



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE Abdelhamid Ibn Badis

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de biologie

Spécialité: *génétique fondamentale et appliquée*

Mémoire de fin d'études

Présenté par : **BENANANE Nawel**

BELLAKHDAR Rima

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Génétique fondamentale et appliquée

Thème

**Contribution à l'étude d'association du polymorphisme
Insertion/Délétion du gène de l'ACE avec la
Spondylarthrite Ankylosante dans un échantillon de la
population de l'Ouest Algérien**

Président:	CHIBANI Abdelwaheb	Professeur	Université Mostaganem
Examineur:	BENALI Sid Ahmed	MCB	Université Mostaganem
Promoteur:	DAHMANI Chahinez.A	MAB	Université Mostaganem
Co-Encadrante:	AZZOUNE Asma	Doctorante	USTO-MB

Année Universitaire : 2020-2021

Remerciements

Nous remercions tout d'abord notre grand Dieu le tout puissant, le tout savant de nous avoir donné le courage d'entamer et d'achever ce modeste travail.

*Nous adressons nos sincères remerciements à monsieur **CHIBANI Abdelwaheb-Mohamed** qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance, pour son enseignement scientifique et la grandeur de ses connaissances. Veuillez trouver ici monsieur, l'expression de notre grande estime.*

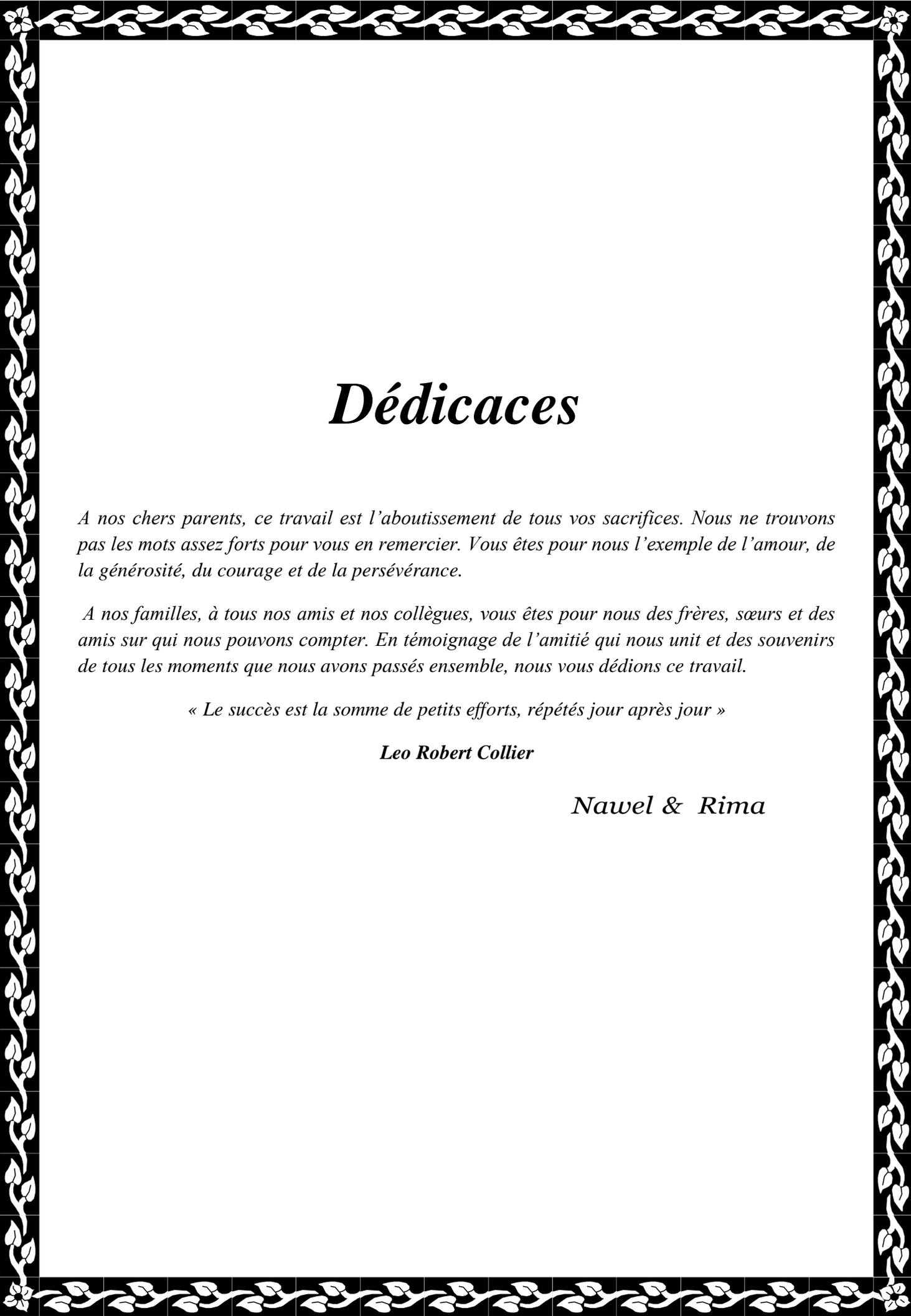
*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à monsieur **BENALI Sid Ahmed** pour avoir bien voulu examiner notre travail, et pour l'intérêt et le soutien chaleureux dont il a toujours fait preuve.*

*A madame **DAHMANI Chahinez Amira** le rapporteur de ce travail, pour sa confiance, sa disponibilité, ses précieux conseils, pour son énorme soutien qui nous a permis de réaliser ce travail et à qui nous devons beaucoup. Vos compétences et votre générosité dans le travail constituent pour nous une référence. Il nous faudrait beaucoup plus que ces quelques lignes pour vous en remercier.*

*Nos remerciements vont également à notre chère Co-encadrant, mademoiselle **AZZOUN Asma**, pour la gentillesse et la patience qu'elle a manifestées à notre égard durant ce mémoire, pour sa confiance et son support inestimable et pour tous ses conseils, et aussi pour nous avoir fait l'honneur de participer au jury de soutenance. Nous ne vous remercierons jamais assez.*

*Nous tenons particulièrement à exprimer nos remerciements et notre gratitude à madame **Meroufel Naima Djabaria** et **Boudjema Abdallah** de nous avoir accueilli dans le laboratoire LGMC, USTOMB et nous avoir permis d'utiliser le matériel biologique nécessaire à la réalisation de ce travail.*

D'un point de vue plus personnel, nous remercions nos chères familles et nos amis. Ce travail n'aurait pu aboutir sans leur soutien, leur confiance et leur amour.



Dédicaces

A nos chers parents, ce travail est l'aboutissement de tous vos sacrifices. Nous ne trouvons pas les mots assez forts pour vous en remercier. Vous êtes pour nous l'exemple de l'amour, de la générosité, du courage et de la persévérance.

A nos familles, à tous nos amis et nos collègues, vous êtes pour nous des frères, sœurs et des amis sur qui nous pouvons compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, nous vous dédions ce travail.

« Le succès est la somme de petits efforts, répétés jour après jour »

Leo Robert Collier

Nawel & Rima

Résumé

La spondylarthrite ankylosante (SA) est un rhumatisme inflammatoire chronique fréquent et invalidant. Elle affecte préférentiellement les articulations de la région sacro-iliaques, du rachis et des enthèses. Celle-ci combine des facteurs génétiques, des facteurs environnementaux et une réponse immunitaire anormale.

Bien que plusieurs gènes semblent être associés à la SA, le concept du terrain génétique reposait en grande partie sur l'association avec la spécificité HLA-B27. Par ailleurs, un des gènes candidats est le gène ACE qui code pour l'enzyme de conversion de l'angiotensine qui appartient au système rénine angiotensine. Cette molécule est responsable du clivage de l'Angiotensine I en Angiotensine II.

À notre connaissance, une seule étude s'est intéressée à l'effet du polymorphisme I/D de l'ACE chez les patients atteints de la SA dans la population Algérienne. De plus, ce polymorphisme a été trouvé associé avec la SA dans deux régions de la population Turque. L'objectif de ce travail est de rechercher l'association entre le polymorphisme I/D du gène de l'ACE avec la survenue de la SA par une étude cas/témoins.

Le génotypage moléculaire a été réalisé par PCR Multiplex (*Polymerase Chain Reaction Multiplex*) dans un échantillon de 30 témoins originaires de l'Ouest Algérien. Une étude cas/témoins a été effectuée en utilisant les génotypes du polymorphisme I/D des cas disponibles dans la base de données du Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire USTO-MB.

Nos résultats montrent d'une part que l'antigène HLA-B27 est fortement associé au développement de la maladie ($p=0,0001$; $OR=29$). D'autre part, il existe une association très significative entre le génotype II et l'allèle I du polymorphisme I/D du gène ACE et la survenue de la SA ($p = 0,0006$; $OR = 8,21$). Ces résultats sont en concordance avec ceux déjà réalisés dans l'étude précédente du Dr. DAHMANI C.A sur la même population. Cependant, des résultats controversés ont été observés dans l'étude *d'Inanir* et ses collaborateurs, réalisée sur la population turque montrant que l'allèle D est l'allèle mineur et qu'il est associé à la SA.

Étant donné la petite taille de l'échantillon, une analyse à plus grande échelle est nécessaire, afin d'affirmer l'exactitude de ces résultats.

Mots clés : spondylarthrite ankylosante, HLA-B27, ACE, rs4340 (I/D), Ouest Algérien.

Abstract

Ankylosing spondyloarthritis (AS) is a common and disabling chronic inflammatory rheumatism. It preferentially affects the joints of the sacroiliac region, the spine and the entheses. This combines genetic and environmental factors and an abnormal immune response.

Although several genes appear to be associated with AS, the concept of genetic terrain relied heavily on association with HLA-B27 specificity. In addition, one of the candidate genes is the ACE which codes for the Angiotensin Converting Enzyme which belongs to the renin angiotensin system. This molecule is responsible for the cleavage of Angiotensin I to Angiotensin II.

To our knowledge, only one study has investigated the effect of ACE I/D polymorphism in AS patients in the Algerian population. Furthermore, this polymorphism was found to be associated with AS in two regions of the Turkish population. The objective of this work was to investigate the association between the ACEI/D gene polymorphism with the occurrence of AS in a case /control study.

Molecular genotyping was carried out by PCR Multiplex (Polymerase Chain Reaction Multiplex) in a sample of 30 controls from western Algeria. A case/control study was performed using the I/D polymorphism genotypes of cases available in the USTO-MB Molecular and Cellular Genetics Laboratory database.

Our results show on the one hand that the HLA-B27 antigen is strongly associated with the development of the disease ($p = 0.00$ OR). On the other hand, there is a very significant association between genotype II and allele I of the I/D polymorphism of the ACE gene and the occurrence of AS ($p = OR$, $p = OR$, respectively). These results are in agreement with those already carried out in the previous study by Dr. C.A DAHMANI on the same population. However, controversial results were observed in the study by Inanir et al, carried out on the Turkish population showing that the D allele is the minor allele and that it is associated with AS. Due to the small sample size, a larger scale analysis is required to confirm the accuracy of these results.

Keywords: ankylosing spondyloarthritis, HLA-B27, ACE, rs4340 (I/D), West Algeria.

ملخص

التهاب الفقار اللاصق (AS) هو مرض روماتيزم التهابي مزمن شائع ومسبب للعجز. يؤثر بشكل تفضيلي على مفاصل المنطقة العجزية الحرقفي والعمود الفقري والأطراف. يجمع هذا بين العوامل الوراثية والعوامل البيئية والاستجابة المناعية غير الطبيعية.

على الرغم من أن العديد من الجينات تبدو مرتبطة بـ AS ، إلا أن مفهوم التضاريس الجينية يعتمد بشكل كبير على الارتباط بخصوصية HLA-B27. بالإضافة إلى ذلك ، فإن أحد الجينات المرشحة هو جين الإنزيم المحول للأنجيوتنسين الذي يرمز إلى الإنزيم المحول للأنجيوتنسين الذي ينتمي إلى نظام الرينين أنجيوتنسين. هذا الجزيء مسؤول عن انقسام أنجيوتنسين 1 إلى أنجيوتنسين 2.

على حد علمنا ، بحثت دراسة واحدة فقط في تأثير تعدد الأشكال ACE I / D على مرضى AS في الشعب الجزائري. علاوة على ذلك ، وجد أن تعدد الأشكال هذا مرتبط بـ AS في منطقتين من السكان الأتراك. كان الهدف من هذا العمل هو التحقيق في العلاقة بين تعدد الأشكال I / D لجين ACE مع حدوث AS في دراسة حالة / مراقبة.

تم إجراء التنميط الجيني الجزيئي بواسطة PCR Multiplex في عينة من 30 عنصر تحكم من غرب الجزائر. تم إجراء دراسة حالة / تحكم باستخدام الأنماط الجينية لتعدد الأشكال I / D للحالات المتاحة في قاعدة بيانات مختبر الوراثة الجزيئية والخلوية. USTO-MB.

تظهر نتائجنا من ناحية أن مستضد HLA-B27 يرتبط ارتباطاً وثيقاً بتطور المرض ($P = 0.00$ OR). من ناحية أخرى ، هناك ارتباط مهم للغاية بين النمط الجيني II والأليل الأول لتعدد الأشكال I / D لجين ACE وحدث ($p = OR$ ، $p = OR$ ، على التوالي). تتوافق هذه النتائج مع تلك التي تم إجراؤها بالفعل في الدراسة السابقة التي أجراها الدكتور دهمني C.A على نفس السكان. ومع ذلك ، لوحظت نتائج مثيرة للجدل في الدراسة التي أجراها Inanir et al ، والتي أجريت على السكان الأتراك ، والتي أظهرت أن D allele هو الأليل الثانوي وأنه مرتبط بـ AS.

نظراً لصغر حجم العينة ، يلزم إجراء تحليل على نطاق أوسع لتأكيد دقة هذه النتائج.

الكلمات المفتاحية: التهاب الفقار اللاصق ، HLA-B27 ، ACE ، I / D (rs4340) ، غرب الجزائر.

Table des matières

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	1
Introduction	1
Définition de la spondylarthrite ankylosante.....	1
Concept des spondylarthropathies (SPA)	2
Description de la spondylarthrite ankylosante (SA)	3
Manifestations cliniques rhumatismales	3
Manifestations extra-articulaires	12
Epidémiologie de la spondylarthrite ankylosante	13
Age de survenue de la spondylarthrite ankylosante	14
Sexe ratio dans la spondylarthrite ankylosante	14
Prévalence de la spondylarthrite ankylosante	14
Diagnostic de la spondylarthrite ankylosante	15
Examen clinique.....	15
Examen biologique	16
Imagerie	16
Critères de diagnostic	17
Traitements de la spondylarthrite ankylosante	19
Traitements médicamenteux symptomatiques	19
Traitements non médicamenteux	21
Physiopathologie de la spondylarthrite ankylosante	22
Rôle de l'antigène HLA-B27	22
L'inflammation.....	22
Inflammation et érosion osseuse	25
Synthèse osseuse excessive	27
Etiologie de la maladie.....	29
Facteurs environnementaux.....	29
Facteurs génétiques de la spondylarthrite ankylosante	30
Association du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) et la SA	33
PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS	41
MATERIEL ET METHODES	43
Population d'étude	44
Méthodes.....	45
Extraction d'ADN	45

Génotypage moléculaire	46
Principe de la technique PCR multiplex	46
Protocole d'amplification de polymorphisme	50
Test d'amplification	51
Analyse statistique.....	52
L'équilibre d'Hardy-Weinberg (HWE)	52
Le test chi carré (χ^2).....	53
Odds Ratio (OR)	54
RESULTATS ET DISCUSSION	55
Résultats des tests d'amplification par PCR multiplex.....	56
Fréquence de l'allèle mineur (MAF) du polymorphisme [ACE] rs4340 (I/D)	58
Impact du polymorphisme rs4340 (I/D) du gène ACE sur la susceptibilité de développer la spondylarthrite ankylosante.....	58
Stratifications des résultats selon le statut HLA-B27	60
Stratifications des résultats selon le sexe	62
CONCLUSION	64
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	67

Liste des figures

Figure 1: Concept des spondylarthrites et ses différentes formes.....	2
Figure 2: Anatomie du rachis.....	3
Figure 3: A: Schéma du rachis normal, enflammé et ankylosé	5
Figure 4: Schéma d'une articulation sacro-iliaque normale, enflammée et ankylosée.....	6
Figure 5: Représentation des articulations touchées par les atteintes thoraciques.	7
Figure 6: Schéma d'une articulation arthritique.	8
Figure 7: Représentation de l'enthèse du tendon d'Achille.....	9
Figure 8: Localisation anatomique de l'enthèse et du tendon d'Achille.	24
Figure 9: Différenciation des lymphocytes Th0 en Th17 et destruction osseuse de la spondylarthrite.....	26
Figure 10: Le système renine-angiotensine (SRA)	34
Figure 11: Schéma simplifié du métabolisme des angiotensines et de leurs effets physiologiques médiés par les récepteurs AT.....	35
Figure 12: Signalisation induite par l'interaction de l'angiotensine II et ATI-R.	36
Figure 13: Structure du gène ACE et ses différents transcrits (ACEs, ACEg).....	38
Figure 14: Positionnement du polymorphisme I/D par rapport à quelques SNPs proches dans le gène ACE.	38
Figure 15: Principe d'amplification des acides nucléiques par la méthode PCR.....	47
Figure 16: Positionnement des 3 amorces du PCR	49
Figure 17: Photo représentant le thermocycleur TECHNE Flexigene	50
Figure 18: Photo représentant l'Agarose en poudre PRONADISA.	52
Figure 19: Exemple de résultat de génotypage des sujets étudiés.....	56

Liste des tableaux

Tableau 1: Critères de classification des SPA d'ESSG.	17
Tableau 2: Critères de classification des SPA d'Amor.....	18
Tableau 3: caractéristique des patients et des témoins de l'échantillon étudié.....	44
Tableau 4: les séquences des amorces utilisées et programme pour l'amplification du polymorphisme I/D du gène l'ACE.....	51
Tableau 5: Résultats du génotypage ACE I/D des 30 échantillons de témoins.....	57
Tableau 6: Distribution génotypique et allélique du polymorphisme Insertion/Délétion (rs4340) entre les patients SA les contrôles de l'échantillon de l'ouest Algérien.....	59
Tableau 7: Distribution génotypique et allélique du polymorphisme ACE Insertion /Délétion (rs4340) entre les patients SA et les contrôles en fonction du statut HLA-B27.	61
Tableau 8: Distribution des fréquences génotypique et allélique du polymorphisme ACE Insertion /Délétion (rs4340) entre les cas et témoins selon le sexe.....	63

Liste des abréviations

ACE : Enzyme de conversion de l'angiotensine

Ag : Antigène.

ADN : Acide Desoxyribose Nucleiques

ARN : Acide RiboNucleiques

AR : Arthrites réactionnelles

ASAS: Assessment of Spondyloarthritis International Society

AINS: Anti Inflammatoires Non Steroïdiens

AGT: Angiotensinogene

Ang: Angiotensine.

AT-R: Récepteur Transmembranaire d'Angiotensine II.

BET: Bromured'éthidium.

BMP: Bone Morphogenic Protein

CD163+ : Haemoglobinscavengerreceptor

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CD : Cellule Dendritique.

CTLA-4: Cytotoxic-T-Lymphocyte-Associated molecule 4.

DAMPs: Damage Associated Molecular Patterns

DKK-1: Dickkopf related protein 1

ESSG: European Spondylarthropathy Study Group

EULAR: European League Against Rheumatism

ERAP1: Endoplasmic Reticulum Associated Aminopeptidase 1.

HLA-B27: Antigènes Leucocytaire Humain-B27 (Human Leucocyte Antigen-B27)

HWE : Équilibre d'Hardy-Weinberg.

I/D : Insertion/délétion

IL : Interleukines

IL-6R : Récepteur de l'Interleukine 6

IL-23R : Récepteur de l'Interleukine 23

IRM : imagerie par résonance magnétique

LB : Lymphocytes B

LT : Lymphocytes T

LT CD8+, LT CD4+ : Lymphocytes T CD8+/CD4+

LTh1, LTh17: Lymphocytes T Helper 1 et 17

LTh0 : Lymphocytes T CD4+ naïfs

MMP : Matrix Metalloprotéinase

M : molaire

mg : milligramme

ml : millilitre

mM : millimolaire

MT : Marqueur de taille

NF- κ B: Nuclear Factor-kappa B.

NO : Monoxyde d'Azote

ND : détergent non-ionique

ng: nanogramme

OR: Odds Ratio.

PR : Polyarthrite rhumatoïde

PLA2 : Phospholipase A2.

PAMPs : PathogenAssociatedMolecular Patterns

PNN: Polynucléaires Neutrophiles

PGE2 : Prostaglandine E2

PCR: Polymerase Chain Reaction

pb: Paire de base

QSP: Quantité Suffisante Pour

RR : Risque Relatif.

RIC : Rhumatismes Inflammatoires Chroniques

RP: Rhumatisme Psoriasique

RANK: Receptor Activator of NF κ B

RP: Rhumatisme Psoriasique

SA: Spondylarthrite Ankylosante

SRA: système rénine-angiotensine

SpA: Spondyloarthrite sous pondylarthropathies

STR: Short Tandem Repeat

Taq: Thermus a quaticus

TBE: Tris/Borate/EDTA

TCR: T Cell Receptor

TLR: Toll Like Receptor

TNF- α : Tumor Necrosis Factor - α

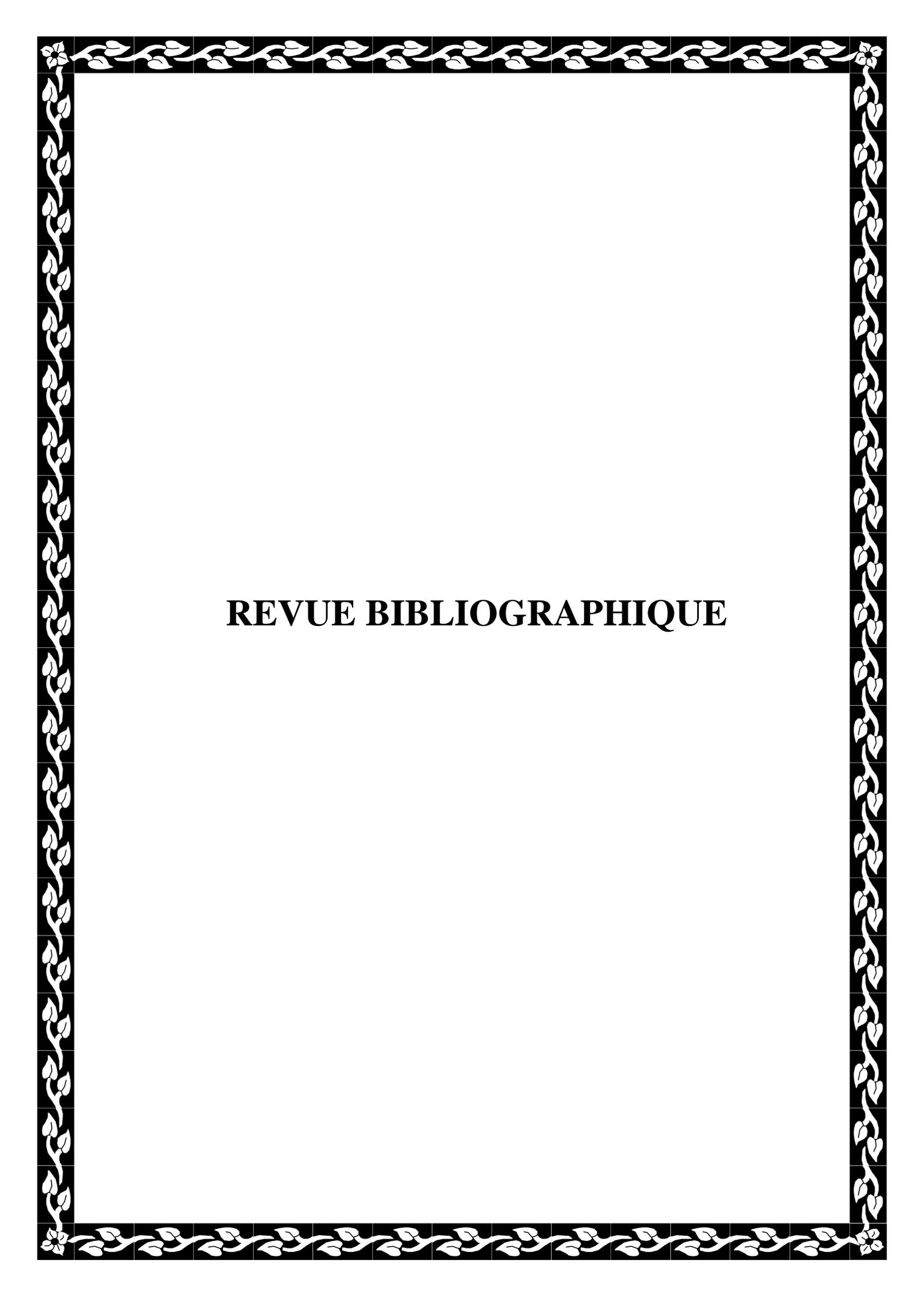
TGF- β : Transforming Growth Factor β

USTO-MB: Université des Sciences et de la Technologie Mohamed Boudiaf

VCAM: Vascular Cell-Adhesion Molecule.

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

X2: Chi 2



REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

La Spondylarthrite Ankylosante est une maladie inflammatoire systémique d'origine multifactorielle, à la fois polygénique et environnementale. Le principal facteur de prédisposition génétique est localisé dans la région HLA. La maladie est, en effet, significativement associée à l'antigène HLA-B27 dans différents groupes ethniques (Skorzewski E.,2010).

Définition de la spondylarthrite ankylosante

La Spondylarthrite Ankylosante (SA) ou pelvispondylite rhumatismale est le deuxième rhumatisme inflammatoire chronique après la polyarthrite rhumatoïde (PR). Cette maladie a connu plusieurs dénominations au cours du temps : Pelvispondylite rhumatismale car l'inflammation touche surtout les articulations du bassin et les ligaments qui entourent les vertèbres (spondylos).

Le nom de pelvispondylite représente le mieux la maladie mais il est moins utilisé. La spondylarthrite est une affection provoquant des inflammations surtout au niveau du bassin (pelvis) et des ligaments qui entourent les vertèbres (spondylos). Les inflammations touchent moins les articulations du rachis (arthrite). Pour l'association française de rhumatologie, la spondylarthrite est un rhumatisme inflammatoire douloureux qui se caractérise par sa localisation préférentielle à la colonne vertébrale et aux articulations sacro-iliaques du bassin, avec un risque au cours de l'évolution de la survenue d'un enraidissement progressif. Cette pathologie peut également atteindre les articulations périphériques (celles des membres inférieurs surtout) et d'autres organes comme la peau, l'œil ou l'appareil digestif le plus souvent. La spondylarthrite ankylosante n'est pas une maladie mortelle. Le plus souvent l'espérance de vie d'un patient souffrant de spondylarthrite ankylosante est identique à celle de la population générale (Skorzewski E.,2010).

Concept des spondylarthropathies (SPA)

Les spondylarthropathies (SPA) correspondent aux RIC (Rhumatismes Inflammatoires Chroniques) qui partagent un ensemble de caractéristiques sur le plan clinique, immunogénétique et radiologique. Elles se caractérisent par une atteinte inflammatoire, secondairement ossifiante, des articulations axiales et/ou périphériques, et par la survenue inconstante de manifestations inflammatoires non rhumatismales (uvéite, psoriasis, maladie inflammatoire intestinale). Les SPA regroupent habituellement cinq entités phénotypiquement différentes (**Figure 1**) : la spondylarthrite ankylosante (SA), le syndrome de Reiter, les arthrites réactionnelles (AR), le rhumatisme psoriasique (RP) et enfin, les manifestations articulaires des entérocolopathies inflammatoires chroniques (maladie de Crohn et rectocolite ulcéro-hémorragique). Par contre, certaines formes moins caractérisées sont appelées, les SPA indifférenciées (*Sibilia J. et al., 2005*).

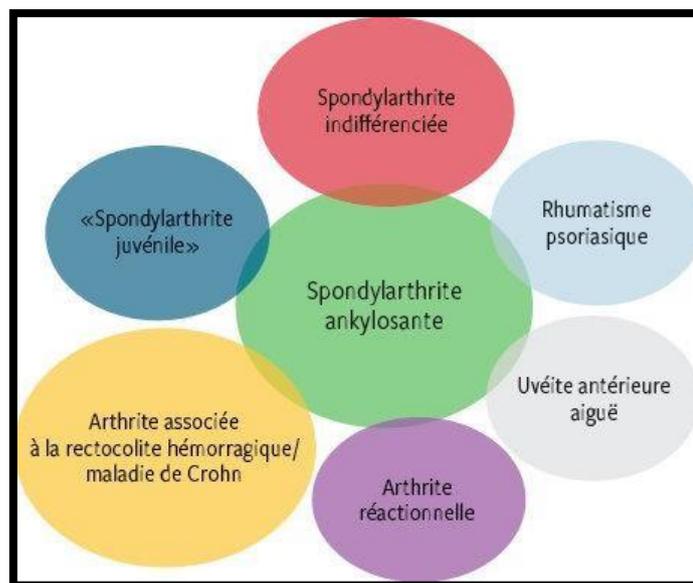


Figure 1: Concept des spondylarthrites et ses différentes formes
(d'après Sibilia J. et al. 2005)

L'intérêt du concept de SPA est double; premièrement, il facilite le diagnostic des rhumatismes inflammatoires grâce à l'utilisation de critères diagnostiques internationaux. Et deuxièmement, il regroupe des affections dont la pathogénie est souvent caractérisée par

l'interaction entre un terrain génétique prédisposant et différents micro-organismes arthritogènes. Ces dernières années, cette classification a tendance à disparaître au profit d'une autre prenant en compte le type d'atteinte articulaire prédominant chez le patient. Il s'agit de la nouvelle classification de SPA axiale ou périphérique (Toussirot E., 2013).

Description de la spondylarthrite ankylosante (SA)

Manifestations cliniques rhumatismales

Les atteintes axiales

Atteintes rachidiennes

Le symptôme principal de la spondylarthrite ankylosante est l'atteinte de la colonne vertébrale ou rachis au niveau cervical, dorsal ou lombaire (**Figure 2**).

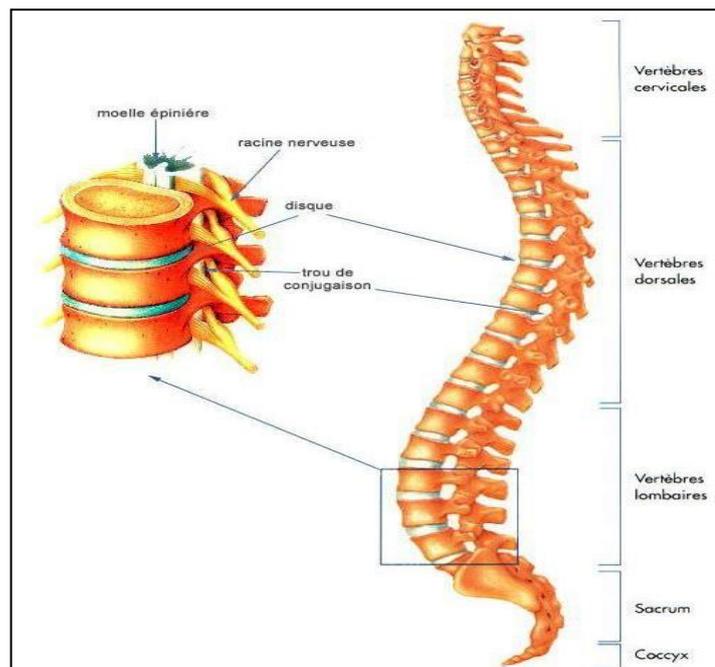


Figure 2: Anatomie du rachis
(Skorzewski, 2010)

On retrouve les vertèbres, les disques intervertébraux, les ligaments et les petites articulations à l'arrière des vertèbres. Des douleurs inflammatoires vont y apparaître, du fait de l'inflammation des ligaments et des articulations. Ces douleurs provoquent un sommeil entrecoupé de réveils brefs dans la deuxième partie de la nuit. Elles sont très fortes le matin au

réveil et elles s'estompent progressivement dans la journée grâce à la mobilisation et à l'activité matinale. Mais certaines personnes peuvent ne pas ressentir de douleur alors que l'inflammation est présente. L'inflammation au niveau du rachis peut disparaître sans traitement et ne laisser aucune séquelle, ou persister avec des poussées plus au moins fortes mais sans évoluer vers l'ossification ou évoluer vers l'ankylose.

Les inflammations du rachis peuvent entraîner une ankylose (diminution subtotale voire impossibilité absolue des mouvements d'une articulation naturellement mobile) par une ossification des ligaments enflammés et des articulations entourant les vertèbres. Les vertèbres fusionnent entre elles en position courbées en avant. Cette ankylose est caractéristique de la spondylarthrite d'où son nom. Elle peut conduire à une déformation de la colonne et à un enraidissement. L'ankylose est devenue rare aujourd'hui, on l'observe moins fréquemment qu'il y a 50 ans.

Les rachialgies inflammatoires touchent souvent le rachis lombaire haut et dorsal bas (la région dorsolombaire). L'atteinte rachidienne suit souvent une progression ascendante des fesses vers le rachis dorsal. Elle s'accompagne d'une raideur vertébrale. L'atteinte rachidienne peut provoquer une perte de la lordose lombaire (perte de la courbure des reins) qui est annonciatrice de la cyphose dorsale évoluant plus tardivement vers l'ankylose dorsale et thoracique.

L'atteinte du rachis cervical est inconstante et ne survient le plus souvent qu'après l'atteinte des autres segments. Elle est rarement inaugurale (chez 4 à 5% des patients). La cyphose et l'ankylose présentes dans les formes évoluées sont responsables de la projection de la tête en avant avec limitation du champ visuel et perte de la ligne horizontale. L'atteinte du rachis peut évoluer vers l'ankylose. L'ankylose peut se faire parfois en position normale et parfois en position anormale (attitude vicieuse). L'ankylose se fait en attitude vicieuse car le malade lors de l'inflammation va se mettre dans une position qui le fait moins souffrir. Cette

position est la position fœtale : recroquevillée sur soi-même. D'après ce qui est expliqué plus haut, les attitudes anormales les plus souvent observées sont la perte de la lordose lombaire (a) (**Figure 3B**). Une position penchée en avant due à la cyphose dorsale (b) peut apparaître, puis une ankylose du cou qui empêche le malade à relever la tête (c). L'attitude vicieuse dans le cas les plus graves peut être telle que le malade n'arrive plus à voir tout droit devant lui (d).

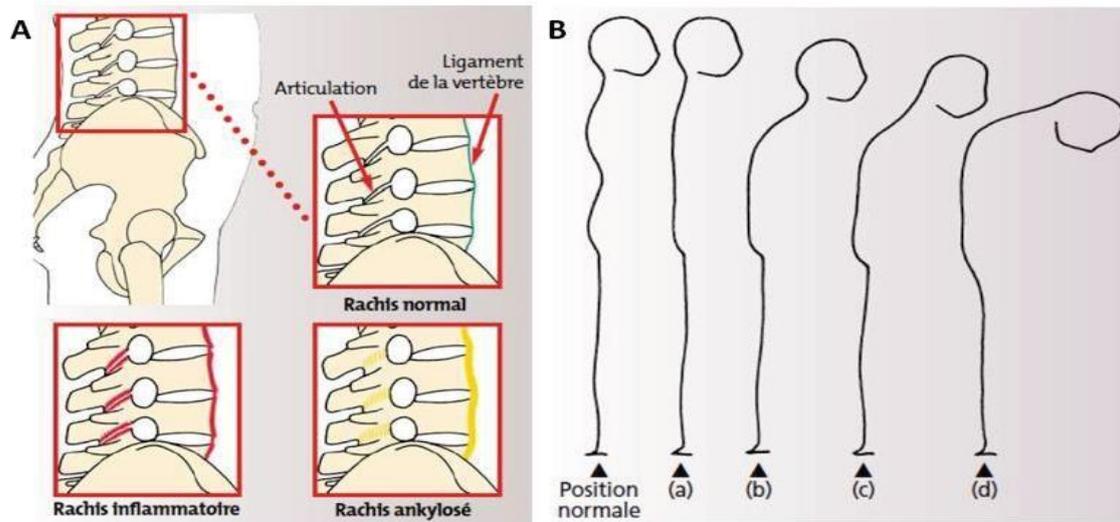


Figure 3: A: Schéma du rachis normal, enflammé et ankylosé

B : Différentes attitudes anormales observées dans la spondylarthrite ankylosante

(d'après Dougados, 2001)

Manifestations lombo-pelviennes

Les manifestations lombo-pelviennes inaugurent la maladie dans les deux tiers des cas. Les douleurs fessières et lombaires ont un rythme inflammatoire, qui prédomine dans la deuxième partie de la nuit. Les douleurs réveillent en provoquant un sommeil entrecoupé de réveils brefs dans un premier temps, puis elles obligent le malade à se lever dans la nuit pour bouger et pour faire disparaître une sensation désagréable et pénible d'enraidissement. Ces douleurs obligent souvent le malade à se lever plus tôt qu'à son habitude, et à son réveil il éprouve souvent une sensation de raideur lombaire. Cette sensation dure au minimum 30 minutes et peut se prolonger pendant plusieurs heures. La sensation disparaît avec la mobilisation et les activités matinales, mais elle s'aggrave avec le repos.

Les douleurs fessières sont très évocatrices de la spondylarthrite. Ces douleurs sont souvent à bascule mais elles peuvent aussi être unies ou bilatérales. Elles traduisent une atteinte sacro-iliaque bilatérale ou quelque fois un début unilatéral.

L'atteinte sacro-iliaque est douloureuse et l'évolution peut mener à l'ankylose articulaire mais ce n'est pas un handicap (**Figure 4**). L'ankylose ne crée pas de gêne dans les gestes de la vie quotidienne. En effet, l'articulation sacro-iliaque n'est pas primordiale au maintien de la souplesse et des activités physiques.

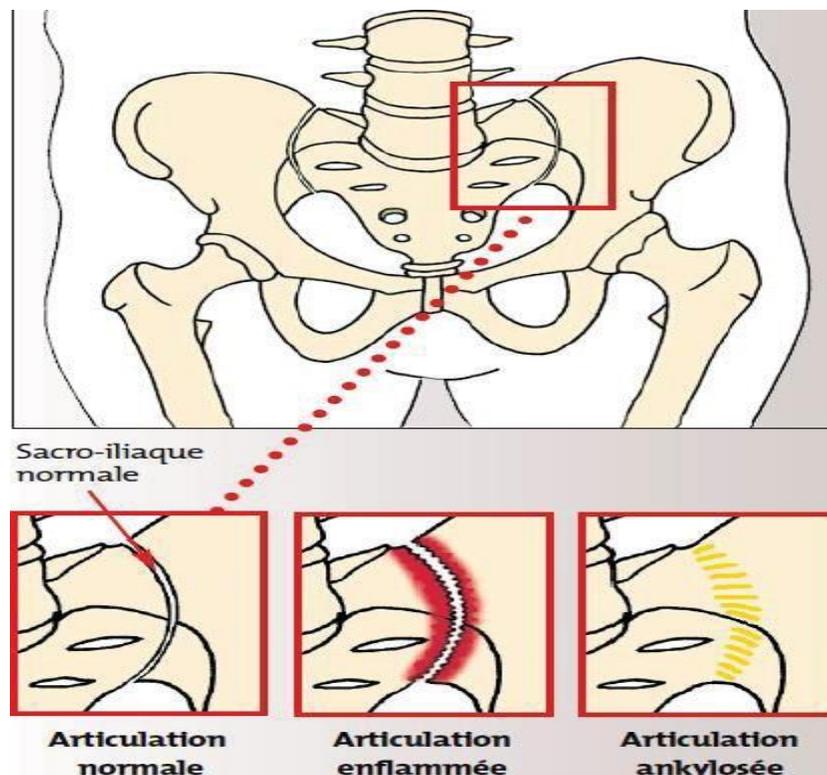


Figure 4: Schéma d'une articulation sacro-iliaque normale, enflammée et ankylosée
(Dougados, 2001)

Atteintes de la paroi thoracique

La maladie peut provoquer outre des atteintes disco-vertébrales, des atteintes costo-vertébrales et costo-transvertébrales. Ces atteintes peuvent provoquer des difficultés à l'inspiration profonde, voir des sensations d'oppression thoracique nocturne.

Les douleurs thoraciques antérieures peuvent concerner le sternum, les clavicules et les articulations chondro-sternales et sterno-claviculaires (**Figure 5**). Ces douleurs donnent aussi une sensation désagréable d'oppression thoracique. Le patient peut avoir une réduction de la capacité ventilatoire quand il est en présence d'atteintes thoraciques antérieures, costales et dorsales.

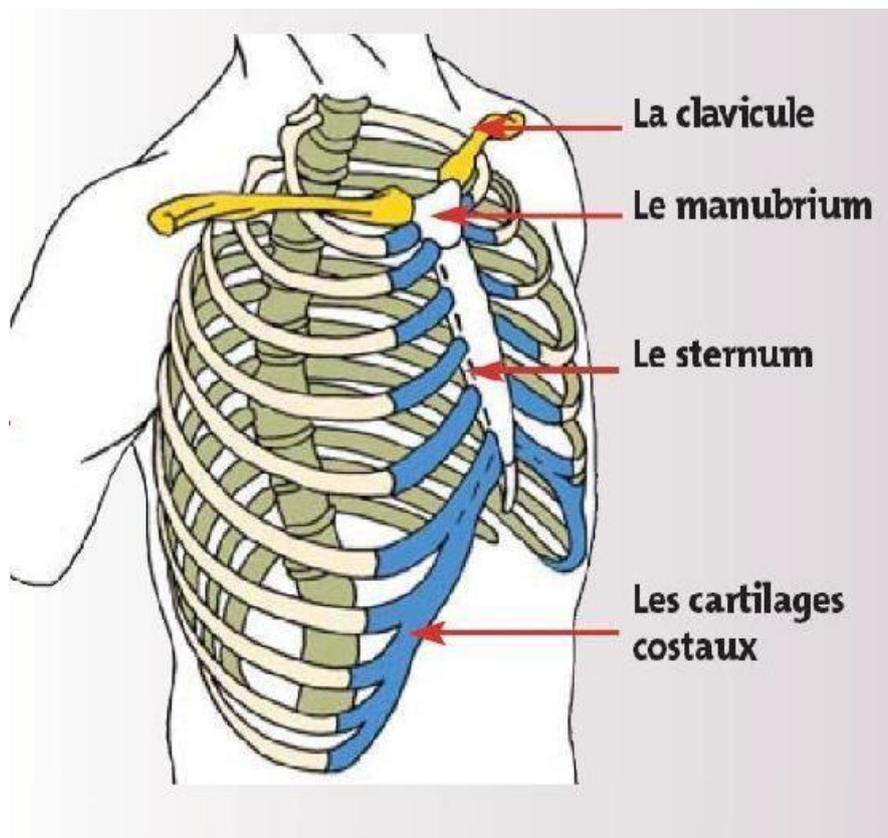


Figure 5: Représentation des articulations touchées par les atteintes thoraciques
(Dougados, 2001).

Atteintes périphériques

Les atteintes périphériques comprennent toutes les articulations des membres aussi bien inférieurs que supérieurs. Ce sont surtout les grosses articulations qui sont touchées comme la hanche, les genoux et les épaules.

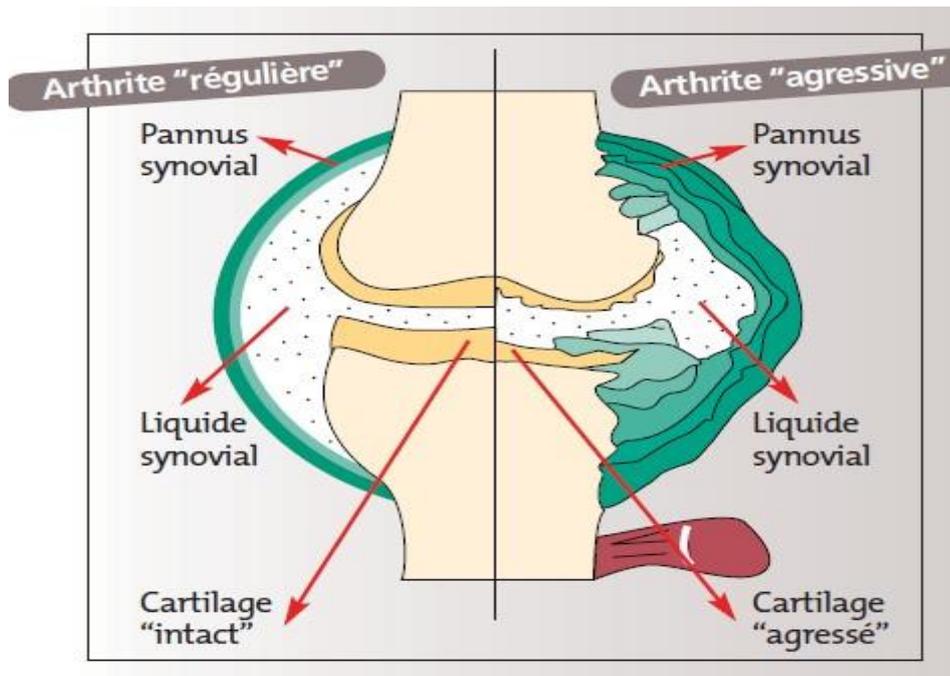


Figure 6: Schéma d'une articulation arthritique
(Dougados, 2001).

Arthrites

La fréquence des arthrites des membres dans la spondylarthrite ankylosante est estimée entre 30 à 50 %. L'arthrite se manifeste par des inflammations du tissu qui recouvre l'articulation (appelé la membrane synoviale). Les symptômes sont spécifiques. L'articulation gonfle et elle est chaude. Il se produit une sécrétion anormale du liquide synovial qui s'accumule dans l'articulation. Cette sécrétion est provoquée par la membrane synoviale enflammée (**Figure 6**).

L'atteinte articulaire est le plus souvent asymétrique et touche préférentiellement les grosses articulations. L'évolution est fréquemment résolutive ou récidivante. Les atteintes

les plus fréquentes sont les atteintes de la hanche ou coxo-fémorales (que l'on nomme coxite) qui sont présentes dans 20 à 30 % des cas. Une coxite est souvent suspectée devant une limitation douloureuse de l'articulation de la hanche. Elles témoignent en général d'une maladie agressive et surviennent dans les 5 premières années d'évolution. Les atteintes des épaules sont présentes dans 20 % des cas.

L'inflammation peut toucher toutes les articulations d'un doigt ou d'un orteil mais également les ligaments situés à proximité. Le doigt ou l'orteil apparaît gonflé dans son ensemble et prend l'aspect d'une saucisse. On parle de doigt en saucisse ou de dactylite.

Atteintes enthésiques

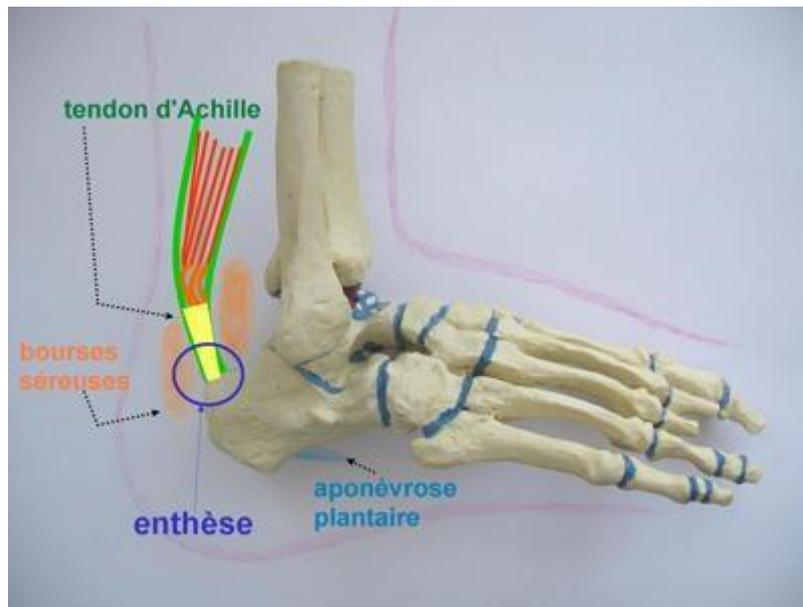


Figure 7: Représentation de l'enthèse du tendon d'Achille
(Skorzewski, 2010)

Les enthèses sont la cible privilégiée de la spondylarthrite ankylosante. L'enthèse est la zone où les ligaments, les tendons et les capsules s'insèrent sur l'os (**Figure 7**). Dans le corps humain, les enthèses sont nombreuses au niveau de la colonne vertébrale (ce qui explique qu'elles atteignent souvent le rachis), très puissantes au niveau du bassin (d'où les atteintes sacro-iliaques) et au niveau du talon (d'où les talalgies : douleur du talon). Mais

l'inflammation des enthèses n'explique pas toutes les atteintes articulaires, surtout au niveau des grosses articulations périphériques.

L'enthèse est un tissu qui est capable de résister à de fortes forces de compression et de distension. Le tendon permet aux muscles de se fixer aux os. Quand les muscles se contractent, ils tirent sur le tendon provoquant un mouvement de l'os. Il existe deux variétés d'enthèses : les enthèses fibreuses et les enthèses fibrocartilagineuses. Les enthèses fibreuses sont les plus simples, elles concernent les insertions des tendons ou des ligaments sur les os longs. A l'endroit où elles s'insèrent, les fibres tendineuses pénètrent dans l'os. Les enthèses fibrocartilagineuses sont plus complexes. Elles sont constituées de plusieurs parties (du corps musculaire à l'os) :

- Une zone faite de fibres de collagène organisées en faisceaux parallèles et recouverte de fibroblastes allongés, c'est une zone innervée qui est en continuité avec le corps musculaire.
- Une zone d'épaisseur variable, qui présente des fibres de collagène mais à la différence de la zone précédente, ces fibres s'orientent d'une autre façon, et des cellules du cartilage (chondrocytes) remplacent les fibroblastes. Le tissu devient fibrocartilagineux.
- Puis ce tissu va se calcifier. Des sels minéraux et des cristaux d'hydroxyapatite sont présents dans la substance fondamentale.
- Enfin, la dernière partie est formée par des travées osseuses

Le tissu fibrocartilagineux a une épaisseur qui est fonction des forces qui s'y exercent. Les enthèses possèdent des récepteurs proprioceptifs et des récepteurs de la douleur, ce qui fait qu'elles deviennent facilement douloureuses lors de contraintes excessives.

Initialement, il n'y a pas de zone calcifiée dans l'enthèse, mais en fonction des contraintes, elles subissent des remaniements dégénératifs qui peuvent entraîner un épaissement de la

zone calcifiée. Au cours de la maladie, les enthèses subissent une inflammation (enthésites), surtout au niveau des enthèses fibrocartilagineuses les plus sollicitées. L'inflammation est aiguë et commence au point d'attachement de l'os, il se produit une cicatrisation fibreuse puis une ossification. L'ossification peut s'étendre aux ligaments et aux tendons, il s'agit d'une enthésophyte. Ce mécanisme d'ossification n'est pas encore connu. Les macrophages sont largement présents au niveau du site inflammatoire, ils pourraient donc avoir un rôle (*Breban M., 2004*) (*Claudepierre P. et al., 2005*).

L'atteinte de l'enthèse va entraîner des douleurs très caractéristiques :

- ✓ La douleur est très localisée, située à un point précis
- ✓ La douleur est réveillée par la pression
- ✓ Elle est augmentée avec la mise sous tension du tendon par contraction ou étirement du muscle.

On peut observer les enthésites tout au long de l'évolution de la maladie. Elles sont souvent variables en fonction des jours et se déplacent de façon anarchique. Les enthésites, quand elles sont inaugurales de la maladie, sont de diagnostic délicat car ces atteintes sont souvent considérées à tort comme des atteintes de nature mécanique ou tendineuse. Les malades décrivent une gêne, sans douleur nocturne (à la différence des atteintes pelvirachidiennes) et de rythme variable.

Pendant très longtemps la reconnaissance de l'atteinte des enthèses périphériques s'est limitée aux talalgies (douleur du talon) mais de nombreuses autres localisations peuvent être observées comme au niveau de la paroi thoracique antérieure, au niveau du grand trochanter, du tendon rotulien Les talalgies sont les plus caractéristiques : la douleur au talon survient le matin au réveil et se manifeste lors des premiers pas, mais pas en pleine nuit. La douleur au talon empêche le malade à poser le pied. La douleur s'améliore dans la journée surtout grâce à la marche. La talalgie peut être bilatérale ou à bascule. (*Claudepierre P. et al., 2005*).

Manifestations extra-articulaires

De nombreuses manifestations extra-articulaires sont possibles au cours de la maladie, mais elles ne sont pas obligatoires. Les plus courantes sont les atteintes au niveau oculaire, de la peau, des intestins et plus rarement au niveau cardiaque, pulmonaire et génital.

Atteintes cutanées

L'atteinte cutanée prend la forme de psoriasis. Le psoriasis est plus fréquent chez les malades atteints de spondylarthrite ankylosante que dans la population générale.

Le psoriasis apparaît comme des lésions érythémateux-squameuses limitées, arrondies, ovalaires ou poly-cylindriques. Elles sont recouvertes par une couche de squames qui leur donne une couleur blanchâtre à grise argentée. Le grattage des squames peut faire apparaître des petites gouttes de sang (signe de la rosée sanglante). Les zones de prédilection de ces lésions sont au niveau des coudes, du bord interne des avant-bras, des genoux, de la région lombo-sacrée, dans le cuir chevelu, la face antérieure des jambes, au niveau des ongles, des paumes des mains et des plantes des pieds.

Atteintes oculaires

L'atteinte oculaire la plus fréquente est l'uvéite (appelée aussi iritis ou encore iridocyclite). L'uvéite présente dans la spondylarthrite ankylosante est une inflammation de la partie antérieure de l'œil. Il s'agit d'une inflammation de l'uvée qui comprend l'iris et le corps ciliaire.

Le malade atteint de SA doit être prévenu de la possible survenue d'une uvéite car elle peut dans les cas les plus graves entraîner une baisse de la vision voire une cécité si elle n'est pas soignée à temps. Il n'est pas rare que des épisodes d'uvéites récidivantes soient révélateurs d'une spondylarthropathie méconnue.

Dans la plupart des cas, l'uvéite survient chez des malades HLA-B27⁺. Des personnes HLA-B27⁺, non atteintes de spondylarthropathie, peuvent développer une uvéite.

L'uvéite présente dans la spondylarthrite ankylosante est aiguë, récurrente et symptomatique. Elle est unilatérale, très rarement bilatérale. Elle peut être à bascule : toucher un œil puis l'autre. L'œil atteint est rouge, douloureux dans son ensemble et une baisse de l'acuité visuelle plus ou moins marquée est observée (à la différence avec la conjonctivite). L'uvéite provoque une photophobie.

L'uvéite antérieure est toujours symptomatique, donc il n'est pas utile au malade de consulter un ophtalmologue pour se faire dépister. En revanche, le patient doit être informé qu'au moindre signe d'uvéite (douleur, rougeur et baisse de l'acuité visuelle), il doit aller consulter un ophtalmologue en urgence (*Breban M., 2004*).

Atteintes intestinales

Les atteintes intestinales résultent de l'atteinte inflammatoire au niveau de l'intestin. Elles se traduisent souvent par des douleurs intestinales et des troubles du transit tels que des diarrhées; 40 à 60 % des malades atteints de spondylarthrite ankylosante auraient des lésions inflammatoires intestinales (*Baeten D.et al., 2002.*)

La spondylarthrite ankylosante peut être associée à une maladie de Crohn ou à une rectocolite hémorragique.

Epidémiologie de la spondylarthrite ankylosante

La SA occupe par sa fréquence le deuxième rang des RIC après la PR (*polyarthrite rhumatoïde*). C'est le chef de file d'un ensemble de maladies qui partagent un terrain génétique commun appelées : les spondylarthropathies (SPA). Ce lien génétique entre ces pathologies est attesté par l'existence de cas de SPA familiaux et par la forte association avec l'antigène leucocytaire humain-B27 (*Human Leucocyte Antigen-B27 ou HLA-B27*).

Age de survenue de la spondylarthrite ankylosante

Cette pathologie semble affecter de façon préférentielle le jeune adulte. L'âge moyen de survenue de la maladie est de 26 ans, les premiers symptômes apparaissent dans 80 % des cas avant l'âge de 30 ans, contre seulement 5 % des cas après 45 ans (*Calin A. et al., 1988 ; Braun J. and Sieper J., 2007 ; Pertuiset E., 2008*). La SPA peut débuter aussi dans l'enfance, les formes à début juvénile sont plus fréquentes dans certaines régions : 10 à 15% débutent avant l'âge de 15 ans en Europe, ce pourcentage est de 30% dans les pays du Maghreb (*Saroux A., 2007*).

Sexe ratio dans la spondylarthrite ankylosante

Il est classiquement admis qu'il existe une prédominance masculine de la SA, les hommes seraient plus touchés que les femmes avec un ratio homme/femme de 4/1 (*Wendling D., 1998*). Cependant, il est néanmoins intéressant de noter que ce déséquilibre de sexe ratio a tendance à disparaître dans les études les plus récentes. Cette évolution suggère que les femmes atteintes de la SA ont eu tendance à être sous-diagnostiquées par le passé. Cette hypothèse est étayée par les données d'une étude allemande portant sur plus de 1300 patients où le pourcentage de femmes parmi les malades est passé de 10% en 1960 à 46% en 1990 (*Feldtkeller E. et al., 2000*). Ce sous-diagnostic pourrait s'expliquer par des différences de symptomatologie en fonction du sexe, avec notamment une plus grande sévérité radiologique (et donc un diagnostic plus aisé) chez les hommes. En revanche, une autre étude a montré que la fréquence de l'atteinte chez les femmes (0,29 %) est presque égale à celle des hommes (0,31 %), et les formes féminines sont peu différentes des formes masculines (*Saroux A. et al., 2003*).

Prévalence de la spondylarthrite ankylosante

Différentes études ont permis d'étudier l'épidémiologie de la spondylarthrite à travers le monde. A l'inverse de l'incidence, la prévalence permet d'étudier le nombre de

personnes atteintes par une pathologie au sein d'une population à un moment donné. Il existe trois facteurs à prendre en compte lorsque l'on souhaite comparer la prévalence de la SA entre les différentes populations : le choix de l'échantillon représentatif de la population (nombre de patients inclus), les paramètres de sélection (lieu de recrutement différent, population entière, armée, etc.) et la corrélation directe entre la prévalence de la SA et celle de l'antigène HLA-B27 (*Sieper J. et al. 2006 ; Braun J. & Sieper J., 2007*). De nombreuses études ont cherché à estimer la prévalence de la SA. Des variations ont été observées en fonction de la population étudiée avec, d'une manière générale, l'existence d'un gradient décroissant Nord-Sud. Ces différences s'expliquent par la répartition géographique de l'allèle HLA-B27, principal facteur de susceptibilité à la maladie (*Khan M.A., 1995*). Les prévalences les plus élevées de HLA-B27 et de la SA sont retrouvées dans les régions subarctiques de l'Eurasie et d'Amérique du Nord. Alors que la SA est quasi-absente en Amérique du Sud, en Australie et en Afrique.

Diagnostic de la spondylarthrite ankylosante

Le diagnostic de cette maladie repose sur un ensemble d'examen :

Examen clinique

Lors de l'examen clinique, les arthrites périphériques s'observent au cours de l'évolution chez 50 à 70% des malades. Il s'agit surtout d'atteinte inflammatoire proximale, des épaules et coxo-fémorales, plus rarement d'une atteinte des genoux ou des pieds.

Quant aux douleurs rachidiennes, initialement intermittentes, elles sont souvent plus durables, évoluant par périodes de plusieurs semaines ou mois. Pour les manifestations viscérales, elles sont d'inégales fréquences. L'œil est l'organe le plus touché (uvéite antérieure). Mais d'autres manifestations viscérales sont propres à la SA, insuffisance ventilatoire restrictive, liée à la rigidité de la paroi thoracique, insuffisance aortique et troubles de la conduction auriculo-ventriculaire.

Le médecin interroge le malade pour savoir s'il a eu des antécédents tels que des talagies, les doigts en saucisse, des douleurs fessières provoquées par une sacro-illite, du psoriasis,....

Examen biologique

Il n'existe, à ce jour, aucun élément biologique permettant de diagnostiquer la spondylarthrite ankylosante. Un bilan sanguin peut être réalisé pour éliminer certains diagnostics différentiels.

En cas de forte suspicion clinique, la recherche du typage HLA-B27 du patient peut être demandée. Deux résultats sont possibles :

- Si le patient ne possède pas le gène HLA-B27, la suspicion de spondylarthrite ankylosante ne doit pas être exclue car 10 % des malades atteints de spondylarthrite ankylosante sont HLA-B27 négatifs.
- Si le patient possède le gène HLA-B27, le typage conforte la suspicion de spondylarthrite ankylosante mais en aucun cas un typage HLA-B27 positif ne permet de poser le diagnostic car environ 97 % des personnes HLA-B27 n'ont pas de spondylarthropathie.

Imagerie

Le diagnostic repose sur la visualisation de différentes atteintes par le biais des techniques suivantes:

Les radiographies du bassin permettent de visualiser un contour estompé de l'articulation sacro-iliaque, voire un élargissement de la jonction. Alors que la scintigraphie osseuse, elle permet de repérer les zones inflammatoires, mais cet examen a beaucoup de limites car il est peu spécifique. Quant à l'IRM (imagerie par résonance magnétique), elle permet aussi de repérer les zones inflammatoires de manière précoce. Par contre, le scanner est utile pour montrer les conséquences à long terme en visualisant les ossifications débutantes. En revanche, L'échographie peut aider au diagnostic des atteintes des enthèses.

Critères de diagnostic

Les premiers critères ont été publiés en 1962 (*Kellgren J.H., 1962*) Ils ne comportaient alors aucun paramètre radiologique. A la fin des années 1970, ils ont été révisés, incorporant cette fois-ci la radiologie comme élément, et appelés également Critères de New York dont la dernière version datée de 1984 (*Van der Linden S. et al., 1984*). Une autre série de critères est également utilisée : ceux de l'ESSG (European Spondylarthropathy Study Group) ayant une sensibilité respective de 85 % et de 87 % et une spécificité de 90 % et de 87% (*Dougados M. et al., 1991*). Les critères d'Amor restent aujourd'hui le système le plus sensible et le plus spécifique, car ils tiennent compte des manifestations extra articulaires (**Tableau 1 et 2**).

Tableau 1: Critères de classification des SPA d'ESSG. (*Dougados et al., 1991*)

(d'après DAHMANI C.A, 2018)

<i>Critères de classification d'ESS</i>	
Critères Majeurs	Critères Mineurs
Synovites (passées ou présentes) asymétriques ou prédominants aux membres inférieurs ou Douleurs du rachis lombaire, dorsal ou cervical (passées ou présentes), présence des 3 à 5 critères suivants : <ul style="list-style-type: none"> - Début avant 45ans. - Début progressif. - Améliorées par l'exercice. - Raideur le matin. - Depuis plus de 3 mois. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ATCD familiaux de spondylarthrite, psoriasis, uvéite, arthrite réactionnelle ou entérocolopathie. 2. Psoriasis (antécédent ou en cours) objectivé par un médecin. 3. Infection génitale ou digestive (un mois avant arthrite). 4. Entérocolopathie (antécédent ou en cours, de Crohn ou Rectocolite hémorragique). 5. Enthésopathie (achillienne ou plantaire). 6. Douleur des fesses à bascule. 7. Sacro-iliiteradiologique (stade2-4bilatéral, stade3-4unilatéral selon la cotation suivante : 0= normal, 1=possible,2=modérée, 3=évoluée,4=ankylose).

Tableau 2: Critères de classification des SPA d'Amor (Amor et al. , 1990)
(d'après DAHMANI C.A, 2018)

<i>Critères de classification d'Amor</i>	
Signes Cliniques ou Histoire Clinique	Points
1. Douleurs nocturnes lombaires ou dorsales ou raideur matinale lombaire ou Dorsal	1
2. Oligoarthrite asymétrique	2
3. Douleur fessière sans précision	1
Douleur fessière à bascule	2
4. Doigt ou orteil en saucisse	2
5. Talagie ou toute autre entèsopathie	2
6. Iritis.	2
7. Urétrite non gonococcique ou cervicite moins d'un mois avant le début d'une arthrite.	1
8. Diarrhée moins d'un mois avant une arthrite.	1
9. Présence ou antécédent de psoriasis, ou de balanite, ou d'entérocolopathie Chronique.	2
Signes Radiologiques	Points
10. Sacro-iliite(stade > 2)	2
Terrain Génétique	Points
11. Présence de l'antigène HLA-B27 ou antécédents familiaux des pondylarthrite, de Syndrome de Reiter, de psoriasis, d'entérocolopathie chronique.	2
Sensibilité au Traitement	Points
12. Amélioration en 48 heures des douleurs par anti-inflammatoires non stéroïdiens ou rechute rapide (< 48 heures) des douleurs à leur arrêt.	2

Traitements de la spondylarthrite ankylosante

La prise en charge de la SA doit permettre de lutter contre la douleur, le syndrome inflammatoire, de prévenir l'ankylose mais aussi de limiter les déformations articulaires. Le choix du traitement dépend de l'activité de la maladie, de la présence ou non d'une inflammation, du type d'atteinte que le malade présente et éventuellement les médicaments déjà prescrits. Les traitements médicamenteux doivent être choisis et adaptés à chaque malade (*Skorzewski E., 2010*). L'ASAS et l'EULAR ont établi des recommandations pour la prise en charge thérapeutique de la SA et des critères de réponse thérapeutique sont à disposition pour évaluer l'efficacité des traitements sur la SA (*Bourriaud C., 2014*).

Traitements médicamenteux symptomatiques

Appelés aussi les médicaments de la crise, il s'agit de médicaments qui traitent les symptômes en soignant l'inflammation et la douleur et non la maladie en elle-même.

Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS constituent le traitement de base de la SA et un des critères de diagnostic de cette maladie. Ils agissent sur la douleur, mais aussi sur les raideurs, la durée du dérouillage matinal, l'incapacité fonctionnelle et sur l'activité de la maladie. Plusieurs AINS seront testés sur des périodes de deux à trois semaines pour déterminer la molécule la mieux tolérée/efficace ainsi que la dose minimale efficace. Il s'agit surtout d'un traitement symptomatique mais qui pourrait prévenir l'apparition des lésions osseuses ankylosantes (*Bourriaud C., 2014*).

Antalgiques

Les antalgiques peuvent constituer chez certains patients un appoint thérapeutique intéressant. A la différence des AINS, ils sont bien supportés sur le plan digestif. Les antalgiques apportent un complément au traitement par AINS. Ils n'agissent que sur la douleur et n'ont aucun effet sur l'inflammation.

Corticoïdes

Les corticoïdes dérivent de la cortisone, ils remplacent le traitement par AINS lorsque ces derniers sont mal tolérés ou en courtes cures lors des poussées inflammatoires. La corticothérapie par voie orale n'a toutefois pas démontrée une réelle efficacité dans les formes axiales de spondylarthrite. Des injections intra ou péri-articulaires de corticoïdes sont indiquées en cas de sacro-illite pour soulager la douleur. Leur efficacité n'a pas été cliniquement prouvée lors de leur utilisation dans les formes périphériques et les enthésites (Mansour M. et al., 2007).

Les traitements de fond classiques

L'indication du traitement de fond contre les rhumatismes inflammatoires vient d'après échecs des traitements de la crise (symptomatiques). La notion de ces traitements fait référence à des médicaments dont l'administration produit des effets habituellement progressifs, nécessitant un délai d'action prolongé. Ils se caractérisent aussi par une action rémanente, par opposition aux traitements anti-inflammatoires considérés comme purement symptomatiques de la phase terminale de l'inflammation, et d'action rapidement réversible (Bourriaud C., 2014).

L'une des vertus essentielles des traitements de fond serait de provoquer une rémission véritable de la maladie et donc d'arrêter l'évolution de la SA. Cependant, les mécanismes pathologiques ne sont pas connus de façon très précise. C'est pourquoi le classement de certaines molécules comme traitement de fond pourrait s'avérer faux (Skorzewski E., 2010).

De nombreux traitements de fond utilisés dans le traitement de la PR ont été utilisés dans celui de la SA. En effet, les cliniciens ont eu recours aux antipaludéens, aux sels d'or, à la sulfasalazine et au méthotrèxate..., mais les résultats ont été assez décevants sauf pour la sulfasalazine (Astier F., 2012). A l'heure des anti-TNF α (*Tumor Necrosis Factor*), il reste peu de place pour ces traitements non évalués.

Traitements non médicamenteux

Les biothérapies

Les traitements de fond classiques qui ont été décrits précédemment n'ont pratiquement pas d'impact sur les symptômes et les signes de la maladie lorsqu'elle est exclusivement axiale d'où l'intérêt de l'avènement de nouveaux traitements de fond comme les inhibiteurs du TNF α . Les anti-TNF α représentent une innovation majeure dans le champ thérapeutique de la SA. Ces molécules bloquent l'action d'une cytokine produite par les cellules de l'immunité en cas d'inflammation, le TNF α dont la production excessive favorise la persistance de l'état inflammatoire et joue un rôle central dans la progression de la SA. Actuellement, quatre anti-TNF- α bénéficient d'une autorisation de mise sur le marché pour le traitement de la SA, et sont couramment utilisés (*Claudepierre P. et al., 2012*) :

a) *L'infliximab*

Anticorps monoclonal chimérique (humain-souris) dirigé contre la cytokine qu'elle soit circulante ou fixée sur son récepteur.

b) *L'adalimumab*

Anticorps monoclonal entièrement humain. Il se lie spécifiquement au TNF- α dont il neutralise la fonction biologique en bloquant son interaction avec ses récepteurs.

c) *L'etanercept*

Dimère d'une protéine de fusion du récepteur P75 du TNF, avec le domaine Fc d'une Ig humaine. Il empêche le TNF- α circulant d'agir sur ses sites naturels de fixation.

d) *Le Golimumab*

Anticorps monoclonal complètement humain. Il se lie aux formes solubles et transmembranaires du TNF humain, il forme des complexes stables, empêchant ainsi le TNF de se fixer à ses récepteurs.

Physiopathologie de la spondylarthrite ankylosante

La spondylarthrite ankylosante est un rhumatisme inflammatoire chronique touchant principalement les sacro-iliaques et le rachis. Sa physiopathologie est une des énigmes de la rhumatologie. Cependant, la découverte récente de gènes de susceptibilité autres que HLA B27, du rôle pivot de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 23 et l'interleukine 17 et d'une dissociation entre l'inflammation et la progression structurale nous permet de mieux comprendre la physiopathologie de la SA.

Rôle de l'antigène HLA-B27

Plusieurs hypothèses expliqueraient le rôle de la molécule HLA-B27 dans la pathogénie de la SA. Les molécules HLA-B27 fixeraient un peptide arthritogène et le présenteraient aux lymphocytes T CD8+. Une particularité de la molécule HLA-B27 est de pouvoir présenter des peptides longs (33 AA) contrairement aux autres molécules HLA de classe I qui présentent des peptides beaucoup plus courts (9 AA). Cependant, le peptide arthritogène n'a jamais été mis en évidence. Certains peptides pourraient jouer le rôle du peptide arthritogène. Ainsi, dans le liquide synovial de patients, on retrouve des lymphocytes T CD8+ capables de reconnaître un peptide de 9 AA dérivant du collagène de type VI présenté par la molécule HLA (Atagunduz P, Kloetzel PM et al., 2005). Une autre hypothèse se tourne vers un peptide de (8 AA) issu du récepteur du peptide vasointestinal (VIP), bien reconnu par la molécule HLA-B27 des patients porteurs de l'allèle HLA-B2705 mais pas de patients porteurs de l'allèle HLA-B2709 (Fiorillo MT. et al., 2000).

L'inflammation

Les processus inflammatoires surviennent principalement au niveau de deux tissus : l'enthèse et le tissu synovial. L'enthèse désigne la zone d'insertion dans l'os des ligaments, des tendons et de la capsule articulaire. Il existe deux types d'enthèses, la fibreuse et la fibrocartilagineuse. La première constitue les points d'attache métaphysaires et diaphysaires

et est formée d'un tissu conjonctif à base de collagène. La seconde correspond à la zone d'insertion au niveau des épiphyses des os longs ou du carpe ou du tarse. Elle est composée de 4 zones histologiques distinctes (zone tendineuse = fibre de collagène ; fibrocartilage ; minéralisation du fibrocartilage et os). L'enthèse est capable de supporter de fortes contraintes mécaniques, elle sert ainsi à compenser les modifications de pression et à tamponner les impacts (*Claudepierre P. and Voisin M.C ,2005*). Parmi les nombreuses hypothèses énoncées pour tenter d'expliquer la survenue des processus inflammatoires au niveau de l'enthèse, deux d'entre elles semblent retenir le plus d'attention.

La première hypothèse correspond à l'action du stress mécanique appliqué à l'enthèse

Celui-ci faciliterait l'apparition de microtraumatismes responsables d'une augmentation de la vascularisation locale qui favoriserait le dépôt d'antigènes bactériens. Ces épitopes antigéniques seraient reconnus par les TLR (Toll Like Receptor)(*Toussirot E. and Wendling D. ,2006*), une famille de récepteurs impliqués dans les réponses inflammatoires et dans les mécanismes de défense vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils sont exprimés à la surface de différents types cellulaires comme les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques, et reconnaissent deux types de ligands :

Les PAMPs (PathogenAssociatedMolecular Patterns), des épitopes antigéniques partagés par un grand nombre de microbes.

Les DAMPs (Damages Associated Molecular Patterns), des signaux de dangers libérés par des cellules endommagées, tels que les protéines du choc thermique ou la fibronectine.

La stimulation des TLR, par la reconnaissance de leur ligand est ensuite responsable d'une activation des cellules de l'immunité innée grâce aux voies de signalisation intracellulaire, puis de la production par ces cellules de médiateurs inflammatoires comme le

TNF- α (Tumor Necrosis Factor α), l'IL-1 (Interleukine 1), l'IL-6 (Interleukine 6) et le TGF- β (Transforming Growth Factor) .

Les microtraumatismes peuvent également favoriser la libération, par des cellules nécrotiques, de DAMPs déclenchant ou entretenant l'inflammation, notamment lorsqu'ils sont associés à des composants bactériens .

La deuxième hypothèse fait appel à un mécanisme auto-immun

L'immunisation de souris avec de l'aggrécane ou avec son domaine globulaire G1 permettant sa liaison avec l'acide hyaluronique, aboutit à des symptômes typiques de la SA (Braun J. and Sieper J.,2007 ;Mansour M. et al,2007). De plus, 62% des patients spondylarthritiques possèdent des LT-CD4+ dirigés contre le domaine G1 de l'aggrécane. Ce domaine G1 est également retrouvé au niveau du squelette axial, de l'uvée et des cellules musculaires lisses du tissu artériel, où sont localisées les principales atteintes de la SA (Mansour M. et al.,2007). Cette dernière hypothèse n'est pas contradictoire avec celle du stress mécanique car les tissus porteurs du domaine G1 de l'aggrécane subissent tous des stress mécaniques (**Figure 8**).

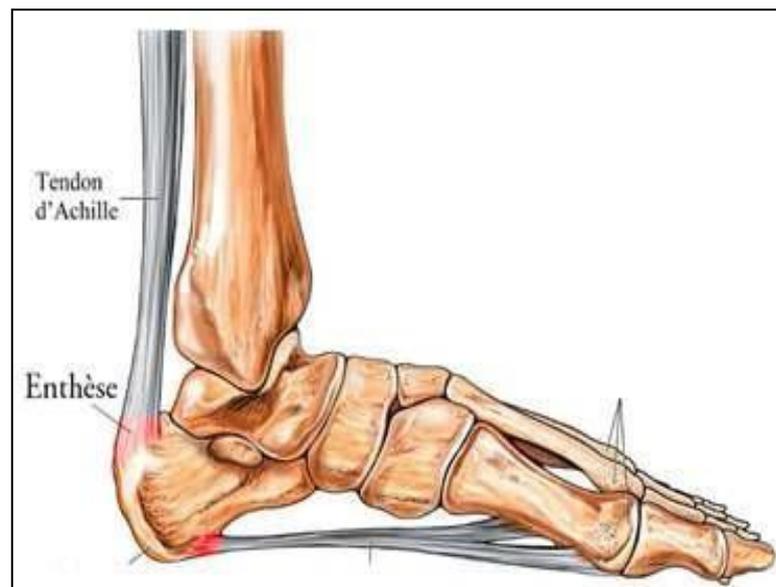


Figure 8: Localisation anatomique de l'enthèse et du tendon d'Achille
(Benokba. 2017).

L'inflammation chronique se développe plus facilement dans les tissus proches et au contact des enthèses car ceux-ci sont plus accessibles à l'infiltration cellulaire et à l'angiogénèse. La membrane synoviale est le tissu qui tapisse l'intérieur de la capsule articulaire. Elle sécrète un liquide transparent, la synovie, ou liquide synovial, qui facilite le glissement des articulations lors des mouvements. Chez les patients souffrant de SA, des taux circulants élevés de facteur proangiogénique VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) ont été retrouvés au niveau des synovites périphériques, ce qui est le signe d'une vascularisation renforcée (Toussirot E. and Wendling D., 2006). Des études immunohistologiques ont étudié la composition de l'infiltrat cellulaire présent au niveau de ces synovites. Un fort taux de macrophages CD163+ a ainsi été retrouvé (Smith, J.A., E. Marker-Hermann, and R.A. Colbert, 2006) Le CD163+ délimite une population de macrophages qui produisent une quantité plus importante de TNF- α , cytokine pro-inflammatoire, mais une quantité minimisée d'IL-10 (Interleukine 10) qui promeut la réponse immunitaire adaptative médiée par les LTh1 (Lymphocyte T Helper 1) (Smith J.A., Marker-Hermann E. and Colbert R.A., 2006).

Inflammation et érosion osseuse

Une fois activée par les TLR, les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) vont présenter l'antigène aux LTCD4+ naïfs ou LTh0 (lymphocytes indifférenciés), grâce à l'interaction du CMH avec le TCR (T Cell Receptor) et des molécules de co-stimulation dont CD80-CD86. La CPA va ensuite sécréter de l'IL-6 et de l'IL-1 pour permettre la différenciation du LTh0 en LTh17 (Lymphocyte T Helper 17). Elle va également libérer du TGF- β dont le rôle est d'inhiber la différenciation du LTh0 en LTh1. Une boucle d'amplification est ensuite réalisée grâce à la sécrétion autocrine d'IL-21. Une fois la différenciation en LTh17 réalisée, la CPA va sécréter de l'IL-23 qui va venir interagir avec

son récepteur exprimé à la surface du LTh17, et qui permet la stabilisation et l'expansion de la lignée Th17, ainsi que la sécrétion d'IL-17A et d'IL-17F (Samson, M. et al. 2010) (Figure 9).

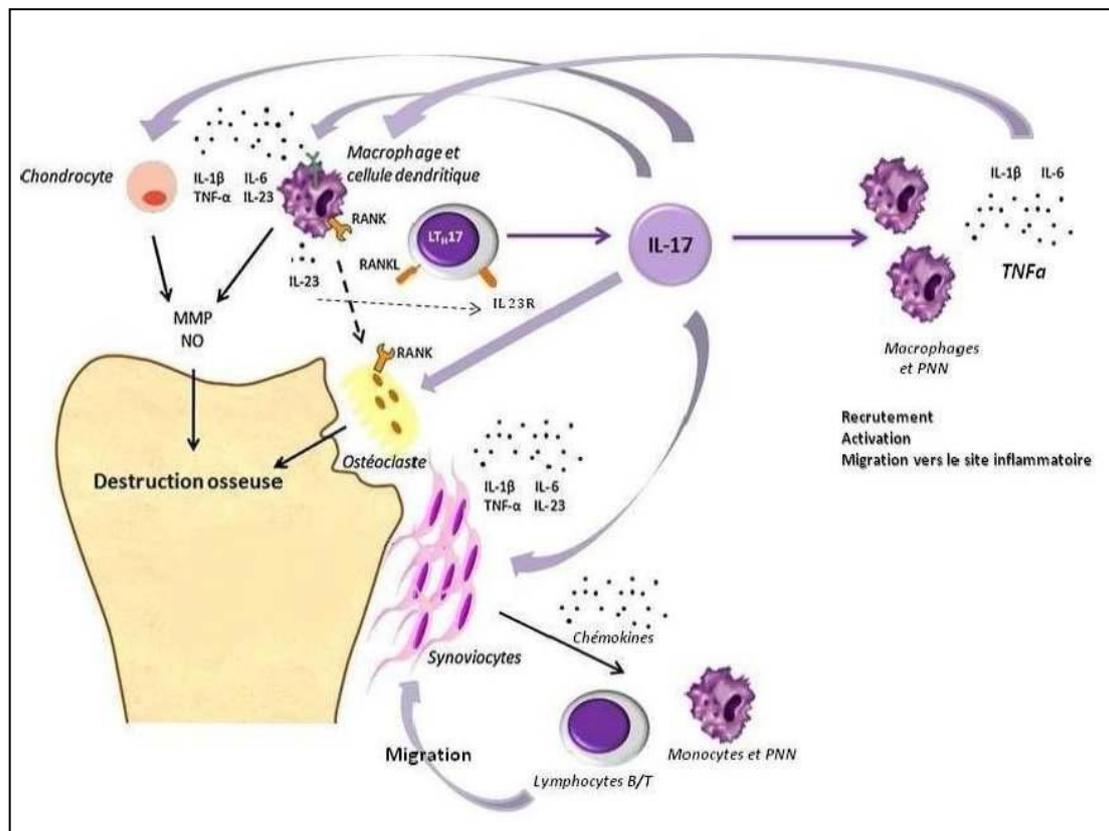


Figure 9: Différenciation des lymphocytes Th0 en Th17 et destruction osseuse de la spondylarthrite (Samson M et al., 2010)

CD=cellule dendritique, IL-1 β , 6, 17A, 17F, 21, 22, 23= interleukines 1 β , 6, 17A, 17F, 21, 22, 23, IL21R et IL 23R= Récepteurs des interleukines 21 et 23, PAMPs= pathogenassociatedmolecular patterns, TGF- β =transforminggrowth factor β , TLR= tollikereceptor, RANK = receptoractivator of nuclearfactor kappa B.

Ces cytokines augmentent le recrutement, l'activation et la migration des PNN (polynucléaires neutrophiles) et des macrophages vers les sites inflammatoires. Elles induisent la sécrétion, par ces mêmes cellules, de cytokines pro-inflammatoires (IL -1 β , IL-6 et TNF- α). L'IL-1 et l'IL-6 provoquent une boucle d'amplification car elles induisent la production d'IL-23 par les monocytes et les cellules dendritiques, ce qui déclenche une surproduction d'IL-17 par les LTh17.

Au niveau de la synoviale, l'IL-17 entraîne, en sus de la production de cytokines pro-inflammatoires, l'excrétion de facteurs chimiotactiques ou chémokines permettant le

recrutement de LT, LB, de monocytes et de PNN(Samson M. et al.2010). Elle favorise la sécrétion par les chondrocytes, les cellules dendritiques et les macrophages, de métalloprotéinases (MMP) et de monoxyde d'azote (NO) responsables d'une destruction articulaire. Enfin, elle augmente l'expression du facteur RANK (Receptor Activator of NFκB) à la surface des ostéoclastes. L'ostéoclastogénèse et donc l'érosion osseuse peut être déclenchée par l'interaction entre RANKet son ligand RANKL présents à la surface de certains LTh17.

Le TNF- α est une cytokine qui exerce des effets biologiques pleiotropiques sur une large variété de cellules. Il stimule l'angiogénèse et régule à la hausse la migration transendothéliale des leucocytes. Il active les lymphocytes et agit sur la synthèse des autres cytokines, chimiokines, prostaglandines et métalloprotéinases. Dans le processus de destruction articulaire, le TNF-α augmente la prolifération des synoviocytes et déclenche une cascade de médiateurs secondaires impliqués dans le recrutement de cellules inflammatoires (Davis J.C., 2005)(**Figure 9**).

Synthèse osseuse excessive

La synthèse osseuse excessive touche pratiquement tous les compartiments du squelette. Dans le cas de la colonne vertébrale, des dépôts osseux d'orientation verticale nommés syndesmophytes comblent les espaces intervertébraux. Lorsque plusieurs vertèbres sont atteintes consécutivement, la colonne prend un aspect en bambou, elle est alors appelée « bamboospine ». La formation d'excroissances osseuses peut également toucher les tendons, on parle alors d'enthésiophytes (Schett, G. and Rudwaleit M. ,2010).

Il semblerait que les processus de synthèse osseuse ne s'effectuent pas au hasard au sein des espaces intervertébraux et des articulations, mais soient limités à des sites de prédilection.

Ce phénomène n'est cependant pas encore totalement élucidé. Le fait que les lésions soient le plus souvent retrouvées le long des sites d'insertion des tendons mettrait en évidence le rôle

joué par le stress mécanique (*Schett, G. et M. Rudwaleit, 2010*). Les cellules responsables de la croissance osseuse sont les ostéoblastes. Des signaux moléculaires sont nécessaires pour réguler leur différenciation et leur activation. Parmi ceux-ci :

- La prostaglandine E2 (PGE2) jouerait un rôle dans la stimulation de la prolifération et de la différenciation des ostéoblastes, et dans la synthèse des phosphatases alcalines, enzymes à l'origine de la minéralisation osseuse (*Schett, G. et Rudwaleit M., 2010*).

- Les protéines BMP (BoneMorphogenicProtein) sont responsables de la différenciation des chondrocytes, cellules à l'origine de la formation du cartilage (*Schett, G. and Rudwaleit M., 2010*). BMP2 est associée à une différenciation chondrogénique précoce, tandis que BMP7 est retrouvée lors des stades de différenciation tardive comme les pré-chondrocytes et les chondrocytes hypertrophiés (*Lories R.J. et F.P. Luyten, 2009*). Une fois hypertrophiés, les chondrocytes rentrent en apoptose ou se différencient en ostéoblastes. Les protéines BMP possèdent un antagoniste naturel, la protéine Noggin. Une carence en Noggin dans la SA, serait à l'origine de la suractivité de la protéine BMP (*Schett, G. et Rudwaleit M., 2010*). L'utilisation de cet antagoniste comme stratégie thérapeutique ou de manière préventive afin d'anticiper l'apparition des déformations osseuses chez la souris souffrant d'ankylose de l'enthèse, a été efficace. Ceci confirme le rôle joué par les protéines BMP dans la synthèse osseuse excessive (*Braun J. et J. Sieper, 2007*).

- La protéine Wnt est responsable de la différenciation ostéoblastique. Elle peut-être inhibée par son récepteur antagoniste DKK-1 (Dickkopf-related protein 1) et par la sclérostine (SOST) (*Schett, G. et M. Rudwaleit, 2010*). Il semblerait que ces inhibiteurs ne fonctionnent pas correctement chez les patients spondylarthritiques, d'où une différenciation accrue des ostéoblastes.

Etiologie de la maladie

L'étiopathogénie de la spondylarthrite ankylosante n'est pas bien connue mais il a été constaté qu'il existe des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux jouent un rôle très important dans le développement d'une réponse immunitaire anormale.

Facteurs environnementaux

Il existe de nombreuses preuves impliquant des facteurs environnementaux dans la survenue de la SA, l'une d'entre elles, est l'étude du modèle du rat transgénique pour HLA-B27. En effet, il a été démontré que les rats transgéniques élevés en atmosphère stérile ne développent pas la maladie alors qu'ils débute l'affection lorsqu'ils sont remis en milieu extérieur (Taurog J.D. et al., 1999) .

Chez les patients atteints d'arthrite réactionnelle, plusieurs études ont montré la présence d'antigène et d'ADN bactériens dans les prélèvements synoviaux, suggérant un rôle direct des constituants bactériens tels que ceux de *Chlamydia trachomatis* en situation intra-articulaire dans le déclenchement de l'arthrite (Rih M. et Zeidler H., 2007).

Par ailleurs, le tabagisme est un facteur associé à des formes plus sévères de spondylarthrite, tant au plan clinique qu'en terme de progression radiologique (Zhang S. et al., 2015). Enfin, certaines études ont démontré que la SA était associée à des concentrations plus faibles de vitamine D, car il a été prouvé que celle-ci, influence à la fois les systèmes immunitaires innés et adaptatifs, en régulant l'activité des cellules immunitaires (Zhao S. et al., 2014) .

Facteurs génétiques de la spondylarthrite ankylosante

Association HLA avec la spondylarthrite ankylosante

L'implication des facteurs génétiques dans la pathogénie de la SA a commencé à être suspecté à partir des années 1918, face à l'observation d'agrégations familiales (*Hersh A.H et al., 1950*).

En mars et avril 1973, il a été rapporté indépendamment de l'Angleterre et de Los Angeles que l'antigène d'histocompatibilité HLA-B27 est présent en très forte proportion chez les patients atteints de SA et chez leurs proches (*Brewerton D.A et James D.C.O, 1975*).

Puis à partir de 1977, beaucoup d'études ont essayé de déterminer la prévalence de HLA-B27 au sein des familles de patients atteints de SA et leurs apparentés. L'hypothèse de l'implication directe de ce gène s'impose alors progressivement (*Daneo V. et al, 1977*).

Afin de confirmer si cette tendance familiale est due à l'existence de facteurs génétiques, *P.Jarvinen* s'est intéressé au taux de concordance chez les jumeaux atteints de SA (50% chez les jumeaux monozygotes et de 20% chez les jumeaux dizygotes). Les résultats de leurs recherches indiquent que l'expression de la maladie est en grande partie, mais pas entièrement, d'origine génétique avec l'implication d'autres gènes que HLA-B27 (*Jarvinen P., 1995*).

HLA-B27 et spondylarthrite ankylosante

Le locus HLA – B est l'un des locus génétiques les plus polymorphes, avec jusqu'à 105 sous-types connus, appelés HLA-B * 27 01 à HLA-B * 27 106, codés par 132 allèles (*Chen B et al, 2017*).

L'étude génétique de la SA a considérablement progressé au cours de la dernière décennie. Des études d'association pangénomiques ont identifié et corroboré le rôle des gènes de susceptibilité en dehors du locus du complexe majeur d'histocompatibilité. Cependant, il a

été suggéré que l'antigène des leucocytes humains HLA -B27 (HLA-B * 27 05 HLA-B * 27 04) était important dans la pathogenèse de la SA, contribuant à environ 20% de son héritabilité (Végyári A *et al*, 2009 ; Chen B *et al*, 2017).

Association non-HLA avec la spondylarthrite ankylosante

Certainement, le gène HLA-B27 a un effet prédominant dans l'apparition de la spondylarthrite ankylosante mais d'autres gènes à l'heure actuelle inconnus favoriseraient une prédisposition à la maladie.

Le gène ERAP 1 (Endoplasmic Reticulum Associated Aminopeptidase 1)

L'aminopeptidase endoplasmique associée au réticulum, est une enzyme qui présente deux fonctions connues. La première est de cliver les récepteurs de cytokine (IL-1, IL-6, TNF) de la surface cellulaire (Cui X *et al*, 2002 ; Cui *et al* , 2003), la seconde est de tailler les peptides à la bonne longueur pour la présentation par les molécules HLA de classe I, en coupant la partie N terminale des précurseurs dans le réticulum endoplasmique (Serwold *et al*, 2002).

La perte de fonction des variants d'ERAP1 pourrait ainsi avoir des effets pro-inflammatoires via ce mécanisme de clivage des récepteurs. Chez les souris knock-out ERAP1, on observe une réduction de l'expression des molécules du CMH de classe I de surface, une augmentation significative de l'altération des marqueurs de surface de classe I, une diminution de la stabilité et une présentation défectueuse des antigènes sur la surface des cellules (Yan *et al*, 2006 ; Hammer *et al*, 2007). La découverte d'ERAP1, plaide en faveur de l'hypothèse d'un groupe de peptides arthritogènes, qui n'auraient peut-être pas un type de séquence commune, mais plutôt une forme similaire, cela reste à démontrer (Hammer *et al*, 2007).

Interleukine-17/ Interleukine-2300

Les deux cytokines pro-inflammatoires, IL-23 et IL-17, peuvent être associées aux maladies auto-immunes. En effet, la production d'IL-23 et surtout d'IL-17, une interleukine connue pour être impliquée dans la pathogénie de plusieurs affections inflammatoires, serait très augmentée chez les patients atteints de la SA (Wendling D et al., 2007 ; Jandus et al., 2008). L'étude suggère que l'anomalie de repliement de la molécule HLA-B27 serait responsable d'un stress du réticulum endoplasmique. Un des éléments de cette anomalie, serait une surproduction d'IL-23 dont une des conséquences est la différenciation des TCD4+ en lymphocytes Th17, lymphocytes qui sont à l'origine de la synthèse d'IL-17. Sur cette base, empêcher les lymphocytes T de se différencier en cellules Th17 pourrait supprimer ou réduire fortement le développement des maladies inflammatoires comme les spondylarthropathies.

Le gène CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4)

L'activation des cellules T médiée par le complexe du récepteur des cellules T (TCR) après la reconnaissance de l'antigène, une co-stimulation est nécessaire par des corécepteurs tels que le CD28 et l'antigène-4 lymphocytaire T cytotoxique (CTLA-4) (Alegre M.L et Frauwirth K.A, 2001). Le récepteur CD28 fournit des signaux positifs qui favorisent la réponse des lymphocytes T, tandis que le CTLA-4 transmet des signaux inhibiteurs pour atténuer l'activation des lymphocytes T en entrant en concurrence avec le CD28 pour le ligand B1 (Van der Merwe P.A et al., 1997).

Certaines études n'ont révélé aucune association entre la SA et le CTLA-4, tel qu'une méta-analyse récente (Chen L. et al., 2016). Cependant, d'autres études ont prouvé le contraire, citons par exemple l'étude de cas-témoins, réalisée en Algérie sur le polymorphisme CTLA-4 CT-60 dans la population de l'Ouest Algérien, qui montre une association significative entre ce polymorphisme et la susceptibilité génétique à la SA, mais seulement chez le groupe

des femmes, chez les patients âgés plus de 30 ans et également chez le groupe HLA-27 négatif (*Dahmani C.A et al., 2018*).

Association du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) et la SA

Le Système Rénine Angiotensine (SRA)

Le Système Rénine Angiotensine (SRA) est un système autacoïde, c'est-à-dire des substances organiques spécifiques formées par les cellules d'un organe. Elles sont déversées dans le sang et provoquent dans les autres organes des effets semblables à ceux des médicaments.

Ce système fait intervenir un précurseur produit dans le foie, l'angiotensinogène (AGT), pour conduire à la formation d'angiotensine I (Ang I) dans le sang. Celle-ci est convertie en Ang II dans le poumon par l'action de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) (*Michel J.B et al., 1997 ; Laraqui A., 2006*).

Quand le volume sanguin diminue, les reins sécrètent la rénine qui clive l'AGT en Ang I puis en Ang II par l'ACE. L'Ang II exerce un effet vasoconstricteur et provoque une augmentation de la pression sanguine en stimulant le système nerveux sympathique et la sécrétion d'aldostérone et de vasopressine et ainsi la réabsorption de sels et la rétention d'eau (*Oparil S. et al., 1974 ; Goodfriend T.L et al., 1996*).

L'ACE est une enzyme clé du SRA, elle établit le maintien de la pression artérielle et l'équilibre hydrominéral (*Mahi F., 2014*)(**Figure 10**).

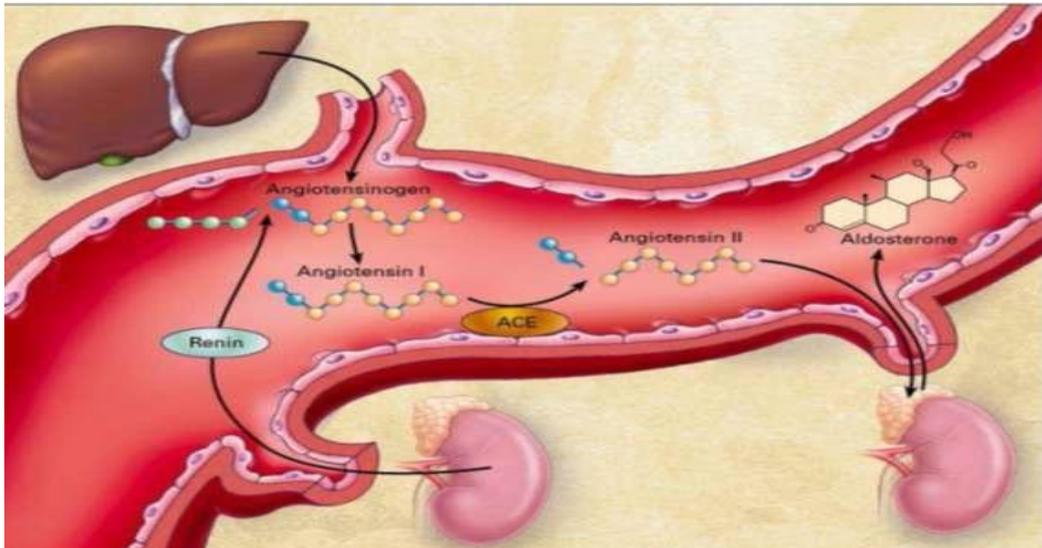


Figure 10: Le système renine-angiotensine (SRA)
(Goodfriend T.L et al., 1996).

L'angiotensine II

L'angiotensine II agit sur ses cellules cibles par l'intermédiaire de sa liaison à des récepteurs transmembranaires spécifiques appartenant à la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G (RCPG). Il existe deux types de récepteurs à l'angiotensine II, le récepteur AT1 (AT1-R) et le récepteur AT2 (AT2-R). Ces récepteurs lient l'Ang II avec une haute affinité (Lin S.Y et Goodfriend T.L, 1970). L'Ang II peut exercer ses effets sur le récepteur AT2, aux rôles approximativement contraires à ceux d'AT1-R (Marchesi C. et al., 2008)(**Figure 11**).

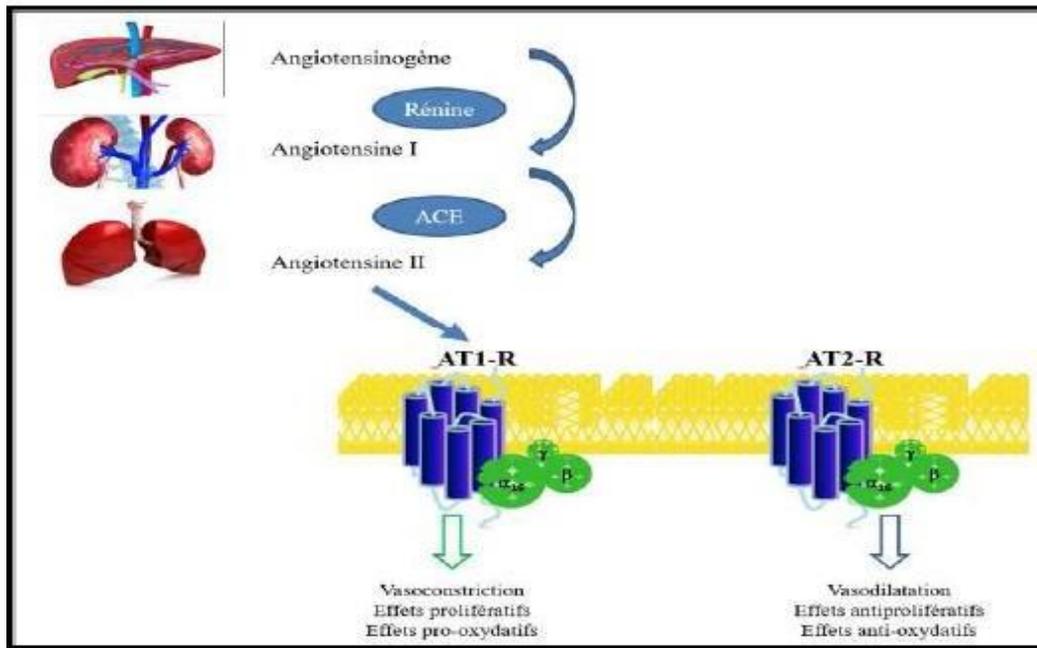


Figure 11: Schéma simplifié du métabolisme des angiotensines et de leurs effets physiologiques médiés par les récepteurs AT (D'après DAHMANI C.A, 2018)

La majorité des effets physiologiques de l'Ang II sont induits par l'activation de son récepteur, une fois activé, il déclenche une réponse cellulaire par l'intermédiaire des voies MAPKs (Mitogen-Activated Protein Kinase), des JAK-STATs (Janus-Activating Kinases-Signal Transducers and Activators of Transcription), et du facteur de transcription NF- κ B, menant à la croissance cellulaire, la prolifération et l'apoptose. L'activation de ce même récepteur peut aussi mener à la transactivation du récepteur EGF (Endothelial Growth Factor), et induire également la croissance cellulaire et la prolifération (Eguchi S. et Inagami T., 2000 ; Saito Y. et Berk B.C, 2001; Sorescu D. et al., 2002).

Signalisation induite par l'interaction de l'angiotensine II et AT1-R

Il a déjà été rapporté que les récepteurs AT1 sont exprimés dans la synoviale humaine (Walsh D.A et al., 1994) et que l'activité de l'ACE dans le liquide synovial est augmentée chez les patients arthritiques (Veale D. et al., 1992).

L'interaction de l'angiotensine II et AT1-R, occasionne différents signaux, dont une réponse immédiate, qui est responsable des effets vasomoteurs, une hypertrophie

secondaire et une réponse tardive des inflammations et des pro-coagulants. Ces effets pathologiques tardifs sont médiés par la voie de la phospholipase A2 (PLA2), qui s'accompagne de la libération d'eicosanoïdes et de la production d'un stress oxydatif dans les cellules cibles. L'augmentation du stress oxydatif est également liée à l'activation de la PLA2, associée à la NADPH oxydase membranaire productrice d'anions superoxydes (Figure 12).

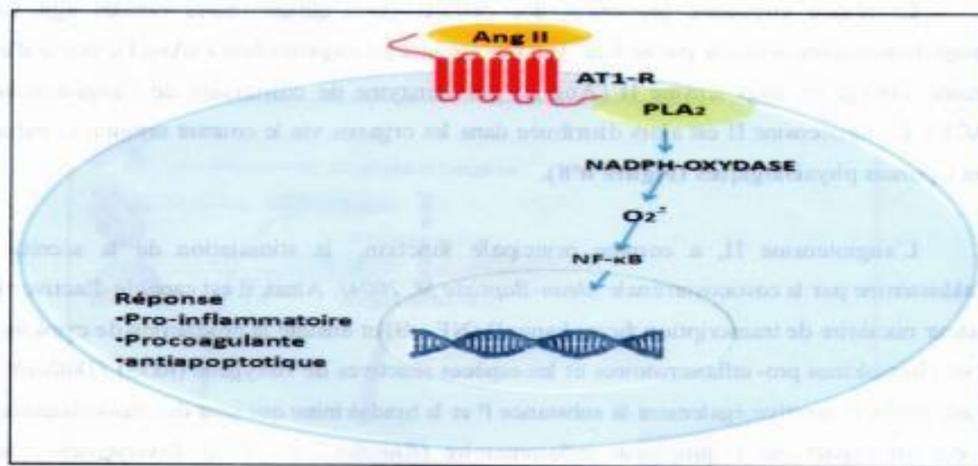


Figure 12: Signalisation induite par l'interaction de l'angiotensine II et ATI-R.
(d'après Michel J.B.,2004)

AngII: Angiotensine II, **ATI-R:**Récepteur,**PLA2:** Phospholipase A2,**NADPH-oxydase:**Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate-oxydase **O₂⁻:** Anion superoxyde,**NF- B:**nuclear factor kappaB

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE)

L'ACE est connue sous différentes dénominations, comme la dipeptide carboxypeptidase ou la peptidylpeptide hydrolase ou Kininase II (Laraqui A.,2006). C'est une métallo-enzyme à zinc, appartenant à la famille des carboxypeptidases. La présence de l'atome de zinc et du chlore modifie la conformation de son site actif, lui donnant sa spécificité pour les substrats di-peptidiques. On lui connaît de nombreux substrats tels que Ang I, la bradykinine et l'enkephaline (Chalghouma et al., 2010 ; Amrani A., 2015). L'ACE est une enzyme ubiquitaire de distribution très large puisque la forme membranaire est présente sur toutes les cellules endothéliales et épithéliales (Diall A.A., 2011).En raison de

leur forte vascularisation, les poumons sont la source essentielle productrice de l'ACE circulante (*Danser A.H, 2003*).

Structure de la protéine de l'ACE

L'ACE est une protéine hautement glycosylée (les sucres représentent selon les formes 20 à 30% du poids moléculaire de l'enzyme). Elle est synthétisée sous forme d'un précurseur avec un peptide signal qui est clivé pour donner la molécule mature (*Mahi F, 2014*).

La séquence complète en acides aminés de l'ACE, a été déterminée. Elle existe sous trois formes: une forme membranaire (la plus représentée), pourvue de peptide d'ancrage (160 Kda), une forme circulante soluble légèrement plus petite (140 Kda) et une autre forme testiculaire (90 Kda) (*Boussouf F.Z and Benferhat G.2019*).

Sa distribution est large puisque la forme membranaire est présente sur toutes les cellules endothéliales et épithéliales particulièrement dans tous les lits capillaires, ainsi dans les neurones, les macrophages et les cellules germinales mâles. La quantité d'enzyme ne semble donc pas être un facteur limitant dans la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II (*Diall A.A, 2011*).

Structure du gène de l'ACE

Le gène codant l'enzyme ACE a été localisé sur le chromosome 17 du génome humain, en17q23 (*Mattei et al., 1989;Cambien & Sourbier., 1995*). Il s'étend sur 21 kb portant 26 exons (*Hubert C., 1991*). Le gène ACE code pour deux iso-enzymes selon l'utilisation alternative des deux promoteurs, soit le promoteur de type somatique (en 5'UTR), soit le promoteur de type germinale (intron 12) (*Howard et al., 1990*)(**Figure 13**).

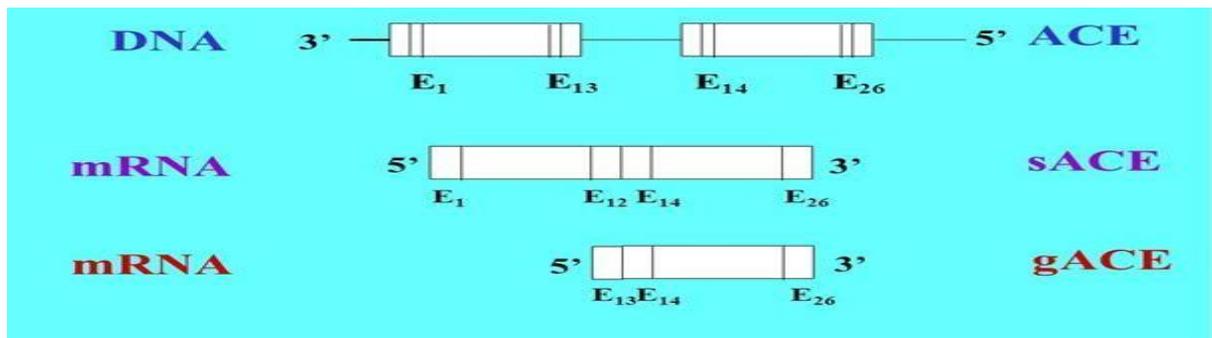


Figure 13: Structure du gène ACE et ses différents transcrits (ACEs, ACEg).
(d'après Howard T.E et al.,1990)

gACE: ACE germlinal ; **sACE :** ACE somatique.

Le plus grand ARNm est obtenu à partir de la transcription des exons : de 1 à 26, à l'exception de l'exon 13 et il correspond à l'ACE de type endothélial (ACE somatique). Le second ARNm est transcrit à partir des exons : de 13 à 26. Il correspond à l'ACE testiculaire (ACE germinale) (Hubert C., 1991).

Polymorphismes de ACE

Parmi les 252 polymorphismes qui ont été décrits au niveau du gène ACE, dont cinq de type SNPs (rs1800764, rs4291, rs4309, rs4331, rs4340) couvrant une région de 15,6kb (Rieder M.J et al.,1999 ; Rebai M. et al., 2006), le polymorphisme le plus étudié consiste en une insertion/délétion (I/D) (rs4340), liée à la présence ou à l'absence d'une séquence répétitive (Alu de 287pb) au niveau de l'intron16 de ce gène (Hubert C. et al., 1991)(Figure 14).

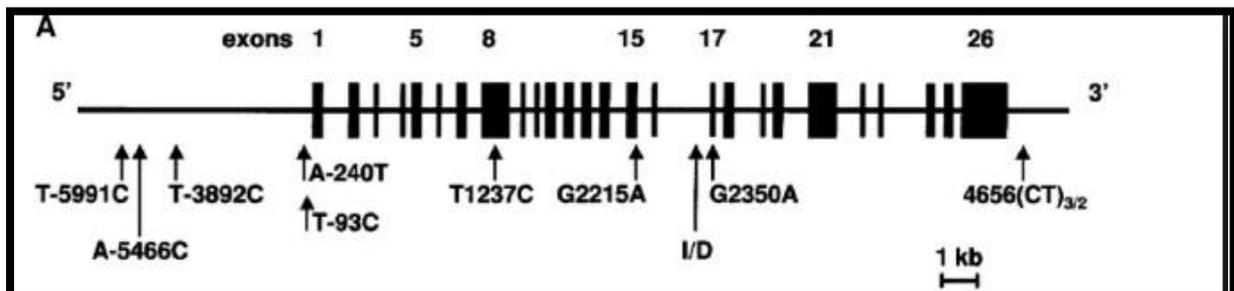


Figure 14: Positionnement du polymorphisme I/D par rapport à quelques SNPs proches dans le gène ACE (d'après Keavney B. et al., 1998)

Les exons sont indiqués par les boîtes noires, les SNP et la localisation du polymorphisme I/D sont indiqués par des flèches.

Dans la mesure où ce polymorphisme intervient dans une séquence intronique, la manière dont il peut influencer la biosynthèse de l'ACE reste inconnue. Il a été proposé que ce polymorphisme pourrait être en déséquilibre de liaison avec un locus, situé à proximité, et fortement impliqué dans la régulation du niveau de l'enzyme de conversion de l'angiotensine. Cependant, ce locus n'a pas encore été identifié (*Cambien F. et al, 1995*).

Ce polymorphisme, basé sur la présence insertion (I) ou sur l'absence délétion (D), donne lieu à trois génotypes: homozygote pour la délétion (DD), hétérozygote(ID) et homozygote pour l'insertion (II).il a été démontré qu'un individu ayant l'allèle D a une activité ACE relativement plus élevée qu'un individu ayant l'allèle I dans le plasma et divers tissus et en particulier dans le liquide synovial (*Shehab D.K et al., 2008 ; Bayram B. et al., 2011 ; Yigit S. et al., 2012*).

Association du polymorphisme I/D de l'ACE et pathologies

Plusieurs travaux ont étudié l'association du polymorphisme I/D avec diverses maladies auto-immunes dont la SA.

Impact du polymorphisme I/D de l'ACE sur la spondylarthrite ankylosante

Une étude cas/témoins, réalisée chez 122 patients atteints de SA et 140 témoins en Turquie, a montré une association significative entre le génotype DD et l'atteinte oculaire($p=0,04$) et aussi l'atteinte sacro-iliaque ($p=0,03$) (*Inanir A. et al., 2012*). Cependant, l'étude d'İnal et al, a démontré une association significative entre le génotype II et la maladie ($p= 0,005$, $OR > 1$) entre 38 cas et 71 témoins Turques (İnal E.E et al. 2016)

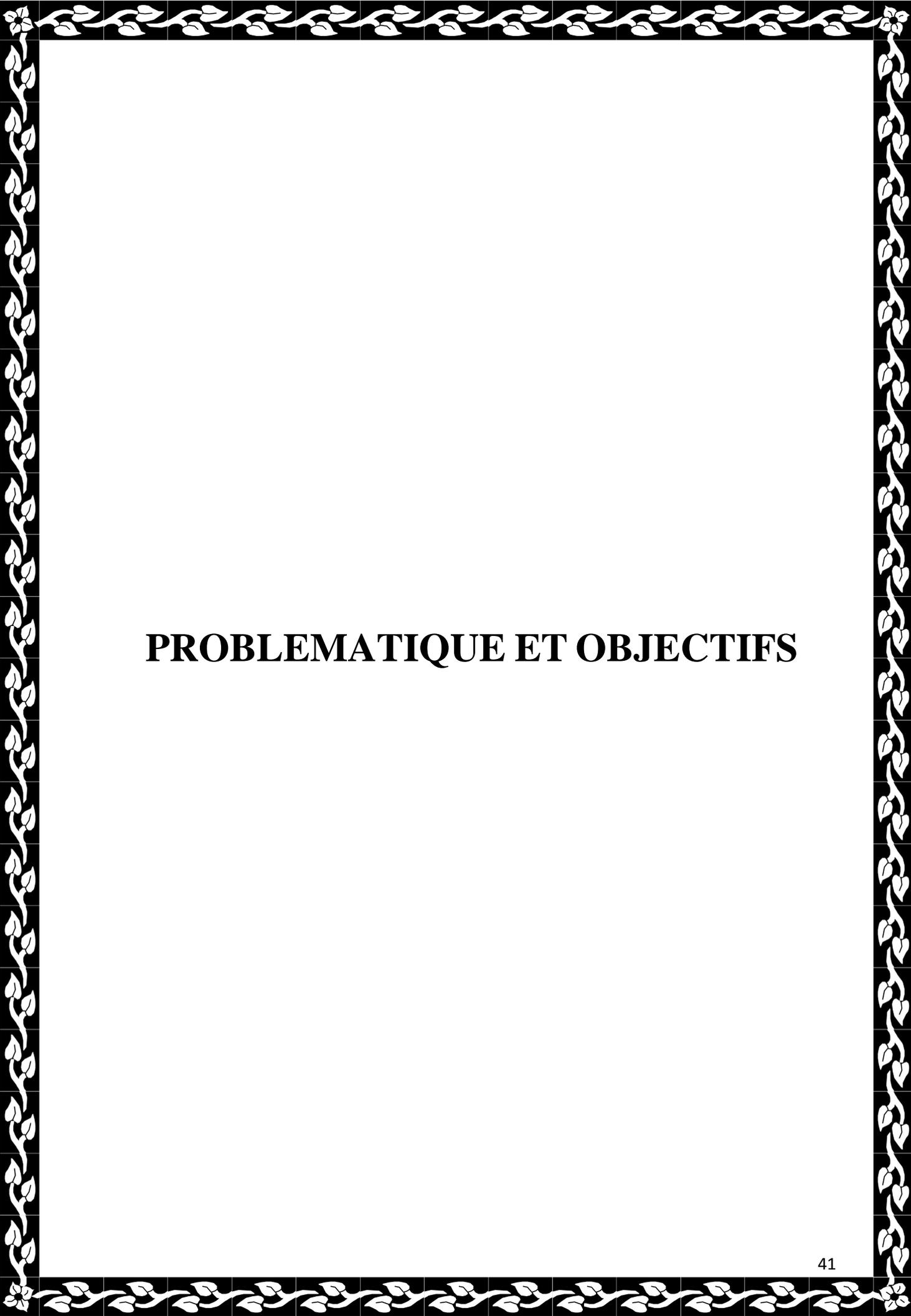
Impact du polymorphisme I/D de l'ACE sur rhumatisme psoriasique(RhPso)

Une autre étude cas/témoins, a pu mettre en évidence une association significative entre le rhumatisme psoriasique et le polymorphisme I/D du gène de l'ACE. En effet, cette

étude portant sur la population Koweïtienne a montré l'association entre l'allèle I et cette pathologie (*Al-Awadhi A.M et al., 2007*). Cependant, aucune association n'a été trouvée entre le rhumatisme psoriasique et le polymorphisme I/D de l'ACE chez les Espagnols (*Coto-Segura P. et al., 2009*).

Impact du polymorphisme I/D de l'ACE sur polyarthrite rhumatoïde (PR)

Une étude cas/témoins, réalisée chez 110 patients atteints de la PR et 146 témoins dans une population turque, a montré que la fréquence de l'allèle D du polymorphisme I/D de l'ACE est significativement augmentée chez les patients atteints de PR par rapport aux témoins ($p < 0,001$). De plus, le génotype DD du polymorphisme I/D de l'ACE pourrait être un marqueur génétique dans la polyarthrite rhumatoïde (*Yigit S. et al., 2012*). D'autres études réalisées sur différentes populations ont montré que l'allèle D ainsi que le génotype DD étaient associés au risque du développement de cette pathologie (*Uppal S.S et al., 2007 ; Ahmed A.Z et al., 2013*).



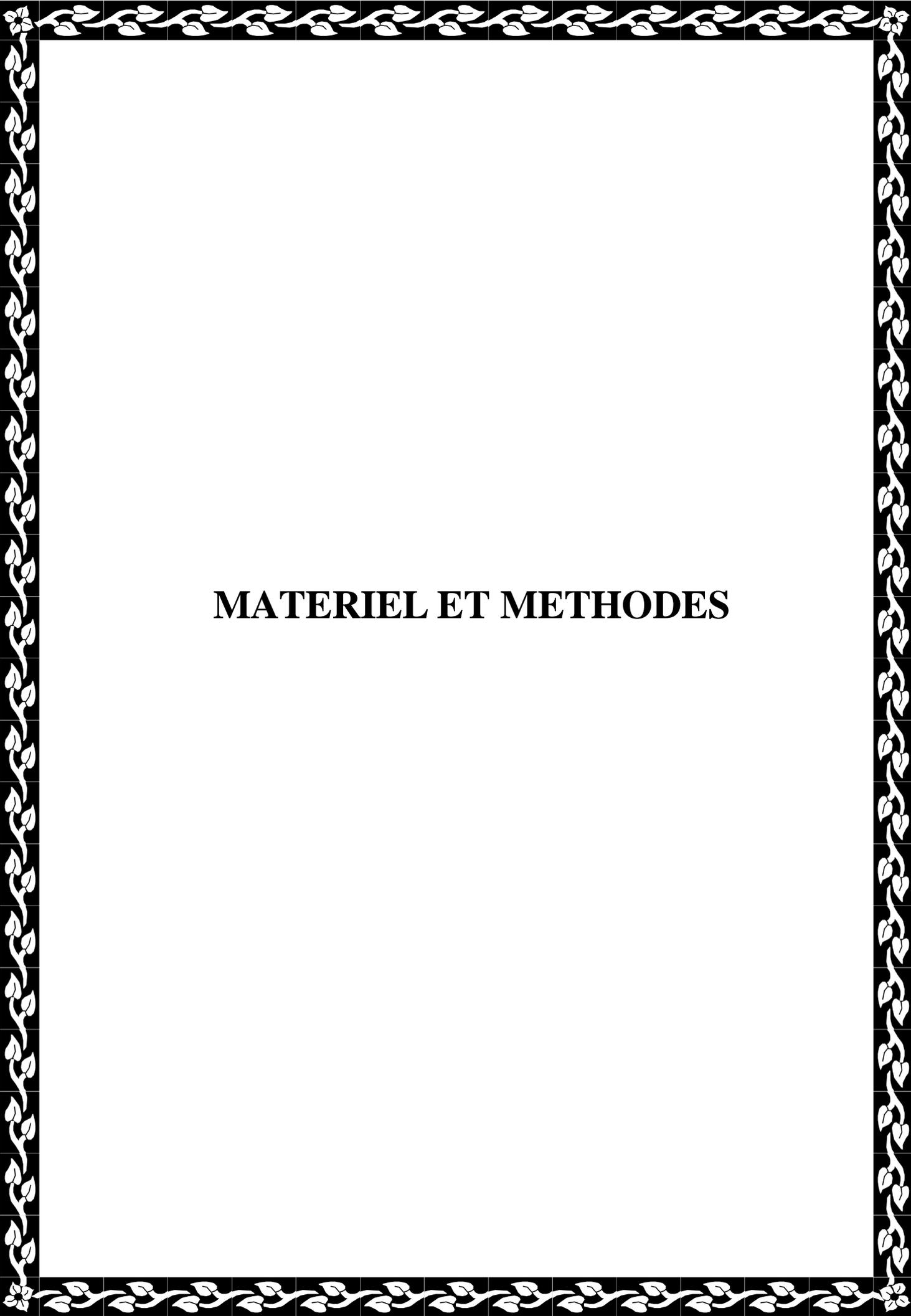
PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

La spondylarthrite ankylosante (SA), est une arthropathie chronique, sa pathogénie exacte reste mal comprise mais il est bien établi que les facteurs génétiques dont l'antigène HLA-B27 jouent un rôle majeur dans le développement de cette maladie.

Bien que les forces d'association entre l'antigène HLA-B27 et la SA soient parmi les plus fortes rapportées, il existe également de nombreuses preuves de l'implication de facteurs non-HLA dans la susceptibilité génétique à la SA. C'est le cas notamment du polymorphisme rs4340 (insertion-délétion I/D) du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE), qui est un des régulateurs clé dans les voies de transduction du signal inflammatoires.

L'objectif de notre étude était d'une part, d'analyser la distribution de l'antigène HLA-B27 entre le groupe des cas et témoins originaires de l'Ouest Algérien. D'autre part, nous avons étudié la distribution des génotypes et des allèles du polymorphisme rs4340 (I/D) [ACE] dans un échantillon de témoins sains.

Les résultats obtenus ont été comparés à des génotypes de cas disponibles dans la base de données du Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire de l'Université des Sciences et de la Technologie d'Oran(LGMC, USTO-MB). Par ailleurs, nous avons pu réaliser une étude cas/témoins par la recherche de l'association entre le polymorphisme rs4340 (I/D) [ACE] et la survenue de la SA. Nos résultats ont été comparés à ceux rapportés dans plusieurs études bibliographiques.

A decorative border with a repeating floral and leaf pattern in white on a black background, framing the page.

MATERIEL ET METHODES

Population d'étude

Les ADNs amplifiés dans cette étude ont été fournis par l'équipe de recherche n°2 , dirigée par Pr. BOUDJEMA Abdallah , appartenant au Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire de l'Université des Sciences et de la Technologie d'Oran « LGMC/USTO ».

Pour l'étude cas/témoins, nous avons disposé de 30 ADNs de sujets témoins non apparentés (23 femmes et 7 hommes) âgés entre 23 et 55 ans .Concernant les cas, nous avons disposé des génotypes du polymorphisme Insertion/Délétion (I/D) de l'ACE de 30 patients (13 femmes et 17 hommes) âgés entre 15 et 71 ans, tous non apparentés.

Tous les sujets sont originaires de l'Ouest Algérien. Les caractéristiques des cas et témoins sont rapportés dans le **Tableau 3**.

Tableau 3: caractéristiques des patients et des témoins de l'échantillon étudié

Caractéristique générales des sujets	Patients n= 30 (%)	Témoins n=30 (%)	Valeur p	OR [IC 95 %]
Sexe :				
Hommes	17 (57)	7 (23)		
Femmes	13 (43)	23 (77)	/	/
Age du diagnostic :				
≤ 30 n(%)	11(37)	22 (73)	/	/
> 30 n (%)	19(63)	8 (27)		
Statut HLA-B27				
Présence de HLA-B27(+)	15 (50)	1 (03)		29
Absence de HLA-B27 (-)	15 (50)	29 (97)	0.0001	[3,49-241,13]

n =nombre, **%** = pourcentage, **OR** : Odds Ratio,

IC : Intervalle de confiance, **valeur p**: signification statistique.

Par ailleurs, nous avons disposé des résultats du génotypage HLA-B27 des groupes cas et témoins qui ont été réalisés au cours du travail du Dr. Dahmani (*Dahmani C.A, 2018*). Le génotypage HLA-B27a été réalisé au laboratoire d'immunogénétique et de transplantation du département d'Immunologie à l'institut Pasteur d'Alger.

Quant à notre étude, la distribution de l'antigène HLA-B27 a montré dans le tableau 3 que 50% des patients SA sont HLA-B27 positifs contre seulement 03% des témoins. Cette distribution a confirmé l'association de l'antigène HLA-B27 avec la présence de la spondylarthrite dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien. Ce résultat a été déjà observé dans un échantillon de la population Algéroise (Amroun H. et al. 2005). Les chercheurs ont trouvé que 63% des patients atteints de la SA sont porteur de l'antigène HLA-B27 contre 4% pour les témoins.

Méthodes

Extraction d'ADN

Les molécules d'ADN ont été extraites à partir du sang total collecté des patients SA par la technique d'extraction au NaCl appelée aussi « salting out » (*Miller S.A. et al. 1988*). L'extraction d'ADN a eu lieu au niveau du laboratoire LGMC, USTOMB.

La concentration d'ADN génomique a été mesurée par spectrophotométrie et normalisée à des concentrations finales de 10 à 100 ng/μl selon les techniques utilisées.

Les études génétiques effectuées sur ces banques d'ADN restent anonymes, et les informations personnelles restent confidentielles. Chaque personne est identifiée par un numéro unique, permettant ainsi une traçabilité permanente.

Génotypage moléculaire

Le génotypage du polymorphisme ACE Insertion/Délétion (I/D) (rs4340) qui siège au niveau de l'intron 16 a été réalisé par PCR Multiplex (*Polymerase Chain Reaction Multiplex*).

Principe de la technique PCR multiplex

L'amplification d'ADN par PCR consiste en la production in vitro de millions de copies de séquences d'ADN spécifiques par une ADN polymérase thermostable isolée de la bactérie *Thermusaquaticus* (Taq). Cette bactérie a été isolée à partir de sources thermales et sa polymérase possède la propriété de résister à plusieurs expositions successives à de hautes températures (jusqu' à 100°C)(*Saiki et al. 1985, Mullis et Faloona 1988, Saiki et a 1.1 988*).

La PCR est une technique cyclique, chaque cycle étant subdivisé en 3 phases (Figure15):

- une phase de dénaturation de l'ADN double brin par la chaleur entre 92°C et 95°C.
- une phase d'hybridation avec les deux ou plusieurs amorces spécifiques entre 55°C et 60°C.
- une phase d'élongation (extension d'amorces) par l'ADN Polymérase à partir des amorces entre 70°C et 72°C.

La PCR est maintenant couramment utilisé dans tous les laboratoires des sciences (Dimo-Simonin 1997). Ceci est principalement dû à la sensibilité de la technique et la capacité d'analyser de faibles quantités d'ADN. En effet, une quantité de 0.5ng d'ADN est suffisante pour effectuer la réaction de PCR (*Saiki et al. 1985, Mullis et Faloona 1987, Saiki et al. 1988, Schumm et al. 1995*). Certains agents affectent la réaction d'amplification et agissent comme des inhibiteurs (*Comey et al. 1994, Del Rio et al. 1996, Akane et al. 1996*).

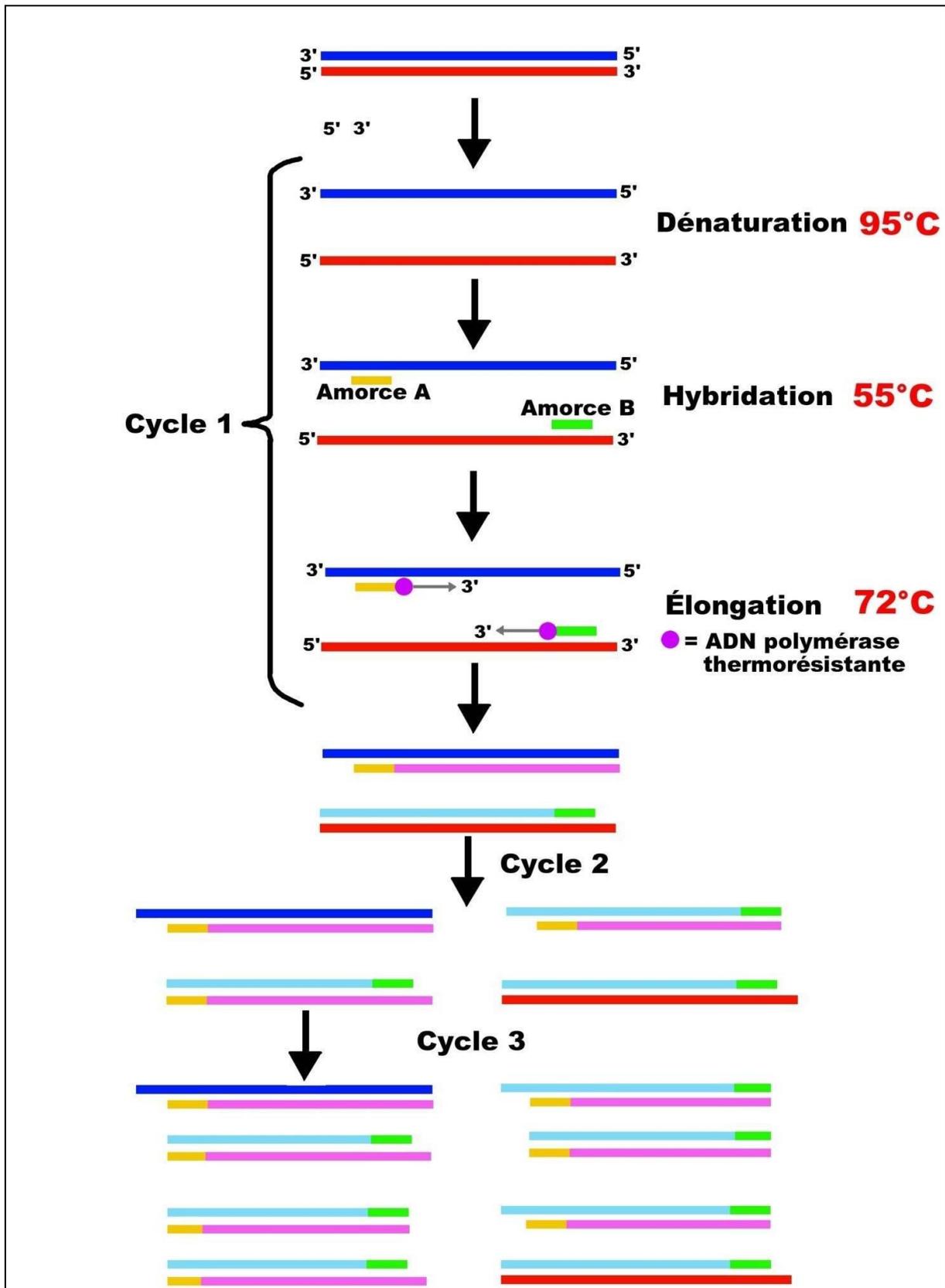


Figure 15: Principe d'amplification des acides nucléiques par la méthode PCR. (Lindpaintner K. et al, 1995).

Les détergents comme le SDS, les composés porphyriques dérivés de l'hème, et la protéinase K en sont des exemples (*Higuchi 1989, Akane 1996*). Des éléments copurifiés avec l'ADN lors de l'extraction tel les colorants présents dans les vêtements peuvent aussi inhiber l'amplification (*Comey et Budowle 1991, Jung et al. 1991, Koblinsky 1992, Del Rio et al. 1996*). La présence d'ADN trop dégradé empêche la fixation et l'élongation efficace des amorces rendant l'amplification du fragment impossible. Par contre, la longueur des fragments analysés par PCR n'excède pas quelques centaines de bases, de sorte qu'un ADN partiellement dégradé peut être amplifié (*Hagelberg et al. 1990, Hochmeister et al. 1991*).

Les applications de la technique d'amplification sont très nombreuses en biologie. Le séquençage, le clonage ou l'analyse de mutations préalablement identifiées ne sont que quelques exemples (*Frégeau et Fourney 1993, Alberts et al. 1994*)., elle permet d'identifier des individus par l'analyse de fragments amplifiés à partir de sites hypervariables. Afin de séparer les fragments, il est possible de faire migrer les amplicons sur gel d'agarose lorsque les fragments sont relativement grand (300 à 10 000 pb) et que la 22 différence de taille entre les fragments est supérieure à 20 pb (*Southern E.M., 1979, Alberts et al. 1994*). Par contre, si les fragments sont plus petits, moins de 100 pb, l'électrophorèse capillaire ou encore les gels de polyacrylamide sont utilisés puisqu'ils permettent de séparer des fragments dont les tailles ne diffèrent que d'un seul nucléotide (*Evans 1991, Frégeau et Fourney 1993*).

La PCR multiplex consiste en l'amplification simultanée de plusieurs sites STR dans un seul tube. Ainsi, la réaction d'amplification contiendra les paires d'amorces encadrant plusieurs sites génétiques à amplifier. Cette nouvelle façon de procéder pour l'amplification permet de réduire le temps d'analyse ainsi que les coûts et la quantité de matériel génétique pour l'obtention de profils génétiques discriminants (*Edwards et al. 1991, Schwartz et al. 1992*).

Les concentrations optimales de réactifs, la durée et les températures de réaction sont spécifiques à chaque paire d'amorces, des compromis pour ces différents paramètres sont établis pour que des résultats satisfaisants soient obtenus. À cause de ces compromis, l'amplification de certains sites peut être perturbée considérablement par des variations mineures aux conditions de PCR. Par exemple, l'ajout d'une solution d'ADN contenant une grande concentration de sel pourrait complètement inhiber l'amplification d'un site en particulier sans influencer l'amplification d'autres sites en affectant l'équilibre de liaison des amorces.

L'analyse par PCR multiplex exige que les différents fragments amplifiés soient de tailles différentes afin qu'il soit possible de déterminer de quels sites génétiques ils proviennent. Ceci impose des contraintes sur la position des amorces relativement aux séquences répétitives (*Schumm et al. 1995*). Le principe de la PCR multiplexe est l'utilisation d'un set de plusieurs couples d'amorces pour amplifier simultanément une ou plusieurs cibles d'ADN en une seule réaction de PCR. Dans notre étude, nous avons utilisé deux amorces flanquantes encadrant la région d'intérêt qui contient le fragment de 287pb (séquence Alu) inséré au niveau de l'intron 16 du gène *ACE* et une 3^{ème} amorce interne (**Figure 16**).



Figure 16: Positionnement des 3 amorces du PCR.
(d'après *Boussouf F.Z. et Benferhat G., 2019*)

Protocole d'amplification de polymorphisme

Le mélange réactionnel utilisé dans la PCR multiplex était de 25 μ l de volume final et il était constitué de : 1U de Taq polymérase, 1X de Tampon d'amplification, MgCl₂ à 2,5mM, 0,1mM des dNTP, 50pM de l'amorce ACE 1 et ACE 3 et 15pM de l'amorce ACE 2, DMSO à 5%, 30 à 50 ng/ μ l d'ADN et QSP de l'eau distillée.

La réaction de la PCR multiplex a été effectuée dans un thermocycleur TECHNE Flexigene selon le programme détaillé et représenté ainsi que les séquences des amorces dans le **tableau 4**.



Figure 17: Photo représentant le thermocycleur TECHNE Flexigene.
(Laboratoire L.G.M.C-U.S.T.O-MB).

Tableau 4: Séquences des amorces utilisées et programme pour l'amplification du polymorphisme I/D du gène l'ACE

	Amorces	Séquences			Pourcentage GC(%)
Séquence des amorces	sens	5`-CATCCTTTCTCCCATTCTC-3`			45
	non-sens	5`-AATTTTATTCCAGCTCTGAAAT-3`			27
	Interne	5`-TGGGATTACAGGCGTGATACAG-3`			50
Programme d'amplification	Phases	Étapes	Temps	température	Cycles
	Phase 2	Dénaturation	5minutes	95°C	1
		Hybridation	1minute	55°C	40
		Elongation	1minute	72°C	
	Phase 3	Elongation	10 minutes	72°C	1
Finale					

Test d'amplification

Après la polymérisation, la lecture des génotypes a été réalisée par électrophorèse sur gel d'agarose standard à 1 % (0.5g d'agarose dans 50 ml de TBE1/X)(**Figure 18**). Le gel a été coloré au Goldview qui est un colorant spécifique aux acides nucléiques non cancérigène permettant de visualiser l'ADN double brin, l'ADN simple brin et l'ARN dans des gels d'agarose. Ce colorant remplace le Bromure d'éthidium (B.E.T), couramment utilisé pour visualisation des acides nucléiques.



Figure 18: Photo représentant l'Agarose en poudre PRONADISA.
(Laboratoire L.G.M.C-U.S.T.O-MB)

Ensuite, le gel est placé dans une cuve à électrophorèse remplie par le tampon de migration (TBE1/X). Dans chaque puits du gel, nous avons déposé 10 μ l d'un mélange contenant 5 μ l de produit d'amplification et 5 μ l de tampon de charge composé de bleu de bromophénol et sucrose (6X). Le tampon de charge a deux rôles : il donne le front de migration et alourdit l'ADN afin qu'il reste au fond des puits lors du dépôt et de l'électrophorèse. La migration se fait pendant 30 minutes à 150 volts. Le gel a ensuite été placé sur un transilluminateur à UV pour la visualisation des bandes. Les amplimères attendus présentent des bandes de taille de 370 pb et 67 pb pour l'insertion et une seule bande de 87 pb pour la délétion.

Analyse statistique

L'équilibre d'Hardy-Weinberg (HWE)

L'équilibre d'Hardy-Weinberg est un principe fondamental en génétique, il prescrit que sous certaines conditions et après quelques générations, les proportions génotypiques d'un locus se fixent autour d'un équilibre (*Hardy G.H, 1908*).

Les conditions d'équilibre de Hardy-Weinberg sont les suivantes :

1. Le choix du conjoint se fait de manière aléatoire.
2. Tous les individus participant au processus de reproduction appartiennent à la même génération.
3. Aucun gène n'est introduit par des migrants extérieurs.
4. La taille de la population est infinie.
5. Il n'y a pas de mutation au locus considéré.
6. Il n'y a pas de sélection agissant sur le locus considéré.

D'une façon générale, le modèle d'Hardy-Weinberg peut alors être utilisé pour vérifier la distribution génotypique d'une population, en comparant la distribution observée et la distribution théorique par un test de χ^2 (chi2) (*Hardy G.H, 1908*).

Dans le cas d'un équilibre d'HWE, le résultat observé dans cette étude est valable pour la population générale et après plusieurs générations.

Le test chi carré (χ^2)

Le chi carré (χ^2) est un test statistique conçu pour déterminer si la différence entre deux distributions de fréquences pour un marqueur donné, entre des malades et des témoins est attribuable à l'erreur d'échantillonnage (le hasard) ou est suffisamment grande pour être statistiquement significative. En effet, si la différence entre les deux distributions est réduite, l'hypothèse nulle sera acceptée. Cependant, si la différence est importante, l'hypothèse nulle sera rejetée.

Ce même programme permet également, de déduire le degré de signification (p), qui correspond à la probabilité de sorte que l'écart global soit imputable seulement aux fluctuations du hasard. Lorsque la probabilité 'p' est égale ou inférieure à 0.05 (5%), il y a moins de 5 chances sur 100 que la distribution résulte du hasard. Ainsi la différence de

distribution entre les populations de malades et de témoins pour un marqueur donné, est donc statistiquement significative et le marqueur peut être considéré comme étant associé à la maladie. Cette évaluation classique du χ^2 est possible lorsque les effectifs sont supérieurs à 5.

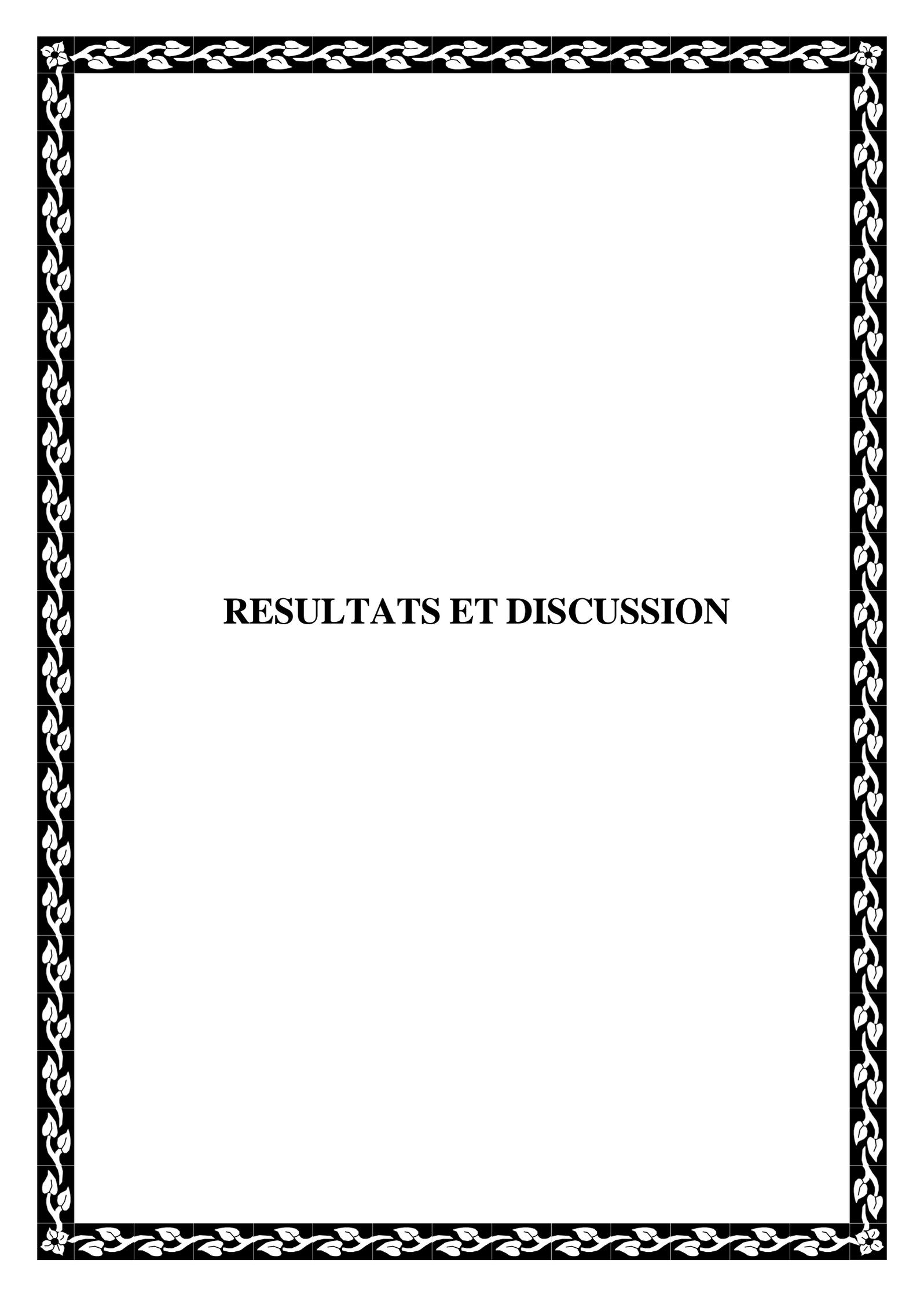
Dans le cas contraire, il est nécessaire d'utiliser un χ^2 corrigé, soit avec la correction de Yates (effectif inférieur à 5), soit la correction de Fisher (effectif inférieur à 3) (*Svejgaard A et al, 1974; Clerget-Darpoux F. et al, 1988*), ou alors la correction de Bonferroni, qui est une méthode utilisée lors de comparaisons multiples, pour ajuster le seuil de significativité (p) à un seuil de signification de $(0.05/\pi)$ où π désigne le nombre de comparaisons effectuées (*Armstrong R.A, 2014*). Dans cette étude, nous avons utilisées le logiciel IBM.SPSS version 22.0, pour évaluer le χ^2 et les odds ratios.

Odds Ratio (OR)

L'Odds Ratio (OR) est utilisé dans les enquêtes de cohorte et les études de type cas/témoins. Il permet d'apprécier l'intensité d'une association entre un marqueur et une maladie.

L'OR est une estimation du risque relatif dans le cas où il est impossible de mesurer les risque de la maladie chez les sujets exposés et non exposés (*Svejgaard et al., 1974 ; Clerget-Darpoux et al., 1988*).

L'OR est toujours supérieur au RR (Risque Relatif), mais dans les cas des maladies rares et lorsque le RR n'est pas très élevé, les deux mesures sont très voisines (*Rumeau R. et al., 1993*). L'évaluation de l'OR dans cette étude a été obtenue en utilisant le logiciel IBM.SPSS.version 22.



RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats des tests d'amplification par PCR multiplex

Les résultats du génotypage moléculaire du polymorphisme [ACE] rs4340 (I/D) réalisé par la PCR multiplex concernant le groupe des témoins, nous a permis de déterminer les trois génotypes II, ID et DD pour les 30 ADN_s amplifiés.

La lecture de l'électrophorèse des ADN_s après PCR multiplex des sujets témoins a montré les résultats suivants (**Figure 19**) :

- 26/30ADN_s des témoins présentent une seule bande d'une taille de 87pb, de ce fait les sujets portent le génotype DD.
- 04/30 ADN_s des témoins présentent deux bandes de 370pb et de 87pb, de ce fait les sujets portent le génotype ID.

La détermination du génotypage du polymorphisme I/D a été confirmée en utilisant des témoins positifs génotypés précédemment, comme les hétérozygotes ID(**Tableau 5**).

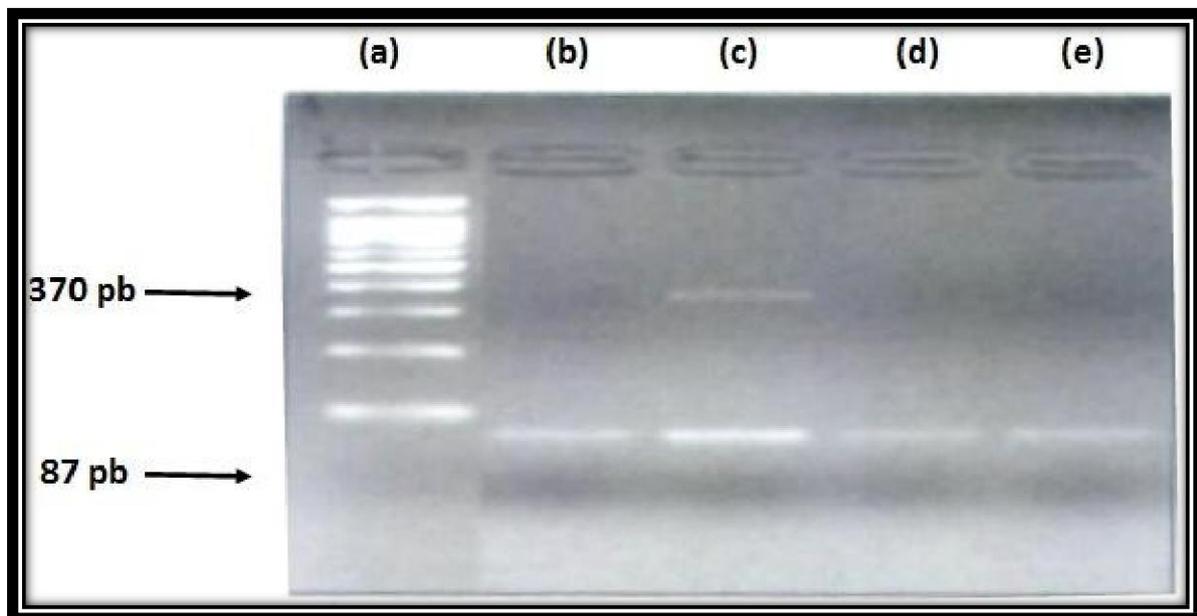


Figure 19: Exemple de résultat de génotypage des sujets étudiés.

Le puits (a): correspond au marqueur de taille 100bp(MT).
 Les puits (b, d et e): correspondent aux profils des sujets de génotype(DD).
 Le puits (c): correspond aux profil des sujets de génotype (ID).

Tableau 5: Résultats du génotypage ACE I/D des 30 échantillons de témoins

Bandes Echantillons	Génotypes	Bandes Echantillons	Génotypes
1	DD	16	DD
2	DD	17	DD
3	DD	18	DD
4	DD	19	DD
5	DD	20	DD
6	DD	21	DD
7	DD	22	DD
8	ID	23	DD
9	ID	24	DD
10	DD	25	DD
11	DD	26	DD
12	DD	27	DD
13	DD	28	DD
14	ID	29	DD
15	DD	30	ID

Fréquence de l'allèle mineur (MAF) du polymorphisme [ACE] rs4340

(I/D)

L'analyse de la distribution des fréquences alléliques de 30 sujets sains originaires de l'Ouest Algérien, nous a révélé que l'allèle insertion (I) représente l'allèle mineur avec une fréquence de 0,04 (04%). Ces résultats concernant l'allèle mineur (MAF < 50%) sont en concordance avec ceux déjà réalisés dans l'étude précédente de Dahmani où la fréquence était de 0,40 (Dahmani C.A, 2018) et également avec ceux caractérisant les populations Nord-Africaines (Meroufel D.N et al, 2014 ; Zawilla N et al, 2014 ; Motawi T.K et al, 2016 ; Fekih-Mrissa N et al, 2017 ; Hmimech W et al, 2017). La fréquence de l'allèle mineur I retrouvée dans notre étude est largement inférieure aux fréquences déjà retrouvées dans ces précédentes études, Ceci pourrait être expliqué par la taille de notre échantillon.

Impact du polymorphisme rs4340 (I/D) du gène ACE sur la susceptibilité de développer la spondylarthrite ankylosante

Il a été démontré que le taux de l'enzyme ACE circulant suivait une distribution en faveur d'une détermination génétique. Ceci a été confirmé par le fait que le polymorphisme insertion/délétion (I/D) du gène ACE peut revêtir trois formes : la forme courte (DD) qui code pour un taux élevé de l'enzyme circulante, la forme longue (II) code pour un taux plus bas et la forme hétérozygote (ID) qui code pour un taux intermédiaire (Laraqui A, 2006).

Dans la présente étude, la distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme I/D du gène de l'ACE de la population témoin de l'Ouest Algérien est en équilibre d'Hardy-Weinberg [$p = 0,75 (> 0,05)$ et $\chi^2 = 0,10 (< 3,84)$].

L'analyse de la distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme [ACE] rs4340 (I/D) entre les groupes de cas et de témoins a montré une différence statistiquement significative pour le génotype mineur insertion/insertion (II) ainsi que le génotype cumulé

ID+II (p=0,02; OR=16.65[0,86-320,61] et p=0,009 ;OR=4,54 [1,33-15,48], respectivement). Ainsi, l'analyse de la distribution de la fréquence allélique de l'allèle mineur I a révélé une différence significative entre les cas et les contrôles (p=0.0006;OR=8,21[2,01-33,43](Tableau6).

Notre étude indique que le génotype II et l'allèle mineur I du polymorphisme [ACE] rs4340 (I/D) sembleraient être associé avec la survenue de la SA dans la population de l'Ouest Algérien. Ce résultat doit être confirmé sur un échantillon plus large.

Tableau 6: Distribution génotypique et allélique du polymorphisme Insertion/Délétion (rs4340) entre les patients SA et les contrôles de l'échantillon de l'ouest Algérien

ACE I/D	Patients SA n=30(%)	Contrôles n=30(%)	Valeurs P	OR [IC 95 %]
Génotypes:				
DD	17 (57)	26 (87)	0,02	16.65 [0,86-320,61]
ID	8 (27)	4 (13)		
II	5 (16)	0 (00)		
Génotypes groupés:				
ID+II	13(43)	4 (13)	0,009	4,54 [1,33-15,48]
Allèles:				
D	38 (73)	54 (96)	0.0006	8,21 [2,01-33,43]
I	14 (27)	2 (04)		

OR : Odds Ratio ; **IC** : Intervalle de confiance ; **p-value** : signification statistique.

n = nombre,% = pourcentage.

Nos résultats ne sont pas concordants avec ceux trouvés au cours du travail de Dahmani réalisé au sein de la même population (*Dahmani C.A, 2018*). De même, l'étude d'İnal *et al*, a montré une association significative entre le génotype II et la susceptibilité de la SA ($p= 0,005$, $OR > 1$) réalisée sur 38 cas et 71 témoins Turques (*İnal E.E et al, 2016*). Cependant, des résultats controversés ont été observés dans l'étude d' Inanir *et al*, réalisée sur 122 patients et 140 contrôles Turques qui a montré, quel allèle D est l'allèle mineur et est associé à la SA ($p < 0,001$) (*Inanir A. et al. 2012*). Dans des précédentes études réalisées dans l'équipe dirigée par Pr. BOUDJEMA A. du laboratoire LGMC, USTO-MB, il a été trouvé quel allèle mineur était parfois aussi l'allèle D. Ces travaux ont montré que cet allèle pourrait jouer un rôle dans la survenue de la SA (*Bouarfa R, 2017 ; Boudali S.F et Bouhamida A, 2016*).

Ces différences dans les résultats de l'association du polymorphisme I/D du gène ACE avec la survenue de la SA dans différentes populations ou dans la même population, peuvent être expliqués par plusieurs facteurs, comme la taille de l'échantillon, ce paramètre est important car il affecte la précision du résultat plus que tout autre facteur. De plus, la distribution du facteur sexe dans les études réalisées peut affecter les résultats obtenus. Par ailleurs, on peut noter aussi l'hétérogénéité génétique des populations et aussi l'hypothèse qui suggère que le polymorphisme I/D du gène ACE est un marqueur qui n'est pas directement impliqué dans le développement de la SA, mais qu'il est en déséquilibre de liaison avec un polymorphisme fonctionnel.

Stratifications des résultats selon le statut HLA-B27

Nous avons étudié la distribution génotypique et allélique du polymorphisme [ACE] rs4340 (I/D) par rapport au statut HLA-B27 entre le groupe des cas et des témoins. Cette stratification a été réalisée pour voir si le polymorphisme (rs4340) I/D de l'ACE jouerait un rôle additif par rapport au facteur génétique majeur de prédisposition à la SA ; le HLAB27.

Les résultats sont présentés sur le (**Tableau7**). L'analyse des résultats ne montre aucune association significative concernant l'impact du polymorphisme I/D (rs4340) sur la survenue de la SA dans le groupe HLA-B27 positif ($p > 0,05$). C'est la première fois que nous avons effectué une stratification des résultats du polymorphisme ACE (I/D) selon le statut HLAB27, sur la banque de données des génotypes (I/D) [ACE] de l'équipe 2 (LGMC). Il serait intéressant de confirmer ce résultat sur un échantillon plus important et dans différentes populations. A notre connaissance, aucune autre étude publiée concernant l'association de la SA et le polymorphisme (I/D) de l'ACE n'a effectué la stratification selon le statut HLAB27.

Tableau 7: Distribution génotypique et allélique du polymorphisme ACE Insertion /Délétion (rs4340) entre les patients SA et les contrôles en fonction du statut HLA-B27.

Génotype	Absence de HLA - B27 (-)		Valeur P	OR [IC %]
	Cas	Témoin		
DD	25	10	0,002	0,94 [0,10 - 8,53]
ID	04	03		NS
II	02	00		NS
Génotype groupé ID+II	06	03		NS
Génotype groupé ID+DD	29	13	10^{-6}	0,44 [0,002 - 9,74]
Allèles D	52	21		NS
I	06	02		

OR : Odds Ratio ; **IC** : Intervalle de confiance ; **p-value** : signification statistique, **n**: nombre.

Stratifications des résultats selon le sexe

Nous avons étudié par ailleurs, les distributions génotypique et allélique du polymorphisme [ACE] rs4340 (I/D) entre les cas et les témoins dans deux groupes : femmes et hommes. Cette stratification a été réalisée pour savoir si le facteur sexe pourrait influencer la survenue de la maladie.

Nous avons comparé la distribution des fréquences génotypique et allélique du polymorphisme [ACE] rs4340 (I/D) entre le groupe des cas et témoins selon les facteurs sexe. Les résultats sont présentés sur le **Tableau 8**. En effet, la stratification selon le facteur sexe n'a montré aucune association significative entre le polymorphisme [ACE] rs4340 I/D et le développement de la SA.

Nos résultats sont discordants avec le travail déjà réalisé par Dr. DAHMANI C.A sur la même population d'étude. En effet, le travail de DAHMANI C.A a montré une association significative pour les distributions génotypique et allélique des polymorphismes [ACE] rs4340 (I/D) sur la survenue de la SA dans le groupe des femmes.

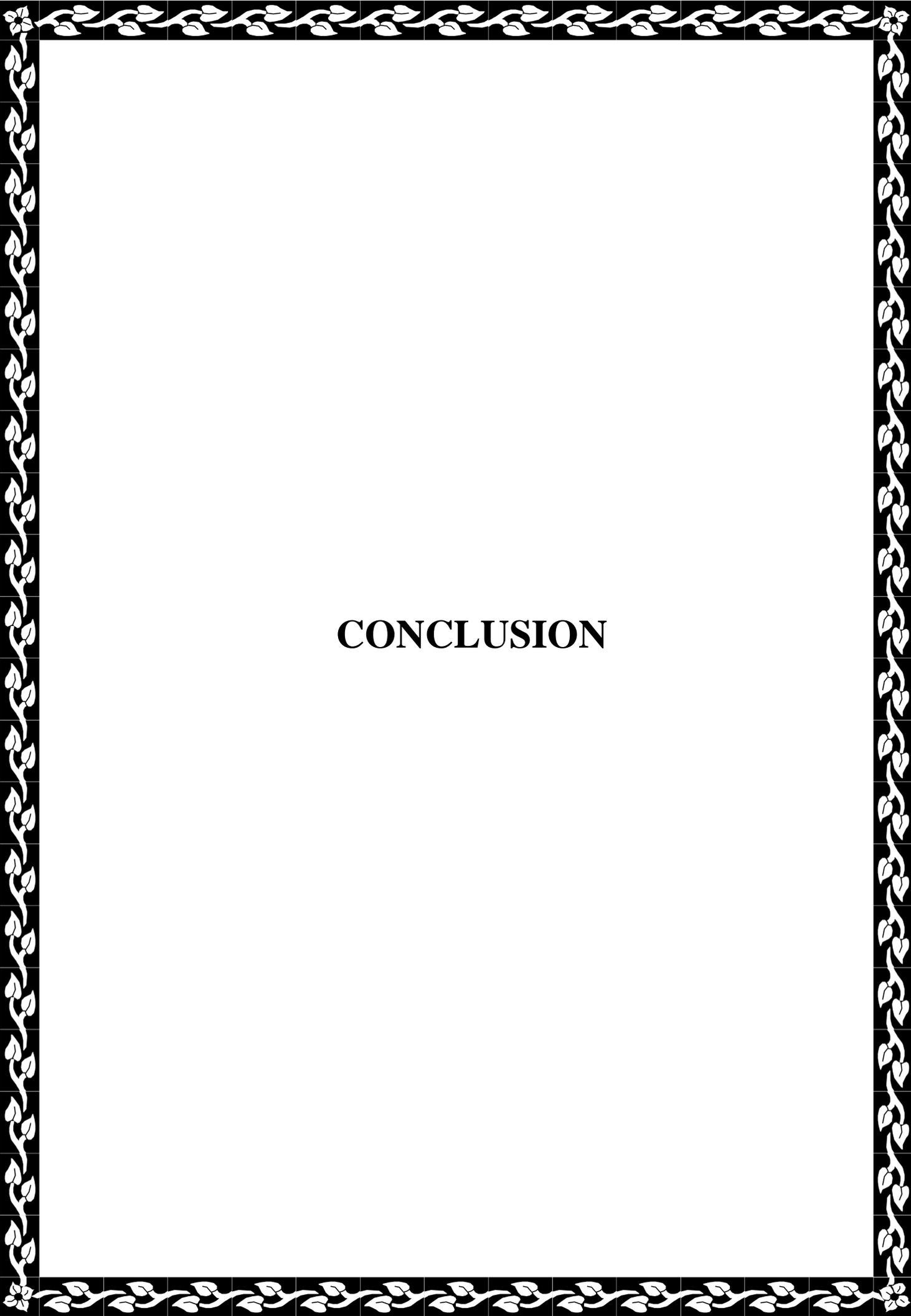
Cette différence de résultat peut être justifiée par la taille de l'échantillon exploré par DAHMANI C.A qui a génotypé 83 patients atteints de la SA et 131 contrôles, tous originaires de l'Ouest Algérien. Aussi, la répartition des femmes et hommes pris au hasard pour cette étude pourrait expliquer cette disparité de résultats. Il serait intéressant de travailler sur un échantillon plus large pour confirmer cette observation.

Par ailleurs, Aucune autre étude dans la bibliographie n'a étudié le rôle du facteur sexe concernant le polymorphisme [ACE] rs4340 I/D et le développement de la SA.

Tableau 8: Distribution des fréquences génotypique et allélique du polymorphisme ACE Insertion /Délétion (rs4340) entre les cas et témoins selon le sexe

Stratifications	Selon le facteur sexe			
	n = 30 cas / n = 30 Témoins (%)			
	Femmes		Hommes	
polymorphismes	Cas	Témoins	Cas	Témoins
DD	10(33)	21(70)	7(23)	5(17)
ID	2(7)	2(7)	6(20)	2(7)
II	1(3)	0(0)	4(13)	0(0)
ID+II	3(10)	2(7)	10(33)	2(7)
Allèles				
D	21(88)	43(98)	17 (61)	11 (92)
I	3(13)	1(3)	11 (39)	1 (08)
P value				
OR (95%)				
II	NS		NS	
ID+II	NS		NS	
I	NS		NS	

OR : Odds Ratio ; **IC** : Intervalle de confiance ; **p-value** : signification statistique **NS**: non significatif.

A decorative border with a repeating floral and leaf pattern in white on a black background, framing the page.

CONCLUSION

La spondylarthrite ankylosante (SA) est le résultat d'un ensemble de facteurs génétiques, immunitaires et environnementaux qui se croisent chez un individu donné.

Le déterminisme génétique exact de cette maladie n'a toujours pas été élucidé. Il a été démontré que la spécificité HLA-B27 joue un rôle crucial dans la survenue de la SA mais il semblerait qu'il n'est pas le seul facteur favorisant à sa survenue. Récemment, le gène ACE a suscité l'intérêt de plusieurs études d'associations avec la spondylarthrite compte tenu de son implication dans le processus inflammatoire.

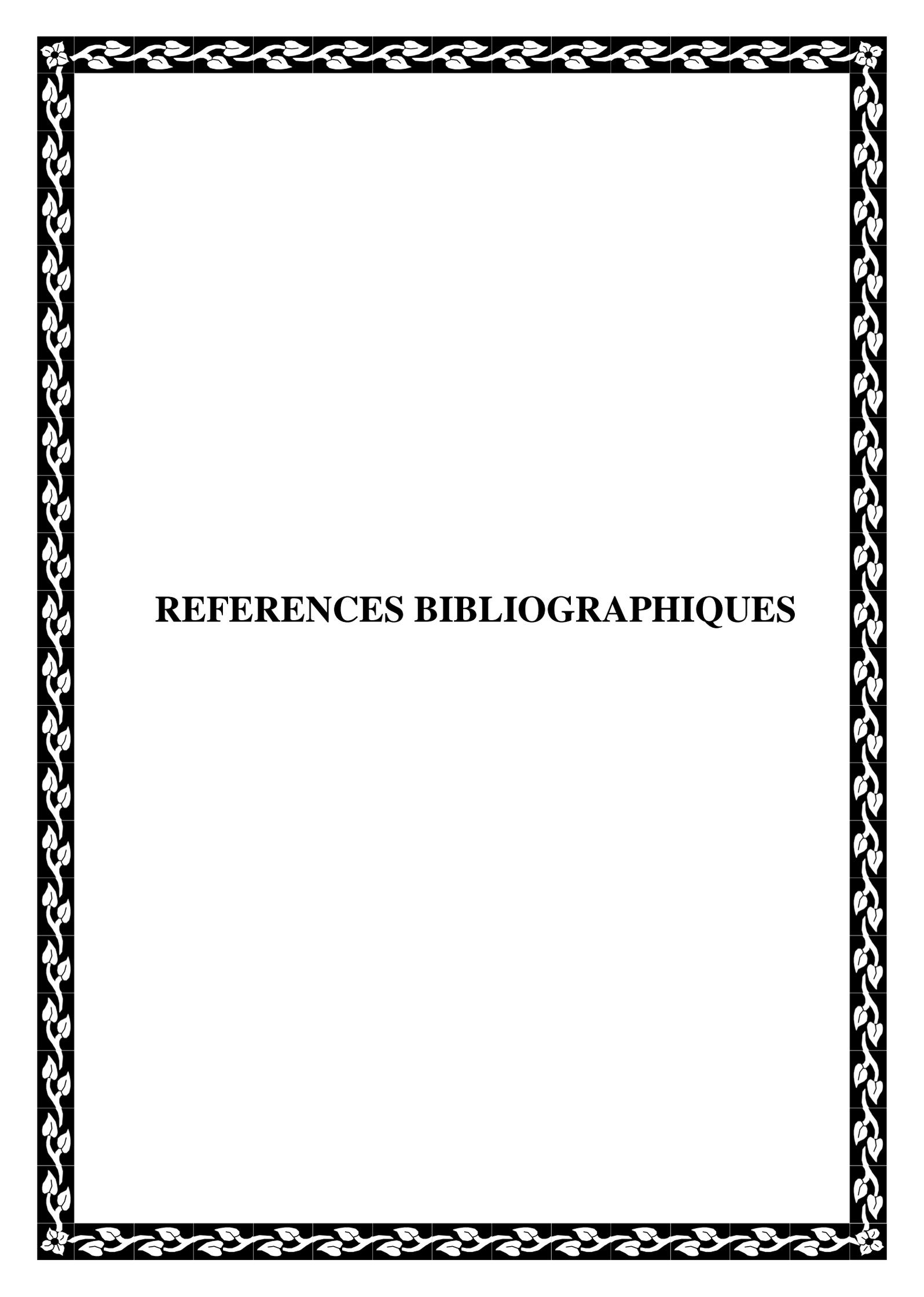
Dans ce mémoire, nous nous sommes focalisés sur la recherche d'association du polymorphisme insertion/délétion (I/D) (rs4340) du gène ACE et la survenue de la SA dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien. De plus, nous avons étudié la distribution génotypique et allélique de ce polymorphisme par rapport au statut HLA-B27 et au facteur sexe entre le groupe des cas et des témoins.

Les résultats de notre travail suggèrent que l'allèle insertion 'I' est l'allèle mineur dans la population des témoins de l'Ouest Algérie avec une fréquence de 0,04. Par ailleurs, nous avons montré une association significative entre l'allèle Ii et la survenue de la SA ($p=0,0001$; $OR=29$). Ainsi, nous avons trouvé une différence statistique significative concernant l'impact du polymorphisme I/D (rs4340) sur la survenue de la SA dans le groupe HLA-B27 négatif. En effet, le génotype DD et le génotype groupé DD+ID ont été associés au développement de la SA avec un effet protecteur ($p=0,002$; $OR=0,94[0,10-8,53]$ et $p=10^{-6}$, $OR=0,44[0,02-9,74]$ respectivement). Il serait nécessaire de confirmer nos résultats sur une plus grande population d'étude. En revanche, nous n'avons trouvé aucune association significative concernant les distributions allélique et génotypique du polymorphisme I/D (rs4340) selon le facteur sexe.

En conclusion, les résultats de ce modeste travail ont montré que le polymorphisme (I/D) (rs4340) du gène ACE semblerait avoir un effet sur le développement de la spondylarthrite dans la population de l'Ouest Algérien. Cependant, ce mémoire constitue la

base d'une étude à poursuivre et à élargir. Ainsi, les perspectives seront dans un premier temps, l'élargissement au maximum de l'échantillon. Et en deuxième temps, l'exploration d'autres polymorphismes du gène ACE ainsi que les autres polymorphismes des gènes candidats (IL23R, ERAP1, CTLA4...) dans la population Algérienne et les autres ethnies.

En raison de la fréquence de plus en plus élevée de la SA dans le monde, des retombées importantes sur le plan de la santé publique en découleront. Ainsi, la connaissance des mécanismes moléculaires impliqués dans la SA permettrait d'améliorer le diagnostic, de définir plus facilement un pronostic et de développer des traitements plus appropriés et plus efficaces par des études d'association génétique et pharmacogénétique.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Ahmed A.Z., El-Shahaly H.A., Omar A.S., Ghattas M.H., *Patterns of angiotensin converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism among an Egyptian cohort of patients with rheumatoid arthritis*. International Journal of Rheumatic Diseases, 16:3, 284 -290, 2013.

Akane A., *Hydrogen peroxide decomposes the heme compound III forensic specimens and improves the efficiency of PCR*. BioTechniques, 2:1, 392-394, 1996.

Al-Awadhi A.M., Hasan E.A., Sharma P.N., Haider Z.M., Al-Saeid K., *Angiotensin converting enzyme gene polymorphism in patients with psoriatic arthritis*. Rheumatology International 27:12, 1119-1123, 2007.

Alberts B., Bray, D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J.D., *Molecular biology of the cell*. Third edition. Library of Congress Cataloging-in-publication Data. Garland Publishing, New York, 1294 pp, 1994.

Alegre M.L., Frauwirth K.A., Thompson C.B., *T-cell regulation by CD28 and CTLA-4*. Nature Reviews Immunology 1:3, 220-228, 2001.

Amrani A., *Etude d'association entre certains polymorphismes du système rénine angiotensine aldostérone et l'hypertension artérielle au sein d'un échantillon de la population Oranaise*. Thèse de Doctorat soutenue à l'Université d'Oran 1, 2015.

Amroun H., Djoudi H., Busson M., Allat R., El Sherbini S.M., Sloma I. et al., *Early-onset ankylosing spondylitis is associated with a functional MICA polymorphism*. Human immunology 66:10, 1057-1061, 2005.

Amor B., Dougados M., Mijiyawa H., *Criteres de classification des spondylarthropathies*. Revue de Rhumatisme et Maladies Osteoarticulaires 57:2, 85–89, 1990.

Armstrong R.A., *When to use the Bonferroni correction ophthalmic and physiological optics*, 34:5, 502–508, 2014.

Astier F., *La spondylarthrite ankylosante et la place de l'immunothérapie dans son traitement*. Thèse soutenue à l'Université de Limoges, Faculté de Pharmacie, 2012.

Atagunduz P., Appel H., Kuon W., Wu P., Thiel A., Kloetzel P.M., et al., *HLA-B27-restricted CD8+ T cell response to cartilage derived self peptides in ankylosing spondylitis*. Arthritis Rheum. 52, 892-901, 2005.

B

Baeten D., De keyser F., Mielants H., Veyse M., *Ankylosing spondylitis and bowel diseases. Best practice and research clinical rheumatology*, 16:4, 537-549, 2002.

Bayram B., Sayın E., Günes H.V., Değirmenci I., Türkoğlu Z., Doganer F., Cosan D.T., *(DD) genotype of ACE gene I/D polymorphism is associated in a Turkish study population with osteoarthritis. Molecular Biology Reports* 38:3, 1713-1716, 2011.

Braun J. and Sieper J., *Ankylosing spondylitis. Lancet*, 369:9570, 379-90, 2007.

Breban M., *La spondylarthrite*, éditions John Libbey Eurotext , 223 p, 2004.

Brewerton D.A., James D.C.O., *The histocompatibility antigen (HL-A27) and disease. Seminars in Arthritis and Rheumatism* 4:3, 191-207, 1975.

Bouarfa R., *Contribution à l'étude de l'association entre le polymorphisme insertion/délétion du gène ACE et la Spondylarthrite Ankylosante dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien. Mémoire de Master, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF*, 2017.

Boudali S.F. et Bouhamida A., *Contribution à l'étude de l'association du polymorphisme Insertion/Délétion du gène de l'enzyme de conversion (ACE) avec la Spondylarthrite Ankylosante dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien. Mémoire de Master, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF*, 2016.

Bouras N., *Etude d'association entre le polymorphisme du gène MICA (met129 val) et la spondylarthrite ankylosante dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien. Mémoire de Magister, Université USTO-MB, Janvier 2010.*

Bourriaud C., *La spondylarthrite ankylosante à propos d'un cas : diagnostic, prise en charge, thérapeutiques et évolution de la pathologie au cours d'une vie. Thèse soutenue à l'Université de Poitiers, Faculté de Médecine et de Pharmacie*, 2014.

Boussouf F.Z., Benferhat G., *Etude de l'association du polymorphisme Insertion/Délétion du gène de l'enzyme de conversion (ACE) avec la spondylarthrite ankylosante dans un échantillon de la population de l'Ouest Algérien. Mémoire de Master, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran, Mohamed BOUDIAF*, 2019.

Budowle B., Chakraborty R., Giusti A.M., Eisenberg A.J., Allen R.C., *Analysis of the VNTR locus DIS80 by the PCR followed by high-resolution PAGE. Am. J. Hum. Genet.* 48, 137-144, 1991.

C

- Calin A., Elswood J., Rigg S., Skevington S.M., *Ankylosing spondylitis-An analytical review of 1500 patients: the changing pattern of disease*. J. Rheumatol. 15, 1234-8, 1988.
- Cambien F., Sourbier F., *The angiotensin-converting enzyme: molecular biology and implication of the gene polymorphism in cardiovascular diseases Hypertension*. Pathophysiology, Diagnostics and Management, Second Edition 3, 250 -258, 1995.
- Carrano A.V., Lamerdin J., Ashworth L.K. et al., *A high-resolution, fluorescence-based, semiautomated method for DNA fingerprinting*. Genomics 4, 129-136, 1989.
- Chalghouma Y., Noichria Z., Gammoudia H., Chaheda A., Dandanaa S., et al., *Activity of angiotensin I converting enzyme and hyperhomocysteinemia in Tunisian patients with coronary disease*. Immuno-analyse & Biologie spécialisée 2:5, 185-190, 2010.
- Chen B., Li J., He C., Li D., Tong W., Zou Y., Xu W., *Role of HLA-B27 in the pathogenesis of ankylosing spondylitis*. Molecular Medicine Reports. 15:4, 1943-1951, 2017.
- Chen L., Ridley A., Hammitzsch A., Al-Mossawi M.H., Bunting H., Georgiadis D., Chan A., Kollnberger S., *Silencing or inhibition of endoplasmic reticulum aminopeptidase 1(ERAP1) suppresses free heavy chain expression and Th17 responses in ankylosingspondylitis*. Annals of Rheumatology Diseases, 75:5, 916-923, 2016.
- Claudepierre, P. and Voisin M.C., *The entheses: histology, pathology, and pathophysiology*. Joint Bone Spine, 72:1, 32-7, 2005.
- Claudepierre P., *Thermalisme dans la spondylarthrite ankylosante : encore d'actualité ?*, Revue du Rhumatisme, éditorial, vol. 72, 597- 600, 2005.
- Claudepierre P., Wendling D., Breban M., Goupille P., Dougados M., *Spondylarthrite ankylosante, spondylarthropathies, spondylarthrite(s) ou spondyloarthrites: de quoi parlons-nous ou comment mieux se comprendre?* Revue de rhumatisme 79, 377-378, 2012.
- Clerget-Darpoux F., Babron M.C., Prum B., Lathrop G.M., Deschamps I., Hors J., *A new method to test genetic models in HLA associated diseases: the MASC method*, Annals of Human Genetics, 52, 247-58, 1988.
- Comey C.T., Koons B.W., Presley K.W., Smerick I.B., Sobieralski C.A., Stanley D.M., Baechtel F.S., *DNA extraction strategies for amplified fragment length polymorphism analysis*. Forensic Sci. 39, 1254 -1269, 1994.
- Coto-Segura P., Alvarez V., Soto-Sánchez J., Morales B., Coto E., Santos-Juanes J., *Lack of association between Angiotensin I-Converting enzyme Insertion/Deletion polymorphism and psoriasis or psoriatic arthritis in Spain*. International Journal of Dermatology. 48:12, 1320-1323, 2009.

Cui X., Hawari F., Alsaaty S., Lawrence M., Combs C.A., Geng W., Rouhani F.N., Miskinis D., Levine S.J., *Identification of ARTS-1 as a novel TNFR1-binding protein that promotes TNFR1 ectodomain shedding*. J. Clin. Invest., 110, 515 - 526, 2002.

Cui X., Rouhani F.N., Hawari F., Levine S.J., *Shedding of the type II IL-1 decoy receptor requires a multifunctional aminopeptidase, aminopeptidase regulator of TNF receptor type I shedding*. J. Immunol., 171, 6814 - 6819, 2003.

D

Dahmani C.A., *Contribution à l'étude immunogénétique de la spondylarthrite ankylosante dans l'Ouest Algérien par l'exploration de polymorphismes nucléotidiques simples et de variations de nombre de copies*. Thèse de doctorat, Université des Sciences et de la Technologie, Mohamed Boudiaf (USTO-MB), 2018.

Daneo V., Migone N., Modena V., Bianchi S.D., Alfieri G., Diotallevi P., Carbonara A.O. et al., *Family studies and HLA typing in ankylosing spondylitis and sacroiliitis*. The Journal of Rheumatology. Supplement 3:5, 1-10, 1977.

Danser A.H., *Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions*. The International Journal of Biochemistry Cell Biology, 35: 6, 759-68, 2003.

Davis J.C., *Understanding the role of tumor necrosis factor inhibition in ankylosing spondylitis*. Semin.. Arthritis Rheum., 34 : 4, 668-77, 2005.

Del Rio S.A., Marino M.A., Belgrader P., *PCR-Based human leukocyte antigen (HLA) DQ alpha typing blood stained light and dark blue denim fabric*. J. Forensic Sei. 41 , 490-492, 1996.

Diall AA., *Etude des aspects pharmaco-épidémiologiques des inhibiteurs de l'enzyme de cinversion au CHU du point G*. Doctorat à l'Université de BAMAKO, 2011.

Dimo-simonin N., Grang F. and Brandt-Casadevall,C., *PCR-Based forensic testing of DNA from stained cytological smears*, J. Forensic Sei. 42, 506-509, 1997.

Dougados M., Van der Linden S., Juhlin R. et al., *The European Spondylarthropathy Study Group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy*. Arthritis. Rheum. 34,1218-1227, 1991.

Dougados M. , *Spondylarthrite en 100 questions*, Edition NHA Communication, 2001.

E

Edwards A., Civitello A., Hammond H.A., Caskey C.T., *DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats*. Am. J. Hum. Genet. 49,746 -756, 1991.

Eguchi S., Inagami T., *Signal transduction of angiotensin II type 1 receptor through receptor tyrosine kinase*. Regulatory peptides, 91(1-3), 13-20, 2000.

Evans, G.A., *Physical mapping of the human genome by pulsed field gel analysis*. Curr. Opin. Genet. Dev. 1,75-81, 1991.

F

Fekih-Mrissa N., Bedoui I., Sayeh A., Derbali H., Mrad M., Mrissa R., Nsiri B., *Association between an angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and Alzheimer's disease in a Tunisian population*. Annals of General Psychiatry, 16:41, 2017.

Feldtkeller E., Bruckel J., Khan M.A., *Scientific contributions of ankylosing spondylitis patient advocacy groups*. Curr. Opin. Rheumatol. 1:2, 239-247, 2000.

Fiorillo M.T., Maragno M., Butler R., Dupuis M.L., Sorrentino R., *CD8+ T-cell autoreactivity to an HLA-B27-restricted selfpeptide correlates with ankylosing spondylitis*. J. Clin. Invest. 106,47-53, 2000.

Frégeau C.J., Fourney R.M., *DNA typing with fluorescently tagged short tandem repeats: A sensitive and accurate approach to human identification*. BioTechniques 15,100-119, 1993.

G

Goodfriend T.L., Elliott M.E., Catt K.J., *Angiotensin receptors and their antagonists*. N. Engl J. 334:25,1649-1654, 1996.

H

Hagelberg E., Sykes B., Hedges R., *Ancient bone DNA amplified*. Nature 342, 485, 1990.

Hammer G., Kanaseki T., Shastri N., *The final touches make perfect the peptide-MHC class I repertoire*. Immunity 26, 397-406, 2007.

Hardy G.H., *Mendelian proportions in a mixed population*, Science 28:706, 49-50,1908.

Hersh A.H., Stecher R.M., Solomon W.M., Wolpaw R., Hauser H., *Heredity in ankylosing spondylitis; A study of fifty families*. Journal of Human Genetics. 2:4, 391- 408, 1950.

Higuchi R., *Simple and Rapid Preparation of Sample for PCR*. In: Erlich HA editor. PCR Technology: Principles and applications. New York, Stockton Press, pp 31-38, 1989.

Hmimech W., Idrissi H.H., Diakite B., Korchi F., Baghdadi D., Tahri Joutey Hassani Idrissi H. et al., *Impact of I/D polymorphism of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene on myocardial infarction susceptibility among young Moroccan patients*. BioMed. Central Research Notes,10:1,763, 2017.

Hochmeister M.N., Budowle B., Borer U.V., Eggmann U., Comey C.T., Dirnhofer R., *Typing of DNA extracted from compact bone tissue from human remains*. J. Forensic Sci. 36, 1649-1661, 1991.

Hubert C., Houot A.M., Corvol P., Soubrier F., *Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene*. J. Biol. Chem. 266:23,15377-83,1991.

I

İnal E.E., Görükmez O., Eroğlu S., Görükmez Ö., Solak Ö., Topak A., Yakut T., *Association of GSTM1, GSTT1, GSTP1-ILE105VAL and ACE I/D polymorphisms with ankylosing spondylitis*. Rheumatology international. 36:1,17–23, 2016.

Inanır A., Yigit S., Tural S., Ozturk S.D., Akkanet S., Habiboğlu A., *Significant association between insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and ankylosing spondylitis*. Molecular Vision.18,2107-2113, 2012.

J

Jandus C., Bioley G., Rivals J.P., *Increased numbers of circulating polyfunctional Th17 memory cells in patients with seronegative spondylarthritides*. Arthritis Rheum. 58, 2307-2317, 2008.

Jarvinen P., *Occurrence of ankylosing spondylitis in a nation wide series of twins*. Arthritis & Rheumatism. 38:3, 381-383, 1995.

Jung J.M., Comey C.T., Baer D.B., Budowl, B., *Extraction strategy for obtaining DNA from blood stains for PCR amplification and typing of the HLA-DQa gene.* Int. J Leg. Med. 104, 145-148, 1991.

K

Kellgren J.H., *Diagnostic criteria for population studies,* Bull. Rheum. Dis.,13,291-292, 1962.

Khan M.A., *HLA-B27 and its subtypes in world populations.* Curr. Opin. Rheumatol.7: 263-269,1995.

Kimpton C.P., Gill, P., Walton A., Urquhart A., Millican E.S., Adams M. , *Automated DNA profiling employing multiplex amplification of Short Tandem Repeat loci.* PCR Meth. Appl. 3, 13-22, 1993.

Koblinsky L., *Recovery and stability of DNA samples of forensic science significance.* Forensic Science Rev. 4, 67-87,1992.

L

Laraqui A. , *Etude des facteurs métaboliques et polymorphismes génétiques prédisposant à la survenue de l'athérosclérose coronaire.*Thèse de doctorat, Université Mohammed V-Agdal ,Rabat, 2006.

Lin S.Y, Goodfriend T., *Angiotensin receptors.* American Journal of Physiology-Legacy Content, 218:5,1319-1328,1970.

Lindpaintner K., Pfeffer M.A., Kreutz R.E., Stampfer M.J., Grodstein F., Lamotte F. et al., *A prospective evaluation of an angiotensin-converting–enzyme gene polymorphism and the risk of Ischemic Heart Disease.* The New England journal of Medicine 332:11,706-711,1995.

Lories, R.J. and F.P. Luyten, *Bone morphogenetic protein signaling and arthritis.* Cytokine Growth Factor Rev, 20:5-6, 467-73, 2009.

M

Mahi F., *Epidemiologie des facteurs de risque de l'infarctus du myocarde à Tlemcen*. Mémoire de Master soutenu à l'Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen, 2014.

Mansour M., Cheema G.S., Naguwa S.M., Greenspan A., Borchers A.T, Keen C.L. et al., *Ankylosing spondylitis: a contemporary perspective on diagnosis and treatment*. Semin. Arthritis Rheum. 36:4, 210-223, 2007.

Marchesi C., Paradis P., Schiffrin E.L., *Rôle du système rénine – angiotensine dans l'inflammation vasculaire*. Trends Pharmacological Sciences, 29,367-374, 2008.

Mattei M.G., Hubert C., Alhenc-Gelas F., Roecke N., Corvol P. and Soubrier F., *Angiotensin I converting enzyme gene is on chromosome 17*. Cytogenet. Cell. Genet. 51:1041,1989.

Meroufel D.N., Mediene-Benchekor S., Dumont J., Benhamamouch S., Amouyel P., Brousseau T., *A study on the polymorphisms of the renin-angiotensin system pathway genes for their effect on blood pressure levels in males from Algeria*. Journal of Renin Angiotensin Aldosterone System. 15:1,1-6, 2014.

Michel J.B., *Système rénine-angiotensine et remodelage vasculaire*. Medecine / sciences, 20:4 ,409-13, 2004.

Michel J.B., Feron O., Sacks D., Michel T.,*Reciprocal regulation of endothelial nitric-oxide synthase by Ca²⁺-calmodulin and caveolin*. J. Biol. Chem. 272:25,15583-6, 1997.

Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F., *A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells*. Nucleic acids research 16:3, 12-15, 1988.

Motawi T.K., Shaker O.G., Shahin N.N., Ahmed N.M., *Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism association with obesity and some related disorders in Egyptian females: a case-control observational study*. Nutrition & Metabolism, London, 13: 68, 2016.

Mullis K.B., *The polymerase chain reaction in an anemic mode: how to avoid cold oligodeoxyribonuclear fusion*. PCR Methods and Applications.1:1,1-4, 1991.

Mullis K.B., Faloona F., Scharf S., Saiki R., Horn G. and Erlich, H., *Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction*. 1986. Biotechnol. Read. Mass. 2:4, 17-27, 1987.

O

Oparil S. and Haber E., *The renin-angiotensin system (first of two parts)*. N. Engl J. Med 291(8): 389-401,1974.

Oward T.E., Shai S.Y., Langford K.G., Martin B.M., Bernstein K.E., *Transcription of testicular angiotensin converting enzyme (ACE) is initiated within the 12th intron of the somatic ACE gene*. Molecular and Cellular Biology 10:8, 4294-4302, 1990.

R

Rebaï M., Kharrat N., Ayadi I., Rebaï A., *Haplotype structure of five SNPs within the ACE gene in the Tunisian population*. Ann. Hum. Biol. 33:3, 319-329, 2006.

Rieder M.J., Taylor S.L., Clark A.G., Nickerson D.A., *Sequence variation in the human angiotensin converting enzyme*. Nat. Genet. 22:1, 59-62, 1999.

Rihl M., Zeidler H., *The molecular pathogenesis of Chlamydia-induced arthritis: Where do we stand?*. Current Rheumatology Reports. 9:1, 4-5, 2007.

S

Saito Y., Berk B.C., *Transactivation: a novel signaling pathway from angiotensin II to tyrosine kinase receptors*. Journal of molecular and cellular cardiology, 33:1, 3-7, 2001.

Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G., Erlich H.A and Arnheim N., *Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia*. Science 230,1350-1354, 1985.

Samson M. et al., *T(H)17 lymphocytes: induction, phenotype, functions and implications in human disease and therapeutic*. Rev. Med. Interne, 32:5, 292-301, 2010.

Saraux A. *Epidémiologie des maladies rhumatismales en France*. La revue du Rhumatisme 7:4 , 9-11, 2007.

Saraux A., Guillemin F., Fardellone P., Fautrel B., Masson C., et al., *Prevalence of spondylarthropathies in France*. Ann. Rheum. Dis. 6:2, 90-91, 2003.

- Schett G. and Rudwaleit M., *Can we stop progression of ankylosing spondylitis?* Best Pract. Res. Clin. Rheumatol., 24:3, p.363-71, 2010.
- Schwartz L.S., Tarleton J., Popvich B., Seltzer W.K., Hoffman E.P., *Fluorescent multiplex linkage analysis and carrier detection for Duchenne/Becker dystrophy.* Am.J.Hum.Genet. 51, 721-729,1992.
- Schumm J.W., Lins A.M., Sprecher C.J. and Micka K.A., *High throughput systems for analysis of STR loci.* In Proceedings from the 6th International Symposium on Human Identification. Scottsdale, Az, 1995.
- Serwold T., Gonzalez F., Kim J., Jacob R., Shastri N., *ERAAP customizes peptides for MHC class I molecules in the endoplasmic reticulum.* Nature 4:19, 480-483, 2002.
- Shehab D.K., Al-Jarallah K.F., Al-Awadhi A.M., Al-Herz A., Nahar I., Haider M.Z., *Association of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene insertion-deletion polymorphism with spondyloarthropathies.* Journal of Biomedical Science. 15:1, 61–67, 2008.
- Sibilia J., Pham T., Sordet C., Jaulhac B., Claudepierre P. *Rheumatoid spondylitis and other spondylarthropathies.* EMC-Medecine 2:5, 488-511, 2005.
- Sieper J., Rudwaleit M., Khan M.A., Braun J. *Concepts and epidemiology of spondyloarthritis.* Best Pract. Res. Clin. Rheumatol. 20:3, 401- 417, 2006.
- Sieper J., Braun J., Rudwaleit M., Boonen A., Zink A., *Ankylosing spondylitis: an overview.* Ann. Rheum. Dis. 61: 8-18,2002.
- Silveira K.D., Coelho F.M., Vieira A.T., Barroso L.C., Queiroz-Junior C.M., Costa V.V.,Teixeira M.M. et al., *Mechanisms of the anti- inflammatory actions of the angiotensin type 1 receptor antagonist losartan in experimental models of arthritis Peptides, 4:6, 53–63, 2013.*
- Skorzewski E., *La spondylarthrite ankylosante: traitements actuels et prise en charge globale des patients,* Université Henri Poincaré, Nancy 1, Faculté de Pharmacie, 2010.
- Smith J.A., Marker-Hermann E. and Colbert R.A., *Pathogenesis of ankylosing spondylitis: current concepts.* Best Pract. Res. Clin. Rheumatol., 20:3, 571-91, 2006.
- Sorescu D., Weiss D., Lassègue B., Clempus R.E., Szöcs K., Sorescu G.P.et al., *Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis.* Circulation, 105:12, 1429–1435, 2002.
- Southern E.M., *Gel electrophoresis of restriction fragment.* Methods Enzymol., 68, 152-176, 1979.
- Sullivan K.M., Pope S., Gill P., Robertson J.M., *Automated DNA profiling by fluorescent labeling of PCR products.* PCR Methods Appl. 2, 34-40, 1992.

Svejgaard A., Nielsen L.S., Svejgaard E., Nielsen F.K., Hjortshoj A., Zachariae H., *HLA in psoriasis vulgaris and in pustular psoriasis , population and family studies. British Journal of Dermatology, 9,145-53, 1974.*

T

Taurog J.D., Maika S.D., Satumtira N., Dorris M.L., McLean I.L., Yanagisawa H., Sayad A., *Inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. Immunological reviews,169,209-923,1999.*

Toussirot E., *Des spondylarthropathies aux spondyloarthrites: vers une nouvelle dénomination pour un diagnostic précoce et de nouvelles indications thérapeutiques? La revue de médecine interne 34,661-666, 2013.*

Toussirot, E. and Wendling D., *The immunogenetics of ankylosing spondylitis. Rev. Med. Interne, 27:10, p.762-71, 2006.*

U

Uppal S.S., Haider M.Z., Hayat S.J., Abraham M., Sukumaran J., Dhaunsi G.S., *Significant association of insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene with rheumatoid arthritis. The Journal of Rheumatology. 34:12, 2395-2399, 2007.*

V

Van der Linden S., Valkenburg H.A., Cats A., *Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria, Arthritis Rheum n°27,361–368, 1984.*

Van der Merwe P.A., Bodian D.L., Daenke S., Linsley P., Davis S.J., *CD80 (B7-1) binds both CD28 and CTLA-4 with a low affinity and very fast kinetics. Journal of Experimental Medicine ,185(3),393–403, 1997.*

Veale D., Yanni G., Bresnihan B., FitzGerald O., *Production of angiotensin converting enzyme by rheumatoid synovial membrane. Annals of the Rheumatic Diseases, 51(4), 476–480, 1992.*

Végvári A., Szabó Z., Szántó S., Glant T.T., Mikecz K., Szekanecz Z., *The genetic background of ankylosing spondylitis. Joint Bone Spine. 76:6, 623-628, 2009.*

W

Walsh D.A., Suzuki T., Knock G.A., Blake D.R., Polak J.M., Wharton J. , *AT1 receptor characteristics of angiotensin analogue binding in human synovium*. British Journal of Pharmacology. 112:2 , 435-442, 1994.

Wendling D., *Spondylarthrite ankylosante in: appareil locomoteur*. Paris, encyclopédie médicochirurgicale 14 -230-A-10,14p, 1998.

Wendling D., Cedoz J.P., Racadot E., *Serum IL-17, BMP-7 and bone turnover markers in patients with ankylosing spondylitis*. Joint Bone Spine, 74, 304-305, 2007.

Y

Yan J., Parekh V., Mendez-Fernandez Y., Olivares-Villagomez D., Dragovic S., Hill T., Roopenian C., Joyce S., Van Kaer L., *In vivo role of ER-associated peptidase activity in tailoring peptides for presentation by MHC class Ia and class Ib molecules*. J. Exp. Med., 203, 647-659, 2006.

Yigit S., Inanir A., Tural S., Ates O., *Association of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Gene I/D Polymorphism and Rheumatoid Arthritis*. Gene. 511:1, 106 - 108, 2012.

Z

Zawilla N., Shaker D., Abdelaal A., Aref W., *Angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and hypertension in occupational noise exposure in Egypt*. International Journal of Occupational Environmental Health. 20:3,194-206, 2014.

Zhang S., Li Y., Xu X., Feng X., Yang D., Lin G., *Effect of cigarette smoking and alcohol consumption on disease activity and physical functioning in ankylosing spondylitis: a cross-sectional study*. International Journal of Clinical and Experimental Medicine. 8:8, 13919-13927, 2015.

Zhao S., Duffield S.J., Moots R.J., Goodson N.J., *Systematic review of association between vitamin D levels and susceptibility and disease activity of ankylosing spondylitis*. Rheumatology, 53:9, 1595-1603, 2014.

Ziegle J.S., Su Y., Corcoran K.P., Nie P.E., Mayrand L.B., Hoff L.H., McBride M.N. et al., *Application of automated DNA sizing technology for genotyping microsatellite loci*. Genomics 14, 1026-1031,1992.