout peu spécifiques puisque on en trouve fréquemment dans les endocrinopathies auto-immunes, notamment thyroïdites et DID, dans les cancers gastriques (20 à 40 %) et même chez les sujets sains, surtout âgés (5 à 15 %) (Pham, 2006). Les anticorps anti-Facteur Intrinsèque sont, par contre, des marqueurs très spécifiques de l'anémie de Biermer, mais leur sensibilité est plus faible (50 à 70 % des patients).

II.6.2.7.4. Auto-anticorps associés à la maladie cœliaque

La maladie cœliaque est une maladie complexe. D'une part, c'est une intolérance au gluten, caractérisée par la présence d'anticorps anti-gliadine (qui ne sont pas des aAc), d'isotype IgG et surtout IgA. D'autre part, c'est une maladie auto-immune avec des réponses IgG et surtout IgA contre l'endomysium des fibres musculaires lisses et la réticuline.

Le principal autoantigène reconnu par les anticorps anti-endomysium est la transglutaminase tissulaire (tTG). Les anti-endomysium IgA et les anti-tTG IgA sont les aAc les plus sensibles (85 à 100 %) et les plus spécifiques (95 à 100 %) vis-à-vis de la maladie cœliaque et de la dermatite herpétiforme qui en est probablement la forme cutanée (Smarrazzo et al., 2017).

Les anticorps anti-endomysium se recherchent par immunofluorescence indirecte sur coupes d'œsophage de singe qui est actuellement la meilleure technique validée.

La recherche des anti-transglutaminase IgA est détectée par ELISA semble constituer une alternative intéressante, notamment pour le dépistage des formes frustes, dépistage nécessaire car il justifie la mise en place d'un régime sans gluten. La recherche des anticorps anti-gliadine IgG et/ou IgA, ont une sensibilité à peu près équivalente aux anti-endomysium IgA, mais une spécificité insuffisante : ces anticorps sont présents dans la Polyarthrite Rhumatoïde, des hépatopathies, et certaines néphropathies. Ils sont présents, d'une part chez les enfants de moins de 2 ans chez lesquels les anti-gliadine IgA pourraient apparaître avant les anti-endomysium IgA et, d'autre part, en cas de déficit en IgA où seules des anti-gliadine IgG peuvent être présentes. Les anticorps anti-réticuline se sont avérés moins sensibles et moins spécifiques (mais ce point est encore discuté) que les anticorps anti-endomysium.

Enfin, le titre des anticorps anti-gliadine et celui des anticorps anti-endomysium diminue en quelques mois au cours d'un régime sans gluten bien suivi, et augmente à nouveau

en cas d'écarts de régime, ce qui fait de ces anticorps de bons outils de suivi du traitement (Giersiepen et al., 2012; Villalta et al., 2005).

II.6.2.7.5. Anticorps antithyroïdiens

Les anticorps anti-Thyroglobuline (TG) et les anticorps anti-thyropéroxydase (TPO IgG)) sont détectés par ELISA. Il est destiné à aider à poser le diagnostic de trouble thyroïdienne auto immune, bien que son résultat à lui seul ne permette pas de poser un tel diagnostic de manière définitive (Sardu et al., 2012). Les anticorps anti-TPO sont pratiquement constants dans la thyroïdite de Hashimoto (titres élevés) et dans le myxœdème primitif et très fréquent dans la maladie de Basedow (75 %).

Les anticorps anti-TG sont un peu moins sensibles (85 et 50 %, respectivement) et exceptionnellement isolés ; leur recherche n'est donc indiquée que devant des anticorps anti-TPO négatifs dans un contexte où une thyroïdite auto-immune est néanmoins suspectée.

Les anticorps anti-TG et anti-TPO sont positifs chez 4 à 8 % des sujets sains et plus encore chez la femme et après 60 ans. Ils sont assez souvent positifs dans d'autres maladies auto-immunes, sans que l'atteinte fonctionnelle de la glande thyroïde soit fréquente (Chiang et al., 2018) (Figure 11).

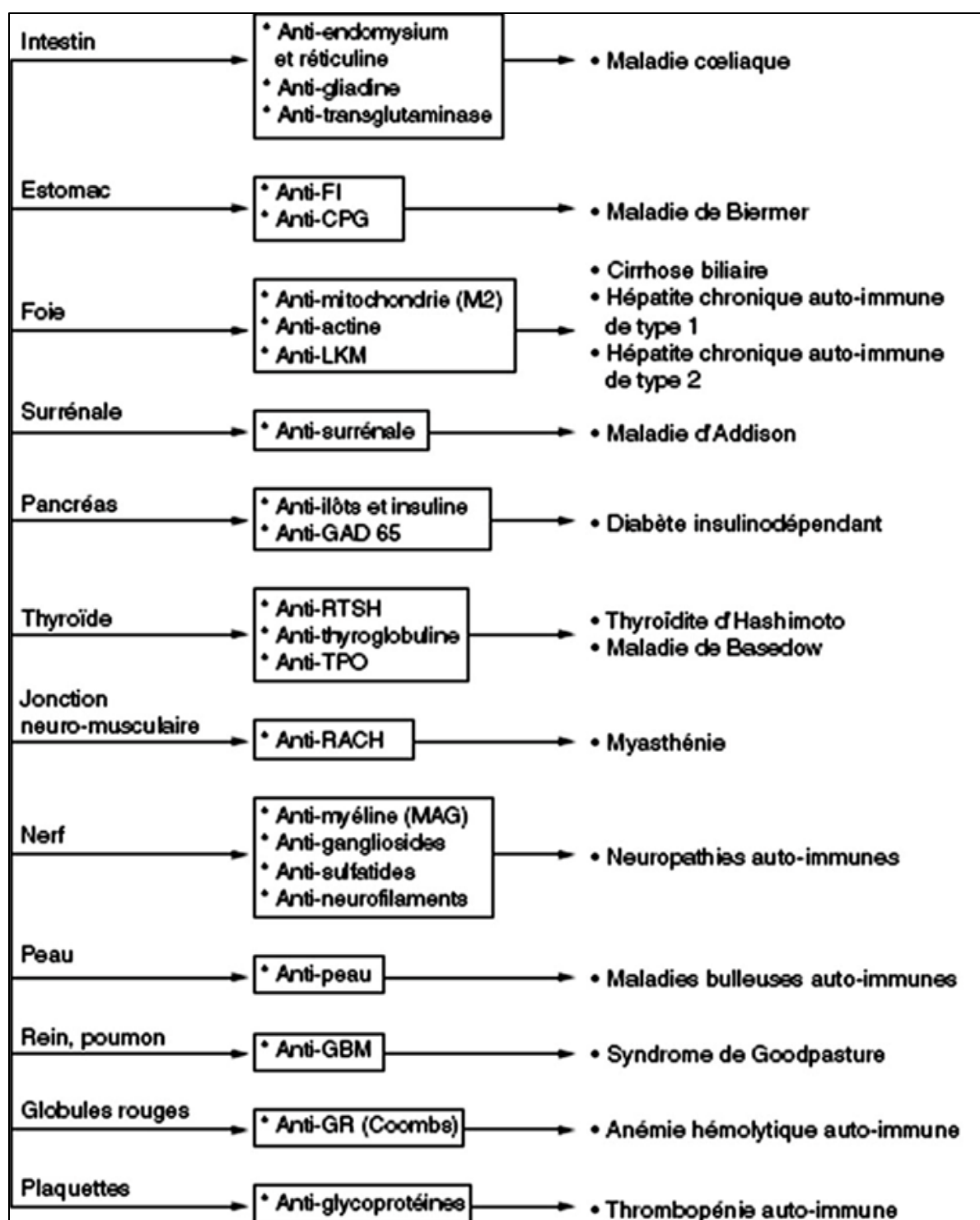


Figure 11 : La recherche des autoanticorps dans les maladies auto-immunes spécifiques d'organes. (Jean Sibilia & Chatelus, 2003)

II.7. Techniques et identification des autoanticorps

La recherche des auto-anticorps est un examen très régulièrement utilisé dans les situations cliniques peu claires. Leur détection repose sur une démarche en cascade avec deux méthodes qui sont habituellement utilisées pour rechercher les ANA. Il faut commencer par

un dépistage à l'aide d'une immunofluorescence indirecte, puis si le dépistage est positif, il se poursuit par une étape d'identification grâce à la méthode immuno-dot et ELISA, dont l'objectif est la caractérisation du ou des antigènes cibles reconnus par l'ANA dépisté (Charkin, 1999; Meroni & Schur, 2010; J. Sibilia, 2002).

Actuellement, les techniques les plus utilisées sont l'immunofluorescence indirecte, l'immunoenzymatique (ELISA) et l'immunodot (Charkin, 1999 ; Meroni & Schur, 2010)

A ce jour, l'immunofluorescence indirecte reste la technique gold standard de dépistage d'après l'ACR (Aletaha et al., 2010).

II.7.1. La technique d'immunofluorescence indirecte.

L'immunofluorescence indirecte est la technique la plus utilisée pour la recherche des auto-anticorps. Elle consiste à déposer le sérum dilué du patient suspecté d'avoir une maladie auto-immune sur un substrat adéquat coupes d'organes ou cellules isolés et chercher la fixation des auto-anticorps sur les structures antigéniques correspondantes, par application d'une antiglobuline humaine fluorescente. La réaction devient alors aisée. D'après l'aspect de la fluorescence on peut identifier des anticorps de spécificités diverses dont chacun peut correspondre à une maladie différente. L'immunofluorescence est une technique facile à exécuter, très sensible permettant la détection de plusieurs anticorps à la fois. Elle représente donc la technique de choix pour le dépistage des auto-anticorps (Wiik, 2005).

● Principe de l'immunofluorescence indirecte

L'IFI utilise les propriétés de la réaction antigène/anticorps. Cette technique permet de détecter les sérums contenant des auto-anticorps reconnaissant différents antigènes antinucléaire (Figure 12). Elle est effectuée sur des frottis de cellules Hep-2 au Hep 2000 qui sont des cellules de carcinome laryngé humain utilisées dans la plupart des kits Commerciaux (Bonaguri et al., 2011; Wiik et al., 2010).

L'aspect de la fluorescence obtenu peut orienter vers une spécificité particulière mais il faut la confirmer par des techniques spécifiques (ImmunoDot ou/et ELISA). L'immunofluorescence indirecte est la technique de dépistage pour la plupart des autoanticorps et reste la technique gold standard de dépistage d'après l'ACR (Aletaha et al., 2010).

Les images de fluorescence observées donnent une première information sur l'identité de la cible (Cook, 2006). D'autres méthodes vont permettre l'identification précise de la nature moléculaire de l'antigène contre lequel est dirigé l'anticorps détecté (Hiemann et al., 2009).

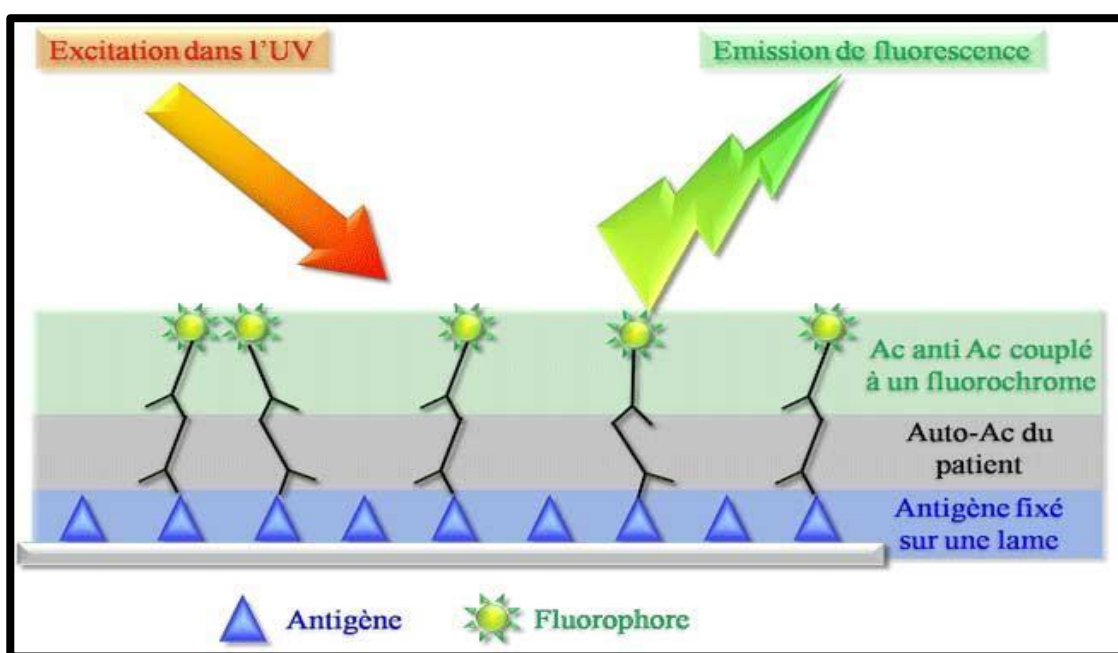


Figure 12 : Différentes étapes de la réalisation d'une technique d'immunofluorescence indirecte. (Petitpierre et al., 2009)

II.7.2. La technique ELISA

La technique des dosages immuno enzymatique (ELISA) est l'une des techniques les plus utilisées dans la détection des autoanticorps et elle est la seconde étape pour confirmer la spécificité antigénique. C'est une méthode immuno-métrique de détection et de mesure d'anticorps spécifiques. La technique ELISA se caractérise par sa grande sensibilité, la réaction antigène-anticorps est visualisée par l'activité d'une enzyme liée aux complexes Ag-Ac. Ce test repose sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec des antigènes purifiés adsorbés sur un support plastique (plaque de titration en polystyrène). Les anticorps sont révélés par des anti immunoglobulines purifiés et couplés à une enzyme (exemple : la peroxydase), la quantité de produit formé après addition du substrat en présence d'un chromogène donne des produits solubles, colorés et mesurables au spectrophotomètre. L'activité enzymatique est proportionnelle à la quantité d'anticorps liée à l'antigène (Jean Sibilia & Chatelus, 2003).

La sensibilité du test ELISA est due au fait qu'une très faible quantité d'enzyme est détectable par la transformation de son substrat en produit. En outre, la méthode ELISA a une plage dynamique limitée (c'est-à-dire la plage dans laquelle il existe une relation linéaire entre la concentration d'antigène et la lecture de l'absorbance) - la plage est étroite par rapport à celle d'autres technologies telles que les dosages multiplex.

II.7.3. Technique ImmunoDot

C'est un test qualitatif qui permet l'identification des autoanticorps dans le sérum. On utilise dans ce test des bandelettes sensibilisées par des auto-antigènes. Le changement de la coloration des bandelettes indique que la réaction est positive (Goetz et al., 2005).

C'est une méthodologie utilisée pour la détermination des auto-anticorps antinucléaires solubles, déposés sous forme de gouttes et fixés sur des bandelettes de nitrocellulose. Les bandelettes ainsi parées sont incubées avec le sérum du patient étudié. La technique ImmunoDot permet aussi de confirmer la spécificité antigénique (Bahon-Riedinger, 2004).

Son principe contient des bandelettes de test recouvertes de lignes parallèles d'antigènes hautement purifiés. Dans la première étape de réaction, les échantillons de patients dilués sont incubés avec les bandelettes d'immunoblot. Dans le cas d'échantillons positifs, les anticorps IgG spécifiques (également IgA et IgM) se lieront au site antigénique correspondant. Pour détecter les anticorps liés, une seconde incubation est réalisée à l'aide d'une conjuguée anti-humaine IgG marquée enzymatique catalysant une réaction colorée (Figure 13).

Cette technique permet une identification ponctuelle en urgence sur un sérum individuel, mais la sensibilité et la spécificité des tests sont conditionnées par le choix et la qualité des préparations antigéniques utilisées (Wold et al., 1968).

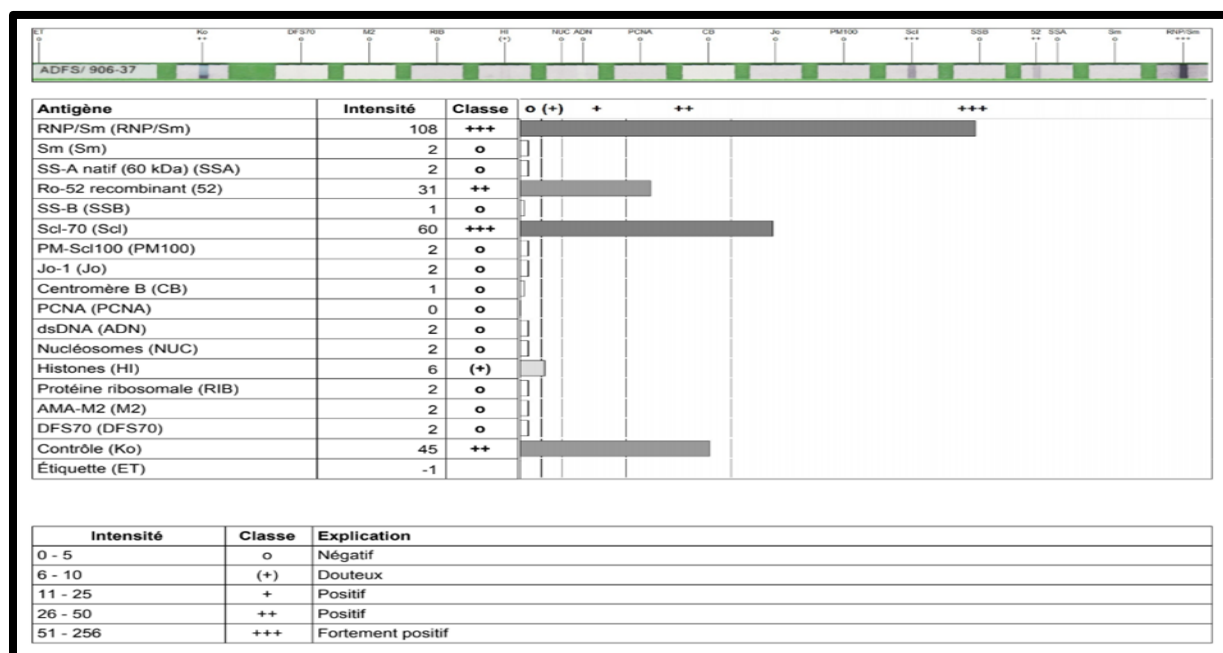


Figure 13 : Identification des anticorps antinucléaires solubles (Anti-ENA) Par immunodot (Euroimmune).

Ces nouvelles techniques ont des avantages évidents en ce qui concerne le faible volume des échantillons, la quantité de réactifs nécessaire et les coûts d'exécution moindres pour la mise en évidence de nombreux auto-anticorps.

III. La Polyarthrite Rhumatoïde (PR)

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie auto-immune la plus fréquente définie comme rhumatisme inflammatoire chronique, qui peut survenir à tout âge mais on l'observe surtout entre 40 et 50 ans (Alamanos et al., 2006; John & Worthington, 2001). La PR est quatre fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme. L'inflammation de la synoviale entraîne progressivement une déformation articulaire, puis une destruction de l'os et du cartilage.

La PR est également une maladie systémique pouvant s'accompagner de manifestations extra-articulaires (cardiaque, pulmonaire, vasculaire, nerveuse, oculaire...) ayant parfois des répercussions sur le pronostic vital. (Agmon-Levin et al., 2014) .

L'étiologie de la maladie reste toujours inconnue, plusieurs facteurs interviennent dans le déclenchement de la maladie : des facteurs hormonaux, génétiques et des facteurs environnementaux. Au cours de la maladie la membrane synoviale est le siège d'une réaction inflammatoire impliquant des interactions entre les différents types cellulaires. La PR est classée parmi les maladies auto-immunes, en raison de nombreux signes d'auto-réactivité, cela peut être expliqué par la présence d'autoanticorps tels que les anticorps anti-peptides citrullinés (ACPA) et les facteurs rhumatoïdes.

III.1. Historique

Les Rhumatismes sont des maladies très anciennes. Il y a longtemps vers le XVIème et le XVIIème siècle la goutte était considérée comme cause de plusieurs maladies, particulièrement celles qui touchent aux articulations. La PR a été décrite comme maladie individualisée pour la première fois dans la thèse « La goutte asthénique primitive » soutenue par Auguste Landré-Bauvois, le 3 août 1800.

III.2. Définition

La PR est une affection à deux aspects : c'est tout d'abord un rhumatisme inflammatoire chronique évoluant par poussées, susceptibles d'entraîner des déformations et des destructions articulaires de gravité très variable. La polyarthrite rhumatoïde se caractérise par le développement d'une inflammation de la membrane synoviale

(membrane qui tapisse l'articulation), appelée synovite rhumatoïde. Cette synovite peut entraîner des destructions articulaires plus ou moins importantes, plus ou moins rapides. La polyarthrite rhumatoïde est aussi une maladie systémique caractérisée par une atteinte extra-articulaire parfois sévère : c'est-à-dire que la réponse immunitaire est dirigée contre des antigènes cibles présents dans de nombreux organes (reins, poumons...). Susceptibles de compromettre le pronostic vital. (Pillon & Michiels, 2013).

Dans la polyarthrite rhumatoïde, l'organisme ne reconnaît plus un des éléments de l'articulation comme étant du « soi » et réagit contre lui. Le constituant de l'articulation reconnu comme étranger pourrait provenir du cartilage (collagène). Il s'agit d'une maladie multifactorielle dont les causes exactes ne sont pas encore connues. (Cornélis et al., 1998).

Les premiers signes de la maladie ressemblent aux symptômes de la grippe, la polyarthrite rhumatoïde se manifeste par des douleurs sur l'ensemble des muscles et articulations. Souvent la douleur et les raideurs sont plus intenses le matin au lever ou après une période d'inactivité. (Pillon & Michiels, 2013).

Le diagnostic précoce de la polyarthrite rhumatoïde repose sur l'association de plusieurs critères cliniques, radiologiques et biologiques telle que la recherche des facteurs rhumatoïdes (FR) dans le sérum. Un diagnostic précoce est important pour instaurer un traitement approprié susceptible de ralentir la progression de la maladie. (Hua & Combe, 2017).

III.3. Épidémiologie, Prévalence et incidence

III.3.1. Épidémiologie

La polyarthrite rhumatoïde est une pathologie qui touche préférentiellement les femmes (de 3 à 4 femmes atteintes pour un homme) dont la prévalence et l'incidence est variable selon les régions du monde où elle est étudiée.

III.3.2. Prévalence et incidence

En moyenne, la prévalence de la PR varie entre 0,3 et 1% dans le monde (Dougados et al., n.d.; Alan J. Silman & Pearson, 2002) (Figure 14), il existe toutefois des exceptions dans certains pays. Par exemple, elle est plus faible à Taiwan (0,01% en 2013) (Kuo et al., 2013; Bullot & Woyzbun, 2009) et plus forte en Australie (1,7% en 2009) (Bullot & Woyzbun, 2009). La prévalence de la PR peut aussi varier au sein d'un même pays suivant la sous-population étudiée. On note ainsi sa très forte prévalence chez les Indiens Chippewa

(6,8% en 1981) (Ferucci et al., 2005), aux Etats-Unis où la prévalence globale de la maladie est égale à 0,47%. En France, une étude faite en 2001 a estimé sa prévalence à 0,31% dans l'ensemble de la population, 0,51% chez les femmes et 0,09% chez les hommes (Guillemin, 2005).

L'incidence annuelle de la PR est estimée entre 25 et 50 cas pour 100 000 habitants dans la population européenne et nord-américaine (Minichiello et al., 2017). Plusieurs études ont rapporté une baisse de l'incidence sur la deuxième moitié du XXème siècle et le début du XIème comme dans la cohorte Rochester aux États-Unis (de 61,2 à 32,7 cas pour 100 000 habitants en près de 40 ans) ou au Japon (de 0,39 à 0,08 cas pour 1000 habitants en 30 ans). Cependant, cette tendance n'est pas vérifiée dans tous les pays. En effet, d'autres études ont observé une stabilisation de l'incidence, comme en Norvège et en Suède (incidence évaluée sur une période de 5 à 10 ans), voire une tendance inverse comme au Danemark (de 45 à 78 cas pour 100 000 habitants en 6 ans) (Minichiello et al., 2017). Cette hétérogénéité peut en partie être attribuée à l'évolution des critères de diagnostic de la PR. Mais elle est aussi le reflet d'une exposition variable aux facteurs de risques environnementaux de la maladie.

En Algérie, il n'existe pas encore d'estimation officielle, mais le nombre serait situé en estimation entre 600 000 et 1 million de personnes atteintes (Slimani et al., 2014).

Au Maroc, On estime le nombre de malades atteints de cette affection dans notre pays à environ 350.000 dont 80% de femmes, citées par l'Association marocaine de lutte contre la polyarthrite rhumatoïde (AMP) (Radouane Niamane et al. 2014).



Figure 14 : Prévalence de la polyarthrite rhumatoïde dans le monde (Bernard Combe & Rincival, 2015).

III.4. Aspects cliniques de la PR

Sur le plan clinique, le développement de la pathologie peut se faire selon l'ordre suivant :

- La polyarthrite débutante (phase initiale) : cette phase initiale peut durer de quelques mois à quelques années. A cette phase de la maladie il n'y aucune déformation articulaire.
- La PR à la phase d'état : cette phase est marquée par des atteintes articulaires et extra-articulaires. Il faut noter qu'environ 30% des PR n'ont pas ou peu de destructions articulaires et aucune déformation.

La phase débutante peut perdurer de quelques mois à plusieurs années et ce n'est qu'au déclenchement de la phase d'état que la PR révèle certaines lésions distinctives. Chaque patient présente un mode d'entrée, des caractéristiques et une évolution individuels de la maladie.

III.4.1. PR au début

Dans sa forme de début, la PR se manifeste généralement (70% des cas) par une oligoarthrite distale d'apparition progressive intéressant les poignets, une ou plusieurs articulations métacarpo-phalangiennes (surtout la 2ème ou la 3ème) ou interphalangiennes proximales (Figure 15), parfois les avant-pieds. Les articulations concernées sont douloureuses et enraidies. Le rythme des douleurs est clairement inflammatoire, l'atteinte articulaire est fixe et symétrique. Une légère tuméfaction peut apparaître, donnant aux doigts une apparence fusiforme. A cette étape de la PR, il est primordial de rechercher une implication des tendons caractéristique du diagnostic de la maladie.



Figure 15 : Arthrosynovite des inter-phalanges proximales dite doigts « en fuseau ».

Les ténosynovites sont l'inflammation conjointe du tendon et de sa gaine synoviale. Elles peuvent se déclarer aussi bien au niveau de la cheville que du pied mais elles touchent principalement ceux du doigt (extenseur et fléchisseur) (Figure 16 et 17).



Figure 16 : Ténosynovite de l'extenseur ulnaire du carpe.



Figure 17 : Tenosynovite des fléchisseurs des doigts.

La PR commence sous la forme d'une polyarthrite aiguë fébrile dans 20% des cas. Dans ce stade, il faut rechercher une atteinte tendineuse, en effet les ténosynovites sont fréquentes au début de la PR et ont une grande valeur diagnostique.

III.4.2. La phase d'état

La PR une fois installée tend progressivement vers l'aggravation et l'extension des atteintes articulaires à l'occasion de poussées évolutives au cours desquelles des articulations jusqu'alors indemnes sont atteintes tandis que celles déjà intéressées s'aggravent.

Durant cette phase d'État, Les articulations touchées sont le siège d'une inflammation permanente. Cela se traduit par une tuméfaction articulaire avec hydarthrose et parfois un épaissement considérable de la synoviale et secondairement des lésions ligamentaires et

ostéo cartilagineuses et des déformations irréversibles entraînant un handicap fonctionnel parfois majeur et des déformations inesthétiques (Figure 18).

La PR alterne entre des phases de poussées se succédant, induites par des agents extérieurs, et des phases de rémission incomplète. Chaque nouvelle poussée de la maladie entraîne généralement une aggravation des atteintes articulaires existantes et également, la création de nouvelles localisations. De ce fait, l'enchaînement de poussées dans les cas les plus sévères entraîne une invalidité fonctionnelle grandissante.

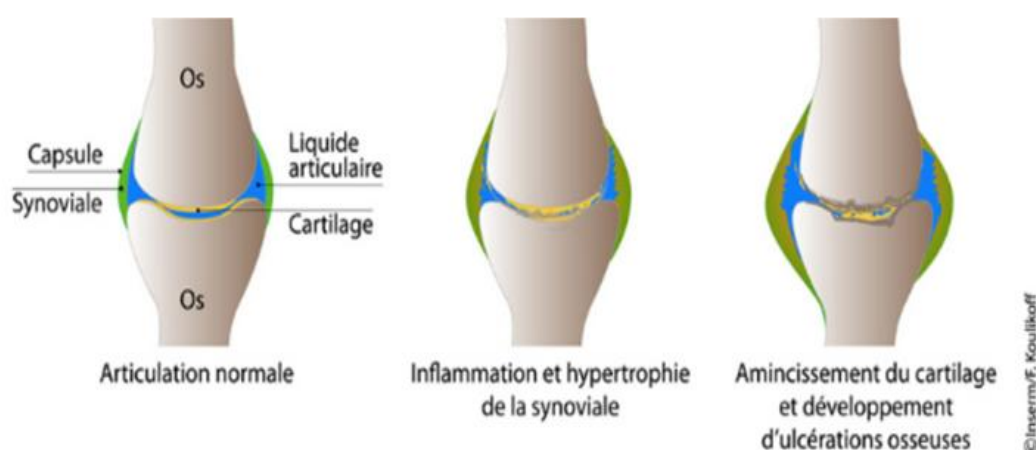


Figure 18 : Atteinte articulaire dans la polyarthrite rhumatoïde (Inserm.fr).

III.4.3. Manifestations extra-articulaires ou les maladies différentiel de la PR

Les manifestations extra-articulaires traduisent le caractère systémique de la PR. Elles sont rarement au premier plan et la gravité de certaines localisations peut parfois mettre en jeu le pronostic vital.

• Signes généraux

Une fébricule, une asthénie et un amaigrissement peuvent parfois s'observer dans les PR en poussée.

• Nodules rhumatoïdes

Les manifestations extra-articulaires sont les plus fréquentes chez la PR (chez 10 à 20% des malades). Ils apparaissent le plus souvent après quelques années d'évolution et siègent avant tout à la face postérieure des avant-bras et des coudes. Des localisations viscérales sont classiques mais rares (poumon, œil, cordes vocales, valves cardiaques). Sur le plan histologique, ils sont constitués d'une zone centrale de nécrose fibrinoïde, entourée d'une

bordure palissadique de fibroblastes et de macrophages puis de tissu conjonctif plus ou moins fibreux et d'un infiltrat lymphoplasmocytaire.

- **Vascularite rhumatoïde**

La vascularite rhumatoïde est rare, évaluée à 1% des malades atteints de PR. Les lésions atteignent surtout les artérioles, parfois aussi les veinules. La vascularite leucocytoclasique est la forme la plus fréquente.

- **Le syndrome de Felty**

Le syndrome de Felty comprend, associé à la PR, une splénomégalie isolée et une leuconéutropénie. Il est à rapprocher de la lymphocytose à larges lymphocytes granuleux constituée d'une prolifération médullaire et sanguine lymphocytaire monoclonale T de phénotype CD3+CD8+CD57+

- **Manifestations pleuro-pulmonaires**

Les manifestations pleuro-pulmonaires spécifiques sont rares et peuvent être inaugurales : Pleurésie rhumatoïde, fibrose pulmonaire interstitielle diffuse, nodules rhumatoïdes pulmonaires.

- **Manifestations cardiaques**

L'atteinte cardiaque de la PR a rarement une traduction clinique. Les cardiopathies de la PR peuvent concerner les 3 tuniques. Si les atteintes cardiaques spécifiques de la PR sont peu fréquentes, le risque cardio-vasculaire de la PR lié en grande partie à l'inflammation systémique représente le premier facteur de mortalité de cette maladie. Dans la prise en charge des patients, la PR doit être considérée comme un facteur de risque indépendant de risque cardio-vasculaire.

- **Atteintes oculaires et ORL**

Dans les formes sévères de la PR avec les manifestations extra-articulaires, Il existe des atteintes oculaires spécifiques de la PR comme la sclérite qui est la plus fréquente.

IV. La pathogenèse de la PR

IV.1. La physiopathologie

Bien que l'origine de la maladie reste inconnue, les acteurs de la physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde sont multiples et leurs implications sont variables au cours du temps. Or, aujourd'hui il y a une vue d'ensemble assez claire des mécanismes physiques impliqués dans la physiopathologie de la PR, il reste encore de nombreuses zones de confusion quant aux mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la maladie.

IV.2. Vue d'ensemble

La première manifestation physiologique de la PR a lieu au niveau des articulations et plus particulièrement au niveau de la membrane synoviale.

Dans une articulation saine, cette structure aussi appelée synovium est composée de deux couches : l'intima, elle-même composée de synoviocytes macrophages et de synoviocytes fibroblastiques (FLS), et la sous-intima qui contient les vaisseaux sanguins, permettant l'irrigation de l'articulation, mais aussi des fibroblastes, des adipocytes et des cellules immunitaires en faible nombre (Figure 19) (Smolen et al., 2018).

Dans une articulation atteinte, l'intima s'épaissit (passant de 2 à 3 couches de cellules à une dizaine ou plus), s'étend pour former une structure appelée pannus. La progression de ce pannus à l'interface avec le cartilage et les os de l'articulation joue un rôle majeur dans leur destruction.

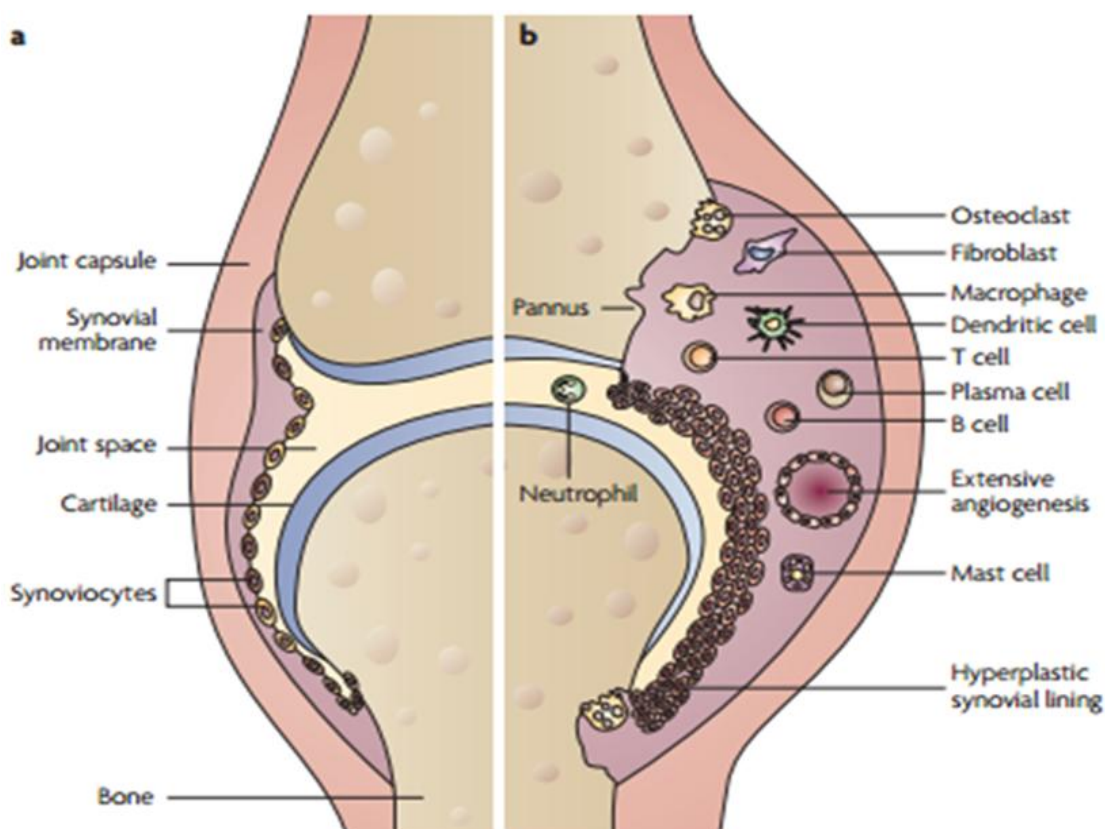


Figure 19 : Comparaison d'une articulation normale (à gauche) et d'une articulation chez un atteint de PR (à droite). (Smolen and Steiner 2003).

Ces deux phases, d'inflammation de l'articulation et de destruction articulaire, sont précédées par une phase pré-PR caractérisée par une perte de tolérance pour le "soi". Plusieurs études ont cherché ces dernières années à éclaircir les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-jacents à ces phases. Ces études portant majoritairement sur les PR séropositives pour les ACPA (ACPA+), nous résumerons ici les hypothèses formulées pour ce sous-groupe de la maladie.

IV.3. Phase pré-PR : activation des systèmes immunitaires inné et adaptatif

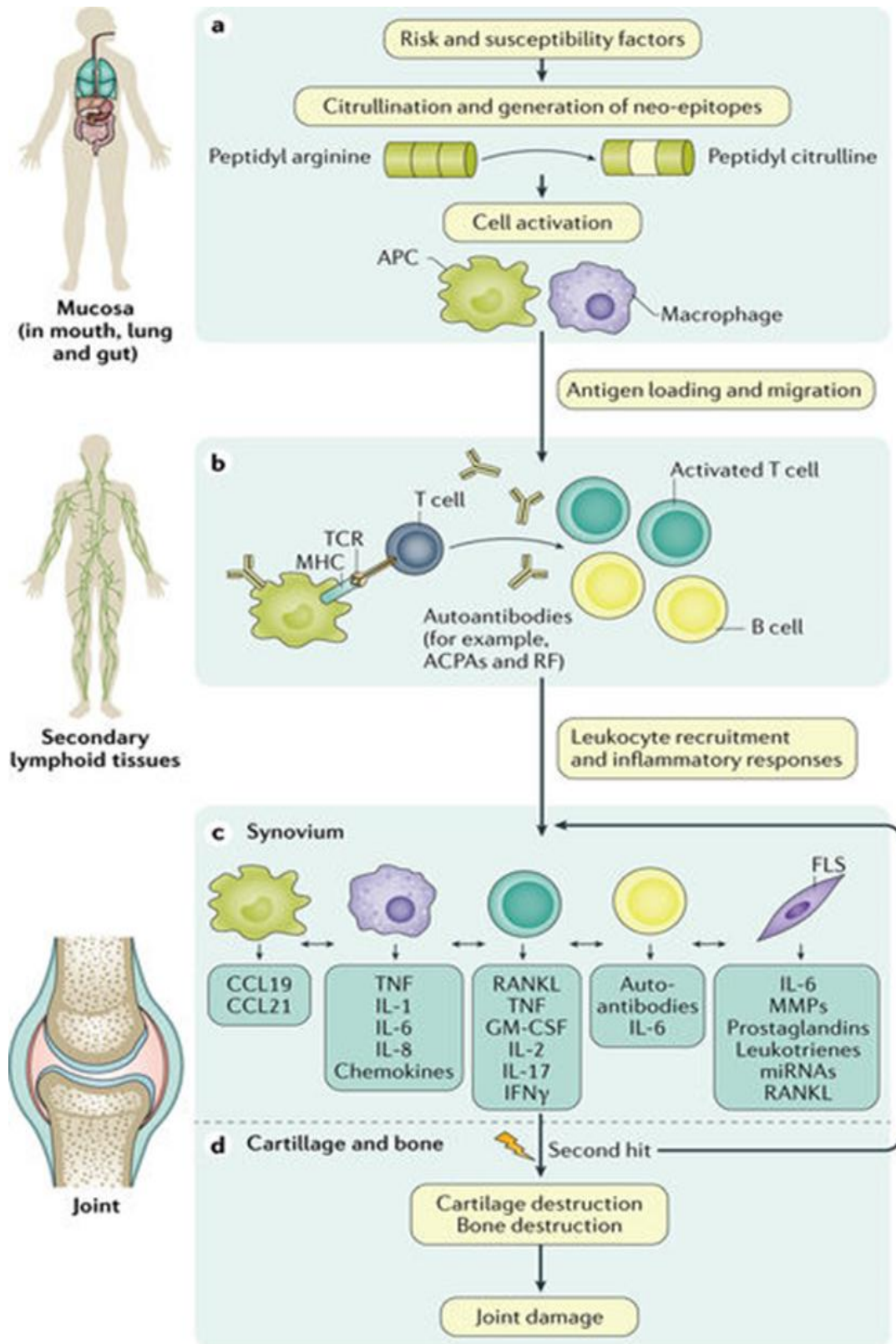
La phase pré-PR semble débuter avec la modification post-transcriptionnelle de protéines (citrullination, carbamylation, ...) reconnues par les cellules du système immunitaire inné (Figure 20a) dites cellules présentatrices de l'antigène (CPA).

Les cellules de ce groupe incluant les cellules dendritiques, les lymphocytes B et les macrophages - présentent à leur surface des protéines du Major Histocompatibility Complex (MHC) de classe II qui fixent les antigènes pour les présenter aux cellules T naïves (aussi appelées lymphocytes T).

Dans le thymus, les lymphocytes T reconnaissant les auto-peptides associés aux molécules du MHC de classe II sont normalement éliminés par apoptose lors de leur maturation (sélection négative).

Or, il semble que chez les atteints de PR, il y ait une déficience de la sélection négative qui contribuerait à la prolifération de ces cellules T activées (Vomero et al., 2018) . Ces cellules stimuleraient à leur tour les cellules B qui synthétiseraient des auto-anticorps type FR et ACPA (Figure 20b) (Smolen et al., 2018) .

La présence de protéines citrullinées (cibles d'auto-anticorps comme les ACPA) dans les poumons et autres sites muqueux suggèrent que ce pourraient être dans ces tissus que se déclenche la réponse auto-immune innée initiale.



Nature Reviews | Disease Primers

Figure 20 : Mécanismes impliqués dans la physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. (Smolen et al., 2018).

IV.4. Phase d'inflammation de la membrane synoviale : initiation et propagation

L'inflammation du synovium, appelée synovite, est le résultat de l'infiltration de leucocytes dans le compartiment synovial qui est rendue possible par une augmentation de l'expression de chimiokines (Mellado et al., 2015). Il a été proposé que cette augmentation est soit la résultante d'une deuxième attaque, locale, du système immunitaire. La nature de cette seconde attaque est encore peu comprise mais il a été suggéré que des infections articulaires (par exemple par le virus) pourraient y contribuer (Firestein, 2018).

L'infiltration de l'articulation déclencherait une cascade d'évènements activant les cellules résidentes (cellules immunitaires et FLS) et permettrait le recrutement de nouvelles cellules du système immunitaire. Cette infiltration de cellules serait alors à l'origine d'une nouvelle production de cytokines et chimiokines provoquant une boucle d'auto activation et recrutement perpétuant l'inflammation.

IV.5. Phase de destruction articulaire

La destruction articulaire est la conséquence de la prolifération des fibroblastes synoviaux (membrane synoviale hyperplasique) et de l'action des cytokines (Figure 18c)

En effet, les synoviocytes activés produisent des enzymes comme le métallo protéinases matricielles (MMP), le métallo endopeptidases (ADAM) et les cathepsines qui dégradent la matrice extra-cellulaire (Morel, 2014). De plus, ils produisent des protéines d'adhésion, intégrines et syndécans, qui facilitent leur adhésion sur le cartilage permettant la croissance invasive du pannus (Morel, 2014). La formation et la progression de ce pannus est également rendue possible par le processus d'angiogenèse 8 qui lui apporte un flux sanguin constant (Choy, 2012). De nombreux facteurs pro-angiogéniques sont exprimés dans le synovium, parmi eux les facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF, membre de la famille des cytokines) qui jouent un rôle important dans la pathogénèse de la PR.

Enfin, les ostéoclastes sont des cellules issues de la lignée des monocytes/macrophages qui sont médiatrices de la destruction des os (Choy, 2012 ; Tuulikki Sokka, Hetland, et al., 2008). Les ACPAs circulantes se lient aux précurseurs des ostéoclastes induisant leur différenciation et activation. Les ostéoclastes activés produisent des MMPs qui participent à la destruction des os dans l'articulation (côté moelle) et à leur érosion (côté articulation) (Catrina et al., 2017).

V. Diagnostic de la PR

La PR est une pathologie qui a pour siège principal l'articulation qui est formée de deux extrémités (les épiphyses) reliées entre elles par un manchon rigide et étanche, la capsule articulaire. Les épiphyses et la capsule délimitent un espace clos, baigné par le liquide synovial. Les surfaces internes de cette cavité sont recouvertes soit par le cartilage coiffant l'os sous-chordal soit par la membrane synoviale qui tapisse la capsule articulaire. L'examen clinique d'un patient souffrant de PR est dominé par des douleurs articulaires d'incidence "inflammatoire", associées à un gonflement des articulations ou synovite (Littlejohn & Monrad, 2018; Namas et al., 2019). L'atteinte est le plus fréquemment bilatérale et symétrique ; elle concerne principalement les petites articulations du carpe, les articulations méta-carpo-phalangiennes et méta-tarso-phalangiennes. L'inflammation de la gaine des tendons (ou tenosynovite) est fréquente au niveau des muscles fléchisseurs de la main au stade initial de la maladie (Littlejohn & Monrad, 2018).

Le diagnostic de PR repose sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et biologiques. Les progrès réalisés en imagerie (échographie et IRM), en biologie médicale (auto-anticorps anti-peptides citrullinés), ont considérablement changé l'approche diagnostique, la prise en charge des patients et finalement le pronostic de la maladie. Pour traiter tôt, il faut diagnostiquer tôt.

V.1. Critères de classification de la polyarthrite rhumatoïde

Les critères d'établissement du diagnostic reposent sur un certain nombre de points appelés critères de classification définis par *l'American College of Rheumatology* (ACR) (Tableau 3). Un patient est considéré comme souffrant de la PR s'il répond à 4 des 7 critères.

Tableau 3 : Critères de classification d'une PR selon l'ACR (1987) (Arnett et al., 1988).

Critères	Définition
1. Dérouillage matinal	Dérouillage matinal périarticulaire et articulaire durant au moins une heure
2. Arthrite d'au moins 3 régions articulaires > 6 sem.	Au moins 3 régions avec tuméfaction des tissus observée par un médecin : IPP, MCP, MTP, poignets, coudes, genoux, chevilles G et D
3. Arthrite des articulations de la main > 6 sem.	IPP, MCP ou poignet
4. Arthrites symétriques > 6 sem.	Atteinte simultanée de la même région articulaire, bilatérale
5. Nodules rhumatoïdes	Nodules sous-cutanés observés par un médecin
6. Facteur rhumatoïde sérique	
7. Signes radiographiques	Erosions ou décalcification osseuse épiphysaire

Les critères diagnostiques de l'ACR de 1987 utilisés jusqu'à peu étaient insuffisants pour le diagnostic positif d'une PR au début. (Arnett et al., 1988). Dès lors l'ACR et l'EULAR (European League Against Rheumatism) ont établi en 2010 une nouvelle démarche diagnostique (Hua & Combe, 2017).

Dans cette nouvelle classification (Tableau 4), est définie comme PR la présence de synovites dans au moins une articulation, l'absence d'autre diagnostic pouvant expliquer les synovites et un score d'au moins 6 sur les 4 items suivants : nombres et sites articulaires atteints, anomalies sérologiques (facteur rhumatoïde « FR », anticorps anti-peptides citrullinés « ACPA »), présence ou non d'un syndrome inflammatoire (vitesse de sédimentation « VS », la C Reactive Protein « CRP »), la durée d'évolution des symptômes (plus ou moins de six semaines).

Tableau 4 : Nouveaux critères ACR/EULAR de la polyarthrite rhumatoïde (2010).(Hua & Combe, 2017)

DOMAINES	ITEMS	S CORE
A- Articulations atteintes	1 grosse articulation	0
	2–10 grosses articulations	1
	1–3 petites articulations	2
	4–10 petites articulations	3
	> 10 articulations dont au moins 1 petite	5
B- Sérologie	FR et ACPA négatifs	0
	FR et/ou ACPA positifs à taux faibles	1
	FR et/ou ACPA positifs à forts taux	3
C- Marqueurs d'inflammation	VS et CRP normales	0
	VS et/ou CRP anormales	1
D- Durée d'évolution	< 6 semaines	0
	≥ 6 semaines	1

Un score total supérieur ou égal à 6/10 est nécessaire pour classer un patient comme ayant une PR définie

FR : facteurs rhumatoïde, ACPA : anticorps anti-peptides citrullinés, VS : vitesse de sédimentation, CRP : protéine C réactive

V.2. Examen radiologique

L'exploration radiographique standard est primordiale dans la PR. Elle fournit des renseignements diagnostiques et pronostiques mais surtout pour le suivi des patients. Elle permet en effet d'apprécier la sévérité de la dégradation articulaire et son évolution au cours du suivi. Elle doit être effectuée systématiquement dès le début de la maladie puis régulièrement en fonction de l'évolutivité (tous les 6 mois la première année puis tous les ans les 3 premières années) (Bukhari et al., 2002; Weinblatt et al., 1993).

les critères clinico-biologiques de L'EULAR donne par définition des érosions typiques de PR : au moins 3 articulations érosives parmi les métacarpo-phalangiennes, les interphalangiennes proximales, les poignets et les métatarso-phalangiennes (Aletaha et al., 2010).

L'échographie et l'IRM articulaires sont actuellement en plein développement pour améliorer le diagnostic, l'évaluation et le suivi de la PR. Les deux techniques apparaissent plus sensibles que l'examen clinique pour détecter précocement la synovite articulaire et plus sensible que la radiographie standard pour détecter les premières érosions osseuses.

V.3. Evaluation de l'activité de la PR

L'évaluation de l'activité clinique de la PR dans les études cliniques est actuellement parfaitement codifiée et repose sur plusieurs critères d'évaluation de l'efficacité clinique du traitement. Un des critères d'efficacité est la réponse EULAR basés sur le score d'activité DAS (Disease Activity Score), qui se juge par l'importance de la variation du DAS28 avant et après traitement (Tableau 5) (Gaujoux-Viala, 2017).

Tableau 5 : Les criteres EULAR en fonction du DAS28 (Gaujoux-Viala, 2017).

Valeur actuelle du DAS28	Variation du DAS 28		
	>1,2	0,6 < variation du DAS28 ≤ 1,2	≤0,6
≤ 3,2	Bonne	Modérée	Nulle
3,2<DAS28< 5,1	Modérée	Modérée	Nulle
> 5,1	Modérée	Nulle	Nulle

Le DAS28 est un score composite qui comprend le nombre d'articulations douloureuses sur 28 et le nombre d'articulations gonflées sur 28, la VS (vitesse de sédimentation) ou CRP (Protéine C-réactive (CRP)) qui sont l'appréciation globale de l'activité de la maladie par le malade. (Gaujoux-Viala, 2017; Leong et al., 2020) (Annexe 1).

Le DAS 28 VS ou DAS 28 CRP se calcule selon la formule suivante :

(exprimé par $\text{DAS 28CRP} = [0,56 \times \sqrt{(\text{nombre d'articulations douloureuses})}] + [0,28 \times \sqrt{(\text{nombre de synovites})}] + [0,7 \times \text{Ln}(\text{Protéine C-réactive (CRP)})] + [0,014 \times (\text{appréciation globale de la maladie par le patient})]$). (Durmus et al., 2011).

Le retentissement fonctionnel peut également être évalué simplement en pratique, surtout par le score HAQ qui est un auto questionnaire rempli par le patient (Gaujoux-Viala et al., 2012) (Annexe 2).

V.4. Diagnostic biologique

Depuis 2010, comme l'imagerie (échographie et IRM), la biologie a pris une part grandissante dans le diagnostic de la PR. Ces examens de biologie comprennent, d'une part, des tests de biologie générale et, d'autre part, des tests de biologie spécialisée utiles au diagnostic positif de la maladie mais également au diagnostic différentiel avec d'autres maladies auto-immunes, notamment le lupus érythémateux systémique, ou d'autres maladies infectieuses (arthrites virales, bactériennes. . .) (Aletaha et al., 2010).

V.4.1. Examens de biologie générale

Il s'agit d'un bilan sanguin simple qui vise à rechercher de marqueurs de l'inflammation. Ce sont au minimum un hémogramme (à la recherche d'une anémie souvent discrète), la vitesse de sédimentation (VS), et un dosage de CRP sérique. Éventuellement, lorsque l'électrophorèse des protéines sériques a été réalisée, on note une augmentation des alpha2-globulines en lien avec l'augmentation des protéines de l'inflammation (Musset, 2013).

V.4.2. Diagnostic Immunologique

V.4.2.1. Le facteur rhumatoïde (FR)

Le facteur rhumatoïde (FR) est un anticorps anti-gammaglobulinique qui appartient le plus souvent à la classe des IgM. Il peut être aussi de type IgA, IgG, IgD ou IgE.

Au début de la PR, la recherche du FR est classiquement souvent négative et se positiviserait secondairement. La présence d'un taux significatif de FR à ce stade est un élément

de mauvais pronostic (van Venrooij WJ, Hazes JM, 2002). Chez certains patients le FR peut être présent dans le sérum sans aucune manifestation clinique et ceci plusieurs années avant le début de la PR.

Le FR est présent dans 80 à 85% des cas, ce qui correspondait aux PR dites “séropositives” par opposition aux PR “séronégatives” chez lesquelles il n’y avait pas de FR décelable.

D’après la littérature, il a été montré qu’il y avait une certaine corrélation entre le titre de positivité du FR et la progression radiologique de la PR (van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, 2004). De plus les PR graves ayant des signes extra-articulaires sont presque toujours très fortement « séropositives » (van Venrooij WJ, Hazes JM, 2002).

La présence de FR est loin d’être synonyme de PR ; elle n’est ni indispensable ni suffisante pour affirmer le diagnostic. La spécificité du FR varie en fonction du contexte clinique ; elle est forte en présence d’un tableau de polyarthrite, faible en son absence. On trouve en effet du FR dans de nombreuses situations pathologiques notamment au cours de certaines connectivites (Msc & Smolen, 2010), et d’autres affections rhumatoïdes ou maladies inflammatoires et même dans un pourcentage important de la population saine (âgée) également être détecté dans le sérum de patients souffrant.

La sensibilité du test varie également en fonction du stade de la maladie, et cette sensibilité est faible au stade précoce. Cependant, même si les FR ne sont pas spécifiques de la PR, leur recherche et quantification restent utiles pour la prise en charge d’un rhumatisme inflammatoire.

Les deux méthodes sont actuellement plus performantes et recommandées par la Haute autorité de santé (HAS) parce que elles semblent offrir une bonne sensibilité et une meilleure spécificité, par rapport aux méthodes d’agglutinations, Il s’agit de la détection du FR par :

3-néphélométrie laser qui est une technique d’agglutination précise, rapide et automatisée, le résultat est exprimé en unités OMS (organisation mondiale de la santé) positif si >10 unités internationales (B. Combe, 2007).

4-Technique ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay ou dosage immuno-enzymatique sur support solide), très sensible pour déterminer les différents isotypes IgM, IgA et IgG. Notre choix s’est porté sur cette technique ELISA pour sa grande sensibilité et spécificité (Fautrel et al. 2012).

V.4.2.2. Anticorps anti-peptides citrullinés

Ces anticorps ont été d'abord connus sous le terme d'anticorps anti-périnucléaires (1964), anti-kératine (1979), anti-stratum corneum, anti-filaggrine (1993), anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP), ou anti-peptides citrullinés (ACPA) (2000) (Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson-Bessiere C, Girbal E, Durieux JJ, 1995) . La recherche d'ACPA au même titre que celle du FR doit actuellement faire partie du bilan biologique initial de tout rhumatisme inflammatoire périphérique débutant selon les critères de Eular /ACR. On parle de PR «Séropositive» en cas de positivité des ACPA et/ou du FR.

Ces anticorps sont produits dans l'articulation, au sein de la synoviale rhumatoïde, ces derniers reconnaissent des épitopes « citrullines » qui apparaissent sur diverses protéines (filaggrine, fibrine, vimentine etc.) du tissu synovial inflammatoire par suite de la transformation de leurs résidus arginyl en résidus citrullyl (Sebbag, Chapuy-Regaud, Auger, Petit-Teixeira, Clavel, Nogueira, Vincent, et al., 2004).

La citrullination n'est pas spécifique de la PR mais se retrouve dans bon nombre de rhumatismes inflammatoires. En effet, elle est médiée par l'inflammation. En revanche, comme l'a montré le groupe de Gerard Schellekens et Walther J. van Venrooij (Université de Nimegue, Pays-Bas) en 1998, la production d'auto-anticorps dirigés contre des protéines citrullinées est tout à fait spécifique de la PR. Cette production est la résultante d'une part de la citrullination de protéines, due à l'inflammation, d'autre part de la présence d'autres facteurs dont certains seraient génétiques.

La citrulline est un acide aminé qui n'entre pas dans la composition des protéines lors de leur synthèse. Cependant, elle peut être incorporée dans la structure protéique via une modification post-transcriptionnelle consiste en la transformation de résidus peptidyl-arginyl, résidus d'arginine engagée dans une liaison peptidique, en résidus peptidyl-citrullyl par l'intervention d'une enzyme appelée peptidyl-arginine désiminase (PAD) (Figure 21) la peptidylarginase.

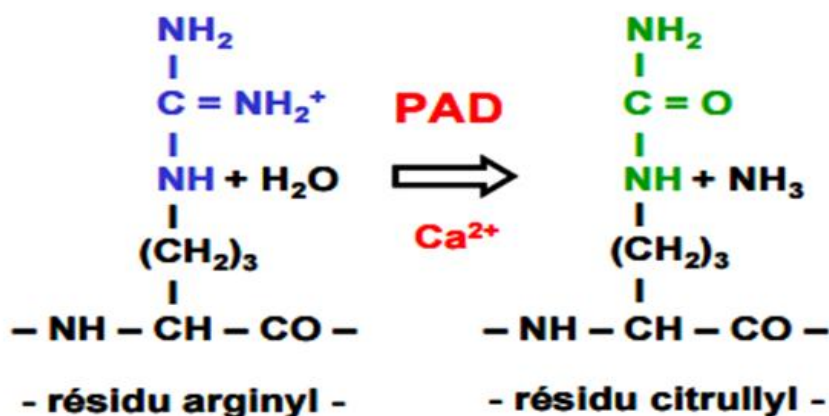


Figure 21 : Réaction de désamination ou citrullination. Transformation d'un résidu arginyl en résidu citrullyl sous l'action d'un enzyme appel e peptidyl-arginine désiminase (PAD), en présence de calcium.(Foulquier et al., 2007)

Normalement la PAD est en position intra-cellulaire et son activation requiert un influx calcique. Durant la mort cellulaire notamment induite par l'inflammation, on assiste à une fuite extra-cellulaire de la PAD qui est activ e et à l'origine de la citrullination de protéines extra-cellulaires (Reyes-Castillo et al., 2015). Les iso-enzymes PAD2 et PAD4 sont les plus pertinentes au cours de la PR ; en effet ils sont exprimés par le tissu synovial et leur expression corr le à l'intensité de l'inflammation locale. Le processus de citrullination survient au cours de l'apoptose. Habituellement, les cellules apoptotiques sont  limin es par les phagocytes. Un défaut de clairance pourrait être à l'origine de la réponse immunitaire dirig e contre les protéines citrullin es (Figure 22), mais le mécanisme à l'origine de la rupture de la tolérance au cours de la PR reste inconnu. Jusqu'alors, mise à part la citrullination, aucun peptide ni protéine n'ont été identifiés comme étant la cible de ces autoanticorps.

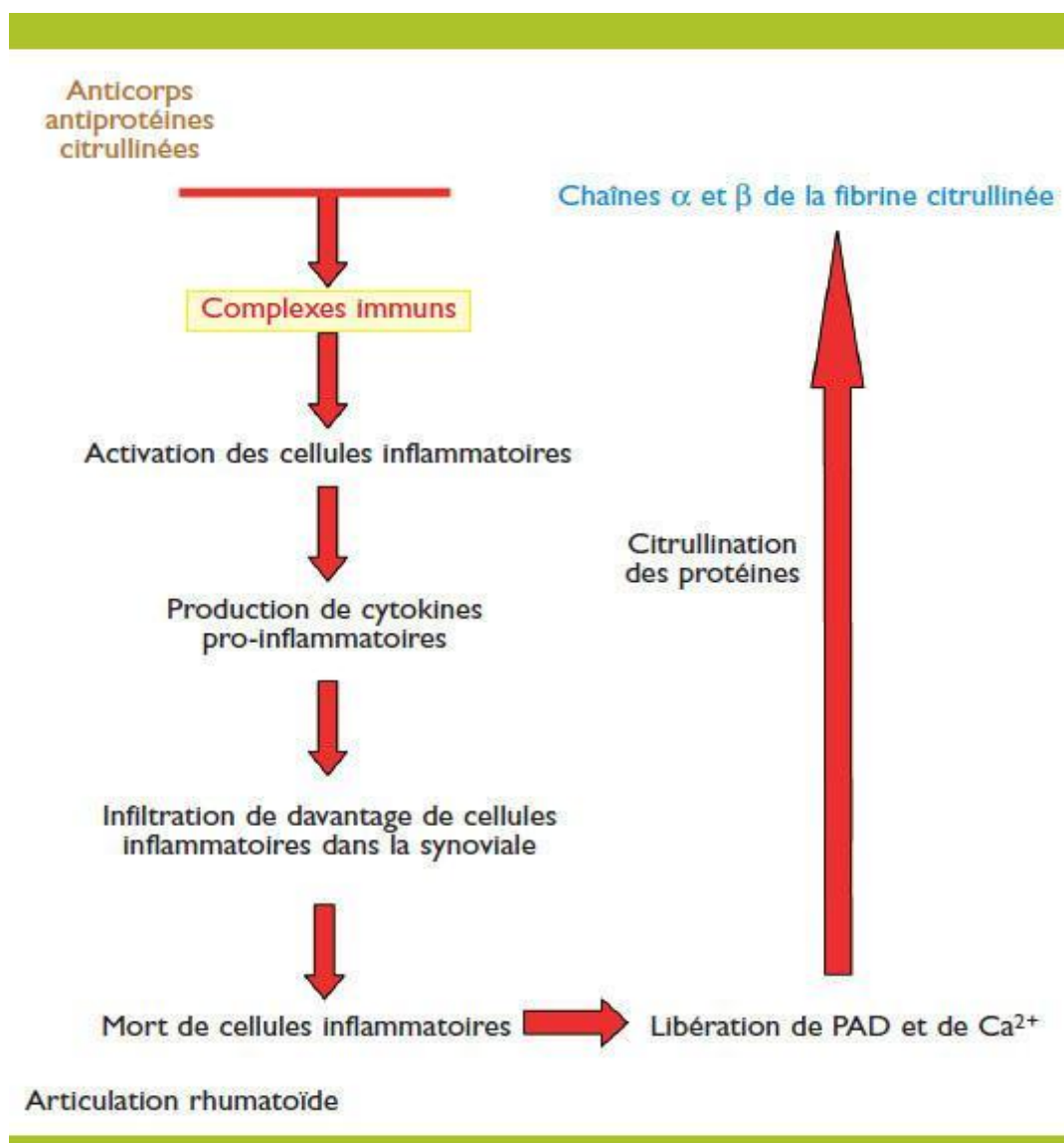


Figure 22 : Mécanisme expliquant comment les anticorps anti protéines citrullinées produits localement pourraient contribuer à perpétuer l'inflammation et la chronicité de l'arthrite.(Foulquier et al., 2007).

V.4.2.2.1. L'intérêt diagnostique des autoanticorps antipeptides citrullinés

La valeur diagnostique des ACPA varie en fonction de leur taux, du stade et/ou de la durée d'évolution de la maladie, des populations témoins étudiées, du seuil de positivité choisi et des méthodes de détection utilisées (Correia ML, Carvalho S, Fortuna J, 2008; Mäkisara & Mäkisara, 1982; Van der Linden MP, van der Woude D, Ioan-Facsinay A, Levarht EW, Stoecken-Rijsbergen G, Huizinga TW, 2009).

Les anticorps ACPA /anti-ccp2 ont une grande spécificité diagnostique, allant de 93 à 98 % dans PR. Aussi, ils ont été détectés chez des patients atteints de lupus (13 %), de syndrome de Gougerot-Sjögren (3-8 %), de sclérodémie systémique (10-15 %), d'hépatite auto-immune de type I (9 %) ou d'hépatites chroniques (25 %) (Dubucquoi et al., 2004;

Sauerland U, Becker H, 2005). De nombreux travaux ont montré que leur présence chez des patients atteints d'un rhumatisme inflammatoire débutant, c'est un marqueur prédictif du développement d'une PR surtout lorsque le titre est élevé. Il a été montré que ces anticorps apparaissent très précocement, voire même précèdent de plusieurs années le début de la maladie (Sebbag M, Chapuy-Regaud S, Auger I, Petit-Texteira E, Clavel C, Nogueira L, 2004).

La détection des anticorps anti-peptides citrullinés (ACPA) a été analysé par la technique ELISA en 2002. Ce peptide cyclique a été sélectionné pour produire un test ELISA de plusieurs type de générations (1,2 et 3).

Le test d'Elisa de première génération (anti-CCP1) est doté d'une sensibilité de 41 à 68 % (pour une PR de plus de deux ans) et d'une spécificité de 95 %. Alors, que les tests ELISA de 2^{ème} génération (anti-CCP2) comprenaient plusieurs peptides citrullinés. Les dépôts de fibrine, porteurs d'épitopes citrullinés sont une des caractéristiques du tissu synovial rhumatoïde et sont la cible des anticorps produits localement par les plasmocytes infiltrant ce tissu et participant au maintien de l'inflammation (Sebbag, Chapuy-Regaud, Auger, Petit-Texteira, Clavel, Nogueira, Vincent, et al., 2004) ; Ce test avait une sensibilité de 76 % et une spécificité de 96 % dans une PR avérée (Fabien N, Goetz J, Sordet C, Humbel RL, 2008). Alors, pour le test anti-CCP3 (3^{ème} génération), la sensibilité et la spécificité semblent avoir équivalente par rapport aux tests CCP2 (Wu R, Shovman O, Zhang Y, Gilburd B, Zandman-Goddard G, 2007).

En effet, ils sont très intéressants pour le diagnostic précoce des polyarthrites rhumatoïdes. Ces anticorps sont actuellement détectés par la technique de référence ELISA anti-CCP2, test sensible et spécifique (Mathsson Alm et al., 2018).

V.4.2.2.2. Valeur diagnostique, anti-CCP versus FR

Les anticorps anti-ccp apparaissent plus précocement que les FR lors d'une PR (Correia ML, Carvalho S, Fortuna J, 2008). Une étude récente a montré que les auto Ac anti-fibrinogène humain citrulliné, les ACPA ou anti-CCP et les FR dans une population de PR sont détectés avec une sensibilité de 56 %, 58 % et 45 % et une spécificité de 93 %, 94 % et 97 % respectivement (Nielen, van Schaardenburg, et al., 2004).

Les FR ont une spécificité comparable aux ACPA pour le diagnostic de PR lorsque le seuil de positivité choisi pour les FR est supérieur à 50 unités/mL (Nell VPK, Machold KP, 2005).

Différentes études ont aussi comparé la valeur diagnostique des ACPA et des FR dans d'autres maladies auto-immunes. Ainsi, chez les patients atteints de LES avaient FR de 18%

et 13% ACPA. Pour les patients atteints de syndromes de Gougerot-Sjögren avaient FR de 73 % et ACPA 3 % et chez les patients atteints des hépatites chroniques avaient FR de 25 % et 1 % des ACPA (Sauerland et al., 2005).

Les ACPA ont une très bonne spécificité dans le diagnostic de la PR de l'ordre de 95% mais leur sensibilité reste plus faible de l'ordre de 70%. Ainsi, 30% des PR en phase d'état n'ont pas d'ACPA et les études suggèrent que ces PR ont un phénotype différent des PR ACPA+. En effet, les PR ACPA- sont en général associées à une plus faible activité de la maladie, un taux plus élevé de rémission (Hetland et al., 2010), une moins grande sévérité avec des scores d'érosions plus bas (Hetland et al., 2010; Klarenbeek et al., 2011).

Certaines études suggèrent aussi une différence dans la réponse au traitement entre ces 2 phénotypes de PR et notamment une meilleure réponse au rituximab (Sellam et al., 2011) ou à l'abatacept (Gottenberg et al., 2012) en cas de présence d'ACPA.

Les ACPA précèdent le plus souvent le début de la maladie et des études ont montré la présence de ces auto-anticorps jusqu'à 15 ans avant le début des signes cliniques (Nielen, Van Schaardenburg, et al., 2004).

C'est probablement au cours de cette phase préclinique où se passent les phénomènes de rupture de tolérance que les enjeux thérapeutiques des prochaines années vont se jouer.

V.4.2.2.3. Autres auto-anticorps

Plus récemment, plusieurs équipes ont identifié les anticorps anti-protéines carbamylées (anti-CarP) comme étant significativement plus présents chez des atteints de PR, qu'ils soient ACPA+ ou ACPA-, que chez des non-atteints (45% d'atteints contre 2,95% de témoins) (Shi J, Knevel R, Suwannlai P, 2011). Les immunoglobulines (Ig) anti-carP sont associées à une progression radiologique de la PR plus sévère. Ainsi, la recherche de ces anticorps pourrait avoir un intérêt chez les patients séronégatifs (sans anticorps anti-protéines citrullinées) mais cette notion doit être renforcée par des études complémentaires (Musset, 2013).

VI. Les facteurs de risques de la PR

Bien que l'origine de la maladie reste inconnue, les connaissances de la pathogénie de la polyarthrite rhumatoïde (PR) ont progressé de manière importante au cours des dernières années. La polyarthrite rhumatoïde étant une affection multifactorielle relevant de facteurs génétiques, hormonaux, environnementaux, neuropsychologiques et immunologiques

(troubles de l'immuno-régulation et de l'auto-immunité), ces facteurs réunis activent une réponse immunitaire innée et acquise incontrôlée qui se traduit par une réaction inflammatoire exagérée, en particulier de la membrane synoviale (Morel, 2006).

VI.1. Facteurs environnementaux

Des facteurs environnementaux, mal connus aujourd'hui, sont majoritairement responsables du déclenchement de la polyarthrite rhumatoïde. Le seul facteur environnemental identifié dans la physiopathologie de la PR est le tabagisme. Les infections virales et bactériennes sont des facteurs potentiels.

VI.1.1. Le tabagisme

- **Le tabagisme augmente le risque de développer une PR**

Le tabagisme est le facteur environnemental le plus clairement établi. En effet, le tabac est le facteur le plus à risque et le plus étudié dans le développement de la PR. Bien entendu, la durée et fréquence du tabagisme modifient le risque de développer la maladie mais jouent aussi sur la production de protéines citrullinées, cibles des AAc de la PR.

Les fumeurs de plus de 40 paquets de cigarette par an ont 2 fois plus de risque de développer une PR que des personnes non fumeuses (Stolt et al., 2003). Une étude sur des jumeaux a montré un risque plus élevé de développer une PR chez les patients tabagiques (A. Silman et al., 1997).

- **Le tabagisme augmente la sévérité de la PR**

Le tabagisme est aussi lié à la sévérité clinique de la maladie, aux manifestations extra-articulaires, à la progression radiologique (Klareskog et al., 2006)

- **Tabagisme et inflammation**

Le tabagisme modifie le fonctionnement du système immunitaire. La fumée de cigarette elle-même et la nicotine diminuent l'activité phagocytaire des macrophages et altèrent donc la défense anti-microbienne. La fumée de cigarette contient beaucoup de radicaux libres donc augmente le stress oxydatif (Oliver & Silman, 2006).

- **Tabagisme et citrullination**

Le tabagisme interviendrait dans la citrullination par l'augmentation de l'expression des PAD, enzyme responsable de cette modification. Il a été mis en évidence une

augmentation de l'expression de PAD2 dans des biopsies de muqueuse bronchique de fumeurs comparées aux non-fumeurs (Pedersen et al., 2006).

- **Tabagisme et facteur rhumatoïde**

Le tabagisme est connu pour être associé à la production de facteurs rhumatoïdes (FR), ce qui permet conclure que le tabagisme augmente le risque de développer une PR. En effet plusieurs études ont souligné le lien potentiel entre l'intoxication tabagique et l'existence d'un FR conforté par la corrélation entre le FR et taux sériques de thiocyanates de nicotine (Oliver & Silman, 2006)

VI.1.2. Consommation d'alcool

Autre facteur pouvant au contraire prévenir le développement de la PR, est la consommation modérée d'alcool. En effet, d'après certaines études, la consommation d'alcool, de manière modérée, pourrait diminuer de 3 à 4 fois le risque de développer une PR par rapport aux sujets ne consommant pas d'alcool (Liao et al., 2009). Des petites doses d'alcool semblent avoir un effet anti-inflammatoire qui pourrait prévenir la survenue de la PR par la réduction d'arthrites et de destruction articulaire (Desmottes, 2020). Tandis que l'alcool serait protecteur, la consommation de sodas doublerait le risque de développer une PR. Ainsi, notre style de vie influence en plus des facteurs génétiques le risque que l'on a de développer une PR.

VI.2. Facteurs hormonaux

La plus grande incidence de la PR chez la femme, avec un sex-ratio d'un homme pour quatre femmes, suggère une implication des hormones dans le déclenchement de la PR. Les études épidémiologiques sont intéressées par l'influence des facteurs hormonaux endogène et exogène dans la survenue de la PR. En effet des études ont montré une hypoandrogénie relative chez la femme mais aussi chez les hommes atteints de PR, avec des taux de testostérone et de déhydroépiandrostérone plus bas. Les hormones exogènes que ce soit la pillule contraceptive ou le traitement hormonal substitutif ne modifient pas l'incidence de la PR mais semblent retarder son début et sa sévérité (Pikwer et al., 2009).

Les facteurs psychologiques, notamment le stress, pouvaient être facteur de risque dans l'apparition de la PR, mais aussi dans le développement et le maintien de la pathologie. Toutefois, il n'existe pas de terrain psychologique particulier favorisant la survenue de la maladie.

Le traumatisme physique ou un événement de vie traumatisant constituerait aussi un facteur de risque individuel de la PR dans les semaines ou les mois qui suivent. Dans ces cas, des médiateurs solubles sécrétés par le système nerveux central agissent sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et déclenchent des perturbations immunitaires, peut-être par l'intermédiaire de neuropeptides.

Et aussi l'indice de masse corporelle élevé constituerait aussi un facteur de risque individuel de la PR (Liao et al., 2009) .

VII. La composante génétique de la PR

Depuis la mise en évidence de l'association entre le locus Major Histocompatibility Complex (MHC) et la PR en 1969, plus d'une centaine de nouveaux facteurs génétiques ont été identifiés, et ce, notamment grâce aux études d'association pangénomiques (GWAS pour Genome Wide Association Studies). L'ensemble de ces facteurs permet d'expliquer aujourd'hui près de 39% de la composante génétique de la PR (ACPA+ et ACPA- confondus) (Aristizábal & González, 2013). Dernièrement, la part de risque de PR attribuée aux facteurs génétiques a été estimée entre 40 et 65% chez les atteints ACPA+ et à environ 20% chez les ACPA (Han et al., 2014).

VII.1. Les gènes HLA (Human Leukocyte Antigen)

Le locus MHC, pour Major Histocompatibility Complex, est le facteur génétique majeur de la PR comptant pour 30 à 50% de la composante génétique de la maladie (Stastny, 1978).

Également appelé locus HLA chez l'homme, pour Human Leukocyte Antigen, Ce locus appelé locus HLA chez l'homme, pour Human Leukocyte Antigen, la région MHC est située sur le chromosome 6 (6p21.3), s'étend sur près de 4 millions de paires de bases et comprend plus de 250 gènes codant notamment pour les protéines de la classe HLA et des cytokines (MacGregor et al., 2000; A. J. Silman et al., 1993) (Figure 23). Les premiers gènes identifiés comme facteurs de risque de la PR dans ce locus sont les allèles du groupe DR4.

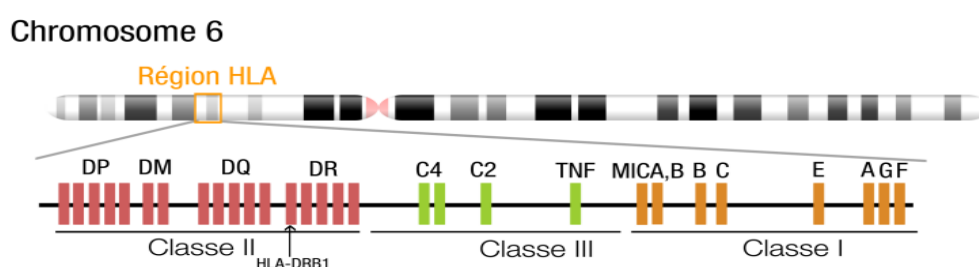


Figure 23 : Carte de la région HLA. Source : Genome Decoration Page/NCBI.

La forte association entre la région HLA et la PR a d'abord été expliquée par le gène HLA-DRB1 et ses allèles dits "épitope partagé" (ou Shared Epitope [SE]) qui confèrent un risque sévère de développer la maladie. Ces allèles codent pour une séquence de cinq acides aminés située entre les positions 70 et 74 de la sous-unité β 1 de la protéine HLA-DR (Tableau 6). La classification des allèles SE suggère que c'est la séquence protéique RAA comprise entre les positions 72 et 74 qui confère le risque de développer la PR. Ce risque est modulé par les acides aminés 71 (risque le plus grand avec K, intermédiaire avec R et le plus faible avec A et E) et 70 (Q et R confèrent un risque plus élevé que D) (Gregersen et al., 1987) (du Montcel et al., 2005). D'autres allèles non-SE sont également connus pour être des facteurs de risque de la PR, comme les allèles *09 :01 (OR=2.47 [1.82-3.35] (H. S. Lee et al., 2004)) et 04 :10 (OR=3.19 [1.06-9.61] (H. S. Lee et al., 2004) et OR=1.90 [1.14-3.18] (Shimane et al., 2013)) dans les populations asiatiques (Kim et al., 2017).

Tableau 6 : Allèles de HLA-DRB1 associées avec la PR. (Wakitani et al., 1997)

<i>Acides aminés</i>	<i>Allèles</i>	<i>E</i>
<i>À risque</i>		
<i>QKRAA</i>	DRB1*04 :01	
<i>QRRAA</i>	DRB1*01 :01, *01 :02, *04 :04, *04 :08, *14 02	
<i>RRRAA</i>	DRB1*04 :05	
<i>RRRAE</i>	DRB1*10 :01 DRB1*09 :01	
<i>Protecteurs</i>		
<i>DERAA</i>	DRB1*01:03, *04 :02, *13 :01, *13 :02	
<i>DRRGQ</i>	DRB1*07	

Avec les analyses GWAS et les approches d'imputation de variants, les chercheurs ont pu étudier plus précisément l'association entre les variants de la région HLA et la PR notamment en faisant la distinction entre les PR ACPA + et ACPA -. Par l'analyse des haplotypes dans la région HLA, Han et ses collègues ont validé l'association des positions.

71 et 74 de la protéine HLA-DR β 1 avec les PR ACPA + (Han et al., 2014). Ils ont également mis en évidence une forte association entre le phénotype PR et les positions 11 et 13 de HLADR β 1, 9 de HLA-B et 9 de HLA-DP β 1, ainsi qu'une association plus faible avec la position 57 de HLA-DR β 1 dans les populations asiatiques et la position 77 de HLA-A dans les populations européennes.

Les acides aminés de HLA associés avec la PR se situent dans la poche de liaison des peptides antigéniques (Figure 24). L'altération de la structure de ces sites de liaison pourrait modifier l'affinité des molécules HLA pour les peptides qui lui sont présentés et ainsi modifier le répertoire d'antigènes cibles (Kim et al., 2017). Cette hypothèse est soutenue par l'étude de l'affinité des épitopes de HLA-DR β 1 pour des peptides arthrogéniques réalisée par Anderson et ses collègues (Anderson et al., 2016) ; ils ont par exemple observé que l'allèle DRB1*04 :01 se lie préférentiellement aux vimentines et α -enolase citrullinées comparé à leurs formes natives.

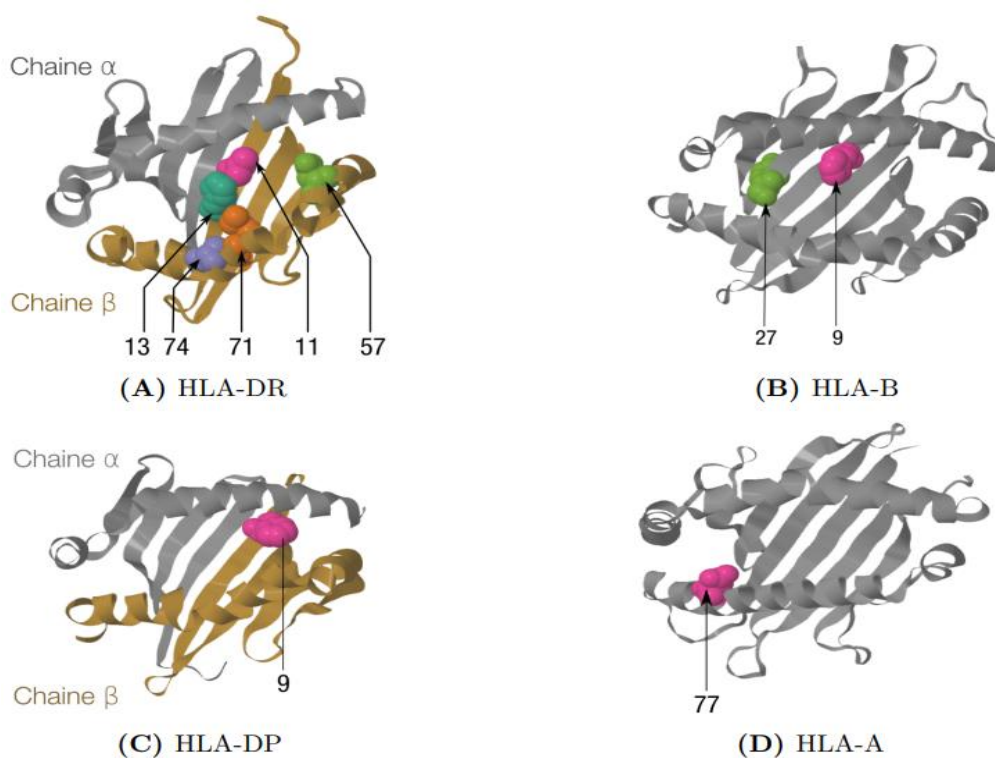


Figure 24 : Position des acides aminés associés avec la PR.. (Kim et al., 2017)

Vu l'importance de ces allèles dans la prédisposition de PR, plusieurs équipes de différents ethnies ont publié des résultats très intéressants dans de revues de haut niveau (Roudier J et al 2005 ; Furukawa H et al 2016).

Par ailleurs une seule étude marocaine a été faite pour la première fois au Maroc en 2008 sur l'association entre la PR précoce et les gènes HLA pour but d'analyser l'impact du facteur génétique dans la prédisposition à la PR (Atouf et al., 2008).

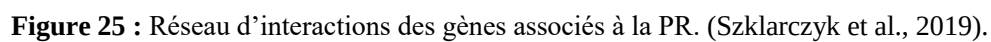
Ce travail a montré que les allèles HLA-DRB1*04 et HLA-DQB1*03 jouent un rôle important dans la PR précoce chez les patients marocains, aussi l'antigène HLA-A24 présente une association avec la PR dans notre population, cette association avec les antigènes HLA class I a déjà été décrite chez des patients arabes résidant au Koweït (A10, B8, et B21). Cette observation pourrait refléter une particularité de la population marocaine.

L'allèle HLA-DRB1*07 semble assurer le rôle protecteur chez notre population aussi que l'allèle HLA-DRB1*13, mais la valeur de ce dernier n'a pas été significative, cette équipe a recommandé d'augmenter la taille de l'échantillon afin de confirmer l'étude (Atouf et al., 2008).

Par ailleurs une étude Algérienne, Cette étude a révélé l'existence d'une forte association entre l'allèle HLA-DRB1*0405 et la susceptibilité au développement de la PR. De plus l'allèle HLA-DRB1*0701 a été associé pour la première fois à un effet protecteur dans cette pathologie.

VII.2 Gènes hors région HLA

En dehors du locus HLA, environ une centaine de loci à risque faible ou modéré ont été mis en évidence par des approches gènes candidats (Plenge et al., 2007), des études d'association pangénomiques (GWAS) ou encore des méta-analyses de GWAS (Eyre et al., 2012a; Okada et al., 2019; Stahl et al., 2010; Szklarczyk et al., 2019) (Figure 25), ils ont permis de comparer le génome de centaines voire de milliers de patients atteints de la maladie aux génomes de beaucoup plus de sujets témoins chez la population caucasienne et asiatique et leurs associations avec la PR ont été confirmées de manière indépendante: *PTPN22*, *TNFAIP3*, *BANK1*, *LK*, *TGAM*, *CTLA4*, *CD226*, *OX40L*, *CD40*, *c-REL*, *CD40*, *IRF5*, *STAT4*) (Dieudé & Cornélis, 2005).



Certains de ces gènes, comme *PTPN22* ou *BLK*, ont été trouvés associés à la PR indépendamment du statut ACPA, alors que d'autres ont seulement été trouvés associés à la PR ACPA+ (*AFF3*, *CD28* et *TNFAIP3*) ou ACPA- (*PRL* et *NFIA*) (Padyukov et al., 2011).

Parmi ces facteurs, le gène *PTPN22*, qui code pour une tyrosine phosphatase inhibant la voie de signalisation des récepteurs membranaires des lymphocytes T et B (respectivement TCR et BCR), présente la plus grande association avec la PR (Diaz-Gallo & Martin, 2012; Okada et al., 2019). Dans ce gène, le variant R620W (1858C→T) ($1.6 \leq OR \leq 1.94$) (Eyre et al., 2012b) semble conférer un gain de fonction à la protéine ; il a en effet été associé in vitro à une augmentation de l'inhibition de la voie de signalisation des TCR pour les cellules T et de la voie des BCR pour les cellules B (Rieck et al., 2007).

Tous les variant identifiés par GWAS ne se situent pas directement dans un gène et la proportion de ceux situés dans une région codante d'un gène est encore plus faible (environ 20%) (Okada et al., 2019) (Okada et al. 2019). Cette constatation rend difficile l'interprétation des résultats GWAS. Cependant plusieurs études ont pu montrer que les gènes à risque de la PR participaient à plusieurs voies biologiques impliquées dans sa pathogénèse comme par exemple les voies de signalisation de NF-κB via le récepteur membranaire CD40 (avec CD40, TRAF1, TRAF6 et aussi NF-κB), la voie de signalisation des TCR (avec *PTPN22*, RasGRP, PKC-θ, *TNFAIP3* et TRAF6) ou encore la voie de Jak-STAT (*IL2RA*, *IL2RB*, *IL6* et *STAT4*) (Nakano et al., 2013; Viatte & Barton, 2017; Whitaker et al., 2014). Pour plusieurs des variants mis en évidence dans ces gènes, le potentiel mécanisme d'action dans la PR a été investigué via des études fonctionnelles. Ainsi, le variant à risque dans *CD40* augmente l'expression de la protéine CD40 à la surface des lymphocytes B, renforçant ainsi l'activation de la voie de signalisation NF-κB.

Selon la dernière étude de Viatte et ses collègues (Viatte & Barton, 2017), chaque locus hors HLA expliquerait en moyenne 0,08% de la variance du phénotype PR portant à 39% la proportion de la composante génétique de la PR qui peut être expliquée par l'ensemble des facteurs génétiques identifiés jusqu'à présent (HLA inclus).

VII.3. L'épigénétique

Les facteurs épigénétiques dont la méthylation de l'ADN, l'acétylation des histones et la régulation de l'expression des gènes par les micro-ARN contribuent à la pathogénèse de la PR en intégrant les facteurs environnementaux et génétiques (Smolen et al., 2016).

Plusieurs études ont montré un différentiel de méthylation entre individus atteints de PR et individus sains, mais aussi entre atteints de PR et atteints d'ostéoarthrite (OA), que ce soit dans les lymphocytes circulants ou les fibroblastes synoviaux (Gomez-Cabrero et al., 2016; Liu et al., 2013).

Dans les lymphocytes circulants, l'étude de 24 paires de jumeaux monozygotes discordants pour la PR et le statut ACPA, a ainsi pu montrer une hypométhylation de l'ADN chez les jumeaux atteints ACPA+, comparés aux non-atteints ACPA-, dans le gène EXOSC1 (Gomez-Cabrero et al., 2016). Une autre étude conduite sur 354 atteints ACPA+ et 337 témoins a permis de mettre en évidence neuf groupes de méthylation différentielle dans la région MHC dont cinq associés au gène C6orf10 (Liu et al., 2013).

La comparaison du niveau de méthylation de l'ADN entre atteints de PR et atteints d'OA a permis de mettre en évidence en 2009 une hypométhylation spécifique de la PR dans les fibroblastes synoviaux (FLS-PR)(Karouzakis et al., 2009). Depuis, il a été montré que ce profil de méthylation extrait des FLS-PR (également appelé signature) et spécifique de la PR (Nakano et al., 2013; Whitaker et al., 2014) était corrélé avec l'expression de plusieurs gènes impliqués dans des voies biologiques participant à la patho-physiologie de la PR : régulation des interactions entre la matrice extra-cellulaire et les FLS, régulation de l'inflammation avec les voies de régulation de l'expression des cytokines mais aussi des voies du transport et de l'adhésion cellulaire (Nakano et al., 2013; Whitaker et al., 2014). Aussi, il a été montré que l'hypométhylation de l'ADN de FLS normales induit un phénotype similaire au FLS-PR et la sur-expression de 186 gènes codant notamment pour des facteurs de croissance et leurs récepteurs, des MMP ou encore des enzymes de dégradation de la matrice extra-cellulaire (Karouzakis et al., 2009).

De plus en 2016, ils ont observé une différence des profils de méthylation entre des FLS localisés dans les hanches et FLS localisés dans les genoux (Ai et al., 2016). Cette différence de signature suivant la localisation a également été observée pour de plus petites articulations, notamment celles des mains et des pieds (Frank-Bertoncelj et al., 2017). Ces différentiels de méthylation suivant l'articulation pourrait expliquer pourquoi la PR est souvent symétrique et aussi pourquoi certaines articulations, comme celles des mains, sont touchées plus sévèrement que d'autres (Frank-Bertoncelj et al., 2017).

Au sein de la population marocaine aucune étude n'a été décrite concernant la génétique de la PR.

VII.4. Le gène *MEFV* facteurs de prédisposition génétique à la PR retenus pour notre étude.

De manière générale, le risque relatif de développer la maladie lié aux gènes non-HLA reste faible, relativement à la région HLA ; bien qu'ils aient été confirmés dans des études indépendantes, leur association avec la PR n'est pas universelle (H. S. Lee et al., 2009) mais «ethnies-spécifiques ». Cependant, d'autres gènes différents du HLA ont également été testés, mais les résultats étaient incohérents (Chen et al., 1998).

Certains gènes ont un rôle non prouvé dans la pathogenèse de la polyarthrite rhumatoïde (PR). L'un de ces gènes suspects est le gène de la fièvre méditerranéenne (*MEFV*) qui peut affecter le phénotype de la PR. Il a été démontré que les troubles arthritiques sont associés à des mutations du gène *MEFV* dans la PR (Salehzadeh & Mirzarahimi, 2020).

De plus, il a été rapporté que la présence de mutations du gène *MEFV* pourrait être un facteur de prédisposition à diverses maladies inflammatoires (D'Cruz et al., 2013)], telles que la maladie de Behçet (BD) (Imirzalioglu et al., 2005), l'arthrite juvénile idiopathique (AJI) (Comak et al., 2013; Zhong et al., 2020), le rhumatisme palindromique (PR) (Cañete et al., 2007; Cuervo et al., 2021). En outre, il a également été révélé que les mutations du gène *MEFV* pourraient être un facteur aggravant de certaines maladies inflammatoires tel que la polyarthrite rhumatoïde (PR) (Rabinovich, 2005), la spondylarthrite ankylosante (SA)(Dumusc & So, 2014), les maladies inflammatoires de l'intestin (MICI) (Cattan et al., 2000) et la sclérose en plaques (SEP) (Akman-Demir et al., 2006).

Ces mutations *MEFV* ont déjà été rapportées par certaines études telles que Migita et al. ont démontré que les mutations *MEFV* ne sont pas rares dans la PR et que les fréquences alléliques des mutations R408Q, P369S, E148Q, L110P étaient respectivement de 5,6%, 6,7%, 24,2%, 9,5% chez les patients atteints de PR et que le taux de mutation était comparable entre PR et témoins sains et suggèrent que les mutations du *MEFV* peuvent ne pas être un facteur génétique affectant la sensibilité à la PR. D'autre part, une autre étude en Turquie a également signalé la forte présence de mutations *MEFV* (E148Q, M694V, M694I, M680I, V726A, A744S, R761H et P369S) et que les taux de porteurs de ces mutations *MEFV* étaient de 25,2% dans la PR et 23,3 % dans CG et suggèrent que les mutations du gène *MEFV* semblent être un facteur aggravant de la gravité de la PR (Etem et al., 2015; Salehzadeh et al., 2019).

D'autres études ont suggères que des mutations *MEFV* peuvent survenir spécifiquement chez les patients atteints de PR (Migita et al., 2014; Mori et al., 2013;

Salehzadeh et al., 2019). Alors que la coexistence de maladies auto-inflammatoires et auto-immunes n'est pas rare. Cependant, l'identification de mutations pathogènes dans des gènes uniques et l'association de polymorphismes dans des locus géniques associés à une maladie a contribué à une compréhension de la physiopathologie de divers troubles auto-immunes-inflammatoires.

Ces maladies donnent un nouveau spectre de maladies auto-inflammatoires-auto-immunes continuum (Yago et al., 2020). De plus, l'immunité innée est accélérée dans la pathogenèse de la PR, qui est censée contribuer aux maladies auto-inflammatoires ainsi qu'aux maladies auto-immunes. C'est une information sur les connaissances actuelles relatives à la catégorisation physiopathologique des maladies auto-inflammatoires et auto-immunes (Cuervo et al., 2021).

Des observations récentes soulignent l'importance et la pertinence d'un «continuum auto-inflammatoire-auto-immun» indiquant l'interconnexion étroite entre les mécanismes immunitaires innés et adaptatifs et les auto anticorps (Cuervo et al., 2021; Hedrich, 2016; Yago et al., 2020).

VII.4.1. Gene *MEFV*

En 1992, le gène de la FMF a été localisé en position télomérique sur le bras court du chromosome 16. Il a été dénommé *MEFV* pour Mediterranean (MÉRY & Kenouch, 1993).

En 1997, deux équipes indépendantes américaine et française ont parvenu à identifier le gène *MEFV* par clonage positionnel en 16p13.3. a permis la mise au point du premier diagnostic de certitude en révélant des mutations chez 70% des patients présentant une FMF typique (Ben-Chetrit & Touitou, 2009).

Le gène *MEFV* (OMIM : 608107), comprend 10 exons d'une taille de 3506 pb (Ensembl-Janvier 2019 : NM_000243), avec 317 variations de séquence sont, à l'heure actuelle, répertoriées dans le registre Infevers (<https://fmf.igh.cnrs.fr/ISSAID/infevers>) couvre un ADN génomique de 14 Kilobases (Kb) (Figure 26). Il est transcrit en ARN messager de 3.7 Kb, qui code pour une protéine de 781 acides aminés, appelée pyrine (du nom grec de la fièvre : pyros) par les Américains, et marénostrine (du nom latin de la mer Méditerranée : mare nostrum) par les Français. Il existe deux points chauds : l'exon 10 qui code pour le domaine B 30.2 de la protéine, et l'exon 2 (Booth et al., 1998). Cette protéine n'est exprimée que dans les polynucléaires neutrophiles circulants et à un moindre degré dans les monocytes (Booth et al., 1998).

La régulation du gène *MEFV* est encore mal connue. In vitro, l'expression de *MEFV* est accrue par l'interféron γ , l'interféron α et la colchicine.

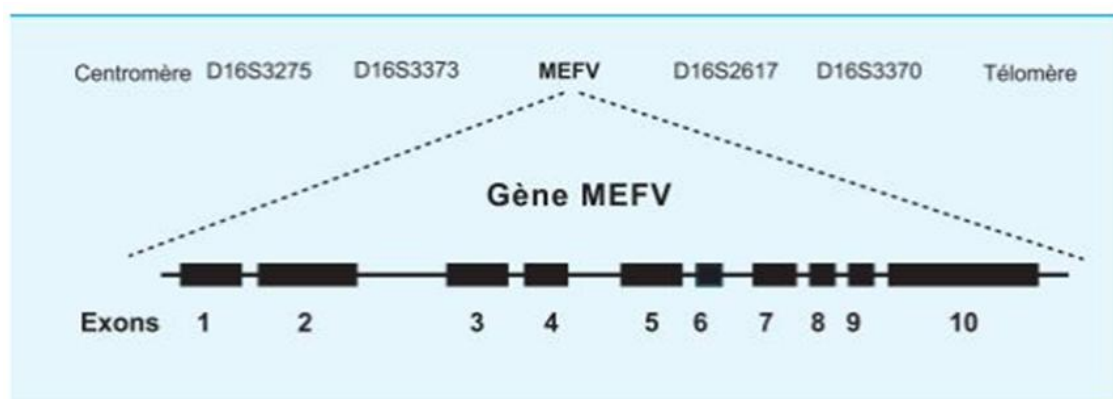


Figure 26 : Gène *MEFV* sur le chromosome 16 avec ses 10 exons. (Booth et al., 1998)

VII.4.2. Régulation *MEFV*

La régulation du gène *MEFV* est encore mal connue. In vitro, l'expression de *MEFV* est accrue par l'interféron γ , l'interféron α et la colchicine.

Le gène *MEFV* est impliqué aussi dans la régulation de l'immunité innée et de la réponse inflammatoire en réponse à l'IFNG/IFN-gamma. Organise la machinerie autophagique en servant de plate-forme pour l'assemblage des membres de la famille ULK1, Beclin 1/BECN1, ATG16L1 et ATG8 et reconnaît des cibles spécifiques de l'autophagie, coordonnant ainsi la reconnaissance de la cible avec l'assemblage de l'appareil autophagique et l'initiation de l'autophagie. Agit comme un récepteur d'autophagie pour la dégradation de plusieurs composants de l'inflammasome, y compris *CASP1*, *NLRP1* et *NLRP3*, empêchant ainsi une inflammation excessive médiée par IL1B et IL18 (Chae et al., 2006; Papin et al., 2007; Yago et al., 2020).

Cependant, il peut également avoir un effet positif sur la voie inflammatoire, agissant comme un capteur immunitaire inné qui déclenche la formation de taches PYCARD/ASC, l'activation de la caspase-1 et la production d'IL1B et d'IL18 (Kirino et al., 2013; J. W. Yu et al., 2006). Il est nécessaire pour l'oligomérisation PYCARD/ASC induite par *PSTPIP1* et la formation d'inflammasome. Recrute *PSTPIP1* aux inflammasomes, et est requis pour l'oligomérisation *PSTPIP1* (Day et al., 2008; Kirino et al., 2013; Ryan et al., 2010; Je Wook Yu et al., 2007).

VII.4.3. les différentes mutations du gène *MEFV*

L'investigation du gène a permis l'identification de plus de 80 mutations (Touitou, 2001) (Figure 27). La plupart de ces mutations, sont situées dans l'exon 10 et entraînent la substitution ou la délétion d'un acide aminé hydrophobe à l'extrémité carboxyterminale de la protéine, les autres mutations sont réparties dans l'exon 2 et à un moindre degré dans les exons 3 et 4.

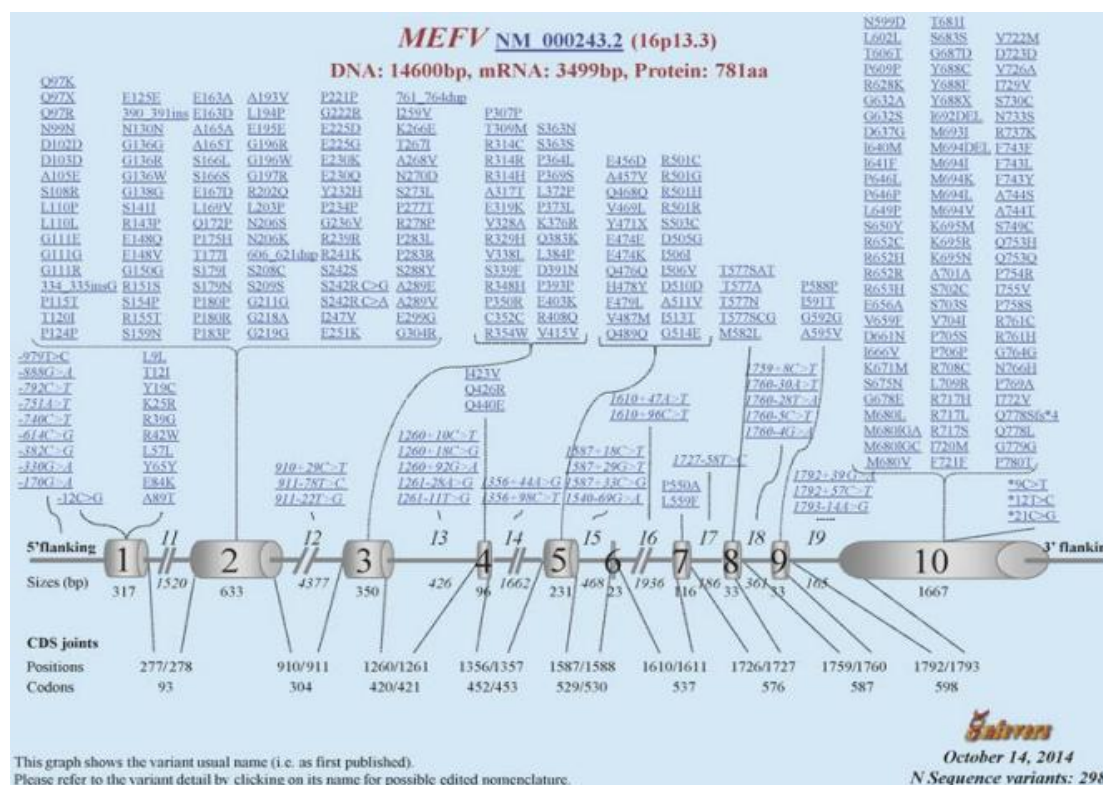


Figure 27 : Liste non exhaustive des mutations *MEFV*.(Touitou, 2001)

Les quatre plus fréquentes et les plus sévères (M694V, M680I, V726A et M694I), se trouvent dans l'exon 10 du gène, représentant au moins 80 % des mutations des sujets atteints de FMF dans les populations les plus touchées (Centola et al., 2000). La plus fréquente d'entre elles, M694V, est présente, sur le même haplotype, dans l'ensemble des populations méditerranéennes étudiées, suggérant un effet fondateur dans ces populations.

Il convient de noter que toutes les variantes du gène n'ont pas le même effet sur la clinique des patients (Figure 28). Pour une bonne interprétation il faut différencier :

- **Les mutations pathogènes**

L'exemple type est M694V dans l'exon 10, transformant la méthionine en position 694 en valine. Bien qu'il n'y ait eu encore aucune étude fonctionnelle, la quasi-systématique association d'un tableau typique de FMF avec cette mutation lorsqu'elle est homozygote, permet d'affirmer qu'il s'agit d'une mutation vraie. La grande majorité des mutations FMF est ponctuelle, de type substitution.

A ce jour n'ont été rapportées que trois petites délétions ne décalant pas le cadre de lecture, et une mutation aboutissant à la création d'un codon stop (Y688X) (Touitou et al., 2004).

- **Les mutations à faible pénétrances ou polymorphisme fonctionnels**

Il s'agit de variantes plus ou moins associées à une symptomatologie de FMF. Ils ont une prévalence élevée dans la population générale. La mutation E148Q au niveau de l'exon 2 du gène *MEFV* est considérée comme une mutation vraie ou un polymorphisme.

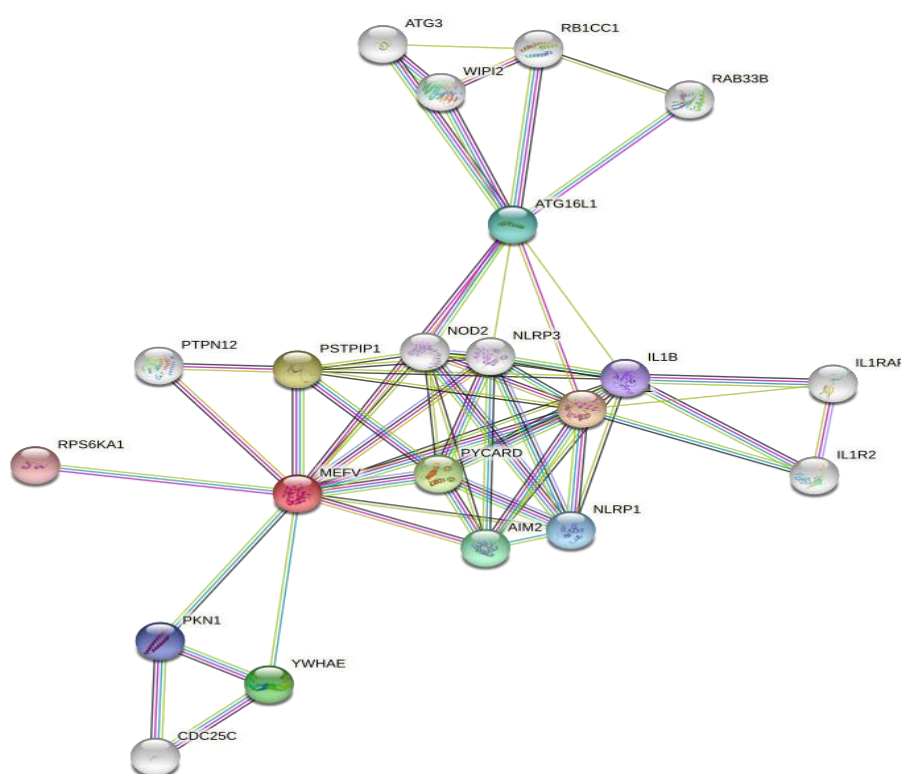


Figure 28 : Réseau d'interactions des gènes *MEFV* associés à la PR. (Szklarczyk et al., 2019).

VII.4.4. Protéine Pyrine/ Marénostrine

La protéine codée par le gène *MEFV* est appelée pyrine (du mot grec désigne le feu et la fièvre) par le consortium international et Marénostrine (du nom latin de la Méditerranée,

Mare Nostrum) par le consortium français. Elle est impliquée dans les réponses immunitaires innées et jouent un rôle clé dans la régulation de l'activité inflammasomique et le traitement de la proYinterleukine-1A (Heilig & Broz, 2018). les mutations dans le gène *MEFV* permettent une cascade inflammatoire ininterrompue chez les patients atteints de FMF (Booth et al., 1998).

Bien que la fonction de la pyrine ne soit pas entièrement comprise, elle aide probablement à contrôler le processus d'inflammation. L'inflammation se produit lorsque le système immunitaire envoie des molécules de signalisation et des globules blancs vers un site de blessure ou de maladie pour combattre les envahisseurs microbiens et faciliter la réparation des tissus. Lorsque cela a été accompli, le corps arrête la réponse inflammatoire pour éviter d'endommager ses propres cellules et tissus (Chen et al., 1998).

La pyrine est produite dans certains globules blancs (neutrophiles, éosinophiles et monocytes) qui jouent un rôle dans l'inflammation et dans la lutte contre les infections. La pyrine peut diriger la migration des globules blancs vers les sites d'inflammation et arrêter ou ralentir la réponse inflammatoire lorsqu'elle n'est plus nécessaire. La pyrine interagit également avec d'autres molécules pour s'assembler en structures appelées inflammasomes, qui sont impliquées dans le processus d'inflammation. La recherche indique que la pyrine aide à réguler l'inflammation en interagissant avec le cytosquelette, le cadre structurel qui aide à définir la forme, la taille et le mouvement d'une cellule.

Les variants pathogènes du *MEFV* favorisent l'état actif de la pyrine et provoquent la libération de cytokines pro-inflammatoires et la pyroptose. Ils peuvent être hérités en tant que trait dominant ou récessif en fonction de l'emplacement du variant et de son effet sur la fonction protéique. Les mutations dans le domaine C-terminal B30.2 sont généralement considérées comme récessives, bien que les hétérozygotes puissent manifester un phénotype biochimique ou même clinique. Ces variantes sont hypomorphes en ce qui concerne leur effet sur les interactions intramoléculaires, mais accentuent finalement l'activité de la pyrine.

Les mutations hétérozygotes dans d'autres domaines de la pyrine affectent les résidus critiques pour l'inhibition ou l'oligomérisation des protéines et conduisent à un inflammasome constitutivement actif. Chez les porteurs sains de mutations FMF qui ont le phénotype inflammatoire subclinique, l'activité accrue de la pyrine pourrait avoir été protectrice contre les infections endémiques au cours de l'histoire humaine.

Cette découverte est étayée par l'observation de fréquences porteuses élevées de mutations FMF dans plusieurs populations. L'inflammasome pyrine joue également un rôle dans la médiation de l'inflammation dans d'autres maladies auto-inflammatoires liées à une dérégulation de la voie de polymérisation de l'actine. Par conséquent, l'assemblage de l'inflammasome de pyrine est initié en réponse aux fluctuations de l'homéostasie cytoplasmique et aux perturbations de la dynamique du cytosquelette (Schnappauf et al., 2019).

VII.4.5. Variants du gène *MEFV*

Selon les bases de données moléculaires (Ensembl et HGMD), plus de 177 variants du gène *MEFV* ont été identifiés (Tableau 7) qui sont considérés comme pathogènes ou probablement pathogène variants polymorphes, mutations non-sens et faux sens, mutations des sites d'épissage, délétions et insertions.

Tableau 7 : Mutations identifiées au niveau du gène *MEFV* (HGMD_2018).

Type des mutations	Nombre de mutations
Faux sens / Non-sens	155
Sites d'épissage (splicing)	9
Petites délétions	6
Petites insertions	2
Petits indels	5
Grandes délétions	0
Grandes insertions ou duplications	0
Complexes réarrangements	0

La plupart de ces mutations, sont situées dans l'exon 10 et entraînent la substitution ou la délétion d'un acide aminé hydrophobe à l'extrémité carboxyterminale de la protéine, les autres mutations sont réparties dans l'exon 2 et à un moindre degré dans les exons 3 et 4.

La mutation la plus fréquente d'entre elles, M694V, se trouvent dans l'exon 10 du gène et elle est présente, sur le même haplotype, dans l'ensemble des populations méditerranéennes étudiées, suggérant un effet fondateur dans ces populations (Centola et al., 2000).

Plusieurs chromosomes FMF actuels proviennent d'un ancêtre commun datant de plus de 2000 ans. Cet effet fondateur explique la fréquence particulièrement élevée des mutations : M694V, M694I, M680I, V726A et E148Q (Mirzaei et al., 2018).

On suppose que par un mécanisme de sélection génétique pour l'état hétérozygote, des individus sont nés avec des mutations, procurant un avantage sélectif, qui s'est maintenu à travers les générations. Les porteurs à l'état hétérozygotes semblent être mieux armés contre certaines maladies infectieuses. Une moindre susceptibilité aux infections et une incidence réduite d'asthme chez les hétérozygotes ont été évoquées (Caglayan et al., 2010) . De plus, (Kogan et al., 2001) Kogan et al. suggèrent que la mutation E148Q contribue à la longévité des porteurs dans la population Ashkénaze, peut être en améliorant la résistance aux infections (Kogan et al., 2001).

VIII. Traitement

La prise en charge thérapeutique de la polyarthrite rhumatoïde (PR) a connu de profonds changements au cours de ces dernières années. Ces changements sont dus à la mise à disposition d'outils médicamenteux plus performants, à la démonstration scientifique de nouveaux concepts et à des connaissances de mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la PR, ce qui a conduit à de nouvelles stratégies thérapeutiques et à des objectifs plus ambitieux.

Parmi les nouveaux outils, il faut citer 2 types de traitements de fond :

- Les traitements conventionnels ou traitement de fonds synthétiques ou DMARDs (Disease modifying Anti-Rheumatic Drugs) au premier du rang desquels se trouve le méthotrexate.
- Les traitements de fonds biologiques ou des biothérapies (bDMARDs, biological Disease-Modifying Anti Rheumatic Drug) de la PR développés depuis une quinzaine d'année qui ciblent des facteurs clés de la cascade inflammatoire de l'auto-immunité.

VIII.1. Les traitements conventionnels

Nous appellerons traitement conventionnel tout traitement ne faisant pas appel aux biothérapies, beaucoup plus récentes. Le traitement de la polyarthrite rhumatoïde a trois objectifs principaux : soulager les douleurs, stopper l'évolution de la maladie afin de prévenir le handicap.

VIII.1.1. Traitement symptomatique

La première catégorie, pour soulager la douleur et de stopper le processus inflammatoire, est le traitement symptomatique. Il repose essentiellement sur les antidouleurs, les Antalgiques purs et les antiinflammatoires, soit non-stéroïdiens « AINS » ou même stéroïdiens « corticostéroïdes ».

La toxicité digestive, mais également rénale, de tous les AINS justifie une surveillance étroite sur le plan clinique et biologique (mesure de la tension artérielle, contrôle de la fonction rénale). Par contre, la corticothérapie n'est utilisée qu'en alternative ou en complément des autres traitements et en cas de polyarthrite rhumatoïde active invalidante, insuffisamment soulagée par les anti-inflammatoires.

VIII.1.2. Traitement de fond non biologique

Le deuxième objectif du traitement de la polyarthrite consiste à réduire l'évolution de la maladie. Il repose sur la réduction de la fréquence, de la durée, de l'intensité des poussées, et vise l'arrêt de la progression des érosions et des destructions radiologiques. Ce type de traitement repose essentiellement sur ce qu'on appelle communément les « traitements de fond » ou encore « DMARDs » (disease modifying anti-rheumatic drugs).

Actuellement, le traitement de fond le plus fréquemment prescrit lors d'une polyarthrite rhumatoïde débutante est le Méthotrexate (MTX), traitement de fond de première intention, puis le Léflunomide ou sulfasalazine qui possède, comme le MTX, une action rapide avec une efficacité clinique et radiologique significative et un bon taux de maintien thérapeutique.

VIII.1.3. Traitement chirurgical

La réduction du handicap est le troisième volet de la stratégie thérapeutique et repose essentiellement sur une hygiène de vie adaptée et en dernier recours le traitement chirurgical. Ce dernier vise surtout à soulager les malades, cependant, à un stade précoce, la chirurgie permet par ailleurs de prévenir les destructions articulaires (synovectomie). Le traitement chirurgical peut faire appel à plusieurs techniques.

Ces techniques sont de trois types : La synovectomie arthroscopique ou chirurgicale est indiquée en cas de synovite persistante malgré le traitement médical général et local ; L'arthroplastie (le plus souvent totale) permet d'apporter l'indolence et de rendre la fonction à une articulation détruite, telle que la hanche, le genou ou l'épaule ; L'arthrodèse

arthroscopique ou chirurgicale permet d'apporter l'indolence et la stabilité à une articulation détruite lorsqu'une arthroplastie est difficilement réalisable (poignet, cheville, arrière-pied).

VIII.2. Les Biothérapies

L'identification des communications entre les cellules a fourni les cibles thérapeutiques des biothérapies (bDMARDs, biological Disease-Modifying Anti Rheumatic Drug) utilisées désormais largement dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde.

L'avènement des biothérapies, à la fin des années 90, a révolutionné le pronostic de la PR en proposant une solution thérapeutique efficace aux patients atteints de PR sévère, ayant une réponse inadéquate ou une intolérance aux traitements de fonds synthétiques conventionnels (généralement méthotrexate : MTX) (Smolen & Aletaha, 2015).

Certains de ces traitements ont aussi trouvé une place de choix dans la prise en charge d'autres maladies auto-immunes (sclérose en plaque, lupus, vascularites...), de maladies auto-inflammatoires monogéniques (fièvres familiales, ...), de maladies auto-inflammatoires polygéniques (maladie de Crohn, rectocolite hémorragique, arthropathies microcristallines, ...) et de maladies immunitaires à caractéristiques mixtes (spondyloarthrites, uvéites HLA-B27+, ...) (Baker & Isaacs, 2018; Jesus & Goldbach-Mansky, 2014).

Les cibles thérapeutiques des bDMARDs de la PR permettent de distinguer deux grands types de mécanismes d'action :

- ❖ Les bDMARDs bloquant l'action de cytokines pro-inflammatoires impliquées dans l'initiation et la progression de la PR : TNF (IFX : Infliximab, ETA : Etanercept, ADA : Adalimumab, GOL : Golimumab, CZP : Certolizumab Pégol), IL-6 (TCZ : Tocilizumab, Sarilumab), IL-1 (Anakinra : non utilisé en pratique courante).
- ❖ Les bDMARDs ciblant les événements cellulaires d'amont : l'anti-CD20 (RTX : Rituximab) ciblant le lymphocyte B pourvoyeur d'auto-anticorps, le CTLA4-Ig (ABA : Abatacept) inhibiteur compétitif de l'interaction de costimulation CPA (Cellule Présentatrice d'Antigène) et Lymphocyte T (CD80/86 – CD28), bloquant le 2e signal activateur du lymphocyte T. Néanmoins, ils entraînent une augmentation du risque infectieux, restent des thérapies coûteuses et ne sont réservés qu'au patients en échec ou en cas d'intolérance au méthotrexate.

Ces biothérapies et les études de stratégies thérapeutiques ont permis des progrès considérables dans la gestion de la PR, permettant même d'espérer d'obtenir de meilleurs résultats que les autres procédés thérapeutiques (Figure 29).

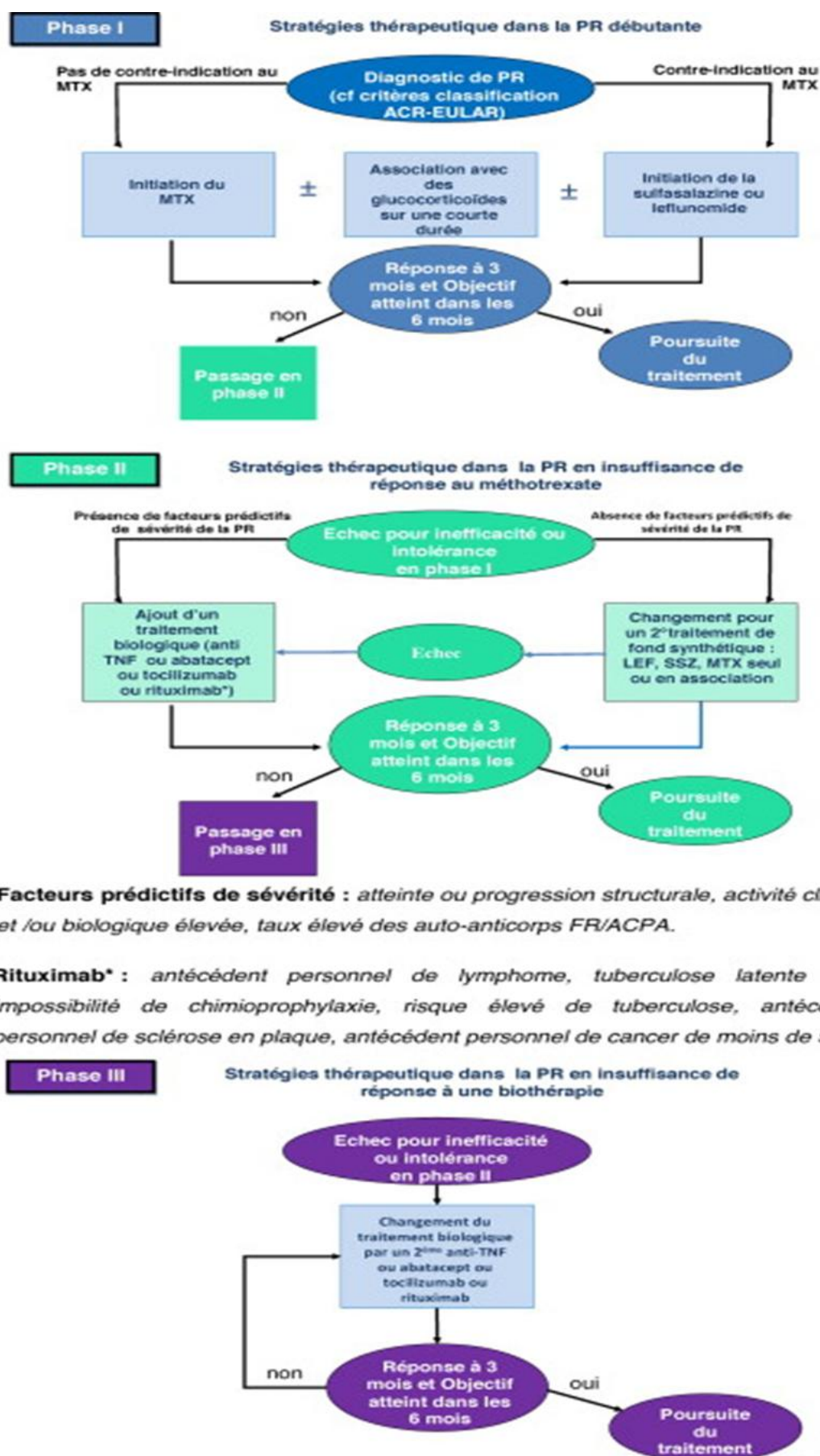


Figure 29 : Stratégie thérapeutique de la polyarthrite rhumatoïde.(Gaujoux-Viala et al., 2014)

Les anti-TNF α (infliximab, étanercept, adalimumab) sont proposés actuellement dans les polyarthrites sévères, réfractaires (échec des autres traitements de fond) mais également, pour certains, en première intention, en fonction des facteurs pronostiques. D'autres traitements sont très prometteurs comme le Rituximab (anticorps anti-CD20) ou l'Abatacept (CTLA4-Ig).

Le Rituximab a clairement démontré son efficacité notamment en association au Méthotrexate, sur l'activité clinique et structurale de la PR, en particulier dans les populations de patients insuffisamment répondeurs aux anti-TNF α . L'inhibition des voies de co-stimulation des LT par des cellules présentatrices d'antigènes est une autre voie particulièrement intéressante ayant conduit à la commercialisation de l'Abatacept. Ce dernier a également montré une efficacité clinique dans la PR, surtout en association au Méthotrexate. Cette efficacité a été démontrée actuellement à la fois chez les patients insuffisamment répondeurs aux anti-TNF α et ceux insuffisamment répondeurs au Méthotrexate.

Le Tocilizumab est un anticorps anti-récepteur de l'interleukine 6 qui, lui aussi, a démontré dans des études de phases II et III, une efficacité clinique indiscutable et particulièrement intéressante.

VIII.3. Nouvelles thérapies ciblée dans la polyarthrite rhumatoïde

L'arsenal thérapeutique de la polyarthrite rhumatoïde compte une nouvelle spécialité de thérapie ciblée anti JAK 1 :

❖ **Jyseleca (filgotinib)**

Jyseleca (Filgotinib) est un inhibiteur de la Janus kinase 1 (JAK1) indiqué dans le traitement des adultes atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) active modérée à sévère. Il est indiqué chez les patients qui ne répondent pas ou sont intolérants à d'autres médicaments antirhumatismaux. Il peut être utilisé seul (monothérapie) ou en association avec un autre médicament antirhumatismal, le méthotrexate (MTX).

Jyseleca (Filgotinib) a été approuvé pour le traitement aigu des adultes souffrant de migraine par l'Agence européenne des médicaments (EMA), Europe, le 24 septembre 2020 et par l'Agence des produits pharmaceutiques et des dispositifs médicaux (PMDA), Japon, le 25 septembre 2020.

❖ **Rinvoq (Upadacitinib)**

Rinvoq (Upadacitinib) est un inhibiteur sélectif et réversible des JAK, administré par voie orale une fois par jour, dont l'utilisation est élargie à deux indications rhumatismales supplémentaires : le traitement des patients adultes atteints de rhumatisme psoriasique actif et des patients adultes atteints de spondylarthrite ankylosante active. Il est utilisé pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde modérée ou sévère qui ne peut être contrôlée suffisamment bien par des médicaments antirhumatismaux modificateurs de la maladie ou si le patient ne peut pas prendre ces médicaments. Rinvoq (upadacitinib) a été approuvé pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde (PR) modérée ou sévère par la par la Food and Drug Administration (FDA), États-Unis, le 16 août 2019 et par l'Agence européenne des médicaments (EMA), Europe, le 12 décembre 2019.

❖ **Otilimab**

L'otilimab est un anticorps monoclonal qui avait fait l'objet d'essais cliniques de dernière minute en tant que nouveau traitement potentiel de la polyarthrite rhumatoïde (PR), avant la pandémie de coronavirus. Les essais cliniques de phase 2 ont récemment montré que l'otilimab supprimait l'inflammation et réduisait également de manière significative les scores de douleur déclarés par les patients. En octobre 2019, l'étude de phase 3 contrAst 3 (NCT04134728) a commencé à évaluer la sécurité et l'efficacité de l'otilimab en combinaison avec des antirhumatismaux modificateurs de la maladie (DMARD), chez des patients atteints de PR modérément à sévèrement active qui ont eu une réponse inadéquate aux DMARD ou aux thérapies ciblées. L'otilimab n'a été approuvé nulle part dans le monde.

Sources : J.O. (Journal Officiel), EMA (European Medicines Agency) , HAS (Haute Autorité de Santé) , ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament).

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

I. PATIENTS

I.1. Etude de prévalence de la suspicion des maladies auto-immunes au profil de la recherche des auto anticorps

Notre étude est une analyse rétrospective portant sur 3182 patients marocains (2183 femmes et 999 hommes) suspects de diverses maladies auto-immunes ayant demandé l'analyse auto immuns au laboratoire d'Auto-immunité à l'Institut National d'Hygiène à Rabat, durant la période allant de 2010 jusqu'à 2016 et ayant subi 16 analyses auto immuns (y compris les anticorps antinucléaires (AAN), les anticorps anti-acide désoxyribonucléique (ADNds), les anticorps anti-antigènes nucléaires extractibles (ENA), les anticorps anti-phospholipides (APL : β 2Glycoprotéine1), les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (CCP2), les anti mitochondrie (AMA ou anti M2), les anticorps anti muscle lisse (ASMA), les anticorps anti cellule pariétale (ACPA), les anticorps anti reticulum endoplasmique (LKM1), les anticorps anti cytosol (LC1), les anticorps anti polynucléaire neutrophile (ANCA), les anticorps anti endomysium IgA (EmA), les anticorps anti-gliadine (AGA) IgA, les anticorps anti-transglutaminase (tTG) IgA et les anticorps anti-thyroperoxydase (TPO)) en utilisant les techniques de dépistage par l'immunofluorescence indirecte et ELISA.

L'origine est très variée, en effet, les patients ont été adressés de différents services cliniques de l'hôpital des spécialistes de Rabat, de l'hôpital Avicenne, de l'hôpital Al Ayachi par les différents services de Rhumatologie, Néphrologie, Gastro-Entérologie, Dermatologie, Médecine interne générale, Neurologie et les différents centres diagnostiques de la région Rabat.

Les données de l'étude sont recueillies en se basant sur le registre de manipulation du laboratoire qui comporte le nom, prénom, l'âge, le sexe, les renseignements cliniques et le bilan immunologique demandés par le médecin traitant.

Les patients non positifs en auto anticorps sont exclus de l'étude et les patients qui ne possèdent pas des renseignements cliniques.

Dans cette étude, les données cliniques de la suspicion des maladies auto-immunes de nos patients incluant, Lupus érythémateux systémique (LES), Polyarthrite rhumatoïde (PR), Maladie mixte du tissu conjonctif (MCTD), Dermatomyosite (DM), Syndrome de Sjogren primaire (pSS), Vascularite associée à ANCA (VAA), Sclérodermie systémique (ScS), Polyarthralgie Arthrite (AP), Pneumopathie interstitielle (PI), Insuffisance rénale (IR),

Thrombocytopénie (Tb), Anémie hémolytique (AH), Neuropathie (NP), Maladie cœliaque (MC), Malabsorption intestinale (MI), Syndrome cholestatique (SC), Hépatite auto-immune (HAI), Hépatite C chronique (HCV), Cirrhose biliaire primitive (CBP), Anémie de Biermer /carence en vitamine B12 (AB/def vit B12), Diabète de type1 (D type 1) et Thyroïdite autoImmune (AIT).

I.2 Etude immunogénétique de la Polyarthrite Rhumatoïde

Cette étude cas-témoins a porté sur 111 patients marocains non apparentés atteints de PR sévères hospitalisés et 212 groupes contrôles (GC). Les patients atteints de PR âgée ≥ 18 ans ont été recrutés pendant la période de Septembre 2017 à Avril 2018 dans le service de rhumatologie de l'hôpital Militaire de Rabat.

Les critères utilisés pour le diagnostic clinique de la maladie PR sont ceux décrits par l'American Collège of Rheumatology (ACR)/ Ligue européenne contre le rhumatisme (EULAR) pour la classification de RA 2010(Hua & Combe, 2017). L'indice d'activité de la maladie 28 C-Réactive Protein (exprimé par DAS 28CRP) (Durmus et al., 2011) et Health Assessment Questionnaire (HAQ) (Tuulikki Sokka et al., 2003)a été appliqué aux patients atteints de PR afin de mesurer l'activité clinique et handicap fonctionnel, respectivement. la période de septembre 2017 à avril 2018.

Les Critères d'exclusion pour les patients atteints de PR: autres types d'arthrite inflammatoire, y compris le rhumatisme psoriasique, l'arthrite réactive, les spondylarthropathies et l'arthrite inflammatoire liée à une maladie intestinale.

Les donneurs de sang éligibles au groupe de contrôle (GC) recrutés au Centre National de Transfusion Sanguine de Rabat-Maroc entre février et décembre 2018. Les critères d'exclusion pour GC ne doivent pas être atteints de maladie auto-immune et/ou inflammatoire.

Tous les patients concernés et les témoins ont signé un consentement éclairé écrit (Annexe 3 et 4). Cette étude a été approuvée par le Comité d'éthique de la recherche biomédicale de la Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat (CERB), (Numéro 70/17) Maroc (Annexe 5).

Les données démographiques, cliniques, paracliniques et de traitements ont été collectées ou rapportées sur une fiche d'exploitation préétablie (fiche d'investigation en annexe 6) qui comprenait les paramètres suivants: Données sociodémographiques comprenant: âge, sexe, indice de masse corporelle (IMC), la durée de l'évolution de la PR, statut professionnel, mariage consanguin, tabagisme, antécédents familiaux, alcool, diabète

type2, l'hypertension, l'hypercholestérolémie, l'hypertriglicéride, les maladies cardiovasculaires, les accidents vasculaires cérébraux, le cancer, les maladies pulmonaires, les maladies digestives, l'ostéoporose et le syndrome de Gougerot Sjogren.

Les examens biologiques réalisés ont inclus : le bilan inflammatoire : les tests de vitesse de sédimentation érythrocytaire (VS) et de protéine C-réactive (CRP), AAN, CCP2 et FR.

Le Bilan radiologique standards des mains et des pieds ont été réalisées chez nos patients pour mettre en évidence les signes radiologiques de la PR. La radiographie du rachis cervical face et profil en hyper-flexion ont été demandées pour mettre en évidence une luxation atloïdo-axoïdienne. La radiographie du thorax et du bassin ont été réalisées à la recherche d'atteinte pulmonaire et de coxite qui constituent des signes de sévérité de la maladie.

Les traitements reçus pour nos patients atteints de PR sévère, y compris les corticostéroïdes oraux, les anti rhumatismaux de synthèse conventionnels (DMARDs) (méthotrexate, léflunomide et sulfasalazine) et les biothérapies : antirhumatismaux de synthèse biologiques (bDMARD): Rithuximab (RTX) : (anti CD20, mabthera, abatacept), Anti TNFalpha : (etanercept (eubrel), infliximab(remicade), humira) et tocilizumab (TCZ).

II. Méthodes

II.1.Prélèvements sanguins

Dans la présente étude, les prélèvements ont été réalisés sur des tubes secs et sur des tubes EDTA pour toute analyse immunologique et génétique.

Tous les patients et les témoins ont signé un consentement éclairé pour la réalisation de ces tests. Cette étude a été suivie et validée par le comité d'éthique de la faculté de médecine et pharmacie de Rabat.

II.1.1 Prélèvements sanguins sur tube sec

Dans la première étude, les prélèvements ont été réalisés sur des tubes secs par une piqure veineuse au niveau du pli de coude. Le volume prélevé est d'environ 5 ml. Lorsque ces prélèvements sont acheminés au laboratoire d'Auto-immunité de département d'immunologie de l'INH pour la recherche des auto anticorps, ils sont décantés par une centrifugeuse pendant 10 minutes à 15000g afin de séparer les globules rouges et le sérum. Puis le sérum est récupéré dans deux aliquotes (tubes Eppendorf) étiquetés puis un aliquote (tube)

immédiatement conservés à +4°C (une semaine maximum) en attendant le début de la manipulation et un (tube) conservé à long terme (plusieurs années) à -20°C dans un congélateur.

Ce type de prélèvement sur un tube sec a été aussi procédé deux tubes de prélèvements de 5ml par ponction veineuse au pli du coude pour chaque patient et témoins de l'étude immunogénétique de PR pour les tests immunologiques.

Les échantillons sanguins sont enregistrés et conservés à -20°C en mentionnant au niveau des étiquettes le nom complet de patient, son numéro de dossier (spécifique à notre laboratoire).

II.1.2 Prélèvement sanguin sur EDTA

Concernant dans l'étude immunogénétiques de polyarthrite rhumatoïde (PR), nous avons aussi procédé un seul type de prélèvements sanguin pour analyse moléculaire. Les prélèvements des patients ont été réalisés dans le service de rhumatologie (Hôpital Militaire de Rabat) et les prélèvements témoins ont été réalisés dans le Centre National de transfusion sanguine de Rabat. Ces prélèvements sont acheminés dans des conteneurs de transport vers l'INH.

Pour les patients et les témoins, nous avons procédé deux tubes de prélèvements de 5ml par ponction veineuse au pli du coude (un tube sur EDTA pour l'étude génétique et un tube sec pour les tests immunologiques) pour chaque patient et témoins.

Les échantillons sanguins désignés pour test immunologie sont enregistrés et conservés à -20°C et les échantillons sanguins pour l'étude génétique moléculaire sont enregistrés et conservé -80° C jusqu'au moment d'utilisation.

La décongélation se fait juste avant l'extraction d'ADN en mentionnant au niveau des étiquettes le nom complet de patient, son numéro de dossier (spécifique à notre laboratoire) ainsi que le nom de la pathologie pour laquelle il a été prélevé.

Pour le tube EDTA était congelé à -80°C jusqu'au moment d'utilisation. La décongélation se fait juste avant l'extraction d'ADN.

Pour le tube sec désigné pour la recherche immunologique était décanté par centrifugation à gradient de densité et le sérum recueillie est distribuée dans des eppendorfs et sont ensuite stockés dans des boites de congélation à -20°C jusqu'à leur utilisation. En parallèle, trois aliquotes (1ml) de sérums sont conservés pour les explorations ultérieures.

Les échantillons sanguins sont enregistrés et conservés à -20°C en mentionnant au niveau des étiquettes le nom complet de patient, son numéro de dossier (spécifique à notre laboratoire).

II.2. Tests immunologiques

Dans la présente étude, nous avons procédé trois types de techniques : technique d'immunofluorescence indirect (IFI), technique immunoenzymatique (ELISA) et la technique immunodot.

Ces études ont été réalisées dans le laboratoire d'Auto-immunité de département d'immunologie à l'INH de Rabat en utilisant l'automate PhD et PhD lx BioRad.

II.2.1. Technique d'Immunofluorescence indirecte (IFI)

L'IFI est une technique de référence pour la recherche des autoanticorps dans le diagnostic des maladies auto-immunes (Druet, 1992).

Dans cette étude, nous avons procédé cette technique pour détecter les anticorps anti-nucléaire (Ac AAN), les anticorps anti-ADNn, les anticorps anti tissu, les anticorps anti polynucléaire neutrophile (ANCA), les anticorps anti endomysium IgA (EmA).

A / Principe

La technique d'immunofluorescence est une technique sérologique basée sur la réaction antigène/anticorps. Elle consiste à incuber sérum à la dilution appropriée sur un substrat adéquat coupes tissus ou cellules isolées. Le lavage élimine l'excédent de sérum du substrat. Les anticorps fixés ont été révélés par des anticorps immunoglobulines humaines marqués à la fluorescéine FITC. Après un second lavage pour éliminer l'excédent de conjugué, recouvrir le substrat d'une lamelle couvre-objet et l'examiner pour la présence d'aspects fluorescents sous un microscope à fluorescence (Figure 30).

La réaction devient alors aisément observable au microscope à fluorescence. La technique de l'IFI permet donc d'obtenir un titre et un aspect de la fluorescence.

Pour valider et contrôler la qualité de la technique, des sérums contrôles positifs ainsi qu'un sérum contrôle négatif doivent être inclus dans chaque série de lames.

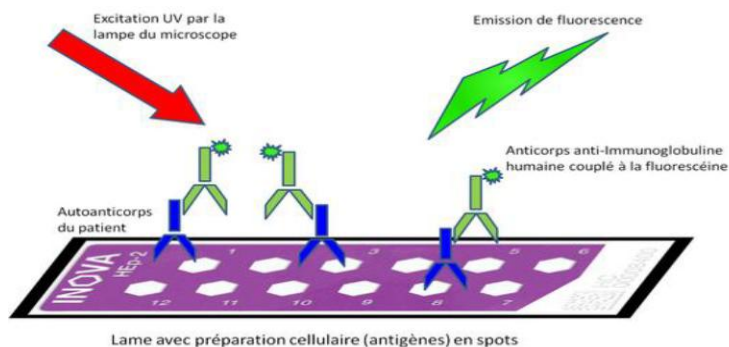


Figure 30 : les étapes de l'immunofluorescence indirect (IFI) (Chomel et *al.*, 1982).

B/protocole

L'IFI utilisée dans cette étude est totalement automatisée, elle a été réalisée sur l'automate Bio-Rad PhD spécialisé dans les tests auto-immuns. L'automate permet la réalisation de 1 à 4 tests d'IFI avec la possibilité de manipuler jusqu'à 20 lames simultanément. (Figure 31)

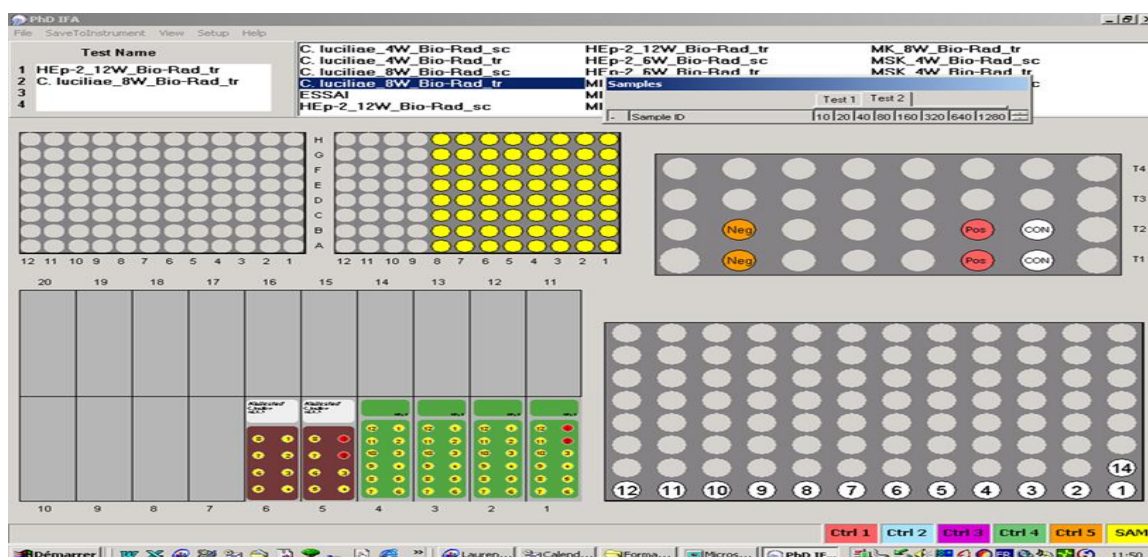


Figure 31 : Photo logiciel d'immunofluorescence (IFI) de l'automate PhD.(Photo prise au Laboratoire Auto-Immunité-INH)

Les étapes de la réalisation d'IFI consistent en plusieurs étapes : Dilution, Incubation, Addition du conjugué fluorescéine, Lavage de la lame substrat, analyse de la lame par microscope à fluorescence.

L'automate commence à réaliser des dilutions des sérums approprié pour chaque type autoanticorps type (comme : 1/160 pour AAN, 1/5 pour anti-ADN natif, 1/40 pour ANCA, 1/40 pour anti tissu ,1/10 pour EMA), en déposant sur les puits de la lame contenant des Ag déjà fixés en présence du contrôle positif ou négatif. Après incubation pendant 30 minutes à température ambiante, la lame est lavée par PBS (Figure 32). L'automate commence à déposer

une goutte de réactif conjugué fluorescent (FITC IgG) dans chaque puits. Après incubation 30 minutes. La lame est lavée et séchée à l'air libre. Ensuite nous déposons sur la lame 3 à 4 gouttes de milieu de montage (Mounting Medium) et puis recouvrir avec une lamelle. Les lames montées peuvent être lues directement ou ultérieurement en microscope à UV en les conservant à +4°C.



Figure 32 : Technique IFI dans l'automate BioRad PhD.(Photo prise au laboratoire d'Auto-Immunité-INH)

C/.Lecture des lames au microscope à UV

La lecture des lames se fait à l'aide d'une analyse visuelle des lames par microscope à ultraviolet (UV) de marque Olympus (Figure 33) et dans une chambre noire afin de voir la fluorescence. L'utilisation du grossissement le plus petit (x20) permet la recherche de la présence ou l'absence des auto-anticorps, et le grossissement x 40 pour interpréter les aspects de fluorescence et l'interprétation des résultats nécessite une parfaite connaissance histologique et cytologique des substrats utilisés.

Le résultat obtenu est sous forme des aspects de la fluorescence de l'auto anticorps.



Figure 33 : Microscope à UV pour lecture des lames à IFI.(photo au laboratoire d'Auto immunité-INH)

II.2.1.1. La recherche des anticorps antinucléaire (AAN) par IFI

[Kit de Lames hep2 \(Substrat REF 30472 lames 12 puits kallested Bio-Rad Laboratories, CA\).](#)

La recherche des AAN a été détectée par l'immunofluorescence indirecte qui est la technique de référence selon les recommandations de l'ACR de 2010 (Charkin, 1999; Hua & Combe, 2017).

La détection de la recherche des anticorps antinucléaires(AAN) nécessite une démarche en cascade, car toute recherche commence par un dépistage grâce à une immunofluorescence indirecte (IFI) qui consiste à incuber le sérum à la dilution appropriée au 1/160 sur un substrat de culture de cellule Hep2 (lignée cellulaire provenant d'un carcinome laryngé humain) (M et al., 2012) dont les structures nucléaires sont reconnues par les anticorps du patient.

La recherche des anticorps antinucléaires partage même principe et protocole pour la réalisation de la technique d'IFI automatisé par un automate PhD Ix ou PhD.

II.2.1.2. La recherche des anticorps anti ADNn

[Coffret de lames anti ADNn boîte 4 puits ou 8 puits \(substrat Crithidia luciliae REF 30472, Bio-Rad Laboratories, CA\).](#)

La recherche des Ac anti-ADN a été détectée par la technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur un substrat antigénique de *Crithidia luciliae*. Le seuil de détection (ou de positivité) utilisé est généralement au 1/5. Les anticorps anti DNA sont retrouvés dans le diagnostic du lupus érythémateux systémique (LES) et considéré comme le marqueur sérique le plus important de cette pathologie selon les critères de l'American rheumatism association pour le diagnostic (Radner et al., 2014).

Le principe de la technique d'IFI, matériel et protocole sont toujours les mêmes comme précédemment cités pour les Ac AAN.

II.2.1.3. La recherche des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) : C-ANCA et P- ANCA

[Lames ANCA fixée à l'éthanol \(Substrat REF 30472, Bio-Rad Laboratories, CA\),](#)

[Lames ANCA fixée au formol \(Substrat REF 30472, Bio-Rad Laboratories, CA\),](#)

La recherche des ANCA a été détectée par la technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur un substrat adéquat de polynucléaires humains normaux fixés en éthanol ou en formol. On fait agir sur ce substrat, le sérum à tester, puis la révélation par une anti-immunoglobuline humaine marquée à la fluorescéine IgG. Les ANCA contenus dans le sérum à tester se fixent sur les antigènes cytoplasmiques des PNN humains. La réaction devient alors aisément observable au microscope à fluorescence objectif X40. Le titre de positivité est au 1/40.

Les ANCA occupent une place grandissante dans le diagnostic des vascularites systémiques.

La recherche des anticorps ANCA partage même principe, matériel et protocole pour la réalisation de la technique d'IFI automatisé par un automate PhD Ix ou PhD.

II.2.1.4. La recherche des anticorps anti tissu : anticorps anti-mitochondries (AMA/M2), anticorps anti-muscle lisse (ASMA), anticorps anti-cellules pariétales (ACPA), anticorps anti-liver-kidney microsomal antibody (LKM1), anticorps anti-cytosol du foie (LC1) par la technique d'IFI.

[Lames foie/rein/estomac de rat \(4 puits\), boîte de 12 lames, Réf 2900, BIORAD, Laboratories, CA \(conservées à + 4°C\).](#)

La recherche des anticorps anti tissu a été détectée par la technique d'IFI et se fait sur le même substrat sur des coupes rein- foie-estomac de rat ou de souris (triple substrat). Ces anticorps sont retrouvés pour le diagnostic des maladies auto-immunes (MAI) du foie.

La recherche des anticorps anti tissu partage même principe et protocole pour la réalisation de la technique d'IFI automatisé par un automate PhD Ix ou PhD.

II.2.1.5. La recherche des anticorps anti-endomysium IgA (EmA IgA)

[Lame œsophage de rat singe 1/3 inférieur \(4 puits\) 12 lames ref 29003 \(Bio-Rad Laboratories, CA\).](#)

La recherche anticorps anti-endomysium IgA (EmA IgA) a été détectée par la technique d'IFI. Ces anticorps sont retrouvés dans le diagnostic de la maladie cœliaque qui est une affection liée à une rupture de la tolérance au gluten.

A côté de la forme infantile aiguë, avec malabsorption et insuffisance nutritionnelle profonde, on trouve aussi des formes frustes, cliniquement silencieuses qui peuvent s'observer chez l'adulte.

La recherche des anticorps anti-endomysium IgA partage même principe et protocole pour la réalisation de la technique d'IFI automatisé par un automate PhD Ix ou PhD.

II.2.2. Technique immunoenzymatique : enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

Dans cette étude, nous avons aussi détectés certains autoanticorps par la technique immunoenzymatique : ELISA pour le diagnostic des MAI systémique et des MAI spécifique d'organe.

Dans cette technique, nous avons procédé à la détection des anticorps anti-ENA par ELISA tels que anticorps anti-Smith (anti-Sm), anticorps anti-Ribonucléoprotéine (anti-RNP), anticorps anti-Ro (anti-SSA), anticorps anti-la (anti-SSB), anticorps anti-Jo1 et l'anticorps anti-Scl-70, ainsi pour les anticorps anti-phospholipides (APL: β 2 Glycoprotéine1), les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP2), les anticorps anti-gliadine (AGA) IgA, les anticorps anti-transglutaminase (tTG) IgA, les anti-thyropéroxydase (TPO) et la recherche du Facteur Rhumatoïde. Ces autoanticorps partagent tous le même principe et même étapes pour la réalisation de la technique ELISA automatisé par un automate PhD.

A/ Principe

La technique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.

Le test utilise des micropuits sensibilisés respectivement avec des antigènes solubles. Lors de la première incubation, les auto-anticorps spécifiques du sérum ou du plasma dilué se lient à l'antigène fixé dans les micropuits. Les micropuits sont ensuite lavés afin d'éliminer les éléments du sérum ou du plasma qui ne se sont pas fixés. Un conjugué formé d'anticorps monoclonaux marqués par une enzyme et dirigés contre les IgG humaines se lie aux anticorps de surface fixés durant la deuxième incubation. Après un nouveau lavage, les anticorps spécifiques sont révélés par incubation avec une solution de substrat. L'addition de la solution d'arrêt met un terme à la réaction et détermine le pH approprié pour le développement de la coloration.

Toutes ces étapes sont totalement automatisées, après avoir préparé les réactifs et les échantillons déposés dans l'automate Bio-Rad PhD lx.

B/ Protocole

L'automate commence à réaliser des dilutions des sérums des patients, les contrôles et les étalons approprié pour chaque type d'autoanticorps type dans le tampon d'échantillons. Les échantillons sont incubation pendant 30 ou 60mn en fonction du de mode d'emploi du kit (Figure 34). Après lavage des puits par la solution de lavage, il y a un ajout du conjugué et laisser incuber pendant 30 minutes. Après le 2ème lavage, ajouter le réactif substrat et laisser incuber pendant 30 minutes. Ensuite rajouter la solution stop. La plaque serait prête, et lue avec le lecteur ELISA branché à un ordinateur et paramétré à une longueur d'onde approprié pour chaque type d'autoanticorps (exemple 450-600 nm) (Figure 35).



Figure 34 : Technique ELISA dans l'automate PhD lx. (Photo au laboratoire d'Auto-Immunité-INH)



Figure 35 : Lecteur de plaque ELISA. (Photo au laboratoire d'Auto-Immunité-INH)

Les résultats sont lus d'une façon semi quantitative ou quantitative selon le kit et autoanticorps recherché, la courbe standard à partir de laquelle la concentration en anticorps dans les échantillons de sérum peut être obtenue par un tracé point à point des lectures d'extinction mesurées pour les 3 étalons par rapport aux unités correspondantes (linéaires / linéaires).

II.2.2.1. La recherche des anticorps anti antigènes extractible nucléaire : ENA (anti-SSa/Ro, anti-SSb/La, anti-Sm, anti-RNP, anti Sm/RNP, anti-Jo-1 et anti-Scl70).

KIT (EIA ANA- 6 Profile de 96 puits BIO RAD, REF 12A6)

La détection des anticorps anti antigènes solubles nucléaires permet l'identification de la recherche de 6 antigènes (anti-SSa/Ro, anti-SSb/La, anti-Sm, anti-RNP, antiSm/RNP, anti-Jo-1 et anti-Scl70) après la positivité des AAN afin de déterminer les spécificités antigéniques des anticorps anti nucléaires qui sont utiles dans le diagnostic des maladies rhumatismales systémiques telles le lupus érythémateux systemique (LES), la polymyosite, le syndrome de Sjögren, la sclérodermie et la connectivité mixte.

Le test ENA, son protocole semi-quantitative pour la détection d'auto-anticorps spécifiques des antigènes SS-A, SS-B, Sm, Sm/RNP, Jo-1 et Scl-70 . Son principe utilise des micropuits précoatés par la spécificité antigénique : SSa/Ro, SSb/La, Sm, RNP, Sm/RNP, Jo-1, et Scl70. Les anticorps dirigés contre ces antigènes vont se fixer dans les micropuits correspondant. Après avoir rincé les puits pour éliminer les constituants non fixés, un

conjugue anti-sérum humain IgG purifié et marqué à la peroxydase est déposé. Au cours de l'incubation ce conjugué enzymatique se lie aux IgG ayant reconnu les ANA6 profile. Après un autre lavage, les auto anticorps spécifique sont dépistée par incubation avec le tampon substrat. La réaction est stoppée par l'ajout d'une solution acide qui donne un produit final coloré.

Interprétation des résultats selon les recommandations du kit

- Le sérum avec résultat < 20 est définie négatif (EUs)
- Le sérum avec résultat entre 20 et 25 est définie douteux
- Le sérum avec résultat > 25 Unités enzymatique (EUs)

Les anticorps antigènes solubles nucléaires partagent même principe et même étapes pour la réalisation de la technique d'ELISA automatisé par un automate PhD Ix.

II.2.2.2. la recherche des anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti CCP2)

KIT complet EIA anti-CCP II commerciale 96 puits, REF 96CP, Kallestad de Bio-Rad

La recherche des anticorps anti- peptides cycliques citrullinés 2ème génération (Anti-CCP2) avec une sensibilité améliorée a été détectée par la technique ELISA pour la détection semi-quantitative dans le sérum humain.

Le principe de test utilise des micropuits sensibilisés respectivement avec des peptides synthétiques hautement purifiée contenant des résidus d'arginine modifiés dans le sérum ou le plasma humain ou citrulline (antigène).lors de la première incubation,les auto-anticorps spécifiques du sérum ou du plasma dilué se lient à l'antigène fixé dans les micropuits. Les micropuits sont ensuite lavés afin d'éliminer les éléments du sérum ou du plasma qui ne se sont pas fixés. Un conjugué formé d'anticorps monoclonaux marqués par une enzyme et dirigés contre les IgG humaines se lie aux anticorps de surface fixés durant la deuxième incubation. Après un nouveau lavage, les anticorps spécifiques sont révélés par incubation avec une solution de substrat. L'addition de la solution d'arrêt met un terme à la réaction et détermine le PH approprié pour le développement de la coloration.

Les anticorps anti-CCP2 est l'un des marqueurs clefs pour aider au diagnostic précoce et le suivi de la polyarthrite rhumatoïde (PR).. Ils aident également au diagnostic différentiel de la PR par rapport à d'autres maladies du tissu conjonctif telles que le lupus érythémateux

systemique (LED). Ce test est inclus dans les critères de classification de PR par EULAR (Jacobs et al., 2018).

Dans le protocole semi quantitatif, la concentration d'anticorps dans un échantillon à tester est estimée par extrapolation à partir d'une courbe dose-réponse basée sur des étalons (normes de référence).

Interprétation des résultats selon les recommandations du kit

- Le sérum avec résultat ≤ 5 U/mL est définie négatif
- Le sérum avec résultat > 5 UI/ml est définie positif

Les anticorps anti peptides cycliques citrullinés partagent le même principe et protocole pour la réalisation de la technique d'ELISA automatisé par un automate PhD.

II.2.2.3 La recherche des anticorps anti glycoprotéine β 2GPI IgG (β 2GPI IgG)

KIT complet anti β 2-GPI IgG commercialisé 96 puits REF 425-2060,BIO RAD)

La recherche des anticorps anti β 2 glycoprotéine1 IgG (β 2GPI IgG) a été détectée par la technique ELISA pour un protocole semi-quantitative dans le sérum humain ou le plasma.

Le principe de test utilise des micropuits sensibilisés respectivement avec β 2GPI humaines purifiées permettant aux anticorps anti- β 2GPI présents dans les échantillons de réagir à l'antigène immobilisé. Après l'élimination par lavage des protéines sériques ou plasmatiques non liées, des anticorps spécifiques aux IgG humaines marqués à la peroxydase de raifort (HRP) sont ajoutés, formant ainsi des complexes avec les anticorps liés aux β 2GPI. Suivant une seconde étape de lavage, le conjugué anticorps-enzyme lié est dosé par l'ajout d'une solution simple contenant de la tétra-méthylbenzidine (TMB) et d'une solution aqueuse de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) servant de substrat chromogène. La coloration se développe dans les puits à une intensité proportionnelle à la concentration sérique des anticorps anti- β 2GPI.

On obtient les résultats en lisant la densité optique (DO) de chaque puits par spectrophotométrie. Les sérums de calibrateur sont fournis avec les concentrations des anticorps IgG anti- β 2GPI exprimées en unités G. Ces unités sont imputables à des préparations de référence reconnues.

Le dosage de l'anticorps anti- β 2GPI est un marqueur clef pour aider les personnes atteintes d'un lupus érythémateux systémique (LES) ou d'autres maladies lupiques (syndrome des anti phospholipides).

Les anticorps anti B2GP1IgG partagent même principe et protocole pour la réalisation de la technique d'ELISA automatisé par un automate PhD Ix.

Dans le protocole semi quantitatif, la concentration d'anticorps dans un échantillon à tester est estimée par extrapolation à partir d'une courbe dose-réponse basée sur des étalons (normes de référence).

Interprétation des résultats selon les recommandations du kit

- Le sérum avec résultat ≤ 20 G Units est définie négatif
- Le sérum avec résultat >20 G Units est définie positif

II.2.2.4. La recherche des anticorps anti transglutaminase IgA/IgG

[Kit complet anticorps anti transglutaminase IgA \(biorad Ref 425-2260\)](#)

[Kit complet anticorps anti transglutaminase IgG\(biorad Ref 425-2260\)](#)

La recherche des anticorps anti-transglutaminase (tTG) IgA/IgG est un immunologiques enzymatiques pour la détection qualitative et semi-quantitative des anticorps IgG ou IgA dirigés contre la transglutaminase tissulaire (tTg), révélateurs de la maladie cœliaque.

La transglutaminase tissulaire (tTg) est une enzyme ubiquitaire qui catalyse la réticulation des protéines. C'est également la protéine spécifique identifiée par les tests d'immunofluorescence des anticorps anti-endomysium (anti-EMA).

La nouvelle génération de tests sérologiques anti-tTg IgA/IgG de Bio-Rad est hautement sensible et spécifique pour le diagnostic précoce de la maladie cœliaque. Tous les tests sont faciles à automatiser, avec des protocoles et des réactifs communs, des puits sécables à code couleur et des interprétations qualitatives et quantitatives des résultats.

Le test utilise des échantillons sériques qui sont incubés dans des microplaques revêtues de l'antigène spécifique (peptides de la gliadine déamidé). Les Ac du patient, s'ils sont présents dans l'échantillon, se lient à l'antigène. La fraction non liée est éliminée au lavage pendant l'étape suivante. Ensuite, des immunoglobulines anti-humaines conjuguées

IgG ou IgA de la peroxydase sont incubées et elles réagissent avec le complexe antigène-anticorps des échantillons dans les microplaques. Le conjugué non lié est éliminé au lavage pendant l'étape suivante. L'ajout du substrat de tétraméthylbenzidine (TMB) déclenche une réaction enzymatique colorimétrique (coloration bleue). L'addition de la solution d'arrêt met un terme à la réaction et détermine le PH approprié pour le développement de la coloration.

Les anticorps anti anti-transglutaminase (tTG) IgA/ IgG partagent le même principe et protocole pour la réalisation de la technique d'ELISA automatisé par un automate PhD Ix.

Dans le protocole semi quantitatif, la concentration d'anticorps dans un échantillon à tester est estimée par extrapolation à partir d'une courbe dose-réponse basée sur des étalons (normes de référence).

Interprétation des résultats selon les recommandations du kit

- Le sérum avec résultat ≤ 15 UI/ml est définie négatif
- Le sérum avec résultat > 15 UI/ml est définie positif

II.2.2.5. La recherche des anticorps anti Gliadine IgA/IgG

[Kit complet anticorps anti gliadine IgA \(biorad Ref 425-2260\)](#)

[Kit complet anticorps anti gliadine \(biorad Ref 425-2260\)](#)

La recherche des anticorps anti-gliadine (AGA) IgA/ IgG est un test immunologiques enzymatiques pour la détection qualitative et semi-quantitative des anticorps IgG ou IgA dirigés contre la gliadine désaminée dans le sérum humain.

Les AGA IgA/ IgG sont les révélateurs de la maladie cœliaque. Ce test a le même principe et protocole que les anti-transglutaminases IgA/ IgG

II.2.2.6. La recherche des anticorps anti - thyroperoxydase (TPO IgG)

[Kit complet anti TPO IgG Ref 25087 bio rad \(IVDD, 98/79/CE\) IVD : Utilisation comme test de diagnostic in vitro](#)

Les anticorps anti-thyroperoxydase (TPO IgG) est un test immuno-enzymatique semi-quantitatif pour la détection de la classe IgG des auto-anticorps spécifiques de la peroxydase thyroïdienne. Il est destiné à aider à poser le diagnostic de trouble thyroïdienne auto immune, bien que son résultat à lui seul ne permette pas de poser le diagnostic de manière définitive.

Le test utilise les micropuits sensibilisés avec les antigènes de la TPO humaine recombinante. Durant la première incubation, les auto-anticorps spécifiques présents dans le

sérum ou plasma dilué se fixent à la surface enduite d'antigène. Les cupules sont ensuite lavées pour éliminer tous les constituants non fixés. Un conjugué anti IgG humaines marqués par à la peroxydase est déposé. Au cours de l'incubation, ce conjugué se lie aux IgG ayant reconnu la TPO. Le conjugué non fixé est éliminé par des lavages. L'addition de la Solution d'arrêt met fin à la réaction, et on obtient alors un produit final coloré. La quantité de Conjugué fixé est mesurée en unités d'absorption. Dans le protocole qualitatif, la quantité de Conjugué fixée par l'échantillon est comparée à celle fixée par le Témoin de référence.

Dans le protocole quantitatif, la concentration des auto-anticorps anti TPO correspondante en UI/mL peut être estimée par interpolation à partir d'une courbe dose effet basée sur les Etalons.

Interprétation des résultats selon les recommandations du kit

- Le sérum avec résultat < 10 UI/mL est définie négatif
- Le sérum avec résultat ≥ 10 UI/mL est définie positif

II.2.2.7. Facteur Rhumatoïde IgM

KIT (coffret IgM Rheumatoid Factor ELISA REF, Euroimmun)

Les facteurs rhumatoïdes de classe IgM est un test immuno-enzymatique quantitatif. Les facteurs rhumatoïdes de classe IgM représentent (avec les marqueurs de l'inflammation t les Ac anti-ccp) le marqueur biologique de choix pour le diagnostic de PR. Sa positivité est considéré dans les critères de classification l'ACR/EULAR pour le diagnostic de PR (Hua & Combe, 2017). Bien que son résultat à lui seul ne permette pas de poser un tel diagnostic de manière définitive, il faut toujours compléter avec les Ac anti-ccp.

Son principe est d'utiliser les micropuits revêtus d'antigène de FR. Durant la première incubation, des auto anticorps spécifiques présents dans le sérum ou plasma dilué se fixent à la surface enduite d'antigène. Les cupules sont ensuite lavées pour éliminer tous les constituants non fixés. Un conjugué anti-IgM humaines marqués à la peroxydase est déposé. Au cours de l'incubation, ce conjugué se lie aux IgM ayant reconnu Le FR. Le conjugué non fixé est éliminé par des lavages. L'addition de la Solution d'arrêt met fin à la réaction, et on obtient alors un produit final coloré.

Les résultats sont lus d'une façon quantitative, la courbe standard à partir de laquelle la concentration en anticorps dans les échantillons de sérum peut être obtenue par un tracé

point à point des lectures d'extinction mesurées pour les 3 étalons par rapport aux unités correspondantes (linéaires / linéaires).

La limite supérieure de la plage normale recommandée est de 20 unités relatives (RU) / ml.

Interprétation des résultats selon les recommandations du kit :

- Le sérum avec résultat < 20 RU/ml : négative
- Le sérum avec résultat ≥ 20 RU/ml : positive

Les FR IgM partagent même principe et protocole pour la réalisation de la technique d'ELISA automatisé par un automate PhD Ix.

II.2.3. Technique Immunodot

Cette technique procède un protocole qualitatif en utilisant des bandelettes tests coâtées avec les antigènes purifiés. Le changement de la coloration des bandelettes indique que la réaction est positive.

Son principe contient des bandelettes de test recouvertes de lignes parallèles d'antigènes hautement purifiés. Dans la première étape de réaction, les échantillons de patients dilués sont incubés avec les bandelettes d'immunoblot. Dans le cas d'échantillons positifs, les anticorps IgG spécifiques (également IgA et IgM) se lieront au site antigénique correspondant. Pour détecter les anticorps liés, une seconde incubation est réalisée à l'aide d'un conjuguée anti-humaine IgG marquée enzymatique catalysant une réaction colorée.

II.2.3.1 La recherche des ANA profil 3 plus DFS70 (IgG)

KIT (coffret ANA profil 3 plus DFS70 (IgG) par Dot, Euroimmun)

La recherche des ANA profil 3 plus DFS70 (IgG) à 16 antigènes (nRNP, Sm, SS-A (natif), Ro-52, SS-B, Scl-70, PM-Scl, Jo-1, CENP B, PCNA, ADNdb, nucléosomes, histones, protéine P ribosomale, AMA M2 et DFS70) a été détectée par l'immunodot.

La recherche des ANA profil 3plus DFS70 (IgG) complète le bilan des AAN positifs afin de déterminer les spécificités antigéniques qui sont utiles dans le diagnostic des maladies rhumatismales systémiques.

La méthode consiste à plangé les bandelettes dans les canaux de la plaque immuno-dot en ajoutant 1.5 ml de diluant + 15 µl de sérums et laisser incubé pendant une heure avec agitation puis ajouter 1.5 ml du diluant + 150 µl du conjugué et incubé encore une fois 30 min sous l'agitation (Figure 36). Ensuite, laver les bandelettes (aspirer les solutions

précédentes par une micropipette), et ajouter le substrat. Puis, laisser incuber 10 min avec agitation et laver les bandelettes puis laisser sécher complètement avant l'interprétation des résultats (Figure 37). Enfin, la lecture se fait à l'aide du prospectus du kit.



Figure 36 : Agitateur lors de l'incubation des bandelettes. (Photo prise au laboratoire Auto-Immunité-INH)

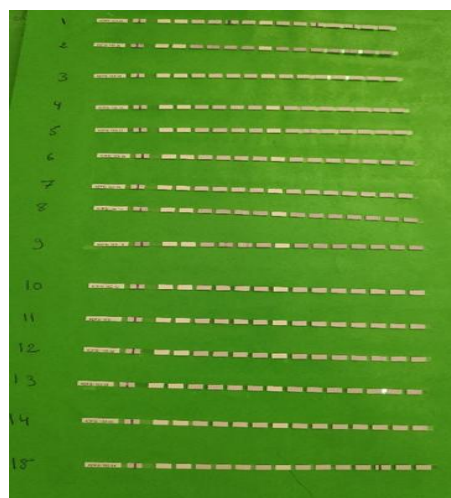


Figure 37 : Les bandelettes avant le scan. (Photo prise au laboratoire Auto-Immunité-INH)

Après avoir scanné la bandelette, les résultats du test sont mentionnés comme ce modèle (Figure 38). L'interprétation des résultats selon les recommandations du kit : Interprétions de positives est basé sur ++ ou +++

Antigène	Intensité	Classe	o (+)	+	++	+++
RNP/Sm (RNP/Sm)	108	+++				
Sm (Sm)	2	o				
SS-A natif (60 kDa) (SSA)	2	o				
Ro-52 recombinant (52)	31	++				
SS-B (SSB)	1	o				
Scl-70 (Scl)	60	+++				
PM-Scl100 (PM100)	2	o				
Jo-1 (Jo)	2	o				
Centromère B (CB)	1	o				
PCNA (PCNA)	0	o				
dsDNA (ADN)	2	o				
Nucléosomes (NUC)	2	o				
Histones (Hi)	6	(+)				
Protéine ribosomale (RIB)	2	o				
AMA-M2 (M2)	2	o				
DFS70 (DFS70)	2	o				
Contrôle (Ko)	45	++				
Étiquette (ET)	-1					

Intensité	Classe	Explication
0 - 5	o	Négatif
6 - 10	(+)	Douteux
11 - 25	+	Positif
26 - 50	++	Positif
51 - 256	+++	Fortement positif

Figure 38 : Résultats positive en se basant sur les bandelettes qui porte ++ ou +++. (Photo prise au laboratoire d'Auto-Immunité-INH)

II.3. Test génétique

II.3.1 Techniques de l'extraction des acides nucléiques

Les analyses moléculaires en génétique médicale reposent sur l'utilisation d'échantillons d'acides nucléiques, essentiellement de l'ADN. Les quantités nécessaires sont infimes, quelques microgrammes suffisent. Les analyses sont facilitées par le fait que toute cellule nucléée renferme dans l'ADN de son noyau l'information génétique de l'individu entier. De ce fait, n'importe quelle cellule nucléée donc être utilisée comme source d'ADN.

Généralement les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN.

Le but des méthodes d'extraction est, dans un premier temps, de libérer les acides nucléiques des autres composants cellulaires, tout en assurant leur protection vis-à-vis de la dégradation et dans un deuxième temps, les acides nucléiques sont séparés des autres composants.

Dans la grande majorité des cas, la technique d'extraction des acides nucléiques doit être adaptée à l'échantillon, à la nature du génome, au nombre de copies et à la technique de biologie moléculaire utilisée.

Techniques de l'extraction de l'ADN à partir d'un prélèvement sanguin

Il existe plusieurs techniques d'extraction d'ADN génomique à partir du sang périphérique, celle employée dans notre étude est :

Technique de l'extraction de l'ADN au kit commercial

La technique d'extraction de l'ADN au kit commerciale présente l'avantage d'être simple, d'avoir un volume d'ADN important avec une bonne concentration, son principe comprend quatre grandes étapes : la lyse des cellules, la dégradation des protéines libérées, la séparation des acides nucléiques des autres composants et la purification de l'ADN.

Nous avons utilisé cette technique pour les patients atteintes de PR sévère (100) et les groupes contrôles (200). C'est une technique simple et rapide qui dure moins d'une heure. Elle est généralement utilisée pour les cohortes comprenant des dizaines de prélèvements à extraire afin d'économiser le temps et l'effort.

Le kit commercialisé utilisé dans notre étude est Quiagen Kit (QIAampR DNA Bood Mini kits (50), REF 51104, (www.qiagen.com/gDNA). Ce kit adopte un système ayant recours à la technologie des membranes de silice pour l'isolation et la purification de l'ADN

génomique à partir d'échantillons biologiques. Développé pour le traitement simultané de plusieurs échantillons de sang, il permet d'obtenir de l'ADN purifié prêt à l'emploi. Les procédures sont compatibles avec des échantillons de sang total et de sang frais ou congelé traités à l'EDTA ou au citrate.

Le kit quiagen QIAampRDNA Bood Mini kits comprend des composants et des protocoles qui améliorent les méthodes simples et familières de la colonne de spin actuellement utilisées selon les indications du fabricant (protocole en Annexe 7). Les colonnes sont nouvellement configurées pour lier et libérer l'ADN plus efficacement. Chaque source d'échantillon utilise une procédure de lyse spécialisée et un tampon de lyse optimisé formulé pour renforcer l'activité de la protéinase K et éliminer la contamination par les protéines. Un tampon salin chaotrope favorise la liaison stable de l'ADN à la résine de la colonne et de puissants tampons de lavage éliminent toutes les traces de protéines et de sel. L'ADN est élué dans un tampon à faible teneur en sel pour permettre la stabilisation du pH de l'ADN stocké.

Cette technique s'effectue en deux étapes permettant d'isoler et de purifier rapidement et en toute simplicité l'ADN génomique à partir de 200 μ L de sang total (donnent 3 à 12 μ g) d'ADN (Il n'est pas nécessaire de séparer les leucocytes au préalable).

- ❖ Etape de lyse : Les échantillons sont lysés dans des conditions dénaturantes, à température élevée. Le sang est décongelé à température ambiante et la lyse cellulaire est effectuée immédiatement après la décongélation. Dans un tube eppendorf de 1,5 ml, 200 μ L du sang total est soumis à une lyse complète des globules rouges par incubation à 56 °C pendant 10 minutes après addition de 200 μ L de tampon de lyse (Lysis Buffer) et 20 μ L de protéinase K.
- ❖ Etape de purification : On ajoute 200 μ L d'éthanol absolu et on centrifuge brièvement. Par la suite on prépare pour chaque échantillon une colonne QIAamp Mini Spin Columns with Collection Tubes, cette étape permet de fixer l'ADN génomique à la membrane de la colonne de centrifugation, on y dépose 620 μ L de la solution obtenue, on centrifuge à 8000 rpm pendant 1 min puis on place la colonne sur un nouveau tube collecteur et on jette l'ancien tube et l'éluat.

L'ADN génomique est adsorbé sur la membrane de silice alors que le lysat passe à travers la membrane sous l'effet d'une pression ou de la force centrifuge. Par la suite, on procède à un lavage de la membrane par les tampons du kit Wash buffer 1 (AW1) et Wash Buffer 2(AW2). On dépose 500 μ L du tampon AW1 fournis par le kit, on recentrifuge à 8000

rpm pendant 1 min et on replace la colonne sur un nouveau tube collecteur. On dépose 500 µL du deuxième tampon AW2 puis on centrifuge à 14 000rpm pendant 3 min. À cette étape, l'ADN est lavé. On place ensuite la colonne sur un tube eppendorf de 1,5 ml, on dépose 100µL de tampon d'élution Qiagen AE Elution Buffer et on centrifuge à 8000 rpm pendant 1 min. A cette étape, l'ADN est élué. On Jette la colonne et on conserve le tube eppendorf contenant l'ADN extrait à +4 °C si l'échantillon est utilisé dans les jours qui suivent l'extraction ou à -20 °C pour une utilisation ultérieure.

II.3.2. Dosage et contrôle de la qualité de l'ADN extrait

La pureté et la concentration d'ADN sont essentielles pour aboutir à un bon résultat, et leur détermination conditionne la réussite de l'analyse. Ces paramètres sont mesurés par un spectromètre type Nanodrop au DGM.

La pureté et la quantification des échantillons d'ADN ont été évaluées par spectrophotométrie. Ce dosage s'effectue par mesure de l'absorption A qui se définit par l'unité de densité optique mesurée à 260 nm en lumière ultraviolette (UV). Une unité de densité optique correspond à l'absorption d'une solution d'ADN double brin à la concentration de 50 µg/ml ou à l'absorption d'une solution d'ADN simple brin (ou d'ARN) à la concentration de 25 µg/ml.

Si l'échantillon ne contient pas de quantité significative de contaminants tels que des protéines, du phénol ou autres, la mesure spectrophotométrique de la quantité de rayons UV absorbés par les bases est une opération facile et précise. La concentration d'acides nucléiques est généralement déterminée par une mesure effectuée à 260 nm contre un échantillon appelé «blanc» (Tampon aqueux à faible concentration ionique, dans notre cas c'était le tampon d'élution TE utilisé lors de l'extraction de l'ADN génomique). L'interférence par des contaminants se reconnaît par calcul du rapport entre l'absorption de l'ADN et celles des protéines. Les protéines absorbant à 280 nm, le ratio A260/A280 est utilisé pour estimer la pureté de l'acide nucléique. L'ADN pur devrait avoir un ratio d'environ 1,8.

Au sein de notre laboratoire, l'appareil NANODROP 2000 (Thermo Scientific Nano Drop TM 2000) est utilisé pour mesurer le dosage des ADNs. Il suffit de déposer dans l'appareil 1µl d'ADN extrait après 1 µl du tampon de l'élution (TE) comme « blanc » pour déterminer sa concentration et obtenir la courbe qui nous renseigne sur la pureté et la qualité de l'ADN. Tous nos ADNs extraits dans cette étude représentent un dosage qui varie entre 90

ng/ μ l à 160 ng/ μ l avec des rapports d'absorption encadrés entre 1.8 et 2 ceux qui nous permettent de procéder à toutes les techniques de biologie moléculaire.

II.3.3. Réaction de polymérisation en chaine (PCR)

A. Détermination de la séquence à amplifier

La détermination de la séquence d'ADN cible est nécessaire pour pouvoir l'amplifier. Plusieurs bases de données génomiques bioinformatiques disponibles sur internet (NCBI, Ensembl, UCSC, GeneAtlas...) sont utilisées dans ce but. Elles permettent également de définir les séquences de référence (RefSeq). Il s'agit d'une référence stable pour l'annotation du génome, l'identification des gènes et l'analyse des mutations et des polymorphismes pour les études médicales et fonctionnelles et les analyses comparatives.

B. Design des amorces

Pour amplifier sélectivement une séquence d'ADN par PCR, il est indispensable de disposer d'au moins une paire d'amorces. Ce sont des oligonucléotides d'une taille comprise généralement entre 10 et 30 nucléotides. Ils sont synthétisés par voie chimique et doivent montrer la meilleure complémentarité possible avec les deux extrémités de la séquence d'intérêt que l'on souhaite amplifier.

Outre la complémentarité entre la paire d'amorces et les extrémités de la séquence cible, d'autres critères, importants doivent être pris en compte pour la conception et l'emploi des amorces :

- La séquence des amorces doit comporter la plus grande proportion possible de guanines et de cytosines. En effet, la liaison entre guanines et cytosines est assurée par trois liaisons hydrogène au lieu de deux entre les adénines et les thymine, ce qui se traduit par une meilleure stabilité de la liaison au moment de l'hybridation des amorces. De plus, les amorces riches en cytosines et guanines, nécessitent une température d'hybridation (T_m) plus élevée et donc une hybridation plus spécifique.

- Les pourcentages en guanines et cytosines de chaque membre du couple d'amorces doivent être aussi proches que possible car ces proportions déterminent la température d'hybridation (T_m pour melting temperature) et permettront de définir une température d'hybridation convenable qui permettrait une hybridation équilibrée des amorces.

- Les amorces ne doivent pas présenter de fortes complémentarités de séquence car elles risqueraient de s'associer entre elles et n'effectueraient pas correctement l'amorçage de la réplication.

Actuellement des logiciels spécialisés avec des bases de données nucléotidiques ont permis de faciliter le design d'amorces en respectant tous ces critères. Ceux utilisés dans notre étude sont UCSC et Primer3.

Les amorces spécifiques ont été synthétisées par l'UCSC (<https://genome.ucsc.edu/>) et sont présentées dans le tableau 8.

Tableau 8 : PCR primer séquences (F : forward ; R : reverse).

Primers	Forward	Reverse	Tm (°C)	Amplicon size (bp)
MEFV_Ex2.1	CTCCTCTGCCCTGAATCTTG	AAGGGCCTGCACTCCTTC	60	480
MEFV_Ex2.2	CAGGGCAAGCCTCGGAC	GGCCAGCCATTCTTTCTC	60	451
MEFV_Ex10.1	GAACCCTGTAGGGATGTTGC	CTCCTTTATTAGCAGGCGGG	60	406
MEFV_Ex10.2	CATCCATAAGCAGGAAAGGG	TTGAGTGTGAATGCAAGATACAAG	59	391

MEFV: Mediterranean fever; Tm: melting temperature.

C. PCR et contrôle

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est effectuée dans un tube de 200 µl sur un volume final de 50 µl. Le mélange réactionnel comprend l'ADN génomique, un mix comprenant une solution tampon, du MgCl₂ et les dNTP, la Taq polymérase et de l'eau distillée. Ce mélange a été soumis par la suite à un thermocycleur ABI 9700 (Applied Biosystems) pour l'amplification du gène.

L'amplification des fragments d'ADN concernés par la méthode de PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne) est indispensable, en se basant sur le fonctionnement cyclique d'une ADN polymérase particulière, la Taq polymérase. Les exons ciblés sont multipliés par recopiage successifs à l'aide des amorces oligonucléotidiques et de l'ADN polymérase thermostable en suivant les fameux cycles de la PCR avec leurs températures adéquates : Dénaturation (95°C), hybridation (généralement varie entre Tm=52°C et Tm=62°C) et élongation (72°C) (Figure 35). Chaque cycle de recopiage dure de 15 secondes jusqu'à 7

minutes. L'exon à séquencer étant doublé à chaque cycle, le taux théorique d'amplification est de 2^n , après 21 cycles de PCR, le nombre de copies de l'exon cible est de plusieurs dizaines de millions de fois supérieur à n'importe quelle autre séquence du génome. Cette amplification rend l'exon cible facilement séquençable.

Après amplification, le produit d'une PCR est constitué d'un ou de plusieurs fragments d'ADN qui constituent les séquences d'intérêt. Le contrôle de ces produits, afin de confirmer la réussite de l'amplification et d'éliminer la présence de toute amplification non spécifique, est réalisé par électrophorèse sur gel d'agarose (1%). Les séquences d'ADN sont alors révélées au moyen d'une coloration au bromure d'éthidium (BET) qui les rend instantanément visibles sous forme d'une bande unique par transillumination aux ultraviolets.

II.3.4. Séquençage par la méthode Sanger

Le séquençage génétique de Sanger est un moyen de déterminer l'ordre des quatre nucléotides dans un brin d'ADN, afin de voir de quelle succession de nucléotides est constituée un fragment donné d'ADN. Son application dans divers domaines de la recherche de base, de la biotechnologie et de la médecine est devenue indispensable.

Frederick Sanger a mis au point une méthode qui part du principe qu'en copiant des brins d'ADN et en surveillant quels nucléotides y sont ajoutés, un par un, on peut lire la séquence de nucléotides. Cette méthode lui a valu le prix Nobel de chimie en 1980.

Tout variant potentiellement délétère identifié par séquençage à haut débit (panel de gènes ou Exome) doit être suivi d'une confirmation par séquençage Sanger.

A. Purification du produit de PCR

Nous avons procédé une amplification en chaîne par polymérase (PCR) standard pour tous nos patients en utilisant les amorces des exons 2 et 10 du gène *MEFV*. Les produits de PCR ont été purifiés à l'aide d'ExoSAP et analysés par séquençage standard des didésoxynucléotides de Sanger à l'aide de l'analyseur génétique 3130 (Thermo Fisher Scientific). Cette recherche a été réalisée dans le laboratoire de génétique de l'INH.

Après la PCR, une purification du produit est essentielle afin d'éliminer les amorces et les dNTP résiduels, non incorporés dans le mélange réactionnel, autrement, ces résidus risquent d'interférer dans les réactions en aval (séquençage). Dans cette étude nous avons utilisé la purification enzymatique par ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent.

Cette méthode utilise deux enzymes hydrolytiques : l'exonucléase I et la Shrimp phosphatase alcaline (SAP), toutes les deux réunies dans un mélange avec un tampon conçu pour optimiser leur activité en une seule réaction. L'exonucléase a pour rôle d'éliminer l'excès d'amorces dans le produit de PCR, et la SAP permet de déphosphoryler les dNTP résiduels afin d'altérer leur migration et réincorporation aux fragments d'ADN. Ces enzymes sont actives par incubation à 37°C pendant 15 min et irréversiblement inactivées par un simple chauffage à 80°C pendant 15 min.

B. Réaction de Séquence

Nous avons eu recours au kit BigDye terminator v3.1 cycle sequencing kit (Thermo Fisher Scientific). Il s'agit d'un mélange contenant une taq polymérase, des dNTP, des ddNTP marqués par un fluorochrome, du $MgCl_2$ et une solution tampon. Ce produit est ensuite ajouté à un tube de 200 μ l contenant le produit de PCR purifié, une amorce sens ou anti-sens et de l'eau distillée (Figure 39). Le mélange réactionnel est ensuite soumis pour une amplification de 30 cycles dans le thermocycleur à des conditions spécifiques.

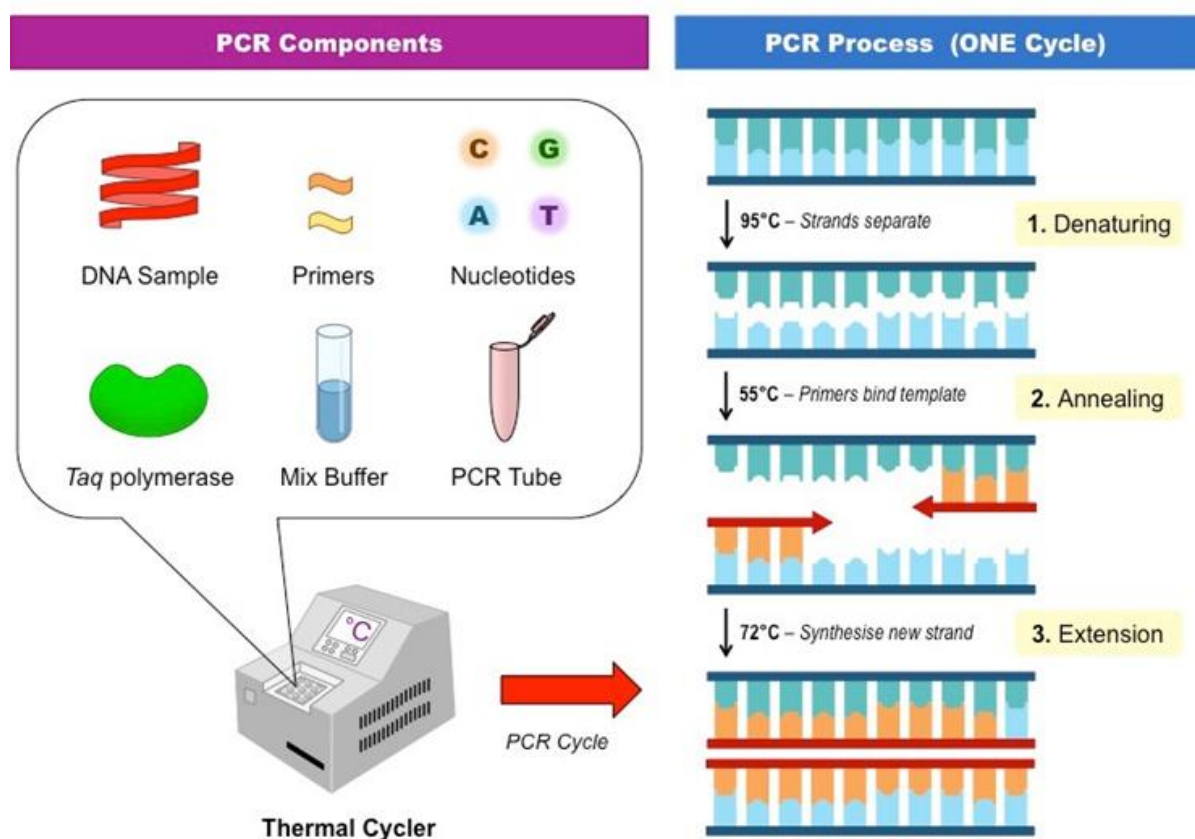


Figure 39 : Mélange réactionnel et différents cycles de la PCR.(DGM-INH)

C. Purification de la réaction de séquence par Sephadex G50

La réaction de séquence est purifiée par ce qu'on appelle la chromatographie d'exclusion, appelée également chromatographie de filtration sur gel ou tamisage moléculaire. Cette technique est apparue en 1959 avec un nouveau produit : le Sephadex. C'est un gel de dextrane qui, après réticulation, se présente sous forme de billes poreuses très hydrophiles qui gonflent dans l'eau. Il existe différents types de Sephadex en fonction de la taille des billes et de leur porosité.

Cette purification est nécessaire afin de piéger les sels et les ddNTP libres, en excès dans le produit de la réaction de séquence. En effet, ces ddNTP libres pourraient parasiter les signaux de fluorescence spécifiques lors du séquençage automatique.

Après purification de nos produits de réaction de séquence, nous les avons soumis à l'appareil ABI prism 3130 DNA sequencer à 16 capillaires (life technologies) pour séquençage automatique. Ensuite nous avons procédé à l'alignement et l'analyse des séquences au moyen du logiciel d'analyse des variants d'ADN (Mutation Surveyor® software).

D. Séquençage par méthode Sanger

Le séquençage Sanger repose sur la réplication de l'ADN par l'ADN polymérase et des amorces spécifiques de séquence en incorporant les dNTP présents dans le milieu réactionnel. En addition à ces dNTP, les didésoxyribonucléotides interrupteurs de chaîne (ddNTP), qui seront incorporé aléatoirement par l'ADN polymérase lors de la réplication. Les ddNTP diffèrent des dNTP par leur extrémité 3'. L'extrémité 3' hydroxyle (OH) des dNTP est remplacée par un hydrogène (H) dans les ddNTP. Cette modification empêche la formation de la liaison phospho-diester entre le ddNTP incorporé et le nucléotide suivant ce qui interrompt la synthèse du fragment d'ADN (Facio et al., 2012).

Dans le milieu réactionnel les ddNTP sont ajoutés de manière à ce qu'ils soient incorporés statistiquement à toutes les positions possibles de la séquence d'ADN à étudier.

Ainsi, nous obtiendrons à la fin de la réaction, un produit qui contient des fragments d'ADN de tailles différentes selon la position d'incorporation du ddNTP (Figure 40).

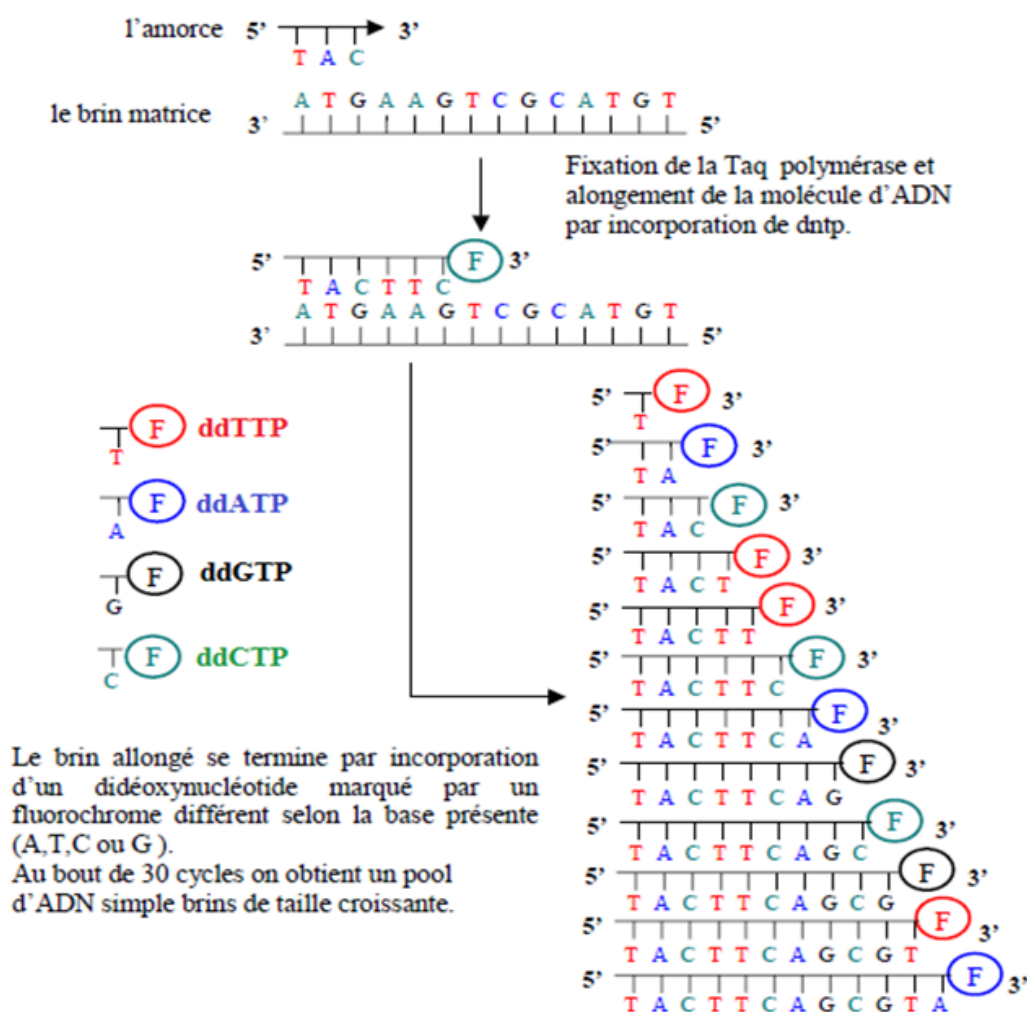


Figure 40 : Principe de la réaction de séquence.(DGM-INH)

Le produit de cette réaction de séquence sera soumis au moyen d'un appareil automatique (Le séquenceur) à l'électrophorèse sur un gel de polyacrylamide qui est très résolutif et va séparer tous les fragments présents en fonction de leur taille.

Les ddNTP (A, C, G et T) sont chacun marqués par un fluorochrome avec un spectre d'émission spécifique. Au cours de l'électrophorèse capillaire des fragments d'ADN dans le séquenceur automatique, une excitation de ces fluorochromes par un rayon laser permet de libérer des signaux fluorescents qui seront enregistrés à des points fixes. Au fur et à mesure que les signaux sont capturés, la séquence est enregistrée électroniquement, puis visualisée sous forme de pics de quatre couleurs représentent la succession des nucléotides qui constituent une séquence d'ADN (Figure 41).

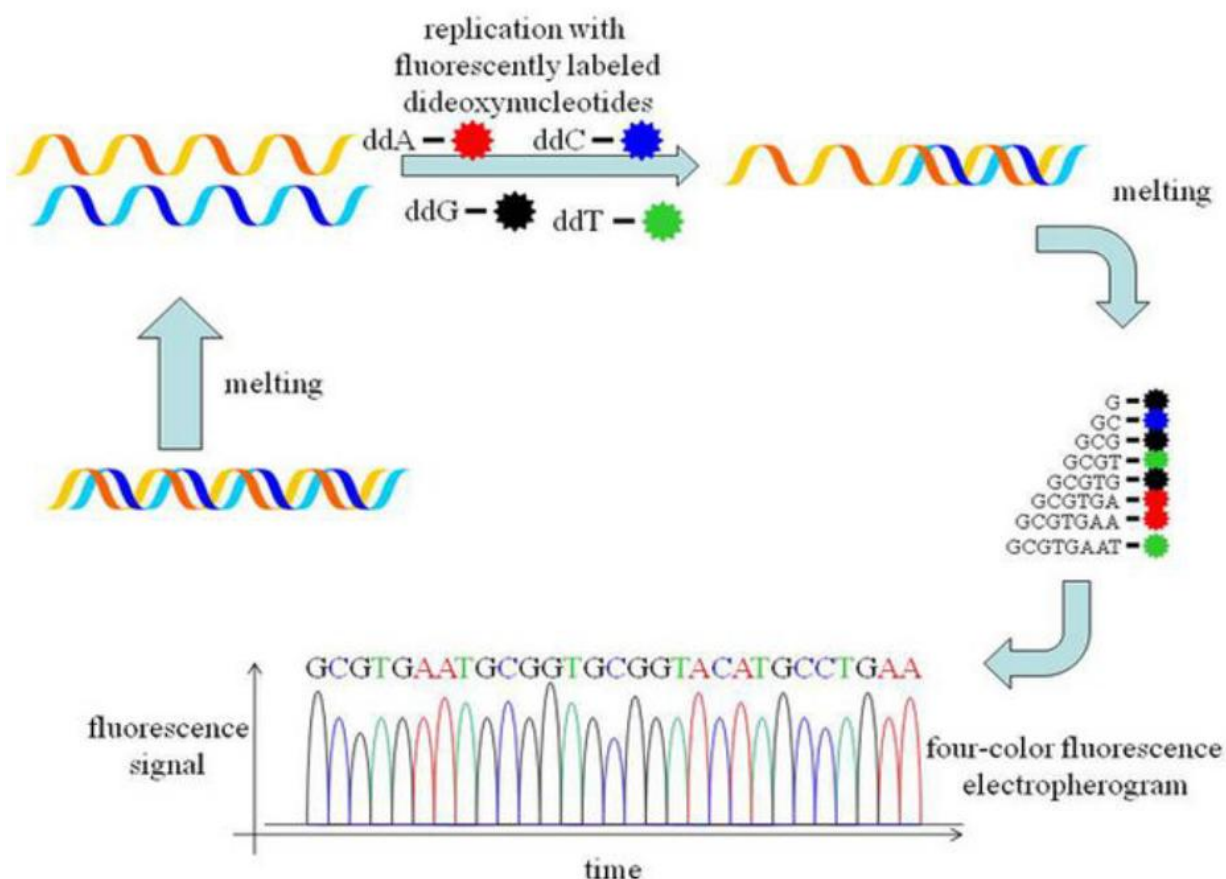


Figure 41 : Principe de séquençage automatisé d'ADN par la méthode de Sanger.(DGM-INH)

III. Analyse statistique

Les données recueillies de la 1^{er} étude ont été saisies sur XLSTAT. Leur traitement a été fait grâce à un logiciel d'analyse XLSTAT statistique intitulé.

Dans un 1er temps, une analyse descriptive de la population étudiée et des différentes données relatives aux maladies et aux auto-anticorps correspondants recueillis a été effectuée. Les indices et les écarts-types ont été calculés.

Dans un 2ème temps, nous avons recherché la corrélation entre auto-anticorps et maladies a été détectée par 4 analyses de connexion, la répartition des auto-anticorps contre chaque maladie, l'analyse en composantes principales (ACP), l'analyse factorielle des correspondances (FAC) et enfin, l'analyse de facteur de correspondance (CFA). Ces analyses ont également été réalisées à l'aide du logiciel XLSTAT.

Les résultats sont rapportés sous forme de graphiques et de tableaux commentés.

Les analyses statistiques de la deuxième étude ont été effectuées à l'aide du logiciel STATISTICA StatSoft 12.0 (Tulsa, Oklahoma, USA) pour les caractères

sociodémographiques, les caractéristiques cliniques, les manifestations extra-articulaires et le traitement, sont décrites par la moyenne et l'écart type (ET) et le nombre et le pourcentage pour les données catégorielles.

La relation entre les caractères sociodémographiques des patients atteints de PR et les groupes témoins a été déterminée à l'aide du chi carré χ^2 . Le rapport de prévalence (PR) et le rapport de cotes (OR) ont été utilisés pour l'évaluation des facteurs de risque. La signification statistique de tous les tests a été établie au niveau de $p \leq 0,05$ à l'aide de statistiques descriptives.

Une valeur $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

Les données recueillies de l'étude corrélation génotype-phénotype : mutations du gène *MEFV* et patients marocains atteints de polyarthrite rhumatoïde ont été saisies à l'aide du logiciel STATISTICA Stat Soft 12.0 (Tulsa, Oklahoma, USA). La relation entre la fréquence des mutations du gène *MEFV* dans une cohorte de patients marocains atteints de PR et les groupes de témoins a été déterminé à l'aide du Pearson χ^2 .

Les résultats ont été donnés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type (S.D.). Pearson χ^2 a été utilisé pour comparer les variables catégorielles, le ratio de prévalence (PR) et le rapport de cotes (OR) ont été utilisés pour l'évaluation des facteurs de risque.

Le rapport de prévalence (PR) et le rapport de cotes (OR) ont été utilisés pour l'évaluation des facteurs de risque. La signification statistique de tous les tests a été établie au niveau de $p \leq 0,05$ à l'aide de statistiques descriptives.

CHAPITRE III

La prévalence de différentes
maladies auto-immunes et la
caractérisation du profile des auto-
anticorps.

CHAPITRE III : La prévalence de différentes maladies auto-immunes et la caractérisation du profil des auto-anticorps.

I. Résultat de lecture des lames des autoanticorps vu au microscope à UV

I.1 Lecture des lames des anticorps anti nucléaires sur le substrat des cellules Hep2

Les résultats de détection d'anticorps des AAN positifs dans l'échantillon à analyser pour une dilution au 1/160 qui est visualisé par le microscope de fluorescence sur le substrat Hep2 indique plusieurs aspects de fluorescence.

*La figure 42 représente un aspect positif homogène se reconnaît par une fluorescence Homogène et uniforme de tout le noyau des cellules Hep-2. Nous observons aussi une forte fluorescence des cellules mitotiques en interphase. Ce type de fluorescence est un indicateur de lupus érythémateux systémique.

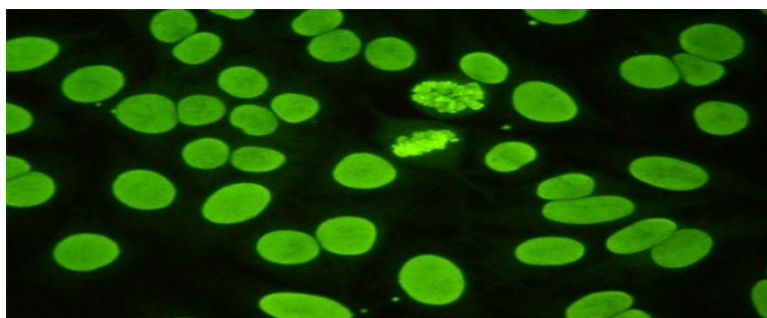


Figure 42 : AAN Positif d'aspect homogène avec mitose positive X40
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunité -INH).

*La figure 43 représente un aspect Moucheté se reconnaît par un marquage de fluorescence de nombreux grains gros ou fins non comptables au niveau du noyau. Les cellules mitotiques ne sont pas marquées. Cet aspect indique la présence des anticorps : RNP, Sm, SSA, SSB, Scl70, qui existe dans le lupus érythémateux, la maladie du tissu conjonctif mixte, le syndrome de sjögren, la polymyosite et à la sclérodermie.

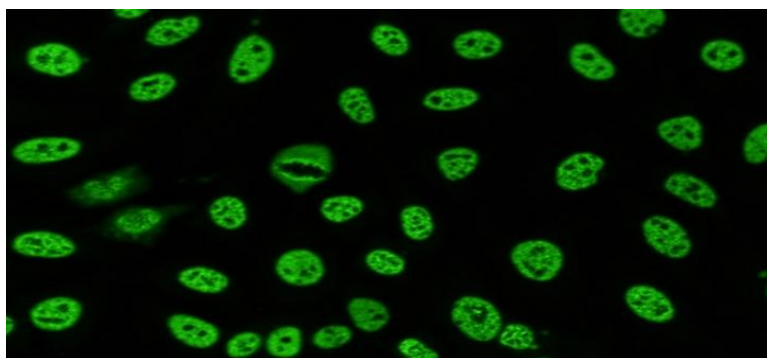


Figure 43 : AAN positif d'aspect moucheté avec mitose négative X40
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunité -INH).

*La figure 44 montre un aspect de fluorescence centromère se reconnaît par un marquage d'une quarantaine de grains égaux entre eux dans le noyau et présents pour certains dans les nucléoles. Les points deviennent des traits au niveau de la plaque équatoriale dans les cellules en mitose (chromosomes en métaphase). Cet aspect est spécifique dans le Syndrome de CREST et de la Sclérose systémique progressive.

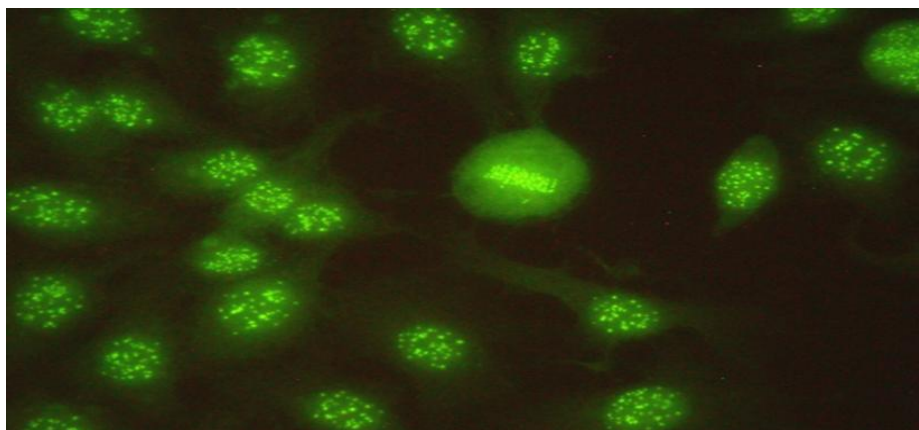


Figure 44 : AAN positif d'aspect centromère avec mitose positive X40
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunité -INH).

*La figure 45 présente un aspect fluorescence nucléolaire se reconnaît par un marquage de fluorescence homogène de nucléole avec présence d'anticorps anti-topoisomérase 1 ou anti fibrillaire ou anticorps Scl70 ou anti-Pm/Scl associé aux syndromes chevauchants de sclérodémie et de polymyosite/dermatomyosite.

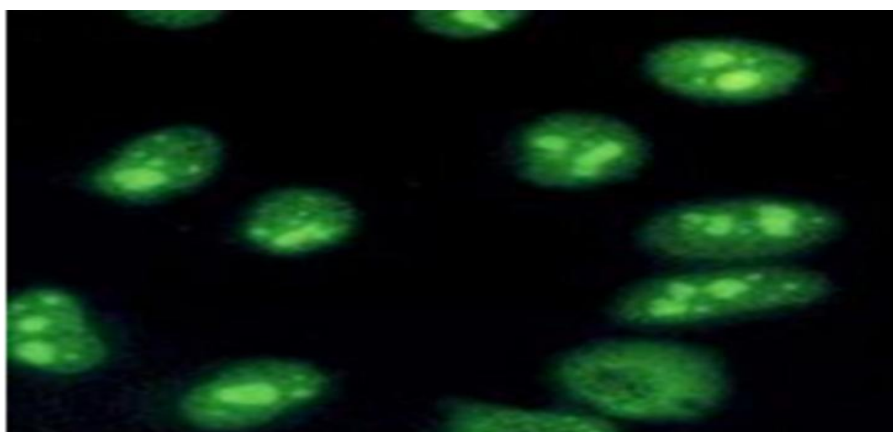


Figure 45 : AAN positif d'aspect nucléolaire avec mitose positive X40
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunité -INH).

*La figure 46 présente un aspect positif anti membrane nucléaire se reconnaît par un marquage de fluorescence linéaire de la membrane nucléaire et fluorescence de noyau avec un fond faible homogène. Cet aspect est spécifique dans l'hépatite chronique auto-immune, sclérodémie et lupus.

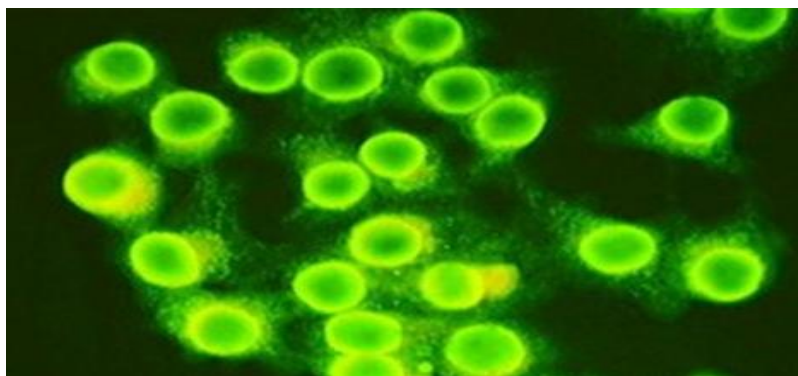


Figure 46 : AAN positif d'aspect anti membrane nucléaire X40
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunités -INH).

*La figure 47 présente un aspect de fluorescence cytoplasmique qui marque un noyau négatif sur les cellules Hep2 et une fluorescence cytoplasmique (cet aspect doit être confirmé par les anticorps anti tissu).

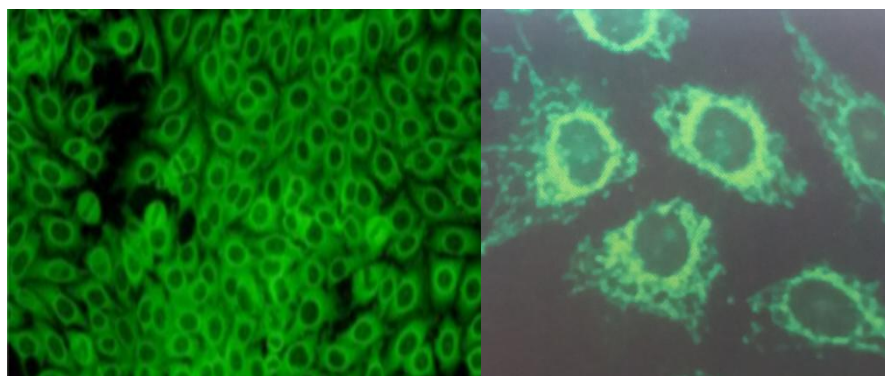


Figure 47 : AAN positif avec un aspect cytoplasmique X20 et X40
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunités -INH).

Remarque : dans le cas où aucun marquage spécifique n'est observé, le résultat est considéré comme négatif. Aucune fluorescence n'est apparue au niveau du noyau et du cytoplasme.

I.2.Lecture des lames des Ac anti-ADN natif sur un substrat de crithidia luciliae

Les résultats de détection d'anticorps anti-DNA natif positifs dans l'échantillon à analyser pour une dilution au 1/5 qui est visualisé par le microscope de fluorescence sur un substrat de crithidia luciliae donne cette image (figure 48) .

*La figure 48 représente les résultats de détection d'anticorps anti-ADN natif chez un patient, qui indique un marquage de fluorescence homogène du kinétoplaste (Goetz, 2005). Les anti-ADN sont retrouvés spécifiquement dans le Lupus.

Remarque : Dans le cas où aucun marquage de kinétoplaste n'est observé, le résultat est considéré comme négatif. Et aussi une fluorescence apparue au niveau de la base de flagelle est considéré négative.

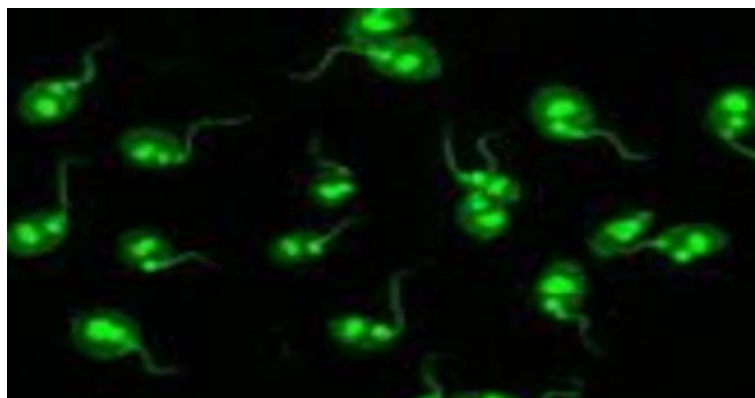


Figure 48 : Aspect anti-ADN positive avec marquage de fluorescence au niveau de kinétoplaste X40 (Photo au niveau du laboratoire Auto-immunités -INH).

I.3. Lecture des lames des anticorps (ANCA) : C-ANCA et P-ANCA sur substrat de polynucléaires

Les résultats de la détection des ANCA dans l'échantillon à analyser pour une dilution au 1/40 qui est visualisé par le microscope de fluorescence, présentent deux types d'aspect de fluorescence correspondant à deux anticorps dirigés contre deux cibles antigéniques différentes sur les lames ANCA fixés à l'éthanol.

*La figure 49a montre un aspect C-ANCA reconnue par une fluorescence cytoplasmique finement granulaire ou occupant la totalité du cytoplasme et faite de grains bien visibles, séparés les uns des autres, correspond à des anticorps dirigés contre la protéinase 3.

*La figure 49b présente un aspect P-ANCA reconnue par une fluorescence périnucléaire ou condensée autour du noyau, d'aspect homogène plus ou moins large correspond à des anticorps dirigés contre la myéloperoxydase (MPO).

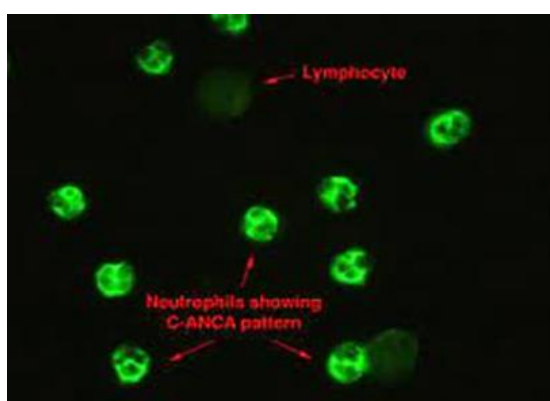


Figure 49a : C-ANCA positive avec fluorescence Cytoplasmique de polynucléaire X40 (Humbel RL, 1997).

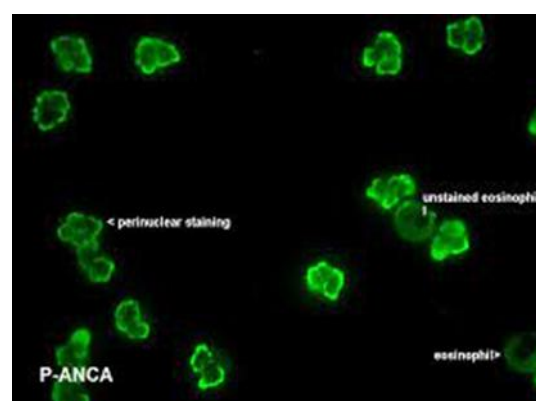


Figure 49b : P-ANCA positive avec fluorescence Périnucléaire X40 (Humbel RL, 1997).

Remarque : A côté de ces deux aspects classiques, les plus importants pour le clinicien, d'autres types peuvent être observés :

- Les X-ANCA (atypical ANCA) caractérisés par une fluorescence périnucléaire et spécifique de la maladie MICI, maladie de crhon.

- Les GS-ANCA (aspect nucléaire) se traduisent par un marquage homogène des noyaux des polynucléaires. Ces anticorps peuvent correspondre à des anticorps anti-nucléaires.

Remarque : Dans le cas où aucune fluorescence spécifique sur les polynucléaires n'est observé, le résultat est considéré comme négatif.

I.4. Lecture des lames des anticorps anti tissu sur substrat des coupes rein- foie-estomac de rat (triple substrat)

Les résultats de détection des anticorps anti tissu positifs dans l'échantillon à analyser pour une dilution au 1/40 qui est visualisé par le microscope de fluorescence, sur le triple substrat indique plusieurs aspects fluorescents.

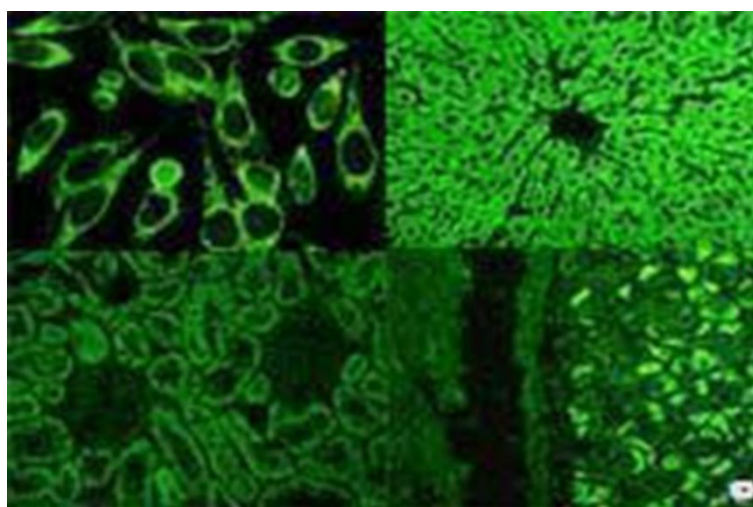


Figure 50 : Aspect positif anti mitochondrie (M2) sur triple substrat et sur les cellules Hep2 X40 (Photo au niveau du laboratoire Auto-immunités -INH).

*La figure 50 montre un aspect anti-mitochondries (AMA ou type M2) avec une fluorescence au niveau du :

- *Rein : Marquage granulaire des tubules distaux : D (distaux) > P1 (proximaux1) > P2 (proximaux2) > P3 (proximaux3).

- *Estomac : marquage des cellules pariétales et quelque gros grains dans les cellules principales.

*Foie (rat/souris) : Marquage granulaire du cytoplasme des hépatocyte. Ce type de fluorescence est un indicateur de la Cirrhose Biliaire Primitive.

*La figure 51 présente un aspect anti-muscle lisse (AMSA) reconnue par une fluorescence au niveau du :

*Estomac : marquage homogène des fibres musculaires de la musculeuse et de la muscularis mucosae.

*Rein : Fluorescence du glomérule et spicules péri-tubulaire (donnant un aspect d'épines très caractéristique).

*Foie : Fluorescence en nid d'abeille + ou – marquée.

Marquage des parois musculaires des vaisseaux sanguins au niveau des 3 organes.

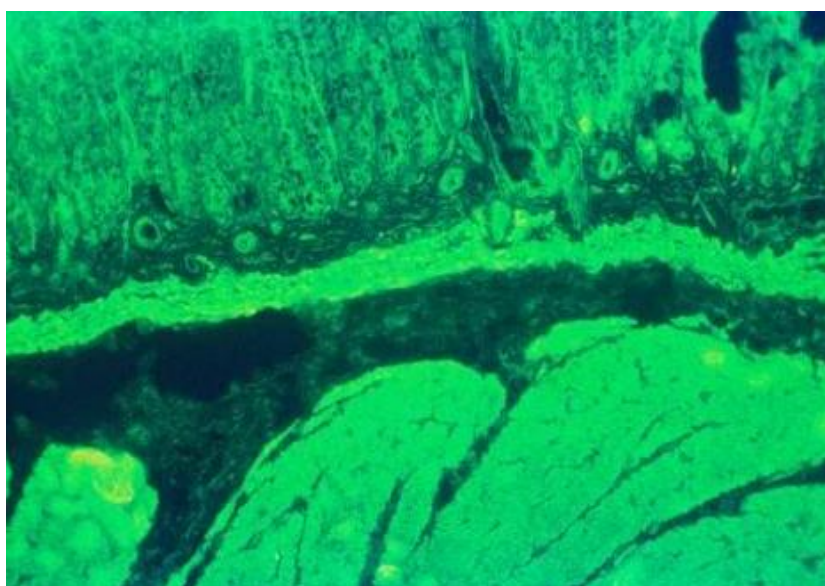


Figure 51 : Aspect positif des anticorps anti-muscle lisse (ASMA) sur triple substrat X40
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunité-INH).

Les anticorps anti-muscle lisse constituent une famille d'anticorps dirigés contre plusieurs variétés de protéines du cytosquelette. Cependant, ils réagissent avec l'actine présentant un intérêt diagnostique. Ils sont des marqueurs pour le diagnostic de l'hépatite auto-immune de type 1 et des hépatites médicamenteuses.

*La figure 52 montre un aspect anti-cellules pariétales (ACPA) reconnue par une fluorescence au niveau des cellules pariétales de l'estomac.

*Estomac : fluorescence en mottes du cytoplasme des cellules pariétales. Les anticorps anti-cellules pariétales gastriques sont associés à la gastrite auto-immune de type A (gastrite atrophique chronique) et à l'anémie pernicieuse de Biermer.

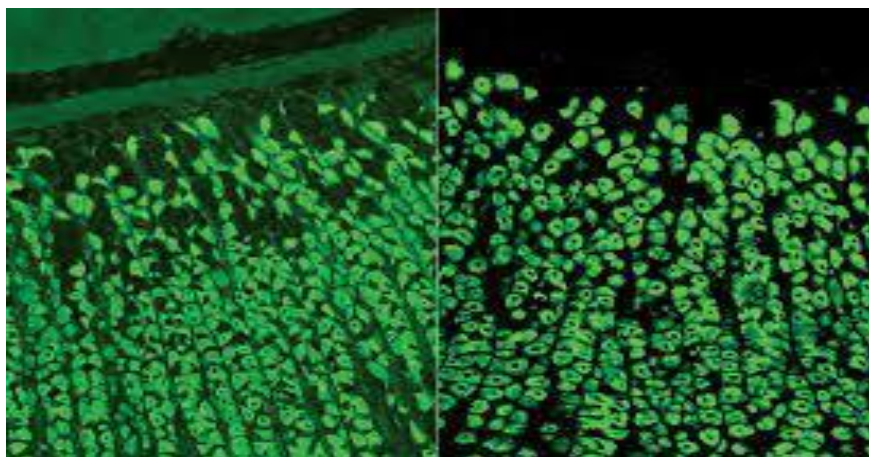


Figure 52 : Aspect positive des anticorps anti-cellule pariétale (ACPA) X40 et X10
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunité -INH).

Les anticorps anti réticulum endoplasmique (LKM 1)

*La Figure 53 montre un aspect anti-LKM1 reconnue par une fluorescence au niveau du triple substrat : * Rein : Marquage granulaire fine limitée au proximaux P3 (à la troisième portion) et les tubules distaux sont négatifs.

* Estomac : Fluorescence négative.

* Foie : Fluorescence très forte laquée de l'ensemble des hépatocytes.

Ils sont retrouvés dans le diagnostic de l'hépatite auto-immune 2 (HAI type 2)

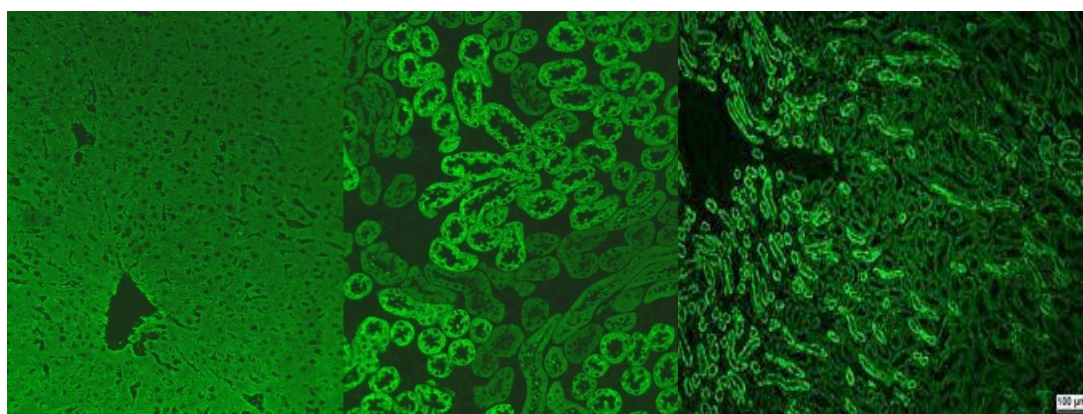


Figure 53 : Aspect positive de LKM1 sur triple substrat de rat X 40 et X 10
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunité -INH).

*La figure 54 présente un aspect anti- cytosol de type 1 (LC1) reconnue par une fluorescence cytoplasmique du foie épargne les hépatocytes au tour des veines centrolobulaires, donnant une fluorescence très particulier avec des ombres long de ces veines. Il n'y a pas de marquage au niveau du rein et de l'estomac. Ce sont des marqueurs de l'hépatite auto-immune type 2 (HAI 2).

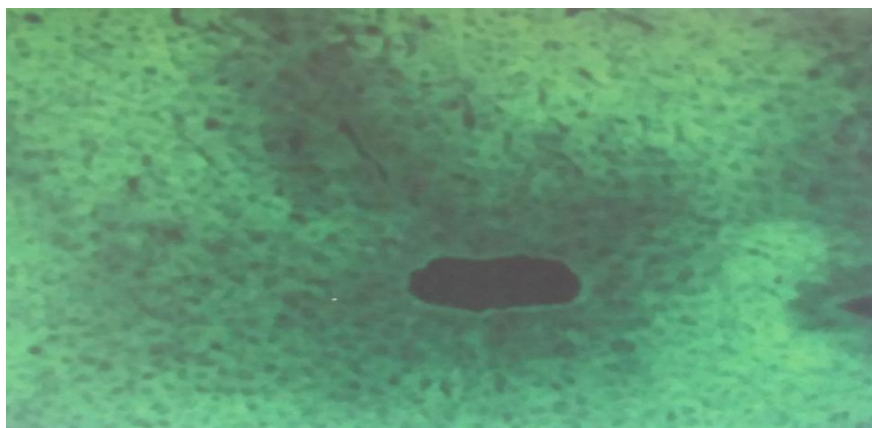


Figure 54 : Aspect positive anti cytosol de type 1(LC1) sur triple substrat de rat X40
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunité -INH).

I.5. Lecture des lames des anti-endomysium IgA (EmA IgA) sur le substrat d'œsophage de rat

Les résultats de la détection des EmA IgA positifs dans l'échantillon à analyser pour une dilution au 1/10 qui est visualisé par le microscope de fluorescence sur un substrat d'œsophage de rat.

*La figure 55 présente un aspect anti-endomysium positive se reconnaît par une fluorescence en rayon de miel du muscle lisse (muscularis mucosae) adjacent à l'épithélium de l'œsophage, réalisant un réseau de mailles fines et régulière autour des myofibrilles.

La recherche des EmA est négative si l'aspect de fluorescence spécifique sur les muscularis Mucosae est absent.

Ces anticorps sont retrouvés dans le diagnostic de la maladie cœliaque qui est une affection liée à une rupture de la tolérance au gluten ou dans les formes frustes, cliniquement silencieuses qui peuvent s'observer chez l'adulte.

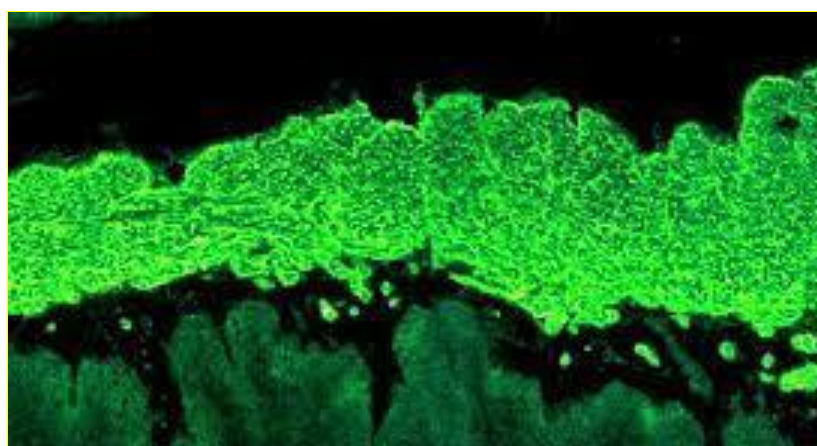


Figure 55 : Aspect positive des anticorps anti-endomysium (EmA) x40
(Photo au niveau du laboratoire Auto-immunité -INH).

II. Article 1: Prevalence of autoimmune diseases and clinical significance of autoantibody profile: Data from National Institute of Hygiene in Rabat, Morocco

Human Immunology 80 (2019) 523–532

Contexte

Le but de ce travail est d'explorer la prévalence de différentes maladies auto-immunes (MAI) dans une large cohorte de patients avec suspicion de maladie auto-immune afin de confirmer le diagnostic et d'enrichir les bases de données marocaines et montrer la valeur diagnostique des auto-anticorps dans ces maladies.

Seulement les 944/3182 (29,7%) patients ont été diagnostiqués avec suspicion des maladies auto-immunes. Nous avons constaté que la prévalence du lupus érythémateux systémique (LES), de malabsorption intestinale (MI) et de polyarthralgie arthritique (PA) étaient les plus élevée (4,2, 4,1 et 4%) dans notre étude, suivie de polyarthrite rhumatoïde (PR) (2,8%), du syndrome cholestatique (SC) (1,8%), de pneumopathie interstitiel (PI) (1,6%), de sclérodermie systémique (ScS) et de l'hépatite C chronique (VHC) (1,4 %), de maladie cœliaque (MC) (1,3 %), de vascularites associés à ANCA (VAA) (1,2 %), de maladie du tissu conjonctif mixte (MCTD) (1%), de l'hépatite auto-immune (HAI) (0,8 %), de thrombocytopénie (Tb) (0,6 %), de l'insuffisance rénale (IR) et de dermatomyosite (DM) (0,53 %), de l'Anémie de Biermer /carence en vitamine B12 (AB/def vit B12), et de thyroïdite auto immune (TAI) (0,4 %), Anémie hémolytique (AH), cirrhose biliaire primitive (CBP) et le diabète type1 (D type 1) (0,4 %), de neuropathie (NB) (0,2 %), de cholangite sclérosante primitive (CSP) (0,1).

Chez les femmes, les prévalences les plus élevées étaient (5,4%, 5,3% et 4,9% respectivement) chez MI, PA et LES, tandis que chez les hommes, la prévalence était la plus élevée (1,9 %) chez LES suivi de MC et MI (1,7 %), PI et SC (1,58 %).

La distribution de suspicion MAI par les tranche d'âge montre que les patients atteints de LES, ScS, MCTD, Tb, IR, DM, HA, MI, MC, avaient des tranches d'âge entre < 18 à 30 ans sont plus jeune que chez les patients atteints de PA, PR, VAA, pSS, SC, HCV, avaient des tranches d'âge entre 41 à 50 ans. Les tranches d'âge entre 50 à 60 ans ont été observées chez PI et TAI. Les tranches d'âge les plus affectés étaient celles de leur âge > 60 ans.

Concernant le profil immunologique , nous avons constaté que la fréquence des ANA a été détectés chez 34,2% (1089/3182), anti-ADN chez 17,2%, anti-ENA chez 8,05%, anti APL: β 2 Glycoprotéine1 et ANCA chez 3%, anti-CCP2 chez 4,9%, AMA chez 2,8%, AMSA chez 2,2%, ACPA chez 2,2%, anti LKM1 chez 2,2%, anti-EmA IgA chez 3,8%, anti AGA IgA chez 5,4%, anti-tTG IgA chez 9,8% et anti- TPO à 1,3%.

De plus, les AAN ont été présents de 100 % chez NP , de 88,8 % chez AH, de 82 % chez pSS, 80 % chez DM, 78,3 % chez ScS, 77,8 % chez Tb, 75 % chez PA, 71% chez VAA, 68,8% chez IR , 63,% chez LES, 62% chez MCTD et des patients traités par l'hépatite C chronique (VHC) , 60% chez HAI, 57% chez PR, 50% chez CSP, 8 % chez SC , 44 % chez PI, 25 % chez CPB et diabète type 1 et 1,7 % chez MC et AB/def vit B12. La prévalence des anticorps anti-ADNdb a montré une fréquence élevée de 16,2 % chez le LES, suivi par IR 6,3 %, Tb 5,6 % .etc.

Nous avons analysé 65 patients étudiés pour la recherche des antigènes extractible nucléaire (ENA) et nous avons montré que les anticorps anti-SSA ont été détectés chez 32 (49%) patients, les anticorps anti-Sm étaient positifs chez 14 (22 %) patients, anti-Scl-70 chez 10 (15 %) patients ; anti-SSB chez 5 (8%) patients, anti-Sm/RNP et anti jo-1 chez 2 (3%) patients. Nous avons constaté que les anticorps anti-SSA et anti-Sm ont montré les spécificités les plus élevées chez les patients atteints de LES (52 % et 48 %). Les anticorps anti-Scl-70 étaient également le plus souvent présents chez les patients ScS (80%). Les anticorps anti-SSA ont également été retrouvés le plus souvent dans la PA (60 %), chez les patients atteints de PR et de PI (50 %). De plus, les anti-SSA et les anticorps anti-SSB ont montré une haute spécificité pour les patients pSS (67% et 17%).

D'autres autoanticorps sont relativement spécifiques à certaines maladies, telles que β 2 Glycoprotéine1 a été détecté chez les patients atteints de Tb, MCTD et LES (16,7 %, 6,3 %, 4,3 %). La prévalence des ANCA a été détectée 50 % chez CSP, 25,6 % chez VAA, 22 % chez PI et 18,8 % chez IR. La prévalence des anticorps anti-CCP2 a été détectée chez PR, PI et PA de (28,9 %, 24 % et 14,8 %).

Concernant les anticorps anti-hépatiques, nous avons constaté que la prévalence des anticorps anti mitochondrie (AMA) était plus élevée chez les patients atteints de CBP et de CS (50 % et 17,2 %), mais la prévalence était faible chez les patients AB/def vit B12 et HAI (7,7 % et 4,4 %). La prévalence des anticorps anti-muscle lisse (ASMA) était plus élevée chez CBP, chez les patients traités pour le VHC et chez les patients atteints d'HAI (25 %, 22,2 % et 20 %), mais la prévalence était faible chez les patients atteints de CS, chez Diabète type 1 et

chez la MC (13,8 %, 12,8 % et 4,8 %). La prévalence des anticorps anti-cellule pariétale (ACPA) étaient plus élevés chez les patients atteints d'anémie de Biermer présentant un déficit en vitamine B12 (BA/Def vit B12) (84,6 %). La prévalence des anticorps anti LKM1 a été détectée chez les patients SC et chez les patients traités pour VHC (3,2% et 2,2%). La prévalence des anticorps anti-LC1 aucun patient n'a été détecté.

La prévalence des anticorps anti-endomysium IgA (EMA), anticorps anti transglutaminase (tTG IgA/IgG) et anticorps anti gliadine IgA/ IgG (AGA IgA/ IgG était plus élevée chez les patients atteint de MI (13,4 %, 52,2 % et 31,3 %) et chez les patients atteint de maladie cœliaque (MC) (8,0 %,50 % et 28,6 %). Alors que la prévalence des anticorps anti-TPO étaient le plus souvent présents chez les patients TAI (92,3 %), chez les patients de D type 1 (12,5 %), mais la prévalence était faible .Cette étude a également montré une forte corrélation significative entre ces MAI et la détection des auto-anticorps.



Contents lists available at ScienceDirect

Human Immunology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/humimm

Prevalence of autoimmune diseases and clinical significance of autoantibody profile: Data from National Institute of Hygiene in Rabat, Morocco

Hakima Missoum^{a,b,*}, Mohammed Alami^c, Fatema Bachir^d, Naima Arji^d, Abdelhakim Bouyahya^a, Mohammed Rhajaoui^d, Rajae El Aouad^e, Youssef Bakri^a

^a Laboratory of Human Pathologies Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, and Genomic Center of Human Pathologies, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University in Rabat, Morocco

^b Laboratory Autoimmunity, Department of Immunology, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco

^c Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, Faculty of Science, Mohammed V University, Rabat, Morocco

^d National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco

^e Hassan II Academy of Science and Technology Rabat, Morocco

ARTICLE INFO

Keywords:

Systemic autoimmune rheumatic diseases
Organ specific autoimmune diseases, auto
antibodies profile
Prevalence
Rabat

ABSTRACT

Aim: The objective of this study was to explore the prevalence of various autoimmune diseases (AIDs) in a large cohort of patients and to characterize the autoantibody profile in the patients with and without AIDs to confirm the diagnosis and to refine the Moroccan databases.

Patients and method: Retrospective study was conducted in the Laboratory of autoimmunity National Institute of Hygiene (NIH) of Rabat in Morocco. A total of 3182 consecutive Moroccan patients (2183 females and 999 males) whose sera were tested for 14 autoantibody profile between 2010 and 2016.

Results: Only 944 (29.7%) patients were diagnosed with AIDs of those suspected. The prevalence of systemic lupus erythematosus (SLE), intestinal malabsorption (IM) and arthritis polyarthralgia (AP) were the highest (4.2, 4.1 and 4%), subsequently followed by rheumatoid arthritis (RA) (2.8%), cholestatic syndrome (CS) (1.8%), interstitial lung disease (ILD) (1.6%). In females IM, AP and SLE also showed the highest prevalence (5.4%, 5.3% and 4.9% respectively), while of male, SLE showed the highest prevalence (1.9%). The prevalence of ANA was increased in most patients with systemic especially in neuropathy (NP), hemolytic anemia (HA), primary Sjogren's syndrome (pSS), dermatomyositis (DM), thrombocytopenia (Tb), systemic sclerosis (SSc), ANCA-associated vasculitis (AAV), AP, Renal impairment (RI), SLE, and mixed connective tissue disease (MCTD). Anti-dsDNA antibodies were higher in SLE and ENA showed the highest titers in MCTD. Others are relatively specific for certain disease, such as anti β_2 GP1 for thrombosis syndrome, anti ANCA for primary sclerosing cholangitis (PSC), AAV, ILD and RI, anti CCP2 for RA, ILD and AP. the prevalence of anti AMA was higher in primary biliary cirrhosis (PBC), followed in CS, also, ANA have been identified in up to 25% of patients with primary biliary cirrhosis. The prevalence of anti-SMA was higher in PBC, treated patients for Chronic hepatitis C (HCV), and autoimmune hepatitis (AIH) and anti-PCA was higher in biemer anemia patients with vitamin B12 deficiency (BA/Def vit B12). The prevalence of IgA EMA, IgA tTG and IgA AGA were higher in patients IM and celiac disease (CD). The prevalence of anti thyroperoxidase (TPO) was significantly increased in the autoimmune thyroiditis (AIT).

Conclusion: Our study shows the diagnostic value of auto antibodies in AIDs. It would be interesting to carry out prospective studies on each pathology separately, in order to fill the classic vagaries of the retrospective study and objectively estimate the prevalence in different AIDs. These data on the prevalence of each autoimmune disease are valuable for the public health system.

1. Introduction

Autoimmune diseases (AIDs) include a wide variety of illnesses

targeting many sites in the body. These diseases translate the rupture of the immune tolerance against antigens of the self, which attack and damage the body's own tissues, organs and cells [1]. To date, the

* Corresponding author at: Laboratory of Human Pathologies Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, and Genomic Center of Human Pathologies, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University in Rabat, Morocco.

E-mail address: hkmmissoum@yahoo.fr (H. Missoum).

<https://doi.org/10.1016/j.humimm.2019.02.012>

Received 13 December 2018; Received in revised form 15 February 2019; Accepted 22 February 2019

0198-8859/© 2019 Published by Elsevier Inc. on behalf of American Society for Histocompatibility and Immunogenetics.

American autoimmune related disease association (AARDA) has classified more than 100 AIDs [2], making it the third most common type of disease in the United States [2]. And they represent an important health problem, affecting at least 5–10% of the world population [2–4], especially young adults, and women are more susceptible to these diseases than men [3–5]. Some of the AIDs are within the top 10 leading causes of death among women aged 65 and older [2,3].

Information on the prevalence of various diseases is insufficient, especially in countries out of Europe or North America [6]. There is epidemiological evidence of increased incidence and prevalence of certain AIDs in highly industrialized countries, which cannot be attributed to better diagnoses alone [3,4]. The incidence and prevalence of some AIDs appear to be increased in certain ethnic groups; for example, systemic lupus erythematosus (SLE), rheumatoid arthritis (RA), type 1 diabetes, psoriasis and celiac diseases are increased in African American, certain Native American, and Caucasian populations, respectively [2].

According to the clinical manifestation, AIDs may be classified as systemic (e.g. systemic lupus erythematosus (SLE), rheumatoid arthritis (RA), dermatomyositis (DM), mixed connective tissue disease (MCTD), etc) or as organ-specific (e.g. autoimmune thyroiditis (AIT), celiac disease (CD), etc). However, this clinically useful classification does not correspond to the underlying pathogenetic mechanisms [1]. Nevertheless, there is often overlap between these two groups. These diseases are characterized by the clinical appearance of inflammation, joint and muscle pain, fatigue, increased antibodies to the endocrine glands and other tissues, and connective tissue degradation. However, these AIDs are difficult to diagnose because they are not specifically symptomatic [7]. The complexity of their spectrum is enormous and although their etiology is still uncertain, it has been shown that genetic and environmental factors are involved in triggering the pathological mechanism [2]. It is mentioned a theory according to which the level of hygiene and sanitary conditions (e.g. drinking water, food, housing conditions, etc.) in a given country might have an impact on the development of AIDs [2].

AIDs can only be defined on a set of specific clinical and biological criteria, among which the autoantibody titer is fundamental. The search for autoantibody is important and useful serological immunological markers widely used as laboratory tools for the diagnosis and monitoring of AIDs [8]. The classification of certain AIDs is based on the presence or absence of the corresponding antibodies. They can also be predictive of risk factors or be a criterion of therapeutic follow-up [9]. In clinical practice, most sera from patients suspected of having AIDs are required by clinicians to be tested for AIDs diagnosis confirmation. However, the prevalence of AIDs remained virtually unknown in subjects with clinically suspected AIDs manifestations, although it has been widely studied in the general population worldwide [10,11].

The aim of this study is to explore the prevalence of various AIDs in a large cohort of patients with AIDs diagnosed symptoms and to characterize the autoantibody profile in the patients with and without AIDs for helping to confirm or exclude the diagnosis of this pathology and increasing the Moroccan databases.

2. Materials and methods

1. Patients

A total of 3182 consecutive Moroccan patients (2183 females and 999 males) from Rabat- Morocco were received by the laboratory autoimmunity of National Institute of Hygiene (NIH), given that the laboratory was the first perform autoimmunity tests since 20 years, it still receive the major patients from different Moroccan cities, for auto antibodies testing, including antinuclear antibodies (ANA), anti-deoxyribonucleic acid antibodies (dsDNA), anti extractable nuclear antigens antibodies (ENA), anti-phospholipides antibodies (APL β 2 Glycoprotéine1), anti-peptides cycliques citrullinés antibody (CCP2),

anti- Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA), Anti-mitochondries antibodies (AMA), anti smooth muscle antibodies (SMA), anti parietal cell antibodies (PCA), anti liver kidney microsome antibodies (LKM1), anti liver cytosol antibodies (LC1) anti-endomysium antibodies IgA (EMA), anti-gliadine antibodies (AGA) IgA, anti-transglutaminase antibodies (tTG) IgA and anti-thyropéroxydase antibodies (TPO), between 2010 and 2016. Serum samples were referred from the departments of rheumatology, nephrology, gastroenterology, dermatology, general internal medicine, neurology and oncology from the hospitals of the city of Rabat and its large region for the diagnosis and follow-up of AIDs.

All registration forms were carefully checked and patients who had no positivity for autoimmune markers were excluded. However, 3182 patients (2183 females and 999 males) with positive antibodies were identified and included in the study (22%).

In this study, AIDs included systemic lupus erythemateux (SLE), rheumatoid arthritis (RA), mixed connective tissue disease (MCTD), dermatomyositis (DM), primary Sjogren's syndrome (pSS), ANCA-associated vasculitis (AAV), systemic sclerosis (SSc), arthritis polyarthralgia (AP), Interstitial lung disease (ILD), Renal impairment (RI), thrombocytopenia (Tb), hemolytic anemia (HA), Neuropathie (NP), celiac disease (CD), intestinal malabsorption (IM), Cholestatic syndrome (CS), autoimmune hepatitis (AIH), treated patients Chronic hepatitis C (HCV), primary biliary cholangitis (PBC), biemer anemia/vitamin B12 deficiency (AB/def vit B12), type 1 diabetes (Type1D) and autoimmune thyroiditis (AIT).

2. Immunological tests

This study was carried out by the laboratory of autoimmunity of NIH using two techniques with PhD Bio-Rad automate:

1. Indirect immunofluorescence (IIF)

Antibodies were detected by IIF using Hep-2 cells (Bio-Rad Laboratories, CA) for ANA as highly sensitive substrates and rodent tissue sections (triple tissue testing) for AMA, SMA, PCA, LKM1 and LC1 (Bio-Rad Laboratories, CA), on crithidia luciliae-coated slides (Bio-Rad Laboratories, CA) for anti dsDNA antibody, on polynuclear neutrophil Cytoplasmic (Bio-Rad Laboratories, CA) for ANCA, on 1/3 oesophage of monkey (Bio-Rad Laboratories, CA) for EMA IgA.

2. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

The anti ENA antibodies profile was performed by ELISA (Bio-Rad Laboratories, CA), such as anti smit antibody (Sm), anti-ribonucleoprotein antibody RNP, anti- Ro antibody (SSA), anti-la antibody (SSB), anti- Jo1 antibody and anti- Scl-70 antibody and also tests for anti APL β 2 Glycoprotéine1, anti-CCP2, anti AGA IgA, anti tTG IgA and anti-TPO were done by ELISA (Bio-Rad Laboratories, CA).

Serum samples were processed in initial dilution of 1:160, 1:5, 1:20, 1:40, 1:10 and 1:101 for the detection of anti-ANA, anti-dsDNA, anti-ANCA, anti tissue (AMA, MSA, PCA, LKM1, LC1), anti-EMA IgA and anti-ENA, anti B2GP1, anti CCP2, anti-AGA IgA, anti-tTG IgA and anti-TPO antibodies respectively.

3. Statistical analysis

The different parameters of descriptive statistics and the structure analysis were performed using the data of diseases and corresponding auto-antibodies. The indices and standard deviations were calculated using XLSTAT Software [12]. Also, the correlation between Auto-Antibodies and Diseases was detected by 4 connection analyzes, the distribution of auto-antibodies to each disease, the principal component analysis (PCA), the factorial analysis of the correspondences (FAC) and finally, the correspondence factor analysis (CFA). These analyzes were also realized using XLSTAT Software [12].

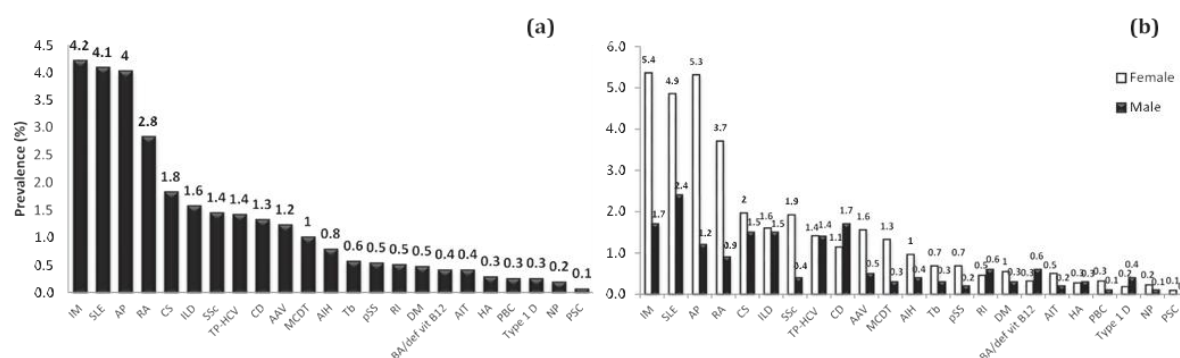


Fig. 1. Prevalence of various AIDs in patient cohort with suspected AIDs (a) and arrayed for sex (b).

3. Results

1. Prevalence of various AIDs

Of 3182 consecutive patients with 'suspected' AIDs, only 944 (29.7%) patients were diagnosed with AIDs and the remaining 2238 (70.3%) patients had non- AIDs. Of those with AIDs, the prevalence of SLE, IM and AP were highest (4.2, 4.1 and 4%), subsequently followed by RA (2.8%), CS (1.8%), ILD (1.6%), SSc and HCV (1.4%), CD (1.3%), AAV (1.2%), MCTD (1%), AIH (0.8%), Tb (0.6%), RI and DM (0.53%), BA/def Vit B12 and AIT (0.4%), HA, PBC and type 1 D (0.4%), NB (0.2%), CSP (0.1). Of female patients with AIDs, IM also showed the highest prevalence (5.4%), followed by AP (5.3%), SLE (4.9%), RA (3.7%), CS (2%), SSc (1.9%), ILD and AAV (1.6%), treated patients for HCV (1.4%), MCTD (1.3%), etc., while of male, SLE showed the highest prevalence (1.9%), followed by CD and IM (1.7%), ILD and CS (1.58%) (Fig. 1).

especially with regard to the age of patients with in particular as regards the age of patients with. Regarding the age of the patients with SLE, SSc, MCTD, Tb, RI, DM, HA, IM, CD, type 1 diabetes and AIH had the age groups mostly affected were of their age < 18 and 30 years (57%, 60%, 55%, 40%, 71%, 50%, 50%, 85%, 63% and 33.3% respectively) younger than patients with AP, RA, AAV, pSS, CS, HCV, whose the age groups mostly affected were of their age 41 and 50 years (27%, 20%, 25%, 33.3%, 54.5% and 50% respectively) for patients with ILD, the age groups mostly affected were of their age 50 and 60 years (50%) and patients in AIT. The age groups mostly affected were of their age > 60 years.

2. Immunological manifestations

In 3182 consecutive patients with 'suspected' AIDs, ANA were detected in 34.2% (1089/3182), anti-ds DNA in 17.2%, anti-ENA in 8.05%, anti APL: β 2 Glycoprotéine1 and ANCA in 3%, anti CCP2 in 4.9%, AMA in 2.8%, SMA in 2.2%, PCA in 2.2%, anti LKM1 in 2.2%, anti-EMA IgA in 3.8%, anti AGA IgA in 5.4%, anti-tTG IgA in 9.8% and anti-TPO in 1.3%.

Furthermore, ANA were present in 100% of NP patients, 88.8% of AIH patients, 80% of DM patients, 82% of pSS patients, 80% of DM patients, 78.3% of SSc patients, 77.8% of Tb patients, 75% of AP patients, 71% of ANCA patients, 68.8% of RI patients 63.3% of SLE patients, 62% of MCTD and treated patients for HCV, 60% of AIH patients, 57% in RA patients, 50% of PSC patients, 48% of CS patients, 44% of ILD patients, 25% of CPB and type 1 diabetes patients and 1.7% of CD and AB/def vit B12.

For anti-dsDNA showed the highest prevalence 16.2% in SLE, subsequently followed by RI 6.3%, Tb 5.6%, MCTD 3.1%, AAV 2.6%, RA 2.2%, CS 1.7% and AP 0.8%. Auto antibodies profile showed the highest prevalence in MCTD 28.1%, SSc 21.0%, Pss 17.6% and SLE 16.2%,

subsequently followed by ILD 8%, RA 6.7%, RI 6.3%, AP 3.2%, CD 2.4% and, CS 1.7%. The frequency of the components ENA profile autoantibodies detected in our suspected SAIDs patients is presented in Table 2. Of the total of 65 patients studied, anti- SSA antibodies were found in 32 (49%) patients, anti-Sm antibodies were positive in 14 (22%), anti- Scl-70 in 10 (15%) patients; anti-SSB in 5 (8%) patients, anti-Sm/RNP and anti jo-1 antibodies in 2 (3%) patients.

Of anti-ENA antibodies anti-SSA and anti-Sm antibodies showed the highest specificities for SLE patients (52% and 48%). Anti-Scl-70 were also most commonly present in SSc patients (80%). Anti-Sm and anti SSA antibodies were also detected in very low frequencies of SSc patients (10% and 10%). Anti SSA antibodies were also most commonly found in AP (60%), in RA and ILD patients (50%). Anti SSB and anti Sm antibodies were low frequency in AP patients (20% and 20%). Anti-SSB, anti Scl-70 and jo-1 antibodies were also low frequency in RA patients (17%, 17% and 17%). Anti-Sm and anti-Sm/RNP antibodies were also detected in ILD patients (25% and 25%). Anti-SSA and anti-SSB antibodies were most commonly present detected in DM patients (50% and 50%). Anti-SSA, anti-Sm, anti-SSB, anti- Sm/RNP, anti-Scl 70, and anti jo-1 antibodies were also most commonly present in MCTD patients (44%, 11%, 11%, 11%, 11% and 11%). Furthermore, anti- SSA and anti-SSB antibodies showed a high specificity for pSS patients (67% and 17%). we could not make an interpretation for these diseases RI, CD, Treated patients for HCV and HA because the number of patient was not enough for Anti-ENA antibodies.

Anti APL: β 2 Glycoprotéine1 was present in Tb, MCTD and SLE patients (16.7%, 6.3%, 4.3%), also detected in very low frequencies of RA, ILD and AP (2.2%, 2%, and 0.8%). ANCA were detected in 50% of CSP Patients, 25.6% of AAV, 22% of ILD and 18.8% of RI and were also detected in DM, AP, CS and, RA patients, but the prevalence was very low (< 10%). Anti CCP antibodies were most commonly present in RA, ILD and AP (28.9%, 24% 14.8%). Anti-liver antibodies, AMA antibodies were most commonly present in PBC and CS patients (50% and 17.2%), but the prevalence was low frequencies of BA/def vit B12 and AIH patients (7.7% and 4.4%). Anti SMA were also detected in PBC, treated patients for HCV and AIH patients (25%, 22.2% and 20%), they were also present in the prevalence low frequencies of CS, Type 1 D and CD patients (13.8%, 12.8% and 4.8%). Anti PCA was most commonly present in BA/def vit B12 patients (84.6%), also was detected in Type 1 D patient 12.3%, in CS, treated patients for HCV and AIH patients (8.9%, 8.6% and 8%), in AIT patients (7.7%) and in SLE and MCTD patients (0.8%). Anti LKM1 was detected in CS and treated patients for HCV patients (3.2% and 2.2%). Anti LC1 no patient was detected.

Anti EMA IgA antibodies were most commonly present in IM and Type 1 D patients (13.4%, 12.3%), in CD and AIH patients (8.0% and 7.1%), in CS patients (1.7%). Anti tTG IgA were also detected in IM and CD patients (52.2% and 50%), in Type 1 D patients (25%). Anti AGA IgA was detected in IM and CD (31.3% and 28.6%).

Anti TPO antibodies were most commonly present in AIT patients

Table 1
Comparisons of frequencies of various MAIs and serum autoantibody profile.

[illegible]

129

Table 1 (continued)

	CCP2 %	AMA %	MSA %	PCA %	LKM 1%	LC 1	EMA IgA %	tTG IgA %	AGA IgA %	TPO %
PCB	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0
D type	0	4	50	0	0	0	0	0	0	0
1 NP	0	0	13	1	0	0	13	2	0	1
PSC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Abbreviation: ANA: antinuclear antibodies; ds DNA: deoxyribonucleic acid antibodies; ENA: extractable nuclear antigens antibodies; APL (β_2 Glycoprotein1): phospholipids antibodies; CCP2: peptides cycliques citrullines antibodies; ANCA: Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies; AMA: Anti-mitochondria antibodies; SMA: smooth muscle antibodies; PCA: parietal cell antibodies; LKM1: type 1 liver kidney microsome antibodies; LC1: Liver anti cytosol antibody; EMA: endomysium antibodies; AGA: anti gliadine antibodies; tTG: transglutaminase antibodies; TPO: thyroperoxyase antibodies; SLE: systemic lupus erythemateu; RA: rheumatoid arthritis; MCTD: mixed connective tissue disease; pSS: primary Sjögren's syndrome; AAV: anti-neutrophil cytoplasmic antibodies associated vasculitis; SSC: systemic sclerosis; AP: arthritis poly-arthralgie; ILD: Interstitial lung disease; RI: Renal impairment; Tb: thrombocytopenia; HA: hemolytic anemia; NF: Neuropathie; CD: celiac diseases; IM: intestinal malabsorption; CS: Cholestatic syndrome; AIT: Autoimmune hepatitis; TP-HCV: Treated patient for Chronic hepatitis C; PBC: primary biliary cholangitis; PSC: primary sclerosing cholangitis; BA/def vit B12: bierner anemia/vitamin B₁₂ deficiency; Type1 D: type 1 diabetes; AIT: autoimmune thyroiditis.

(92.3%), in Type 1 D patients (12.5%), but the prevalence was low frequencies of treated patients for HCV (2.2%), in SLE and AP patients (0.8%) (Table 1).

3. Statistical analysis

1. Descriptive statistics

Table 3 represents a descriptive statistic of the Auto-Antibodies tested in our analysis

2. Correlation between Auto-Antibodies and diseases

Principal Component Analysis (PCA) was performed with a correlation matrix according to the Pearson correlation coefficient (n).

The Auto-Antibody distribution revealed a relationship between them in three groups; the first group includes the AMA, MSA, PCA, type 1 LKM1 and Auto-Antibodies while the second group contains the 3 Auto-Antibodies: EmA, IgA tTG and IgA AGA. The last group contains the other Auto-Antibodies (ANA, ds DNA, ENA, APL (β_2 GP1), CCP2, C-ANCA and P-ANCA). TPO did not represent any distributions (Fig. 2). Also, LC1 was not part of our correlation analysis because it was not detected in any patient in our study.

Correlation between Auto-Antibodies (variables) and Diseases (factors) showed a strong binding between the first group of Auto-Antibodies (AMA, MSA, PCA, and LKM1) and Cholestatic Syndrome (CS) while the second group (EmA, tTG IgA and AGA IgA) shows strong binding with intestinal malabsorption (IM) disease. Also, systemic lupus erythematosus (SLE) disease exhibits binding to autoantibodies (ANA, ds DNA, ENA and APL (β_2 GP1)) (Fig. 3) [13].

Since the calculated p-value is below the significance level ($p < 0.0001$; $\alpha = 0.05$), it can be concluded that there is a link between the auto-antibodies (variables) and the diseases (factors) which confirms the result of the Principal Component Analysis (PCA). Thus, the Correspondence Factor Analysis (CFA) result revealed a strong link between the thyroid autoimmune disease (AIT) and the TPO Autoantibody. This is also the case of the Principal Component Analysis (PCA), Auto-Antibody that has been linked to the diseases bierner anemia/deficiency vitamin B12 (BA/Def vit B12) and diabetes type 1 (D type 1) (Fig. 4).

4. Discussion

Autoimmune diseases are complex disorders caused by a combination of genetic susceptibility, level of hygiene and sanitary conditions and environmental factors (e.g. drinking water, food, housing conditions, etc.) [6,7,14-16].

This article contributes to the study of autoimmune diseases by defining the prevalence of the most common autoimmune diseases in a sample of the general population of Rabat area in Morocco. In fact, little is known about the prevalence of AIDs in Morocco.

Our retrospective study to the prevalence of suspected AIDs cases was evaluated to 29.7%, this percentage exceeds that of the literature which varies from 5% to 12.9% [4,6,13,14,17]. This high prevalence may be explained by a bias of AIDs clinical suspicion. Also, suggesting that suspected clinical manifestations of AIDs are confusing. In accordance with the literature [2], women from our series were more affected than men (82%).

Our series allowed to distinguish two clinical groups. The first group of patients with non-organ specific or systemic AIDs. Phenotype, the most frequent of these diseases were SLE, AP and RA, followed by, ILD, SSC, AAV, MCTD, Tb, pSS, RI, DM, HA and NB which range from 4.2% to 0.2% (Table 1). These frequencies were similar to those of the literature [4,13,18-20], however other studies showed lower frequencies [21]. Our study shows that the majority of systemic AIDs as occur in young patients aging 18-30 years old, with an exception for AP, RA, ILD, AAV and pSS where the patients were more than 30 years old. The prevalence of SLE is even higher in the juvenile suspected of systemic

Table 2

The components of anti-ENA antibodies in the patients with autoimmune diseases.

Autoantibodies tests	All	SLE	AP	RA	CS	ILD	SSc	Treated patients for HCV	CD	MCTD	pSS	RI	DM	HA
Anti-ENA test	256	83	20	24	4	16	39	4	4	35	12	4	8	4
Anti-ENA (+)	65	21	5	6	1	4	10	1	1	9	3	1	2	1
Anti-Sm (+)	14	10	1			1	1			1				
Anti-SSA (+)	32	11	3	3	1	2	1	1	1	4	2	1	1	1
Anti-SSB (+)	5		1	1						1	1		1	
Anti-RNP/Sm (+)	2					1				1				
Anti-Scl70 (+)	10			1			8			1				
Anti-Jo1 (+)	2			1						1				

ENA: extractable nuclear antigens antibodies; SLE: systemic lupus erythemateu; RA: rheumatoid arthritis; MCTD: mixed connective tissue disease; pSS: primary Sjogren's syndrome; SSc: systemic sclerosis; AP: arthritis polyarthralgie; ILD: Interstitial lung disease; RI: Renal impairment; HA: hemolytic anemia; CD: celiac diseases; CS: Cholestatic syndrome; TP-HCV: Treated patient for Chronic hepatitis C.

autoimmune rheumatic diseases (SARDs) than that in various adult groups compared to general population [20,23]. This result suggested that juvenile patients having clinical SLE manifestations need to be paid a closer attention than the adults. Our results are of an important help for the identification of a specific AIDs in certain age groups. Yet clinical features of this disease did not differ worldwide, their frequencies showed some discrepancies from a study to another [23]. This diversity could be explained by the geographic variation, environmental and socioeconomic factors which can likely play an important role in the manifestation of the disease [23], however a Chinese study showed similarities to our findings [24]. These estimates are probably due to signs and symptoms suggestive of systemic autoimmune disease as undifferentiated connective tissue diseases (UCTD) [25–27]. Rheumatologic signs also remains the predominant clinical manifestation in our present study. It occurs mainly in the form of arthritis polyarthralgia (AP) in 4% of our patients, a prevalence that is higher than reported in RA [24].

The second group of patients is that of those having organ specific autoimmune diseases. The most frequent of these diseases in our series were IM and CD (4.2% and 1.3% respectively). The CD patients showed atypical and uncomfortable symptoms in agreement with other reports [28]. This percentage exceeds that observed in the European and North American population (de 0.5–1%) [29–31], however similar frequencies were found in other population studies [29–32]. Despite considerable variations between the countries, celiac disease frequencies are high in Canada, Israel, Denmark and North African countries [33]. These observations point to an influence of environmental factors [33]. The reasons for this high frequency are not clear, but may be related to dietary and/or environmental changes and the diagnosis rate of celiac disease that has increased rapidly these last years. In fact, this phenomenon has been attributed to an increase in the prevalence of the disease and the development of non-invasive diagnostic tools [31]. Among the second group we have also noticed a high prevalence of autoimmune hepatopathies represented by CS (1.8%) and treated patients with HCV (1.4%), AIH (0.8%), BA/defVit B12, PBC and PSC were approximately similar to those reported in the literature [34]. Also in this group the prevalence of type 1 diabetes (type 1D) (0.4%), is similar to the values reported in the current literature for European countries [35] and Maghreb countries [36]. Similarly for prevalence AIT (0.4%), is slightly lower in other studies [37]. Regarding females, the prevalence of IM, AP, and SLE reaches 5.4%, 5.3% and 5% respectively (Fig. 1). In the order of the prevalence of various AIDs in this study, the most commonly seen in general population are RA and CD [19,22]. These prevalences are comparable to those reported in other studies [4,13,38,39].

Our data on the prevalence of each autoimmune disease are useful for the public health system as they provide an accurate assessment of the burden of each disease. The particular genetic background of the studied population suggests careful conclusions in regards with

generalizing these results. In all cases, these data provide an image of the relative burden of the diseases.

Regarding the immunological profiles in AIDs, the prevalence of ANA in our patients was high in most systemic AIDs (especially in NP, HA, pSS, DM, Tb, SSc, AAV, AP, RI, SLE, MCTD), these frequencies were similar to those reported in the literature [24,41,42]. This frequency of ANA could also be observed in organs specific AIDs like PSC, CS, ILD, AIH, PBC, but not in AIT and IM. The presence of ANA should lead to the search for antibodies of specificity defined according to the fluorescence detection and the disease suspicion [9,41,43].

Anti-DNA and antigen-specific antibodies (ENA profile) are considered as biomarkers of systemic active autoimmune disease, and their presence may reflect the severity of such pathology. For anti-dsDNA antibodies, we have found higher frequency in SLE than in the others AIDs. This could be explained by the specificity of autoantibodies for SLE however the presence of anti dsDNA antibodies varies considerably depending on the country and ethnicity [44,46]. This frequency is lower than found in literature (Kuwait, Dubai, Tunisia, China) [44]. It should be noted that the ENA profile has been mentioned in systemic AIDs because more specific antibodies confirm the suspected disease [24,42]. In our study, ENA profiles are relatively specific for certain diseases such as anti-Sm and anti-SSA antibodies for SLE, Anti-Scl 70 for SSc, Anti SSA for AP, RA, ILD and MCTD, Anti-SSA and anti-SSB for DM and Pss. however similar frequencies were found in other population studies [24,45,46]. Moreover, our results have made it possible to correct the diagnosis in 1/3 or 3/4 of cases, but the fact that it has been given the specificity of auto-antibodies. Of note, conventional ENA profile appears to be of no significance for RI, CD, Treated patients for HCV and HA, since ANA and any anti-ENA were rarely if ever seen in these AIDs in this study (Table 2).

Nevertheless, the autoantibody assessment has become an integral part of the differential diagnosis. The results of serologic tests for autoantibody, including tests for ANA, ENA and ds DNA, may hence be a cornerstone for the diagnostics of systemic rheumatic diseases, and ruling out misleading pathologies during differential and early diagnosis [40,44]. Others are relatively specific for certain disease, such as anti B2GP1 for thrombosis syndrome, anti ANCA for PSC, AAV, ILD and RI, anti CCP for RA, ILD and AP. In our study, the result shows a correlation between autoantibodies (ANA, dsDNA, ENA and APL (b2GP1) with systemic lupus erythematosus (SLE) (Fig. 2), these results are similar in the literature [13].

Regarding immunological markers in liver disease, our study shows that the prevalence of anti-SMA was higher in PBC, patients treated for HCV, and AIH, followed by CS. ANA have also been identified in this disease (Table 1), this percentage are similar in the literature [47,48]. ANA and/or anti-smooth muscle antibodies (SMA) are the common diagnostic markers of AIH type I [43]. The auto antibodies in autoimmune hepatitis (AIH) are extensively used for its diagnosis and classification. However, they are also useful for defining the prognosis

Table 3
Descriptive Analysis of Auto-Antibodies.

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Average	Standard Deviation
ANA %	22	0.000	96.000	22.182	25.693
ds DNA %	22	0.000	21.000	1.409	4.426
ENA %	22	0.000	21.000	3.136	4.960
APL (β -GP) ₂ %	22	0.000	4.000	0.591	1.141
C-ANCA %	22	0.000	10.000	1.455	2.972
P-ANCA %	22	0.000	1.000	0.045	0.213
CCP ₂ %	22	0.000	26.000	2.591	7.015
AMA %	22	0.000	10.000	0.727	2.251
MSA %	22	0.000	8.000	0.955	2.035
PCA %	22	0.000	5.000	0.500	1.144
LKM ₁ %	22	0.000	2.000	0.091	0.426
EMA IgA %	22	0.000	18.000	1.136	3.846
tTG IgA %	22	0.000	74.000	4.409	16.174
AGA IgA %	22	0.000	42.000	2.455	9.195
TPO %	22	0.000	12.000	0.818	2.594

Abbreviation: ANA: antinuclear antibodies; ds DNA: deoxyribonucleic acid antibodies; ENA: extractable nuclear antigens antibodies; APL (β 2 Glycoprotéine1): phospholipides antibodies; CCP₂: peptides cycliques citrullines antibodies; ANCA: Anti-neutrophil cytoplasmic antibody; AMA: Anti-mitochondria antibodies; SMA: smooth muscle antibodies; PCA: parietal cell antibodies; LKM₁: type 1 liver kidney microsome antibodies; LC₁: Liver anti cytosol antibody; EMA: endomysium antibodies; AGA: anti gliadin antibodies. tTG: transglutaminase antibodies; TPO: thyropéroxydase antibodies.

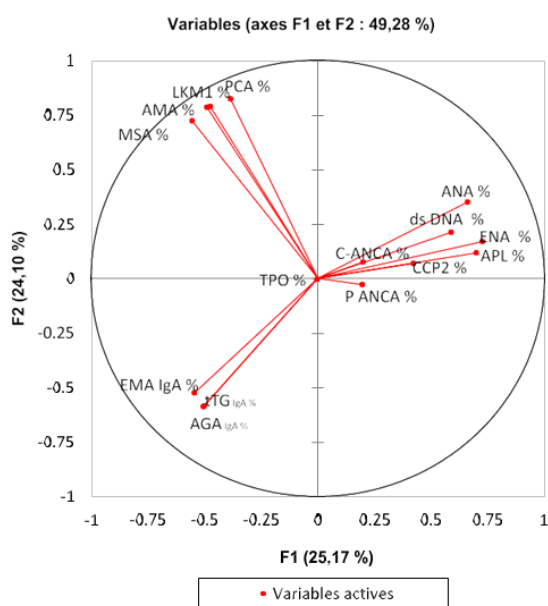


Fig. 2. Distribution of Auto-Antibodies.

and inferring clinical behavior [43]. Females (84.04%) accounted for the majority of patients with autoimmune liver diseases, which is in accordance with the literature [49]. When AIH is suspected, the presence of one or a combination of anti-ANA, anti-SMA, anti-LKM-1 and pANCA antibodies is useful for the often difficulties in differential diagnosis between HAI and other liver disorders [43]. When these markers are absent, other secondary antibodies, such as anti-soluble liver/pancreas antigen (anti-SLA/LP) and liver cytosol type 1 (anti-LC1), should be used [45]. For anti AMA₂ the frequency was high in PBC, followed by CS, also, ANA have been identified in up to 25% of patients with PBC (Table 1). This prevalence was lower as compared to the

literature [51,52]. Moreover these auto antibodies are specific in the diagnosis of PBC. The characteristics of PBC can occur in the AIH, most often with overlapping syndromes [51]. In our series, PCA prevalence was high in biemer anemia patients with vitamin B12 deficiency (BA/Def vit B12) (84.6%). This prevalence is similar to the literature [52]. Nevertheless, anti PCA are predictors of autoimmune gastritis, as well as predictive markers of subsequent metabolic and hematologic manifestations [53]. Autoimmune atrophic gastritis may manifest as vitamin B12 deficiency, pernicious anemia or iron deficiency anemia [52]. In fact anti PCA markers are more common in people with anemia and the prevalence of Biermer disease accounts for more than 70% of vitamin B12 deficiencies [54] and 86% of B12 deficiencies in a Tunisian series [55]. Also we found anti PCA observed in type 1 D, PBC, AIH, CS and in AIT this is in line with the literature [56,57].

In our study the association of these AIDs and anti PCA markers is not uncommon where the interests of its systematic screening in these diseases. Statistical analysis good correlation between AIT, D type 1 and PCA (Fig. 3). The prevalence of anti LKM₁ was lower in CS and HCV treated patients, this frequency was in line with the literature [43]. The detection of anti LKM₁ in chronic hepatitis C seems to indicate an increased risk of exacerbation of the disease. In our study, auto-antibodies (PCA, LKM₁, AMA and MSA) and Cholestatic Syndrome (CS) showed a high correlation (Fig. 3) these was also similarly reported in the literature [43].

Our results concerning the prevalence, we found that IgA EMA, IgA tTG and IgA AGA antibodies in IM and CD patients were very high as also reported in the different studies they constituted relatively frequent autoantibodies in CD and various symptoms of IM [58]. Moreover the prevalence of CD varies depending on the geography. In Europe the serological prevalence of tTG varies between 1.20 and 1.56% for EMA 0.78 et 1.88% [59]. In Nord Africa and occidental Sahara, the prevalence of EMA IgA varies between 0.64% et 5.66% and for tTG IgA was 2.21% [50,51]. These variations in the prevalence of CD as reported in different parts of the world may be explained by environmental factors between different populations and ethnicities and variable distribution of DQ alleles predisposing to CD. Therefore, we could propose that the high frequency of CD among the Moroccan population could be due to a high consumption of cereals (most staple foods in the Moroccan community contain wheat, rye or barley) and the frequent presence of predisposing HLA-haplotypes for CD, it has in fact been showed that HLA-DQ2 and DQ8 and conventional HLA-DQ have good associations with CD among Moroccans population [60]. The high frequency of homozygosity DQ2.5 (45.2%) observed in Moroccans with CD was significant compared to other populations (23% -32%) [61]. In addition, serological screening for CD in patients with symptoms or conditions closely associated with CD increases also the frequency of this disease [35,52]. One explanation is that in more recent years, the increasing use of serological tests to make the diagnosis of CD has resulted in milder cases being diagnosed who have reduced mortality risk. In our study, statistical analysis of the results showed a good correlation between auto-antibodies (tTG IgA, EMA IgA and AGA IgA) and CD (Fig. 3), these results are similar to those in the literature [62]. Also, we found that patients with AIH and CS (8.0% and 1.7%) were positive for EMA antibodies, this is in line with previous studies [63]. Three of 47 patients with AIH (6.4%) were positive for IgA anti-tTG and EMA antibodies, and were subsequently confirmed to have CD and in Italy a prevalence of 4.9% [63]. For this reason, early serological screening for CD is strongly recommended for all patients with AIH. Also we found seroprevalence of anti-tTG IgA and EMA IgA of 25% and 12.5% respectively in diabetic patients of type 1. This situation is almost similar to data from a Moroccan study that shows a prevalence of 29% [64]. In Europe and America, it varies between 3.6% and 13.4% [65] and in the Maghreb countries the prevalence is significantly higher and ranges between 4 and 16% [66]. These variations are probably due to the use of serological screening tests that allowed the diagnosis of silent forms and symptomatic pauci.

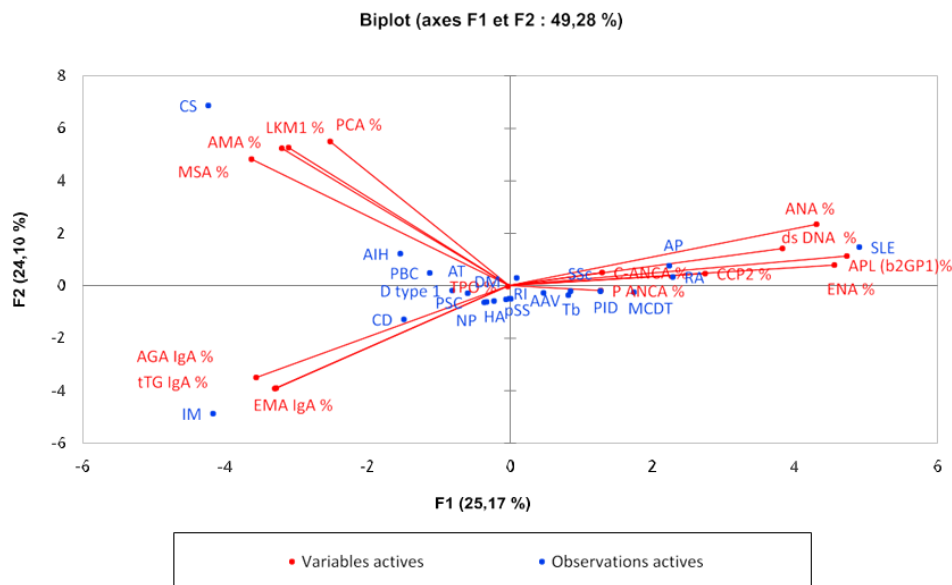


Fig. 3. Principal Component Analysis between different Auto-Antibodies and diseases.

In Morocco, we found no prevalence or multicenter studies. In our study, the association of type 1 diabetes with biological markers of CD is not uncommon, hence the value of its systematic screening in patients with type 1 diabetes. The diagnosis of this atypical and silent form of CD is important because of the risk of serious complications such as malabsorption and digestive cancers. During the autoimmune thyroid (AIT), the frequency of anti thyroperoxidase (TPO) was 92.3% which are considered to have an excellent diagnostic value [67], its presence constitutes a risk factor for developing such pathology or to develop hypothyroidism under interferon/interleukin 2 or lithium [67]. There is a strong correlation between this pathology, detected by anti-PCA antibodies, of 7.7% frequency. These two auto antibodies are known as predictors of this disease. It is also necessary to carry out the PCA search

in the balance of an autoimmune thyroiditis to eliminate the different differential diagnoses [57].

5. Conclusion

The study is first analysis based on suspect clinical diagnosis supported by results of auto antibody testing, and on its basis, it is difficult to extrapolate the data of this regional study to the entire country. Further, population-based studies on epidemiology of AIDs, therefore, are urgently needed. It will not only improve our understanding of the prevalence and incidence of AID but also help in estimating their present medical and public health impact and an overall disease burden for the entire country.

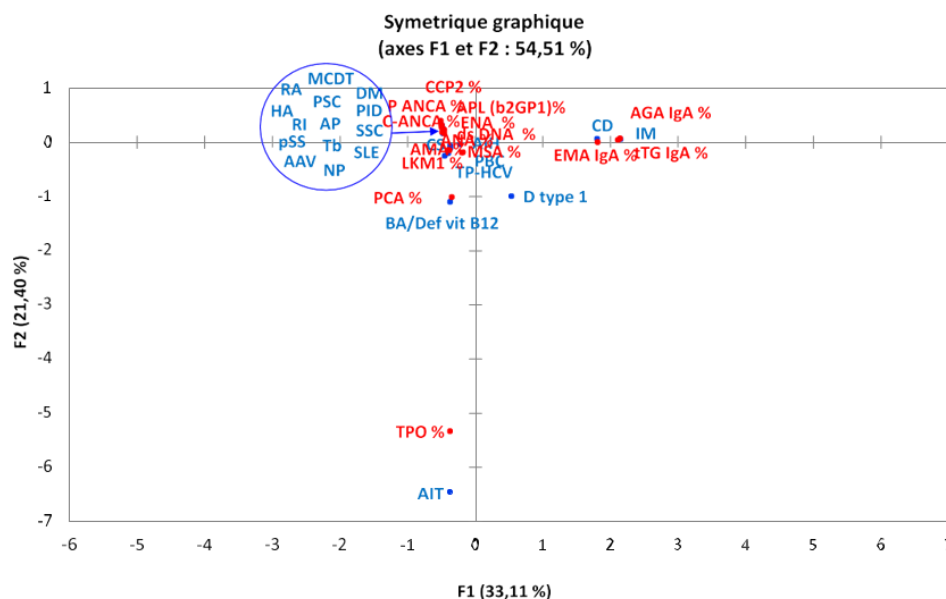


Fig. 4. Factorial Analysis of the Correspondences between the different Auto-Antibodies and diseases.

These data on the prevalence of each autoimmune disease are valuable for the public health system, because they may allow an accurate evaluation on the auto immune diseases. In any case, these data provide a picture of the relative burden of the studied diseases and make available an adequate control population for future clinical studies aimed to exploring the co-morbidity of autoimmune diseases.

This report helps the clinician to make the correct diagnosis and, when necessary, adapts the antibiotic therapy at the earliest possible stage.

Our study also shows the diagnostic value of auto antibodies of organ specific AIDs and systemic autoimmune diseases (non organ specific). It would be interesting to carry out prospective studies for each pathology separately in order to fill the classic vagaries of the retrospective study and to objectively estimate the prevalence of different autoimmune diseases.

Acknowledgements

The authors would like to thank all patients for their participation. They also would like to thank all the health, laboratory professional and specially Asmae MIMOUNI that facilitate the realization of this work.

Ethics approval and consent to participate

Ethics approval and consent to participate Ethics approval and consent to participate was provided by all adults and legal guardians of minor individuals involved in this study. Statements of their signed consent are available on request. This study was approved by the ethics committee of the National Institute of Health in Rabat, Morocco.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2019.02.012>.

References

- [1] World Health Organization, Environmental Health Criteria 236 – Principles and methods for assessing autoimmunity associated with exposure to chemicals, World Health 4 (2006) 1–333 <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=1552679&retmode=ref&cmd=prlinks>.
- [2] Matteo MASCOLO; Alicia MCNEILL; Meena FERNANDES, WORKSHOP Autoimmune Diseases – Modern Diseases Brussels, 25 September 2017, 2017.
- [3] B.A. Scanlin, Autoimmune diseases: the growing impact, *BioSupplyTrendsO* (2014) 44–47.
- [4] G. Cooper, M. Bynum, E. Somers, Recent insight in the epidemiology of autoimmune disease: improved prevalence estimates and understanding of clustering of disease, *J. Autoimmun.* 33 (2009) 197–207, <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.09.008.Recent>.
- [5] N. Dragin, J. Bismuth, G. Cizeron-Clairac, M.G. Biferi, C. Berthault, A. Serraf, R. Nottin, D. Klatzmann, A. Cumano, M. Barkats, R. Le Panse, S. Berrih-Aknin, Estrogen-mediated downregulation of AIRE influences sexual dimorphism in autoimmune diseases, *J. Clin. Invest.* 126 (2016) 1525–1537, <https://doi.org/10.1172/JCI81894>.
- [6] C. Sardu, E. Cocco, A. Mereu, R. Massa, A. Cucu, M.G. Marrosu, P. Contu, Population based study of 12 autoimmune diseases in Sardinia, Italy: Prevalence and comorbidity, *PLoS One* 7 (2012), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032487>.
- [7] J.-F. Bach, The effects of infection on susceptibility to autoimmune and allergic diseases, *N. Engl. J. Med.* 347 (2002) 911–920, <https://doi.org/10.1056/NEJMra020100>.
- [8] N. Agmon-Levin, J. Damoiseaux, C. Kallenberg, U. Sack, T. Witte, M. Herold, X. Bossuyt, L. Musset, R. Cervera, A. Plaza-Lopez, C. Dias, M. José Sousa, A. Radice, C. Eriksson, O. Hultgren, M. Viander, M. Khamashta, S. Regenass, L.E. Coelho Andrade, A. Wiik, A. Tincani, J. Rönnelid, D.B. Bloch, M.J. Fritzler, E.K.L. Chan, I. Garcia-De La Torre, K.N. Konstantinov, R. Lahita, M. Wilson, O. Vainio, N. Fabien, R.A. Sinico, P. Meroni, Y. Shoenfeld, International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies, *Ann. Rheum. Dis.* 73 (2014) 17–23, <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-203863>.
- [9] N. Benseffaj, O. Atouf, S. Ouadghini, C. Brick, M. Essakalli, Valeur diagnostique des auto-anticorps dans les maladies auto-immunes, *Immuno-Analyse Biol. Spec.* 27 (2012) 233–236, <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2012.06.009>.
- [10] T. Monjardino, R. Lucas, H. Barros, (n.d.).
- [11] S.E. Gabriel, K. Michaud, Epidemiological studies in incidence, prevalence, mortality, and comorbidity of the rheumatic diseases, *Arthritis Res. Ther.* 11 (2009) 229, <https://doi.org/10.1186/ar2669>.
- [12] XLSTAT, Data Analysis and Statistical Solution for Microsoft Excel, (2018).
- [13] D.A. Mariama Sadio Diallo, Babacar Mbengue, Abdoulaye Seck, Awa Cheikh Ndao, Maguette Sylla Niang, Yacouba Cissoko, Alassane Thiam, Gora Diop, Rokhaya Ndiaye Diallo, Moussa Diallo, Souhaibou Ndongo, Tandakha Ndiaye Dièye, Mohamed Cissé, Assane Kane, Evolution of autoantibodies profile in systemic lupus erythematosus according to age and clinical manifestations, *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 72 (2014) 351–358, <https://doi.org/10.1684/abc.2014.0963>.
- [14] A. Lerner, P. Jeremias, T. Matthias, The world incidence and prevalence of autoimmune diseases is increasing, *Int. J. Celiac Dis.* 3 (2016) 151–155, <https://doi.org/10.12691/ijcd-3-4-8>.
- [15] O. M., C.F. Von, M.G. M., Interactions de la génétique et de l'environnement sur le développement de la polyarthrite rhumatoïde, (2012) 305–313.
- [16] S. Bernatsky, A. Smargiassi, C. Barnabe, L.W. Svenson, A. Brand, R.V. Martin, M. Hudson, A.E. Clarke, P.R. Fortin, A. van Donkelaar, S. Edworthy, P. Bélisle, L. Joseph, Fine particulate air pollution and systemic autoimmune rheumatic disease in two Canadian provinces, *Environ. Res.* 146 (2016) 85–91, <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.12.021>.
- [17] C.A. Wagner, J. Sokolove, L.J. Lahey, C. Bengtsson, S. Saevardsdottir, L. Alfredsson, M. Delancy, T.M. Lindstrom, R.P. Walker, R. Bromberg, P.E. Chandra, S.R. Binder, L. Klareskog, W.H. Robinson, Identification of anticitrullinated protein antibody reactivities in a subset of anti-CCP-negative rheumatoid arthritis: Association with cigarette smoking and HLA-DRB1 “shared epitope” alleles, *Ann. Rheum. Dis.* 74 (2015) 579–586, <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-203915>.
- [18] E.C. Somers, S.L. Thomas, L. Smeeth, A.J. Hall, Autoimmune diseases co-occurring within individuals and within families, *Epidemiology* 17 (2006) 202–217, <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000093605.93416.df>.
- [19] L. Essaoudini, F.Z. Elhattab, Incidence du lupus à Marrakech Journées scientifique de Résidanat de Marrakech, *Jm (n.d.)* (2013) 1–5.
- [20] L. Broten, J.A. Avila-Zubieta, D. Lacaille, L. Joseph, J.G. Hanly, L. Lix, S.O'Donnell, C. Barnabe, P.R. Fortin, M. Hudson, S. Jean, C. Peschken, S.M. Edworthy, L. Svenson, C.A. Pineau, A.E. Clarke, M. Smith, P. Bélisle, E.M. Badley, L. Bergeron, S. Bernatsky, Systemic autoimmune rheumatic disease prevalence in Canada: Updated analyses across 7 provinces, *J. Rheumatol.* 41 (2014) 673–679, <https://doi.org/10.3898/jrheum.130667>.
- [21] E.I. Okoroiwu, I.L. Obeagu, E.I. Obeagu, G.U. Chikezie, C.C. Ezema, G.O. Obeagu, The prevalence of selected autoimmune diseases, *Int. J. Adv. Multidiscip. Res.* 3 (2016) 9–14 <http://s-o-i.org/1.15/ijarm-2016-3-9-3>.
- [22] Z. Tazi-Mezalek, H. Hamouche, M. Adnoui, A. Mohattane, M. Aouni, A. Maoui, A. Berbich, Particularités du lupus érythémateux disséminé au Maroc. À propos de 166 observations, *La Rev. Médecine Interne* 21 (2000) 465–466, [https://doi.org/10.1016/S0248-8666\(00\)90021-3](https://doi.org/10.1016/S0248-8666(00)90021-3).
- [23] B.P.T. Jennifer, M. Grossman, MD, Génétique et lupus érythémateux disséminé, 2:13–18 ISSN 1523–3774 *Curr. Rheumatol. Rep.* 2000.
- [24] Z. Yang, Y. Ren, D. Liu, F. Lin, Y. Liang, Prevalence of systemic autoimmune rheumatic diseases and clinical significance of ANA profile: data from a tertiary hospital in Shanghai, China, *APMIS* 124 (2016) 805–811, <https://doi.org/10.1111/apm.12564>.
- [25] M. Mosca, C. Tani, S. Bombardieri, Undifferentiated connective tissue diseases (UCTD): a new frontier for rheumatology, *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 21 (2007) 1011–1023, <https://doi.org/10.1016/j.berh.2007.09.004>.
- [26] S.H.K. Murg, M. Thomas, Clinical associations of the positive anti Ro/SSA without Ro60 autoantibodies: Undifferentiated connective tissue diseases, *J. Clin. Pathol.* (2017) 1–8, <https://doi.org/10.1136/clinpath-2015-203587>.
- [27] M. Mosca, C. Tani, C. Neri, C. Baldini, S. Bombardieri, Undifferentiated connective tissue diseases (UCTD), *Autoimmun. Rev.* 6 (2006) 1–4, <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2006.03.004>.
- [28] P. Roujon, A. Sarraf, C. Contin-Bordes, I. Pellegrin, G. Guidioli, J.L. Taupin, J.F. Moreau, P. Blanco, Diagnostic sérologique de la maladie cœliaque, *Pathol. Biol.* 61 (2013), <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.03.013>.
- [29] M. Leja, Z. Shums, L.N. Zake, M. Gavar, I. Kikuste, J. Milo, I. Daugule, J. Pahomova, V. Pirags, V. Dzerve, J. Klovins, A. Erglis, G.L. Norman, Prevalence estimation of celiac disease in the general adult population of Latvia using serology and HLA genotyping, *United Eur. Gastroenterol. J.* 3 (2015) 190–199, <https://doi.org/10.1177/2050640615569379>.
- [30] C. Catassi, L. Elli, B. Bonaz, G. Bouma, A. Carroccio, G. Castillejo, C. Cellier, F. Cristofori, L. de Magistris, J. Dolinsek, W. Dieterich, R. Francavilla, M. Hadjivassiliou, W. Holtmeier, U. Körner, D.A. Leffler, K.E.A. Lundin, G. Mazzarella, C.J. Mulder, N. Pellegrini, K. Rostami, D. Sanders, G.I. Skodje, D. Schuppan, R. Ullrich, U. Volta, M. Williams, V.F. Zevallios, Y. Zopf, A. Fasano, Diagnosis of non-celiac gluten sensitivity (NCGS): The salerno experts' criteria, *Nutrients* 7 (2015) 4966–4977, <https://doi.org/10.3390/nut7064966>.
- [31] N.E. Castillo, T.G. Theethira, D.A. Leffler, The present and the future in the diagnosis and management of celiac disease, *Gastroenterol. Rep.* 3 (2015) 3–11, <https://doi.org/10.1093/gastro/gou066>.
- [32] D.A. Leffler, D. Schuppan, Update on serologic testing in celiac disease, *Am. J. Gastroenterol.* 105 (2010) 2520–2524, <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.276>.
- [33] L. Greco, Burden of celiac disease in the Mediterranean area, *World J. Gastroenterol.* 17 (2011) 4971, <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i45.4971>.

- [34] A.H. Ali, E.J. Carey, K.D. Lindor, The management of autoimmunity in patients with cholestatic liver diseases, *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 10 (2016) 73–91, <https://doi.org/10.1586/17474124.2016.1095088>.
- [35] T. Tamayo, J. Rosenbauer, S.H. Wild, A.M.W. Spijkerman, C. Baan, N.G. Forouhi, C. Herder, W. Rathmann, Diabetes in Europe: an update, *Diabetes Res. Clin. Pract.* 103 (2014) 206–217, <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.007>.
- [36] L. Lamri, E. Gripiotis, A. Ferrario, Diabetes in Algeria and challenges for health policy: a literature review of prevalence, cost, management and outcomes of diabetes and its complications, *Global. Health.* 10 (2014) 11, <https://doi.org/10.1186/1744-8603-10-11>.
- [37] G.J. Tobón, P. Youinou, A. Saraux, The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: rheumatoid arthritis, *J. Autoimmun.* 35 (2010) 10–14, <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.12.009>.
- [38] D. Villalta, T. Imbastro, S. Di Giovanni, C. Lauriti, M. Gabini, M.C. Turi, N. Bizzaro, Diagnostic accuracy and predictive value of extended autoantibody profile in systemic sclerosis, *Autoimmun. Rev.* 12 (2012) 114–120, <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.07.005>.
- [39] William W. Eaton, Noel R. Rose, Amanda Kalaydjiana, Marianne G. Pedersen, P.B. Mortensen, Epidemiology of autoimmune diseases in Denmark, *J. Autoimmun.* (2007) 1–9, <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2007.05.002>.
- [40] G.S. Cooper, M.L.K. Bynum, E.C. Somers, Recent insights in the epidemiology of autoimmune diseases: improved prevalence estimates and understanding of clustering of diseases, *J. Autoimmun.* 33 (2009) 197–207, <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.09.008>.
- [41] S. Feki, F. Frikha, Y. Ben Hadj Hmida, S. Abed, M. Ben Ayed, H. Turki, J. Hachicha, S. Baklouti, Z. Bahloul, H. Masmoudi, Prévalence et valeur diagnostique des anticorps antinucléaires de spécificité antigénique indéterminée: étude rétrospective à propos d'une série de 90 patients, *La Rev. Méd. Interne* 33 (2012) 475–481, <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2012.04.017>.
- [42] C. Bonaguri, A. Melegari, A. Ballabio, M. Parmeggiani, A. Russo, L. Battistelli, R. Aloe, T. Trenti, G. Lippi, Italian multicentre study for application of a diagnostic algorithm in autoantibody testing for autoimmune rheumatic disease: conclusive results, *Autoimmun. Rev.* 11 (2011) 1–5, <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.06.006>.
- [43] E.L.R. Cancado, C.P. Abrantes-Lemos, D.R.B. Terraubio, The importance of autoantibody detection in autoimmune hepatitis, *Front. Immunol.* 6 (2015) 1–5, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00222>.
- [44] J. AlSaleh, V. Jassim, M. ElSayed, N. Saleh, D. Harb, Clinical and immunological manifestations in 151 SLE patients living in Dubai, *Lupus.* 17 (2008) 62–66, <https://doi.org/10.1177/09612033073084297>.
- [45] E. Osio-Salido, H. Manapat-Reyes, Epidemiology of systemic lupus erythematosus in Asia, *Lupus.* 19 (2010) 1365–1373, <https://doi.org/10.1177/0961203309374305>.
- [46] C. Eriksson, H. Kokkonen, M. Johansson, G. Hallmans, G. Wadell, S. Rantapää-Dahlqvist, Autoantibodies predate the onset of systemic lupus erythematosus in northern Sweden, *Arthritis Res. Ther.* 13 (2011) R30, <https://doi.org/10.1186/ar3258>.
- [47] L. Muratori, G. Deleonardi, C. Lalanne, E. Barbato, A. Tovoli, A. Libra, M. Lenzi, F. Cassani, P. Muratori, Autoantibodies in Autoimmune Hepatitis, *Dig. Dis.* 33 (2015) 65–69, <https://doi.org/10.1159/000440748>.
- [48] Q.-X. Wang, L. Yan, X. Ma, Autoimmune hepatitis in the asia-pacific area, *J. Clin. Transl. Hepatol.* 6 (2018) 1–9, <https://doi.org/10.14218/JCTH.2017.00032>.
- [49] B. Chang, B. Li, Y. Sun, G. Teng, A. Huang, J. Li, Z. Zou, Changes in etiologies of hospitalized patients with liver cirrhosis in Beijing 302 Hospital from 2002 to 2013, *Mediators Inflamm.* 2017 (2017), <https://doi.org/10.1155/2017/5605981>.
- [50] C.P. Strassburg, M.P. Manns, Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis, *Semin. Liver Dis.* 22 (2002) 339–351, <https://doi.org/10.1055/s-2002-35704>.
- [51] C.J. Bañón-Hernández, J.E. Navarro-Zarza, I. Parra-Rojas, M. Vázquez-Villamar, J. Ramón Padilla-Gutiérrez, Y. Valle, Z. Reyes-Castillo, N. Magdalena Torres-Carrillo, S. García-Arellano, L.M. Brennan-Bourdon, J.F. Muñoz-Valle, PADI4 polymorphisms and the functional haplotype are associated with increased rheumatoid arthritis susceptibility: a replication study in a Southern Mexican population, *Hum. Immunol.* 78 (2017) 553–558, <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.05.005>.
- [52] A. Belghith, S. Mahjoub, N. Ben Romdhane, L. Marsa, Causes of vitamin B 12 deficiency, 93 (2015) 678–682.
- [53] A. Belghith, S. Mahjoub, N. Ben Romdhane, L. Marsa, les étiologies des carences en vitamine B 12 causes of vitamin B 12 deficiency, 93 (2015) 678–682.
- [54] D. Cattani, Anémies d'origine digestive, EMC – Gastro-Entérologie. 1 (2006) 1–18, [https://doi.org/10.1016/S1155-1068\(05\)31205-3](https://doi.org/10.1016/S1155-1068(05)31205-3).
- [55] C. Maktouf, Clinical spectrum of cobalamin deficiency in Tunisia, *Abc.* 65 (2007) 135–142, <https://doi.org/10.1684/abc.2007.0041>.
- [56] S.R.R. Utiyama, R.S. De Bem, T.L. Skare, G.A. De Carvalho, L.M. Teixeira, M. Bertolazo, S.O. Ioshii, R. Nishihara, Anti-parietal cell antibodies in patients with autoimmune thyroid diseases, *J. Endocrinol. Invest.* 41 (2018) 523–529, <https://doi.org/10.1007/s40618-017-0755-2>.
- [57] O. Twito, Y. Shapiro, A. Golan-ohen, Y. Dickstein, R. Ness-abramof, Anti-thyroid antibodies, parietal cell antibodies and tissue transglutaminase antibodies in patients with autoimmune thyroid disease, *Arch Med Sci.* (2016) 1–5, <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.58743>.
- [58] J.Y. Kang, A.H.Y. Kang, A. Green, K.A. Gwee, K.Y. Ho, Systematic review: Worldwide variation in the frequency of coeliac disease and changes over time, *Aliment. Pharmacol. Ther.* 38 (2013) 226–245, <https://doi.org/10.1111/apt.12373>.
- [59] K. Mustalahti, C. Catassi, A. Reunanen, E. Fabiani, M. Heier, S. McMillan, L. Murray, M.H. Metzger, M. Gasparin, E. Bravi, M. Mki, The prevalence of coeliac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project, *Ann. Med.* 42 (2010) 587–595, <https://doi.org/10.3109/07853890.2010.505931>.
- [60] D. Piancatelli, I. Ben El Barhadi, K. Oumhani, P. Sebastiani, A. Colanardi, A. Essaid, HLA typing and coeliac disease in Moroccans, *Med. Sci.* 5 (2017) 2, <https://doi.org/10.3390/medsci5010002>.
- [61] A.H.C. Alberto Rubio-Tapia, Ivor D. Hill, Ciarán P. Kelly, M. and M. and American College of gastroenterology clinical guideline: diagnosis and management of coeliac, *Am. J. Gastroenterol.* 108 (2013) 656–676, <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.79>.
- [62] M.O. Ma, S. Vaida, Clinical and biological correlations in coeliac disease in children: the prospective single experience of a romanian tertiary center, *Medicine (Baltimore)* (2017) 1–7.
- [63] D. Villalta, D. Girolami, E. Bidoli, N. Bizzaro, M. Tampona, M. Liguori, M. Pradella, E. Tonutti, R. Tozzoli, High prevalence of coeliac disease in autoimmune hepatitis detected by anti-tissue transglutaminase autoantibodies, *J. Clin. Lab. Anal.* 19 (2006) 6–10, <https://doi.org/10.1002/jcla.20047>.
- [64] A.D. Bourhanbour, S. Ouadghiri, N. Bensseffal, M. Essakalli, Dépistage sérologique de la maladie coélique chez des patients marocains atteints de diabète type 1, *Pan Afr. Med. J.* 24 (2016) 1–6, <https://doi.org/10.11604/pamj.2016.24.103.8555>.
- [65] S. Beltran, H. Bony-Trifunovic, V. Gouilleux-Gruart, D. Djeddi, I. Dadamessi, J.L. Dupas, B. Boudailliez, Prévalence des marqueurs biologiques de la maladie coélique dans une cohorte d'enfants et d'adolescents diabétiques de type 1, *Ann. Endocrinol. (Paris)* 65 (2004) 131–135, [https://doi.org/10.1016/S0003-4266\(04\)95661-2](https://doi.org/10.1016/S0003-4266(04)95661-2).
- [66] A. Mankai, H. Ben Hamouda, F. Amri, L. Ghedira-Besbes, A. Harbi, M. Tahar Sfar, A. Sahloul Essoussi, M. Jeddi, I. Ghedira, Screening by anti-endomysium antibodies for coeliac disease in Tunisian children with type 1 diabetes mellitus, *Gastroentérologie Clin. Biol.* 31 (2007) 462–466, [https://doi.org/10.1016/S0399-8320\(07\)89413-9](https://doi.org/10.1016/S0399-8320(07)89413-9).
- [67] M.A. Chabchoub, G.M. Mnif, et al., Etude épidémiologique des maladies auto-immunes, thyroïdiennes dans le sud tunisien, *Ann. d'endocrinol.* 6 (2006) 591–595.

CHAPITRE IV

La description des caractéristiques sociodémographiques, cliniques, para-cliniques et thérapeutiques et l'identification des facteurs associés à la rémission chez les patients souffrant de PR sévère.

CHAPITRE IV : La description des caractéristiques sociodémographiques, cliniques, para-cliniques et thérapeutiques et l'identification des facteurs associés à la rémission chez les patients souffrant de PR sévère.

Article 2

Impact of Socio-demographic Characteristics on the Severity of Rheumatoid Arthritis in Morocco

Accepté dans le journal: International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences (IJBPAS)
December, Special Issue, 2021, 10(12): 624-631 , ISSN: 2277-4998

Article 3

Characteristics and Factors Associated with Remission in Moroccan Patients with severe Rheumatoid Arthritis **(En cours de soumission)**

Contexte

Au cours de ce chapitre, nous nous sommes intéressés à la description des caractéristiques sociodémographiques, cliniques, para-cliniques et thérapeutiques et l'identification des facteurs associés à la rémission chez les patients souffrant de PR sévère à travers deux travaux originaux.

La première étude déjà soumise dans le journal International of Biology, Pharmacy and Allied Sciences (IJBPAS): «Impact of socio-demographic characteristics on the severity of rheumatoid arthritis in Morocco" (article 2).

Dans ce travail, nous démontrons si les caractéristiques sociodémographiques peuvent être impliquées dans le diagnostic de la maladie de la PR. Nous avons comparé les caractéristiques sociodémographiques des patients atteints de PR avec les groupes témoins. Nous avons aussi recherché s'il existe une corrélation significative de ces caractéristiques avec un FR positif et un ACPA ou anti ccp2 positif chez les patients atteints de PR.

L'analyse descriptive entre 111 patients et 212 individus du groupe contrôle (GC) a montré que l'âge moyen des patients PR était de $57,09 \pm 12,21$ ans (allant de 18 à 83 ans) et de $37,18 \pm 12,21$ (19-59 ans) pour les GC. Une prédominance féminine de 84,68% chez les patients atteints de PR, alors que dans le GC, les hommes étaient plus concernés avec 51,89% vs 48,11% chez les femmes), puisqu'ils n'étaient appariés ni par l'âge ni par le sexe. Nous

avons constaté que Le nombre de mariés en PR était de 99 %, tandis qu'en GC, il était de 70,7 %. La ménopause dans la PR était de 30 %, tandis que dans la GC était de 10,3 %. Nous avons également constaté que la localisation d'origine des parents de nos patients PR était très élevée dans le nord du pays par rapport au sud. 35% avaient des antécédents familiaux de PR chez notre patient par rapport au groupe témoin.

En outre, nous avons observé 12,6 % de tabagisme et 11,7 % d'alcool chez les patients atteints de PR, mais en GC chez 13,21 % de tabagisme et 2,34 % d'alcool. La dépression a été observée chez 7 patients atteints de PR (6,31%) mais 3,77% dans 8 cas pour GC. Concernant le statut professionnel, on observe 69% des femmes au foyer, suivies 13% sont retraitées, 12% sont des travailleuses à domicile et 6% sont des fonctionnaires dans le groupe PR. Alors que dans le GC, les fonctionnaires et les femmes au foyer étaient les plus élevés avec 42,9 %, suivis des travailleuses à domicile avec 12,7 %.

L'analyse descriptive a aussi montré qu'il existe une corrélation significative entre les deux groupes pour les facteurs suivants : le sexe, l'âge, le mariage consanguin, l'alcool et les antécédents familiaux ($P < 0,01$).

Le profil des auto-anticorps entre les deux groupes, nous avons constaté que que la fréquence du facteur rhumatoïde (FR), des anticorps anti-peptides citrullinés (ACPA ou anti-CCP2), des auto-anticorps antinucléaires (AAN), des anticorps antigénique nucléaire (profil ENA) et des anti-ADN avaient un pourcentage élevé de 95,5 %, 80 %, 84,7 %, 45 % et 5,4 %, respectivement chez PR, alors que chez le GC 24,5 %, 2,4%,6,6%,3,3% et 0%. La présence de ces anticorps chez le GC était considéré qu'ils apparaissent très tôt dans le sérum parfois jusqu'à 15 ans avant l'apparition des symptômes chez un individu sain.

Nous avons observé que les ACPA présentent une corrélation positive pour le sexe ($p < 0,01$). D'autre part, le FR ne présente aucune corrélation significative avec les caractéristiques sociodémographiques chez les patients atteints de PR.

Ce travail établit donc un lien entre la prévalence élevée de FR, d'ACPA et d'AAN et d'avoir une maladie plus active et plus grave et Nous avons aussi constaté que peut être que les caractéristiques sociodémographiques augmentent la probabilité d'avoir une PR.

Nos résultats peuvent aider à fournir des informations pertinentes sur le profil immunologique de nos patients atteints de PR ; non seulement dans l'implication diagnostique et pronostique de la PR "précoce", mais également dans la prédiction des antécédents familiaux et de la consanguinité dans le contexte de cette maladie.

Cette deuxième étude a fait l'objet d'un article actuellement en cours de soumission : « Characteristics and Factors Associated with Remission in Moroccan Patients with severe Rheumatoid Arthritis » (article 3).

Le but de ce travail était d'évaluer les caractéristiques cliniques et thérapeutiques actuelles et déterminer les facteurs associés à la rémission chez les patients atteints de PR sévère.

Nous avons réalisé une étude transversale chez 111 patients de PR. Nous avons constaté que l'âge moyen était de 57,1 ans, 84,7 % des patients étaient de sexe féminin et 87,4 % avaient plus de 45 ans. L'IMC moyen était de 27,5. Sur le nombre total de patients, 35,1 % avaient des antécédents familiaux de PR. 20,7 % étaient des mariages consanguins, 12,5 % déclaraient un tabagisme actif et 11,7 % une consommation d'alcool et 6,31 % étaient en dépression. La durée moyenne de la maladie était de $12,14 \pm 8,26$ ans. 77,5 % des patients avaient des comorbidités, notamment l'ostéoporose (47%), le syndrome de Sjögren (34,2 %), l'infection (33,3 %) et l'hypertension (27 %). Le DAS28 moyen à l'inclusion était de $3,67 \pm 1,73$ et 32,4 % étaient en rémission ($\text{DAS28} \leq 2,6$). Le score HAQ moyen était de $1,58 \pm 0,64$. Pour le traitement, 87,4 % des patients étaient sous corticothérapie orale, 99,1 patients étaient sous DMARD et 63 % sous bDMARD. Dans les DMARD 91,9 % étaient sous méthotrexate (MTX) et pour les bDMARD 84,3 % sous Rituximab. L'association de l'état de rémission et des caractéristiques des patients PR a montré une corrélation positive avec la positivité ACPA ($P < 0,001$), la positivité AAN ($P = 0,001$), le traitement bDMARD ($P = 0,01$), moins d'érosion, l'ostéoporose et un HAQ plus faible. Mais la corrélation était statistiquement significative pour la positivité ACPA ($P < 0,001$), la positivité AAN ($P = 0,001$) et le traitement bDMARD ($P = 0,01$).

Cet aperçu des caractéristiques de la maladie permettra d'améliorer la connaissance de la gravité et de l'activité de la maladie dans la population rhumatoïde traitée dans les hôpitaux marocains, et peut aider à l'évaluation des patients candidats à de nouveaux traitements biologiques.

I. Article 2:

IJBAS, December, Special Issue, 2021, 10(12): 624-631

ISSN: 2277-4998



**International Journal of Biology, Pharmacy
and Allied Sciences (IJBAS)**

'A Bridge Between Laboratory and Reader'

www.ijbas.com

IMPACT OF SOCIO-DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS ON THE SEVERITY OF RHEUMATOID ARTHRITIS IN MOROCCO

HAKIMA MISSOUM^{1,2*}, HAMZA TOUFIK³, MOHAMMED ALAMI⁴, NAJLAE
ADADI⁵, FATIMA BACHIR⁶, ABDELLAH EL MAGHRAOUT³, YOUSSEF BAKRI¹

1: Laboratory of Human Pathologies Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, and Genomic
Center of Human Pathologies, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University in Rabat,
Morocco

2: Laboratory Autoimmunity, Department of Immunology, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco

3: Mohammed V University, Faculty of Medicine and Pharmacy, Military Hospital, Rheumatology
Department, Rabat, Morocco

4: Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, Faculty of Science, Mohammed V University, Rabat,
Morocco

5: Department of Medical Genetics, National Institute of Health, Rabat, Morocco

6: Laboratory of Flow Cytometry, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco

*Corresponding Author: Dr. Hakima Missoum; E Mail: hkmissoum@yahoo.fr

Received 20th Aug. 2021; Revised 24th Sept. 2021; Accepted 30th Oct. 2021; Available online 1st Dec. 2021

<https://doi.org/10.31032/IJBAS/2021/10.12.2059>

ABSTRACT

The etiology of rheumatoid arthritis (RA) remains to date unknown. However, according to the main hypothesis, it has been proposed that several factors are contributing to its development. Among them, we find the socio-demographic factors. The aim of this study is to describe the socio-demographic characteristics and to investigate the association of serological status and disease parameters of rheumatoid arthritis (RA) in Moroccan patients by comparing them with a control group. The study population comprised a cohort of 111 patients with RA recruited from the military hospital in Rabat and 212 individuals of the control group (CG) recruited from the National Blood Transfusion Center of Rabat. All patients were tested for auto-antibodies: cyclic citrullinated peptide (ACPA or anti-CCP2), rheumatoid factor (RF), antinuclear auto-antibodies (ANA), antibodies of antigenic specificity (ENA profile) and anti-DNA. Females showed predominance with 84.68% of RA patients. The descriptive analysis between patients and controls group showed that exists significant differences were found regarding gender, age, BMI, alcohol, inbred marriage and family history. Rheumatoid factor (RF), anti-citrullinated peptide antibody (ACPA or anti-CCP2), antinuclear auto-antibodies (ANA), antibodies of antigenic specificity (ENA profile) and anti DNA were detected in RA patients and it showed a high percentage of 95.5%, 80%, 84.7%, 45% and 5.4%, respectively. Furthermore, both RF and ACPA were presented in 80% of RA patients. We observed that ACPA present a positive correlation for gender. On the other hand, RF presents no significant correlation with socio-demographic characteristics. In this study, we describe disease features that are unique to Moroccan patients and demonstrate that RA has a significant disease burden. Our RA patients with a high prevalence of RF and ACPA appear to

have more active and severe disease and maybe the socio-demographic characteristics increase the probability of having RA disease. Our findings may help provide relevant information on the immunological profile of our RA patients.

Keywords: Rheumatoid arthritis, Socio-demographic characteristics, Rheumatoid factor, anti-cyclic citrullinated peptide, Antinuclear auto-antibodies, Moroccan Patients

1 INTRODUCTION

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, autoimmune, multisystem, inflammatory, progressive disease of uncertain etiology characterized by joint pain, swelling, stiffness and destruction of the synovial joint, resulting in severe impairment and premature mortality (Guillemin, 2005). It is estimated to affect between 0.5% and 1.0% of the global adult population and affects women more than men (Sokka *et al.*, 2009). Consequently, they have a major impact on the daily experience, professional activity and family life of the patient. Of many studies have highlighted the deterioration of the quality life time of these patients (Ambriz Murillo *et al.*, 2015). Risk factors for RA include genetic susceptibility factors, gender, age, smoking, infectious agents, hormonal factors and ethnic factors (Othman *et al.*, 2016).

In Morocco, the incidence of RA is not yet clearly established. However, the disease has a significant impact on the socio-professional activity and the economic situation of patients (Kalla *et al.*, 1988). This has an impact on the involvement of patients in paid employment, their performance at work inside and outside the home, and their participation in family, social and leisure activities (Othman *et al.*, 2016), (Abdel-Nasser, Rasker and Vaikenburg, 1997), (Almeida, Almeida and Bertolo, 2014). Previous studies have highlighted a poorer quality of life (especially physical health) in patients with RA compared to the general population (Bullinger and Quitmann, 2014). Factors associated with poorer quality of life in RA are older age, female gender, lower economic status, lower education level and lack of physical activity (Ibn Yacoub *et al.*, 2012b). The research and management of these socio-demographic characteristics aim to preserve or even improve the patient's quality of life and his or her life expectancy, thus being able to limit the psychosocial consequences. Several antibodies have been described in recent years in patients suffering from PR, but not all have been successfully integrated into routine clinical practice (Mewar and Wilson, 2006). Two important autoantibody systems have been described in RA, of which rheumatoid factors (RF) and autoantibodies against citrullinated peptides / proteins (ACPA) are widely used. This allows the diagnosis and follow-up of the majority of patients with RA (Ibn Yacoub *et al.*, 2012b) (Fang, Ou and Nandakumar, 2019a), (Singwe-Ngandeu *et al.*, 2010). In addition, these markers are very specific in the diagnosis of RA. ACPA tests serve as predictors of disease course and outcome

(MIMORI, 2005a). Previous studies have shown that ACPA is present in 60-80% of patients with RA with a high specificity of over 95% (Mewar and Wilson, 2006). The distribution of clinical features is important because new biologic therapies may change the disease burden.

In this study, we describe and compare Socio-demographic Characteristics in RA patients with control groups and research if it is a significant correlation of these characteristics with positive RF and positive ACPA. Our findings may help to enrich the Moroccan database concerning the profile of our RA patients.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1. Study population

This study involved 111 RA severe patients hospitalized and 212 control group (CS). RA patients were recruited from the Rheumatology in the rheumatology department of the Military Hospital (Rabat, Morocco). Exclusion criteria for RA patients: other types of inflammatory arthritis, including psoriatic arthritis, reactive arthritis, spondylarthropathies and inflammatory arthritis related to bowel disease.

The group control (GC) eligible blood donors recruited at the National Blood Transfusion Center (Rabat, Morocco). Exclusion criteria for GC must not have autoimmune and/or inflammatory disease.

Socio-demographic characters were collected using a pre-established operating sheet which included the following parameters: Socio-demographic data including: gender, age, body mass index (BMI), Menopause, Marriage status, Inbred marriage, smoking, alcohol, history family, depression, professional status and Father's/Mother's origin.

All involved patients signed a written informed consent. This study was approved by Ethics Committee for Biomedical Research in the Faculty of Medicine and Pharmacy of Rabat (CERB), (IORG Number: IORG0006594) Morocco. The committee's reference number: 70/17.

2.2. Immunological tests

All sera (patients and GC) were tested by IIF for antinuclear auto-antibodies detection (ANA), anti DNAb and also tested by ELISA for the identification of the search for soluble anti-antigen antibodies ENA Profile (SS-A, SS-B, Sm, Sm / RNP, jo1 and Scl70), for anti ccp2 and for RF.

All tests were performed at the autoimmunity laboratory of the National Institute of Hygiene (Rabat, Morocco) using an automated system (Biorad system PhD™) and immunodot.

2.2.1. Indirect immunofluorescence (IIF)

Antinuclear auto-antibodies was detected by IIF using Hep-2 cells (Bio-Rad Laboratories, CA) who is as highly sensitive substrates. The clinically significant titer was 1:160. Test for anti-DNA antibodies was performed by IIF using Crithidia luciliae (Bio-Rad Laboratories, CA) as substrate and the clinically significant titer was 1:5.

2.2.2. Enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA)

The detection the antibodies of specific Nuclear Antigen (ENA profile) was performed by ELISA (Bio-Rad Laboratories, CA) tested six antigens such as anti-smith antibody (Sm), anti-ribo-nucleoprotein antibodies (RNP), anti-Ro antibody (anti SSA), anti-la antibody (anti-SSB), anti histidyl-tRNA synthetase antibodies (jo1) and anti-topoisomerase I antibody (Scl-70) and also tests for anti-CCP2 (ACPA) was performed by ELISA (Bio-Rad Laboratories, CA cutoff value 5 U/mL for positivity) and rheumatoid factor (RF) IgM by Elisa (Euro immune cutoff value 20 U/mL for positivity). Serum samples were processed in initial dilution of 1:101, 1:101 and 1:201 for the detection of anti-ANA6 profile, anti CCP2 and RF respectively.

2.3. Statistic analyses

Socio-demographic characters were described as mean and standard deviation (SD) and number and percentage for categorical data.

Statistical analyses were performed using STATISTICA StatSoft 12.0 Software (Tulsa, Oklahoma, USA). The relationship between the socio-demographic characters of patients with RA and control groups was determined using Chi-square χ^2 . Prevalence ratio (PR) was used for the assessment of risk factors. Statistical significance for all tests was set at the level of $p \leq 0.05$ using descriptive statistics.

All patients were stratified based on RF and ACPA status into four groups: RF+/ACPA+, RF+/ACPA-, RF-/ACPA+, and RF-/ACPA-. Comparisons of demographic and treatment characteristics between different RF and ACPA status were performed using the Chi-square test χ^2 , Prevalence ratio (PR) as appropriate for categorical data. A p-value of <0.05 was considered statistically significant.

3 RESULTS

3.1. Demographic features

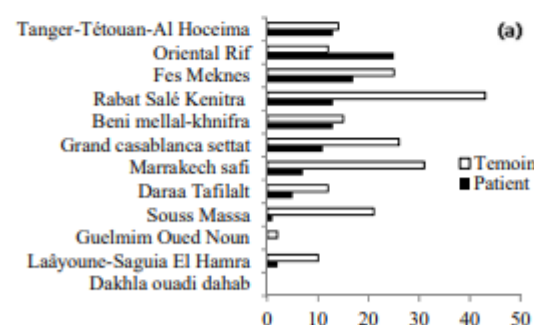
The socio-demographic data of RA patients and GC are presented in Table 1. We found that the average age of RA patients was 57.09 ± 12.21 years (ranging from 18 to 83 years) and 37.18 ± 12.21 (19-59 years) for CG. A female preponderance of 84.68% (94 women / 17 men) was observed in RA patients, while in the GC, men were more concerned by 51.89% vs 48.11% in women), since, they were not matched by age and sex. The married in RA was 99%, while in GC was 70.7%. The menopause in RA 30%, while in GC was 10.3% (Table 1).

Table 1: Baseline Socio-demographic characteristics of RA patients and control groups

	RA Patients 111	Control groups 212
Total		
Women	94 (84.7 %)	102 (48.1 %)
Men	17 (15.3 %)	110 (51.9 %)
Age	57.09 ± 12.21	37.18 ± 12.21
BMI	27.47 ± 5.04	26.10 ± 4.19
Menopause	33(30%)	22(10.3%)
Marriage status	110 (99 %)	150(70.7%)
Inbred marriage	23 (20.7 %)	29 (13.7 %)
Smoking	14 (12.6 %)	28 (13.2 %)
Alcohol	13 (11.7 %)	5 (2.4 %)
History family	39(35.1%)	42(19.8%)
Depression	7 (6.3 %)	8 (3.8 %)
Professional Status		
Housekeepers	13 (12 %)	27 (12.7 %)
Civil servants	7 (6 %)	91 (42.9 %)
Retirees	15 (13 %)	1 (0.5 %)
Trader	0	2 (0.9 %)
Housewives	73 (69 %)	91 (42.9 %)

BMI: Body Mass Index

We also found that the location of origin of the parents of our RA patients was very high in the north of the country compared to the south (Fig. 1a and Fig. 1b).



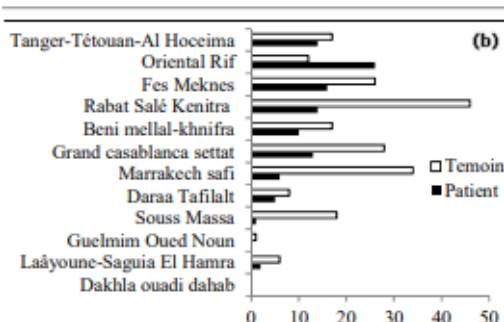


Fig. 1: Father's origin (a) and Mother's origin (b) of RA patients.

35% had a family history of RA disease in our patient compared to the control group. Also, we observed 12.6% smoking and 11.7% alcohol in RA patients, but in CG in 13.21% smoking and 2.34% alcohol. The depression was observed in 7 patients with RA (6.31%) but 3.77% in 8 cases for CG. Regarding professional status, we observed that housewives was higher (69%) followed by 13% are retired, 12% are housekeepers and 6% are civil servants in the RA group. While in the GC, civil servants and housewives were the highest 42.9% followed by housekeepers 12.7% (Table 1).

3.2. Correlations analyses between socio-demographic characters and patients with RA and control groups

The correlations analysis socio demographic and patients with RA and GC (Table 2) showed a significant correlation between the two groups for the following factors: gender, age, Inbred marriage, alcohol, and family history with higher and positive Pearson index X^2 ($P < 0.01$). Also, we found a negative correlation for smoking character, but no significance was observed with BMI and depression characters. But present a negative correlation pour gender and age.

Table 2: Correlations analyses socio-demographic and patients with RA and control groups.

Variables	X^2	P value	Prevalence Ratio	CI
Gender	33.68	< 0.01*	0,31	0.44-0.52
Age	98.54	< 0.01*	0,14	0.44-0.52
BMI	1.24	0.27	0,84	0.44-0.52
Inbred marriage	176.41	< 0.01*	1,36	0.44-0.52
Smoking	0.15	0.70	0,91	0.44-0.52
Alcohol	12.11	< 0.01*	2,25	0.44-0.52

Depression	1.06	0.30	1,38	0.44-0.52
History family	9.11	< 0.01*	1,62	0.44-0.52

BMI: Body Mass Index CI: Confident Index

*Significant correlation (P value<0.01)

3.3. Immunological manifestations

The prevalence of auto-antibodies detected in all sera of our study was presented in table 3. In 111 patients with RA, we found that RF were detected in 80% of patient RA (89/111), while the GC, RF were present in 24.5%. For anti ccp2 or ACPA were detected 95.5% in patients with RA while the GC, ACPA were present 2.4%.

Table 3: Profile of auto-antibodies of the patients with RA and control groups.

	Patient	Control groups
Rheumatoid factor (RF)	106 (95.5 %)	52 (24.5 %)
ACPA (anti CCP2)	89 (80 %)	5 (2.4 %)
Serologic status ACPA/RF		
• ACPA (+) & RF (+)	89 (80 %)	0
• ACPA (+) & RF (-)	0	5 (2.4 %)
• ACPA (-) & RF (+)	16 (14.4 %)	52 (24.5 %)
• ACPA (-) & RF (-)	5 (4.5 %)	155 (73.1 %)
ANA	94 (84.7 %)	14 (6.6 %)
Anti dsDNA	6 (5.4 %)	0
ENA profile	50 (45 %)	7 (3.3 %)

ACPA: Anti-Citrullinated Peptide Antibodies, dsDNA: anti-deoxyribonucleic acid antibodies, ANA: Antinuclear antibodies, ENA: anti extractable nuclear antigens antibodies.

Furthermore, status serologic the RF and ACPA in patient RA, we found 80% with RF + / ACPA +, 14.4% with RF + / ACPA-, 0% with RF- / ACPA + and 4.5% with RF- / ACPA -. While, in the GC, status serologic RF and ACPA no frequency was found in RF+/ ACPA+.

In our study, patients with RA with RF + / ACPA + constituted a strong element in favor of a positive diagnosis of RA and also prognosis and have the highest proportion of correct EULAR responses than those with RF- / ACPA-. For patients with RF + / ACPA- and RF- / ACPA + considered sero-positive patients with at least one of the two tests. The prolonged presence of FR at high concentrations is considered a chronic inflammatory process without specifying the etiology; and also considered less aggressive RA with less joint damage and a more favorable course than patients with high serum concentrations of FR and APCA.

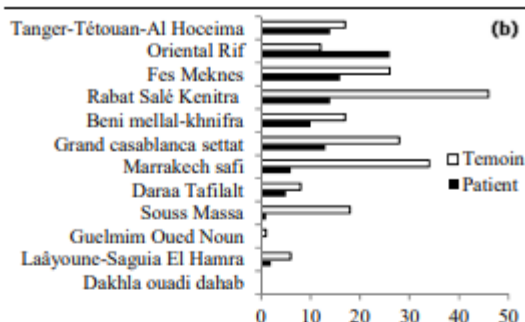


Fig. 1: Father's origin (a) and Mother's origin (b) of RA patients.

35% had a family history of RA disease in our patient compared to the control group. Also, we observed 12.6% smoking and 11.7% alcohol in RA patients, but in CG in 13.21% smoking and 2.34% alcohol. The depression was observed in 7 patients with RA (6.31%) but 3.77% in 8 cases for CG. Regarding professional status, we observed that housewives was higher (69%) followed by 13% are retired, 12% are housekeepers and 6% are civil servants in the RA group. While in the GC, civil servants and housewives were the highest 42.9% followed by housekeepers 12.7% (Table 1).

3.2. Correlations analyses between socio-demographic characters and patients with RA and control groups

The correlations analysis socio demographic and patients with RA and GC (Table 2) showed a significant correlation between the two groups for the following factors: gender, age, Inbred marriage, alcohol, and family history with higher and positive Pearson index X^2 ($P < 0.01$). Also, we found a negative correlation for smoking character, but no significance was observed with BMI and depression characters. But present a negative correlation pour gender and age.

Table 2: Correlations analyses socio-demographic and patients with RA and control groups.

Variables	X^2	P_{value}	Prevalence Ratio	CI
Gender	33.68	< 0.01*	0,31	0.44-0.52
Age	98.54	< 0.01*	0,14	0.44-0.52
BMI	1.24	0.27	0,84	0.44-0.52
Inbred marriage	176.41	< 0.01*	1,36	0.44-0.52
Smoking	0.15	0.70	0,91	0.44-0.52
Alcohol	12.11	< 0.01*	2,25	0.44-0.52

Depression	1.06	0.30	1,38	0.44-0.52
History family	9.11	< 0.01*	1,62	0.44-0.52

BMI: Body Mass Index CI: Confident Index

*Significant correlation ($P_{value} < 0.01$)

3.3. Immunological manifestations

The prevalence of auto-antibodies detected in all sera of our study was presented in table 3. In 111 patients with RA, we found that RF were detected in 80% of patient RA (89/111), while the GC, RF were present in 24.5%. For anti ccp2 or ACPA were detected 95.5% in patients with RA while the GC, ACPA were present 2.4%.

Table 3: Profile of auto-antibodies of the patients with RA and control groups.

	Patient	Control groups
Rheumatoid factor (RF)	106 (95.5 %)	52 (24.5 %)
ACPA (anti CCP2)	89 (80 %)	5 (2.4 %)
Serologic status ACPA/RF		
• ACPA (+) & RF (+)	89 (80 %)	0
• ACPA (+) & RF (-)	0	5 (2.4 %)
• ACPA (-) & RF (+)	16 (14.4 %)	52 (24.5 %)
• ACPA (-) & RF (-)	5 (4.5 %)	155 (73.1 %)
ANA	94 (84.7 %)	14 (6.6 %)
Anti dsDNA	6 (5.4 %)	0
ENA profile	50 (45 %)	7 (3.3 %)

ACPA: Anti-Citrullinated Peptide Antibodies, dsDNA: anti-deoxyribonucleic acid antibodies, ANA: Antinuclear antibodies, ENA: anti extractable nuclear antigens antibodies.

Furthermore, status serologic the RF and ACPA in patient RA, we found 80% with RF + / ACPA +, 14.4% with RF + / ACPA-, 0% with RF- / ACPA + and 4.5% with RF- / ACPA -. While, in the GC, status serologic RF and ACPA no frequency was found in RF+/ ACPA+.

In our study, patients with RA with RF + / ACPA + constituted a strong element in favor of a positive diagnosis of RA and also prognosis and have the highest proportion of correct EULAR responses than those with RF- / ACPA-. For patients with RF + / ACPA- and RF- / ACPA + considered sero-positive patients with at least one of the two tests. The prolonged presence of FR at high concentrations is considered a chronic inflammatory process without specifying the etiology; and also considered less aggressive RA with less joint damage and a more favorable course than patients with high serum concentrations of FR and APCA.

In CG with RF + / ACPA – and RF– / ACPA + considered that these antibodies appear very early in the serum sometimes up to 15 years before the onset of symptoms in a healthy individual.

Concerning ANA were detected in 84.7%, while in GC, ANA was detected in 6.6%.

For anti dsDNA were detected (5.4%) in RA and no cases have been detected in the GC. The frequency of the ENA profile detected in (45%) in RA, while in GC ENA profile detected in 3.3%.

We conclude that IgM-RF and anti-CCP2 tests with sufficiently high specificity can assist in the early detection of RA in high-risk populations.

3.4. Socio-demographic factors outcomes stratified by RF and ACPA status

The Table 4 shows an association of demographic characteristics with positive RF and ACPA in patients with RA. We found that prevalence ratio, and Pearson χ^2 for ACPA higher and present a positive correlation for gender, BMI, smoking, depression, infection, menopause. As well as, ACPA were present a correlation negative for age, history familial, diabetes, fracture. As well, we detected a significant correlation in gender ($p < 0.01$).

Table 4: Association of Socio-demographic characteristics of RA patients with positive RF and ACPA.

	ACPA			RF		
	χ^2	Pvalue	P. R.	χ^2	Pvalue	P. R.
Gender	4.68	0.03*	1.29	0.95	0.33	1.06
Age	0.22	0.64	1.07	0.75	0.38	1.05
BMI	1.25	0.26	1.11	0.47	0.49	1.03
Inbred marriage	0.97	0.32	0.89	1.37	0.24	1.06
Menopause	2.14	0.14	0.86	0.26	0.61	0.98
Smoking	1.45	0.23	1.17	0.26	0.61	0.97
Alcohol	1.21	0.27	1.16	0.35	0.56	0.96
Depression	1.74	0.19	1.25	0.35	0.55	1.05
History family	0.04	0.85	1.02	0.53	0.47	1.03

ACPA: Anti-Citrullinated Peptide Antibodies, RF: Rheumatoid factor, BMI: Body Mass Index, P. R.: Prevalence Ratio.

*Significant correlation ($Pvalue < 0.01$).

Regarding RF, we observed prevalence ratio, and Pearson χ^2 were higher and present a positive correlation for BMI, history familial. As well as, RF were present a correlation negative for menopause, smoking, alcohol, depression. RF has no significant correlation.

4 DISCUSSION

Rheumatoid arthritis is a heterogeneous disease, with variable clinical presentation and characteristics and whose risk factors are still poorly identified.

In our study, the descriptive analysis between patients and controls group showed that exists significant differences were found regarding gender, age, alcohol, inbred marriage and family history. Also, showed that alcohol consumption and smoking status are low compared to what is reported in the literature (El-Zorkany *et al.*, 2016). These results are linked to the cultural and religious context (Intriago *et al.*, 2019). We found in RA patients 11% were smokers, this result is similar to what has been reported in the literature (9.2%, 10.6%) (Namas *et al.*, 2019). Smoking is well recognized as an important factor in the etiology and severity of RA (Naranjo *et al.*, 2010). This low frequency was due to the high number of women in our series. Regarding consanguineous marriage, we found a high prevalence, which raises the question of genetic predisposition as a potential explanatory factor. We have found that depression has a low prevalence in our population, which explains a considerable reduction in the quality of life, religions and ethnic groups (Katchamart *et al.*, 2020b). For RA patients, depression was due to the effect on RA management. Consequently, incapacity for work is more strongly associated with depression. This similar to what was reported in literature (Katchamart *et al.*, 2020a). Also, the professional housewives status was observed to be the highest in our patients with RA, followed by retirees and housekeeper. This result was already observed in a previous Moroccan study (Rkain *et al.*, 2006). In RA patients, the age of onset in our study was similar to that of studies in western countries, which describe an age of onset ranging from 40 to 60 years (Sokka *et al.*, 2009). Female sex was also predominant in our series which was similar to results from other parts of the world (Jawaheer *et al.*, 2010). It has been reported that female gender is a predictor of disability and that disability progression is three times faster in women (Oliver and Silman, 2006; Sokka *et al.*, 2009).

RA is a chronic inflammatory disease, and autoantibody mediated pathology contributes to joint inflammation and destruction (Fang, Ou and Nandakumar, 2019b). Detection of both RF and anti CCP2 or ACPA can predict the extent of joint damage, and RF is also associated with extra articular lesions. Moreover, differential alterations in the levels of these two auto antibodies during treatment reflect different underlying mechanisms operating during RA (Fang, Ou and Nandakumar,

2019b). In this study, RF and anti CCP2 or ACPAs were present in CG with RF + / ACPA- and RF- / ACPA +, these antibodies are considered to appear very early in the serum, sometimes up to 15 years before the onset of symptoms in a healthy individual (Tron, 2014). While RF and anti CCP2 or ACPAs were present respectively 80% and 95% of our RA patients which concurs with literature data (Abdel-Nasser et al., 2008; Fang, Ou and Nandakumar, 2019b; Trier et al., 2019). However, previous studies have shown that Moroccan RA seems most likely severe with less seropositive RF (60%) (Benbouazza et al., 2011). In fact, differences in laboratory tests and techniques that have been used to measure RF could explain the differences in the rate of seropositive RF patients. In recent data the positivity of anti CCP2 or ACPA among RA Patients was lower than our data (estimated 60 to 80% with ACPA) (Kurowska et al., 2017). In fact, in this study, the authors demonstrated that the second generation ACPA test had a higher sensitivity than the first generation test and a similar specificity that has made it possible to identify different phenotypes of patients with RA (Kurowska et al., 2017). We found that patients with the presence of both auto-antibodies had the most severe and aggressive clinical courses, while those with RF or anti-ccp2 or ACPA positivity had intermediate courses and those without these antibodies had modest disease. The number of patients positive for RF (95.5%), ACPA (80%) and ANA 84.7% was consistent with the expected rates in a severe RA population (MIMORI, 2005b; Kim et al., 2010; Ibn Yacoub et al., 2012c). The presence of ANA was due to the presence of the manifestation of extra-articular diseases or were a hallmark of systemic autoimmune rheumatic diseases (SARD) (Sebbag et al., 2004; Pérez et al., 2017). These results are comparable to those in the literature (Katchamart et al., 2015; Kurowska et al., 2017).

Several recent publications have established a strong association between rheumatoid arthritis (RA) and positivity to anti-CCP and RF (Turesson et al., 2007; Katchamart et al., 2020a). In our study, we found that gender was significantly higher in anti-CCP positive than in RF positive in RA patients. This study suggests a strong association between the severity of RA and the presence of anti CCP2 or ACPA in patients with RA. Specifically, a correlation with four known predictors of the severity of RA: age and familial ATCD revealed a significant association in RA patients with anti CCP2 or ACPA. Our results are consistent with those of other authors recommending that anti-CCP be included in the diagnostic criteria for RA and be

used as a marker of disease severity (Alawneh et al., 2014; Nehmar, 2020).

In the Moroccan data previously, the main factors associated with ACPA and RF levels were functional disability, structural damage and impaired quality of life (Ibn Yacoub et al., 2012a) (Syngle, Singh and Verma, 2019). Our results provide practical suggestions in daily practice. They suggest that the determination of RF and ACPA is useful, not only in the diagnostic and prognostic implication of "early" RA, but it is also useful in the prediction of clinical progress in the setting of a disease. For a long time, people who have RF and ACPA positivity should be treated quickly and aggressively to improve results.

5 CONCLUSION

Our RA patients with a high prevalence of RF and ACPA appear to have more active and severe disease and maybe the socio-demographic characteristics increase the probability of having RA disease. Our findings may help provide relevant information on the immunological profile of our RA patients.

They suggest that the determination of RF and ACPA is useful, not only in the diagnostic and prognostic implication of "early" RA, but it is also useful in the prediction in family history and inbred consanguine in the setting of this disease.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank all patients for their participation. They also would like to thank the entire rheumatology department's personal of the Military Hospital (Rabat, Morocco) and the National Blood Transfusion Center's personal (Rabat, Morocco).

REFERENCE

- Abdel-Nasser, A. M., Rasker, J. J. and Vaikenburg, H. A. (1997) 'Epidemiological and clinical aspects relating to the variability of rheumatoid arthritis', *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 27(2), pp. 123-140. doi: 10.1016/S0049-0172(97)80012-1.
- Abdel-Nasser, A. M. et al. (2008) 'Anti-CCP2 is an adjunct to, not a surrogate for, rheumatoid factor in the diagnosis of rheumatoid arthritis: diagnostic utility of anti-CCP2 antibodies in Egyptian patients with rheumatoid arthritis', *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 37(5), pp. 329-336. doi: 10.1080/03009740802116208.
- Alawneh, K. M. et al. (2014) 'Rheumatoid arthritis in Jordan: A cross sectional study of disease severity and

- associated comorbidities', *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 10(1), pp. 363–366. doi: 10.2147/TCRM.S62954.
- Almeida, M. do S. T. M., Almeida, J. V. M. and Bertolo, M. B. (2014) 'Demographic and clinical features of patients with rheumatoid arthritis in Piauí, Brazil – evaluation of 98 patients', *Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition)*, 54(5), pp. 360–365. doi: 10.1016/j.rbre.2014.02.018.
- Ambriz Murillo, Y. et al. (2015) 'Health related quality of life in rheumatoid arthritis, osteoarthritis, diabetes mellitus, end stage renal disease and geriatric subjects. experience from a general hospital in Mexico', *Reumatologia Clinica*, 11(2), pp. 68–72. doi: 10.1016/j.reuma.2014.03.006.
- Benbouazza, K. et al. (2011) 'Profile and course of early rheumatoid arthritis in Morocco: A two-year follow-up study', *BMC Musculoskeletal Disorders*, 12. doi: 10.1186/1471-2474-12-266.
- Bullinger, M. and Quitmann, J. (2014) 'Quality of life as patient-reported outcomes: principles of assessment', *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 16(2), pp. 137–145. doi: 10.31887/DCNS.2014.16.2/mbullinger.
- El-Zorkany, B. et al. (2016) 'Comparison of comorbidities of the Egyptian rheumatoid arthritis patients to the global cohort of the COMORA study: a post-hoc analysis', *Clinical Rheumatology*, 35(5), pp. 1153–1159. doi: 10.1007/s10067-015-3142-4.
- Fang, Q., Ou, J. and Nandakumar, K. S. (2019a) 'Autoantibodies as Diagnostic Markers and Mediator of Joint Inflammation in Arthritis', *Mediators of Inflammation*, 2019, pp. 1–22. doi: 10.1155/2019/6363086.
- Fang, Q., Ou, J. and Nandakumar, K. S. (2019b) 'Autoantibodies as Diagnostic Markers and Mediator of Joint Inflammation in Arthritis', *Mediators of Inflammation*, 2019, pp. 1–22. doi: 10.1155/2019/6363086.
- Guillemin, F. (2005) 'Prevalence of rheumatoid arthritis in France: 2001', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 64(10), pp. 1427–1430. doi: 10.1136/ard.2004.029199.
- Ibn Yacoub, Y. et al. (2012a) 'Health-related quality of life in Moroccan patients with rheumatoid arthritis', *Clinical Rheumatology*, 31(10), pp. 1471–1477. doi: 10.1007/s10067-012-2037-x.
- Ibn Yacoub, Y. et al. (2012b) 'Rheumatoid factor and antibodies against citrullinated peptides in Moroccan patients with rheumatoid arthritis: association with disease parameters and quality of life', *Clinical Rheumatology*, 31(2), pp. 329–334. doi: 10.1007/s10067-011-1820-4.
- Ibn Yacoub, Y. et al. (2012c) 'Rheumatoid factor and antibodies against citrullinated peptides in Moroccan patients with rheumatoid arthritis: Association with disease parameters and quality of life', *Clinical Rheumatology*, 31(2), pp. 329–334. doi: 10.1007/s10067-011-1820-4.
- Intriago, M. et al. (2019) 'Clinical Characteristics in Patients with Rheumatoid Arthritis: Differences between Genders', *Scientific World Journal*, 2019. doi: 10.1155/2019/8103812.
- Jawaheer, D. et al. (2010) *Gender, body mass index and rheumatoid arthritis disease activity: results from the QUEST-RA study NIH Public Access Author Manuscript, Clin Exp Rheumatol*.
- Kalla, A. A. et al. (1988) 'Clinical assessment of disease activity in rheumatoid arthritis: evaluation of a functional test', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 47(9), pp. 773–779. doi: 10.1136/ard.47.9.773.
- Katchamart, W. et al. (2015) 'Associations of rheumatoid factor and anti-citrullinated peptide antibody with disease progression and treatment outcomes in patients with rheumatoid arthritis', *Rheumatology International*, 35(10), pp. 1693–1699. doi: 10.1007/s00296-015-3271-8.
- Katchamart, W. et al. (2020a) 'Prevalence of and factors associated with depression and anxiety in patients with rheumatoid arthritis: A multicenter prospective cross-sectional study', *International Journal of Rheumatic Diseases*, 23(3), pp. 302–308. doi: 10.1111/1756-185X.13781.
- Katchamart, W. et al. (2020b) 'Prevalence of and factors associated with depression and anxiety in patients with rheumatoid arthritis: A multicenter prospective cross-sectional study', *International Journal of Rheumatic Diseases*, 23(3), pp. 302–308. doi: 10.1111/1756-185X.13781.
- Kim, H. H. et al. (2010) 'Correlation of Anti-Cyclic Citrullinated Antibody with Hand Joint Erosion Score in Rheumatoid Arthritis Patients', *The Korean Journal of Internal Medicine*, 25(2), p. 201. doi: 10.3904/kjim.2010.25.2.201.
- Kurowska, W. et al. (2017) 'The role of anti-citrullinated protein antibodies (ACPA) in the pathogenesis of rheumatoid arthritis', *Central European Journal of Immunology*, 42(4), pp. 390–398. doi: 10.5114/ceji.2017.72807.
- Mewar, D. and Wilson, A. G. (2006) 'Autoantibodies in rheumatoid arthritis: a review', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60(10), pp. 648–655. doi: 10.1016/j.biopha.2006.09.002.
- MIMORI, T. (2005a) 'Clinical Significance of Anti-CCP Antibodies in Rheumatoid Arthritis', *Internal Medicine*, 44(11), pp. 1122–1126. doi: 10.2169/internalmedicine.44.1122.
- MIMORI, T. (2005b) 'Clinical Significance of Anti-CCP Antibodies in Rheumatoid Arthritis', *Internal Medicine*, 44(11), pp. 1122–1126. doi: 10.2169/internalmedicine.44.1122.
- Namas, R. et al. (2019) 'Demographic and Clinical Patterns of Rheumatoid Arthritis in an Emirati Cohort from United Arab Emirates', *International Journal of Rheumatology*, 2019, pp. 1–10. doi: 10.1155/2019/3057578.
- Naranjo, A. et al. (2010) 'Smokers and non-smokers with rheumatoid arthritis have similar clinical status: Data from the multinational QUEST-RA database', *Clinical and Experimental Rheumatology*, 28(6), pp. 820–827.
- Nehmar, R. (2020) 'Contribution à l'étude de la pathogénèse de la polyarthrite rhumatoïde: analyse des mécanismes régulateurs de la réponse inflammatoire To cite this version: Contribution à l'étude de la pathogénèse de la Polyarthrite Rhumatoïde Analyse des mécanismes'.

-
- Oliver, J. E. and Silman, A. J. (2006) 'Risk factors for the development of rheumatoid arthritis.', *Scandinavian journal of rheumatology*, 35(3), pp. 169–74. doi: 10.1080/03009740600718080.
- Othman, M. A. et al. (2016) 'Correlation of Demographic and Clinical Characteristics with Rheumatoid Factor Seropositivity in Rheumatoid Arthritis Patients', *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 23(6), pp. 52–59. doi: 10.21315/mjms2016.23.6.6.
- Pérez, D. et al. (2017) 'Predictive autoimmunity using autoantibodies: screening for anti-nuclear antibodies', *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. doi: 10.1515/cclm-2017-0241.
- Rkain, H. et al. (2006) 'Socioeconomic impact of rheumatoid arthritis in Morocco', *Joint Bone Spine*, 73(3), pp. 278–283. doi: 10.1016/j.jbspin.2005.03.021.
- Sebbag, M. et al. (2004) *Intérêt clinique et rôle physiopathologique ... de la réponse auto-immune contre les protéines citrullinées dans la polyarthrite rhumatoïde* | Clinical and pathophysiological significance of the autoimmune response to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis, *Revue du Rhumatisme*.
- Singwe-Ngandeu, M. et al. (2010) 'Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptides and association with HLA-DRB1 shared epitope alleles in African rheumatoid arthritis patients', *Arthritis Research & Therapy*, 12(2), p. R36. doi: 10.1186/ar2945.
- Sokka, T. et al. (2009) 'Women, men, and rheumatoid arthritis: Analyses of disease activity, disease characteristics, and treatments in the QUEST-RA Study', *Arthritis Research and Therapy*, 11(1). doi: 10.1186/ar2591.
- Syngle, D., Singh, A. and Verma, A. (2019) 'Impact of rheumatoid arthritis on work capacity impairment and its predictors', *Clinical Rheumatology*. doi: 10.1007/s10067-019-04838-1.
- Trier, N. H. et al. (2019) 'Specificity of Anti-Citrullinated Protein Antibodies in Rheumatoid Arthritis', *Antibodies*, 8(2), p. 37. doi: 10.3390/antib8020037.
- Tron, F. (2014) 'Les auto-anticorps comme biomarqueurs', *Presse Medicale*, 43(1), pp. 57–65. doi: 10.1016/j.lpm.2012.11.025.
- Turesson, C. et al. (2007) 'Rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptides are associated with severe extra-articular manifestations in rheumatoid arthritis', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 66(1), pp. 59–64. doi: 10.1136/ard.2006.054445.
-

II. Article 3:

Characteristics and Factors Associated with Remission in Moroccan Patients with severe Rheumatoid Arthritis

Hakima Missoum^{1,2,*}, Hamza Toufik³, Mohammed Alami⁴, Najlae Adadi⁵, Rajae El Aouad⁶, Abdellah El Maghraoui³, Fatima Bachir⁷ and Youssef Bakri¹

¹Laboratory of Human Pathologies Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, and Genomic Center of Human Pathologies, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University in Rabat, Morocco

²Laboratory Autoimmunity, Department of Immunology, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco

³Mohammed V University, Faculty of Medicine and Pharmacy, Military Hospital, Rheumatology Department, Rabat, Morocco

⁴Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, Faculty of Science, Mohammed V University, Rabat, Morocco

⁵Department of Medical Genetics, National Institute of Health, Rabat, Morocco

⁶Hassan II Academy of Science and Technology Rabat, Morocco

⁷Scientifique Institute, Mohammed V University Rabat, Morocco

*Corresponding author: E-mail address: hkmissoum@yahoo.fr (H.Missoum).

ABSTRACT

Objective: to describe the sociodemographic and clinical characteristics of severe rheumatoid arthritis (RA) patients treated in Rheumatology department of the Military Hospital (Rabat, Morocco), to evaluate their current therapies and to determine the factors associated with remission.

Methods: We have performed a cross-sectional study of 111 patients with severe RA patients between September 2017 and April 2018. All patients were recruited from the Rheumatology department and their demographics, clinical, laboratory, and treatment data were collected.

Results: The mean age was 57.1 years, 84.7% of patients were female and 87.4% were over 45 years old. The mean BMI was 27.5. Of the total number of patients, 35.1% had a family history of RA. 20.7 % were inbred marriage, 12.5% reported active smoking, and 11.7% alcohol consumption and 6.31% were in depression. The mean disease duration was 12.14 ± 8.26 years. 77.5% of patients had comorbidities, in particular osteoporosis (47%), Sjögren's syndrome (34.2%), infection (33.3%) and hypertension (27%). The mean DAS28 at inclusion was 3.67 ± 1.73 and 32.4% were in remission ($\text{DAS28} \leq 2.6$). The mean HAQ score was 1.58 ± 0.64 . Rheumatoid factor (RF), anti-citrullinated peptide (CCP2) and anti-nuclear antibodies (ANA) were positive in 95.5 %, 80 % and 84.7% of patients respectively. For treatment, 87.4% patients were on oral corticosteroid therapy, 99.1 patients were on DMARDs and 63 % bDMARDs therapy. In DMARD 91.9% were on methotrexate (MTX), and for bDMARD 84.3% on Rituximab. The association of remission status and with RA patients' characteristics showed positive correlation with ACPA positivity ($P < 0.001$), ANA positivity ($P = 0.001$), bDMARD treatment ($P = 0.01$), less erosion, osteoporosis and lower HAQ. But the correlation was statistically significant for ACPA positivity ($P < 0.001$), ANA positivity ($P = 0.001$) and bDMARD treatment ($P = 0.01$).

Conclusions: This overview of disease characteristics will improve knowledge of disease severity and activity in the rheumatoid population treated in Moroccan hospitals, and may help in the evaluation of patient candidates for new treatments biological.

Keywords: severe rheumatoid arthritis, clinical characteristics, disease activity score (DAS-28), remission, Morocco population

1. Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease (MAI), characterized by inflammation and synovial hyperplasia, which leads more or less quickly to cartilaginous and bone destruction and, ultimately to functional disability. It can cause extra-articular systemic manifestations (skin, eye, heart, lung, renal, nervous and gastrointestinal systems).

The worldwide prevalence is between 0.5 to 1% [1] and in Morocco the number of estimated cases is around 350,000 [2]. The incidence is highest between 40 and 60 years of age and women are three times more affected than men [3]. The incidence, severity and outcome of the disease show variability between different ethnic groups [4]. This variability is linked to the socio-economic level and the level of development of countries, as well as to genetic and /or environmental factors [4–6].

Rheumatoid arthritis is defined according to the criteria of ACR/ EULAR 2010, integrating clinical, biological and radiological parameters [7].

Risk factors for RA include genetic susceptibility factors, gender, age, smoking, infectious agents, hormonal factors and ethnic factors [8]. Two important autoantibodies have been described in RA, rheumatoid factors (RF) and autoantibodies to citrullinated peptides/proteins (ACPA or CCP2) and are widely used [9–12]. Concerning information on demographic and clinical characteristics, therapy and co-morbidities in RA patients has been less explored in developing countries. These characteristics who not only lead to the worsening of the disease, but also to an increase in mortality and costs [13].

In Morocco, the incidence of RA has not yet been clearly established. However, the disease has a significant impact on socio-professional activity and the economic situation of patients [14,15].

The management and prognosis of rheumatoid arthritis (RA) have improved considerably in recent years, to the extent that it is considered, by some authors, to be a benign condition. Emerging treatments, including biologics and Janus kinase (JAK) inhibitors, have

Transformed the management of RA to the extent that remission is a reasonable expectation and is now a major therapeutic target to guide treatment in clinical practice [16,17]. In the context of developing countries such as Morocco, the use of biotherapy agents is limited by cost and low health coverage [11,18,19]. In patients with poor pronostic factors the use of biologic disease-modifying anti-rheumatic drugs (bDMARDs) is recommended after failure of methotrexate [20]. Clinical remission based on Disease Activity Score 28 (DAS28) is the most commonly used definition in clinical practice and clinical trials [21,22].

The purpose of this study was to describe the sociodemographic and clinical characteristics of RA patients treated in Rheumatology department of the Military Hospital (Rabat, Morocco), to evaluate their current therapies and to determine the factors associated with remission. Our results will provide information regarding the understanding of RA in the Moroccan population.

2. Materials and Methods

2.1. Study population and disease characteristics

This cross-sectional study involved 111 patients with severe RA hospitalized in the rheumatology department of the military hospital (Rabat, Morocco) between September 2017 and April 2018. The criteria used for the clinical diagnosis of RA are those described by the American College of Rheumatology (ACR)/European League Against Rheumatism (EULAR) for the classification of RA 2010 [21,22]. The calculated Disease Activity Index 28 C-Reactive Protein (DAS 28CRP) [23] and

the Health Assessment Questionnaire (HAQ) [24] were applied to RA patients in order to measure the clinical activity and functional disability, respectively. Exclusion criteria for RA patients were other inflammatory arthritis, including psoriatic arthritis, reactive arthritis, spondylarthropathy and inflammatory bowel disease. All involved patients signed a written informed consent. Ethics Committee approved this study for Biomedical Research of Faculty of Medicine and Pharmacy of Rabat (CERB) Morocco (Reference Number: 70/17).

Demographics, clinical, laboratory, and treatment data were collected. Socio-demographic information included: age, gender, the duration of evolution of RA, body mass index (BMI), Inbred marriage, smoking, familial history, alcohol, professional status, depression, erosion. Comorbidities information and extra-articular manifestations included, fracture, infection, vaccination, diabetes type2, hypertension, Hypercholesterolemia, Hypertriglyceridemia, cardiovascular disease, vascular cerebral disease, cancer, lung disease, digestive disease, osteoporosis and Sjogren syndrome. Laboratory variables included erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP) anti-cyclic citrullinated peptide (ACPA or anti-CCP2) and rheumatoid factor IgM (RF IgM), ANA. Radiographs (X-rays) of hands and feet were evaluated for the presence and location of joint erosion.

The treatment used for RA included oral corticosteroids, conventional synthetic anti-rheumatic drugs (DMARDs) (Methotrexate, leflunomide and sulfasalazine) and biotherapies: synthetic biologic anti-rheumatic drugs (bDMARDs) (Anti TNF alpha, Rituximab, Tocilizumab).

2.2 Immunological tests

The sera were tested by Indirect Immuno Fluorescence (IIF) for anti DNadb, ELISA for the identification of soluble anti-antigen antibodies ANA6 Profil and tested by Immunodot for anti-ANA antibodies profile 3 plus DFS70. All tests were performed at the

Autoimmunity Laboratory of the National Institute of Hygiene (Rabat, Morocco) using an automated system (Biorad system PhD™) and immunodot

1. Indirect immunofluorescence (IIF)

The test for anti-DNA antibodies was performed by IF using *Crithidia luciliae* (Bio-Rad Laboratories, CA) as substrate and the clinically significant titer was 1:5.

2. Enzyme -Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

The ANA6 profile antigens (anti smith antibody (Sm), anti-ribo-nucleoprotein antibodies (RNP), anti-Ro antibody (anti SSA), anti-la antibody (anti-SSB), anti histidyl-tRNA synthetase antibodies (jo1), anti-topoisomerase I antibody (Scl-70)) was performed by ELISA (Bio-Rad Laboratories. Positive anti-ENA was defined as a serum concentration >25EU

.Serum samples were processed in initial dilution of 1:101 for the detection of anti- anti-ANA6 profile.

2.2.3 Immunodot

The immunodot technique was used to search for other antigens specificities, which are not detected by Elisa ANA 6 profile. The anti-ANA antibodies profile 3 plus DFS70 (Euroline/Euroimmun), Such as SSA/Ro-52, Dense Fine Speckled (DFS70), PM/Scl (PM-100), centromere-protein (CENPB), Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA), Nucleosome, Histone (HIS), proteins ribosomal (RIB), mitochondrial antibodies (AMA-M2) et parietal cell antibodies (PCA) was used.

2.3 Statistique analyses

Socio-demographic characters were described as mean and standard deviation (SD) and number and percentage for categorical data.

Statistical analyses were performed using STATISTICA StatSoft 12.0 Software (Tulsa, Oklahoma, USA). The relationship between the socio-demographic characters of patients with RA and control groups was determined

using Chi-square χ^2 . Prevalence ratio (PR) was used for the assessment of risk factors. Statistical significance for all tests was set at the level of $p \leq 0.05$ using descriptive statistics.

All patients were stratified based on RF and ACPA status into four groups: RF+/ACPA+, RF+/ACPA-, RF-/ACPA+, and RF-/ACPA-. Comparisons of demographic and treatment characteristics between different RF and ACPA status were performed using the Chi-square test χ^2 , Prevalence ratio (PR) as appropriate for categorical data. A p-value of <0.05 was considered statistically significant.

3. Results

3.1 Sociodemographic and clinical characteristics

111 patients were assessed and included in the analysis. The mean age was 57.1 years and 84.7% of patients were female, which corresponds to a female to male ratio of 5,5: 1 (94 women and 17 men) and 94% of the patients was over 45 years old. The mean BMI was 27.5. 35.1% of patients had a family history of RA. Of the total number of patients 12.5% reported active smoking, 11.7% alcohol consumption and 6.31% were in depression.

Mainly all patients were married, 20.7 % were inbred marriage and 30% had menopause. According to occupational status, 69% of the patients were housewives, 13 % were retired, 12% were housekeepers, 6% were civil servants.

Regarding the time of progression of the disease from the moment of diagnosis, we found an average of 12.14 ± 8.26 years with a minimum value of 1 years (diagnosed on admission) and a maximum value of 35 years. 6.3% of patients had less than 24 months of disease progression at the time of admission; however, in total 57.6% of patients had more than 9 years of disease progression, which represents the chronicity of this pathology.

Serum rheumatoid factor levels were positive in 95.5% (106/111) of patients and anti-citrullinated peptide antibodies were present in 80% ($n = 84/111$) of patients. Based on RF and ACPA status, there were 80% of patients RF + / ACPA +, 14.4% RF+/ACPA-, none with RF-/ ACPA+ and 2.4 % RF-/ACPA-. The mean ESR and CRP were respectively 34.04 ± 25.01 and 23.19 ± 28.62 . There were erosions on X-rays in 62.2 % of patients. The characteristics of the study RA patients are shown in Table 1,

3.2 Risk factors and comorbidities

Of the total number of patients 12.5% reported active smoking. 77.5% of patients had comorbidities associated with the diagnosis of RA, especially osteoporosis (47%), Sjögren's syndrome (34.2%) according to the criteria of the American European Consensus Group (CETA)[32], infection (33.3%) and hypertension (27%). Table1 describes the frequency of comorbidities in RA patients.

3.3 Level of activity and functional status of the disease

The level of activity (DAS-28 CRP) of the patients at inclusion were calculated from 105 patients for whom there was complete information (Table 1). The mean of disease-related activity was moderate (3.67 ± 1.73). Patients were then stratified into four categories according to DAS-28 CRP score, 32.4 % of patients were in remission, as defined by a score ≤ 2.6 . 15.2% of patients were of low disease activity DAS-28 CRP ≤ 3 . 23.28% were of moderate disease activity as DAS-28 CRP ≤ 5.1 . 28.6% of patients were high of disease activity as DAS28 >5.1 .

According to HAQ, patients showed some degree of functional disability to perform daily activities (mean HAQ-DI = 1.58 ± 0.64), with HAQ light in 22.5% of patients, 49.6 % of patients had moderate HAQ score and 27.9% had HAQ severe.

3.4 Immunological status

The prevalence of autoantibodies detected in all sera was presented in table 3. At diagnostic of the total number of patients, ANA were positive in 84.68% (94/111). The most frequently observed fluorescence appearance aspects of ANA by IFI technique, were speckled (53.2%) and homogeneous (23.4%) followed by nucleolar (11.7%), homogeneous and speckled (4.3%), speckled and nucleolar (3.2%), cytoplasmic fluorescence (2.1%) and PCNA (1.1%) aspects. At the time of inclusion, the ANA positive patients were tested positive anti- dsDNA in 5.4 % (50/94) and for anti-ENA in 45% (50/94). Anti-ENA autoantibodies anti-SSA 64kD showed the highest specificities in RA patients (30%), anti-SSB were present in 12% of cases, anti- Scl-70 in 10%, anti-SSA / Ro52 KD and anti- DFS70 present respectively in 8% of cases, anti-Sm/RNP were present in 6% of cases, anti-joint, histone, Nucleosome, PM-SCL100 (PM100) and AMA-M2 were of low frequency in 4% patients and anti-centromere B (CB), ribosomal protein (RIB), anti-Sm antibody were present only in 2% of cases respectively.

3.5 Medications

As shown on Table 1, of all RA patients 97(87.4%) were on oral corticosteroid therapy and 110 (99.1%) patients were on one or more disease-modifying anti-rheumatic drugs DMARDs or bDMARDs. In DMARD therapy of which 91.9% are on methotrexate (MTX), 22.5% on Salazopyrine and 4.5% on leflunomide and 63% were on bDMARD therapy. In background bDMARD therapy Rituximab (RTX) in 17patients (84.3%) (Anti-CD20, Mabthera, Abatacept), Anti-TNFalpha in 17 patients (24.3%) ((Etanercept (Eubrel), Infliximab (Remicade), Humira) and Tocilizumab (TCZ) in 10 patients (14.3 %).

3.6 Correlation of the characteristics of RA patients with remission

The Association of remission with demographics, clinical, laboratory, and treatment of RA patients was presented in table 3. According to DAS 28 (CRP), 34.4%

(43/105) patients had DAS 28 (CRP) < 2.6 and were in remission. Patients in remission showed less erosion, osteoporosis and lower HAQ than those without remission but the correlation was statistically not significant. The correlation was statistically significant for ACPA positivity ($P < 0.001$), ANA positivity ($P = 0.001$) and bDMARD treatment ($P = 0.01$). There was no significant difference according to age, BMI values, menopause, tobacco, alcohol, consanguineous marriage, duration of disease course, RF, *MEFV* mutations, infection, hypertension, fracture, lung disease, digestive disease, Sjogren's syndrome, depression, cancer, corticoid and DMARDs treatment.

4. Discussion

Rheumatoid arthritis is a heterogeneous disease, with variable clinical presentation and characteristics (38). Data on RA severe in the Morocco is scarce. The present study describes the characteristics and factors associated with remission in a group of 111 patients with a diagnosis of RA severe who were referred to specialized Rheumatology unit and being actively treated with disease-modifying drugs including bDMARDs. These characteristics correspond to those reported in previous studies, representing a similar burden of the disease with a high prevalence of comorbidities, typical of a chronic degenerative disease.

When analyzing the distribution by gender, we observed a greater predominance of female gender with prevalence of 84.68 % and sex ratio of 5.5:1. Which is comparable to previous cohorts from the United Arab Emirates (4:1), Iran (7:1), Algeria (5.9:1), Latin American countries (5.2:1) and South Africa (6.9:1)[25–27] , but it is higher than European countries and the USA where the ratio is 3:1 [28]. The female preponderance may be more related to clinical, demographic factors or hormones, which have complex effects on the immune system [29]. This might explain why women

are much more likely to develop RA than men. However, the explanation of why the disease is uncommon in men remains misunderstood and should be studied in detail in future research. Differential behavior by gender has been reported, lower proportion of men consult and / or underestimate symptoms [30]. Female sex has been reported to be a predictive factor of the prognosis of RA. Disability progression is three times faster in women than in men [31,32].

We found in RA patients 11% were smokers, this result is similar to what has been reported in the literature (9.2%,10.6%) [25]. Smoking is well recognized as an important factor in the etiology and severity of RA[25]. This low frequency was due to the high number of women in our series.

Regarding consanguineous marriage, we found a high prevalence, which raises the question of genetic predisposition as a potential explanatory factor. We have found that depression has a low prevalence in our population. This was due to an effect on the management of RA.

We also found that the frequency of erosion was very high. Regarding the professional statut of housewives was higher in our patients RA patients, followed by retired and housekeeper.

Regarding comorbidities, our study shows that most patients with RA suffer from osteoporosis, Sjögren's syndrome, infection and hypertension. Our data are similar to that reported in the literature[25],[31],[28,33]. Comorbidity remains a major problem for patients with RA in all countries[34], it adds significant complexity to patient care, making diagnostic and treatment decisions more difficult [28].

The highest frequency of extra-articular manifestations observed (osteoporosis (47%), Sjogren's Syndrome , pulmonary, cardiovascular) during RA were in agreement with literature [35–37]. Extra-articular manifestations in RA are very common and

affect all organs. Half of our patients developed systemic involvement. The occurrence of these manifestations is associated with several factors. The long course of the disease is a factor described in several works including this study. The advanced age is also the peculiarity of our population. But the prevalence of cancer was very deficient in our study due to the lack of regular screening given the socio-economic status of patients.

This study showed that most of the patients belong to the high or moderate disease category (67.8%) and 32.4% were in remission. The rate of patients with HAQ score greater than 1.5 was 27.9%. When patients were grouped according to DAS 28 scores, it was observed that groups with DAS 28 scores below 2.6, the HAQ were low compared to the non-remission group of the same for erosion. These observations have already been shown in other studies[38].

In RA studies remission rates vary from 3% to 68% [39] depending on the selection of remission criteria, patient selection, length of follow-up period, and therapy. Similarly, a high remission rate was reported in Finland (36%) and in the USA (36%)[40]. Regional data from the United Arab Emirates were not similar to our results a mean DAS 28 of 5.2 and that 12% of their patients were in the low activity categories of disease or remission[41] . In another regional study by Lutf et al, findings were different from our study in a heterogeneous group of patients with RA. Their mean DAS 28 was 2.85, 49% were in remission[42]. But, our remission was very high in comparison with Algeria (14%), these are due to our patients taking biotherapy. In Western populations, the mean DAS 28 was not similar to our findings. In the ESPOIR cohort, the mean DAS 28 was 5.1 but the remission rate was similar (30%) to our present study [43]. This difference may be explained by the better access to care and availability of more biological agents. Several studies have identified different factors influencing the

choice of the first line of bDMARDs in patients with RA.

Correlation of the characteristics of patients with RA and their remission status showed positive association of remission with ACPA positivity ($P < 0.001$). These results are comparable to those in the literature [44,45]. ACPA positivity was correlated with better therapeutic response; therefore, our patients were better managed.

RA was associated with anti-CCP positivity, longer duration of illness, and better scores for all PROMs. Current literature suggests that remission can be achieved equally in antibody positive and negative patients, although the quality of remission is less stringent, as anti-CCP positive patients tend to have more tender joints and residual swelling [22]. In addition, the disappearance of clinical disease is not accompanied by changes in the humoral response of ACPA in serum[45].

Of total of our patients, ANA positivity was 84.7%. ANA was positive in 94.1% of patients with DAS 28 score below 2.6 and, in 78.9% of patients with DAS 28 score above 2.6. The difference between these groups was very significant ($P = 0.001$). The presence of ANA is due to extra-articular autoimmune manifestation such as Sjogreen syndrome and lung disease in our population. These results were confronted by the antigenic specificity of ANA found, 30% anti-SSA/Ro64 Kd, 12%, anti-SSB/La, 8% anti-SSA/Ro52kd and anti-DFS70. Anti-DFS70 is considered to be a positive predictor for the development of systemic rheumatic autoimmune disease [46]. These results are comparable to those in the literature[47–49]. It was observed that the disappearance of autoantibodies rarely occurred and that patients who obtained the best possible result from RA did not become seronegative more often than patients with persistent disease[45]. RA was a chronic inflammatory disease and the pathology

produced by auto antibodies contributes to the inflammation and destruction of the joints[50].

bDMARDs were used in 63% in our patients. In other studies, the rate of bDMARD use varied between 72% and 89%. As the majority of our patients had severe RA, bDMARD was used more in patients with a DAS 28 score (above) 2.6. According to the literature despite the advent of biotherapy, 30% of patients do not achieve remission [51].

5. Conclusion

This present study will be a recent report on the data describing the clinical characteristics of severe RA and would greatly help to assess the real clinical benefit of these treatments for patients.

In a population of rheumatoid arthritis treated by hospital rheumatologists, the disease was in remission or less active in 34% of cases and severe in more than two-thirds of cases.

recorded for RA patients in Western populations.

This insight into the characteristics of the disease will improve the knowledge of the severity and activity of the disease in the rheumatoid population treated in Moroccan hospitals, and may help in the evaluation of patients who are candidates for new biological treatments.

This study is a real-life design in a developing African country and provides information on remission in a cohort of patients with severe RA receiving bDMARDs.

Clinical remission is an important outcome in the management of RA and has many applications both in clinical practice and in the regulatory approval of new therapies. Achieving clinical remission can promote better disease control and is associated with substantial economic benefits.

REFERENCE

- [1] F. Guillemain, Prevalence of rheumatoid arthritis in France: 2001, *Ann. Rheum. Dis.* 64 (2005) 1427–1430.
<https://doi.org/10.1136/ard.2004.029199>.
- [2] R. Niamane, R. Bahiri, I. El Bouchti, T. Harzy, L. Ichchou, S. Larhissi, S. Maaroufi, L. Najdi, A. El Maghraoui, Recommendations of the Moroccan Society of Rheumatology for the management of rheumatoid arthritis: update of the 2011 reference frame, *Rev Mar Rhum.* 30 (2014) 3–13.
- [3] T. Sokka, S. Toloza, M. Cutolo, H. Kautiainen, H. Makinen, F. Gogus, V. Skakic, H. Badsha, T. Peets, A. Baranaukaite, P. Géher, I. Újfalussy, F.N. Skopouli, M. Mavrommati, R. Alten, C. Pohl, J. Sibilia, A. Stancati, F. Salaffi, W. Romanowski, D. Zarowny-Wierzbinska, D. Henrohn, B. Bresnihan, P. Minnock, L.S. Knudsen, J.W.G. Jacobs, J. Calvo-Alen, J. Lazovskis, G. da R. Castelar Pinheiro, D. Karateev, D. Andersone, S. Rexhepi, Y. Yazici, T. Pincus, Women, men, and rheumatoid arthritis: Analyses of disease activity, disease characteristics, and treatments in the QUEST-RA Study, *Arthritis Res. Ther.* 11 (2009).
<https://doi.org/10.1186/ar2591>.
- [4] G.J. Tobón, P. Youinou, A. Saraux, The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis, *J. Autoimmun.* 35 (2010) 10–14.
<https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.12.009>.
- [5] H.M. Farouk, H.E. Mansour, S.A. Rahman, A.A. Mostafa, H.A. Shamy, W.A. Zarouk, Effect of the human leukocyte antigen HLA-DRB1 and anti-cyclic citrullinated peptide on the outcome of rheumatoid arthritis patients, *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 42 (2009) 831–838.
<https://doi.org/10.1590/S0100-879X2009000900010>.
- [6] J. Roudier, N. Balandraud, B. Mugnier, S. Guis, D. Revron, C. Roudier, I. Auger, Role of HLA-DR molecules in the development of rheumatoid arthritis, *Rev. Rhum.* 72 (2005) 287–289.
<https://doi.org/10.1016/j.rhum.2005.01.005>.
- [7] C. Richez, T. Barnetche, T. Schaefferbeke, M.-E. Truchetet, La polyarthrite rhumatoïde: une physiopathologie mieux connue?, *Rev. Du Rhum. Monogr.* 84 (2017) 311–317.
<https://doi.org/10.1016/j.monrhu.2017.07.006>.
- [8] M.A. Othman, W.S. Wan Ghazali, N.K. Yahya, K.K. Wong, Correlation of Demographic and Clinical Characteristics with Rheumatoid Factor Seropositivity in Rheumatoid Arthritis Patients, *Malaysian J. Med. Sci.* 23 (2016) 52–59.
<https://doi.org/10.21315/mjms2016.23.6.6>.
- [9] D. Mewar, A.G. Wilson, Autoantibodies in rheumatoid arthritis: a review, *Biomed. Pharmacother.* 60 (2006) 648–655.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2006.09.002>.
- [10] Q. Fang, J. Ou, K.S. Nandakumar, Autoantibodies as Diagnostic Markers and Mediator of Joint Inflammation in Arthritis, *Mediators Inflamm.* 2019 (2019) 1–22.
<https://doi.org/10.1155/2019/6363086>.
- [11] Y. Yacoub Ibn, B. Amine, B. AssiaLaatiris, F. Wafki, F. Znat, N. Hajjaj-Hassouni, Fatigue and severity of rheumatoid arthritis in moroccan patients, *Rheumatol. Int.* 32 (2012) 1901–1907.
<https://doi.org/10.1007/s00296-011-1876-0>.
- [12] M. Singwe-Ngandeu, A. Finckh, S. Bas, J.-M. Tiercy, C. Gabay, Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptides and association with HLA-DRB1 shared epitope alleles in African rheumatoid arthritis patients, *Arthritis Res. Ther.* 12 (2010) R36.
<https://doi.org/10.1186/ar2945>.
- [13] S.E. Gabriel, K. Michaud, Epidemiological studies in incidence, prevalence, mortality, and comorbidity of the rheumatic diseases, *Arthritis Res. Ther.* 11 (2009) 229.
<https://doi.org/10.1186/ar2669>.
- [14] T. Kojima, A. Kaneko, Y. Hirano, H. Ishikawa, H. Miyake, T. Oguchi, H. Takagi, Y. Yabe, T. Kato, T. Ito, K. Terabe, N. Fukaya, Y. Kanayama, T. Shioura, K. Fumashii, M. Hayashi, D. Kato, H. Matsubara, T. Fujibayashi, M. Kojima, N. Ishiguro, Study protocol of a multicenter registry of patients with rheumatoid arthritis starting biologic therapy in Japan: Tsunumi Biologics Communication Registry (TBCR) Study, *Mod. Rheumatol.* 22 (2012) 339–345.
<https://doi.org/10.1007/s10165-011-0518-4>.
- [15] M.L. Hetland, D.V. Jensen, N.S. Krogh, Monitoring patients with rheumatoid arthritis in routine care: Experiences from a treat-to-target strategy using the DANBIO registry, *Clin. Exp. Rheumatol.* 32 (2014) S141–S146.
- [16] J.S. Smolen, R. Landewé, J. Bijlsma, G. Burmester, K. Chatzidionysiou, M. Dougados, J. Nam, S. Ramiro, M. Voshaar, R. Van Vollenhoven, D. Aletaha, M. Aringer, M. Boers, C.D. Buckley, F. Buttgerit, V. Bykerk, M. Cardiel, B. Combe, M. Cutolo, Y. Van Eijk-Hustings, P. Emery, A. Finckh, C. Gabay, J. Gomez-Reino, L. Gossec, J.E. Gottenberg, J.M.W. Hazes, T. Huizinga, M. Jani, D. Karateev, M. Kouloumas, T. Kvien, Z. Li, X. Mariette, I. McInnes, E. Mysler, P. Nash, K. Pavelka, G. Poór, C. Richez, P. Van Riel, A. Rubbert-Roth, K. Saag, J. Da Silva, T. Stamm, T. Takeuchi, R. Westhovens, M. De Wit, D. Van Der Heijde, EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update, *Ann. Rheum. Dis.* 76 (2017) 960–977.
<https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-210715>.
- [17] J. Pope, R. Sawant, N. Tundia, E.X. Du, C.Z. Qi, Y. Song, P. Tang, K.A. Betts, Comparative Efficacy of JAK Inhibitors for Moderate-To-Severe Rheumatoid Arthritis: A Network Meta-Analysis, *Adv. Ther.* 37 (2020) 2356–2372.
<https://doi.org/10.1007/s12325-020-01303-3>.
- [18] T. Sokka, H. Kautiainen, T. Pincus, S.M.M. Verstappen, A. Aggarwal, R. Alten, D. Andersone, H. Badsha, E. Baeklund, M. Belmonte, J. Craig-Müller, L.M.H. da Mota, A. Dimic, N.A. Fathi, G. Ferraccioli, W. Fukuda, P. Géher, F. Gogus, N. Hajjaj-Hassouni, H. Hamoud, G. Haugeberg, D. Henrohn, K. Horslev-Petersen, R. Ionescu, D. Karateew, R.

- Kuuse, I.M.M. Laurindo, J. Lazovskis, R. Luukkainen, A. Moffi, E. Murphy, A. Nakajima, O. Oyoo, S.C. Pandya, C. Pohl, D. Predeteanu, M. Rexhepi, S. Rexhepi, B. Sharma, E. Shono, J. Sibilia, S. Sierakowski, F.N. Skopouli, S. Stropuviene, S. Toloza, I. Valter, A. Woolf, H. Yamanaka, Work disability remains a major problem in rheumatoid arthritis in the 2000s: Data from 32 countries in the QUEST-RA Study, *Arthritis Res. Ther.* 12 (2010) R42. <https://doi.org/10.1186/ar2951>.
- [19] M. Elleudi, A. El Maghraoui, B. Griene, M. Nejmi, S. Ndongo, A. Serrie, Consensus formalisé: Recommandations de pratiques cliniques pour la prise en charge de la lombalgie aiguë du patient africain, *Pan Afr. Med. J.* 22 (2015) 2817–2823. <https://doi.org/10.11604/pamj.2015.22.240.8120>.
- [20] Y. Lemrhari, M. Ghazi, I. El Bouchti, R. Niamane, S. De Rhumatologie, H.M. Avicenne, M. Maroc, Les formes sévères de polyarthrite rhumatoïde au Maroc: que peut-on proposer aux patients indigents?, *Rev Mar Rhum.* 40 (2017) 24–33. <https://doi.org/10.24398/rmr.a.247.2017>.
- [21] H. Canhão, A.M. Rodrigues, M.J. Gregório, S.S. Dias, J.A.M. Gomes, M.J. Santos, A. Faustino, J.A. Costa, C. Allaart, E. Gvozdenovic, D. van der Heijde, P. Machado, J.C. Branco, J.E. Fonseca, J.A. Silva, Common evaluations of disease activity in rheumatoid arthritis reach discordant classifications across different populations, *Front. Med.* 5 (2018) 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00040>.
- [22] H.L. Gul, G. Eugenio, T. Rabin, A. Burska, R. Parmar, J. Wu, F. Pondich, P. Emery, Defining remission in rheumatoid arthritis: Does it matter to the patient? A comparison of multi-dimensional remission criteria and patient reported outcomes, *Rheumatol. (United Kingdom)*. 59 (2020) 613–621. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kez330>.
- [23] A. Gülfe, D. Aletaha, T. Saxne, P. Geborek, Disease activity level, remission and response in established rheumatoid arthritis: Performance of various criteria sets in an observational cohort, treated with anti-TNF agents, *BMC Musculoskelet. Disord.* 10 (2009) 41. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-10-41>.
- [24] T. Solka, E. Krishnan, A. Häkkinen, P. Hannonen, Functional disability in rheumatoid arthritis patients compared with a community population in Finland, *Arthritis Rheum.* 48 (2003) 59–63. <https://doi.org/10.1002/art.10731>.
- [25] R. Namas, A. Joshi, Z. Ali, J. Al Saleh, M. Abuzakouk, Demographic and Clinical Patterns of Rheumatoid Arthritis in an Emirati Cohort from United Arab Emirates, *Int. J. Rheumatol.* 2019 (2019) 1–10. <https://doi.org/10.1155/2019/3057578>.
- [26] M. Sandoughi, M.A. Kaykhaei, M. Shahrakipoor, R. Darvishzadeh, M. Nikbakht, S. Shahbakhsh, Z. Zakeri, Clinical manifestations and disease activity score of rheumatoid arthritis in southeast of Iran, *Rheumatol. Res.* 2 (2017) 61–64. <https://doi.org/10.22631/r.2017.69997.1019>.
- [27] S. Slimani, A. Abbas, A. Ben Ammar, D. Kebaili, E.H. Ali, F. Rahal, M.C. Khamari, A. Baltache, I. Khider, R. Chihoub, K. Khelif, S. Akbi, S. Rahmani, C. Dahou-Makhloufi, N. Brahimi-Mazouni, S. Abtroun-Bennadi, A. Ladjouze-Rezig, Characteristics of rheumatoid arthritis in Algeria: a multicenter study, *Rheumatol. Int.* 34 (2014) 1235–1239. <https://doi.org/10.1007/s00296-014-2981-7>.
- [28] J. Al-Bishri, S. Attar, N. Bassuni, Y. Al-Nofaiey, H. Qutbuddeen, S. Al-Harthi, S. Subahi, Comorbidity Profile among Patients with Rheumatoid Arthritis and the Impact on Prescriptions Trend, *Clin. Med. Insights Arthritis Musculoskelet. Disord.* 6 (2013) CMAMD.S11481. <https://doi.org/10.4137/CMAMD.S11481>.
- [29] D. Alpizar-Rodriguez, N. Pluchino, G. Canny, C. Gabay, A. Finckh, The role of female hormonal factors in the development of rheumatoid arthritis, *Rheumatology*. (2016) kew318. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew318>.
- [30] W. Bautista-Molano, D. Fernández-Avila, R. Jiménez, R. Cardozo, A. Marín, M. del P. Soler, O. Gómez, O. Ruiz, Perfil epidemiológico de pacientes colombianos con artritis reumatoide evaluados en una clínica especializada de atención integral, *Reumatol. Clin.* 12 (2016) 313–318. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2015.11.009>.
- [31] B. El-Zorkany, A. Mokbel, S.M. Gamal, M. Mousa, M. Youssef, I. Hnamoudi, Comparison of comorbidities of the Egyptian rheumatoid arthritis patients to the global cohort of the COMORA study: a post-hoc analysis, *Clin. Rheumatol.* 35 (2016) 1153–1159. <https://doi.org/10.1007/s10067-015-3142-4>.
- [32] S.H. Allaire, J.J. Anderson, R.F. Meenan, Reducing work disability associated with rheumatoid arthritis: Identification of additional risk factors and persons likely to benefit from intervention, *Arthritis Care Res. (Hoboken)*. 9 (1996) 349–357. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(199610\)9:5<349::AID-ANR1790090503>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1529-0131(199610)9:5<349::AID-ANR1790090503>3.0.CO;2-G).
- [33] A.M. Abdel-Nasser, M.H. Mahmoud, T.M. El Mansoury, A.M. Osman, Anti-CCP2 is an adjunct to, not a surrogate for, rheumatoid factor in the diagnosis of rheumatoid arthritis: diagnostic utility of anti-CCP2 antibodies in Egyptian patients with rheumatoid arthritis, *Scand. J. Rheumatol.* 37 (2008) 329–336. <https://doi.org/10.1080/03009740802116208>.
- [34] K.L. Grøn, L.M. Ombjerg, M.L. Hetland, F. Aslam, N.A. Khan, J.W.G. Jacobs, D. Henrohn, J.J. Rasker, M.J. Kauppi, H.-C. Lang, L.M.H. Mota, A. Aggarwal, H. Yamanaka, H. Badsha, L. Gossec, M. Cutolo, G. Ferraccioli, E. Gremese, E. Bong Lee, N. Inanc, H. Direskeneli, P. Taylor, M. Huisman, R. Alten, C. Pohl, O. Oyoo, S. Stropuviene, A.A. Drosos, E. Kerzberg, C. Ancuta, A. Moffi, M. Bergman, J. Detert, Z.I. Selim, E.A. Abda, B. Rexhepi, T. Solka, The association of fatigue, comorbidity burden, disease activity, disability and gross domestic product in patients with rheumatoid

- arthritis. Results from 34 countries participating in the Quest-RA program., *Clin. Exp. Rheumatol.* 32 (2014) 869–77. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25327997> (accessed June 20, 2020).
- [35] M. Cojocaru, I.M. Cojocaru, I. Silosi, C.D. Vrabie, R. Tanasescu, Extra-articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis., *Maedica (Buchar).* 5 (2010) 286–91. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21977172> (accessed June 17, 2020).
- [36] M. Prete, V. Racanelli, L. Digiglio, A. Vacca, F. Dammacco, F. Perosa, Extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis: An update, *Autoimmun. Rev.* 11 (2011) 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.09.001>.
- [37] S. Ksir, N. Akasbi, K. Efemba, A. El Aissoui, K. El Kinany, T. Harzy, Factors Associated with Extra Articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis, *Int. J. Med. Surg.* 6 (2019) 5–9. <https://doi.org/10.15342/ijms.v6ir.277>.
- [38] H. Badsha, K.O. Kong, P.P. Tak, Rheumatoid arthritis in the United Arab Emirates, *Clin. Rheumatol.* 27 (2008) 739–742. <https://doi.org/10.1007/s10067-007-0782-z>.
- [39] H. Mäkinen, P. Hammonen, T. Sokka, Definitions of remission for rheumatoid arthritis and review of selected clinical cohorts and randomised clinical trials for the rate of remission, *Clin. Exp. Rheumatol.* 24 (2006).
- [40] T. Sokka, M.L. Hetland, H. Mäkinen, H. Kautiainen, K. Horslev-Petersen, R.K. Luukkainen, B. Combe, H. Badsha, A.A. Drosos, J. Devlin, G. Ferraccioli, A. Morelli, M. Hoekstra, M. Majdan, S. Sadkiewicz, M. Belmonte, A.C. Holmqvist, E. Choy, G.R. Bunnester, R. Tunc, A. Dimić, J. Nedović, A. Stanković, M. Bergman, S. Toloza, T. Pincus, Remission and rheumatoid arthritis data on patients receiving usual care in twenty-four countries, *Arthritis Rheum.* 58 (2008) 2642–2651. <https://doi.org/10.1002/art.23794>.
- [41] H. Badsha, K.O. Kong, P.P. Tak, Rheumatoid arthritis in the United Arab Emirates, *Clin. Rheumatol.* 27 (2008) 739–742. <https://doi.org/10.1007/s10067-007-0782-z>.
- [42] A. Lutf, A.R. Poil, M. Hammoudeh, Characteristics of patients with rheumatoid arthritis in Qatar: a cross-sectional study, *Int. J. Rheum. Dis.* 17 (2014) 63–65. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.12135>.
- [43] B. Combe, J. Benessiano, F. Berenbaum, A. Cantagrel, J.P. Daurès, M. Dougados, P. Fardellone, B. Fautrel, R.M. Flipo, P. Goupille, F. Guillemain, X. Le Loet, I. Logeart, X. Mariette, O. Meyer, P. Ravaut, N. Rindieval, A. Saraux, T. Schaeferbeke, J. Sibilia, The ESPOIR cohort: A ten-year follow-up of early arthritis in France. Methodology and baseline characteristics of the 813 included patients, *Jt. Bone Spine.* 74 (2007) 440–445. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2007.06.001>.
- [44] M. Fornaro, F. Cacciapaglia, G. Lopalco, V. Venerito, F. Iamone, Predictors of long-term clinical remission in rheumatoid arthritis, *Eur. J. Clin. Invest.* 51 (2021) 1–7. <https://doi.org/10.1111/eci.13363>.
- [45] D.M. Boeters, L.E. Burgers, R.E.M. Toes, A. Van Der Helm-Van Mil, Does immunological remission, defined as disappearance of autoantibodies, occur with current treatment strategies? A long-term follow-up study in rheumatoid arthritis patients who achieved sustained DMARD-free status, *Ann. Rheum. Dis.* 78 (2019) 1497–1504. <https://doi.org/10.1136/ANNRHEUMDIS-2018-214868>.
- [46] K.S. Malyavantham, L. Suresh, Simultaneous distinction of monospecific and mixed DFS70 patterns during ANA screening with a novel HEP-2 ELITE/DFS70 knockout substrate, *J. Vis. Exp.* 2018 (2018). <https://doi.org/10.3791/56722>.
- [47] A. Gülfe, D. Aletaha, T. Saxne, P. Geborek, Disease activity level, remission and response in established rheumatoid arthritis: Performance of various criteria sets in an observational cohort, treated with anti-TNF agents, *BMC Musculoskelet. Disord.* 10 (2009) 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-10-41>.
- [48] H. Bodur, Ş. Ataman, L. Akbulut, D. Evcik, V. Kavuncu, T. Kaya, R. Günaydin, B. Kuran, N. Kotevoğlu, A. Bal, E. Aydoğ, Z. Altay, H. Uğurlu, H. Kocabaş, N. Ölmez, P. Yazgan, S. Gürsoy, E. Madenci, S. Özel, S.Ü. Delialioğlu, Characteristics and medical management of patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis, *Clin. Rheumatol.* 27 (2008) 1119–1125. <https://doi.org/10.1007/s10067-008-0877-1>.
- [49] K. Luong Ba, C. Gabay, [Disease modifying antirheumatic drugs], *Rev. Med. Suisse.* 10 (2014) 595–6, 598, 600–2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24701712>.
- [50] G. Pongratz, R. Frieser, R. Brinks, M. Schneider, W. Hartung, M. Fleck, B. Ehrenstein, Association between autoantibody level and disease activity in rheumatoid arthritis is dependent on baseline inflammation., *Clin. Exp. Rheumatol.* (2019). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31858962> (accessed January 26, 2020).
- [51] M. Eddaoudi, S. Rostom, I. Hmamouchi, I. El Binoune, B. Amine, R. Abouqal, L. Achemlal, F. Allali, I. El Bouchti, A. El Maghraoui, I. Ghoulani, H. Hassikou, T. Harzy, L. Ichchou, O. Mkinsi, R. Niamane, R. Bahiri, The first biological choice in patients with rheumatoid arthritis: Data from the moroccan register of biotherapies, *Pan Afr. Med. J.* 38 (2021) 183. <https://doi.org/10.11604/pamj.2021.38.183.27081>.

Table 1: Baseline characteristics of the patients with RA and control groups.

Characteristics	Patients
Total	111
Gender	
• Female	84.7 % (94)
• Male	15.3 % (17)
Age	57.09 ± 12.21
• ≤ 45	12.6 % (14)
• > 45	87.4 % (97)
BMI	27.47 ± 5.04
• > 25	34.9 % (38)
• ≤ 25	65.1 % (71)
Menopause	30 % (33)
Marriage status	99 % (110)
Smoking	12.6 % (14)
Alcohol	11.7 % (13)
Depression	6.3 % (7)
History family	35.1 % (39)
Duration of the disease	12.14 ± 8.26
• ≤ 12	61.8 % (68)
• > 12	38.2 % (42)
Professional Status	
• Housekeepers	12 % (13)
• Civil servants	6 % (7)
• Retirees	13 % (15)
• Trader	0 % (0)
• Without work	69 % (73)
Inbred marriage	20.7 % (23)
ESR	34.04 ± 25.01
CRP	23.19 ± 28.62
DAS 28 (CRP)	3.67 ± 1.73
• < 2.6	32.4 % (34)
• Between 2.6 & 3.2	15.2 % (16)
• Between 3.2 & 5.1	23.8 % (25)
• > 5.1	28.6 % (30)
HAQ-quality of life score	1.58 ± 0.64
• Legere	22.5 % (25)
• Moderate	49.6 % (55)
• Severe	27.9 % (31)
MEFV mutations	20.7 % (23)
• Exon 2	3.6 % (4)
• Exon 10	17.1 % (19)
Rheumatoid factor (RF) positive	95.5 % (106)
ACPA (anti CCP₂)	80 % (89)
Serologic status ACPA/RF	
• ACPA (+) & RF (+)	80 % (89)
• ACPA (+) & RF (-)	0 % (0)
• ACPA (-) & RF (+)	14.4 % (16)
• ACPA (-) & RF (-)	4.5 % (5)
Erosion	70.2 % (78)
Infection	33.3 % (37)

Hypertension	27 % (30)
Fracture	25.2 % (28)
Diabetes mellitus	20.7 % (23)
Hypercholesterolemia	10.8 % (12)
Hypertriglyceridemia	9 % (10)
Vaccination	10.8 % (12)
Osteoporosis	47 % (52)
Sjogren's Syndrome	34.2 % (38)
Lung disease	10.8 % (12)
Cardiovascular disease	7.2 % (8)
Digestive disease	5.4 % (6)
Vascular cerebral accident	3.6 % (4)
Cancer	2.7 % (3)
Corticoid	87.4 % (97)
DMARDs	99.1 % (110)
• Methotrexate	91.9 % (102)
• Sulfasalazine	22.5 % (25)
• Leflunomide	4.5 % (5)
b-DMARDs	63 % (70)
• AntiTNFalpha	24.3 % (17)
• Rituximab	84.3 % (59)
• Tocilizumab	14.3 % (10)

BMI: Body Mass Index, **HAQ:** Health Assessment Questionnaire, **DAS 28 (CRP):** Disease Activity Index 28 C-reactive protein, **ESR:** Erythrocyte Sedimentation Rate, **CRP:** C-reactive protein, **DMARDs:** conventional Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs synthetic, **b-DMARDs:** biologic Disease-Modifying Anti-Rheumatic Drugs synthetic.

Table 2: Profile of auto-antibodies of the patients with RA and control groups.

Profile of auto-antibodies	Patients
Anti dsDNA	6 (5.4 %)
ANA	94 (84.7 %)
• Speckled	50 (53.2 %)
• Homogeneous	22 (23.4 %)
• Nucleolar	11 (11.7 %)
• Anti centromere	1 (1.1 %)
• Speckled and nucleolar	3 (3.2 %)
• Homogeneous and speckled	4 (4.3 %)
• PCNA	1 (1.1 %)
• Cytoplasmic fluorescence	2 (2.1 %)
ANA's Antigenic specificity	50 (45 %)
• SSA / Ro 64kd	15 (30 %)
• SSA/ Ro 52kd	4 (8 %)
• SSB/ La	6 (12 %)
• Sm/RNP	3 (6 %)
• Sm	1 (2 %)
• jo1	1 (2 %)
• Scl70	5 (10 %)
• DFS 70	4 (8 %)
• Histone	2 (4 %)
• Nucleosome	2 (4 %)
• Centromere b (CB)	1 (2 %)

- Ribosomal Protein (RIB) 1 (2 %)
- PM-Scl 100 (PM100) 2 (4 %)
- AMA (M2) 2 (4 %)
- PCA 1 (2 %)

dsDNA: double-stranded Deoxyribonucleic Acid, **ANA:** Anti-Nuclear Antibodies, **PCNA:** Proliferating Cell Nuclear Antigen, **ENA:** Extractable-Nuclear Antigens, **SSA:** Sjögren syndrome-related antigen A, **SSB:** Sjögren syndrome type B antigen, **Sm:** Smith antibodies, **RNP:** ribonucleo protein, **jo1:** histidyl-tRNA synthetase antibodies, **Scl-70:** topoisomerase I, **DFS:** Dense Fine Speckled, **PM-SCL100:** Polymyosite/Sclérodémie 100, **AMA:** mitochondries antibodies, **PCA:** parietal cell antibodies, **ACPA:** Anti-Citrullinated Protein Antibody.

Table 3: Correlation of the characteristics of patients with RA and their remission threshold according to the DAS28 (CRP) value.

Parameter	remission (N=34)	Non remission (N=71)	P value
Females number	29 (85.3%)	61 (85.9%)	0.81
Mean age, years (SD)	55.7 (±15.7)	57.72 (±11.1)	0.83
BMI	26.9 (±5.1)	27.2 (±5.1)	0.28
Menopause	10 (29.4%)	20 (28.2%)	0.89
Smoking	4 (11.8%)	9 (12.7%)	0.26
Alcohol	5 (14.7%)	7 (9.9%)	0.85
History family	15 (44.1%)	22 (31.0%)	0.14
Duration of the disease	12.9 (±7.2)	11.0 (±8.9)	0.36
Inbred marriage	7 (20.6%)	15 (21.1%)	0.30
HAQ-quality of life score	1.45 (±0.6)	1.60 (±0.6)	0.27
MEFV mutation	5 (14.7%)	18 (25.4%)	0.69
Rheumatoid factor (RF) positive	33 (97.1%)	67 (94.4%)	0.34
ACPA (anti CCP ₂)	29 (85.3%)	55 (77.5%)	< 0.001**
ANA positive	32 (94.1%)	56 (78.9%)	0.001**
Erosion	22 (64.7%)	54 (76.1%)	0.28
Infection	14 (41.2%)	23 (32.4%)	0.19
Hypertension	9 (26.5%)	20 (28.2%)	0.11
Fracture	10 (29.4%)	17 (23.9%)	0.77
Diabetes mellitus	5 (14.7%)	16 (22.5%)	0.69
Vaccination	1 (2.9%)	11 (15.5%)	0.99
Osteoporosis	17 (50.0%)	29 (40.8%)	0.43
Sjogren's Syndrome	11 (32.4%)	26 (36.6%)	0.97
Lung disease	4 (11.8%)	8 (11.3%)	0.68
Digestive disease	3 (8.8%)	3 (4.2%)	0.80
Depression	4 (11.8%)	4 (5.6%)	0.41
Cancer	1 (2.9%)	2 (2.8%)	0.40
Corticoid	28 (82.4%)	64 (90.1%)	0.12
DMARDs	32 (94.1%)	69 (97.2%)	0.12
b-DMARDs	19 (55.9%)	47 (66.2%)	0.01*

SD: Standard Deviation

*significant correlation ($p < 0.05$)

**high significant correlation ($p < 0.01$)

CHAPITRE V

Identifier les mutations *MEFV* impliquées dans la pathogenèse de la PR et étudier la corrélation génotype-phénotype entre les mutations de ce gène et les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR).

CHAPITRE V: Identifier les mutations MEFV impliquées dans la pathogenèse de la PR et étudier la corrélation génotype-phénotype entre les mutations de ce gène et les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR).

Article 4: Correlation genotype-phenotype: *MEFV* Gene Mutations and Moroccan Patients with Rheumatoid Arthritis

2021, soumis à Journal Pan African Medical Journal (PAMJ)

Contexte

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie auto-immune systémique affectant principalement les articulations. Les troubles arthritiques sont associés à des mutations du gène de la fièvre méditerranéenne (*MEFV*). Dans ce travail, nous avons montré si les mutations du gène *MEFV* seront impliquées dans la pathogenèse de la PR, d'explorer leurs fréquences et d'étudier la corrélation génotype-phénotype entre les mutations de ce gène et une cohorte de patients marocains atteints de polyarthrite rhumatoïde (RA). Inclus 100 patients atteints de PR et 200 individus comme groupe témoin (CG) qui sont non apparentés de la même population. Tous les patients ont été testés par les anticorps anti-peptide cyclique citrulliné (ACPA), le facteur rhumatoïde (FR) IgM et analysés par séquençage Sanger des exons 2 et 10 du gène *MEFV* (hot-spot selon la littérature). Notre étude a détecté 13 variants faux-sens déjà une mutation du gène *MEFV* rapportée dans la littérature (S154T, G222A, G230L, L611H, L695A, M694V, I720M, A737L, P758S, L709A, T732A, G687A et P743L). Les taux de porteurs de mutations du gène *MEFV* étaient de 24/100 (24 %) pour le groupe PR et de 4/200 (4 %) pour CG. Dans le groupe PR, nous avons observé qu'aucun homme n'a présenté de mutation *MEFV*. Dans le groupe PR, nous avons trouvés qu'il y a une corrélation positive avec le sexe, l'IMC, le RF et l'ACPA étaient significativement ($p < 0,01$). Le niveau de protéine C-réactive et de HAQ était légèrement élevé dans le groupe porteur mais non significatif. Aucune autre différence significative n'a été observée entre les patients porteurs de mutations *MEFV* et ceux sans mutations *MEFV*. Nos résultats de cette étude suggèrent que les mutations du gène *MEFV* semblent être un facteur aggravant de sévérité de la PR et par conséquent, les patients atteints de PR pourraient être dépistés pour les mutations du gène *MEFV* dans les pays où la FMF est fréquente. Nous signalons également que notre étude est la première dans notre pays le Maroc.

Article 4 :

Article

Research



Correlation genotype-phenotype: *MEFV* gene mutations and Moroccan patients with rheumatoid arthritis

Hakima Missoum, Najlae Adadi, Mohammed Alami, Hamza Toufik, Abdelhakim Bouyahya, Fatima-Zahra Laarabi,  Fatima Bachir, Abdellah El Maghraoui, Youssef Bakri

Corresponding author: Hakima Missoum, Laboratory of Human Pathologies Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, and Genomic Center of Human Pathologies, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University in Rabat, Rabat, Morocco. hkmissoum@yahoo.fr

Received: 15 Jun 2021 - **Accepted:** 11 Jan 2022 - **Published:** 11 Feb 2022

Keywords: Rheumatoid arthritis, *MEFV* gene mutations, anti-citrullinated peptide antibodies, rheumatoid factor, autoimmune disease

Copyright: Hakima Missoum et al. Pan African Medical Journal (ISSN: 1937-8688). This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution International 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Cite this article: Hakima Missoum et al. Correlation genotype-phenotype: *MEFV* gene mutations and Moroccan patients with rheumatoid arthritis. Pan African Medical Journal. 2022;41(121). [10.11604/pamj.2022.41.121.30368](https://doi.org/10.11604/pamj.2022.41.121.30368)

Available online at: <https://www.panafrican-med-journal.com//content/article/41/121/full>

Correlation genotype-phenotype: *MEFV* gene mutations and Moroccan patients with rheumatoid arthritis

Hakima Missoum^{1,2,8}, Najlae Adadi³, Mohammed Alami⁴, Hamza Toufik⁵, Abdelhakim Bouyahya¹, Fatima-Zahra Laarabi³, Fatima Bachir⁶, Abdellah El Maghraoui⁵, Youssef Bakri¹

¹Laboratory of Human Pathologies Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, and Genomic Center of Human Pathologies, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University

in Rabat, Rabat, Morocco, ²Laboratory Autoimmunity, Department of Immunology, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco, ³Department of Medical Genetics, National Institute of Health, Rabat, Morocco, ⁴Laboratory of Microbiology and Molecular Biology, Faculty of Science, Mohammed V University, Rabat, Morocco, ⁵Mohammed V University, Faculty of Medicine and Pharmacy, Military Hospital, Rheumatology Department, Rabat, Morocco, ⁶Laboratory of Flow Cytometry, National Institute of Hygiene, Rabat, Morocco

Article

*Corresponding author

Hakima Missoum, Laboratory of Human Pathologies Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, and Genomic Center of Human Pathologies, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University in Rabat, Rabat, Morocco

Abstract

Introduction: rheumatoid arthritis (RA) is a systemic autoimmune disease primarily affecting the joints. Arthritic disorders are associated with mutations of the Mediterranean fever (MEFV) gene. The aim of this study is to show whether MEFV mutations will be involved in the pathogenesis of RA, to explore the frequency of these mutations and to study the genotype-phenotype correlation between mutations in this gene and a cohort of Moroccan patients with rheumatoid arthritis (RA).

Methods: the present study included 100 patients with RA and 200 control group (CG) who were unrelated individuals from the same ethnic. All patients were tested for auto-antibodies: cyclic citrullinated peptide (ACPA/anti-CCP₂), rheumatoid factor (RF) and were analyzed by Sanger Sequencing of the 2 and 10 exons of MEFV gene (hot-spot according to the literature). **Results:** we detected 13 missense variants already MEFV gene mutation reported in the literature (S154T, G222A, G230L, L611H, L695A, M694V, I720M, A737L, P758S, L709A, T732A, G687A and P743L). Carrier rates of MEFV gene mutations were 24/100 (24%) for the RA group and 4/200 (4%) for CG. In the RA group, we observed that no man has presented with MEFV mutation. In the RA group, while gender, BMI, RF and ACPA were significantly higher in the mutation carrier group than those of the non-carrier group ($p < 0.01$). The level of C-reactive protein and HAQ were slightly elevated in the carrier group but not significant. No other significant differences were observed between patients with MEFV mutations and those without MEFV mutations. **Conclusion:** the results of this study suggest that MEFV gene mutations appear to be an aggravating factor severity of RA and consequently, patients with RA might be screened

for MEFV gene mutations in countries where FMF is frequent. We report also that our study is the first one in our country Morocco.

Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory disease that affects about 0.5-1% of the population worldwide, resulting in more disability, joint damage, worsening of quality of life, and premature mortality in these patients than in general population [1]. The prevalence is estimated about 0.7% in Moroccan population (about 200,000 patients in Morocco) [2]. The incidence is highest between 40 and 60 years and women are 3 times more affected than men [3,4].

Today, serological markers auto-antibodies rheumatoid factor (RF) [5] and anti-citrullinated protein/peptide antibodies (ACPA or anti-CCP) [6] allow the diagnosis and follow-up of the majority of patients with RA. Rheumatoid arthritis is a complex and multifaceted genetic disease that is influenced by both genetic and environmental factors which remain to be defined [7]. Genes that are known to be important for joint inflammation or the course of RA have been described primarily by the association of variations in genes encoding proteins. However, other genes different from HLA were also tested, but the results were inconsistent [8]. Mediterranean fever (MEFV), suggesting that this gene could be involved in the pathogenesis of rheumatic diseases characterized by relapses of inflammatory episodes. This gene has already been identified as being responsible for familial Mediterranean fever (FMF).

Familial Mediterranean fever is caused by various mutations in the MEFV gene which is located on the short arm of chromosome 16p13.3 and comprises 10 exons [9], and this gene encodes a protein named pyrin/marenostrin consisting of 781 amino acids. These proteins are involved in innate immune responses and play a key role in the regulation of inflammasomal activity and apoptosis [10]. Furthermore, it has been reported that the presence of MEFV gene mutations might

Article

be a susceptibility factor for various inflammatory diseases [11], such as juvenile idiopathic arthritis (JIA) [12]. Moreover, it has also been revealed that *MEFV* gene mutations might be an aggravating factor for the severity of some inflammatory diseases including (RA) [13].

The aim of this study is to investigate whether the mutations of the *MEFV* gene are involved in the pathogenesis of RA. We adopted a case-control model to compare the frequency of *MEFV* mutation between RA patients and control group subjects and to compare the severity of disease between mutation carriers and non-carriers. This study is the first to explore the prevalence of *MEFV* gene mutations in Morocco.

Methods

Study population: the study involved 100 RA Moroccan patients and 200 individuals for the control group (CG). Rheumatoid arthritis patients were recruited from the Rheumatology Department of Military Hospital Mohammed V (Rabat, Morocco) between April 2017 and December 2018. The criteria used for the clinical diagnosis of the RA disease are those described by the American College of Rheumatology (ACR)/European League Against Rheumatism (EULAR) for the classification of RA 2010 [14]. Only patients over 18 years of age were included. Exclusion criteria for RA patients: other types of inflammatory arthritis, including psoriatic arthritis, reactive arthritis, spondylarthropathies and inflammatory arthritis related to bowel disease. The control group (CG) eligible blood donors were recruited from the National Blood Transfusion Center and volunteered to take part in the study between February and December 2018. Only patients over 18 years of age were included. Exclusion criteria for CG must not have RA, autoimmune and/or inflammatory disease. Rheumatoid arthritis patients and CG were unrelated individuals from the same population.

The demographic and clinical data included age, gender, body mass index (BMI), inbred marriage,

smoking, familial history, alcohol, depression, the duration of the evolution of RA. As well as factors related to the disease including erythrocyte sedimentation rate (ESR), C reactive protein (CRP), disease activity score (DAS28 CRP) and health assessment questionnaire (HAQ). The treatment used for RA included oral corticosteroids, conventional synthetic anti-rheumatic drugs (DMARDs) (methotrexate, leflunomide and sulfasalazine) and biotherapies: synthetic biological anti-rheumatic drugs (bDMARDs): (rituximab, etanercept, infliximab, tocilizumab). All subjects (patients and controls) in this cohort were tested for auto-antibodies cyclic citrullinated peptide (ACPA/anti-CCP₂), rheumatoid factor (RF) and genetic analyses.

***MEFV* gene mutation analysis:** we collected blood samples from all our patients and the control group and their genomic DNA was extracted from peripheral blood with ethylenediamine tetra acetic acid (EDTA) using the commercial Qiagen kit, following the manufacturer's instructions. The specific primers were synthesized by University of California Santa Cruz (UCSC) and are presented in Table 1. We performed a standard polymerase chain reaction (PCR) for all our patients by using the primers of exons 2 and 10 of the *MEFV* gene (Table 1). Polymerase chain reaction products were purified using ExoSAP and analyzed by standard Sanger dideoxy nucleotide sequencing using 3130 genetic analyzer (thermo fisher scientific). This research was carried out by the laboratory of genetic of NIH.

Serums analysis: serum parameters blood samples were taken from all of the subjects to detect the ACPA or anti-CCP₂ was performed by ELISA (Bio-Rad laboratories, CA cutoff value 5 UI/mL for positivity) and rheumatoid factor IgM (RF) by Elisa (Euro immune cutoff value 20UI/mL for positivity). Serum samples were processed in initial dilution of 1: 101 for the detection of anti CCP₂ and 1/201 of RF. All tests were performed at the autoimmunity laboratory of the National Institute of Hygiene (Rabat, Morocco) using an automated system (Biorad system PhD™).

Ethics approval and consent to participate: the protocol study was reviewed and approved by local institutional review boards and the national ethics committee: ethics committee for biomedical research Mohammed V University- Rabat faculty of medicine and pharmacy of Rabat. The committee's reference number: 70/17.

Statistical analysis: statistical analysis was performed using the STATISTICA Stat Soft 12.0 Software (Tulsa, Oklahoma, USA) [15]. Results were given as mean $\pm$ standard deviation (S.D.). Pearson χ^2 was used to compare categorical variables. Prevalence ratio (PR) and odds ratio (OR) was used for the assessment of risk factors. P-values less than $\alpha = 0.05$ were considered as significant.

Results

General characteristics of our study population: among the 100 RA patients (83 women and 17 men). The mean age was 57.06 ± 12.21 years with a female predominance of 83%, the mean BMI was 27.14 ± 5.05 . The mean duration of illness was 12.19 ± 8.32 . Most of the patients had severe activity in moderation with a mean DAS28 3.67 ± 1.77 and HAQ 1.58 ± 0.64 mutations.

Frequency of MEFV gene mutations: for testing the frequency of *MEFV* gene mutations, we conducted a case-control study involving 100 RA cases and 200 controls. Molecular analyses with Sanger sequencing of the 2 and 10 exons of the *MEFV* gene in our subjects detected 13 missense variants already reported in the literature. We detected three variants in exon 2 (23%) and ten variants in exon 10 (77%). All these variants were predicted by SIFT and polyphen sites (Table 2). All missense mutations previously described in the literature as pathogenic or probably pathogenic. We have eliminated all synonymous variants or variants with a high percentage in the general population. No codon-stop mutation was detected in our cohort. The frequencies of variants detected in our patients were estimated by 24% with 12 variants. The higher frequency was detected in two variants (G222A and M694V) with 5%. Also, we detected in the control

group frequency of 2% with only three variants and one of them (S154T) only exist in CG (Table 3).

Immunological profile: in the immunological profile, the detection of APCA was present 14% in RA patients carrying the *MEFV* mutation and for RF was present 19% in RA patients carrying the *MEFV* mutation. Table 4 shows the correlation between clinical and demographic characteristics and the *MEFV* mutation gene in Moroccan RA patients. We observed that no man has presented a mutation. In addition, BMI was slightly higher in the mutation carrier group than the non-carrier group. We also mentioned in clinical characteristics that HAQ and level of C-reactive protein (CRP) are slightly elevated in the mutation carriers' group.

Correlation of the characteristics of patients with RA with MEFV mutations: we found that the prevalence ratio, odds ratio and Pearson X^2 were higher and present a positive correlation for gender, BMI, smoking, positive RF and positive ACPA between RA patients *MEFV* mutations carrier and non-carrier. We also detected a significant correlation in four characteristics: gender, BMI, positive RF and positive ACPA ($p < 0.01$). No other significant differences were observed between patients with *MEFV* mutations and those without *MEFV*.

Discussion

This study is the first evaluation of polymorphisms and *MEFV* gene mutations in Morocco with a clinical diagnosis of RA. In the present study, we investigated genetic variations in the *MEFV* gene in healthy Moroccan subjects and patients with RA without the episodic manifestations consistent with FMF. Our results suggest that Mutation analysis of the *MEFV* gene in this cohort of RA patients showed a high frequency of mutations in RA and also an association between clinical and demographic characteristics and the *MEFV* mutation gene.

These *MEFV* mutations have already been reported by some studies such as Migita *et al.* demonstrated

Article

that *MEFV* mutations are not rare in RA and that the allele frequencies of R408Q, P369S, E148Q, L110P mutations were 5.6%, 6.7%, 24.2%, 9.5% respectively in patients with RA and that the mutation rate was comparable between RA and healthy controls and suggest that *MEFV* mutations may not be a genetic factor affecting susceptibility to RA [16]. On the other hand, another study in Turkey also reported the high presence of *MEFV* mutations (E148Q, M694V, M694I, M680I, V726A, A744S, R761H, and P369S) and that the carrier rates of these *MEFV* mutations were 25.2% in RA and 23.3% in CG and suggest that mutations in the *MEFV* gene appear to be an aggravating factor in the severity of RA [17]. Although most of these reported mutations were not detected in our study. A single mutation of the *MEFV* gene (M694V) which is common to previous case-control studies [17-21].

Regarding, our study found that the rates of *MEFV* mutation carriers were 24/100 (24%) and 4/200 (2%) in the RA and control group, respectively. The most frequent mutations of the *MEFV* gene were G222A (5%), M694V (5%), L695A (4%) and G230L (4%) in the RA. Exon 2 showed two mutations specifically in RA patients and one mutation in the control group. In addition, exon 10 showed eight mutations significantly correlated with RA. While the M694V and L695A mutations were found to be significantly more frequent in RA patients than in the control group. The mutations M694V observed in Moroccan FMF patients are in exon 10 (M694V) [22]. However, arthritis is a common manifestation of FMF, particularly in M694V homozygotes [23]. The frequency of arthritis in FMF varies between 21% and 77% according to ethnic groups [24]. In addition, the Moroccan population is considered among the subjects from populations at risk with a genotype suggestive of FMF. For this, a mutation of the *MEFV* gene is almost always found in the Moroccan population, such as the M694V variant [22].

In our study, the rates of *MEFV* mutation carriers in PR and GC were not similar. The carrier mutation in the RA group had severe clinical and the level of

CRP was higher than in non-carrier patients. We suggest that *MEFV* mutation may indeed be conferring a heightened inflammation as suggested by the increased frequency in inflammatory symptoms [17,25]. The carrier status for *MEFV* mutations seems to be unique, in that they cause an alteration in the state of "health" [26]. We also studied the presence of a genotype-phenotype potential relationship in RA patients with *MEFV* mutations and those without *MEFV* mutations. This study suggests a strong association between the severity of RA and the presence of mutations in the *MEFV* gene in RA patients. Specifically, a correlation with four known predictors of RA severity: gender, BMI, positive RF and positive ACPA revealed a significant association in RA patients with *MEFV* mutations. These two criteria allow identifying heterogeneity and complexity within this disease [27]. Another study found a significant association between the presence of *MEFV* mutation and the presence of positive RF in a cohort of Israeli RA patients [13,28]. As mentioned previously, the positivity of ACPA has been reported as a risk factor for RA. Therefore, our results suggest a role for the *MEFV* gene in the deregulated inflammatory process of RA. Genetic mutations in the Mediterranean fever (*MEFV*) gene, coding for pyrin, are known to influence the severity of RA, but the underlying mechanisms are not fully understood. Anti-citrullinated protein antibodies (ACPAs or anti CCP₂) are highly specific serological biomarkers [29], that predict the development of more aggressive RA, extra-articular manifestations, and therapeutic response [30]. Therefore, it may be suggested that the *MEFV* gene mutations might not be a susceptibility factor for RA, however, they appear to be an aggravating factor for the severity of RA and consequently, patients with RA might be screened for *MEFV* gene mutations in countries where FMF is frequent, as found in our study and suggested in other studies [13,18,25,31].

Moreover, we found that all men don't present *MEFV* mutations in this research. That proves the high and significant correlation with gender in RA patients. This can be explained by the deregulation

Article

of hormones in women might justify why women are much more likely to develop RA than men. When considering gender differences, one has to take into account that the measures of disease activity themselves can be influenced by gender [32]. The other demographic and clinical characteristics including age, inbred marriage, smoking, familial history, alcohol, depression and the duration of the evolution of RA does not present a significant correlation between *MEFV* mutations and patients with RA disease.

This study revealed a new mutation in the *MEFV* gene compared to previous studies. Since RA is genetically a very complex disease that may be due to many other environmental and genetic factors. Sometimes anti-TNF therapy or other non-biological disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs) used to treat the symptoms of RA can mask the true clinical expressions of FMF. Also, a patient's phenotype may differ depending on the nature of the FMF mutation, its location, and the presence of other potential genes and environmental modifiers. Further research is needed to establish the specific role [27]. Our results add valuable information to the current knowledge relating to the pathophysiological categorization of autoinflammatory and autoimmune diseases. Recent observations underscore the importance and relevance of an "auto-inflammatory-auto-immune continuum" indicating the close interconnection between innate and adaptive immune mechanisms [33,34]. A better understanding of molecular pathomechanisms in autoimmune-inflammatory disorder and the relative contribution of innate and adaptive mechanisms will help to introduce individualized and target-directed treatments with increased efficacy and reduced side effects.

This study has certain limitations. The first is that our study cohort is not large enough. Second, we didn't have the means to sequence the entire *MEFV* gene, (we only sequenced the hot spots), nor to carry out a next-generation sequencing to reveal new genes involved in RA. The strengths of this study were the first combination study between

genetics and autoimmunity to patients with PR in Morocco and the second, our study combines patients from all regions of Morocco.

Conclusion

This study suggests that *MEFV* gene mutations maybe not be a susceptibility factor for the development of RA but might increase the severity of RA and consequently, patients with RA might be screened for *MEFV* gene mutations in countries where FMF is frequent. Further research with a larger sample size is needed to determine the actual pathogenic role of *MEFV* mutations in this disease.

What is known about this topic

- Several studies have identified that the *MEFV* gene mutations appear to be an aggravating factor in the severity of RA.
- The identification of *MEFV* gene mutations contributed to a deeper understanding of the pathophysiology of various autoimmune-inflammatory disorders.

What this study adds

- This study suggests that *MEFV* gene mutations may not be a susceptibility factor for the development of RA but might increase the severity of RA.
- This study will enrich the Moroccan database concerning frequencies of the *MEFV* gene mutations in RA.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Authors' contributions

We declare that we participated at the study as following: conception and study design: HM and YB. data collection: HM, AE and HT. Data analysis and interpretation: HM, NA, MA and FZL. Manuscript drafting: HM. Manuscript revision: NA, MA, AB, FB

Article

and YB. Guarantor of the study: HM. All authors approved final version of the manuscript.

Acknowledgments

The authors would like to thank all patients for their participation. They also would like to thank all the health, laboratory professionals of the Medical Genetics Department and especially Pr. Abdelaziz Sefiani facilitates the realization of this work.

Tables

Table 1: PCR primer sequences (F: forward; R: reverse)

Table 2: detected variants in all subjects (RA patients and control group)

Table 3: distribution of *MEFV* gene mutations in the RA and control groups

Table 4: association between clinical and demographic characteristics and *MEFV* mutation gene in Moroccan RA patients

References

- Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2016;388(10055): 2023-2038. [PubMed](#)
- Niamane R, Bahiri R, Bouchti I El, Harzy T, Ichchou L, Larhrissi S *et al*. Recommendations of the Moroccan Society of Rheumatology for the management of rheumatoid arthritis: update of the 2011 reference frame. *Rev Mar Rhum*. 2014;30:3-13. [Google Scholar](#)
- Weyand CM, Schmidt D, Wagner U, Goronzy JJ. The influence of sex on the phenotype of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1998;41(5): 817-822. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
- Jawaheer D, Lum RF, Gregersen PK, Criswell LA. Influence of male sex on disease phenotype in familial rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006;54(10): 3087-3094. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
- Fang Q, Ou J, Nandakumar KS. Autoantibodies as diagnostic markers and mediator of joint inflammation in arthritis. *Mediators Inflamm*. 2019 Oct 27;2019: 6363086. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
- Ibn Yacoub Y, Amine B, Laataris A, Hajjaj-Hassouni N. Rheumatoid factor and antibodies against citrullinated peptides in Moroccan patients with rheumatoid arthritis: association with disease parameters and quality of life. *Clin Rheumatol*. 2012;31(2): 329-334. [Google Scholar](#)
- Roudier J, Balandraud N, Mugnier B, Guis S, Revirion D, Roudier C *et al*. Rôle des molécules HLA-DR dans le développement de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum*. 2005;72(4): 287-289. [Google Scholar](#)
- Hashemi M, Zakeri Z, Taheri H, Bahari G, Taheri M. Association between peptidylarginine deiminase Type 4 rs1748033 polymorphism and susceptibility to rheumatoid arthritis in Zahedan, Southeast Iran. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2015;14(3): 255-60. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
- Pras E, Aksentijevich I, Gruber L, Balow JE, Prosen L, Dean M *et al*. Mapping of a gene causing familial mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. *N Engl J Med*. 1992;326(23): 1509-1513. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
- Wilkening S, Bermejo JL, Hemminki K. MDM2 SNP309 and cancer risk: a combined analysis. *Carcinogenesis*. 2007;28(11): 2262-2267. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
- Usluer H, Bircan Z. Protracted familial mediterranean fever arthritis presenting as septic arthritis. *Rheumatol Int*. 2007;27(11): 1083-1085. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
- Comak E, Dogan CS, Akman S, Koyun M, Gokceoglu AU, Keser I. MEFV gene mutations in Turkish children with juvenile idiopathic arthritis. *Eur J Pediatr*. 2013;172(8): 1061-1067. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)

13. Rabinovich E. Severe disease in patients with rheumatoid arthritis carrying a mutation in the Mediterranean fever gene. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(7): 1009-1014. **PubMed** | **Google Scholar**
14. Neogi T, Aletaha D, Silman AJ, Naden RL, Felson DT, Aggarwal R *et al.* The 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for rheumatoid arthritis: phase 2 methodological report. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9): 2582-2591. **PubMed** | **Google Scholar**
15. Electronic Statistics Textbook. StatSoft, Inc. 2012.
16. Migita K, Nakamura T, Maeda Y, Miyashita T, Koga T, Tanaka M *et al.* MEFV mutations in Japanese rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26(6): 1091-4. **PubMed** | **Google Scholar**
17. Koca SS, Etem EO, Isik B, Yuce H, Ozgen M, Dag MS *et al.* Prevalence and significance of MEFV gene mutations in a cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Jt Bone Spine.* 2010;77(1): 32-35. **PubMed** | **Google Scholar**
18. Coskun S, Ustyol L, Bayram Y, Selcuk Bektas M, Gulsen S, Cim A *et al.* The spectrum of MEFV gene mutations and genotypes in Van province, the eastern region of Turkey, and report of a novel mutation (R361T). *Gene.* 2015;562(1): 128-131. **PubMed** | **Google Scholar**
19. Ozen S, Bakaloglu A, Yilmaz E, Duzova A, Balci B, Topaloglu R *et al.* Mutations in the gene for familial Mediterranean fever: do they predispose to inflammation? *J Rheumatol.* 2003;30(9): 2014-8. **PubMed** | **Google Scholar**
20. Lachmann HJ, Sengül B, Yavuzsen TU, Booth DR, Booth SE, Bybee A *et al.* Clinical and subclinical inflammation in patients with familial Mediterranean fever and in heterozygous carriers of MEFV mutations. *Rheumatology.* 2006;45(6): 746-750. **PubMed** | **Google Scholar**
21. Jéru I, Hayrapetyan H, Duquesnoy P, Cochet E, Serre JL, Feingold J *et al.* Involvement of the modifier gene of a human mendelian disorder in a negative selection process. *PLoS One.* 2009;4(10): e7676. **PubMed** | **Google Scholar**
22. Belmahi L, Sefiani A, Fouveau C, Feingold J, Delpech M, Grateau G *et al.* Prevalence and distribution of MEFV mutations among Arabs from the Maghreb patients suffering from familial Mediterranean fever. *C R Biol.* 2006;329(2): 71-74. **PubMed** | **Google Scholar**
23. Chen X, Fischel-Ghodsian N, Cercek A, Hamon M, Ogur G, Lotan R *et al.* Assessment of pyrin gene mutations in Turks with familial Mediterranean fever (FMF). *Hum Mutat.* 1998;11(6): 456-460. **PubMed** | **Google Scholar**
24. Papadopoulos VP, Giaglis S, Mitroulis I, Ritis K. The Population genetics of familial Mediterranean fever: a meta-analysis study. *Ann Hum Genet.* 2008;72(6): 752-761. **PubMed** | **Google Scholar**
25. Migita K, Abiru S, Sasaki O, Miyashita T, Izumi Y, Nishino A *et al.* Coexistence of familial Mediterranean fever and rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol.* 2014;24(1): 212-216. **PubMed** | **Google Scholar**
26. Kalyoncu M, Acar BC, Cakar N, Bakaloglu A, Ozturk S, Dereli E *et al.* Are carriers for MEFV mutations 'healthy'? *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24(5 Suppl 42): S120-2. **PubMed** | **Google Scholar**
27. Ozen S. Mutations/polymorphisms in a monogenetic autoinflammatory disease may be susceptibility markers for certain rheumatic diseases: lessons from the bedside for the benchside. *Clin Exp Rheumatol.* 2009;27(2 Suppl 53): S29-31. **PubMed** | **Google Scholar**
28. Inanir A, Yigit S, Karakus N, Tekin S, Rustemoglu A. Association of MEFV gene mutations with rheumatoid factor levels in patients with rheumatoid arthritis. *J Investig Med.* 2013;61(3): 593-596. **PubMed** | **Google Scholar**
29. Ge C, Xu B, Liang B, Lönnblom E, Lundström SL, Zubarev RA *et al.* Structural basis of cross-reactivity of anti-citrullinated protein antibodies. *Arthritis Rheumatol.* 2019 Feb;71(2): 210-221. **PubMed** | **Google Scholar**
30. McGonagle D, Watad A, Savic S. Mechanistic immunological based classification of rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev.* 2018;17(11): 1115-1123. **PubMed** | **Google Scholar**

31. Lee W, Weisman MH. The predictive power of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies: window into understanding gene/environment/immunity interactions. *J Rheumatol.* 2006;33(7): 1216-8. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
32. Sokka T, Kautiainen H, Pincus T, Toloza S, da Rocha Castelar Pinheiro G, Lazovskis J *et al.* Disparities in rheumatoid arthritis disease activity according to gross domestic product in 25 countries in the QUEST-RA database. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(11): 1666-1672. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
33. Yago T, Asano T, Fujita Y, Migita K. Familial Mediterranean fever phenotype progression into anti-cyclic citrullinated peptide antibody-positive rheumatoid arthritis: a case report. *Fukushima J Med Sci.* 2020;66(3): 160-166. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)
34. Hedrich CM. Shaping the spectrum - from autoinflammation to autoimmunity. *Clin Immunol.* 2020 Dec 10;66(3): 160-166. [PubMed](#) | [Google Scholar](#)

Table 1: PCR primer sequences (F: forward; R: reverse)

Primers	Forward	Reverse	Tm (°C)	Amplicon size (bp)
MEFV_Ex2.1	CTCCTCTGCCCTGAATCTTG	AAGGGCCTGCACTCCTTC	60	480
MEFV_Ex2.2	CAGGGCAAGCCTCGGAC	GGCCAGCCATTCTTCTC	60	451
MEFV_Ex10.1	GAACCTGTAGGGATGTTGC	CTCCTTTATTAGCAGGCGGG	60	406
MEFV_Ex10.2	CATCCATAAGCAGGAAAGGG	TTGAGTGTGAATGCAAGATACAAG	59	391

MEFV: Mediterranean fever, **Tm:** melting temperature

Table 2: detected variants in all subjects (RA patients and control group)

Gene ID	Chromosome	Position	Exon	DNA change	Protein change	Mutation type	dbSNP	Sift	Polyphen
MEFV	16	3254607	2	c.461C>G	p.Ser154Trp	Missense	13895111010	0	0.893
MEFV	16	3254607	2	c.664G>A	p.Gly222Arg	Missense	772938936	0.01	0.991
MEFV	16	3254607	2	c.688G>C	p.Glu230Lys	Missense	104895080	0.02	0.909
MEFV	16	3254607	10	c.1832T>A	p.Leu611His	Missense	759706563	0	1
MEFV	16	3254607	10	c.2084A>G	p.Lys695Arg	Missense	104895094	-	-
MEFV	16	3243407	10	c.2080A>G	p.Met694Val	Missense	61752717	0.16	0.06
MEFV	16	3254607	10	c.2160C>G	p.Ile720Met	Missense	104895102	0	1
MEFV	16	3254607	10	c.2210G>T	p.Arg737Lys	Missense	139092123	0	0.751
MEFV	16	3254607	10	c.2272C>T	p.Pro758Ser	Missense	104895114	0.01	1
MEFV	16	3254607	10	c.2126T>G	p.Leu709Arg	Missense	104895184	0.03	0.997
MEFV	16	3254607	10	c.2194T>G	Tyr732Asp	Missense	12453059310	1	1
MEFV	16	3254607	10	c.2060G>A	p.Gly687Asp	Missense	387907570	0	1
MEFV	16	3254607	10	c.2229C>T	p.Phe743Leu	Missense	104895152	-	-

MEFV: Mediterranean fever, **RA:** rheumatoid arthritis, **CG:** control group, **P:** protein

Table 3: distribution of *MEFV* gene mutations in the RA and control groups

<i>MEFV</i> mutation		RA (n= 100) n (%)	CG (n=200) n (%)
c.461C>G	S154T	-	1 (0.5%)
c.664G>A	G222A	5 (5%)	-
c.688G>C	G230L	4 (4%)	-
c.1832T>A	L611H	1 (1%)	-
c.2080A>G	L695A	4 (4%)	2 (1%)
c.2084A>G	M694V	5 (5%)	1 (0.5%)
c.2160C>G	I720M	1 (1%)	-
c.2210G>T	A737L	1 (1%)	-
c.2272C>T	P758S	2 (2%)	-
c.2126T>G	L709A	2 (2%)	-
c.2194T>G	T732A	1 (1%)	-
c.2060G>A	G687A	2 (2%)	-
c.2229C>T	P743L	1 (1%)	-
TOTAL		24 (24%)	4 (2%)

MEFV: Mediterranean fever; RA: rheumatoid arthritis; CG: control group

Table 4: association between clinical and demographic characteristics and *MEFV* mutation gene in Moroccan RA patients

Variables	RA patient			Prevalence ratio	Odds ratio	χ ²	P-value
	Carrier (n = 24)	Non-carrier (n = 76)	Total (n = 100)				
Gender(male/female)	24 (0/24)	76 (17/59)	100 (17/83)	0.00	0.00	6.47	0.01*
Age	57.82 ± 11.2	56.86 ± 12.93	57.06 ± 12.56	0.56	0.48	0.84	0.36
BMI	29.18 ± 4.59	26.64 ± 5.05	27.14 ± 5.05	0.24	0.18	8.13	<0.01*
Inbred marriage	4	19	23	0.67	0.60	0.72	0.4
Smoking	1	13	14	0.27	0.21	2.54	0.11
Alcohol	2	11	13	0.61	0.54	0.61	0.44
Depression	2	6	8	1.05	1.06	0.01	0.94
Familial history	8	29	37	0.85	0.81	0.18	0.67
The duration of the evolution of RA	11.82 ± 6.30	12.28 ± 8.79	12.19 ± 8.32	1.11	1.15	0.08	0.77
HAQ	1.61 ± 0.70	1.57 ± 0.62	1.58 ± 0.64	-	-	-	-
DAS 28 (CRP)	1.96 ± 3.78	3.65 ± 1.78	3.67 ± 1.77	-	-	-	-
ESR	34.1 ± 26	34.33 ± 24.94	34.29 ± 25.02	-	-	-	-
CRP	27.38 ± 29.9	22.57 ± 28.44	23.55 ± 28.65	-	-	-	-
ACPA or anti-CCP ₂	14	64	78	0.39	0.26	7.12	<0.01*
RF	19	74	93	0.29	0.10	9.28	<0.01*

MEFV: Mediterranean fever, RA: rheumatoid arthritis, CG: control group, BMI: body mass index, HAQ: health assessment questionnaire, ESR: erythrocyte sedimentation rate, CRP: C-reactive protein, DAS-28: disease activity score-28, anti-CCP₂: anti-cyclic citrullinated peptide, RF: rheumatoid factor. Data are given as mean ± Standard Deviation (S.D.)

DISCUSSION GENERALE

DISCUSSION GENERALE

Ce travail de thèse inclue deux grandes parties :

1 Prévalence des maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes sont les pathologies les plus fréquentes touchant environ 5 à 12% de la population. Malgré le progrès scientifique, ces maladies restent maltraitées et leur physiopathologie mal définie. Les maladies auto-immunes sont des troubles complexes provoqués par une combinaison de susceptibilité génétique, de niveau d'hygiène et de conditions sanitaires et de facteurs environnementaux, comme l'eau de boisson, la nourriture, les conditions de logement, etc. (Bach, 2002 ; Bernatsky et al., 2016; Lerner et al., 2016; Malaise et al., 2012; Sardu et al., 2012) (Bernatsky et al., 2016; Lerner et al., 2016; Malaise et al., 2012).

Ce travail de thèse constitue la première étude au Maroc décrivant la prévalence des différentes suspicions de maladies auto-immunes (MAI) chez une large cohorte de patients marocain. Les données sur la prévalence des MAI au Maroc demeurent très insuffisantes. Cette étude vise aussi à caractériser le profil des auto-anticorps chez ces patients avec et sans MAI afin de confirmer le diagnostic et d'affiner les bases de données marocaines. Dans notre étude, les femmes étaient les plus touchées, ce qui est conforme à la littérature (Mascolo et al., 2017), La prévalence des cas suspects de MAI était de 29,7%, qui dépasse largement celui de la littérature qui varie entre 5% et 12,9% (G. Cooper et al., 2009; Diallo et al., 2014; Sardu et al., 2012). Cette forte prévalence peut s'expliquer par le biais de suspicion clinique de MAI. En effet, les manifestations cliniques des MAI sont source de confusion.

Notre série a permis de distinguer deux groupes cliniques de suspicion MAI. Le premier groupe de patients atteints d'une MAI non spécifique d'organe ou systémique. Dans ce groupe, nous avons montré que les phénotypes, les plus fréquentes étaient les PA et PR, suivies de PI, de ScS, de VAA, de MCTD, de Tb, de pSS, d'IR, de DM, de l'HA et de NB, entre 4,2% et 0,2%. Ces fréquences étaient similaires à celles de la littérature (G. S. Cooper et al., 2009; Diallo et al., 2014; Ha-Ou-Nou & Essaadouni, 2013; Mascolo et al., 2017; Somers et al., 2006), mais d'autres études ont montré des fréquences plus basses (Brotten et al., 2014). Dans notre série la majorité des MAI systémiques surviennent chez les patients âgés de 18 à 30 ans, à l'exception des PA, PR, PI, VAA et pSS chez les patients âgés de plus de 30 ans.

La prévalence du LES est encore plus élevée chez les jeunes suspectés de troubles maladies auto-immunes rhumatismales systémiques (MARS) que chez divers groupes adultes comparés à la population générale (Somers et al., 2006; Tazi-Mezalek et al., 2000). Ce résultat suggère que les patients juvéniles présentant des manifestations cliniques du LES doivent faire l'objet d'une plus grande attention que les adultes. Nos résultats constituent une aide importante pour l'identification de MAI spécifique surtout pour les patients âgés.

Les caractéristiques cliniques de cette maladie ne diffèrent pas dans le monde, leurs fréquences ont montré des différences d'une étude à l'autre (Tazi-Mezalek et al., 2000). Cette diversité pourrait être expliquée par la variation géographique, les facteurs environnementaux et socio-économiques qui pourraient probablement jouer un rôle important dans la manifestation de la maladie (Tazi-Mezalek et al., 2000). Cependant, une étude chinoise a montré des similitudes avec nos résultats (Grossman & Tsao, 2000). Ces estimations sont probablement dues à des signes et symptômes évocateurs d'une maladie auto-immune systémique en tant que maladies du tissu conjonctif indifférenciées (MTCD) (Mosca et al., 2006; Murng & Thomas, 2017; Yang et al., 2016). Les signes rhumatologiques restent également la manifestation clinique la plus prédominante de notre étude. Il survient principalement sous forme d'arthrite polyarthralgie (AP) chez 4% de nos patients, une prévalence supérieure à celle rapportée dans la polyarthrite rhumatoïde (PR) (Grossman & Tsao, 2000).

Le deuxième groupe des patients atteints d'une MAI spécifique à un organe. Dans ce groupe, nous avons montré que les maladies les plus fréquentes étaient la MI et la MC (4,2% et 1,3% respectivement). Les patients MC présentaient des symptômes atypiques, ce résultat est en accord avec la littérature (Mosca et al., 2006). Ce pourcentage dépasse celui observé dans la population européenne et nord-américaine (de 0,5 à 1%) (Catassi et al., 2015; Leja et al., 2015; Mustalahti et al., 2010), mais des fréquences similaires ont été trouvées dans d'autres études-(Castillo et al., 2015).

Malgré des variations considérables entre les pays, la fréquence de la maladie cœliaque est élevée au Canada, en Israël, au Danemark et dans les pays d'Afrique du Nord (Leffler & Schuppan, 2010). Ces observations suggèrent une influence de facteurs environnementaux (Leffler & Schuppan, 2010). Les raisons de cette fréquence élevée ne sont pas claires, mais peuvent être liées à des changements alimentaires et/ou environnementaux et au taux de diagnostic de la maladie cœliaque qui a augmenté rapidement ces dernières années.

En fait, ce phénomène a été attribué à l'augmentation de la prévalence de cette maladie et au développement d'outils de diagnostic non invasifs (Catassi et al., 2015).

Dans ces MAI spécifique d'organe, nous avons également noté une prévalence élevée d'Hépatopathies auto-immunes représentées par le SC (1,8%) et les patients traités ayant VHC (1,4%), l'HAI (0,8%), AB/def Vit B12, la CBP et la CSP étaient approximativement similaires à ceux rapporté dans la littérature (Hariz et al., 2007). la prévalence du diabète type 1 (D type 1) (0,4%) était similaire aux valeurs rapportées dans la littérature actuelle pour les pays européens (Greco, 2011) et les pays du Maghreb (Ali et al., 2016). De même, la prévalence TAI (0,4%) était légèrement inférieure dans d'autres études (Tamayo et al, 2014).

Concernant la prévalence selon le sexe, nous avons montré que les femmes représentaient la majorité des patients atteints de maladies MI, PA et LES respectivement 5,4%, 5,3% et 5%. La prévalence des sMAI, les plus fréquemment observés dans cette étude était la PA et la MI (Okoroiwu, I.L. Obeagu, E.I., Obeagu, G.U., Chikezie, C.C. and Ezema, G.O Obeagu, 2016 ; Somers et al., 2006). Ces prévalences sont comparables à celles rapportées dans d'autres études (G. S. Cooper et al., 2009; Diallo et al., 2014; Lamri et al., 2014; Tobón et al., 2010).

Nos données sur la prévalence de chaque maladie auto-immune sont utiles pour le système de santé publique car ils fournissent une évaluation précise du fardeau de chaque maladie. Dans tous les cas, ces données fournissent une image de ce fardeau relatif de ces maladies.

Concernant les profils immunologiques de MAI, la prévalence de la recherche des AAN chez nos patients était élevée dans la plupart des MAI systémiques (surtout dans les NP, AH, pSS, DM, Tb, ScS, VAA, PA, IR, LES, MCTD), ces fréquences étaient similaires à ceux rapportés dans la littérature (Eaton et al., 2007; Grossman & Tsao, 2000; Yang et al., 2016). Cette fréquence des AAN pourrait également être observée dans d'autres MAI spécifique d'organe comme le CSP, le SC, l'PI, HAI, CBP, mais pas dans TAI et MI. La présence de l'AAN devrait conduire à la recherche d'anticorps de spécificité définis en fonction de la détection de fluorescence et de la suspicion de la maladie (Benseffaj et al., 2012) .

La recherche des anticorps anti-ADN et des antigènes spécifiques (ECT ou ENA) sont considérés comme biomarqueurs de la maladie auto-immune active systémique, et leur présence peut refléter la gravité de cette pathologie. Pour la détection des anti-ADN, nous avons trouvé une fréquence plus élevée dans le LES (Okoroiwu, I.L. Obeagu, E.I., Obeagu,

G.U., Chikezie, C.C. and Ezema, 2016) que dans les autres sMAI. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les anti-DNA sont spécifiques pour le diagnostic de LES. Cependant, la présence d'anticorps anti-ADNdb varie considérablement en fonction du pays et de l'origine ethnique (AlSaleh et al., 2008; Eriksson et al., 2011; Osio-Salido & Manapat-Reyes, 2010) . Cette fréquence (17.2%) est inférieure à celle trouvée dans la littérature (Koweït, Dubaï, Tunisie, Chine) (AlSaleh et al., 2008).

Les antigènes extractible nucleaire (ENA) ont été mentionné dans les MAI systémiques car ils confirment la suspicion de la maladie (Eaton et al., 2007; Yang et al., 2016) . Dans notre étude, nous avons observé des antigènes nucléaires spécifiques qui sont relativement spécifiques de certaines maladies, telles que les anticorps anti-Sm et anti-SSA pour LES, les anticorps anti-Scl70 pour ScS, les anticorps anti-SSA pour PA, RA, PI et MCTD et les anticorps anti-SSA et anti-SSB pour DM et pSS. Cependant, des fréquences similaires de celle de notre étude ont été trouvées dans d'autres études de population (Eriksson et al., 2011; Osio-Salido & Manapat-Reyes, 2010; Yang et al., 2016). De plus, nos résultats ont permis de corriger le diagnostic dans 1/3 ou 3/4 des cas. Il est à noter que le profil ENA conventionnel ne semble pas être significatif pour les patients IR, MC, traités par VHC et l'HAI, car les AAN et tous les anti-ENA étaient que rarement, observés dans ces maladies dans cette étude.

Néanmoins, l'évaluation des auto-anticorps est devenue une partie intégrante du diagnostic différentiel. Les résultats des tests sérologiques pour les auto-anticorps, y compris les tests pour les AAN, ENA et ADNn, sont une pierre angulaire du diagnostic des rhumatismes systémiques pour éliminer les pathologies trompeuses lors du diagnostic différentiel et précoce (AlSaleh et al., 2008; G. S. Cooper et al., 2009). D'autres sont relativement spécifiques de certaines maladies, telles que les anticorps anti-B2GP1 pour le syndrome de thrombose, anti-ANCA pour la PSC, l'AAV, l'ILD et l'IR, anti-CCP2 pour la PR, l'ILD et la AP. En plus, nous avons constatés qu'il y a une corrélation entre les auto-anticorps (AAN, ADNdb, ENA et APL (b2GP1) et le lupus érythémateux systemique (LES) Ces résultats sont similaires à la littérature (Diallo et al., 2014).

Concernant les marqueurs immunologiques dans les maladies du foie, notre étude a montré que la prévalence des anti-ASMA était plus élevée dans la CBP, chez les patients traités pour le VHC et dans l'HAI, suivis de la CS. La recherche des AAN a également été identifiés dans cette maladie, ce pourcentage est similaire à la littérature (L. Muratori et al., 2015; Wang et al., 2018).

Les AAN et/ou anticorps anti-muscle lisse (ASMA) sont les marqueurs les plus utilisés dans le diagnostic de l'HAI de type I (Alvarez et al., 1999). Les auto-anticorps dans l'hépatite auto-immune (HAI) sont largement utilisés pour son diagnostic et sa classification. Cependant, ils sont également utiles pour définir le pronostic et guider la clinique (Alvarez et al., 1999). Les femmes (84,04 %) représentaient dans notre série la majorité des patients atteints de maladies hépatiques auto-immunes, ce qui est en accord avec la littérature (Chang et al., 2017) .

Lorsqu'une HAI est suspectée, la présence d'un ou d'une combinaison AAN, ASMA, anti-LKM-1 et p-ANCA est utile pour les difficultés souvent rencontrées dans le diagnostic différentiel entre l'HAI et d'autres troubles hépatiques (Alvarez et al. 1999). Lorsque ces marqueurs sont absents, d'autres anticorps secondaires, tels que l'antigène soluble foie/pancréas (anti-SLA/LP) et le cytosol hépatique de type 1 (anti-LC1), doivent être utilisés (P. Muratori et al., 2017).

Pour l'anti-AMA ou M2, la fréquence était élevée dans la CBP, suivie de la CS et des AAN ont également été identifiées chez 25 % chez de nos patients atteints de CBP. Cette prévalence était inférieure à celle de la littérature C.J. Baños-Hernández, (Baños-Hernández et al., 2017). De plus, ces auto-anticorps sont spécifiques au diagnostic de la CBP. Les caractéristiques de la CBP peuvent apparaître dans les HAI, le plus souvent avec des syndromes chevauchants BANOS (Baños-Hernández et al., 2017).

Dans notre série, la prévalence anti-ACPA gastrique était élevée chez les patients atteints d'anémie de Biermer (84,6%) avec un déficit en vitamine B12. Cette prévalence est similaire à la littérature (Belghith et al., 2015). Néanmoins, les anti-ACPA sont connus dans la prediction de la gastrite auto-immune, et des manifestations métaboliques et hématologiques subséquentes. La gastrite atrophique auto-immune peut se manifester par une carence en vitamine B12, une anémie pernicieuse ou une anémie ferriprive (Belghith et al., 2015). En fait, les marqueurs anti-ACPA gastrique sont plus fréquents chez les personnes anémiques et la prévalence de la maladie de Biermer est responsable des carences en vitamine B12. plus de 70% dans l'étude de (Cattan, 2006) et 86% des carences en vit B12 ont été observé dans une série tunisienne (C. Maktouf, 2007).

Nous avons également trouvé des anti-ACPA observés dans le Diabète type 1, CBP, HAI, SC et TAI, ce qui est conforme à la littérature (Twito et al, 2016 ; Utiyama et al., 2018). Dans notre étude, l'association des sMAI et les marqueurs anti-ACPA gasrtique, ACPA n'est

pas rare d'où leurs intérêts dans le dépistage systématique de ces maladies. L'analyse statistique a montré une corrélation significative entre TAI, D type 1 et ACPA gastrique.

Concernant la prévalence des Ac anti-LKM1 dans notre série, ils étaient plus faibles chez les patients traités par SC et VHC, cette fréquence était similaire avec les données de la littérature (Alvarez et al., 1999). La détection des anti-LKM1 dans l'hépatite C chronique semble indiquer un risque accru d'exacerbation de la maladie. En plus, nous avons constaté que les auto-anticorps anti tissu (ACPA, LKM1, AMA et ASMA) et le syndrome cholestatique (SC) ont montré une corrélation significative, ceci a été également rapporté dans la littérature (Alvarez et al., 1999).

Concernant la prévalence des anticorps EmA IgA, anti-tTA IgA/ IgG et anti-AGA IgA/ IgG, elles étaient très élevées chez les patients MI et MC. Ces auto anticorps ont également été rapportés dans différentes études dont ils constituaient les marqueurs les plus fréquents dans la MC et divers symptômes de la MI (Kang et al., 2013). De plus, la prévalence de la MC varie en fonction de la géographie. En Europe, la prévalence de l'anti tTG IgG varie entre 1,20 et 1,56% et 0,78 et 1,88% pour l'EmA (LOHI et al., 2007). En Afrique du Nord et Sahara occidental, la prévalence de l'EmA IgA varie entre 0,64% et 5,66% et de 2,21% pour la tTG IgA (Kang et al., 2013). Ces différences dans la prévalence de MC peuvent être expliquées par facteurs environnementaux, l'ethnicité et la distribution variable des allèles DQ prédisposant au MC. Ce qui pourrait suggérer que la fréquence élevée de MC chez la population marocaine pourrait être due à une consommation élevée de céréales (la plupart des aliments de base dans la communauté marocaine contiennent du blé, du seigle ou de l'orge) et à la présence fréquente de HLA-haplotypes prédisposant pour la MC. En effet il a été montré que HLA-DQ2 et DQ8 et HLA-DQ conventionnelles étaient associés à la MC chez la population marocaine (Aureli et al., 2016).

La fréquence élevée d'homozygote DQ2.5 (45,2%) observée chez les Marocains atteints de MC était significative par rapport aux autres populations (23% à 32%) (Alberto Rubio-Tapia, MD1, Ivor D Hill, MD2, Ciarán P Kelly, MD3 & MD4, and Joseph A Murray, 2013). De plus, le dépistage sérologique de la MC chez les patients présentant des symptômes ou des affections étroitement associés à la MC augmente également la fréquence de cette maladie (Greco, 2011). L'une des explications est l'utilisation récente et croissante des tests sérologiques pour diagnostiquer la MC, ce qui a permis de diagnostiquer des cas moins graves présentant un risque de mortalité réduit.

Dans notre étude une corrélation positive entre les auto-anticorps (tTG IgA, EmA IgA et AGA IgA) et la MC a été observée, ces résultats sont similaires à ceux de la littérature (LOHI et al., 2007).

En outre, nous avons constaté que la séroprévalence des anticorps anti-EmA était de 8,0% chez les patients atteints l'HAI et de 1,7% chez les patients atteints SC, ce qui est conforme à la littérature (Villalta et al., 2005). Ainsi, le dépistage sérologique précoce de la MC est fortement recommandé pour tous les patients atteints d'HAI. Nous avons également observé—que la séroprévalence des anti-tTG IgA et EmA IgA était de 25% et 12,5% respectivement chez les patients diabétiques de type1. Une étude marocaine a montré une prévalence de 29% (Bourhanbour et al., 2016). En Europe et en Amérique, la prévalence varie entre 3,6% et 13,4% (Beltran et al., 2004) et dans les pays du Maghreb, la prévalence est nettement plus élevée et varie entre 4 et 16 % (Mankaï et al., 2007). Ces variations sont probablement dues à l'utilisation de tests sérologiques de dépistage qui ont permis de diagnostiquer des formes silencieuses.

Dans notre étude, l'association du diabète de type 1 avec les marqueurs biologiques de la MC n'est pas rare, d'où l'intérêt de son dépistage systématique chez les patients diabétiques de type1. Le diagnostic de cette forme atypique et silencieuse de MC est important en raison du risque de complications graves telles que la malabsorption et les cancers de l'appareil digestif.

Concernant la fréquence des anticorps anti-thyroperoxydase (TPO), elle était de 92,3% chez les patients atteints de la thyroïde auto-immune (TAI). Ces anticorps ont été considérée comme les meilleurs marqueurs sérologiques pour la TAI (Chabchoub G, Mnif M, 2006) et leurs présences constitue un facteur de risque de développement de cette pathologie ou d'hypothyroïdie sous interféron/ interleukine2 ou lithium (Chabchoub G, Mnif M, 2006). Ces auto-anticorps sont connus dans la prediction de cette maladie.

Il est également nécessaire d'effectuer la recherche des anti-ACPA dans une thyroïdite auto-immune pour éliminer les diagnostics différentiels (Twito et al. 2016).

Nos données sur la prévalence de chaque maladie auto-immune sont utiles pour le système de santé publique car ils fournissent une évaluation précise du fardeau de chaque maladie.

2 Caractéristiques et facteurs associés à la rémission chez les patients marocains atteints de polyarthrite rhumatoïde sévère

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie auto-immune multifactorielle et hétérogène, avec une présentation clinique et des caractéristiques variables. L'étiologie de la polyarthrite rhumatoïde (PR) reste à ce jour inconnue. Cependant, selon l'hypothèse principale, il a été proposé que plusieurs facteurs contribuent à son développement. Parmi eux, on retrouve les facteurs socio-démographiques. Les données sur la PR au Maroc sont rares. Le but de la présente étude est de décrire les caractéristiques socio-démographiques, cliniques et thérapeutiques et aussi d'explorer la fréquence des mutations du gène *MEFV* et son rôle dans la pathogenèse de la PR par la méthode de corrélation génotype-phénotype dans une cohorte de patients marocains atteints de polyarthrite rhumatoïde sévère pris en charge au service de rhumatologie de l'hôpital militaire de Rabat.

a. Caractéristiques socio-démographiques, cliniques et thérapeutiques de la PR

Nous avons trouvé une prédominance féminine (84.7%), un pourcentage élevé des personnes mariées (99%), en particulier en cas de mariage consanguin, un pourcentage élevé pour les patients ayant des antécédents familiaux (35.1%). De plus le statut professionnel a révélé un taux de 69 % des patients atteints de PR sont des femmes au foyer. Ce résultat avait déjà été observé dans une précédente étude marocaine (Rkain et al. 2006). Nous avons aussi constaté que l'origine des parents de nos patients atteint de PR avait une prédominance dans la région du Nord du pays.

La corrélation des caractéristiques sociodémographique entre les patients PR avec le sexe, l'âge, l'alcool, le mariage consanguin et les antécédents familiaux.

Nous avons aussi observé 11% étaient des fumeurs chez les patients atteints de PR, ce résultat est similaire à ce qui a été rapporté dans la littérature (9,2 %, 10,6 %) (Namas et al., 2019). Le tabagisme est bien reconnu comme un facteur important dans l'étiologie et la gravité de la PR (Naranjo et al., 2010). Cette faible fréquence était due au nombre de femmes élevé dans notre série. Concernant les mariages consanguins, nous avons trouvé une prévalence élevée, ce qui pose la question de la prédisposition génétique comme facteur explicatif potentiel. Nous avons constaté que la dépression a une faible prévalence dans notre population, ce qui explique une réduction considérable de la qualité de vie, des religions et des groupes ethniques (Katchamart et al., 2020). Pour les patients atteints de PR, la dépression était due à l'effet sur la prise en charge de la PR. Par conséquent, l'incapacité de travail est

plus fortement associée à la dépression. Ceci est similaire à ce qui a été rapporté dans la littérature (Katchamart et al., 2020).

Une prédominance du sexe féminin avec une prévalence de 84,68 % et un sex-ratio de 5,5:1. Ce qui est comparable aux cohortes précédentes des Emirats Arabes Unis (4:1), de l'Iran (7,1), de l'Algérie (5,9:1), des pays d'Amérique Latine (5,2:1) et de l'Afrique du Sud (6,9:1) (Namas et al., 2019; Sandoughi et al., 2017; Slimani et al., 2014), mais supérieur aux pays européens et aux États-Unis où le ratio est de 3:1 (Sandoughi et al., 2017; Tuulikki Sokka et al., 2007). La prépondérance féminine peut être liée à des facteurs cliniques, démographiques ou hormonaux, qui ont des effets complexes sur le système immunitaire (Alpizar-Rodríguez et al., 2016). Ce qui pourrait expliquer pourquoi les femmes sont beaucoup plus susceptibles de développer une PR que les hommes. Cependant, la raison pour laquelle la maladie est rare chez les hommes reste mal comprise et devrait être étudiée plus en détail dans les recherches futures. En effet, des comportements différents selon le sexe ont été rapportés, les hommes consultent moins et/ou sous-estiment les symptômes (Bautista-Molano et al., 2016). Le sexe féminin a été rapporté comme facteur prédictif du pronostic de la PR. La progression de la PR est trois fois plus rapide chez les femmes que chez les hommes (S. H. Allaire et al., 1996; Mistretta et al., 2014). La durée moyenne de la maladie au moment du diagnostic dans notre cohorte était de 12,14 ans pour les patients atteints de PR, ce qui était similaire à celle observée chez l'Iranien (Sandoughi et al. 2017). Des durées plus longues doivent être considérées comme une PR sévère.

Dans notre étude, l'association des caractéristiques sociodémographiques de PR avec RF et ACPA positive a montré une corrélation significative entre les patients atteints de la PR avec ACPA positive et le genre. Nos résultats sont cohérents avec ceux d'autres auteurs recommandant que les anti-CCP2 soient inclus dans les critères de diagnostic de la PR et utilisés comme marqueur de la gravité de la maladie (Alawneh et al. 2014 ; Nehmar, 2020). Mais, aucune signification n'a été trouvée entre les patients atteints PR et FR positive

Dans les données marocaines précédentes, les principaux facteurs associés aux niveaux d'ACPA et de RF étaient l'incapacité fonctionnelle, les dommages structuraux et la qualité de vie altérée (Ibn Yacoub et al., 2012b) (Syngle et al., 2019). Nos résultats fournissent des suggestions pratiques dans la pratique quotidienne. Ils suggèrent que la détermination du RF et de l'ACPA est utile, non seulement dans l'implication diagnostique et pronostique de la PR "précoce", mais également dans la prédiction de l'évolution clinique

dans le cadre d'une maladie. Pendant longtemps, les personnes qui ont une positivité RF et ACPA doivent être traitées rapidement et agressivement pour améliorer les résultats.

Concernant les comorbidités, notre étude a observé que la plupart des patients atteints de PR souffrent d'ostéoporose, de syndrome de Sjögren, d'infection et d'hypertension. Nos données sont similaires à celles rapportées dans la littérature (Abdel-Nasser et al., 1997; Al-Bishri et al., 2013; Mistretta et al., 2014; Namas et al., 2019). La comorbidité reste un problème majeur pour les patients atteints de PR dans tous les pays (Grøn et al., 2014), elle ajoute la complexité des soins aux patients, rendant les décisions de diagnostic et de traitement plus difficiles (Al-Bishri et al., 2013).

La fréquence la plus élevée de manifestations extra-articulaires observées dans notre étude (ostéoporose (47 %), syndrome de Gougerot, pulmonaire, cardiovasculaire) au cours de la PR était en accord avec la littérature (Cojocar et al., 2010; Ksir et al., 2019; Prete et al., 2011). Les manifestations extra-articulaires de la PR sont très fréquentes et touchent tous les organes. La moitié de nos patients ont développé une atteinte systémique. La survenue de ces manifestations est associée à plusieurs facteurs. La longue évolution de la maladie est un facteur décrit dans plusieurs travaux dont cette étude. L'âge avancé est aussi la particularité de notre population. Mais la prévalence du cancer était très déficiente dans notre étude en raison de l'absence de dépistage régulier compte tenu du statut socio-économique des patients.

Cette étude a montré que la plupart des patients appartenaient à la catégorie de maladie élevée ou modérée (67,8%) et 32,4% étaient en rémission. Dans d'autres études sur la PR, les taux de rémission varient de 3 % à 68 % (Tuulikki Sokka, Envalds, et al., 2008) en fonction du choix des critères de rémission, de la sélection des patients, de la durée de la période de suivi et du traitement. De même, un taux de rémission élevé a été signalé en Finlande (36 %) et aux États-Unis (36 %) (Lutf et al., 2014).

La corrélation des caractéristiques des patients atteints de PR et de leur statut de rémission a montré une association positive de la rémission avec la positivité de l'APCA ($P=0,0001$). Ces résultats sont comparables à ceux de la littérature (Boeters, Burgers, Toes, & Van Der Helm-Van Mil, 2019 ; Fornaro et al., 2021). La positivité de l'ACPA était corrélée à une meilleure réponse thérapeutique, donc nos patients étaient mieux pris en charge. De plus, la disparition de la maladie clinique ne s'accompagne pas de modifications de la réponse humorale de l'ACPA dans le sérum (Boeters, Burgers, Toes, & van der Helm-van Mil, 2019).

Dans notre étude, la positivité AAN était de 84,7 % sur le total de nos patients. Les AAN étaient positives chez 94,1 % des patients avec un score DAS 28 inférieur à 2,6 et chez 78,9 % des patients avec un score DAS 28 supérieur à 2,6. La différence entre ces groupes était très significative ($P=0.001$). La présence d'AAN est due à des manifestations auto-immunes extra-articulaires telles que le syndrome de Sjogreen et les maladies pulmonaires dans notre population. Ces résultats ont été confrontés à la spécificité antigénique des ENA retrouvée, 30% anti-SSA/Ro64Kd, 12% anti-SSB/La, 8% anti-SSA/Ro52kd et anti-DFS70. L'anti-DFS70 est considéré comme un prédicteur positifs du développement d'une maladie rhumatismale auto-immune systémique (Malyavantham & Suresh, 2018). Ces résultats sont comparables à ceux de la littérature (Bodur et al., 2008; Gülfe et al., 2009; Luong Ba & Gabay, 2014). La PR est une maladie inflammatoire chronique et la pathologie produite par les auto-anticorps contribue à l'inflammation et à la destruction des articulations (Pongratz et al., 2019). Le taux de patients avec un score HAQ supérieur à 1,5 était de 27,9 %. Lorsque les patients ont été regroupés selon les scores DAS 28, il a été observé que dans les groupes avec des scores DAS 28 inférieurs à 2,6, le HAQ était faible par rapport au groupe sans rémission ainsi que l'érosion et l'ostéoporose (ceci n'ai pas vrais pour l'ostéoporose). Ces observations ont déjà été démontrées dans d'autres études (Hamann et al., 2017).

Les bDMARD ont été utilisés chez 63% de nos patients. Dans d'autres études, le taux d'utilisation des bDMARD variait entre 72 % et 89 %. Comme la majorité de nos patients souffraient de PR sévère, les bDMARD étaient davantage utilisés chez les patients ayant un score DAS 28 inférieur (supérieur) à 2,6. Selon la littérature malgré l'avènement des biothérapies, 30 % des patients ne répondent pas pour obtenir une rémission (Hamann et al., 2017). Au Maroc, le rituximab était le bDMARD le plus prescrit après échec du méthotrexate chez les patients atteints de PR avec des facteurs de mauvais pronostic (Eddaoudi et al., 2021). Les directives internationales ne recommandent pas l'utilisation du Rituximab comme première ligne de bDMARD (Fornaro et al., 2021). Cependant, dans notre étude, il existe différents facteurs influençant le choix de la première ligne de bDMARD (Rituximab) tels que le facteur médico-économique, compte tenu du coût élevé de ces traitements et de la faible couverture sanitaire et du risque de tuberculose compte tenu de l'endémie contexte de cette pathologie dans notre pays.

b. Immunogénétique de la PR

Nous avons cherché à identifier certains gènes qui ont un rôle non prouvé dans la pathogenèse de la polyarthrite rhumatoïde (PR). L'un de ces gènes suspectés est le gène de la

fièvre méditerranéenne (*MEFV*) qui pourrait affecter le phénotype de la PR. Cette étude est la première évaluation du polymorphisme et des mutations du gène *MEFV* chez la population marocaine atteints de PR sévère.

Pour cela, nous avons recherché les mutations du gène *MEFV* chez des sujets marocains sains et des patients atteints de PR sévère sans manifestations épisodiques compatibles avec la FMF. Nos résultats montrent que la cohorte de patients atteints de PR a présenté une fréquence élevée des mutations du gène *MEFV* ainsi qu'une association entre les caractéristiques cliniques et démographiques. Les mutations *MEFV* ont déjà été rapportées par certaines études comme celle de Migita et al. qui ont montré que les mutations *MEFV* ne sont pas rares dans la PR et que les fréquences alléliques des mutations R408Q, P369S, E148Q, L110P étaient respectivement de 5,6 %, 6,7 %, 24,2 %, 9,5 % chez les patients atteints de PR et étaient comparable aux témoins sains, ce qui suggère que les mutations du *MEFV* pourraient ne pas affecter la susceptibilité à la PR (Migita et al., 2014). Une autre étude en Turquie a également montré que les mutations *MEFV* (E148Q, M694V, M694I, M680I, V726A, A744S, R761H et P369S) étaient présentes chez 25,2 % PR des patients atteints de PR et 23,3 % des témoins sains et suggère que les mutations du gène *MEFV* semblent être un facteur aggravant de la sévérité de la PR (Koca et al., 2010). Bien que la plupart de ces mutations rapportées n'aient pas été détectées dans notre étude. Une mutation unique du gène *MEFV* (M694V) qui est commune aux précédentes études cas-témoins (Coşkun et al., 2015; Jérü et al., 2009; Koca et al., 2010; Lachmann et al., 2006; Ozen et al., 2003).

Notre étude a révélé que les taux de porteurs de mutations *MEFV* étaient de 24/100 (24 %) dans le groupe patient et 4/200 (2%) dans le groupe contrôle. Les mutations les plus fréquentes du gène *MEFV* étaient G222A (5 %), M694V (5%), L695A (4%) et G230L (4%) dans la PR. L'exon 2 a montré deux mutations spécifiquement chez les patients atteints de PR et une mutation dans le groupe témoin. L'exon10 a montré huit mutations significativement corrélées avec la PR. Alors que les mutations M694V et L695 se sont avérées significativement plus fréquentes chez les patients atteints de PR que dans le groupe témoin. La mutation M694V observées chez les patients marocains atteints de FMF était dans l'exon 10 (Belmahi et al., 2006) . De plus, une mutation du gène *MEFV* (comme le variant M694V) est presque toujours retrouvée dans la population marocaine et est considérée à risque avec un génotype évocateur de FMF, (Belmahi et al., 2006). Cette étude est en accord avec d'autres études qui suggèrent que des mutations *MEFV* peuvent se produire

spécifiquement chez les patients atteints de PR (Migita et al., 2014; Mori et al., 2013). Bien que la coexistence de maladies auto-inflammatoires et auto-immunes ne soit pas rare.

Dans notre étude, les taux des porteurs des mutations *MEFV* dans PR et GC n'étaient pas similaires. Les porteurs de mutations *MEFV* dans le groupe PR avaient des symptômes cliniques sévères et des niveaux de CRP plus élevé que chez les patients non porteurs. Le statut de porteur de mutation du *MEFV* semble unique, car il provoque une altération de l'état de « santé » (Kalyoncu et al., 2006). L'identification des mutations du gène *MEFV* a contribué à une meilleure compréhension de la physiopathologie de divers troubles auto-immunes inflammatoires (Koca et al., 2010; Mori et al., 2013). Récemment, de nombreuses études ont suggéré la présence d'une corrélation entre les mutations *MEFV* et la survenue de maladies rhumatismales, notamment la polyarthrite rhumatoïde (PR), l'arthrite juvénile idiopathique (AJI) et la spondylarthrite ankylosante (SA) (Akar et al., 2013; Comak et al., 2013). D'autres études ont montré que les patients atteints de PR porteurs de mutations *MEFV* ont des scores de gravité plus élevés que les non-porteurs (Koca et al., 2010; Rabinovich, 2005).

Nous avons également étudié la présence d'une relation potentielle entre le génotype et le phénotype chez les patients atteints de PR porteurs de mutations *MEFV* et ceux sans mutations. Une forte association a été observée entre la sévérité de la PR et la présence de mutations dans le gène *MEFV*. Plus précisément, une corrélation avec quatre prédicteurs connus de la sévérité de la PR : le sexe, l'IMC, le RF positif et l'ACPA positif. Ces deux critères permettent d'identifier l'hétérogénéité et la complexité au sein de cette maladie (Inanir et al., 2013; Ozen, 2009). Une étude israélienne a trouvé une association significative entre la présence d'une mutation *MEFV* et un FR positif dans une cohorte de patients atteints de PR (Inanir et al., 2013; Rabinovich, 2005).

Comme mentionné précédemment, la positivité de l'ACPA est considérée comme un facteur de risque de la PR. Par conséquent, nos résultats suggèrent un rôle du gène *MEFV* dans le processus inflammatoire dérégulé de la PR. Il agit probablement comme un gène modificateur dans ce processus. Les mutations génétiques du gène de la fièvre méditerranéenne (*MEFV*), codant pour la pyrine, sont connues pour influencer la gravité de la PR, mais les mécanismes sous-jacents ne sont pas entièrement compris. Les anticorps anti-protéines citrullinées (ACPA) sont des biomarqueurs sérologiques hautement spécifiques (Ge et al., 2019), qui prédisent le développement d'une PR plus agressive, de manifestations extra-articulaires et d'une réponse thérapeutique (McGonagle et al., 2018). Par conséquent, les mutations du gène *MEFV* semblent être un facteur aggravant de la sévérité de la PR comme

dans d'autres études (Coşkun et al., 2015; Ji et al., 2018; W. Lee & Weisman, 2006; Migita et al., 2014; Rabinovich, 2005). Cependant, l'identification de mutations pathogènes dans des gènes uniques et l'association de polymorphismes dans des gènes associés à la maladie ont contribué à une compréhension de la physiopathologie de divers troubles auto-immuns-inflammatoires. Ces maladies donnent un nouveau spectre de maladies du continuum auto-inflammatoire auto-immune (Yago et al., 2020). De plus, l'immunité innée est accélérée dans la pathogenèse de la PR, ce qui contribuerait aux maladies auto-inflammatoires ainsi qu'aux maladies auto-immunes. Nos résultats ajoutent des informations à l'état actuel des connaissances relatives à la catégorisation physiopathologique des maladies auto-inflammatoires et auto-immunes. Des observations récentes soulignent l'importance et la pertinence d'un « continuum auto-inflammatoire-auto-immun » indiquant l'étroite interconnexion entre les mécanismes immunitaires innés et adaptatifs (Hedrich, 2016; Yago et al., 2020).

Nous avons également constaté que les mutations *MEFV* étaient absentes chez tous les hommes de l'étude. Ce qui est en faveur de la prévalence élevée de la PR chez les femmes. La dérégulation hormonale chez les femmes pourrait justifier pourquoi les femmes sont beaucoup plus susceptibles à développer une PR que les hommes. Les autres caractéristiques démographiques et cliniques, notamment l'âge, le mariage consanguin, le tabagisme, les antécédents familiaux, l'alcool, la dépression et la durée de l'évolution de la PR ne présentent pas de corrélation significative avec les mutations *MEFV*.

Cette étude a révélé de nouvelles mutations dans le gène *MEFV* par rapport aux études précédentes. Étant donné que la PR est une maladie génétiquement très complexe qui peut être due à des autres facteurs environnementaux et génétiques. Parfois, la thérapie anti-TNF ou d'autres médicaments anti-rhumatismaux non biologiques modificateurs de la maladie (ARMM) utilisés pour traiter les symptômes de la PR peuvent masquer les manifestations cliniques de la FMF. De plus, le phénotype d'un patient peut différer selon la nature de la mutation de la FMF son emplacement et la présence d'autres modificateurs potentiels de gènes et de l'environnement. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour établir le rôle spécifique (Ozen, 2009; Özen et al., 2017). Une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires dans les troubles auto-immunes inflammatoires et la contribution relative des mécanismes innés et adaptatifs aideront à introduire des traitements individualisés et ciblés avec une efficacité accrue et des effets secondaires réduits.

CONCLUSION

ET

PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le premier volet de cette thèse apporte le premier travail au Maroc décrivant la prévalence de suspicions de diverses maladies auto-immunes (MAI).

Cette étude basée sur l'analyse des données de diagnostic clinique suspect de MAI appuyé par les résultats de la recherche des auto anticorps et qui vise à montrer la valeur diagnostique des auto-anticorps de MAI spécifiques à un organe et maladies auto-immunes systémiques (non spécifique à un organe) touchant la région de Rabat qui relève une forte prévalence de ces maladies; il est difficile d'extrapoler les données de cette étude régionale à l'ensemble du pays. En outre, parmi ces MAI, nous avons aussi montré une prévalence élevée au niveau de lupus érythémateux systémique (LES), de la malabsorption intestinale (MI), et de la polyarthralgie arthrosique (PA) et suivie par la polyarthrite rhumatoïde (PR).

Dans notre étude, les femmes étaient toujours les plus dominantes dans ces MAI. Nous avons aussi trouvé qu'il existe une forte corrélation entre ces MAI et la détection de la recherche des auto-anticorps.

Ces données sur la prévalence de chaque maladie auto-immune sont précieuses pour le système de santé publique, car elles peuvent permettre une évaluation précise des maladies auto-immunes. Dans tous les cas, ces données donnent une image du fardeau relatif des maladies étudiées et mettent à disposition une population témoin adéquate pour de futures études cliniques visant à explorer la comorbidité des maladies auto-immunes.

En outre, des études basées sur la population pour l'épidémiologie de la suspicion MAI sont donc nécessaires de toute urgence. Cela améliorera non seulement notre compréhension de la prévalence et de l'incidence de MAI, mais aidera également à estimer leur impact médical et de santé publique actuelle et une charge globale de morbidité pour l'ensemble du pays.

Ce rapport aide le clinicien à poser le bon diagnostic et si nécessaire, adapte le plus tôt possible le traitement. Il serait intéressant de réaliser des études prospectives pour chaque pathologie séparément afin de combler les aléas classiques de l'étude rétrospective et d'estimer objectivement la prévalence des différentes maladies auto-immunes.

L'étude de cette prévalence permettra d'apprécier le progrès du Maroc vers l'objectif de définir leurs profils clinico-biologiques, confirmer ou exclure le diagnostic de cette pathologie et d'enrichir les bases de données marocaines.

Dans le deuxième volet de cette étude, nous nous sommes focalisée sur la polyarthrite rhumatoïde, qui est une maladie auto-immune d'origine multifactorielle qui pose un problème socioéconomique important au Maroc et vu leur fréquence élevée, a été choisie comme maladie cible de la présente étude.

Cette étude sera un report récent sur les données décrivant les caractéristiques sociodémographiques, cliniques et thérapeutiques de la PR sévère. Ces données nous ont permis de comprendre le poids de la PR et son évolution dans le temps.

Dans notre étude, nous avons constaté une prévalence estimée plus élevée chez les femmes par rapport aux hommes. Pourcentage élevé chez les mariés surtout dans le cas d'un mariage consanguin, aussi chez les patients avec des antécédents familiaux et chez les femmes au foyer.

Nous avons identifié aussi une corrélation significative des caractéristiques sociodémographiques entre les patients atteints de la PR et le groupe témoin (le genre, l'âge, mariage consanguin, alcool et l'antécédent familiaux). Et nous avons constaté aussi une corrélation des caractéristiques sociodémographiques entre ACPA positive, RF positif et le genre.

Notre étude de PR a fourni des informations sur la rémission dans une cohorte de patients atteints de PR sévère établis dans l'hôpital Militaire de Rabat au service de rhumatologie et qu'ils étaient activement traités avec des médicaments modificateurs de la maladie, y compris bDAMRD. Pour cela, selon le DAS 28CRP, 2/3 de nos patients appartenaient à la catégorie de maladie élevée ou modérée et seulement 1/3 étaient en rémission ou modérément active. Ceci pourrait être dû au fait que la plupart des malades provenaient du milieu hospitalier et déterminent donc une gravité potentielle de la maladie.

La rémission clinique est un résultat important dans la gestion de la PR et a de nombreuses applications à la fois dans la pratique clinique et l'approbation réglementaire de nouvelles thérapies. L'obtention d'une rémission clinique peut favoriser un meilleur contrôle de la maladie et est associée à des avantages économiques substantiels.

Les marqueurs immunologiques dans notre étude, ont montré une prévalence élevée de FR, ACPA et AAN chez nos patients, ceux-ci semblent avoir une maladie plus active et plus grave et peut-être nos résultats peuvent aider à fournir des informations pertinentes sur le profil immunologique de nos patients atteints de PR.

Cependant, nous suggérons que la détermination du RF et de l'ACPA est utile, non seulement dans l'implication diagnostique et pronostique de la PR « précoce », mais elle est également utile dans la prédiction de l'histoire familiale et de la consanguinité dans le cadre de cette maladie.

Notre étude démontre que la PR n'est pas rare dans notre population et a un fardeau de maladie important. Nos résultats soulignent la nécessité d'un registre national des patients atteints de PR afin d'identifier la véritable prévalence de la maladie.

De plus, la polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie complexe pour laquelle près de 60% de la variabilité phénotypique pourrait être expliquée par la composante génétique, pour cette raison, notre étude de PR a fourni aussi un aperçu approfondi de l'influence des mutations du gène *MEFV* sur la PR et a identifié treize mutations au niveau du dit gène, expliquant cette corrélation. Cette étude suggère que ces mutations ne sont peut-être pas un facteur de susceptibilité pour le développement de la PR, mais pourraient augmenter la gravité et, par conséquent, les patients atteints de PR pourraient être dépistés pour les mutations du gène *MEFV* dans les pays où la FMF est fréquente.

Nous considérons qu'une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires dans les troubles auto-immuns-inflammatoires et la contribution relative des mécanismes innés et adaptatifs aideront à introduire des traitements individualisés et ciblés en fonction des stades et/ou de la durée de la maladie avec une efficacité accrue et des effets secondaires réduits. Des recherches plus poussées avec une plus grande taille d'échantillon sont nécessaires pour déterminer le rôle pathogène réel des mutations du gène *MEFV* dans cette maladie.

Nous suggérons de réaliser un séquençage à haut débit (NGS) afin de permettre d'analyser tout le gène *MEFV*, pour pouvoir détecter d'autres mutations ou variants qui nous poussera à avoir une corrélation génotype-phénotype.

Ainsi, l'évaluation de l'expression des gènes candidats telque PTPN 22 et STAT 4 chez des patients marocains atteint du PR pourrait contribuer à étudier leurs polymorphismes dans notre population et également leurs influences sur la production des CCP2.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aaltonen, J., Björnses, P., Perheentupa, J., Horelli-Kuitunen, N., Palotie, A., Peltonen, L., Lee, Y. S., Francis, F., Henning, S., Thiel, C., Leharach, H., & Yaspo, M. (1997). An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nature Genetics*, 17(4), 399–403. <https://doi.org/10.1038/ng1297-399>
- Abdel-Nasser, A. M., Rasker, J. J., & Vaikenburg, H. A. (1997). Epidemiological and clinical aspects relating to the variability of rheumatoid arthritis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 27(2), 123–140. [https://doi.org/10.1016/S0049-0172\(97\)80012-1](https://doi.org/10.1016/S0049-0172(97)80012-1)
- Agmon-Levin, N., Damoiseaux, J., Kallenberg, C., Sack, U., Witte, T., Herold, M., Bossuyt, X., Musset, L., Cervera, R., Plaza-Lopez, A., Dias, C., José Sousa, M., Radice, A., Eriksson, C., Hultgren, O., Viander, M., Khamashta, M., Regenass, S., Coelho Andrade, L. E., ... Shoenfeld, Y. (2014). International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 73(1), 17–23. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-203863>
- Ai, R., Hammaker, D., Boyle, D. L., Morgan, R., Walsh, A. M., Fan, S., Firestein, G. S., & Wang, W. (2016). Joint-specific DNA methylation and transcriptome signatures in rheumatoid arthritis identify distinct pathogenic processes. *Nature Communications*, 7(May), 1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms11849>
- Akar, S., Soysal, O., Balci, A., Solmaz, D., Gerdan, V., Onen, F., Tunca, M., & Akkoc, N. (2013). High prevalence of spondyloarthritis and ankylosing spondylitis among familial Mediterranean fever patients and their first-degree relatives: further evidence for the connection. *Arthritis Research & Therapy*, 15(1), R21. <https://doi.org/10.1186/ar4154>
- Akman-Demir, G., Gul, A., Gurol, E., Ozdogan, H., Bahar, S., Oge, A. E., Gurvit, H., Saruhan-Direskeneli, G., Yazici, H., & Eraksoy, M. (2006). Inflammatory/demyelinating central nervous system involvement in familial Mediterranean fever (FMF): coincidence or association? *Journal of Neurology*, 253(7), 928–934. <https://doi.org/10.1007/s00415-006-0137-8>
- Al-Bishri, J., Attar, S., Bassuni, N., Al-Nofaiey, Y., Qutbuddeen, H., Al-Harathi, S., & Subahi, S. (2013). Comorbidity Profile among Patients with Rheumatoid Arthritis and the Impact on Prescriptions Trend. *Clinical Medicine Insights: Arthritis and Musculoskeletal Disorders*, 6, CMAMD.S11481. <https://doi.org/10.4137/CMAMD.S11481>
- Alamanos, Y., Voulgari, P. V., & Drosos, A. A. (2006). Incidence and Prevalence of Rheumatoid Arthritis, Based on the 1987 American College of Rheumatology Criteria: A Systematic Review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 36(3), 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2006.08.006>
- Alberto Rubio-Tapia, MD1, Ivor D Hill, MD2, Ciarán P Kelly, MD3, A. H. C., & MD4, and Joseph A Murray, M. (2013). American College of Gastroenterology Clinical Guideline : Diagnosis and Management of Celiac. *The American Journal of Gastroenterology*, 108(5), 656–676; quiz 677. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.79.AMERICAN>
- Alegria, G. C., Guellec, D., Devauchelle-Pensec, V., & Saraux, A. (2015). Are there specific neurological disorders of primary Sjögren's syndrome? *Revue Du Rhumatisme (Edition Francaise)*, 82(1), 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2014.03.009>
- Aletaha, D., Neogi, T., Silman, A. J., Funovits, J., Felson, D. T., Bingham, C. O., Birnbaum, N. S., Burmester, G. R., Bykerk, V. P., Cohen, M. D., Combe, B., Costenbader, K. H., Dougados, M., Emery, P., Ferraccioli, G., Hazes, J. M. W. W., Hobbs, K., Huizinga, T. W. J. J., Kavanaugh, A., ... Hawker, G. (2010). 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis & Rheumatism*, 62(9), 2569–2581. <https://doi.org/10.1002/art.27584>
- Ali, A. H., Carey, E. J., & Lindor, K. D. (2016). The management of autoimmunity in patients with cholestatic liver diseases. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*, 10(1), 73–91. <https://doi.org/10.1586/17474124.2016.1095088>
- Allaire, S. H., Anderson, J. J., & Meenan, R. F. (1996). Reducing work disability associated with rheumatoid arthritis: Identification of additional risk factors and persons likely to benefit from intervention. *Arthritis Care & Research*, 9(5), 349–357. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(199610\)9:5<349::AID-ANR1790090503>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1529-0131(199610)9:5<349::AID-ANR1790090503>3.0.CO;2-G)

- Allaire, S., Wolfe, F., Niu, J., Zhang, Y., Zhang, B., & LaValley, M. (2008). Evaluation of the effect of anti-tumor necrosis factor agent use on rheumatoid arthritis work disability: The jury is still out. *Arthritis Care and Research*, 59(8), 1082–1089. <https://doi.org/10.1002/art.23923>
- Alpízar-Rodríguez, D., Pluchino, N., Canny, G., Gabay, C., & Finckh, A. (2016). The role of female hormonal factors in the development of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, kew318. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew318>
- AlSaleh, J., Jassim, V., ElSayed, M., Saleh, N., & Harb, D. (2008). Clinical and immunological manifestations in 151 SLE patients living in Dubai. *Lupus*, 17(1), 62–66. <https://doi.org/10.1177/0961203307084297>
- Alvarez, F., Berg, P. A., Bianchi, F. B., Bianchi, L., Burroughs, A. K., Cancado, E. L., Chapman, R. W., Cooksley, W. G. E., Czaja, A. J., Desmet, V. J., Donaldson, P. T., Eddleston, A. L. W. F., Fainboim, L., Heathcote, J., Homberg, J.-C., Hoofnagle, J. H., Kakumu, S., Krawitt, E. L., Mackay, I. R., ... Zeniya, M. (1999). International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *Journal of Hepatology*, 31(5), 929–938. [https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(99\)80297-9](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(99)80297-9)
- Anderson, K. M., Roark, C. L., Portas, M., Aubrey, M. T., Rosloniec, E. F., & Freed, B. M. (2016). A Molecular Analysis of the Shared Epitope Hypothesis: Binding of Arthritogenic Peptides to DRB1*04 Alleles. *Arthritis and Rheumatology*, 68(7), 1627–1636. <https://doi.org/10.1002/ART.39636>
- Andre, I., Bradley, P., Wang, C., & Baker, D. (2007). Prediction of the structure of symmetrical protein assemblies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(45), 17656–17661. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0702626104>
- Arbuckle, M. R., McClain, M. T., Rubertone, M. V., Scofield, R. H., Dennis, G. J., James, J. A., & Harley, J. B. (2003). Development of Autoantibodies before the Clinical Onset of Systemic Lupus Erythematosus. *New England Journal of Medicine*, 349(16), 1526–1533. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa021933>
- Aristizábal, B., & González, Á. (2013). Autoimmunity: From Bench to Bedside, Chapter 2: Innate Immune System. In J.-M. Anaya, Y. Shoenfeld, A. Rojas-Villarraga, R. A. Levy, & R. Cervera (Eds.), *Autoimmunity: From Bench to Bedside* (pp. 237–378). El Rosario University Press. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459447/>
- Arnett, F. C., Edworthy, S. M., Bloch, D. A., Mcshane, D. J., Fries, J. F., Cooper, N. S., Healey, L. A., Kaplan, S. R., Liang, M. H., Luthra, H. S., Medsger, T. A., Mitchell, D. M., Neustadt, D. H., Pinals, R. S., Schaller, J. G., Sharp, J. T., Wilder, R. L., & Hunder, G. G. (1988). The american rheumatism association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 31(3), 315–324. <https://doi.org/10.1002/art.1780310302>
- Atouf, O., Benbouazza, K., Brick, C., Bzami, F., Bennani, N., Amine, B., Hajja-Hassouni, N., & Essakali, M. (2008). HLA polymorphism and early rheumatoid arthritis in the Moroccan population. *Joint Bone Spine*, 75(5), 554–558. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2008.01.027>
- Attia, A. (2010). Influence of surface treatment and cyclic loading on the durability of repaired all-ceramic crowns. *Journal of Applied Oral Science*, 18(2), 194–200. <https://doi.org/10.1590/S1678-77572010000200015>
- Aureli, A., Oumhani, K., Del Beato, T., El Aouad, R., & Piancatelli, D. (2016). CD1A, D and E gene polymorphisms in a North African population from Morocco. *Human Immunology*, 77(7), 566–570. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2016.05.001>
- Bach, J.-F. (2002). The Effect of Infections on Susceptibility to Autoimmune and Allergic Diseases. *New England Journal of Medicine*, 347(12), 911–920. <https://doi.org/10.1056/NEJMra020100>
- Bahon-Riedinger, I. (2004). Détection des anti-ENA anti-SSA (52 et 60 kDa) : expérience d'un laboratoire d'auto-immunité. *La Revue de Médecine Interne*, 25(6), 421–428. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2003.11.009>
- Baker, K. F., & Isaacs, J. D. (2018). Novel therapies for immune-mediated inflammatory diseases: What can we learn from their use in rheumatoid arthritis, spondyloarthritis, systemic lupus erythematosus, psoriasis, Crohn's disease and ulcerative colitis? *Annals of the Rheumatic Diseases*, 77(2), 175–187. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-211555>
- Baños-Hernández, C. J., Navarro-Zarza, J. E., Parra-Rojas, I., Vázquez-Villamar, M., Ramón Padilla-Gutiérrez, J., Valle, Y., Reyes-Castillo, Z., Magdalena Torres-Carrillo, N., García-Arellano, S., Brennan-Bourdon, L. M., & Muñoz-Valle, J. F. (2017). PADI4 polymorphisms and the functional haplotype are associated with increased rheumatoid arthritis susceptibility: A replication study in a Southern Mexican population.

- Human Immunology*, 78(9), 553–558. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2017.05.005>
- Bautista-Molano, W., Fernández-Avila, D., Jiménez, R., Cardozo, R., Marín, A., Soler, M. del P., Gómez, O., & Ruiz, O. (2016). Perfil epidemiológico de pacientes colombianos con artritis reumatoide evaluados en una clínica especializada de atención integral. *Reumatologia Clinica*, 12(6), 313–318. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2015.11.009>
- Belghith, A., Mahjoub, S., & Ben Romdhane, N. (2015). Causes of vitamin B12 deficiency. *La Tunisie Medicale*, 93(11), 678–682. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27126423>
- Belmahi, L., Sefiani, A., Fouveau, C., Feingold, J., Delpéch, M., Grateau, G., & Dodé, C. (2006). Prevalence and distribution of MEFV mutations among Arabs from the Maghreb patients suffering from familial Mediterranean fever. *Comptes Rendus Biologies*, 329(2), 71–74. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2005.11.005>
- Beltran, S., Bony-Trifunovic, H., Gouilleux-Gruart, V., Djeddi, D., Dadamessi, I., Dupas, J. ., & Boudailliez, B. (2004). Prévalence des marqueurs biologiques de la maladie cœliaque dans une cohorte d'enfants et d'adolescents diabétiques de type I. *Annales d'Endocrinologie*, 65(2), 131–135. [https://doi.org/10.1016/S0003-4266\(04\)95661-2](https://doi.org/10.1016/S0003-4266(04)95661-2)
- Ben-Chetrit, E., & Touitou, I. (2009). Familial mediterranean fever in the world. In *Arthritis Care and Research* (Vol. 61, Issue 10, pp. 1447–1453). <https://doi.org/10.1002/art.24458>
- Benseffaj, N., Atouf, O., Ouadghiri, S., Brick, C., & Essakalli, M. (2012). Valeur diagnostique des auto-anticorps dans les maladies auto-immunes. *Immuno-Analyse et Biologie Specialisee*, 27(5), 233–236. <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2012.06.009>
- Bernatsky, S., Smargiassi, A., Barnabe, C., Svenson, L. W., Brand, A., Martin, R. V., Hudson, M., Clarke, A. E., Fortin, P. R., van Donkelaar, A., Edworthy, S., Bélisle, P., & Joseph, L. (2016). Fine particulate air pollution and systemic autoimmune rheumatic disease in two Canadian provinces. *Environmental Research*, 146, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.12.021>
- Berrih-Aknin, S., Frenkian-Cuvelier, M., & Eymard, B. (2014). Diagnostic and clinical classification of autoimmune myasthenia gravis. *Journal of Autoimmunity*, 48–49, 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2014.01.003>
- Bianchi, I., Lleo, A., Gershwin, M. E., & Invernizzi, P. (2012). The X chromosome and immune associated genes. *Journal of Autoimmunity*, 38(2–3), J187–J192. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2011.11.012>
- Bodolay, E., Csiki, Z., Szekanecz, Z., Ben, T., Kiss, E., Zehner, M., Szücs, G., Dankó, K., & Szegedi, G. (2003). Five-year follow-up of 665 Hungarian patients with undifferentiated connective tissue disease (UCTD). *Clinical and Experimental Rheumatology*, 21(3), 313–320.
- Bodur, H., Ataman, Ş., Akbulut, L., Evcik, D., Kavuncu, V., Kaya, T., Günaydin, R., Kuran, B., Kotevoğlu, N., Bal, A., Aydoğ, E., Altay, Z., Uğurlu, H., Kocabaş, H., Ölmez, N., Yazgan, P., Gürsoy, S., Madenci, E., Özel, S., & Delialioğlu, S. Ü. (2008). Characteristics and medical management of patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Clinical Rheumatology*, 27(9), 1119–1125. <https://doi.org/10.1007/s10067-008-0877-1>
- Boeters, D. M., Burgers, L. E., Toes, R. E. M., & van der Helm-van Mil, A. (2019). Does immunological remission, defined as disappearance of autoantibodies, occur with current treatment strategies? A long-term follow-up study in rheumatoid arthritis patients who achieved sustained DMARD-free status. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 78(11), 1497–1504. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-214868>
- Boeters, D. M., Burgers, L. E., Toes, R. E. M., & Van Der Helm-Van Mil, A. (2019). Does immunological remission, defined as disappearance of autoantibodies, occur with current treatment strategies? A long-term follow-up study in rheumatoid arthritis patients who achieved sustained DMARD-free status. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 78(11), 1497–1504. <https://doi.org/10.1136/ANNRHEUMDIS-2018-214868>
- Bonaguri, C., Melegari, A., Ballabio, A., Parmeggiani, M., Russo, A., Battistelli, L., Aloe, R., Trenti, T., & Lippi, G. (2011). Italian multicentre study for application of a diagnostic algorithm in autoantibody testing for autoimmune rheumatic disease: Conclusive results. *Autoimmunity Reviews*, 11(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.06.006>
- Bonnotte, B. (2004). Physiopathologie des maladies auto-immunes. *La Revue de Médecine Interne*, 25(9), 648–658. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2004.02.003>
- Bonnotte, B. (2010). Physiopathologie des maladies auto-immunes. *Revue de Medecine Interne*, 31(SUPPL. 3). <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2010.09.017>

- Booth, D. R., Gillmore, J. D., Booth, S. E., Pepys, M. B., & Hawkins, P. M. (1998). Pyrin/marenostrin mutations in familial Mediterranean fever. *QJM - Monthly Journal of the Association of Physicians*, 91(9), 603–606. <https://doi.org/10.1093/qjmed/91.9.603>
- Bourhanbour, A. D., Ouadghiri, S., Benseffaj, N., & Essakalli, M. (2016). Dépistage sérologique de la maladie cœliaque chez des patients marocains atteints de diabète type 1. *Pan African Medical Journal*, 24, 1–6. <https://doi.org/10.11604/pamj.2016.24.103.8555>
- Brahim, I., Brahim, I., Hazime, R., & Admou, B. (2017). Hépatites auto-immunes : diagnostic immunologique. *La Presse Médicale*, 46(11), 1008–1019. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2017.08.012>
- Broten, L., Aviña-Zubieta, J. A., Lacaille, D., Joseph, L., Hanly, J. G., Lix, L., O'Donnell, S., Barnabe, C., Fortin, P. R., Hudson, M., Jean, S., Peschken, C., Edworthy, S. M., Svenson, L., Pineau, C. A., Clarke, A. E., Smith, M., Bélisle, P., Badley, E. M., ... Bernatsky, S. (2014). Systemic autoimmune rheumatic disease prevalence in Canada: Updated analyses across 7 provinces. *Journal of Rheumatology*, 41(4), 673–679. <https://doi.org/10.3899/jrheum.130667>
- Bukhari, M., Lunt, M., Harrison, B. J., Scott, D. G. I., Symmons, D. P. M., & Silman, A. J. (2002). Rheumatoid factor is the major predictor of increasing severity of radiographic erosions in rheumatoid arthritis: Results from the norfolk arthritis register study, a large inception cohort. *Arthritis and Rheumatism*, 46(4), 906–912. <https://doi.org/10.1002/art.10167>
- Bullot, M., & Woyzbun, L. (2009). A picture of rheumatoid arthritis in Australia. In *Australian Institute of Health and Welfare* (Issue 9).
- C. Maktouf. (2007). Clinical spectrum of cobalamin deficiency in Tunisia. *Abc*, 65(2), 135–142. <https://doi.org/doi:10.1684/abc.2007.0041>
- Cacoub, P., Gragnani, L., Comarmond, C., & Zignego, A. L. (2014). Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection. In *Digestive and Liver Disease* (Vol. 46, Issue S5, pp. S165–S173). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2014.10.005>
- Caglayan, A. O., Demiryilmaz, F., Ozyazgan, I., & Gumus, H. (2010). MEFV gene compound heterozygous mutations in familial Mediterranean fever phenotype: a retrospective clinical and molecular study. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(8), 2520–2523. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp632>
- Cañete, J. D., Arostegui, J. I., Queiró, R., Gratacós, J., Hernández, M. V., Larrosa, M., Alperí, M., Moll, C., Rius, J., Sanmartí, R., & Yagüe, J. (2007). An unexpectedly high frequency of MEFV mutations in patients with anti-citrullinated protein antibody-negative palindromic rheumatism. *Arthritis & Rheumatism*, 56(8), 2784–2788. <https://doi.org/10.1002/art.22755>
- Carvajal Alegria, G., Guellec, D., Devauchelle-Pensec, V., & Saraux, A. (2015). Existe-il des atteintes neurologiques spécifiques du syndrome de Sjögren primitif? *Revue Du Rhumatisme*, 82(1), 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2014.03.009>
- Castillo, N. E., Theethira, T. G., & Leffler, D. A. (2015). The present and the future in the diagnosis and management of celiac disease. *Gastroenterology Report*, 3(1), 3–11. <https://doi.org/10.1093/gastro/gou065>
- Catassi, C., Elli, L., Bonaz, B., Bouma, G., Carroccio, A., Castillejo, G., Cellier, C., Cristofori, F., de Magistris, L., Dolinsek, J., Dieterich, W., Francavilla, R., Hadjivassiliou, M., Holtmeier, W., Körner, U., Leffler, D. A., Lundin, K. E. A., Mazzarella, G., Mulder, C. J., ... Fasano, A. (2015). Diagnosis of non-celiac gluten sensitivity (NCGS): The salerno experts' criteria. *Nutrients*, 7(6), 4966–4977. <https://doi.org/10.3390/nu7064966>
- Catrina, A. I., Svensson, C. I., Malmström, V., Schett, G., & Klareskog, L. (2017). Mechanisms leading from systemic autoimmunity to joint-specific disease in rheumatoid arthritis. In *Nature Reviews Rheumatology* (Vol. 13, Issue 2). <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.200>
- Cattan, D. (2006). Anémies d'origine digestive. *EMC - Gastro-Entérologie*, 1(1), 1–18. [https://doi.org/10.1016/S1155-1968\(05\)31205-3](https://doi.org/10.1016/S1155-1968(05)31205-3)
- Cattan, D., Notarnicola, C., Molinari, N., & Touitou, I. (2000). Inflammatory bowel disease in non-Ashkenazi Jews with familial Mediterranean fever. *The Lancet*, 355(9201), 378–379. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)02134-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)02134-0)
- Ceccarelli, F., Agmon-Levin, N., & Perricone, C. (2017). Genetic Factors of Autoimmune Diseases 2017. *Journal of Immunology Research*, 2017, 2–4. <https://doi.org/10.1155/2017/2789242>
- Centola, M., Wood, G., Frucht, D. M., Galon, J., Aringer, M., Farrell, C., Kingma, D. W., Horwitz, M. E.,

- Mansfield, E., Holland, S. M., O'Shea, J. J., Rosenberg, H. F., Malech, H. L., & Kastner, D. L. (2000). The gene for familial Mediterranean fever, MEFV, is expressed in early leukocyte development and is regulated in response to inflammatory mediators. *Blood*, 95(10), 3223–3231. <https://doi.org/10.1182/blood.V95.10.3223>
- Chabchoub G, Mnif M, M. A. et al. (2006). Etude épidémiologique des maladies autoimmunes ., thyroïdiennes dans le sud tunisien. *Annales d'endocrinologie.*, (6)(67), 591–595.
- Chae, J. J., Wood, G., Masters, S. L., Richard, K., Park, G., Smith, B. J., & Kastner, D. L. (2006). The B30.2 domain of pyrin, the familial mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1 β production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(26), 9982–9987. <https://doi.org/10.1073/pnas.0602081103>
- Chang, B., Li, B., Sun, Y., Teng, G., Huang, A., Li, J., & Zou, Z. (2017). Changes in etiologies of hospitalized patients with liver cirrhosis in Beijing 302 Hospital from 2002 to 2013. *Mediators of Inflammation*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5605981>
- Charkin, T. (1999). American College of Rheumatology. *Critical Care*, 3(1), webreport261. <https://doi.org/10.1186/ccf-1999-webreport261>
- Chebbi, W., Salem, W. Ben, Klii, R., Kessomtini, W., Jerbi, S., & Sfar, M. H. (2015). Syndrome de Gougerot-Sjögren primitif du sujet âgé: caractéristiques cliniques et immunologiques. *Pan African Medical Journal*, 20, 8. <https://doi.org/10.11604/pamj.2015.20.8.5042>
- Chen, X., Fischel-Ghodsian, N., Cercek, A., Hamon, M., Ogur, G., Lotan, R., Danon, Y., & Shohat, M. (1998). Assessment of pyrin gene mutations in Turks with familial Mediterranean fever (FMF). *Human Mutation*, 11(6), 456–460. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1004\(1998\)11:6<456::AID-HUMU6>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(1998)11:6<456::AID-HUMU6>3.0.CO;2-G)
- Chiang, C.-P., Yu-Fong Chang, J., Wang, Y.-P., Wu, Y.-H., Lu, S.-Y., & Sun, A. (2018). Oral lichen planus - Differential diagnoses, serum autoantibodies, hematitic deficiencies, and management. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan Yi Zhi*, 117(9), 756–765. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.01.021>
- Chomel, J. J., Aymard, M., Allard, J. P., & Bouvet, C. (1982). Le diagnostic rapide des infections à virus respiratoire syncytial (RS) par le titrage des IgM sériques (immunofluorescence indirecte). *Annales de l'Institut Pasteur Virology*, 133(1), 59–66. [https://doi.org/10.1016/S0769-2617\(82\)80054-3](https://doi.org/10.1016/S0769-2617(82)80054-3)
- Choy, E. (2012). Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 51(suppl 5), v3–v11. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kes113>
- Cojocaru, M., Cojocaru, I. M., Silosi, I., Vrabie, C. D., & Tanasescu, R. (2010). Extra-articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis. *Maedica*, 5(4), 286–291. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21977172>
- Comak, E., Dogan, C. S., Akman, S., Koyun, M., Gokceoglu, A. U., & Keser, I. (2013). MEFV gene mutations in Turkish children with juvenile idiopathic arthritis. *European Journal of Pediatrics*, 172(8), 1061–1067. <https://doi.org/10.1007/s00431-013-2003-x>
- Combe, B. (2007). Polyarthrite rhumatoïde : clinique et diagnostic. *EMC - Appareil Locomoteur*, 2(3), 1–15. [https://doi.org/10.1016/s0246-0521\(07\)43710-x](https://doi.org/10.1016/s0246-0521(07)43710-x)
- Combe, Bernard, & Rincival, N. (2015). Early lessons from the recent-onset rheumatoid arthritis cohort ESPOIR. In *Joint Bone Spine* (Vol. 82, Issue 1, pp. 13–17). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2014.07.003>
- Conrad, K., Andrade, L. E. C., Chan, E. K. L., Mahler, M., Meroni, P. L., Pruijn, G. J. M., Steiner, G., & Shoenfeld, Y. (2016). From autoantibody research to standardized diagnostic assays in the management of human diseases – report of the 12th Dresden Symposium on Autoantibodies. *Lupus*, 25(8), 787–796. <https://doi.org/10.1177/0961203316644337>
- Cook, M. (2006). Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology. *Immunology and Cell Biology*, 84(6), 563–563. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1711.2006.01474.x>
- Cooper, G., Bynum, M., & Somers, E. (2009). Recent Insight in the Epidemiology of Autoimmune Disease: Improved Prevalence Estimates and Understanding of Clustering of Disease. *Journal of Autoimmunity*, 33(3–4), 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.09.008>
- Cooper, G. S., Bynum, M. L. K., & Somers, E. C. (2009). Recent insights in the epidemiology of autoimmune diseases: Improved prevalence estimates and understanding of clustering of diseases. *Journal of Autoimmunity*, 33(3–4), 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.09.008>

- Cornélis, F., Fauré, S., Martinez, M., Prud'homme, J. F., Fritz, P., Dib, C., Alves, H., Barrera, P., De Vries, N., Balsa, A., Pascual-Salcedo, D., Maenaut, K., Westhovens, R., Migliorini, P., Tran, T. H., Delaye, A., Prince, N., Lefevre, C., Thomas, G., ... Weissenbach, J. (1998). New susceptibility locus for rheumatoid arthritis suggested by a genome-wide linkage study. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(18), 10746–10750. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.18.10746>
- Correia ML, Carvalho S, Fortuna J, P. M. (2008). Comparison of three anti-CCP antibody tests and rheumatoid factor in RA and control Patients. *Clin Rev Allergy Immunol*, 34, 21–5.
- Coşkun, S., Ustyol, L., Bayram, Y., Selçuk Bektaş, M., Gulsen, S., Çim, A., Uluca, U., & Savaş, D. (2015). The spectrum of MEFV gene mutations and genotypes in Van province, the eastern region of Turkey, and report of a novel mutation (R361T). *Gene*, 562(1), 128–131. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.02.059>
- Cuervo, A., Sanmartí, R., Ramírez, J., Castellanos-Moreira, R., Inciarte-Mundo, J., Aróstegui, J. I., McGonagle, D., & Cañete, J. D. (2021). Palindromic rheumatism: Evidence of four subtypes of palindromic-like arthritis based in either MEFV or rheumatoid factor/ACPA status. *Joint Bone Spine*, 88(6), 4–9. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2021.105235>
- Cugnet, M., Samson, M., Leguy, V., Lakomy, D., Martin, L., Berthier, S., Audia, S., & Bonnotte, B. (2015). Anticorps anti-Ku : quel tableau clinique ? *La Revue de Médecine Interne*, 36, A120–A121. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2015.03.110>
- D'Cruz, A. A., Babon, J. J., Norton, R. S., Nicola, N. A., & Nicholson, S. E. (2013). Structure and function of the SPRY/B30.2 domain proteins involved in innate immunity. *Protein Science*, 22(1), 1–10. <https://doi.org/10.1002/pro.2185>
- Day, T. G., Ramanan, A. V., Hinks, A., Lamb, R., Packham, J., Wise, C., Punaro, M., & Donn, R. P. (2008). Autoinflammatory genes and susceptibility to psoriatic juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 58(7), 2142–2146. <https://doi.org/10.1002/art.23604>
- Desmottes, M. (2020). *La consommation d'alcool prévient l'évolution structurale dans la polyarthrite rhumatoïde : analyse systématique de la littérature et méta analyse.*
- Diallo, M. S., Mbengue, B., Seck, A., Ndao, A. C., Niang, M. S., Cissoko, Y., Thiam, A., Diop, G., Diallo, R. N., Diallo, M., Ndongo, S., Dièye, T. N., Cissé, M., Kane, A., & Dièye, A. (2014). Evolution of autoantibodies profile in systemic lupus erythematosus according to age and clinical manifestations. *Annales de Biologie Clinique*, 72(3), 351–358. <https://doi.org/10.1684/abc.2014.0963>
- Diaz-Gallo, L. M., & Martin, J. (2012). PTPN22 splice forms: A new role in rheumatoid arthritis. *Genome Medicine*, 4(2), 2–5. <https://doi.org/10.1186/gm312>
- Didier, K., Bolko, L., Giusti, D., Toquet, S., Robbins, A., Antonicelli, F., & Servettaz, A. (2018). Autoantibodies Associated With Connective Tissue Diseases: What Meaning for Clinicians? *Frontiers in Immunology*, 9(MAR), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00541>
- Dieudé, P., & Cornélis, F. (2005). Genetic basis of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*, 72(6), 520–526. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2005.09.001>
- Dougados, M., Soubrier, M., Antunez, A., Balint, P., Balsa, A., Buch, M. H., Casado, G., Detert, J., El-Zorkany, B., Emery, P., Hajjaj-Hassouni, N., Harigai, M., Luo, S.-F., Kurucz, R., Maciel, G., Mola, E. M., Montecucco, C. M., McInnes, I., Radner, H., ... Kay, J. (n.d.). *Prevalence of comorbidities in rheumatoid arthritis and evaluation of their monitoring: results of an international, cross-sectional study (COMORA).* <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204223>
- Dragin, N., Bismuth, J., Cizeron-Clairac, G., Biferi, M. G., Berthault, C., Serraf, A., Nottin, R., Klatzmann, D., Cumano, A., Barkats, M., Le Panse, R., & Berrih-Aknin, S. (2016). Estrogen-mediated downregulation of AIRE influences sexual dimorphism in autoimmune diseases. *Journal of Clinical Investigation*, 126(4), 1525–1537. <https://doi.org/10.1172/JCI81894>
- Druet, P. (1992). Diagnosis of autoimmune diseases. *Journal of Immunological Methods*, 150(1–2), 177–184. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1613253>
- du Montcel, S. T., Michou, L., Petit-Teixeira, E., Osorio, J., Lemaire, I., Lasbleiz, S., Pierlot, C., Quillet, P., Bardin, T., Prum, B., Cornelis, F., & Clerget-Darpoux, F. (2005). New classification of HLA-DRB1 alleles supports the shared epitope hypothesis of rheumatoid arthritis susceptibility. *Arthritis & Rheumatism*, 52(4), 1063–1068. <https://doi.org/10.1002/art.20989>
- Dubucquoi, S., Solau-Gervais, E., Lefranc, D., Marguerie, L., Sibilia, J., Goetz, J., Dutoit, V., Fauchais, A. L.,

- Hachulla, E., Flipo, R. M., & Prin, L. (2004). Evaluation of anti-citrullinated filaggrin antibodies as hallmarks for the diagnosis of rheumatic diseases. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 63(4), 415–419. <https://doi.org/10.1136/ard.2003.008623>
- Dumusc, A., & So, A. (2014). [Complications and systemic manifestations of rheumatoid arthritis]. *Revue Medicale Suisse*, 10(421), 590, 592–594. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24701711>
- Durmus, B., Altay, Z., Baysal, O., Ersoy, Y., Erdal, A., Cevik, R., Ardicoglu, O., Tekeoglu, I., Yildirim, K., Sarac, A. J., Kamanli, A., Karatay, S., Nas, K., Kaya, A., Senel, K., Gur, A., Ugur, M., & Ozgocmen, S. (2011). Can the patient-reported outcome instruments determine disease activity in rheumatoid arthritis? *Bratislava Medical Journal*, 112(10), 555–561.
- Eaton, W. W., Rose, N. R., Kalaydjian, A., Pedersen, M. G., & Mortensen, P. B. (2007). Epidemiology of autoimmune diseases in Denmark. *Journal of Autoimmunity*, 29(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2007.05.002>
- Eddaoudi, M., Rostom, S., Hmamouchi, I., El Binoune, I., Amine, B., Abouqal, R., Achemlal, L., Allali, F., El Bouchti, I., El Maghraoui, A., Ghazlani, I., Hassikou, H., Harzy, T., Ichchou, L., Mkinsi, O., Niamane, R., & Bahiri, R. (2021). The first biological choice in patients with rheumatoid arthritis: Data from the moroccan register of biotherapies. *Pan African Medical Journal*, 38(183), 183. <https://doi.org/10.11604/pamj.2021.38.183.27081>
- Elkon, K., & Casali, P. (2008). Nature and functions of autoantibodies. In *Nature Clinical Practice Rheumatology* (Vol. 4, Issue 9, pp. 491–498). <https://doi.org/10.1038/ncprheum0895>
- Eriksson, C., Kokkonen, H., Johansson, M., Hallmans, G., Wadell, G., & Rantapää-Dahlqvist, S. (2011). Autoantibodies predate the onset of systemic lupus erythematosus in northern Sweden. *Arthritis Research & Therapy*, 13(1), R30. <https://doi.org/10.1186/ar3258>
- Etem, E., Koca, S., Erol, D., Yolbas, S., Oz, E., Elyas, H., & Isik, A. (2015). Decreased MEFV gene expression in rheumatoid arthritis patients. *Genetics and Molecular Research*, 14(1), 1000–1007. <https://doi.org/10.4238/2015.February.6.3>
- Eyre, S., Bowes, J., Diogo, D., Lee, A., Barton, A., Martin, P., Zhernakova, A., Stahl, E., Viatte, S., McAllister, K., Amos, C. I., Padyukov, L., Toes, R. E. M., Huizinga, T. W. J., Wijmenga, C., Trynka, G., Franke, L., Westra, H. J., Alfredsson, L., ... Bentley, D. (2012a). High-density genetic mapping identifies new susceptibility loci for rheumatoid arthritis. *Nature Genetics*, 44(12), 1336–1340. <https://doi.org/10.1038/ng.2462>
- Eyre, S., Bowes, J., Diogo, D., Lee, A., Barton, A., Martin, P., Zhernakova, A., Stahl, E., Viatte, S., McAllister, K., Amos, C. I., Padyukov, L., Toes, R. E. M., Huizinga, T. W. J., Wijmenga, C., Trynka, G., Franke, L., Westra, H. J., Alfredsson, L., ... Bentley, D. (2012b). High-density genetic mapping identifies new susceptibility loci for rheumatoid arthritis. *Nature Genetics*, 44(12), 1336–1340. <https://doi.org/10.1038/NG.2462>
- Facio, F. M., Sapp, J. C., Linn, A., & Biesecker, L. G. (2012). *Approaches to informed consent for hypothesis-testing and hypothesis-generating clinical genomics research*. <http://www.biomedcentral.com/1755-8794/5/45>
- Fang, Q., Ou, J., & Nandakumar, K. S. (2019). Autoantibodies as Diagnostic Markers and Mediator of Joint Inflammation in Arthritis. *Mediators of Inflammation*, 2019, 1–22. <https://doi.org/10.1155/2019/6363086>
- Fautrel, B., Combe, B., Rincheval, N., & Dougados, M. (2012). Level of agreement of the 1987 ACR and 2010 ACR/EULAR rheumatoid arthritis classification criteria: an analysis based on ESPOIR cohort data. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 71(3), 386–389. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200259>
- Feki, S., Frikha, F., Ben Hadj Hmida, Y., Abed, S., Ben Ayed, M., Turki, H., Hachicha, J., Baklouti, S., Bahloul, Z., & Masmoudi, H. (2012). Prévalence et valeur diagnostique des anticorps antinucléaires de spécificité antigénique indéterminée : étude rétrospective à propos d’une série de 90 patients. *La Revue de Médecine Interne*, 33(9), 475–481. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2012.04.017>
- Ferucci, E. D., Templin, D. W., & Lanier, A. P. (2005). Rheumatoid arthritis in American Indians and Alaska natives: A review of the literature. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 34(4), 662–667. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2004.08.003>
- Firestein, G. S. (2018). PATHOGENESIS OF RHEUMATOID ARTHRITIS: THE INTERSECTION OF GENETICS AND EPIGENETICS. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, 129, 171–182. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6116585/>

- Fornaro, M., Cacciapaglia, F., Lopalco, G., Venerito, V., & Iannone, F. (2021). Predictors of long-term clinical remission in rheumatoid arthritis. *European Journal of Clinical Investigation*, 51(2), 1–7. <https://doi.org/10.1111/eci.13363>
- Frank-Bertoncelj, M., Trenkmann, M., Klein, K., Karouzakis, E., Rehrauer, H., Bratus, A., Kolling, C., Armaka, M., Filer, A., Michel, B. A., Gay, R. E., Buckley, C. D., Kollias, G., Gay, S., & Ospelt, C. (2017). Epigenetically-driven anatomical diversity of synovial fibroblasts guides joint-specific fibroblast functions. *Nature Communications*, 8, 1–14. <https://doi.org/10.1038/ncomms14852>
- Gaujoux-Viala, C. (2017). Évaluation de l'activité de la polyarthrite rhumatoïde. *Revue Du Rhumatisme Monographies*, 84(4), 343–346. <https://doi.org/10.1016/j.monrhu.2017.08.004>
- Gaujoux-Viala, C., Mouterde, G., Baillet, A., Claudepierre, P., Fautrel, B., Le Loët, X., & Maillefert, J. F. (2012). Evaluating disease activity in rheumatoid arthritis: Which composite index is best? A systematic literature analysis of studies comparing the psychometric properties of the DAS, DAS28, SDAI and CDAI. *Joint Bone Spine*, 79(2), 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2011.04.008>
- Ge, C., Xu, B., Liang, B., Lönnblom, E., Lundström, S. L., Zubarev, R. A., Ayoglu, B., Nilsson, P., Skogh, T., Kastbom, A., Malmström, V., Klareskog, L., Toes, R. E. M., Rispen, T., Dobritzsch, D., & Holmdahl, R. (2019). Structural Basis of Cross-Reactivity of Anti-Citrullinated Protein Antibodies. *Arthritis and Rheumatology*, 71(2). <https://doi.org/10.1002/art.40698>
- Gebauer, C. (2017). *The Janus face of immunity: how anti-tumor immunity leads to autoimmunity in paraneoplastic neurological diseases*. Université Paul Sabatier - Toulouse III.
- Generali, E., & Selmi, C. (2019). Geoepidemiology of Autoimmune Diseases. In *Mosaic of Autoimmunity*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814307-0.00022-0>
- Giersiepen, K., Lelgemann, M., Stuhldreher, N., Ronfani, L., Husby, S., Koletzko, S., & Korponay-Szabó, I. R. (2012). Accuracy of Diagnostic Antibody Tests for Coeliac Disease in Children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 54(2), 229–241. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318216f2e5>
- Gleicher, N., & Barad, D. H. (2007). Gender as risk factor for autoimmune diseases. *Journal of Autoimmunity*, 28(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2006.12.004>
- Goetz, J. (2005). Marqueurs biologiques anciens et modernes du lupus érythémateux systémique. *Revue Du Rhumatisme*, 72(2), 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2004.12.007>
- Goetz, J., Chevailler, A., Humbel, L. R., Fabien, N., Monier, J., & Olsson, N. (2005). Techniques Utilisées En Auto Immunité. *Geai*.
- Gomez-Cabrero, D., Almgren, M., Sjöholm, L. K., Hensvold, A. H., Ringh, M. V., Tryggvadottir, R., Kere, J., Scheynius, A., Acevedo, N., Reinius, L., Taub, M. A., Montano, C., Aryee, M. J., Feinberg, J. I., Feinberg, A. P., Tegnér, J., Klareskog, L., Catrina, A. I., & Ekström, T. J. (2016). High-specificity bioinformatics framework for epigenomic profiling of discordant twins reveals specific and shared markers for ACPA and ACPA-positive rheumatoid arthritis. *Genome Medicine*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0374-0>
- Goodnow, C. C., Sprent, J., de St Groth, B. F., & Vinuesa, C. G. (2005). Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature*, 435(7042), 590–597. <https://doi.org/10.1038/nature03724>
- Gottenberg, J. E., Ravaud, P., Cantagrel, A., Combe, B., Flipo, R. M., Schaefferbeke, T., Houvenagel, E., Gaudin, P., Loeuille, D., Rist, S., Dougados, M., Sibilia, J., Le Loët, X., Marcelli, C., Bardin, T., Pane, I., Baron, G., & Mariette, X. (2012). Positivity for anti-cyclic citrullinated peptide is associated with a better response to abatacept: Data from the “Orencia and Rheumatoid Arthritis” registry. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 71(11), 1815–1819. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-201109>
- Greco, L. (2011). Burden of celiac disease in the Mediterranean area. *World Journal of Gastroenterology*, 17(45), 4971. <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i45.4971>
- Gregersen, P. K., Silver, J., & Winchester, R. J. (1987). The shared epitope hypothesis. an approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 30(11), 1205–1213. <https://doi.org/10.1002/art.1780301102>
- Grøn, K. L., Ornbjerg, L. M., Hetland, M. L., Aslam, F., Khan, N. A., Jacobs, J. W. G., Henrohn, D., Rasker, J. J., Kauppi, M. J., Lang, H.-C., Mota, L. M. H., Aggarwal, A., Yamanaka, H., Badsha, H., Gossec, L., Cutolo, M., Ferraccioli, G., Gremese, E., Bong Lee, E., ... Sokka, T. (2014). The association of fatigue, comorbidity burden, disease activity, disability and gross domestic product in patients with rheumatoid

- arthritis. Results from 34 countries participating in the Quest-RA program. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 32(6), 869–877. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25327997>
- Grossman, J. M., & Tsao, B. P. (2000). Genetics and systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep*, 2, 13–18.
- Guastafierro, T., Bondanini, F., Marcoccia, A., Cimino, C., Carboni, B., Modesti, M. G., Valentini, G., & Spanò, A. (2018). Prevalence of autoantibody patterns in a group of patients with early scleroderma. *Rivista Italiana Della Medicina Di Laboratorio*, 14(1), 25–31. <https://doi.org/10.1007/s13631-018-0179-9>
- Guerin-Moreau, M., Martin, L., & Cordel, N. (2014). Les anticorps anti-SRP constituent-ils un facteur pronostique des dermatomyosites ? *Annales de Dermatologie et de Vénéréologie*, 141(12), S420–S421. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2014.09.433>
- Guillemin, F. (2005). Prevalence of rheumatoid arthritis in France: 2001. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 64(10), 1427–1430. <https://doi.org/10.1136/ard.2004.029199>
- Gülfe, A., Aletaha, D., Saxne, T., & Geborek, P. (2009). Disease activity level, remission and response in established rheumatoid arthritis: Performance of various criteria sets in an observational cohort, treated with anti-TNF agents. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 10, 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-10-41>
- Ha-Ou-Nou, F. Z., & Essaadouni, L. (2013). Incidence du lupus érythémateux systémique à Marrakech (Maroc). *La Revue de Médecine Interne*, 34, A105. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2013.03.049>
- Hadj Ali, Z., Sayhi, S., Agili, F., Boussetta, N., Abid, R., Gharsallah, I., Metoui, L., Battikh, S., Louzir, B., Ben Abdelhafidh, N., & Othmani, O. (2015). Scléromyosite à anticorps anti-PM/SCL positif : à propos de deux cas. *La Revue de Médecine Interne*, 36, A170–A171. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2015.10.152>
- Hamann, P., Holland, R., Hyrich, K., Pauling, J. D., Shaddick, G., Nightingale, A., & McHugh, N. (2017). Factors Associated With Sustained Remission in Rheumatoid Arthritis in Patients Treated With Anti-Tumor Necrosis Factor. *Arthritis Care & Research*, 69(6), 783–793. <https://doi.org/10.1002/acr.23016>
- Han, B., Diogo, D., Eyre, S., Kallberg, H., Zhernakova, A., Bowes, J., Padyukov, L., Okada, Y., González-Gay, M. A., Rantapää-Dahlqvist, S., Martin, J., Huizinga, T. W. J., Plenge, R. M., Worthington, J., Gregersen, P. K., Klareskog, L., De Bakker, P. I. W., & Raychaudhuri, S. (2014). Fine mapping seronegative and seropositive rheumatoid arthritis to shared and distinct HLA alleles by adjusting for the effects of heterogeneity. *American Journal of Human Genetics*, 94(4), 522–532. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.02.013>
- Hariz, M. Ben, Kallel-Sellami, M., Kallel, L., Lahmer, A., Halioui, S., Bouraoui, S., Laater, A., Sliti, A., Mahjoub, A., Zouari, B., Makni, S., & Maherzi, A. (2007). Prevalence of celiac disease in Tunisia: mass-screening study in schoolchildren. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 19(8), 687–694. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e328133f0c1>
- Harrold, L. R., Litman, H. J., Connolly, S. E., Alemas, E., Kelly, S., Rebello, S., Hua, W., & Kremer, J. M. (2019). Comparative Effectiveness of Abatacept Versus Tumor Necrosis Factor Inhibitors in Patients with Rheumatoid Arthritis Who Are Anti-CCP Positive in the United States Corrona Registry. *Rheumatology and Therapy*. <https://doi.org/10.1007/s40744-019-0149-3>
- He, Y., Wu, W., Zheng, H.-M., Li, P., McDonald, D., Sheng, H.-F., Chen, M.-X., Chen, Z.-H., Ji, G.-Y., Zheng, Z.-D.-X., Mujagond, P., Chen, X.-J., Rong, Z.-H., Chen, P., Lyu, L.-Y., Wang, X., Wu, C.-B., Yu, N., Xu, Y.-J., ... Zhou, H.-W. (2018). Regional variation limits applications of healthy gut microbiome reference ranges and disease models. *Nature Medicine*, 24(10), 1532–1535. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0164-x>
- Hedrich, C. M. (2016). Shaping the spectrum - From autoinflammation to autoimmunity. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*, 165, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2016.03.002>
- Heilig, R., & Broz, P. (2018). Function and mechanism of the pyrin inflammasome. *European Journal of Immunology*, 48(2), 230–238. <https://doi.org/10.1002/eji.201746947>
- Hetland, M. L., Stengaard-Pedersen, K., Junker, P., Østergaard, M., Ejbjerg, B. J., Jacobsen, S., Lottenburger, T., Hansen, I., Tarp, U., Andersen, L. S., Svendsen, A., Pedersen, J. K., Lauridsen, U. B., Ellingsen, T., Lindegaard, H., Pødenphant, J., Vestergaard, A., Jurik, A. G., & Hørslev-Petersen, K. (2010). Radiographic progression and remission rates in early rheumatoid arthritis - MRI bone oedema and anti-CCP predicted radiographic progression in the 5-year extension of the double-blind randomised CIMESTRA trial. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(10), 1789–1795. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.125534>

- Hiemann, R., Büttner, T., Krieger, T., Roggenbuck, D., Sack, U., & Conrad, K. (2009). Challenges of automated screening and differentiation of non-organ specific autoantibodies on HEP-2 cells. In *Autoimmunity Reviews* (Vol. 9, Issue 1, pp. 17–22). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2009.02.033>
- Horvat, T. Z., Adel, N. G., Dang, T. O., Momtaz, P., Postow, M. A., Callahan, M. K., Carvajal, R. D., Dickson, M. A., D'Angelo, S. P., Woo, K. M., Panageas, K. S., Wolchok, J. D., & Chapman, P. B. (2015). Immune-related adverse events, need for systemic immunosuppression, and effects on survival and time to treatment failure in patients with melanoma treated with ipilimumab at memorial sloan kettering cancer center. *Journal of Clinical Oncology*, 33(28), 3193–3198. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.60.8448>
- Hua, C., & Combe, B. (2017). Les nouveaux critères de classification ACR/EULAR 2010 pour un diagnostic plus précoce de la polyarthrite rhumatoïde. *Revue Du Rhumatisme Monographies*, 84(4), 337–342. <https://doi.org/10.1016/j.monrhu.2017.07.001>
- Humbel RL. (1997). *AUTO-ANTICORPS ET MALADIES AUTO-IMMUNES*. Elsevier. <https://doi.org/ISBN 2-906077-58-5>
- Ibn Yacoub, Y., Amine, B., Laatiris, A., & Hajjaj-Hassouni, N. (2012). Rheumatoid factor and antibodies against citrullinated peptides in Moroccan patients with rheumatoid arthritis: association with disease parameters and quality of life. *Clinical Rheumatology*, 31(2), 329–334. <https://doi.org/10.1007/s10067-011-1820-4>
- Imirzalioglu, N., Dursun, A., Tastan, B., Soysal, Y., & Yakicier, M. C. (2005). MEFV gene is a probable susceptibility gene for Behçet's disease. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 34(1), 56–58. <https://doi.org/10.1080/03009740510017931>
- Inanir, A., Yigit, S., Karakus, N., Tekin, S., & Rustemoglu, A. (2013). Association of MEFV Gene Mutations With Rheumatoid Factor Levels in Patients With Rheumatoid Arthritis. *Journal of Investigative Medicine*, 61(3), 593–596. <https://doi.org/10.2310/JIM.0b013e318280a96e>
- Jacobs, J., Bossuyt, X., Van Hoovels, L., Verschueren, P., Vander Cruyssen, B., & Van den Brecht, S. (2018). Performance characteristics of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody assays may impact ACR/EULAR classification of rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 77(5), 667–677. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-212365>
- Jéru, I., Hayrapetyan, H., Duquesnoy, P., Cochet, E., Serre, J.-L., Feingold, J., Grateau, G., Sarkisian, T., Jeanpierre, M., & Amselem, S. (2009). Involvement of the Modifier Gene of a Human Mendelian Disorder in a Negative Selection Process. *PLoS ONE*, 4(10), e7676. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007676>
- Jesus, A. A., & Goldbach-Mansky, R. (2014). IL-1 blockade in autoinflammatory syndromes1. *Annual Review of Medicine*, 65, 223–244. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-061512-150641>
- Ji, M., Hur, M., Moon, H.-W., Park, M., Yun, Y.-M., & Lee, S.-H. (2018). Comparison of second- and third-generation immunoassays for detection of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 78(6), 477–482. <https://doi.org/10.1080/00365513.2018.1499957>
- John, S., & Worthington, J. (2001). Genetic epidemiology. Approaches to the genetic analysis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*, 3(4), 216–220. <https://doi.org/10.1186/ar304>
- Kalyoncu, M., Acar, B. C., Cakar, N., Bakaloglu, A., Ozturk, S., Dereli, E., Tunca, M., Kasapcopur, O., Yalcinkaya, F., & Ozen, S. (2006). Are carriers for MEFV mutations “healthy”? *Clinical and Experimental Rheumatology*, 24(5 Suppl 42), S120–2. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17067442/?from_term=Bakaloglu+A&from_cauthor_id=17067442&from_pos=1
- Kang, J. Y., Kang, A. H. Y., Green, A., Gwee, K. A., & Ho, K. Y. (2013). Systematic review: Worldwide variation in the frequency of coeliac disease and changes over time. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 38(3), 226–245. <https://doi.org/10.1111/apt.12373>
- Karouzakis, E., Gay, R. E., Michel, B. A., Gay, S., & Neidhart, M. (2009). DNA hypomethylation in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis and Rheumatism*, 60(12), 3613–3622. <https://doi.org/10.1002/art.25018>
- Katchamart, W., Narongroeknawin, P., Chanapai, W., Thaweeratthakul, P., & Srisomnuek, A. (2020). Prevalence of and factors associated with depression and anxiety in patients with rheumatoid arthritis: A multicenter prospective cross-sectional study. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 23(3), 302–308. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13781>

- Khalifa, O., Pers, Y. M., Ferreira, R., Siğirici, A., Jorgensen, C., Apparailly, F., & Duroux-Richard, I. (2016). X-linked miRNAs associated with gender differences in rheumatoid arthritis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(11). <https://doi.org/10.3390/ijms17111852>
- Kim, K., Bang, S.-Y., Lee, H.-S., & Bae, S.-C. (2017). Update on the genetic architecture of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 13(1), 13–24. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.176>
- Kirino, Y., Zhou, Q., Ishigatsubo, Y., Mizuki, N., Tugal-Tutkun, I., Seyahi, E., Ozyazgan, Y., Ugurlu, S., Erer, B., Abaci, N., Ustek, D., Meguro, A., Ueda, A., Takeno, M., Inoko, H., Ombrello, M. J., Satorius, C. L., Maskeri, B., Mullikin, J. C., ... Remmers, E. F. (2013). Targeted resequencing implicates the familial Mediterranean fever gene MEFV and the toll-like receptor 4 gene TLR4 in Behcet disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(20), 8134–8139. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306352110>
- Klarenbeek, N. B., Van Der Kooij, S. M., Gler-Yüksel, M., Van Groenendael, J. H. L. M., Han, K. H., Kerstens, P. J. S. M., Huizinga, T. W. J., Dijkmans, B. A. C., & Allaart, C. F. (2011). Discontinuing treatment in patients with rheumatoid arthritis in sustained clinical remission: Exploratory analyses from the BeSt study. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 70(2), 315–319. <https://doi.org/10.1136/ard.2010.136556>
- Klareskog, L., Stolt, P., Lundberg, K., Källberg, H., Bengtsson, C., Grunewald, J., Rönnelid, J., Harris, H. E., Ulfgrén, A. K., Rantapää-Dahlqvist, S., Eklund, A., Padyukov, L., & Alfredsson, L. (2006). A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: Smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis and Rheumatism*, 54(1), 38–46. <https://doi.org/10.1002/art.21575>
- Koca, S. S., Etem, E. O., Isik, B., Yuce, H., Ozgen, M., Dag, M. S., & Isik, A. (2010). Prevalence and significance of MEFV gene mutations in a cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*, 77(1), 32–35. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2009.08.006>
- Kogan, A., Shinar, Y., Lidar, M., Revivo, A., Langevitz, P., Padeh, S., Pras, M., & Livneh, A. (2001). Common MEFV mutations among Jewish ethnic groups in Israel: High frequency of carrier and phenotype III states and absence of a perceptible biological advantage for the carrier state. *American Journal of Medical Genetics*, 102(3), 272–276. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1438>
- Krupińska, J., Wawrzynowicz-Syczewska, M., Urbanowicz, W., Półlocki, J., & Syrenicz, A. (2011). The influence of interferon alpha on the induction of autoimmune thyroiditis in patients treated for chronic viral hepatitis type C. *Endokrynologia Polska*, 62(6), 517–522.
- Ksir, S., Akasbi, N., Efemba, K., El Aissaoui, A., El Kinany, K., & Harzy, T. (2019). Factors Associated with Extra Articular Manifestations in Rheumatoid Arthritis. *Integrative Journal of Medical Sciences*, 6. <https://doi.org/10.15342/ijms.v6ir.277>
- Kuo, C. F., Luo, S. F., See, L. C., Chou, I. J., Chang, H. C., & Yu, K. H. (2013). Rheumatoid arthritis prevalence, incidence, and mortality rates: A nationwide population study in Taiwan. *Rheumatology International*, 33(2), 355–360. <https://doi.org/10.1007/s00296-012-2411-7>
- Lachmann, H. J., Şengül, B., Yavuzşen, T. U., Booth, D. R., Booth, S. E., Bybee, A., Gallimore, J. R., Soytürk, M., Akar, S., Tunca, M., & Hawkins, P. N. (2006). Clinical and subclinical inflammation in patients with familial Mediterranean fever and in heterozygous carriers of MEFV mutations. *Rheumatology*, 45(6), 746–750. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kei279>
- Lamri, L., Gripiotis, E., & Ferrario, A. (2014). Diabetes in Algeria and challenges for health policy: A literature review of prevalence, cost, management and outcomes of diabetes and its complications. *Globalization and Health*, 10(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1744-8603-10-11>
- Lee, H. S., Korman, B. D., Le, J. M., Kastner, D. L., Remmers, E. F., Gregersen, P. K., & Bae, S. C. (2009). Genetic risk factors for rheumatoid arthritis differ in caucasian and Korean populations. *Arthritis and Rheumatism*, 60(2), 364–371. <https://doi.org/10.1002/art.24245>
- Lee, H. S., Lee, K. W., Song, G. G., Kim, H. A., Kim, S. Y., & Bae, S. C. (2004). Increased susceptibility to rheumatoid arthritis in Koreans heterozygous for HLA-DRB1*0405 and *0901. *Arthritis and Rheumatism*, 50(11), 3468–3475. <https://doi.org/10.1002/art.20608>
- Lee, W., & Weisman, M. H. (2006). The predictive power of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies: window into understanding gene/ environment/immunity interactions. *The Journal of Rheumatology*, 33(7), 1216–1218. <http://www.jrheum.org/content/33/7/1216.citation> <http://www.jrheum.org/alerts1>. Signup for TOCs and other alerts <http://www.jrheum.com/faq> <http://www.jrheum.org> Downloaded from

- Leffler, D. A., & Schuppan, D. (2010). Update on Serologic Testing in Celiac Disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 105(12), 2520–2524. <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.276>
- Leja, M., Shums, Z., Zake, L. N., Gavars, M., Kikuste, I., Milo, J., Daugule, I., Pahomova, J., Pirags, V., Dzerve, V., Klovins, J., Erglis, A., & Norman, G. L. (2015). Prevalence estimation of celiac disease in the general adult population of latvia using serology and HLA genotyping. *United European Gastroenterology Journal*, 3(2), 190–199. <https://doi.org/10.1177/2050640615569379>
- Leong, K. P., Lynn Tan, J. W., Gao, X., Koh, E. T., & Study Group, T. R. A. (2020). Conversion among the 28-joint count activity indices for rheumatoid arthritis. *European Journal of Rheumatology*, 7(3), 105–111. <https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2020.19199>
- Lerner, A., Jeremias, P., & Matthias, T. (2016). The World Incidence and Prevalence of Autoimmune Diseases is Increasing. *International Journal of Celiac Disease*, 3(4), 151–155. <https://doi.org/10.12691/ijcd-3-4-8>
- Liao, K. P., Alfredsson, L., & Karlson, E. W. (2009). Environmental influences on risk for rheumatoid arthritis. In *Current Opinion in Rheumatology* (Vol. 21, Issue 3, pp. 279–283). <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e32832a2e16>
- Littlejohn, E. A., & Monrad, S. U. (2018). Early Diagnosis and Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 45(2), 237–255. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2018.02.010>
- Liu, Y., Aryee, M. J., Padyukov, L., Fallin, M. D., Hesselberg, E., Runarsson, A., Reinius, L., Acevedo, N., Taub, M., Ronninger, M., Shchetynsky, K., Scheynius, A., Kere, J., Alfredsson, L., Klareskog, L., Ekström, T. J., & Feinberg, A. P. (2013). Epigenome-wide association data implicate DNA methylation as an intermediary of genetic risk in rheumatoid arthritis. *Nature Biotechnology*, 31(2), 142–147. <https://doi.org/10.1038/nbt.2487>
- LOHI, S., MUSTALAHTI, K., KAUKINEN, K., LAURILA, K., COLLIN, P., RISSANEN, H., LOHI, O., BRAVI, E., GASPARIN, M., REUNANEN, A., & MÄKI, M. (2007). Increasing prevalence of coeliac disease over time. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 26(9), 1217–1225. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03502.x>
- London, J., & Mouthon, L. (2013). Classification des maladies héréditaires du métabolisme. *Prise En Charge Médicale et Diététique Des Maladies Héréditaires Du Métabolisme*, 1–14. https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0046-2_1
- Lorenzon, R., Mariotti-Ferrandiz, E., Aheng, C., Ribet, C., Toumi, F., Pitoiset, F., Chaara, W., Derian, N., Johanet, C., Drakos, I., Harris, S., Amselem, S., Berenbaum, F., Benveniste, O., Bodaghi, B., Cacoub, P., Grateau, G., Amouyal, C., Hartemann, A., ... Klatzmann, D. (2018). Clinical and multi-omics cross-phenotyping of patients with autoimmune and autoinflammatory diseases: the observational TRANSIMMUNOM protocol. *BMJ Open*, 8(8), e021037. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-021037>
- Ludwig, R. J., Vanhoorelbeke, K., Leypoldt, F., Kaya, Z., Bieber, K., McLachlan, S. M., Komorowski, L., Luo, J., Cabral-Marques, O., Hammers, C. M., Lindstrom, J. M., Lamprecht, P., Fischer, A., Riemekasten, G., Tersteeg, C., Sondermann, P., Rapoport, B., Wandinger, K.-P., Probst, C., ... Nimmerjahn, F. (2017). Mechanisms of Autoantibody-Induced Pathology. *Frontiers in Immunology*, 8(MAY). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00603>
- Luo, J., Xu, S., Lv, Y., Huang, X., Zhang, H., Zhu, X., & Wang, X. (2019). Clinical features and potential relevant factors of renal involvement in primary Sjögren's syndrome. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 22(2), 182–190. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13429>
- Luong Ba, K., & Gabay, C. (2014). [Disease modifying antirheumatic drugs]. *Revue Medicale Suisse*, 10(421), 595–596, 598, 600–602. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24701712>
- Lutf, A., Poil, A. R., & Hammoudeh, M. (2014). Characteristics of patients with rheumatoid arthritis in Qatar: a cross-sectional study. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 17(1), 63–65. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.12135>
- Lynch, D. A. (2009). Lung Disease Related to Collagen Vascular Disease. *Journal of Thoracic Imaging*, 24(4), 299–309. <https://doi.org/10.1097/RTI.0b013e3181c1acec>
- M, M., JG, H., & MJ, F. (2012). Importance of the dense fine speckled pattern on HEp-2 cells and anti-DFS70 antibodies for the diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*, 11(9), 642–645. <https://doi.org/10.1016/J.AUTREV.2011.11.005>
- MacCluer, J. W., Amos, C. I., Gregersen, P. K., Heard-Costa, N., Lee, M., Kraja, A. T., Borecki, I. B., Cupples,

- L. A., & Almasy, L. (2009). Genetic Analysis Workshop 16: introduction to workshop summaries. *Genetic Epidemiology*, 33(S1), S1–S7. <https://doi.org/10.1002/gepi.20464>
- MacGregor, A. J., Snieder, H., Rigby, A. S., Koskenvuo, M., Kaprio, J., Aho, K., & Silman, A. J. (2000). Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis & Rheumatism*, 43(1), 30–37. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200001\)43:1<30::AID-ANR5>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200001)43:1<30::AID-ANR5>3.0.CO;2-B)
- Mahler, M., Parker, T., Peebles, C. L., Andrade, L. E., Swart, A., Carbone, Y., Ferguson, D. J., Villalta, D., Bizzaro, N., Hanly, J. G., & Fritzler, M. J. (2012). Anti-DFS70/LEDGF antibodies are more prevalent in healthy individuals compared to patients with systemic autoimmune rheumatic diseases. *Journal of Rheumatology*, 39(11). <https://doi.org/10.3899/jrheum.120598>
- Mäkisara, G. L., & Mäkisara, P. (1982). Prognosis of functional capacity and work capacity in rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology*, 1(2), 117–125. <https://doi.org/10.1007/BF02275601>
- Malaise, O., von Freckell, C., & Malaise, M. G. (2012). [Genetic and environmental interactions on the development of rheumatoid arthritis]. *Interactions de La Genetique et de l'environnement Sur Le Developpement de La Polyarthrite Rhumatoide.*, 67(5–6), 305–313. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med7&NEWS=N&AN=22891483>
- Malyavantham, K. S., & Suresh, L. (2018). Simultaneous distinction of monospecific and mixed DFS70 patterns during ANA screening with a novel HEp-2 ELITE/DFS70 knockout substrate. *Journal of Visualized Experiments*, 2018(131). <https://doi.org/10.3791/56722>
- Mankai, A., Ben Hamouda, H., Amri, F., Ghedira-Besbes, L., Harbi, A., Tahar Sfar, M., Sahloul Essoussi, A., Jeddi, M., & Ghedira, I. (2007). Screening by anti-endomysium antibodies for celiac disease in Tunisian children with type 1 diabetes mellitus. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, 31(5), 462–466. [https://doi.org/10.1016/S0399-8320\(07\)89413-9](https://doi.org/10.1016/S0399-8320(07)89413-9)
- Martis, N., Leroy, S., Tieulie, N., Clary, C., Lacour, J. P., Fuzibet, J. G., Marquette, C. H., & Queyrel, V. (2014). Intérêt de l'exploration fonctionnelle à l'exercice au cours de la sclérodémie systémique. *La Revue de Médecine Interne*, 35, A49. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2014.10.074>
- Mascolo, M., McNeill, A., & Fernandes, M. (2017). WORKSHOP Autoimmune Diseases – Modern Diseases. *European Parliament, DIRECTORATE GENERAL FOR INTERNAL POLICIES POLICY DEPARTMENT A: ECONOMIC AND SCIENTIFIC POLICY*, 1–65. https://www.europarl.europa.eu/thinktank/en/document.html?reference=IPOL_STU%282017%29614174
- Mathsson Alm, L., Fountain, D. L., Cadwell, K. K., Madrigal, A. M., Gallo, G., & Poorafshar, M. (2018). The performance of anti-cyclic citrullinated peptide assays in diagnosing rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 36(1), 144–152. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29185968>
- Matsumoto, I., Staub, A., Benoist, C., & Mathis, D. (1999). Arthritis Provoked by Linked T and B Cell Recognition of a Glycolytic Enzyme. *Science*, 286(5445), 1732–1735. <https://doi.org/10.1126/science.286.5445.1732>
- McGonagle, D., & McDermott, M. F. (2006). A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS Medicine*, 3(8), 1242–1248. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030297>
- McGonagle, D., Watad, A., & Savic, S. (2018). Mechanistic immunological based classification of rheumatoid arthritis. *Autoimmunity Reviews*, 17(11), 1115–1123. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2018.06.001>
- Mellado, M., Martínez-Muñoz, L., Cascio, G., Lucas, P., Pablos, J. L., & Rodríguez-Frade, J. M. (2015). T cell migration in rheumatoid arthritis. *Frontiers in Immunology*, 6(JUL). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00384>
- Merlo, G., Clapasson, A., Cozzani, E., Sanna, L., Pesce, G., Bagnasco, M., Burlando, M., & Parodi, A. (2017). Specific autoantibodies in dermatomyositis: a helpful tool to classify different clinical subsets. *Archives of Dermatological Research*, 309(2), 87–95. <https://doi.org/10.1007/s00403-016-1704-1>
- Meroni, P. L., & Schur, P. H. (2010). ANA screening: an old test with new recommendations. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(8), 1420–1422. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.127100>
- MÉRy, J.-P., & Kenouch, S. (1993). Familial Mediterranean Fever-Associated Amyloidosis. *Renal Failure*, 15(3), 379–384. <https://doi.org/10.3109/08860229309054948>
- Migita, K., Abiru, S., Sasaki, O., Miyashita, T., Izumi, Y., Nishino, A., Jiuchi, Y., Kawakami, A., & Yasunami,

- M. (2014). Coexistence of familial Mediterranean fever and rheumatoid arthritis. *Modern Rheumatology*, 24(1), 212–216. <https://doi.org/10.3109/14397595.2013.852843>
- Minichiello, É., Semerano, L., & Boissier, M.-C. (2017). Évolution dans le temps de la polyarthrite rhumatoïde : incidence, prévalence, gravité. Revue systématique de la littérature. *Revue Du Rhumatisme*, 84(1), 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2016.05.015>
- Mirzaei, A., Kolahi, S., Ahmadi, A., Nakhjavani, M., & Pashaiasl, M. (2018). An Analysis on Pypin E148Q Mutations in Patients with Refractory Rheumatoid Arthritis. *Rheumatology: Current Research*, 08(01), 8–10. <https://doi.org/10.4172/2161-1149.1000232>
- Mistretta, F., Ferlet, J. F., Soubrier, M., Antunez, A., Balint, P., Balsa, A., Buch, M., Casado, G., Detert, J., El-Zorkany, B., Emery, P., Hajjaj-Hassouni, N., Harigai, M., Kay, J., Luo, S., Kurucz, R., Maciel, G., Martin Mola, E., Montecucco, C. M., ... Dougados, M. (2014). Étude transversale internationale de la prévalence des comorbidités dans la polyarthrite rhumatoïde (PR) et évaluation de leur suivi (COMORA study : COMORbidities in Rheumatoid Arthritis). *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 62, S14. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2013.11.035>
- Monif, G. R. G. (2018). The myth of autoimmunity. *Medical Hypotheses*, 121(September), 78–79. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2018.09.023>
- Morel, J. (2006). *Physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde P o i n t s*. 22, 7–11.
- Morel, J. (2014). Immunopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. *EMC - Appareil Locomoteur*, 9(3), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0246-0521\(14\)63669-X](https://doi.org/10.1016/S0246-0521(14)63669-X)
- Mori, S., Yonemura, K., & Migita, K. (2013). Familial Mediterranean Fever Occurring in an Elderly Japanese Woman with Recent-onset Rheumatoid Arthritis. *Internal Medicine*, 52(3), 385–388. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.52.9102>
- Mosca, M., Tani, C., Neri, C., Baldini, C., & Bombardieri, S. (2006). Undifferentiated connective tissue diseases (UCTD). *Autoimmunity Reviews*, 6(1), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2006.03.004>
- Msc, M. D., & Smolen, J. S. (2010). Philip Mease 24 , Henri A. Ménard 25 , Larry W. Moreland 5 , Raj Nair 26. *Ewa Stanislawska-Biernat*, 22(9), 2582–2591. <https://doi.org/10.1002/art.27580>
- Muratori, L., Deleonardi, G., Lalanne, C., Barbato, E., Tovoli, A., Libra, A., Lenzi, M., Cassani, F., & Muratori, P. (2015). Autoantibodies in Autoimmune Hepatitis. *Digestive Diseases (Basel, Switzerland)*, 33(suppl 2), 65–69. <https://doi.org/10.1159/000440748>
- Muratori, P., Lenzi, M., Cassani, F., Lalanne, C., & Muratori, L. (2017). Diagnostic approach to autoimmune hepatitis. *Expert Review of Clinical Immunology*, 13(8), 769–779. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2017.1327355>
- Murng, S. H. K., & Thomas, M. (2017). Clinical associations of the positive anti Ro52 without Ro60 autoantibodies: Undifferentiated connective tissue diseases. *Journal of Clinical Pathology*, 1–8. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2015-203587>
- Musset, L. (2013). La polyarthrite rhumatoïde : apport de la biologie au diagnostic et au suivi thérapeutique Diagnostic and predictive value of laboratory testing in rheumatoid. *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2013.05.001>
- Mustalahti, K., Catassi, C., Reunanen, A., Fabiani, E., Heier, M., McMillan, S., Murray, L., Metzger, M. H., Gasparin, M., Bravi, E., & Mki, M. (2010). The prevalence of celiac disease in Europe: Results of a centralized, international mass screening project. *Annals of Medicine*, 42(8), 587–595. <https://doi.org/10.3109/07853890.2010.505931>
- Nakano, K., Whitaker, J. W., Boyle, D. L., Wang, W., & Firestein, G. S. (2013). DNA methylome signature in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 72(1), 110–117. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-201526>
- Namas, R., Joshi, A., Ali, Z., Al Saleh, J., & Abuzakouk, M. (2019). Demographic and Clinical Patterns of Rheumatoid Arthritis in an Emirati Cohort from United Arab Emirates. *International Journal of Rheumatology*, 2019, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2019/3057578>
- Nell VPK, Machold KP, S. T. et al. (2005). Autoantibody profiling as early diagnostic and prognostic tool for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 64, 1731–1736.
- Niamane, R., Bahiri, R., El Bouchti, I., Harzy, T., Hmamouchi, I., Ichchou, L., Larhrissi, S., Maaroufi, S., Najdi,

- L., & El Maghraoui, A. (2014). *Recommandations de la Société Marocaine de Rhumatologie pour la prise en charge de la polyarthrite rhumatoïde : mise à jour du référentiel de 2011*. REV MAR RHUM. <https://doi.org/10.24398/A.136.2014>
- Nielen, M. M. J., van Schaardenburg, D., Reesink, H. W., van de Stadt, R. J., van der Horst-Bruinsma, I. E., de Koning, M. H. M. T., Habibuw, M. R., Vandenbroucke, J. P., & Dijkmans, B. A. C. (2004). Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: A study of serial measurements in blood donors. *Arthritis & Rheumatism*, 50(2), 380–386. <https://doi.org/10.1002/art.20018>
- Nielen, M. M. J., Van Schaardenburg, D., Reesink, H. W., Van De Stadt, R. J., Van Der Horst-Bruinsma, I. E., De Koning, M. H. M. T., Habibuw, M. R., Vandenbroucke, J. P., & Dijkmans, B. A. C. (2004). Specific Autoantibodies Precede the Symptoms of Rheumatoid Arthritis: A Study of Serial Measurements in Blood Donors. *Arthritis and Rheumatism*, 50(2), 380–386. <https://doi.org/10.1002/art.20018>
- Odams, C. A., Roberts, A. L., Vester, S. K., Duarte, C. S. T., Beales, C. T., Clarke, A. J., Lindinger, S., Daffern, S. J., Zito, A., Chen, L., Jones, L. L., Boteva, L., Morris, D. L., Small, K. S., Fernando, M. M. A., Graham, D. S. C., & Vyse, T. J. (2019). Interferon inducible X-linked gene CXorf21 may contribute to sexual dimorphism in Systemic Lupus Erythematosus. *Nature Communications*, 10(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10106-2>
- Oh, R., & Brown, D. L. (2003). Vitamin B12 deficiency. *American Family Physician*, 67(5), 979–986. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12643357>
- Okada, Y., Eyre, S., Suzuki, A., Kochi, Y., & Yamamoto, K. (2019). Genetics of rheumatoid arthritis: 2018 status. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 78(4), 446–453. <https://doi.org/10.1136/ANNRHEUMDIS-2018-213678>
- Okoroiwu, I.L. Obeagu, E.I., Obeagu, G.U., Chikezie, C.C. and Ezema, G.O Obeagu, E. I. (2016). The prevalence of selected autoimmune diseases. *International Journal of Advanced Multidisciplinary Research*, 3(3–2016), 9–14.
- Okoroiwu, I.L. Obeagu, E.I., Obeagu, G.U., Chikezie, C.C. and Ezema, G. . (2016). The prevalence of selected autoimmune diseases. *International Journal of Advanced Multidisciplinary Research*, 3(3), 9–14. <https://doi.org/http://s-o-i.org/1.15/ijarm-2016-3-3-3>
- Oliver, J. E., & Silman, A. J. (2006). Risk factors for the development of rheumatoid arthritis. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 35(3), 169–174. <https://doi.org/10.1080/03009740600718080>
- Osio-Salido, E., & Manapat-Reyes, H. (2010). Epidemiology of systemic lupus erythematosus in Asia. *Lupus*, 19(12), 1365–1373. <https://doi.org/10.1177/0961203310374305>
- Othman, M. A., Wan Ghazali, W. S., Yahya, N. K., & Wong, K. K. (2016). Correlation of Demographic and Clinical Characteristics with Rheumatoid Factor Seropositivity in Rheumatoid Arthritis Patients. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 23(6), 52–59. <https://doi.org/10.21315/mjms2016.23.6>
- Ozen, S. (2009). Mutations/polymorphisms in a monogenetic autoinflammatory disease may be susceptibility markers for certain rheumatic diseases: lessons from the bedside for the benchside. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 27(2 Suppl 53), S29–31. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19796529>
- Ozen, S., Bakkaloglu, A., Yilmaz, E., Duzova, A., Balci, B., Topaloglu, R., & Besbas, N. (2003). Mutations in the gene for familial Mediterranean fever: do they predispose to inflammation? *The Journal of Rheumatology*, 30(9), 2014–2018. <http://www.jrheum.org/content/30/9/2014http://www.jrheum.org/alerts1.SignupforTOCsandotheralertshttp://jrheum.com/faqwww.jrheum.orgwww.jrheum.orgDownloadedfrom>
- Özen, S., Batu, E. D., & Demir, S. (2017). Familial mediterranean fever: Recent developments in pathogenesis and new recommendations for management. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 8, Issue MAR). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00253>
- Padyukov, L., Seielstad, M., Ong, R. T. H., Ding, B., Rönnelid, J., Seddighzadeh, M., Alfredsson, L., & Klareskog, L. (2011). A genome-wide association study suggests contrasting associations in ACPA-positive versus ACPA-negative rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 70(2), 259–265. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.126821>
- Papin, S., Cuenin, S., Agostini, L., Martinon, F., Werner, S., Beer, H. D., Grütter, C., Grütter, M., & Tschoop, J. (2007). The SPRY domain of pyrin, mutated in familial mediterranean fever patients, interacts with inflammasome components and inhibits proIL-1 β processing. *Cell Death and Differentiation*, 14(8), 1457–1466. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402142>

- Pedersen, M., Jacobsen, S., Klarlund, M., Pedersen, B. V., Wiik, A., Wohlfahrt, J., & Pedersen, M. (2006). Environmental risk factors differ between rheumatoid arthritis with and without auto-antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthritis Research and Therapy*, 8(4). <https://doi.org/10.1186/ar2022>
- Pham, B. N. (2006). *abc Contrôle national de qualité en auto-immunité* : 64(2), 177–181.
- Piette, M., & Dray, M. (1997). *yndrome des antiphospholipides*.
- Pikwer, M., Bergström, U., Nilsson, J. A., Jacobsson, L., Berglund, G., & Turesson, C. (2009). Breast feeding, but not use of oral contraceptives, is associated with a reduced risk of rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 68(4), 526–530. <https://doi.org/10.1136/ard.2007.084707>
- Pillon, F., & Michiels, Y. (2013). Épidémiologie Et Physiopathologie De La Polyarthrite Rhumatoïde. *Actualites Pharmaceutiques*, 52(531 SUPPL), 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.09.018>
- Plenge, R. M., Seielstad, M., Padyukov, L., Lee, A. T., Remmers, E. F., Ding, B., Liew, A., Khalili, H., Chandrasekaran, A., Davies, L. R. L., Li, W., Tan, A. K. S., Bonnard, C., Ong, R. T. H., Thalamuthu, A., Pettersson, S., Liu, C., Tian, C., Chen, W. V., ... Gregersen, P. K. (2007). TRAF1–C5 as a Risk Locus for Rheumatoid Arthritis — A Genomewide Study. *New England Journal of Medicine*, 357(12), 1199–1209. <https://doi.org/10.1056/nejmoa073491>
- Pongratz, G., Frieser, R., Brinks, R., Schneider, M., Hartung, W., Fleck, M., & Ehrenstein, B. (2019). Association between autoantibody level and disease activity in rheumatoid arthritis is dependent on baseline inflammation. *Clinical and Experimental Rheumatology*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31858962>
- Prete, M., Racanelli, V., Digiglio, L., Vacca, A., Dammacco, F., & Perosa, F. (2011). Extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis: An update. *Autoimmunity Reviews*, 11(2), 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.09.001>
- Rabinovich, E. (2005). Severe disease in patients with rheumatoid arthritis carrying a mutation in the Mediterranean fever gene. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 64(7), 1009–1014. <https://doi.org/10.1136/ard.2004.029447>
- Radice, A., & Sinico, R. A. (2005). Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Autoimmunity*, 38(1), 93–103. <https://doi.org/10.1080/08916930400022673>
- Radner, H., Neogi, T., Smolen, J. S., & Aletaha, D. (2014). Performance of the 2010 ACR/EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 73(1), 114–123. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-203284>
- Regueiro, C., Rodríguez-Martínez, L., Nuño, L., Ortiz, A. M., Villalba, A., Pascual-Salcedo, D., Martínez-Feito, A., González-Alvaro, I., Balsa, A., & Gonzalez, A. (2019). Improved RA classification among early arthritis patients with the concordant presence of three RA autoantibodies: analysis in two early arthritis clinics. *Arthritis Research & Therapy*, 21(1), 280. <https://doi.org/10.1186/s13075-019-2079-4>
- Reyes-Castillo, Z., Palafox-Sánchez, C. A., Parra-Rojas, I., Martínez-Bonilla, G. E., del Toro-Arreola, S., Ramírez-Dueñas, M. G., Ocampo-Bermudes, G., & Muñoz-Valle, J. F. (2015). Comparative analysis of autoantibodies targeting peptidylarginine deiminase type 4, mutated citrullinated vimentin and cyclic citrullinated peptides in rheumatoid arthritis: Associations with cytokine profiles, clinical and genetic features. *Clinical and Experimental Immunology*, 182(2), 119–131. <https://doi.org/10.1111/cei.12677>
- Richez, C., Barnetche, T., Schaefferbeke, T., & Truchetet, M.-E. (2017). La polyarthrite rhumatoïde : une physiopathologie mieux connue ? *Revue Du Rhumatisme Monographies*, 84(4), 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.monrhu.2017.07.006>
- Rieck, M., Arechiga, A., Onengut-Gumuscu, S., Greenbaum, C., Concannon, P., & Buckner, J. H. (2007). Genetic Variation in PTPN22 Corresponds to Altered Function of T and B Lymphocytes. *The Journal of Immunology*, 179(7), 4704–4710. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.7.4704>
- Roudier, J., Balandraud, N., Mugnier, B., Guis, S., Reviron, D., Roudier, C., & Auger, I. (2005). Rôle des molécules HLA-DR dans le développement de la polyarthrite rhumatoïde. *Revue Du Rhumatisme*, 72(4), 287–289. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2005.01.005>
- Rowley, M., & Whittingham, S. (2015). The Role of Pathogenic Autoantibodies in Autoimmunity. *Antibodies*, 4(4), 314–353. <https://doi.org/10.3390/antib4040314>
- Ryan, J., Masters, S., Booty, M., Habal, N., Alexander, J., Barham, B., Remmers, E., Barron, K., Kastner, D., Aksentijevich, I., & Ryan, J. G. (2010). Clinical features and functional significance of the P369S/R408Q

- variant in pyrin, the familial Mediterranean fever protein. *Ann Rheum Dis*, 69(7), 1383–1388. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.113415>
- S. MATHIEU, A. STASSEN, N. PAQUOT, A. J. S. (2006). LE DIABÈTE DE TYPE 1 ET LA MALADIE COELIAQUE. *Rev Med Liege*, 61(9), 637–642.
- S.Rekik, R. L. . A. A. ; H., & Elleuch, E. C. M. (2014). Apport de l'échographie des mains et des pieds dans l'évaluation de l'atteinte structurale dans les polyarthrites débutantes non classées (1) (1) Rhumatologie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie ; (2) Radiologie, CHU La Rabta, Tunis, Tunisie. *Revue Du Rhumatisme*.
- Salehzadeh, F., Barak, M., & Nematdoust Haghi, R. (2019). Relapsing periodic arthritis, palindromic rheumatism and MEFV gene-related variants alleles in children. *Pediatric Rheumatology*, 17(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s12969-019-0329-2>
- Salehzadeh, F., & Mirzarahimi, M. (2020). Recurrent synovitis of hip and MEFV gene related arthritis in children. *Pediatric Rheumatology*, 18(1), 1–4. <https://doi.org/10.1186/s12969-020-00456-3>
- Sandoughi, M., Kaykhaei, M. A., Shahrakipoor, M., Darvishzadeh, R., Nikbakht, M., Shahbakhsh, S., & Zakeri, Z. (2017). Clinical manifestations and disease activity score of rheumatoid arthritis in southeast of Iran. *Rheumatology Research*, 2(2), 61–64. <https://doi.org/10.22631/rr.2017.69997.1019>
- Sardu, C., Cocco, E., Mereu, A., Massa, R., Cuccu, A., Marrosu, M. G., & Contu, P. (2012). Population based study of 12 autoimmune diseases in sardinia, italy: Prevalence and comorbidity. *PLoS ONE*, 7(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032487>
- Sauerland, U., Becker, H., Seidel, M., Schotte, H., Willeke, P., Schorat, A., Schlüter, B., Domschke, W., & Gaubitz, M. (2005). Clinical utility of the anti-CCP assay: Experiences with 700 patients. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1050, 314–318. <https://doi.org/10.1196/annals.1313.033>
- Scanlin, B. A. (2014). Autoimmune Diseases:The Growing Impact. *BioSupply Trends Quarterly*, 44–47.
- Schnappauf, O., Chae, J. J., Kastner, D. L., & Aksentijevich, I. (2019). The Pyrin Inflammasome in Health and Disease. *Frontiers in Immunology*, 10, 1745. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01745>
- Sebbag, M., Chapuy-Regaud, S., Auger, I., Petit-Teixeira, E., Clavel, C., Nogueira, L., Cornélis, F., Roudier, J., & Serre, G. (2004). Intérêt clinique et rôle physiopathologique ... de la réponse auto-immune contre les protéines citrullinées dans la polyarthrite rhumatoïde 1 Clinical and pathophysiological significance of the autoimmune response to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. In *Revue du Rhumatisme* (Vol. 71).
- Sebbag, M., Chapuy-Regaud, S., Auger, I., Petit-Teixeira, E., Clavel, C., Nogueira, L., Vincent, C., Cornélis, F., Roudier, J., & Serre, G. (2004). Clinical and pathophysiological significance of the autoimmune response to citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*, 71(6), 493–502. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2004.07.004>
- Sellam, J., Hendel-Chavez, H., Rouanet, S., Abbed, K., Combe, B., Le Loët, X., Tebib, J., Sibilia, J., Taoufik, Y., Dougados, M., & Mariette, X. (2011). B cell activation biomarkers as predictive factors for the response to rituximab in rheumatoid arthritis a six-month, national, multicenter, open-label study. *Arthritis and Rheumatism*, 63(4), 933–938. <https://doi.org/10.1002/art.30233>
- Selmi, C. (2017). Autoimmunity in 2016. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 53(1), 126–139. <https://doi.org/10.1007/s12016-017-8615-6>
- Shi J, Knevel R, Suwannlai P, et al. (2011). Autoantibodies recognizing carbamylated proteins are present in sera of patients with rheumatoid arthritis and predict joint damage. *Proc Nat AcadSci*, 108, 17372–7.
- Shimane, K., Kochi, Y., Suzuki, A., Okada, Y., Ishii, T., Horita, T., Saito, K., Okamoto, A., Nishimoto, N., Myouzen, K., Kubo, M., Hirakata, M., Sumida, T., Takasaki, Y., Yamada, R., Nakamura, Y., Kamatani, N., & Yamamoto, K. (2013). 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. *Rheumatology (United Kingdom)*, 52(7), 1172–1182. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kes427>
- Sibilia, J. (2002). Auto-antibodies: Help for diagnosis and prognosis in intensive care patients. In *Reanimation* (Vol. 11, Issue 5, pp. 349–358). [https://doi.org/10.1016/S1624-0693\(02\)00255-4](https://doi.org/10.1016/S1624-0693(02)00255-4)
- Sibilia, Jean, & Chatelus, E. (2003). Les auto-anticorps : comment les rechercher et quelle est leur valeur diagnostique ? *La Lettre Du Rhumatologue*, 16–26.
- Silman, A., Bankhead, C., Rowlingson, B., Brennan, P., Symmons, D., & Gatrell, A. (1997). Do new cases of rheumatoid arthritis cluster in time or in space? *International Journal of Epidemiology*, 26(3), 628–634.

- <https://doi.org/10.1093/ije/26.3.628>
- Silman, A. J., Macgregor, A. J., Thomson, W., Holligan, S., Carthy, D., Farhan, A., & Ollier, W. E. R. (1993). Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: Results from a nationwide study. *Rheumatology*, 32(10), 903–907. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/32.10.903>
- Silman, Alan J., & Pearson, J. E. (2002). Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. In *Arthritis research* (Vol. 4, pp. S265–S272). <https://doi.org/10.1186/ar578>
- Singwe-Ngandeu, M., Finckh, A., Bas, S., Tiercy, J.-M., & Gabay, C. (2010). Diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptides and association with HLA-DRB1 shared epitope alleles in African rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Research & Therapy*, 12(2), R36. <https://doi.org/10.1186/ar2945>
- Slimani, S., Abbas, A., Ben Ammar, A., Kebaili, D., Ali, E. H., Rahal, F., Khamari, M. C., Baltache, A., Khider, I., Chiheub, R., Khelif, K., Akbi, S., Rahmani, S., Dahou-Makhloufi, C., Brahimi-Mazouni, N., Abtroun-Benmadi, S., & Ladjouze-Rezig, A. (2014). Characteristics of rheumatoid arthritis in Algeria: a multicenter study. *Rheumatology International*, 34(9), 1235–1239. <https://doi.org/10.1007/s00296-014-2981-7>
- Smarrazzo, A., Misak, Z., Costa, S., Mičetić-Turk, D., Abu-Zekry, M., Kansu, A., Abkari, A., Bouziane-Nedjadi, K., Ben Hariz, M., Roma, E., Velmishi, V., Legarda Tamara, M., Attard, T., Djuricic, V., Greco, L., & Magazzi, G. (2017). Diagnosis of celiac disease and applicability of ESPGHAN guidelines in Mediterranean countries: A real life prospective study. *BMC Gastroenterology*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12876-017-0577-x>
- Smolen, J. S., & Aletaha, D. (2015). Rheumatoid arthritis therapy reappraisal: strategies, opportunities and challenges. *Nature Reviews Rheumatology*, 11(5), 276–289. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.8>
- Smolen, J. S., Aletaha, D., Barton, A., Burmester, G. R., Emery, P., Firestein, G. S., Kavanaugh, A., McInnes, I. B., Solomon, D. H., Strand, V., & Yamamoto, K. (2018). Rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4, 1–23. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.1>
- Smolen, J. S., Aletaha, D., & McInnes, I. B. (2016). Rheumatoid arthritis. *The Lancet*, 388(10055), 2023–2038. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30173-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30173-8)
- Sobanski, V., Dauchet, L., Lefèvre, G., Lambert, M., Morell-Dubois, S., Sy, T., Hachulla, E., Hatron, P. Y., Dubucquoi, S., & Launay, D. (2014). Associations cliniques des anticorps anti-ARN polymérase de type III dans la sclérodermie systémique : données d’une cohorte française complétées d’une revue systématique avec méta-analyse. *La Revue de Médecine Interne*, 35, A49–A50. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2014.10.075>
- Sobanski, V., Lynch, B., Schreiber, B., Nihtyanova, S., Harvey, J., Handler, C., Denton, C., & Coghlan, J. G. (2013). Connectivite mixte (syndrome de Sharp) et hypertension pulmonaire. *La Revue de Médecine Interne*, 34, A45–A46. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2013.10.061>
- Sokka, T., Kautiainen, H., Pincus, T., Toloza, S., da Rocha Castelar Pinheiro, G., Lazovskis, J., Hetland, M. L., Peets, T., Immonen, K., Maillefert, J. F., Drosos, A. A., Alten, R., Pohl, C., Rojkovich, B., Bresnihan, B., Minnock, P., Cazzato, M., Bombardieri, S., Rexhepi, S., ... Yazici, Y. (2009). Disparities in rheumatoid arthritis disease activity according to gross domestic product in 25 countries in the QUEST-RA database. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 68(11), 1666–1672. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.109983>
- Sokka, Tuulikki, Envalds, M., & Pincus, T. (2008). Treatment of rheumatoid arthritis: A global perspective on the use of antirheumatic drugs. In *Modern Rheumatology* (Vol. 18, Issue 3, pp. 228–239). <https://doi.org/10.1007/s10165-008-0056-x>
- Sokka, Tuulikki, Hetland, M. L., Mäkinen, H., Kautiainen, H., Hørslev-Petersen, K., Luukkainen, R. K., Combe, B., Badsha, H., Drosos, A. A., Devlin, J., Ferraccioli, G., Morelli, A., Hoekstra, M., Majdan, M., Sadkiewicz, S., Belmonte, M., Holmqvist, A. C., Choy, E., Burmester, G. R., ... Pincus, T. (2008). Remission and rheumatoid arthritis data on patients receiving usual care in twenty-four countries. *Arthritis and Rheumatism*, 58(9), 2642–2651. <https://doi.org/10.1002/art.23794>
- Sokka, Tuulikki, Kautiainen, H., Toloza, S., Mäkinen, H., Verstappen, S. M. M., Hetland, M. L., Naranjo, A., Baecklund, E., Herborn, G., Rau, R., Cazzato, M., Gossec, L., Skakic, V., Gogus, F., Sierakowski, S., Bresnihan, B., Taylor, P., McClinton, C., & Pincus, T. (2007). QUEST-RA: Quantitative clinical assessment of patients with rheumatoid arthritis seen in standard rheumatology care in 15 countries. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 66(11), 1491–1496. <https://doi.org/10.1136/ard.2006.069252>
- Sokka, Tuulikki, Krishnan, E., Häkkinen, A., & Hannonen, P. (2003). Functional disability in rheumatoid arthritis patients compared with a community population in Finland. *Arthritis and Rheumatism*, 48(1), 59–

63. <https://doi.org/10.1002/art.10731>
- Somers, E. C., Thomas, S. L., Smeeth, L., & Hall, A. J. (2006). Autoimmune Diseases Co-occurring Within Individuals and Within Families. *Epidemiology*, 17(2), 202–217. <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000193605.93416.df>
- Stahl, E. A., Raychaudhuri, S., Remmers, E. F., Xie, G., Eyre, S., Thomson, B. P., Li, Y., Kurreeman, F. A. S., Zhernakova, A., Hinks, A., Guiducci, C., Chen, R., Alfredsson, L., Amos, C. I., Ardlie, K. G., Barton, A., Bowes, J., Brouwer, E., Burt, N. P., ... Plenge, R. M. (2010). Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nature Genetics*, 42(6), 508–514. <https://doi.org/10.1038/ng.582>
- Stastny, P. (1978). Association of the B-Cell Alloantigen DRw4 with Rheumatoid Arthritis. *New England Journal of Medicine*, 298(16), 869–871. <https://doi.org/10.1056/nejm197804202981602>
- Stolt, P., Bengtsson, C., Nordmark, B., Lindblad, S., Lundberg, I., Klareskog, L., & Alfredsson, L. (2003). Quantification of the influence of cigarette smoking on rheumatoid arthritis: Results from a population based case-control study, using incident cases. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 62(9), 835–841. <https://doi.org/10.1136/ard.62.9.835>
- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., Simonovic, M., Doncheva, N. T., Morris, J. H., Bork, P., Jensen, L. J., & Von Mering, C. (2019). STRING v11: Protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D607–D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>
- Tamayo, T., Rosenbauer, J., Wild, S. H., Spijkerman, A. M. W., Baan, C., Forouhi, N. G., Herder, C., & Rathmann, W. (2014). Diabetes in Europe: An update. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 103(2), 206–217. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.007>
- Tazi-Mezalek, Z., Harmouche, H., Adnaoui, M., Mohattane, A., Aouni, M., Maaouni, A., & Berbich, A. (2000). Particularités du lupus érythémateux disséminé au Maroc. À propos de 166 observations. *La Revue de Médecine Interne*, 21, 465–466. [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(00\)90021-3](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(00)90021-3)
- Tobón, G. J., Youinou, P., & Saraux, A. (2010). The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis. *Journal of Autoimmunity*, 35(1), 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.12.009>
- Touitou, I. (2001). The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *European Journal of Human Genetics*, 30(9), 473–483. <https://doi.org/10.1018-4813/01>
- Touitou, I., Lesage, S., McDermott, M., Cuisset, L., Hoffman, H., Dode, C., Shoham, N., Aganna, E., Hugot, J.-P., Wise, C., Waterham, H., Pugnere, D., Demaille, J., & de Menthier, C. S. (2004). Infevers: An evolving mutation database for auto-inflammatory syndromes. *Human Mutation*, 24(3), 194–198. <https://doi.org/10.1002/humu.20080>
- Toussiot, É. (2011). Biothérapies des rhumatismes inflammatoires chroniques. *Medecine Therapeutique*, 17(4), 314–321. <https://doi.org/10.1684/met.2011.0342>
- Toussiot, E., & Roudier, J. (2007). Pathophysiological links between rheumatoid arthritis and the Epstein-Barr virus: An update. In *Joint Bone Spine* (Vol. 74, Issue 5, pp. 418–426). <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2007.05.001>
- Tron, F. (2014). Les auto-anticorps comme biomarqueurs. *Presse Medicale*, 43(1), 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2012.11.025>
- Twito, O., Shapiro, Y., Golan-cohen, A., Dickstein, Y., & Ness-abramof, R. (2016). Anti-thyroid antibodies, parietal cell antibodies and tissue transglutaminase antibodies in patients with autoimmune thyroid disease. 1–5. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.58743>
- Usluer, H., & Bircan, Z. (2007). Protracted familial mediterranean fever arthritis presenting as septic arthritis. *Rheumatology International*, 27(11), 1083–1085. <https://doi.org/10.1007/s00296-007-0329-2>
- Utiyama, S. R. R., De Bem, R. S., Skare, T. L., De Carvalho, G. A., Teixeira, L. M., Bertolazo, M., Ioshii, S. O., & Nishihara, R. (2018). Anti-parietal cell antibodies in patients with autoimmune thyroid diseases. *Journal of Endocrinological Investigation*, 41(5), 523–529. <https://doi.org/10.1007/s40618-017-0755-2>
- Van der Linden MP, van der Woude D, Ioan-Facsinay A, Leva-rht EW, Stoeken-Rijsbergen G, Huizinga TW, et al. (2009). Value of anti-modified citrullinated vimentin and third-generation anti-cyclic citrullinated peptide compared with second-generation anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factor in predicting disease outcome in undifferentiated arthritis and rheuma. *Arthritis Rheum*, 60, 2232–41.

- van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van V. W. et al. (2004). Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Rheum*, 50, 709–715.
- van Venrooij WJ, Hazes JM, V. H. (2002). Anticitrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. *Neth J Med*, 60(10), 383–388.
- Viatte, S., & Barton, A. (2017). Genetics of rheumatoid arthritis susceptibility, severity, and treatment response. *Seminars in Immunopathology*, 39(4), 395–408. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0630-4>
- Villalta, D., Girolami, D., Bidoli, E., Bizzaro, N., Tampona, M., Liguori, M., Pradella, M., Tonutti, E., & Tozzoli, R. (2005). High prevalence of celiac disease in autoimmune hepatitis detected by anti-tissue transglutaminase autoantibodies. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 19(1), 6–10. <https://doi.org/10.1002/jcla.20047>
- Vomero, M., Barbati, C., Colasanti, T., Perricone, C., Novelli, L., Ceccarelli, F., Spinelli, F. R., Franco, M. Di, Conti, F., Valesini, G., & Alessandri, C. (2018). Autophagy and rheumatoid arthritis: Current knowledges and future perspectives. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 9, Issue JUL, p. 1). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01577>
- von Mühlen, C. a, & Tan, E. M. (1995). Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 24(5), 323–358. [https://doi.org/10.1016/S0049-0172\(95\)80004-2](https://doi.org/10.1016/S0049-0172(95)80004-2)
- Waldenlind, K., Eriksson, J. K., Grewin, B., & Askling, J. (2014). Validation of the rheumatoid arthritis diagnosis in the Swedish National patient register: A cohort study from Stockholm County. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 15(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-15-432>
- Wang, Q.-X., Yan, L., & Ma, X. (2018). Autoimmune Hepatitis in the Asia-Pacific Area. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, 6(1), 1–9. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2017.00032>
- Weinblatt, M. E., Polisson, R., Blotner, S. D., Leland Sosman, J., Aliabadi, P., Baker, N., & Weissman, B. N. (1993). The effects of drug therapy on radiographic progression of rheumatoid arthritis. results of a 36-week randomized trial comparing methotrexate and auranofin. *Arthritis & Rheumatism*, 36(5), 613–619. <https://doi.org/10.1002/art.1780360507>
- Wémeau, J.-L., Schlienger, J.-L., & Vialettes, B. (2014). *Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition pour le praticien*. (Vol. 1). Elsevier Masson. <https://www.elsevier.com/books/endocrinologie-diabete-metabolisme-et-nutrition-pour-le-praticien/9782294715846>
- Whitaker, J. W., Shoemaker, R., Boyle, D. L., Hillman, J., Anderson, D., Wang, W., & Firestein, G. S. (2014). An imprinted rheumatoid arthritis methylome signature reflects pathogenic phenotype. *Specific Gene Expression and Epigenetics: The Interplay Between the Genome and Its Environment*, 259–284. <https://doi.org/10.1201/b16680>
- Wiik, A. S. (2005). Anti-nuclear autoantibodies: clinical utility for diagnosis, prognosis, monitoring, and planning of treatment strategy in systemic immunoinflammatory diseases. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 34(4), 260–268. <https://doi.org/10.1080/03009740500202664>
- Wiik, A. S., Høier-Madsen, M., Forslid, J., Charles, P., & Meyrowitsch, J. (2010). Antinuclear antibodies: A contemporary nomenclature using HEp-2 cells. *Journal of Autoimmunity*, 35(3), 276–290. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2010.06.019>
- Wold, R. T., Young, F. E., Tan, E. M., & Farr, R. S. (1968). Deoxyribonucleic acid antibody: A method to detect its primary interaction with deoxyribonucleic acid. *Science*, 161(3843), 806–907. <https://doi.org/10.1126/science.161.3843.806>
- Yago, T., Asano, T., Fujita, Y., & Migita, K. (2020). Familial Mediterranean fever phenotype progression into anti-cyclic citrullinated peptide antibody-positive rheumatoid arthritis: a case report. *Fukushima Journal of Medical Science*, 66(3), 160–166. <https://doi.org/10.5387/fms.2020-07>
- Yang, Z., Ren, Y., Liu, D., Lin, F., & Liang, Y. (2016). Prevalence of systemic autoimmune rheumatic diseases and clinical significance of ANA profile: data from a tertiary hospital in Shanghai, China. *APMIS*, 124(9), 805–811. <https://doi.org/10.1111/apm.12564>
- Yoshimi, R., Ueda, A., Ozato, K., & Ishigatsubo, Y. (2012). Clinical and pathological roles of Ro/SSA autoantibody system. *Clinical & Developmental Immunology*, 2012, 606195. <https://doi.org/10.1155/2012/606195>
- Yu, J. W., Wu, J., Zhang, Z., Datta, P., Ibrahimi, I., Taniguchi, S., Sagara, J., Fernandes-Alnemri, T., & Alnemri,

- E. S. (2006). Cryopyrin and pyrin activate caspase-1, but not NF- κ B, via ASC oligomerization. *Cell Death and Differentiation*, 13(2), 236–249. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401734>
- Yu, Je Wook, Fernandes-Alnemri, T., Datta, P., Wu, J., Juliana, C., Solorzano, L., McCormick, M., Zhang, Z. J., & Alnemri, E. S. (2007). Pyrin Activates the ASC Pyroptosome in Response to Engagement by Autoinflammatory PSTPIP1 Mutants. *Molecular Cell*, 28(2), 214–227. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.08.029>
- Zhang, Y., Wu, J., Han, Y., Shi, Z., & Wang, L. (2017). Pathogenesis of cutaneous lupus erythema associated with and without systemic lupus erythema. *Autoimmunity Reviews*, 16(7), 735–742. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2017.05.009>
- Zhong, L., Wang, W., Li, J., Ma, M., Gou, L., Wang, C., Yu, Z., Zhang, T., Dong, Y., Wei, Q., & Song, H. (2020). The association of MEFV gene mutations with the disease risk and severity of systemic juvenile idiopathic arthritis. *Pediatric Rheumatology*, 18(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s12969-020-00427-8>
- Zian, Z., Maamar, M., Aouni, M. El, Barakat, A., Naima Ghailani Nourouti, El Aouad, R., Arji, N., & Bennani Mechita, M. (2018). Immunological and Clinical Characteristics of Systemic Lupus Erythematosus: A Series from Morocco. *BioMed Research International*, 2018, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2018/3139404>

ANNEXES

Annexe 1

Le DAS (Disease Activity Score)

Le DAS 44 (Disease Activity Score) est un indice composite d'activité de la PR élaboré par l'EULAR (European League Against Rheumatism) développé initialement pour 44 articulations pour le nombre de synovites et 53 sites de l'indice de Ritchie. Le DAS 28 correspond à une simplification du DAS.

C'est le plus utilisé actuellement. L'analyse articulaire se fait sur 28 sites articulaires (10 MCP, 8 IPP des mains, 2 inter-phalangiennes des pouces, 2 poignets, 2 genoux, 2 coudes, 2 épaules). Il prend en compte le nombre de synovites et d'articulations douloureuses à la palpation (indice de Ritchie), le résultat de la vitesse de sédimentation et l'appréciation globale de la maladie évaluée par le patient sur une échelle visuelle analogique.

Le calcul du DAS 28, se fait selon la formule suivante : $\text{DAS 28} = [0,56 \sqrt{\text{TJC}}] + [0,28 \sqrt{\text{SJC}}] + [0,7 \text{ Ln (vitesse de sédimentation)}] + [0,014 (\text{appréciation globale de la maladie par le patient})]$.

Définition du niveau d'activité avec le DAS 28 :

- PR de faible niveau d'activité : $\text{DAS 28} \leq 3,2$.
- PR active : $\text{DAS 28} > 3,2$.
- PR modérément active : $3,2 < \text{DAS 28} \leq 5,1$.
- PR très active : $\text{DAS 28} > 5,1$.

Annexe 2

Indice fonctionnel HAQ (Haelth Assessment Questionnaire)

Définition :

Il s'agit d'un indice reflétant le statut fonctionnel (capacité fonctionnelle) du patient. Le HAQ (Health Assessment Questionnaire) est un auto-questionnaire (adaptation française du Stanford Questionnaire) mesurant les aptitudes quotidiennes du patient la semaine précédente.

Mode d'emploi en pratique :

Le patient remplit seul son questionnaire. Chaque question est cotée de 0 à 3 selon la difficulté ressentie par le patient :

- 0 = aucune difficulté.
- 1 = quelques difficultés.
- 2 = beaucoup de difficultés.
- 3 = impossible.

La note pour chacun des 8 domaines est celle correspondant à la note la plus forte obtenue parmi les 2-3 réponses aux questions du domaine (idem si donnée manquante). La notion d'une aide et/ou d'un recours à des appareils modifie la cotation qui devient au moins 2. On attribue la note 3 si la note préalable est déjà =3.

L'indice fonctionnel ou "disability index", est la somme des cotations des divers domaines concernés, divisée par 8 (nombre de domaines évalués). On peut proposer, par exemple, une mesure tous les 6-12 mois.

Interprétation : le score obtenu est compris entre 0 et 3

Annexe 3



كلية العلوم الرباط
Faculté des sciences Rabat

دراسة مناعية وجينومية لمرضى مغاربة مصابين بمرض التهاب المفاصل الروماتويدي

الاسم الكامل للباحث:

مصلحة / مستشفى:

الهاتف:

الاسم الكامل للمريض (أو ممثله القانوني):

تاريخ الإزدياد : الهاتف :

: الرقم التسلسلي :

أنا الموقع(ة) أسفله..... أؤكد فهمي التام لأهداف هذه الدراسة، و أقر تلقي كل الشرحات الكاملة المتعلقة بهذا البحث من طرف الدكتور.....

- تلقيت رسالة المعلومات وأتيحت لي الفرصة لدراستها بعناية.
- لقد كان لي الوقت الكافي لدراستها قبل اتخاذ قراري.
- لقد تمت الإجابة على جميع أسئلتي

• أقبل بكامل إرادتي المشاركة في هذا البحث وفقا للشروط المحددة في رسالة المعلومات المرفقة لهذا النموذج.

- أفهم أن لي مطلق الحرية في سحب موافقتي في أي وقت أريده دون أن يؤثر ذلك على علاقتي مع طبيبي ولا على الرعاية الطبية.
- لقد بلغني أن جميع البيانات الخاصة بي، بما في ذلك السجلات الطبية، ستظل سرية.
- أنا لا أسمح بالإطلاع على البيانات الخاصة بي إلا للأشخاص المشاركين في هذا البحث وكذا المسؤولين عن التدقيق في جودة الدراسة.
- أتفهم أن البيانات المسجلة خلال هذه الدراسة يمكن معالجتها بواسطة الحاسوب، من قبل الباحث أو الراعي لهذا البحث.
- أفهم أن لدي الحق في الإطلاع على البيانات الخاصة بي وكذا الحق في التصحيح.

• أعطي موافقتي على المشاركة في هذا البحث عن علم و بكل حرية.

بتاريخ / / :

حرر في

توقيع المتطوع

توقيع الطبيب

Annexe 4



Centre Régional de
Transfusion Sanguine Rabat



استمارة الموافقة على المشاركة في الدراسة :

دراسة مناعية وجينية لمرضى
مغربية مصابين بعرض التهاب المفاصل الروماتويدي

الاسم الكامل للباحث :

مصلحة / مستشفى :

الهاتف :

الاسم الكامل للمتطوع :

تاريخ الإزدياد :

الهاتف :

الرقم التسلسلي :

أنا الموقع(ة) أسفله..... أؤكد فهمي التام
لأهداف هذه الدراسة، و أقر تلقي كل الشرحات الكاملة المتعلقة بهذا البحث من طرف
الباحث.....

- تلقيت رسالة المعلومات وأتيحت لي الفرصة لدراستها بعناية.
- لقد كان لي الوقت الكافي لدراستها قبل اتخاذ قراري.
- لقد تمت الإجابة على جميع أسئلتي

- أقبل بكامل إرادتي المشاركة في هذا البحث وفقا للشروط المحددة في رسالة المعلومات المرفقة لهذا النموذج.
- لقد بلغني أن جميع البيانات الخاصة بي، بما في ذلك السجلات الطبية، ستظل سرية.
- أنا لا أسمح بالإطلاع على البيانات الخاصة بي إلا للأشخاص المشاركين في هذا البحث وكذا المسؤولين عن التدقيق في جودة الدراسة.
- أتفهم أن البيانات المسجلة خلال هذه الدراسة يمكن معالجتها بواسطة الحاسوب، من قبل الباحث أو الراعي لهذا البحث.
- أفهم أن لدي الحق في الإطلاع على البيانات الخاصة بي وكذا الحق في التصحيح.

- أعطي موافقتي على المشاركة في هذا البحث عن علم و بكل حرية.

بتاريخ : / /

حرر في

توقيع المتطوع

توقيع الباحث

Annexe 5

Au terme de la délibération le Comité d'Ethique pour la Recherche Biomédicale de Rabat a émis un **AVIS FAVORABLE** à la mise en œuvre du projet de recherche intitulé : «Etude immunogénétique de la polyarthrite rhumatoïde chez des patients marocains : Association entre les allèles HLA et les gènes candidats dans la production des auto-anticorps» aux motifs suivants : Conditions satisfaisantes de validité / Pertinence scientifique / Intérêt de la recherche / Pertinence éthique / Conditions satisfaisantes de Protection des Personnes / Intelligibilité de la note d'information et conformité des modalités de recueil du consentement.

Le promoteur et l'investigateur sont priés d'informer dans les plus brefs délais le Comité d'Ethique pour la Recherche Biomédicale de Rabat de :

- Tous les incidents ou accidents éventuels survenus au cours de cette recherche
- Tous les amendements apportés au protocole
- La clôture de l'étude avec un bref résumé sur son déroulement

Références du Comité d'Ethique pour la Recherche Biomédicale de Rabat

- Le Comité d'Ethique pour la Recherche Biomédicale de Rabat suit une procédure de qualité de son fonctionnement et se base pour ses délibérations sur :
 - La décision du Ministre de la Santé n°02 du 03 décembre 2012 relative aux recherches biomédicales interventionnelles
 - La déclaration d'Helsinki (version 2008)
 - Les lignes directrices internationales d'éthique pour la recherche biomédicale impliquant des sujets humains du Conseil des Organisations internationales des Sciences médicales (CIOMS - version 2002)
 - Directive 2001/20/CE du Parlement européen et du Conseil du 4 avril 2001 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à l'application de bonnes pratiques cliniques dans la conduite d'essais cliniques de médicaments à usage humain
 - La loi française fixant le règlement intérieur type devant être adopté par les comités de protection des personnes (Arrêté du 13 janvier 2010)
 - Le règlement intérieur du CERB
 - La réglementation marocaine concernant l'exercice de la médecine
 - Les spécificités socioculturelles et religieuses du Maroc
- Le Comité d'Ethique pour la Recherche Biomédicale de Rabat est enregistré auprès de l'Office for Human Research Protections de l'U.S. Department of Health and Human Services sous le n° IORG0006594 (<http://ohrp.cit.nih.gov/search/search.aspx>)

Pour le Comité d'Ethique pour la Recherche Biomédicale

Comité d'Ethique pour la
Recherche Biomédicale

Le Président
Pr. Jamal Eddine Ktiouet

-Insuffisance cardiaque : non ☐ oui ☐ ttt :

-Infarctus du myocarde : non ☐ oui ☐

-Dyslipidémie : Hypercholestrolémie non ☐ oui ☐ ttt :

Hypertriglycéridémie non ☐ oui ☐ ttt :

-Tabac : jamais ☐ toujours ☐ sevré ☐ quantité : P/A

-Alcool : jamais ☐ toujours ☐ sevré ☐

-Syndrome métabolique : non ☐ oui ☐

-Cancers : non ☐ oui ☐ siège : ttt :

-Infections:

Bucco-dentaires ☐ Respiratoires ☐ ORL ☐ Digestives ☐ Urinaires ☐

Gynécologiques ☐ Cutanées ☐ Tuberculose ☐ infections virales ☐

Infections parasitaires ☐

-Affections pulmonaires :

Infections ☐ DDB ☐ Nodules rhumatoïdes ☐ Fibrose ☐

-Affections digestives :

UGD ☐ MICI ☐ Hépatite ☐ Cirrhose ☐

-Ostéoporose : non ☐ oui ☐ ttt :

Fracture non ☐ oui ☐ ttt :

-Sd sec : non ☐ oui ☐ ttt :

-Dépression :

Diagnostiquée non ☐ oui ☐ ttt :

Syndrome dépressif non ☐ oui ☐

ATCD de Syndrome dépressif traité non ☐ oui ☐

-Gynéco-obstétricaux :

Ménarche : ans. Gestes : Parité :

Contraception :

Cycle régulier non ☐ oui ☐

Ménopause non ☐ oui ☐ Durée :

-Autres :

- **Durée d'évolution de la PR:** ans

DMO : T-score rachis lombaire=

T-score au col fémoral=

Radiographie des mains et des avant-pieds :

Antécédents familiaux généraux : ☐ non ☐ oui, leurs nombres /___/, lien de parenté :

☐ mère ☐ père ☐ sœur ☐ frère ☐ grand-père ☐ grand-mère ☐ tante ☐ oncle

☐ Autres

Antécédent familial du lupus : ☐ non ☐ oui, leurs nombres /___/, lien de parenté :

☐ mère ☐ père ☐ sœur ☐ frère ☐ grand-père ☐ grand-mère ☐ tante ☐ oncle

☐ Autres

- **Traitement reçus :**

	Date de début	Date d'arrêt	Cause d'arrêt
Corticoïdes			
APS			
Salazopyrine			
MTX			
Leflunomide			
Biothérapie			
Biothérapie			

- **Vaccination :** les vaccins mis à jour :

- **Qualité de vie :** HAQ=

Examen biologiques :

VS=

CRP=

DAS28 (VS)=

DAS28(CRP)=

Bilan hépatique : ASAT=

ALAT=

GGT=

Bilan rénal : Créatinine=

Protéinurie de 24h=

- Etude immunologique :

FR :

Anti CCP2 :

AAN :

- Etude génétique :

Séquençage des gènes *MEFV* :

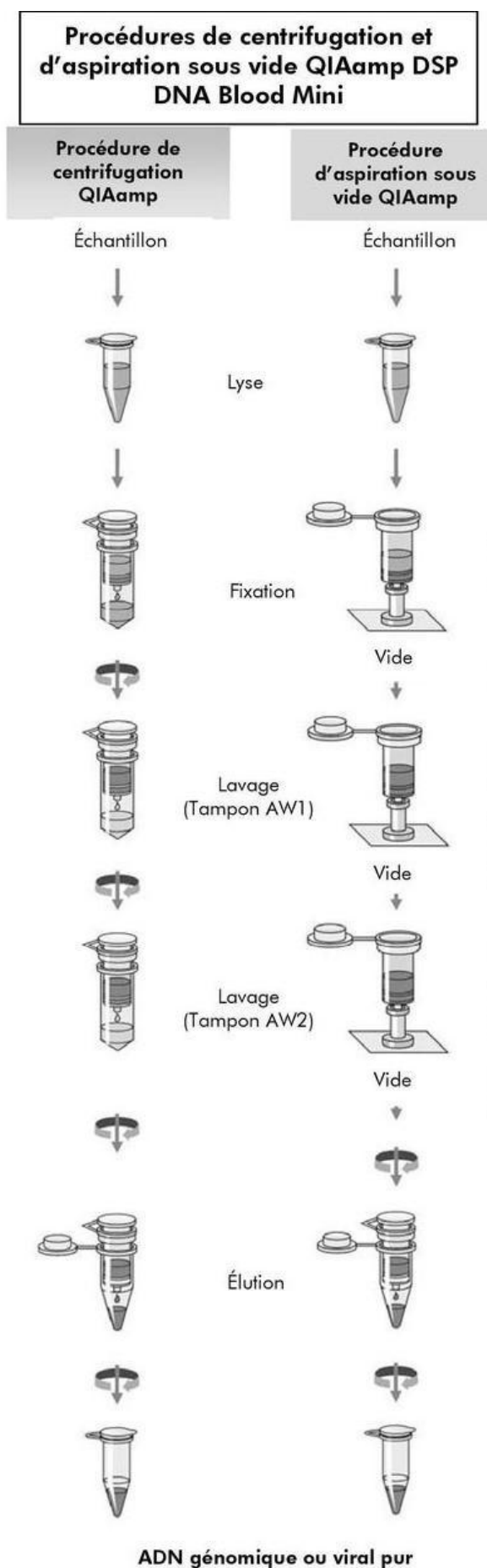
Exon 2

Panel des gènes : ☐ présence ☐ absence

Exon 10

Panel des gènes : ☐ présence ☐ absence

Annexe 7



Résumé

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la prévalence de diverses maladies auto-immunes (MAI) et spécialement l'étude sociodémographique et génétique de la polyarthrite rhumatoïde (PR). Ces maladies demeurent un grand problème de santé publique à l'échelle mondiale ainsi qu'au Maroc.

Pour la première partie de notre étude, nous avons déterminé la prévalence des différentes maladies auto-immunes (MAI) et la significations cliniques des profils auto-anticorps qui leur sont associés chez la population marocaine moyennant les données recueillies par le laboratoire d'Auto-Immunité à l'Institut National d'Hygiène (INH) de Rabat entre 2010 et 2016. Cette approche a permis de mettre en exergue la valeur diagnostic des auto-anticorps dans les maladies auto-immunes et a révélé une forte prévalence de ces MAI (29,7%) à l'échelle de la région de Rabat. Les femmes étaient et sont toujours les plus dominantes avec une prévalence élevée au niveau de lupus érythémateux systémique (LED), de la malabsorption intestinale (MI), et de la polyarthralgie arthrosique (PA) suivie par la polyarthrite rhumatoïde (PR). Cette étude a également montré une forte corrélation significative entre ces MAI et la détection des auto-anticorps. Ces auto-anticorps interviennent dans la prédiction de certaines MAI ou soit confirment le diagnostic de ces maladies.

Dans la deuxième partie de cette thèse, nous avons associé les paramètres sociodémographiques, cliniques, biologiques et thérapeutiques de la PR et sa rémission. Aussi, nous avons identifié les mutations du gène *MEFV* chez une large cohorte marocaine atteinte de la PR sévère établis dans l'hôpital Militaire de Rabat au service de rhumatologie entre Avril 2017 et Décembre 2018 ; inclus 100 patients atteints de PR et 200 individus comme groupe témoin (CG) qui sont non apparentés de la même population. Tous les patients ont été testés par les anticorps anti-peptide cyclique citrulliné (ACPA), le facteur rhumatoïde (FR) IgM, les anticorps anti-nucléaire (ANA) et analysés par séquençage Sanger des exons 2 et 10 du gène *MEFV*. 13 variants faux-sens mentionnés auparavant dans la Littérature ont été détectés. Les taux des porteurs de mutations du gène *MEFV* étaient de 24 % dans le groupe PR et 4 % dans le groupe témoin. Cette étude suggère que les mutations du gène *MEFV* semblent être un facteur aggravant de la sévérité de la PR.

Mots clés : Maladies rhumatismales auto-immunes systémiques, Maladies auto-immunes spécifiques d'organes, profil des auto-anticorps, prévalence, Polyarthrite rhumatoïde, Mutations du gène *MEFV*.

Abstract

In this study, we were interested in the prevalence of various autoimmune diseases (AID) also the sociodemographic and genetic study of rheumatoid arthritis (RA). These diseases remain a major public health problem in the worldwide.

In the first part of our study, we showed the prevalence of various autoimmune diseases (AID) and their clinical significance in the profile of autoantibodies in the Moroccan population using data collected by the Autoimmunity laboratory at the National Institute of Health (NIH) in Rabat between 2010 and 2016. This approach has highlighted the diagnostic value of autoantibodies in autoimmune diseases and revealed a high prevalence of these AIDs (29.7 %) across the Rabat region; women were still the most dominant with a high prevalence of systemic lupus erythematosus (SLE), intestinal malabsorption (MI), and osteoarthritic polyarthralgia (AP) followed by rheumatoid arthritis (RA). This study also showed a strong significant correlation between these AIDs and the detection of autoantibodies. These autoantibodies are known to either predict certain AIDs or confirm the diagnosis of these diseases.

In the second part, we correlated sociodemographic, clinical, biological and therapeutic parameters with RA disease and its remission. In addition, we have identified mutations of the *MEFV* gene in a large Moroccan cohort with severe rheumatoid arthritis (RA) established in the military hospital in Rabat at the rheumatology department, between April 2017 and December 2018. Included 100 patients with RA and 200 individuals of the control group (CG) were unrelated from the same population. All patients were tested for anti-cyclic citrullinated peptide (ACPA), rheumatoid factor (RF) IgM, anti-nuclear (ANA) antibodies and analysed by Sanger sequencing of exons 2 and 10 of the *MEFV* gene. 13 missense variants already reported in the literature were detected. Carrier rates for *MEFV* gene mutations were 24% in the RA group and 4% in the control group. This study suggests that mutations in the *MEFV* gene appear to be an aggravating factor in the severity of RA.

Keywords: Systemic autoimmune rheumatic diseases, Organ-specific autoimmune diseases, autoantibody profile, prevalence, Rheumatoid arthritis, *MEFV* gene mutations.