

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة امحمد بوقرة بومرداس
Université M'hamed Bougara de Boumerdès



Faculté des Sciences
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : **Sciences de la Nature et de la Vie**

Filière : **Sciences biologiques**

Spécialité : **Génétique**

**Thème : étude des polymorphismes de quelques gènes qui influencent
l'expression de l'interféron type I dans la pathogénèse du Lupus
érythémateux**

Présenté par :

SMAIL Ahlam

AYACHI Bouchra Celina

Soutenu le : 15/12/2021, devant le jury :

Président	Ben Mouloud Abdelouafi	MCB (UMBB)
Promoteur	Messaoudene Djamel	MCB (UMBB)
Examinatrice	Boukercha Aziza	MCB (UMBB)

2020-2021

Remerciements

Au tout puissant Allah pour nous avoir donné la santé, la volonté, la force, et le courage de mener ce travail à bien. A l'issue de ce travail, nous voudrions adresser notre profonde reconnaissance et nos sincères remerciements à Mr Messaouedene de nous avoir fait l'honneur de nous encadrer. Merci à vous d'avoir accepté de diriger ce travail. Merci pour votre perfectionnisme, soutien, disponibilité, et gentillesse . Merci pour votre sympathie et d'avoir partagé vos compétences avec nous tout au long de ce travail.

Remerciement

On remercie l'ensemble des membres du jury, qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir examiner notre travail et de nous avoir accordé de leurs temps précieux.

On voudrait exprimer notre gratitude à Mr Ben Mouloud A. qui nous a fait l'honneur en acceptant de présider le jury et à Mme Boukercha A. pour avoir eu l'amabilité de nous consacrer de son temps et examiné notre travail.

Remerciement

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.

Un grand merci à mes plus que camarades Lynda, Affaf, Hanene, Ouahiba, Ferial, Safia, Sarah.

Je remercie également mon binôme SMAIL Ahlem pour son sérieux et sa compréhension et surtout pour les discussions enrichissantes qu'on partagées.

Maman, ma vie merci pour tout ton amour, tu es toujours prête à tout donner pour moi. Tu es la plus courageuse que j'ai connue et de loin la plus généreuse.

Merci pour le père que tu as été quand j'étais petite. Et merci d'être le père que tu es pour moi aujourd'hui. Merci pour ta gentillesse, ton soutien, ton humour et ton originalité, qui ont toujours été là pour moi. Je remercie ma sœur Anaïs, et mes frères Zinou et Walid, pour leurs encouragements.

Je remercie mon mari Mohamed ton amour m'a donné de la force dans les moments difficiles de ma vie et je t'en remercie profondément d'avoir rempli ma vie d'une joie et d'un amour radieux merci pour ton encouragement et ta bien vaillance et ta patience avec moi lors des moments où j'ai perdu contrôle et je remercie aussi ma belle-famille.

Un très grand merci et un très bel avenir avec plein de bonheur à mes enfants Ibrahim et Eline qui m'ont pas du tout aidé mais que je les aime tellement.

Un merci spécial à ma meilleure amie Louisa pour son amour, sa patience et sa bienveillance.

Je voudrais remercier mes tantes surtout ma tante Nawel et son mari Malek et mes oncles de la famille Hammeche pour leurs mots d'encouragement et leur gentillesse.

Je voudrais exprimer ma gratitude à ma grande mère qui m'a toujours soutenu, tu es ma deuxième maman, j'ai vécu avec toi tant d'années, ces années étaient les plus belles de ma vie je t'aime profondément.

Remerciement

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail :

Particulièrement, à la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, maman que j'adore, tu m'as donné la vie, l'amour, la tendresse et le courage pour réussir et pour avancer pendant mes études. Tout ce que je peux t'offrir ne pourra pas exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte. Que dieu te protège et te garde pour nous.

A mon homme, à mon précieux, l'offre de dieu, mon soutien moral et source de joie et de bonheur l'épaule solide, celui qui s'est sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père. Aucun dédicace ne pourrait exprimer mes sentiments, que dieu te préserve et te procure la santé et la longue vie.

A l'homme de ma vie ,ma force ,mon bonheur ,ma joie ,mon soutien ,mon mari ,tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu, je prie dieu le tout puissant de préserver notre attachement mutuel, et d'exaucer tous nos rêves.

A ma Sœur Sarah Aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma gratitude de t'avoir comme sœur. Je ne pourrais jamais imaginer la vie sans toi, tu comptes énormément pour moi, tu es la sœur qui assure sone rôle comme il faut, je t'estime beaucoup et je t'aime beaucoup. Je te souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur.

A mon frère Ahmed, Ces quelques lignes, ne sauraient traduire le profond amour que je te porte. Ta bonté, ton précieux soutien, ton encouragement tout au long de mes années d'étude, ton amour et ton affection, ont été pour moi l'exemple de persévérance.

Liste des abréviations

ACPA : analyse chromosomique sur puce à ADN.

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

ADNs : courtes séquences d'ADN.

ADNc : ADN complémentaire.

ANA : anticorps antinucléaires.

Anti-ADNdb : anti-Acide DésoxyriboNucléique double brin.

Anti-DNA : anticorps que l'on retrouve dans le lupus érythémateux systémique.

Anti-ds DNA: anticorps marqueurs spécifique du lupus érythémateux.

Anti-SSA / Anti-SSB / Anti-Ro: anticorps reconnaissant des polypeptides fixés sur des petits ARN.

Anti-RBP: anti-ARN-Binding Proteine.

ARN : Acide Ribo Nucléique.

ARN m : Acide Ribo Nucléique messenger.

APRIL : taux sérique d'un ligand inducteur de prolifération (serum levels of a proliferation-inducing ligand).

BLyS : Cytokine essentiel pour la survie des lymphocyte B.

CD : cellule dendritique.

CD 40 : molécule de co-stimulation.

CD 86 : molécule de co-stimulation.

CGH: puce d'hybridation génomique comparative.

CMV : Le cytomégalovirus.

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité.

C1q : unité de reconnaissance de la voie classique.

CTLA-4 : gène d'activation lymphocytaire.

DMSO : diméthylsulfoxyde

DNA PK : Sous-unité catalytique de protéine kinase dépendante de l'ADN (DNA-dependent protein kinase catalytic subunit).

Dnase : désoxyribonucléase, enzyme clivant les acides désoxyribonucléique en nucléotides ou polynucléotides.

dNTP : désoxyribonucléoside triphosphate.

DSB : récepteur double brin.

EBV : Epstein-Barrvirus.

fas: gène de l'apoptose.

GWAS : association pangénomique.

HLA : système de l'Human Leucocyte Antigen.

IFHI1: Le gène du domaine 1 de l'hélicase C induit par l'interféron.

IFNAR: récepteur de l'interferon alpha.

IL-4 : interleukine 4.

IL-6 : interleukine 6.

IL-10 : interleukine 10.

INF : interferon.

INF-I :interféron type I.

INF-II : interféron type II.

INF-III: interferon type III.

INF- α : interferon alpha.

INF- β : interferon béta.

INF- λ :interferon lambda.

INF- γ : interferon gamma.

IRAK: kinase associé au récepteur de l'interleukine 1.

IRAK1-MECP2: protéines interagissantes impliquée dans l'inflammation.

IRF-5 :Facteur de Regulation des Interferons codé par le gène *INF5* (INF-regulatory factor 5).

Jak1: januse kinase 1.

LB: lymphocyte B.

LD : déséquilibre de liaison.

LED : Lupus érythémateux disséminé.

LES : lupus érythémateux systémique.

LIG4: gène de réparation de l'ADN.

LOH: perte de l'hétérozygotie (loss of heterozygosity).

LT: lymphocyte T.

MBP : Mannose Binding Proteine .

MECP2: methyl-CpG-binding protéine 2.

M-MLV : Moloney murine Leukimia Virus.

NFkB : facteur nucléaire kB.

NHEJ : Assemblage d'extrémités non homologues (Non Homologous End Joining).

OR : odds ratio

PARP : poly-ADP-ribose polymérase.

PBMC : Cellules mononuclées du sang périphériques.

PCR : réaction en chaîne par polymérase (polymérase chain reaction).

pDC : cellules dendritiques plasmacytoïde.

PTPN22 :gène qui code pour la tyrosine-protéine phosphatase non-récepteur de type 22.

PHRF1 : PHD And Ring Finger Domains 1.

RAD 52 : gène de réparation de l'ADN.

RBP : liaison anti-ARN.

ROH : région d'homozygotie (region of homozygosity).

RT-PCR : Transcription Inverse de la Réaction en Chaîne par Polymérase

(Reverse transcription polymerase chain reaction).

STAT1 : transducteur de signal et activateur de transcription 1 (signal transducer and activator of transcription 1).

STAT2 : transducteur de signal et activateur de transcription 2 (signal transducer and activator of transcription 2).

STAT4 : gène qui code pour le transducteur de signal et activateur de la protéine de transcription 4.

STK17A : gène de réparation de l'ADN.

SNP : Single Nucléotide Polymorphisme.

TCR : récepteur des cellules T.

Th1: (T helper 1).

TNF : facteurs de nécrose tumorale.

TLRrs: toll like recepteurs.

TREX1 : gène qui code pour l'exonucléase de réparation 3'1.

Tyk 2: tyrosine kinase 2.

VNC: variation du nombre de copie.

Voie de (JAK/STAT): système de transduction de signal composé d'un récepteur transmembranaire couplé à une enzyme januse kinase et une protéine de type STAT.

XRCC1,3,4 : gènes de complémentation croisée de réparation de l'ADN par rayon X.

Liste des figures

Figure.1 Manifestations dermatologique du Lupus Erythémateux systémique	7
Figure.2 Implication de l'immunité innée dans la physiopathologie du lupus	22
Figure. 3 une spirale de progression de la maladie lupique qui implique plusieurs facteurs. .	23
Figure 4 : Récapitulation de physiopathologie du lupus systémique	32
Figure 5. Rôle des cellules dendritiques et de l'IFN α dans la pathologie du lupus.....	34
Figure.6 De multiples gènes impliqués dans la production et la régulation de l'interféron sont associés au risque de lupus.....	39
Figure.7 Source et effets putatifs de l'interféron alpha dans le lupus.....	41
Figure 8 : principe de la méthodologie par "puce à ADN"	47
Figure 9 : le principe des puce à ADN	48
Figure 10 Les étapes de PCR : amplification de fragments d'ADN <i>in vitro</i>	59
Figure 11 : Schéma de la RT-PCR montrant que l'ARN isolé des cellules ou du tissu est utilisé comme substrat dans la transcription inverse par la synthèse de l'ADNc qui servira de matrice pour l'amplification par PCR	61
Figure 12 : Les polymorphismes de longueur des fragments de restriction RFLP	63
Figure 13 : Modèle graphique de PCR en temps réel où l'intensité de la fluorescence est exprimé en fonction du nombre de cycles.....	65

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Introduction	1
Chapitre I : Le Lupus Erythémateux Systémique et ces différents facteurs	3
1.1 Historique et définition	3
1.2 Epidémiologie du lupus érythémateux	6
1.3 Manifestations cliniques du lupus érythémateux systémique.....	7
1.3.1 Signes généraux.....	7
1.3.2 Manifestations dermatologiques	7
1.3.3 Manifestations rhumatologiques	8
1.3.4 Manifestations rénales.....	8
1.3.5 Manifestations neuropsychiatriques	9
1.3.6 Manifestations cardio-vasculaires	9
1.3.7 Manifestations respiratoires	10
1.3.8 Manifestations ophtalmologiques	10
1.3.9 Manifestations hépato-gastro-entérologiques	10
1.3.10 Manifestations hématologiques.....	11
1.4 Diagnostic du lupus érythémateux systémique	11
1.5 L'étiopathologie du lupus érythémateux systémique	12
1.5.1 Facteurs hormonaux	13
1.5.2 Facteurs environnementaux.....	13
1.5.3 Facteurs génétiques	14
a-Gènes de réparation de l'ADN impliqués dans la pathogénèse du lupus érythémateux systémique.....	15
b-Facteurs favorisant l'expression et la présentation des antigènes nucléaires.....	15
1.5.4 Facteurs immunologiques	18
1.6 Immunopathologie.....	18
1.6.1 Implication de l'immunité adaptative.....	18
a-Gène de l'apoptose.....	18

b-Gènes d'activation lymphocytaire	19
c-Gènes du récepteur du lymphocyte T.....	19
d-Rôle des lymphocytes B.....	19
e-Rôle des lymphocytes T	20
1.6.2 Implication de l'immunité innée	21
a-Gènes des cytokines	21
b-Cellules dendritiques.....	22
1.7 Traitement.....	23
Chapitre II L'implication de l'interféron dans le Lupus Erythémateux Systémique.....	26
1 Interféron.....	26
2 INF-I :	27
2.1 INF de type I dans la pathogenèse du LES.....	28
2.1.1 IFN-alpha et cellules dendritiques et dans la pathogenèse du LES.....	28
2.1.2 IFN-alpha et lymphocytes B dans la pathogenèse du LES	29
2.1.3 IFN-alpha et lymphocytes T CD8+ dans la pathogenèse du LES	30
2.1.4 L'IFN- γ dans la pathogenèse du LES	30
2.2 Une nouvelle façon de concevoir la physiopathologie du LES via l'IFN-alpha.....	33
2.3 Contributions génétiques à l'activation de la voie INF de type I dans le LES	35
2.3.1 Les gènes qui influencent l'expression de l'INF impliqués dans le LES.....	35
2.3.1.1 PTPN22	35
2.3.1.2 IRF5	36
2.3.1.3 STAT4	37
2.3.1.4 <i>IRAK1-MECP2</i> région.....	37
2.3.1.5 TNFAIP3 , TNIP1	38
2.3.1.6 TLR7, 8 et 9.....	39
2.3.1.7 TYK2	41
2.3.1.8 IFIH1	42
2.3.1.9 PHRF1	43
2.3.1.10 TREX1	43
2.3.1.11 Gènes C1q.....	44
Chapitre III Méthodes moléculaires appliquées	45
1 Les puces à ADN :	45
Principe :	45

a- Les puces CGH :.....	47
b- Les puces SNP :.....	47
1.1 Le principe de la CGH.....	48
2 La RT- PCR.....	53
Le principe	53
Le matériels utilisés lors de la RT PCR	54
Les étapes de la RT-PCR	55
3 La RFLP	61
Principe de la RFLP.....	61
Les étapes de la RFLP :	62
Les avantages et les inconvénients de la RFLP	62
4 La PCR en temps réel :.....	64
Principe de la PCR en temps réel	64
Les étapes de la PCR en temps réel :.....	66
Résultats et Discussion	68
Conclusion.....	80
Références Bibliographiques	82
Résumé	96

Introduction

Le terme « systémique » signifie que la maladie atteint plusieurs organes. Le mot « lupus » (loup en latin) fait référence à l'aspect caractéristique, en forme de masque, de l'atteinte du visage. Enfin, « érythémateux » (rouge en grec) traduit la couleur rouge de l'éruption cutanée.

Le lupus érythémateux disséminé (LED) ou lupus systémique (LES) est une maladie inflammatoire complexe, auto-immune et chronique pouvant affecter de nombreux organes notamment la peau, les reins, les articulations, les poumons et le système nerveux.

Elle est caractérisée par une hyperréactivité des lymphocytes T et B, la formation d'auto-anticorps et le dépôt de complexes immuns, qui déclenchent une inflammation et de graves dommages aux organes et tissus (Rose et *al.*,2017).

Le LES présente un large éventail de manifestations cliniques et biologiques, avec des périodes d'exacerbation et de rémission (Fortuna et *al.*,2013) , elle est considéré comme une maladie multifactorielle puisque la susceptibilité génétique, les facteurs hormonaux et environnementaux peuvent influencer les anomalies immunologiques (Rose et *al.*,2017).

La pathogenèse du LES est principalement due à la déficience de plusieurs mécanismes immunologiques, notamment une fonction inappropriée du système immunitaire inné, des mécanismes d'auto-tolérance altérés et une clairance cellulaire apoptotique (Rahman et *al.*,2008).

Le LES est une maladie auto-immune systémique complexe associée à de multiples anomalies immunologiques plusieurs gènes contribuant au déclenchement de la maladie, la majorité des variations génétiques, y compris les polymorphismes nucléotidiques simples (SNP), associés au LES se trouvent dans les gènes liés à la réponse immunitaire et les variantes du gène *HLA* (antigène leucocytaire humain), L'une des plus importantes anomalies est l'augmentation de l'interféron, un puissant adjuvant immunitaire. L'IFN est, en partie, produit dans le LES en réponse à des auto-antigènes sous forme d'acides nucléiques propres et de leurs protéines nucléaires associées (Elkon, K. B et *al.* , 2011).

Le présent travail est une rétrospective bibliographique qui s'est intéressée à l'analyse générale des différents facteurs génétique, environnementaux impliqués dans le lupus érythémateux systémique.

Il s'agit d'une étude préliminaire dont nous avons assigné comme objectifs d'explorer et de rechercher une association de l'implication des polymorphismes de quelques gènes à savoir qui influencent l'expression de l'INF type I dans la susceptibilité à développer la pathologie du Lupus érythémateux systémique

A cet effet trois volets ont été traités :

- Le premier contient l'historique et la description de la pathologie du Lupus Erythémateux systémique (LES) ainsi que l'explication de l'épidémiologie, les manifestations cliniques, le diagnostic suivi de l'étiopathologie et de l'immunopathologie impliqués dans le LES et enfin du traitement de cette pathologie dont le but de contribuer à l'évaluation du LES.
- Le deuxième volet a présenté les polymorphismes concernés dans notre étude ceux qui influencent l'expression de l'Interféron type I, nous nous sommes focalisés sur la description de INF en général puis INF de type I de manière détaillée comme ses propriétés et ses effets important sur le lupus érythémateux systémique suivi des polymorphismes de quelques gènes qui ont effet sur sa dérégulation.
- Le troisième présente trois approches et techniques moléculaires utilisées pour l'étude des polymorphismes touchant les gènes qui influencent l'expression de l'interféron. A cet effet et pour chacune des méthodes traitées, nous nous sommes focalisés sur la présentation du principe et des étapes de son déroulement, suivie par une discussion des résultats des exemples d'applications de la méthode par les équipes de recherches dans leurs investigations dont le but est de mettre au point l'intérêt de ces techniques dans le diagnostic du LES, ajoutant au final une partie résultats et discussion dédiée à l'analyse d'un ensemble de méta-analyses déjà faites qui font ressortir l'implication des polymorphisme des gènes qui dérégulent l'expression le IFN-I impliqués dans la pathogénèse du LES.

Malheureusement, on tient à souligner qu'il y a un manque flagrant dans la documentation épidémiologique en Algérie ainsi que dans les pays voisins. Ce manque touche aussi les études réalisées sur le lupus érythémateux systémique ayant analysé l'aspect génétique et les polymorphismes des gènes qui dérégulent l'IFN-I dans la population Algérienne atteinte de LES.

***Chapitre I : Le Lupus Erythémateux
Systémique***

Chapitre I : Le Lupus Erythémateux Systémique et ces différents facteurs

1.1 Historique et définition

Le lupus érythémateux systémique (LES) est l'une des maladies systémiques auto-immunes les plus complexes. Sa cause reste méconnue malgré le fait que le LES soit reconnu comme une entité clinique définie depuis plus de 100 ans.

En effet, il s'agit de l'histoire d'une maladie fascinante, selon Lahita RG et *al.*, 1987 et Smith CD et *al.*, 1988, Hippocrate a été le premier à décrire les manifestations cutanées du LES. Qu'il appelait herpès esthiomenos (gnawingdermatosis).

On ne sait pas exactement quand le mot lupus est devenu le symbole de la maladie. Cependant, les archives indiquent que c'est peut-être Hebernus, l'archevêque de Tours, en France, qui a été le premier à utiliser le mot "lupus" pour décrire la maladie dans son écrit : "Les miracles de Saint Martin". Il mentionne que l'évêque de Liège souffrait d'une maladie gravement dévorante appelée lupus dans la langue commune, et qui a été miraculeusement guéri après avoir passé du temps dans le Sanctuaire de Saint Martin à Tours (Donald Jr, 2014).

Plus tard, Paracelsus, un médecin suisse allemand de la Renaissance du quinzième siècle connu pour ses observations astucieuses, a considéré que LES comme étant une maladie de la peau avec "une plus grande quantité de sang" et a recommandé un traitement par saignée, ce qui était le traitement de la plupart des maladies à l'époque. Il a utilisé le terme "lupus" pour définir les manifestations cutanées de la maladie ou selon ses propres termes, "un loup affamé qui mange de la chair"(Donald Jr ,2014).

Rudolph Virchow (1821-1902) a été le premier à revoir de façon systématiquement l'histoire du LES. Dans ses écrits, Virchow a mentionné une référence du vieux livre allemand Margerita Medicine, publié en 1502 par le médecin allemand Johann Trollat von Vochenberg. Dans cette référence, vonVochenberg a suggéré l'utilisation de la caprifoline pour traiter les affections du cancer et du loup, ou comme cité (traduit de l'allemand) : "pour le loup et pour le cancer, caprifoline (chèvrefeuille)". Rudolf Virchow cite un texte encore plus ancien, datant de la fin du XIIIe siècle et se référant à Roger de Palma, de l'école de Salerno: "Parfois, le lupus apparaît dans les cuisses et le bas des jambes (et se distingue) du cancer par les symptômes mentionnés ci-dessus." (Konya, C et *al.*, 2016).

Au Moyen-Âge, le terme "lupus" était utilisé pour décrire des maladies de peau ulcérales ou nécrosantes, car il rappelait la morsure d'un loup. Les personnes superstitieuses de l'époque associaient ces affections cutanées à la morsure d'un loup-garou, étant donné l'aspect grotesque de la maladie ulcéreuse de la peau (Blotzer JW, 1983 et Fatovic-Ferencic S et *al.*, 2004).

Durant l'époque (1757-1808) deux dermatologues britanniques Robert Willanet son élève Thomas Bateman ont utilisé le terme "lupus" pour décrire une maladie cutanée destructrice affectant de préférence le visage et le nez (Bateman TA , 1936).

Au milieu du XIXe siècle, le dermatologue français Laurent Théodore Bielt a utilisé le terme "érythème centrifugé" pour décrire ces lésions cutanées (Smith CD , 1988 et Bielt M ,1857).

Le nom actuel de la maladie, lupus érythémateux, a été donné en 1833 par l'élève de Bielt, Pierre Louis Cazenave, qui l'a appelée "lupus érythémateux ou lupus erythematosus". Cazenave fut également le premier à décrire d'autres aspects de la maladie. Ses mots exacts sont toujours d'actualité et sont souvent utilisés par les rhumatologues pour décrire les résultats des examens : « *Dans certaines circonstances, (le lupus) se manifeste d'abord comme une rubéfaction violette sur une partie du visage, et principalement sur le nez, qui est en même temps assez enflé : pendant plusieurs mois, la couleur monte peu à peu ; la surface s'anime ; un petit ulcère se forme et par-dessus, une croûte, qui s'épaissit ensuite et recouvre l'ulcère, qui devient progressivement plus profond (Cazenave PLA , 1852) .Enfin, la peau peut s'amincir par paliers imperceptibles et adopte l'aspect d'une cicatrice, sans qu'il y ait de tubercules ou d'ulcères, et sans présenter de lésions plus graves qu'une couleur rougeâtre et, de temps à autre, une légère et à peine perceptible pelade* ».

Tant dit que Ferdinand von Hebra a utilisé l'expression "éruption papillon" pour décrire les observations cutanées du lupus érythémateux de Cazenave (Hebra F,1866).

En 1872, à la faculté de médecine de Vienne, Moritz Kaposi, le gendre de Hebra, a été le premier à défendre l'éruption papillon, les caractéristiques systémiques du "lupus érythémateux", notamment les lymphadénopathies, la fièvre et l'arthrite (Kaposi M ,1875).

Sir William Osler (1849-1919) a été le premier à utiliser l'expression "lupus érythémateux systémique". Osler a diagnostiqué 29 patients qui présentaient un érythème et des lésions viscérales comme un LES. Beaucoup de ces cas correspondent à nos descriptions actuelles du lupus érythémateux, même s'il n'existait pas de critères officiels à l'époque. Osler a également reconnu que le LES peut affecter les reins, les poumons et le cœur (Osler W, 1904).

En 1894, Payne a décrit les avantages de l'utilisation de la quinine dans le traitement du LES. Quelques décennies plus tard, les traitements à la chloroquine et hydroxychloroquine sont devenues la pierre angulaire du traitement du LES (Payne JF, 1894).

Cependant, les manifestations histologiques caractéristiques telles que les corps hématoxyliques sont reconnues par Gross en 1932 (Meyer O, 2005).

En 1948, Malcolm Hargraves, un hématologue de la Clinique Mayo, et son collègue Robert Morton ont décrit les cellules du lupus érythémateux (LE). Hargraves a identifié les cellules LE observées dans la moelle osseuse de 25 patients avec un diagnostic confirmé ou suspecté. Les cellules LE sont des neutrophiles ou des macrophages qui ont phagocyté le matériel nucléaire dénaturé d'une autre cellule. Même si l'on pensait initialement qu'elles étaient spécifiques du LES, ces cellules ont ensuite été trouvées dans d'autres maladies du tissu conjonctif et d'autres pathologies. De plus, ces cellules n'étaient pas présentes dans de nombreux cas de LES (Hargraves MM, 1948).

Philip S. Hench, plus tard, a reçu le prix Nobel en 1950 pour ces découvertes apportées sur le LES (Hench PS, 1952).

En 1957, Seligmann et Cepelini avaient découvert indépendamment l'existence d'anticorps anti-ADN natif, signature biologique caractéristique de l'affection (Meyer O, 2005).

En 1967, George Friou a constaté que le sérum prélevé des patients atteints de LES contient des immunoglobulines contre l'ADN. Il les a nommées "facteurs antinucléaires" et ils ont été appelés par leur nom actuel : anticorps antinucléaires (ANA). L'ANA reste le test le plus sensible pour le diagnostic du LES. Ce test est considéré comme l'un des critères de classification du LES par l'American Collège Rhumatologie (Friou GJ, 1967)

Depuis ce temps, de nombreux autres anticorps ont été décrits, peu de ces anticorps se sont révélés très spécifiques pour le diagnostic du LES (par exemple, anti-Smith, anti-double brin d'ADN). tandis que d'autres anticorps se sont révélés être associés à des entités pathologiques spécifiques (par exemple, anti-Ro et lupus cutané subaiguë), Les capacités de diagnostic se sont considérablement améliorées au milieu du XXe siècle, mais les options de traitement étaient limitées en raison de la compréhension partielle de la physiopathologie de la maladie et de sa nature polyvalente (Konya, C et *al.*, 2016).

C'était le début de l'ère moderne du LES, et la façon dont nous diagnostiquons cliniquement la maladie aujourd'hui n'a pas beaucoup changé depuis. Cependant, même si les critères physiologiques de la maladie étaient connus à l'époque, ils n'étaient pas spécifiques. Le diagnostic du LES était encore difficile en raison du manque de tests diagnostiques objectifs. Des recherches approfondies ont commencé à améliorer notre compréhension de la physiopathologie sous-jacente du LES et d'identifier des marqueurs diagnostiques et pronostiques objectifs (Konya, C et *al.*, 2016).

1.2 Epidémiologie du lupus érythémateux

L'incidence mondiale globale du LES varie entre 1,5 et 11 pour 100 000 personnes/années, et la prévalence mondiale varie de 13 à 713,5 pour 100 000 individus (Barber, M et *al.*, 2021).

Les Etats-Unis sont le pays le plus touché, avec une prévalence bien supérieure à la moyenne mondiale c'est-à-dire autour de 100 cas pour 100 000 habitants. Les autres régions du globe fortement concernées sont l'Asie et l'Amérique du sud (Savi, V et *al.*, 2017).

Les populations noires, hispaniques et asiatiques sont touchées de manière disproportionnée par le LES, avec des taux d'incidence et de prévalence plus élevés dans ces populations que dans les populations blanches (Barber, M et *al.*, 2021).

Cette variation frappante de la charge signalée du LES est en partie due aux différences inhérentes à la structure de la population, telles que la répartition par sexe, l'origine ethnique et les expositions environnementales (Barber, M et *al.*, 2021).

Les femmes sont systématiquement plus touchées par le LES que les hommes dans toutes les régions du monde avec un sex-ratio femmes/hommes de 9/1 (Barber, M et *al.*, 2021). Cette maladie survient d'ailleurs généralement durant la période d'activité ovarienne de la femme. Son incidence atteint son paroxysme entre 15 et 45 ans (Savi, V et *al.*, 2017).

Le premier signe imputable de la maladie se situe avec un maximum dans les deuxièmes et troisièmes décennies (Meyer, O. 2005).

La fréquence des lupus familiaux varie de 4 à 12 % selon les séries. Elle est plus élevée, atteignant 30% dans les familles où le propositus atteint de lupus érythémateux est de sexe masculin. Chez les jumeaux monozygotes, le taux de concordance varie de 25 à 58 %, mais le phénotype du lupus est discordant dans 30 à 50 % des cas (Meyer, O. 2005).

1.3 Manifestations cliniques du lupus érythémateux systémique

1.3.1 Signes généraux

Les symptômes les plus communs du lupus sont les suivants: fatigue intense ; maux de tête ; articulations gonflées ou douloureuses ; fièvre ; anémie (faible nombre de globules rouges ou d'hémoglobine) ; gonflement (œdème) dans les pieds, les jambes, les mains ; douleur dans la poitrine et/ou essoufflement (pleurésie, péricardite) ; éruption cutanée sur les joues et le nez en forme de papillon ; sensibilité à la lumière (photosensibilité) ; chute des cheveux ; doigts qui deviennent blancs (phénomène de Raynaud) ; ulcères de la bouche ou du nez (Meyer, O. 2005).

1.3.2 Manifestations dermatologiques

Elles touchent environ 80% des patients. Elles peuvent précéder l'atteinte des autres organes de plusieurs années. Les manifestations dermatologiques sont très nombreuses dans le LES. Elles sont souvent favorisées ou aggravées par l'expositions solaire, ce qui explique leur localisation dans les zones fortement photo-exposées (visage, décolleté, mains) (Savi, V et al., 2017). La peau est très sensible au soleil (photosensibilité) et une éruption cutanée peut survenir pendant ou peu après l'exposition solaire. La présentation des anomalies cutanées est variable et on distingue différents type de lupus cutané : le lupus érythémateux aigu, le lupus érythémateux subaigu, le lupus chronique qui regroupe le lupus discoïde et le lupus tumidus et deux types de lésions lupiques sont distingués : spécifiques et non spécifiques du lupus érythémateux (Arnaud, L et al., 2012)(**Figure.1**).



Figure.1 Manifestations dermatologique du Lupus Erythémateux systémique

, a : atteinte du décolleté, b : atteinte malaire, c : atteinte interarticulaire des mains , d : atteinte de la demi-muqueuse labiale. Physiopathologie du LES, **Estibaliz Lazaro ,2013** (<https://slideplayer.fr/slide/1185188/>)

1.3.3 Manifestations rhumatologiques

Selon Savi,V et *al.*,2017 les manifestations rhumatologiques du lupus ont une chronologie d'apparition très précoce. Plus de 80 % des patients en présenteront. Elles prennent le plus souvent la forme de douleurs articulaires diffuses.

Il s'agit le plus souvent (Arnaud, L et *al.*, 2012) :

- D'arthralgies.
- D'arthrites vraies :
 - ✓ Aigües, plus souvent une polyarthrite touchant surtout les petites articulations des mains, les poignets, les genoux, et les chevilles, parfois associées à des ténosynovites :
 - ✓ Chroniques, beaucoup plus rarement (polyarthrites ou plus rarement oligoarthrites), habituellement non destructrices.
 - ✓ Rares, arthropathies déformantes liées à des lésions capsulaire et ligamentaires se traduisant par des subluxations réductibles des doigts appelées rhumatisme de Jaccoud.

On ce qui concerne les manifestations osseuses, généralement plus tardives que les atteintes articulaires, sont de deux types :

- ✓ Ostéonécroses aseptiques, touchant les têtes épiphysaires surtout des fémurs et des humérus. Elles peuvent être asymptomatiques, peuvent être liées à la corticothérapie.
- ✓ Ostéopathie fragilisante (ostéoporose) parfois fracturaire, secondaire à une corticothérapie et à d'autres facteurs (carence en vitamine D, apport insuffisant en calcium, réduction de l'activité physique, ménopause précoce induite par un immunosuppresseur).

Cependant, les manifestations musculaires, les myalgies diffuses sont assez fréquentes alors qu'une myosite confirmée histologiquement est beaucoup plus rare.

1.3.4 Manifestations rénales

Elle est présente chez 30 à 40% des patients. Elle consiste en une inflammation des glomérules du rein (glomérulonéphrite). Le glomérule est la partie du rein contenant le filtre qui nettoie le sang. Différentes formes d'atteintes sont possibles, des formes non graves sans aucune conséquence aux formes graves pouvant évoluer vers la destruction plus ou moins rapide du rein (une insuffisance rénale) (Savi,V et *al.*,2017).

Classiquement, l'atteinte rénale survient dans les premières années et revêt une importance pronostique majeure. Elle peut aussi être tardive : la recherche répétée d'une protéinurie s'impose tout au long de l'évolution (Arnaud, L et *al.*, 2012)..

Cette atteinte est détectée par des tests d'urines et l'anomalie la plus fréquente c'est l'excès des protéines dans les urines ou bien la présence du sang et aussi des globules blancs sans présence d'infection ; et dans d'autres cas, cette atteinte peut être découverte par une hypertension artérielle (Manson *et al.* , 2006).

1.3.5 Manifestations neuropsychiatriques

Elles se manifestent par des atteintes du cerveau, de la moelle épinière ou des nerfs périphériques touchant environ 10% des patients. Les altérations neuropsychiatriques du LES sont très diverses. L'atteinte du système nerveux central chez les patients lupiques recouvre un large spectre de manifestations neurologique et psychiatriques propre au LES (Bruns, A. et *al.*, 2006).

Les manifestations les plus fréquentes sont par ordre décroissant : les crises d'épilepsie, les troubles de l'humeur (dépression nerveuse), les manifestations cérébrovasculaires (accidents vasculaires cérébraux, fortement associés à la présence d'anticorps anti phospholipides), une dysfonction cognitive (difficultés à se concentrer, à fixer son attention, troubles de la mémoire...), un syndrome confusionnel aigu (sommolence, diminution de la capacité à maintenir son attention envers les stimulations externes, désorganisation de la pensée, désorientation dans le temps et l'espace par exemple) et les paralysies des nerfs du visage ou des membres, plusieurs facteurs peuvent expliquer la survenue de manifestation neuro-lupus : lésion vasculaire intracrânienne (vascularite et thromboses), autoanticorps anti antigènes neuronaux, anti ribosomes et anti phospholipides, inflammation liée à la production de cytokines ajoutant des complications infectieuses et métaboliques ou des thérapies utilisées pour traiter le lupus (corticothérapie etc....)(Arnaud, L. et *al.* ,2012).

1.3.6 Manifestations cardio-vasculaires

On distingue les manifestations vasculaires suivantes (Arnaud, L. et *al.* ,2012):

- ✓ Le phénomène de Raynaud fréquent (35 %), mais rarement compliqué.
- ✓ L'hypertension artérielle souvent présente en cas de glomérulopathie grave de forte corticothérapie,

- ✓ Les thromboses veineuses, artérielles, ou micro-vasculaires, parfois révélatrices, fortement associées à la présence d'anticorps anti phospholipides.

Selon Meyer, O. 2005 les manifestations cardiaques au cours de la maladie lupique sont préoccupantes et peuvent rester longtemps asymptomatiques, intéressent les trois tuniques du cœur, ainsi que les coronaires.

- ✓ La péricardite est d'expression clinique dans 20 à 30 % des cas.
- ✓ La myocardite est habituellement sans traduction clinique, dépistée par échographie.
- ✓ L'endocardite dans sa forme anatomique majeure, prend l'aspect de l'endocardite verruqueuse décrite par Libmann et Sacks dès 1924. Elle se traduit cliniquement par un souffle valvulaire mitral ou aortique, et peut se compliquer d'une insuffisance cardiaque congestive.

1.3.7 Manifestations respiratoires

Les manifestations respiratoires peuvent toucher tous les compartiments du système respiratoire (plèvre, parenchyme pulmonaire, voies aériennes, circulation pulmonaire et muscles respiratoire) (Meyer, O. 2005).

Elles se manifestent par des douleurs thoraciques augmentées par les mouvements respiratoires, des difficultés respiratoires et une toux sèche. Ces atteintes disparaissent rapidement avec le traitement par corticoïdes (Arnaud, L. et al., 2012).

1.3.8 Manifestations ophtalmologiques

Selon Arnaud, L. et al., 2012 On distingue :

- ✓ Les atteintes oculaires diverses : rétinite dysorïque latente et aspécifique, neuropathie optique, thrombose artérielle ou veineuse rétinienne, uvéites, épisclérites, sclérites.
- ✓ L'association à un syndrome sec oculaire dans le cadre d'un syndrome de Gougerot-Sjögren.

1.3.9 Manifestations hépato-gastro-entérologiques

Les manifestations hépato-gastro-entérologiques sont rarement spécifiques de la maladie, plus souvent conséquence des traitements : anorexie, hépatomégalie, dysphagie, douleurs abdominales, parfois des nausées, voire des vomissements accompagnent habituellement une poussée de la maladie 10 à 50 % (Meyer, O. 2005). Elles relèvent de causes variées (ulcère

gastroduodéal, péritonite, infarctus mésentérique, pancréatite, ect.), mais surtout on se méfie parfois d'une pancréatite ou d'une prolifération intestinale liées à un mécanisme de vascularite (Arnaud, L. et al .,2012) .

1.3.10 Manifestations hématologiques

Les manifestations hématologiques peuvent concerner les trois lignées. Elles sont présentes chez plus de 90% des patients et peuvent concerner les différents types de cellule sanguine (Meyer, O. 2005 ; Arnaud, L et al ., 2012) :

- ✓ Une anémie inflammatoire accompagne les poussées marquées.
- ✓ Une leucopénie modérée résultant d'une lymphopénie T et parfois d'une neutropénie est fréquente.
- ✓ Une thrombopénie périphérique 15 % à 25 % accompagne les poussées et peut précéder le LES.
- ✓ Les troubles de l'hémostase sont dominés par la présence d'un anticoagulant circulant de type lupique (25 %)

1.4 Diagnostic du lupus érythémateux systémique

Afin de déterminer si un patient présente un LES et non pas une autre pathologie inflammatoire systémique, une classification de référence reconnue au niveau international a été élaborée par l'American College Of Rheumatology en 1982 à partir de personnes présentant une maladie à répercussion rhumatologique puis révisés en 1997. Cette classification repose à la fois sur des critères cliniques et biologiques, où la présence d'au moins quatre de ces onze critères permet de conclure au diagnostic de lupus avec une sensibilité et une spécificité de 96 %. Cependant, il convient d'examiner chaque cas individuellement. A titre d'exemple, ce même diagnostic peut être posé si seulement trois des critères sont retrouvés : polyarthrite, anticorps antinucléaires et anticorps anti-Sm.

Cette classification se révèle très efficace chez des patients déclarant leur lupus autour de 30-40 ans.

Les critères de classification du lupus proposés par l'American Rheumatism Association en 1982 révisés en 1997 (Hochberg) sont :

- 1- Rash malaire : éruption malaire en « aile de papillon » : érythème malaire fixe , plan en relief , tendant à épargner le sillon nasolabial.

- 2- Lupus discoïde : placards érythémateux surélevés avec des squames kératosiques adhérentes et des bouchons cornés folliculaires, Cicatrices atrophiques pouvant apparaître sur des lésions anciennes.
- 3- Photosensibilité : éruption cutanée résultant d'une réaction inhabituelle au soleil.
- 4- Ulcération orales ou nasopharyngées
- 5- Arthrites non-érosives touchant au moins deux articulations périphériques caractérisées par une douleur, un gonflement ou un épanchement.
- 6- Pleurésie ou péricardite.
- 7- Atteinte rénales : Protéinurie persistante > 0,5 g/jour ou cylindrurie.
- 8- Atteinte neurologiques : Convulsions ou psychose (en l'absence de cause médicamenteuse ou métabolique)
- 9- Atteinte hématologique :
 - ✓ Anémie hémolytique avec hytiperréculocytose.
 - ✓ Leucopénie (inférieure à 4000 leucocytes/mm³) trouvée à au moins deux reprises.
 - ✓ Lymphopénie (inférieure à 1 500 lymphocytes/mm³) trouvée à au moins deux reprises.
 - ✓ Thrombopénie (inférieure à 100 000 plaquettes/mm³) en l'absence de cause médicamenteuse.
- 10- Désordre immunologique :
 - ✓ Anticorps anti-ADN positifs.
 - ✓ Présence d'anticorps anti-Sm, fausse sérologie syphilitique positive depuis au moins 6 mois et confirmée par la négativité du test de Nelson ou du FTA (fluorescent treponemal antibody).
- 11- Présence de facteurs antinucléaires à titre anormal en l'absence de médicaments inducteurs : titre anormal d'anticorps antinucléaire en immunofluorescence ou technique équivalente à n'importe quel moment de l'évolution

1.5 L'étiopathologie du lupus érythémateux systémique

L'étiologie exacte du lupus érythémateux systémique (LES) reste encore inconnue car il s'agit d'une maladie dite complexe ou multifactorielle, résultant de l'interaction de plusieurs facteurs génétiques avec des facteurs environnementaux, hormonaux et immunologiques. On a trouvé indispensable de faire un rappel sur tous les facteurs de la maladie qui rentrent dans le déclenchement de cette maladie avant de commencer d'élaborer notre thématique.

1.5.1 Facteurs hormonaux

Concernant les facteurs hormonaux des études récentes suggèrent l'absence de retentissement des estroprogestatifs sur l'activité de la maladie, mais se pose toujours le problème du risque thrombotique artériel et/ou veineux chez ces patientes, surtout en présence d'anticorps anti-phospholipides (PetriM *et al.*,2005).

1.5.2 Facteurs environnementaux

En outre, les facteurs environnementaux regroupent plusieurs agents infectieux bactériens ou viraux, avec notamment, en phase initiale de la maladie, Dans les études épidémiologiques, les virus les plus fréquemment impliqués dans la genèse ou l'exacerbation de poussées lupiques sont le parvovirus B19, le CMV et l'Epstein-Barr virus (EBV).Ces agents transmissibles pourraient intervenir sur la pathogénicité du lupus par mimétisme moléculaire, par stimulation de certains récepteurs de l'immunité innée, notamment les *Toll-like récepteurs* (TLRs), aboutissant à une hyperactivation lymphocytaire, et par anomalie de l'apoptose. La prise de certains médicaments peut induire de novo des manifestations cliniques et biologiques de lupus (BorchersAT,2007), avec toutefois une différence fondamentale constituée par l'absence d'anticorps anti-ADN natif à titre élevé et la présence d'anticorps anti-histones à taux élevés. Les principaux médicaments impliqués appartiennent à 10 classes thérapeutiques : antiarythmiques,antihypertenseurs,antipsychotiques,antibiotiques,anticonvulsivants,antithyroïdiens,anti-inflammatoires, diurétiques, statines et biothérapies(Sanchez-Guerrero J *et al.*,2005).

La photo-exposition solaire est un facteur de risque reconnu de lupus systémique. A côté de l'exposition solaire, l'exposition au rayonnement ultraviolet des lampes à bronzer est pathogène et fortement déconseillée dans un contexte de lupus. L'imputabilité de la lumière d'éclairage est moins évidente. Toutefois, des cas d'exacerbation lupique sont rapportés avec les lampes fluorescentes.

Parmi les autres facteurs environnementaux, l'exposition répétée à la silice, aux solvants et à certains agents potentiellement dangereux (pesticides, organochlorés)peut constituer un facteur de risque de lupus (Cooper GS *et al.*, 2010).

Le tabac contient de nombreuses substances toxiques à l'action pro-inflammatoire (Arnson Y *et al.*, 2010) .Beaucoup d'études épidémiologiques rapportent ainsi un risque de lupus augmenté chez les patients tabagiques, d'autant plus s'il s'agit d'un tabagisme actif (Ueda T *et al.*,2000).

En effet, la vitamine D a un rôle direct sur l'homéostasie lymphocytaire, l'immunité innée et adaptative via la régulation des lymphocytes B, des cellules dendritiques et l'expression des TLRs et pourrait ainsi réduire le risque de lupus (Cutolo M et al., 2009 et Costenbader KH et al., 2007). Diverses études ont montré que les taux de vitamine D sont inversement corrélés avec l'activité du lupus (Cutolo M et al., 2009 et Amital H et al., 2010).

1.5.3 Facteurs génétiques

Les facteurs génétiques jouent un rôle important dans la survenue d'une maladie lupique. La prévalence des formes familiales est estimée à plus de 5 % et la concordance de la maladie est observée chez environ 40 % des jumeaux monozygotes. La transmission génétique est complexe, faisant intervenir des interactions entre différents gènes de susceptibilité et probablement, des gènes protecteurs, comme le suggèrent les études génétiques chez la souris. Les résultats des premières études génétiques familiales montrent qu'il existe près d'une cinquantaine de régions chromosomiques pouvant intervenir dans la transmission de la maladie. Des liaisons significatives ont été observées pour au moins six régions, dont deux sont situées sur le chromosome 1, une région proche de la région HLA sur le chromosome 6 et 3 régions sur les chromosomes 2, 4 et 16. De nombreux gènes candidats ont été étudiés, du fait de leurs localisations ou de leurs rôles possibles dans la pathogénie de la maladie. La région HLA et les déficits en facteur du complément pourraient favoriser la présentation d'antigènes nucléaires conduisant à la formation d'auto-anticorps. Le polymorphisme génétique des cytokines et peut être, du récepteur T pourrait intervenir dans les mécanismes de dysrégulation de l'activité lymphocytaire. Le polymorphisme des récepteurs Fc des immunoglobulines pourraient influencer les mécanismes de clearance des complexes immuns et favoriser ainsi les lésions tissulaires. La poursuite de ces études génétiques est indispensable pour permettre non seulement une meilleure compréhension de la maladie, mais également pour la recherche de nouveaux traitements (Perdriger, A et al., 2003).

Les gènes candidats étudiés ont été choisis en fonction de leur localisation au sein d'une région chromosomique d'intérêt et/ou de leur rôle supposé dans la maladie. Sans chercher à être exhaustif sur toutes les études publiées, les principales études peuvent être présentées en fonction des mécanismes pathogéniques suggérées par les études animales. Ces mécanismes comportent plusieurs grandes étapes. La première étape correspondrait à une perte de la tolérance aux antigènes nucléaires, conduisant à l'apparition d'auto-anticorps. Des anomalies de l'apoptose, les déficits en composants du complément, des anomalies de la structure de la

chromatine pourraient favoriser l'expression d'antigènes nucléaires présentés par des molécules HLA de susceptibilité. La seconde étape est l'activation anormale de la réponse immunitaire, favorisée par l'action de cytokines. La dernière est celle des lésions tissulaires pouvant être secondaire à des anomalies de clearance des complexes immuns(Perdriger, A et *al.*.,2003).

a-Gènes de réparation de l'ADN impliqués dans la pathogénèse du lupus érythémateux systémique

De nombreux stimuli environnementaux ont été associés au déclenchement du LES, en particulier l'exposition à la lumière ultraviolette, qui pourrait être capable de produire des ruptures double brin (DSB) et des dommages oxydatifs à l'ADN (Bassi et *al.*,2008). La molécule d'ADN elle-même est faiblement immunogène, cependant les DSB pourraient induire une immunogénicité et conduire à une réponse immunitaire. En particulier, des défauts dans la réparation des DSB peuvent provoquer une accumulation d'altérations génomiques et favoriser l'apoptose (Takeda et *al.*,2001). Chez les patients LES, les DSB sont réparées de manière inefficace, ce qui conduit à l'apoptose et une fois que le mécanisme de clairance n'est pas exécuté efficacement chez les patients LES, il peut contribuer à la rupture de l'auto-tolérance (Bassi et *al.*,2008). De plus, les sites polymorphes dans les gènes de réparation de l'ADN étaient associés à une prédisposition aux manifestations cliniques du LES et aux anticorps anti-ADN, soutenant le rôle des gènes de réparation de l'ADN dans l'auto-immunité (Bassi et *al.*,2008).

b-Facteurs favorisant l'expression et la présentation des antigènes nucléaires

✓ Rôle de la région HLA

La région HLA a été depuis plusieurs années très étudiée dans les maladies auto-immunes en général et dans la maladie lupique plus précisément. Les molécules HLA jouent un rôle central dans la réponse immunitaire en présentant aux lymphocytes T des peptides antigéniques conduisant ou non selon la nature du complexe molécule HLA/peptide à une activation de la réponse immunitaire(Arnett jr FC, 1997).

Le système HLA est constitué de 3 grandes régions, la région des gènes de classe I (HLA-A et B), la région HLA de classe II (HLA-DR, DQ et DP) et le système HLA de classe III (gènes de fractions C2, C4 et du facteur B du complément et ceux du TNF(Arnett jr FC, 1997).

Depuis plus de 20 ans, de nombreux travaux ont mis en évidence une association de la maladie lupique avec le DR3 (DRw17) et le DR2 (DRB1*1501 et *1503).Cependant le risque relatif lié à la présence de ces allèles paraît faible et leur rôle dans la survenue de la maladie

lupique et probablement limité (Wakeland EK et al., 2001). Les spécificités HLA de classe II semblent surtout associées à des profils particuliers d'auto-anticorps. Ainsi, les spécificités DR2 et DR3 sont fortement associées chez l'homme à la présence d'auto-anticorps tels les anti-DNA, anti-SSA et anti-SSB, dans une souche de souris prédisposée au lupus, la présence d'un transgène HLA-DR2 influence le taux de production d'anticorps anti-ADN natif (Schur PH, 1995 et Paisansinsup T et al., 2001).

✓ **LES et déficit en complément**

Les déficits en complément sont exceptionnels, mais ils sont d'un grand intérêt dans la pathogénie du lupus érythémateux systémique car ils sont très fortement associés à l'apparition d'une maladie lupique (Michel M, 2000).

Le déficit homozygote en C2 est associé à une maladie lupique dans 50 % des cas. La fraction C4 du complément est codée par deux gènes de classe III, les gènes C4A et C4B. Environ 70% des sujets souffrant d'un déficit complet en C4 vont développer une maladie lupique. De plus la fréquence de l'allèle C4AQ0 est augmentée chez les patients lupiques de différentes ethnies (Tsao BP et al., 2001). Le gène codant pour le C1q, composant de la voie classique du complément, est localisé dans la région chromosomique 1p32. Le déficit complet conduit à une maladie lupique dans 98 % des cas. Ces résultats témoignent de l'importance, dans la survenue de la maladie, des composants de la voie classique du complément C1q, C1r, C1s, C4 et C2 (Stone NM et al., 2000). Les mécanismes par lesquels les déficits en certaines fractions du complément conduisent à une maladie lupique ont été particulièrement bien étudiés pour le composant C1q. Environ 50 % des souris qui ont un déficit complet pour le composant C1q (souris knock-out C1q^{-/-}) produisent un taux élevé d'anticorps anti-nucléaires. Les résultats de l'analyse histologique suggèrent que les composants du complément et plus particulièrement la fraction C1q, jouent un rôle majeur dans la clearance de cellules apoptotiques en favorisant leur phagocytose par les macrophages (Botto M et al., 1998). En l'absence de C1q, le nombre élevé de cellules apoptotiques conduirait à une production élevée d'anticorps antinucléaires peut-être par l'intermédiaire d'une reconnaissance, par les cellules dendritiques, d'antigènes nucléaire anormalement exposés par ces cellules apoptotiques (Taylor BR et al., 2000).

✓ **La mannose binding protéine (MBP)**

La mannose binding protéine est une protéine de type lectine, impliquée dans l'activation des voies classiques et alternatives du complément et l'opsonisation des bactéries (Tsao BP, 2001). Cette protéine MBP présente une analogie structurale avec le C1q. Une plus grande susceptibilité

lupique semble être associée à des taux bas de la MBP. Cette diminution du taux de la MBP serait secondaire à des mutations de la région du promoteur ou du premier exon du gène codant pour cette protéine. Malgré une plus grande fréquence de ces mutations génique dans la maladie lupique, le risque relatif reste faible, inférieur à 2 et son rôle semble modéré(Michel M,2000).

✓ **Anomalies du métabolisme de la chromatine**

L'exposition d'antigènes nucléaires pourrait également être secondaire à des anomalies du métabolisme de la chromatine. En effet, des délétions du gène du composant P de l'amylose , protéine capable de se fixer sur la chromatine et de masquer des sites de reconnaissance antigénique conduisent à l'apparition d'anticorps antinucléaires(Walport MJ, 2000). Les déficits en DNase I, intervenant dans le métabolisme de la chromatine sont également associés à des manifestation auto-immunes chez la souris(Walport MJ, 2000 et Yim YS et *al.*, 2001).

✓ **Gènes de la poly-ADP-ribose polymérase (PARP)**

La protéine PARP est une enzyme nucléaire qui catalyse la réaction permettant l'addition de poly-ADP-ribose sur les protéines nucléaires. Le rôle du gène de l'enzyme PARP dans la survenue d'une maladie lupique a été envisagé sur plusieurs arguments. L'activité de cette enzyme apparaît diminuée dans le sérum des patients lupiques (Sibley JT et *al.*, 1989). Elle possède des analogies structurales avec l'ADN et des auto-anticorps anti-PARP sont observés dans les maladies auto-immunes. Le gène de cette enzyme est localisé dans la région d'intérêt 1q41-42. Une étude des différents allèles du gène PARP chez les familles de lupus, a montré une transmission significativement augmentée d'un allèle de 85pb de ce gène chez les sujets lupiques (Tsao BP et *al.*, 1997). La protéine PARP joue un rôle important dans la réparation et la stabilité de l'ADN et une diminution d'activité est susceptible de favoriser les mécanismes d'apoptose (Delrieu O et *al.*, 1999).

✓ **Récepteurs de la fraction Fc des immunoglobulines (FccR) :**

Les récepteurs de la fraction Fc des immunoglobulines constituent une famille de récepteurs dont les gènes sont présents sur le chromosome 1, dans la région de prédisposition 1q23. Ces récepteurs ont de multiples fonctions, dans la clearance des complexes immuns, dans les mécanismes de cytotoxicité anticorps dépendante et dans la régulation des lymphocytes B(Tsao BP et *al.*, 2001 et Sullivan KE, 2000). Trois grandes familles de récepteurs sont présentes chez l'homme : les récepteurs FccRI (CD64), FccRII (CD32) et FccRIII (CD16), chaque famille étant composée de plusieurs variants. Ces familles des récepteurs différent par la classe des

immunoglobulines qu'ils sont capable de fixer et leurs expressions cellulaires. De par leur rôle et leur localisation, leur association avec la maladie lupique a été très étudiée. Le récepteur FcγRIIa est codé par deux allèles, H131 et R131 capable de se fixer sur les IgG2 et les IgG3 avec des affinités variables. Plusieurs travaux ont montré que l'allèle de faible affinité R131 semblait plus fréquent chez les patients présentant une glomérulonéphrite lupique, en particulier dans les populations afro-américaines (Salmon JE et al., 1996). Le récepteur FcγRIII semble également impliqué dans la susceptibilité génétique du lupus. Ce récepteur est codé par deux allèles V176 et F176, conduisant à des affinités variable pour les IgG1 et les IgG3. La fréquence de l'allèle de faible affinité F176 serait augmentée chez les patients de race blanche souffrant d'un lupus (Michel M, 2000).

1.5.4 Facteurs immunologiques

L'expansion des lymphocytes B et T auto-réactifs est guidée par la stimulation d'un ou de plusieurs auto-Ag. L'apparition de ces auto-Ag semble étroitement liée aux phénomènes d'apoptose une apoptose anormale ou excessive ou une clairance défectueuse des corps apoptotiques par les macrophages induisent, d'une part, l'activation des récepteurs de type Toll (TLR) et des récepteurs pour le fragment FC des IgG avec la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL-8) par les macrophages et les cellules dendritiques et d'autre part, l'augmentation de la présentation par les cellules dendritiques d'auto-Ag apoptotiques avec l'activation de lymphocytes B et T auto-réactifs. La réaction auto-immune contre les corps apoptotiques est favorisée par un environnement inflammatoire (Munoz et al., 2005).

1.6 Immunopathologie

Plusieurs anomalies affectent la réponse immunitaire on distingue des anomalies qui touchent l'immunité adaptative et l'immunité innée.

1.6.1 Implication de l'immunité adaptative

a-Gène de l'apoptose

Le gène *fas* ligand est localisé sur le chromosome 1q23. Malgré les résultats chez la souris lupique, les mutations du gène ont rarement été retrouvées chez l'homme. Lorsqu'elles sont présentes, elle s'accompagne surtout d'un syndrome lymphoprolifératif. (Sullivan KE, 2000 et Wu J et al., 1996).

b-Gènes d'activation lymphocytaire

Des mutations dans le polymorphisme du gène de la molécule d'inhibition de l'activation lymphocytaire T, le CTLA-4, ont été observées dans une population de 113 patients lupiques japonais (Ahmed S et al., 2001).

c-Gènes du récepteur du lymphocyte T

Malgré la concordance des régions de la variabilité du récepteurs T chez les jumeaux homozygotes, aucune famille des gènes de variabilité n'est associée de façon significative à la maladie lupique (Arnett jr FC, 1997 et Sullivan KE, 2000). Des anomalies structurelles du récepteur du lymphocyte T, en particulier de la chaîne zeta (ζ) ont été cependant observées chez les patients lupiques. Ces anomalies seraient liées à des mutations ou des délétions du gène codant pour la protéine zeta, située sur le chromosome 1, dans une région 1q22, à proximité des régions d'intérêt (Tsuzaoka K et al., 1998) et pourraient être responsables d'un défaut de l'activation T.

d-Rôle des lymphocytes B

Une des caractéristiques centrales du LES est l'hyperactivation des lymphocytes B. Cette activation est polyclonale et est, au moins en partie, auto-réactive.

Selon Mathian, A et al., 2014, In vivo les patients lupique ont une hyperactivation des centres germinatifs et une augmentation du nombre des lymphocytes B précurseurs de centre germinatifs et de cellules sécrétrices d'Ac (plasmoblastes et plasmocytes). In vitro les lymphocytes B des patients lupiques prolifèrent plus et sécrètent plus d'Ac que ceux des sujets témoins sains.

Les causes de l'hyperactivation des lymphocytes B sont multiples. L'excès d'auto-Ag initie l'activation des lymphocytes B doivent recevoir des stimulations supplémentaires. Ces stimulations sont présentes en excès dans le lupus et, en conséquence, les lymphocytes B sont constamment exposés à la pression de facteurs induisant leurs activations et leur différenciation en cellules productrices d'Ac. Ces facteurs de costimulation sont apportés par les cellules dendritiques, les lymphocytes T CD4 auxiliaires, ainsi que :

- ✓ Le ligand de CD40, soluble ou membranaire.

- ✓ Les cytokines qui contrôlent et amplifient l'activation des lymphocytes B : BLYS (B-Lymphocyte Stimulator), IL-4, IL-10, IL-15, IFN, IL6, IL17, IL-21 (Mathian, A et *al.*, 2014).

La contribution des lymphocytes B à la pathogénèse du lupus érythémateux systémique ne se limite pas qu'à la sécrétion des auto-A. Ce sont également des cellules présentatrices d'antigène qui sécrètent différentes cytokines et chimiokines pro-inflammatoires. Ils sont une des cibles privilégiées des biothérapies comme le rituximab ; anticorps monoclonal anti-CD20 qui déplete les lymphocytes B et le belimumab ; anticorps monoclonal anti-BLYS qui neutralise le BLYS soluble, cytokine clef dans la physiologie des lymphocytes B (Tron *et al.*, 2002).

e-Rôle des lymphocytes T

Les lymphocytes T participent à l'initiation et au maintien de l'inflammation dans le lupus. L'existence de lymphocytes T auto-réactifs dans le LES a été rapportée à plusieurs reprises (Mathian, A et *al.*, 2014).

Les lymphocytes T ont plusieurs autres particularités dans le LES : les lymphocytes T CD4 et CD8 du LES ont un phénotype de cellule activée, notamment chez les patients avec une maladie active ; ils infiltrent les tissus et sont résistant à l'anergie et à l'apoptose. L'activation par le récepteur T et les voies de signalisation qui en découlent sont anormales et hypersensible (Mathian, A et *al.*, 2014).

Les LT produisent moins d'IL-2, ce qui pourrait diminuer la mort cellulaire induite par l'activation et favoriser ainsi la survie des lymphocytes T auto-réactifs. Les lymphocytes T CD8 ont un phénotype de cellules effectrice différenciée avec l'augmentation d'expression du HLA de classe 2 et des molécules de cytotoxicité. Ces cellules cytotoxiques pourraient induire des lésions tissulaires et augmenter le nombre de corps apoptotiques. Les lymphocytes T CD4 exercent un rôle pathogène par le biais d'une activité auxiliaire sur les lymphocytes B et T CD8 et par la sécrétion de différentes cytokines effectrices ou régulatrices (INF γ et IL-17) (Mathian, A et *al.*, 2014).

À ce titre, il a été clairement démontré que l'IL-17 agissait de fac, on synergique avec BLYS pour augmenter la survie, l'activation, la prolifération des lymphocytes B et leur différenciation en cellules productrices d'Ac dans le LES (Doreau *et al.*, 2009). La diminution du nombre de lymphocytes T régulateurs pourrait favoriser l'auto-immunité (Miyara *et al.*, 2005).

1.6.2 Implication de l'immunité innée

a-Gènes des cytokines

La production et le polymorphisme des cytokines ont été particulièrement étudiés dans le lupus ces dernières années (Magnusson V et *al.*, 2001)Une prédominance de la production de certaines cytokines a été observée dans la maladie lupique, en particulier une hyperproduction de l'interleukine 10 (IL-10), du récepteur antagoniste de l'interleukine 1(IL-1Ra), de l'interleukine 6 (IL-6) et de l'interleukine 4 (IL-4). Chacun des gènes codant pour ces cytokines, possède un polymorphisme souvent fonctionnel, qui a fait l'objet de nombreux travaux, avec des résultats variables. Deux cytokines ont été particulièrement étudiées, L'IL-10 et l'interféron INF, l'augmentation du taux de production de ces cytokines est observée chez les patients lupiques et elle semble corrélée d'une part à l'activité de la maladie lupique et d'autre part au taux des anticorps anti-DNA(Sullivan KE, 2000).

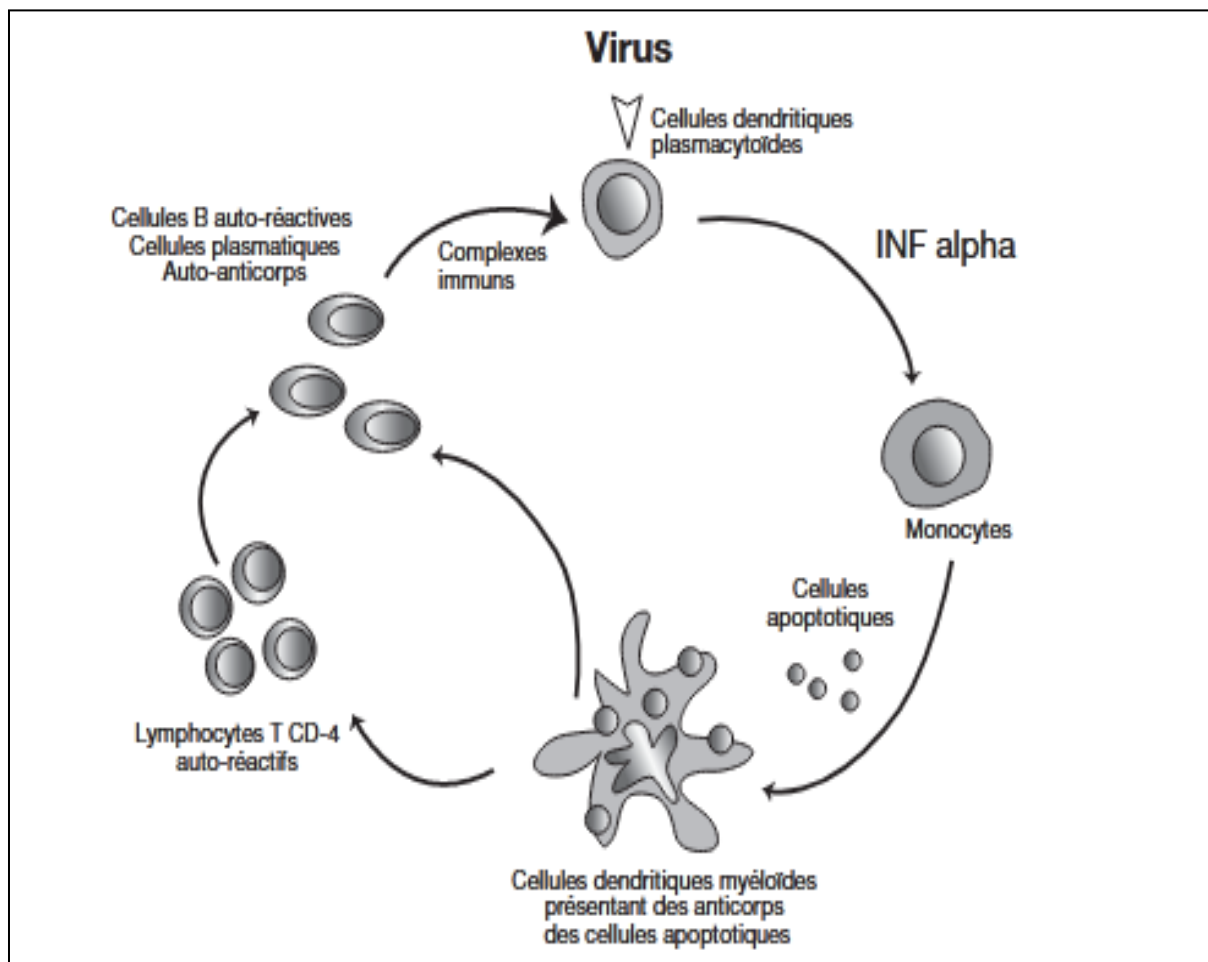


Figure.2 Implication de l'immunité innée dans la physiopathologie du lupus : rôle central des cellules dendritiques. Les cellules dendritiques plasmacytoïdes sont capables de sécréter de grande quantité d'IFN-alpha lorsqu'elles sont activées (par exemple par un stimulus viral ou la présence de complexes immuns contenant du matériel nucléaire). Cette sécrétion induit la différenciation des monocytes circulants en cellules dendritiques capable de phagocyter du matériel nucléaire et favorise la présentation de ce dernier aux cellules T CD4+ et CD8+. L'IFN-alpha permet aussi la production d'auto-anticorps en favorisant la différenciation des cellules B en plasmocytes. La formation de complexes immuns auto-anticorps-matériel nucléaire augmente encore la production d'IFN-alpha par les cellules dendritiques plasmacytoïdes entraînant ainsi l'amplification du processus auto-immun.**Contin-Bordes, C et al .,2009**

b-Cellules dendritiques

Les cellules dendritiques sont des cellules présentatrices d'antigènes professionnelles qui, sous leurs forme immature, contrôlent la tolérance périphérique et qui, sous leur formes activée et mature, déclenchent l'activation des lymphocytes T. dans le lupus érythémateux systémique les monocytes acquièrent de façon anormale, des fonctions de cellules dendritique activées et matures. Ils exercent une pression activatrice constante sur les lymphocytes T et la présentation excessive d'auto-Ag peut alors induire l'activation de lymphocyte T auto-réactifs. L'activation et la différenciation des monocytes dans le LES est secondaire à la surexpression de interféron alpha (Mathian, A et al ., 2014). Ce dernier, est capable d'induire la différenciation des monocytes circulants en cellules dendritiques myéloïdes dont le rôle consiste à capter l'antigène et à le présenter aux cellules T CD4 et aux cellules B productrices des auto-anticorps (Banchereau *et al .*, 2006)(**Figure.2**).

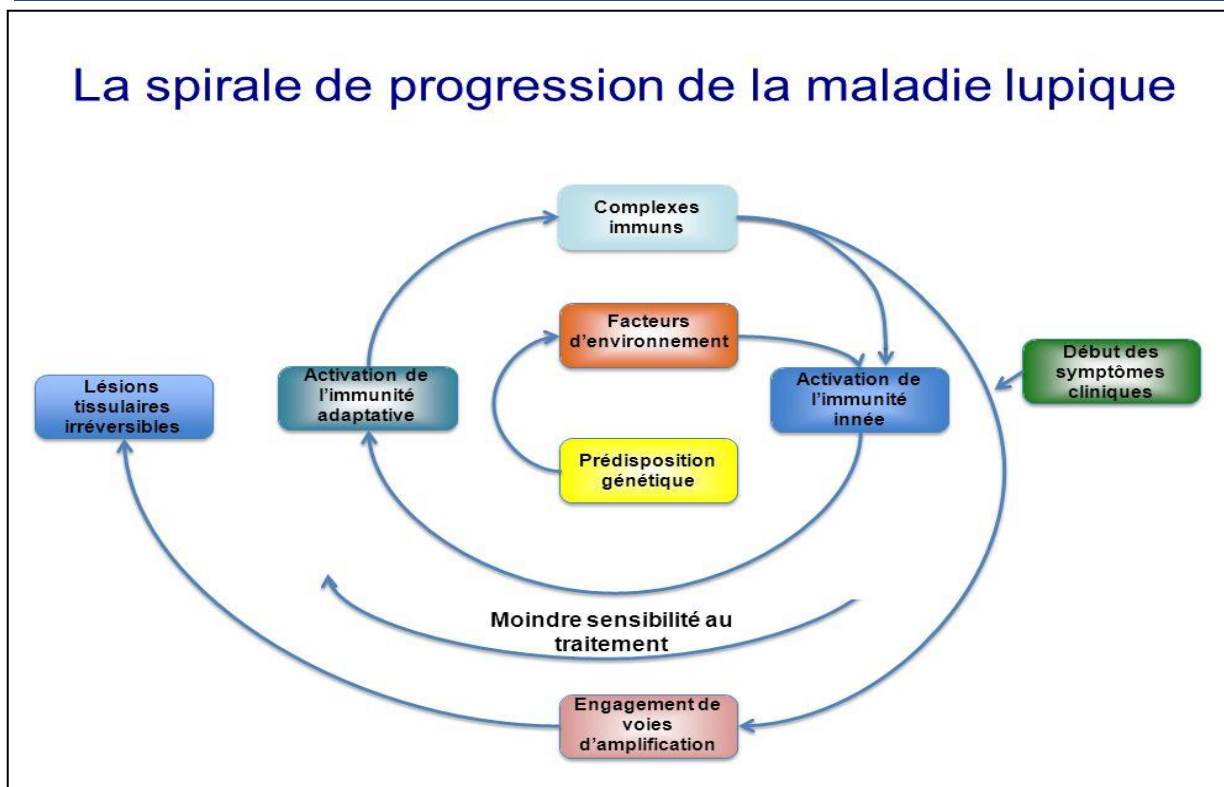


Figure. 3 une spirale de progression de la maladie lupique qui implique plusieurs facteurs (Estibaliz Lazaro ,2013). (<https://slideplayer.fr/slide/1185188/>)

La spirale de progression représenté en haut est une spirale qui résume l'implication des facteurs génétiques et des facteurs environnementaux, hormonaux et immunologiques dans la pathogénèse et la manifestation du LES.(**Figure.3**).

1.7 Traitement

Le Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) dirigé par le Professeur Zahir AMOURA sous l'égide et avec le partenariat de la Filière de Santé des Maladies Auto-Immunes et Auto-Inflammatoires Rares et avec une meilleure connaissance de la maladie et notamment de la physiopathologie a permis un net progrès dans la prise en charge thérapeutique du LES et ainsi une amélioration du pronostic vital. Cependant, il n'existe pas encore de traitement permettant une guérison définitive du lupus érythémateux.

Les objectifs thérapeutiques du LES sont :

- ✓ à court terme : assurer le confort quotidien, préserver les fonctions vitales dans les poussées graves.
- ✓ à moyen terme : s'opposer à l'évolution prévisible des atteintes viscérales, prévenir les poussées, empêcher les récives thrombotiques, préserver l'insertion socioprofessionnelle.

- ✓ à long terme : limiter les séquelles de LES et les effets délétères des traitements.

Plusieurs médicaments sont utilisés dans le but de prévenir les complications et de traiter les principaux symptômes de la maladie. Le but principal du traitement est de réduire l'inflammation, responsable de la plupart des symptômes du LES, et d'obtenir la rémission.

Dans le cas de lupus érythémateux, les principaux médicaments utilisés sont :

- L'aspirine à fortes doses ;
- La cortisone et autres corticoïdes (prednisone et méthylprednisolone) ;
- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens ;
- Les immunosuppresseurs (cyclophosphamide, azathioprine et mycophénolate mofétil) ;
- Les anticorps monoclonaux ;
- Les anti-paludéens (hydroxychloroquine).

Récemment, de **nouveaux traitements à base de biothérapies** (anticorps monoclonaux comme le Belimumab ou le Rituximab) qui ciblent directement les lymphocytes B sont venus enrichir l'arsenal des médicaments prescrits. Ces médicaments modulent l'immunité au lieu de la supprimer. Parfois des **perfusions d'immunoglobulines** sont proposées à certains patients résistants aux traitements. Un **nouveau traitement (Interféron alpha)** dont le but est d'inhiber l'action de l'interféron est actuellement en cours d'étude

Récemment, le Pr Sylviane Muller a mis a point avec son équipe de chercheurs un **nouveau médicament, le "Lupuzor"**, mis sur le marché en 2018. *"Il s'agit d'un peptide immunomodulateur du système immunitaire auto réactif qui interfère en amont avec les lymphocytes T. Il réduit ainsi l'activation des lymphocytes B générant les autoanticorps pathogènes. Il n'agit pas comme un immunosuppresseur, n'affecte pas la globalité du système immunitaire et ne présente aucun effet secondaire"*, explique le Pr Sylviane Muller.

Pour éviter les poussées et favoriser une meilleure qualité de vie l'éducation thérapeutique est un élément-clé de la prise en charge pour cela il faut :

- ✓ Eviter les UV et les expositions au soleil ;
- ✓ Arrêter de fumer ;
- ✓ Adopter une alimentation équilibrée ;
- ✓ Faire de l'exercice si possible y compris de la marche rapide ;

- ✓ Adopter une technique de relaxation pour diminuer le stress et l'anxiété ;
- ✓ Veiller à bien dormir.

Après avoir cité de manière générale les différents facteurs du lupus érythémateux systémique ainsi que les différents titres de ce volet , on va se focaliser sur l'élaboration de notre thématique qui est un facteur parmi les facteurs déjà citer auparavant, les polymorphismes touchant quelques gènes qui influencent l'expression d'une cytokine dont le rôle est très important dans le déclenchement et la manifestation du lupus érythémateux systémique, **l'interféron** et son implication dans la pathogénèse du LES .

***Chapitre II : L'implication de l'interféron dans le
Lupus Erythémateux Systémique***

Chapitre II L'implication de l'interféron dans le Lupus Erythémateux Systémique

1 Interféron

Les interférons (abrégiés IFN) sont des glycoprotéines de la famille des cytokines à structure hélicale (des molécules de signalisation contrôlant le système immunitaire). Ils ont été découverts en 1957 par Isaacs et Lindenmann, qui ont remarqué que des cellules de poulet infectées par le virus de la grippe produisaient un facteur permettant à d'autres cellules de devenir résistantes à ce virus (Isaacs A., Lindenmann J.1957). Ce facteur fut nommé interféron, car il permet l'interférence virale, c'est-à-dire l'acquisition de la résistance à un virus par une cellule. Il a été mis en évidence par la suite que ce facteur était en réalité composé de différentes protéines de la même famille, dont on a découvert qu'elles jouent des rôles variés chez les vertébrés.

Les IFN possèdent en effet de nombreuses autres propriétés : inhibition de la croissance cellulaire, effets complexes sur la différenciation cellulaire, effets immuno-modulateurs, effets hormonaux, induction spécifique de systèmes enzymatiques particuliers et des antigènes d'histocompatibilités, etc. Tout cela laisse entrevoir que le rôle *in vivo* de ces cytokines est beaucoup plus complexe (F. Lefèvre, 1988).

A ce jour, 3 types d'IFN ont été distingués : IFN-I en 1965 (Wheelock, E.F, 1965) et les IFN-III en 2003 (Kotenko, S.V., et al .,2003 et Sheppard, P., et *al.*, 2003), ces derniers diffèrent par le récepteur hétérodimérique sur lequel ils se fixent :

- Interferon - α / β receptor(IFNAR 1 et IFNAR 2) pour les IFN-I.
- Interferon- γ receptor (IFNGR1 et IFNGR 2) pour l'IFN-II.
- Interferon - λ receptor (IFNLR 1 et IL10R2) sous-unité partagée avec le récepteur à l'interleukine 1 (IL-10) pour les IFN-III

Selon l'analyse phylogénétique des IFN chez les vertébrés, les IFN-I et les IFN-III sont plus proches entre eux par rapport à l'IFN-II (Pestka, S et *al.* , 2004), cette similitude se retrouve au niveau des principales voie de signalisation (JAK/STAT) activées par les différents types d'IFN (Schneider, W.M et al ., 2014).

- Hétérodimère de STAT1- STAT2 phosphorylés par Jak1 et Tyk2, pour les IFN-I et IFN-III
- Homodimère de STAT1 phosphorylés par Jak1 et Jak2, pour l'IFN-II.

Dans notre mémoire Nous nous sommes focalisés sur les polymorphismes touchant les gènes qui influencent l'expression L'IFN-I dans Le lupus érythémateux systémique, auxquels seront consacrés les prochains titres.

2 INF-I :

Les IFN-I peuvent être synthétisés par toutes les cellules nucléées de l'organisme et peuvent agir sur toutes les cellules nucléées de l'organisme. Cependant, l'activité des IFN-I, bien que très diverse, peut varier d'un type cellulaire à l'autre. Si les IFN-I ont des effets bénéfiques qui ont conduit à leur large utilisation thérapeutique, ils sont aussi dotés d'effets délétères.

Les IFN de type I (IFN-I) sont les premiers types d'IFN à avoir été caractérisés, sont les IFN les plus largement utilisés à visée thérapeutique.

Parmi les IFN de type I, l'IFN- β peut être produit par presque toutes les cellules et la libération de cette cytokine sert à amorcer ou à amplifier l'IFN de type I par d'autres cellules, en particulier les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC) qui sont les principaux producteurs d'IFN- α (Swiecki et Colonna,2010). Les 13 IFN de type I, chacun codé par un gène distinct sur le chromosome 9, ainsi que le signal IFN- β via un récepteur hétérodimère commun, le récepteur IFN- α (IFNAR). L'IFNAR est composé de 2 chaînes (IFNAR1 et IFNAR2) qui signalent via Jak1-Tyk2 et un transducteur de signal et activateur de la protéine de transcription 1 (STAT1) (Uze et *al.*,2007).

Les IFN de type I sont importants pour la protection contre les infections virales avec des effets puissants sur les réponses immunitaires innées et adaptatives, mais jouent également un rôle dans la régulation de la croissance cellulaire (Fitzgerald-Bocarsly et *al.*, 2008). Agissant comme un adjuvant immunitaire, l'IFN- α augmente la survie et l'activation des CD et induit une régulation positive du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et des molécules de costimulation telles que CD40 et CD86. L'IFN induit également les CD à promouvoir la sécrétion de BlyS et d'APRIL, ce qui, à son tour, entraîne une augmentation de la survie, de la différenciation et de la commutation de classe isotypique des cellules B. Les IFN de type I affectent directement les cellules T en augmentant la survie, l'activation et l'amorçage croisé ainsi qu'en favorisant la différenciation Th1 (Baccala et *al.*,2007).

2.1 INF de type I dans la pathogenèse du LES

On sait depuis un certain temps qu'il existe des taux élevés d'IFN dans le sérum des patients atteints de LES et que cette élévation est corrélée à l'activité de la maladie (Hooks et *al.*, 1979 ; Ytterberg et Schnitzer 1982). Des preuves supplémentaires que les IFN peuvent avoir un rôle pathogène dans le développement du LES sont venues de l'observation que certains patients qui ont été traités avec des IFN de type I pour une malignité ou des infections chroniques ont développé un syndrome de type lupus qui ne pouvait pas être distingué du LES spontané (Ronblom et *al.*, 1991) ; (Sanchez Roman et *al.*, 1994). Plus récemment, plusieurs groupes ont montré grâce à l'analyse des puces à ADN que les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) de patients atteints de LES surexpriment un grand nombre de gènes stimulés par l'IFN (Baechler et *al.* 2003 ; Bennett et *al.* 2003). Cette découverte a considérablement attiré l'attention sur l'IFN de type I dans le LES.

2.1.1 IFN-alpha et cellules dendritiques et dans la pathogenèse du LES

Les monocytes normaux sont inefficaces pour initier une réponse immune primaire sauf s'ils sont différenciés en cellules dendritiques. Les chercheurs ont pu montrer que les monocytes des patients affectés de LES étaient capables d'induire la prolifération de lymphocytes T CD4+ allogéniques naïfs (Blanco et *al.*, 2001). Ces résultats suggéraient d'une part que les monocytes de patients lupiques se comportaient comme des CD et d'autre part que le sérum des patients contenait une cytokine capable d'induire la différenciation des monocytes en cellules présentatrices d'antigène professionnelles. De manière intéressante, il a été montré que dans le sang périphérique de patients affectés de LES, il existait une diminution importante des pCD CD11c-CD123+ qui d'ailleurs sont recrutées de manière préférentielle au niveau des lésions cutanées spécifiques du LES (Blomberg et *al.*, 2001). Il est également connu depuis de nombreuses années que l'interféron-alpha (IFN- α) est présent en grande quantité dans le sérum de patients lupiques et que sa quantité est corrélée à l'activité de la maladie (Gill et *al.* 2002). Ils ont pu alors montrer que le facteur soluble induisant la différenciation des monocytes en cellules dendritiques était bien l'IFN-alpha. Nous avons également montré que ces CD étaient capables de phagocyter du matériel nucléaire et de présenter des autoantigènes aux lymphocytes T. Une autre équipe a en outre démontré que le sérum de patients lupiques contenait « un inducteur d'IFN-alpha » agissant sur les des pCD CD11cCD123 (Ronblom et *al.*, 2001). En effet, les complexes immuns, nucléosome-anti nucléosome ou corps apoptotiques-anti-ADN sont capables d'induire la sécrétion de grandes quantités d'IFN alpha en raison de leur fixation

via le CD32 sur les cellules dendritiques de type plasmacytoïdes (Batteux et *al.*,1999). Il n'a pas encore été formellement démontré que Toll-receptor 9 présent dans le cytoplasme des CD lymphoïdes était impliqué ; néanmoins des résultats récents obtenus dans un modèle murin le laisse fortement penser (Vigliant et *al.*,2003). L'ensemble de ces résultats récents font donc jouer un rôle clé à l'interféron et aux cellules dendritiques pour expliquer la rupture de tolérance envers les antigènes nucléaires caractéristiques du LES. Tous ces résultats sont corroborés par les expériences menées dans des modèles murins où l'IFN-alpha aggrave le LES (Heremans et *al.*,1978) et où, à l'inverse, l'inactivation du gène pour le récepteur des interférons de type I retarde considérablement les lésions spécifiques de la maladie auto-immune (Santiago et *al.*,2003). Il est troublant de constater que lorsque l'on injecte de l'IFN-alpha à un patient, par exemple pour une maladie virale, on peut observer de la fièvre, différentes manifestations neuropsychiatriques (psychose, dépression, épilepsie), une asthénie, une alopecie, des polyarthralgies et myalgies, des ulcères muqueux, une leucopénie, une cytopénie auto-immune et des anticorps anti noyaux...., autant de signes que l'on peut rencontrer au cours du LES et qui pour certains n'ont pas d'explication évidentes après explorations complémentaires (exemple des IRM cérébrales et dépression). D'ailleurs l'IFN-alpha peut induire d'authentiques lupus avec atteintes rénales (Ehrenstein et *al.*,1993). Un argument supplémentaire a pu être tout récemment apporté en utilisant la technique de « gene array ». Cette dernière a mis en évidence l'augmentation de l'expression des gènes était liée à l'IFN-alpha (Baechler et *al.*,2003). Cette signature « IFN alpha » était présente chez tous les patients lupiques, ce qui renforce l'idée que l'IFN-alpha constitue une cible potentiellement très intéressante pour une immunothérapie.

2.1.2 IFN-alpha et lymphocytes B dans la pathogenèse du LES

Une des caractéristiques du LES est l'augmentation de production d'anticorps par des cellules plasmocytaires. De manière paradoxale les patients en poussée de leur maladie sont lymphopéniques (lymphopénie B et T) mais ont dans le sang périphérique une augmentation de la proportion de cellules de type « plasmablaste » (CD38+CD20-CD19+) (Odendahl et *al.*,2000). Or, l'IFN-alpha induit l'expression de CD38 *in vitro* sur les lymphocytes B IgD+ (Galiber et *al.*,1996). De plus, récemment, l'équipe de J. Banchereau a montré que l'interaction entre les cellules dendritiques de type plasmacytoïde activées par un virus et des lymphocytes B autologues était capable de favoriser la différenciation des lymphocytes B en cellules plasmocytaires et de ce fait d'augmenter la production d'anticorps de manière polyclonale. Ils montrent que ce mécanisme est partiellement dépendant de l'IFN-alpha . Au total, l'ensemble

de ces résultats suggère que l'activation des pDC lymphoïdes pourrait être responsable des anomalies phénotypiques et fonctionnelles des lymphocytes B observées au cours du LES. De plus, l'activation des cellules dendritiques myéloïdes est capable d'activer directement les lymphocytes B via un mécanisme dépendant de BAFF/Blys, tout récemment impliqué dans la physiopathologie de certaines maladies auto-immunes dont le LES (Litinskiy et *al.*,2002).

2.1.3 IFN-alpha et lymphocytes T CD8+ dans la pathogenèse du LES

Depuis plusieurs années les chercheurs travaillent sur le rôle potentiel des lymphocytes T CD8+ dans la physiopathologie du LES. Ils ont déjà montré que l'augmentation du pourcentage de lymphocytes T CD8+ exprimant le HLA-DR était corrélé à l'activité de la maladie évaluée par un score d'activité, comme par exemple, le SLEDAI (Viallard et *al.*,2001) Ils ont phénotypé plus précisément ces lymphocytes en montrant qu'ils étaient effecteurs cytotoxiques en se fondant sur l'expression intracellulaire du granzyme B et de la perforine ainsi que sur l'expression membranaire des marqueurs CCR7 et CD45RA. Ils montrent aussi que ces lymphocytes sont fonctionnels, capables de lyser des cellules cibles et de générer de grandes quantité de nucléosome et des fragments auto antigéniques uniques reconnus par les autoanticorps présents dans le sérum de patients et considérés comme potentiellement impliqués dans la rupture de tolérance aux antigènes nucléaires (Casciola et *al.*,1999). Ces lymphocytes pourraient être responsables directement de certaines lésions rencontrées dans le LES. En effet chez des patients affectés de neurolupus et présentant des lésions diffuses de la substance blanche, il existe une expansion de lymphocytes T auto réactifs dirigés contre différentes protéines de la myéline. Cette population de lymphocytes T spécifiques n'est pas retrouvée chez des patients indemnes de lésion neurologique et cette population disparaît après traitement par immunosuppresseur. Des cellules dendritiques obtenus à partir de la différenciation de monocytes normaux en présence de sérum de patients actifs, ont la capacité unique d'activer des lymphocytes T allogéniques et de reproduire le phénotype des lymphocytes de ceux observés chez les malades. En bloquant l'IFN-alpha, dans le sérum de patients lupiques, nous diminuons de manière significative l'activation des lymphocytes allogéniques.

2.1.4 L'IFN- γ dans la pathogenèse du LES

L'IFN- γ est produit par les cellules immunitaires, en particulier les cellules NK et les cellules T, qui sont impliquées à la fois dans les systèmes immunitaires innés et acquis. Cette cytokine est connue pour exercer des capacités antivirales, contribuer à l'activité des

lymphocytes T cytotoxiques, activer les macrophages et être associée aux réponses T helperII a été démontré que la production d'IFN- γ est diminuée dans le LES (Ohl et *al.*,2011).

Les systèmes immunitaires innés et adaptatifs sont tous les deux impliqués dans physiopathologie du lupus systémique (Mathian, A., Arnaud, L., & Amoura, Z. 2014) (Figure.4).

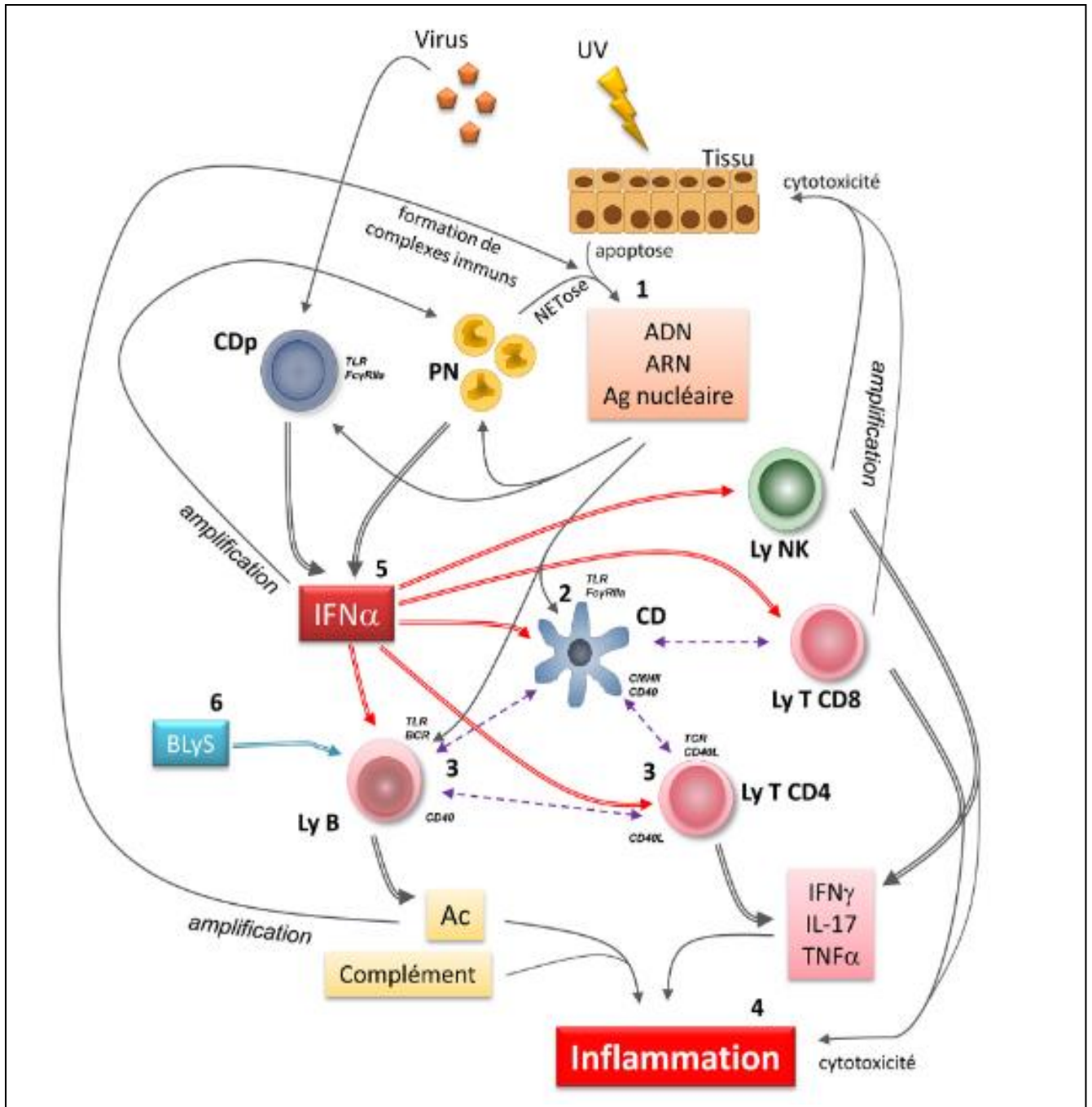


Figure 4 : Récapitulation de physiopathologie du lupus systémique

1-un excès de production et/ou un défaut de clairance des cellules en apoptose induit l'accumulation de débris cellulaires (corps apoptotiques, ADN, ARN et protéines nucléaires). Les polynucléaires neutrophiles fournissent une seconde source d'auto-Ag ;

2-les cellules dendritiques captent ces auto-Ag et activent les lymphocytes T auto-réactifs qui facilitent et contrôlent l'activation et la sécrétion d'auto-Ac par les lymphocytes B ;

3-les cellules dendritiques, les lymphocytes T CD4 et CD8 et les lymphocytes B interagissent par l'intermédiaire de molécules de co-stimulation ;

4-le dépôt tissulaire de complexes immuns, l'activation du complément, la sécrétion de cytokine et la cytotoxicité lymphocytaire induisent l'inflammation tissulaire ;

5-l'IFN α est la cytokine chef d'orchestre de la réaction auto-immune. Il est produit par les cellules dendritiques plasmacytoïdes et les polynucléaires neutrophiles exposés à différents matériels nucléaires seuls ou sous la forme de complexes immuns. Il active de nombreuses cellules immunitaires ;

6-BLyS augmente la survie et la sélection des lymphocytes B immatures auto-réactifs, la survie, l'activation et la prolifération des lymphocytes B matures et la production des plasmoblastes et des plasmocytes auto-réactifs. Des boucles de régulation entretiennent et amplifient la réaction auto-immune.

NET : *neutrophil extracellular trap* ; CD : cellule dendritique ; CDp : cellule dendritique plasmacytoïde ; Ly : lymphocytes ; PN : polynucléaire neutrophile ; TLR : récepteur de type Toll ; BCR : récepteur du lymphocyte B ; TCR : récepteur du lymphocyte T ; Fc γ RIIa : récepteur pour le fragment Fc γ IIa ; BLyS : B-Lymphocyte Stimulator ; IFN α : interféron alpha ; IFN γ : interféron gamma ; IL-17 : interleukine-17 ; TNF α : tumor necrosis factor alpha ; Ac : anticorps.

(Mathian, A., Arnaud, L., & Amoura, Z. 2014).

2.2 Une nouvelle façon de concevoir la physiopathologie du LES via l'IFN-alpha

Les études récentes font jouer à l'IFN-alpha un rôle important dans la physiopathologie du LES via l'activation du système des cellules dendritiques. Cette phase est probablement importante dans le phénomène de rupture de tolérance puisqu'il a été montré tout récemment que les CD immatures jouaient un rôle déterminant dans la tolérance périphérique et que leurs maturations favorisaient l'éclosion de maladies auto-immunes (MacLellan et *al.*,2003). Cette maturation pourrait être induite par le CD40-L trouvé en grande quantité dans le sérum de patients lupiques et dont l'hyper-expression chez la souris est responsable de manifestations auto-immunes ressemblant à un lupus (Koshy et *al.*,1996). Ces CD activées seraient ainsi capables de phagocyter des nucléosomes trouvés en grande quantité, correspondant à des débris cellulaires produits par l'action des lymphocytes T cytotoxiques. Ces débris nucléosomiques sont d'autant plus nombreux dans le lupus qu'il existe des anomalies d'élimination des corps apoptotiques (en partie liées aux déficits en complément ou à des anomalies de Fcc R). Ainsi, les CD sont donc capables de présenter ces débris auto-antigéniques en « excès » à des lymphocytes auto réactifs qui vont induire et perpétuer les manifestations auto-immunes. Nous voyons qu'il s'installe alors un cercle vicieux entretenant la réponse auto-immune et où l'IFN-alpha et les cellules dendritiques occupent une position centrale (**Figure.5**).

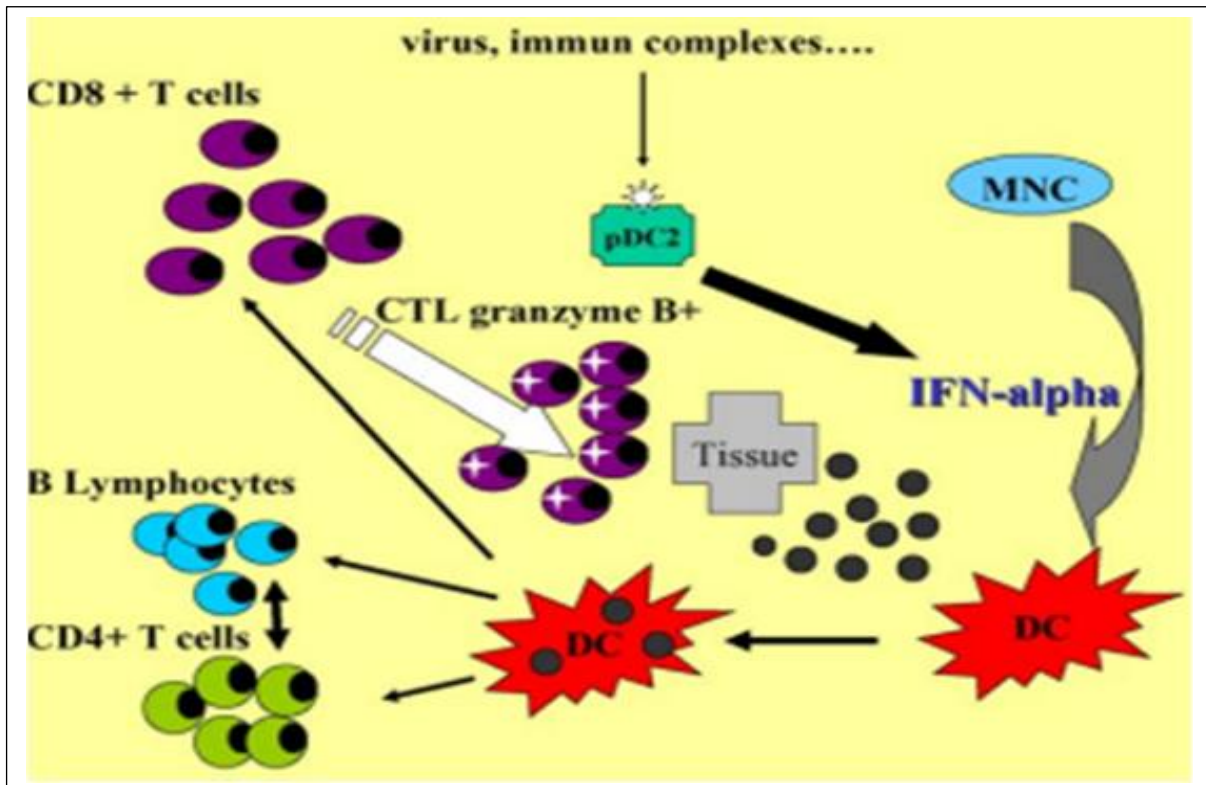


Figure 5. Rôle des cellules dendritiques et de l'IFNa dans la pathologie du lupus.

La physiopathologie de la maladie lupique correspond à un cercle vicieux où l'interféron (IFN)-alpha sécrété en grande quantité par les cellules dendritiques (CD) de type plasmacytoïde (PDC2) induit l'activation des CD de type myéloïde ayant phagocyté des corps apoptotiques. Ces dernières vont présenter des antigènes d'origine nucléaire aux lymphocytes T CD4+ et aux lymphocytes B. La sécrétion d'anticorps anti-ADN par les lymphocytes B va permettre la formation de complexes immuns qui vont à leur tour activer les cellules dendritiques et leur faire sécréter l'IFN-alpha. Ce dernier induit aussi l'activation de lymphocytes T CD8+ cytotoxiques capables de générer de grandes quantités de matériel nucléaire susceptible d'être encore phagocyté par les CD myéloïdes. MNC : monocyte. DC : cellules dendritiques. pDC2 : cellules dendritiques plasmacytoïdes. CTL : lymphocyte T cytotoxique. (Patrick et al., 2005)

2.3 Contributions génétiques à l'activation de la voie INF de type I dans le LES

Parmi les observations qui ont émergé des études d'association pangénomique (GWAS) de patients atteints de lupus, il y a l'observation que de nombreuses variantes génétiques associées au LES codent pour des protéines impliquées dans l'activation ou la régulation de la réponse immunitaire innée (Deng *et al.*,2010). Certains contribuent à la disponibilité de stimuli immunitaires endogènes, un certain nombre régulent les voies qui interviennent dans la production d'IFN-I et certains régulent la réponse cellulaire à l'IFN-I. L'augmentation de l'IFN-I est un facteur de risque génétiquement conféré pour le développement du LES a été montré dans des études familiales (Niewold *et al.*, 2007).

D'autres variantes génétiques associées au LES codent pour des protéines susceptibles de réguler l'efficacité de la présentation de l'antigène, les seuils d'activation des lymphocytes T ou B ou l'efficacité de la signalisation intracellulaire dans ces cellules, et d'autres régulent probablement la vulnérabilité des tissus aux blessures ou aux mécanismes de réparation (Dai *et al.*,2013).

2.3.1 Les gènes qui influencent l'expression de l'INF impliqués dans le LES

Depuis la découverte de la signature du gène IFN dans le LES, un certain nombre d'études de gènes candidats ont été réalisées pour analyser les gènes impliqués dans la voie IFN de type I. Parmi les gènes et les loci génétiques associés au LES figurent TLR7, IFN-regulatory factor 5 (IRF5), IRF7, IRAK1 et TNFAIP3,PTPN22 ,codant pour un régulateur de la voie NFκB activé par les TLR endosomaux (**Figure.6**).

D'autres associations génétiques impliquent la signalisation déclenchée par le récepteur IFN de type I (IFNAR) dans l'augmentation de l'expression des STAT4 et TYK2 codent pour des composants de la voie de signalisation qui induit la transcription.

2.3.1.1 PTPN22

PTPN22 code pour la tyrosine-protéine phosphatase non-récepteur de type 22 (PTPN22), une phosphatase spécifique des lymphoïdes qui inhibe l'activation des lymphocytes T (Cohen *et al.*,1999) Le SNP non synonyme rs2476601 (Arg620Trp) est associé à un risque de développer plusieurs maladies auto-immunes, y compris le LES,(Gregersen *et al.*,2009) fournissant des preuves de mécanismes partagés entre ces maladies malgré les différences dans les manifestations de la maladie. Les GWAS du LES ont confirmé l'association entre rs2476601

et le LES dans les populations d'origine européenne, (Gatevaet *al.*,2008) mais pas dans les populations d'origine asiatique ,(Han et *al.*,2009) peut-être attribuable à une plus grande variabilité des fréquences alléliques dans les populations européennes (2-15%). (Gregersen et *al.*,2009) La substitution Arg620Trp augmente l'activité intrinsèque de la phosphatase spécifique aux lymphoïdes de PTPN22, ce qui réduit le seuil de signalisation du récepteur des cellules T (TCR) et favorise l'auto-immunité.(Bottini et *al.*,2004) En revanche, un variant de PTPN22 (Arg263Gln dans le domaine catalytique) qui réduit l'activité phosphatase de PTPN22 et, par conséquent, augmente le seuil de signalisation du TCR a été associé à une protection contre le LES dans les populations d'origine européenne. (Orrú et *al.*,2009) Une connexion entre PTPN22 et la voie IFN de type I a été suggérée sur la base d'une activité élevée d'IFN- α sérique et d'une diminution des taux de facteur de nécrose tumorale (TNF) chez les patients atteints de LES portant l'allèle de risque rs2476601

2.3.1.2 IRF5

IRF5 est le gène en dehors du locus HLA qui est le plus fortement et systématiquement associé au LES (Kyogoku et Tsuchiya,2007). La famille IRF est composée de 9 gènes (*IRF1-9*) qui reconnaissent une séquence d'ADN appelée amplificateur IRF, qui se trouve fréquemment dans la région du promoteur en amont d'un certain nombre d'ISG. *IRF5* et *IRF7* sont activés lors de la signalisation TLR7 et 9, entraînant la production d'IFN de type I (Kyogoku et Tsuchiya,2007). (Sigurdsson et *al.*, 2005) ont d'abord observé une association avec *IRF5* et *TYK2* (tyrosine kinase 2) dans une étude de liaison de patients atteints de LES de Suède, de Finlande et d'Islande. Depuis, *IRF5* les associations avec le LES ont été reproduites par de nombreux autres groupes, principalement dans les populations européennes, mais aussi dans une moindre mesure chez les patients hispaniques, asiatiques et afro-américains (Lee et Bae 2010 ; Sestak et *al.*, 2011). À ce jour, 4 variantes fonctionnelles de l' *IRF5* ont été identifiées qui définissent à la fois les haplotypes de risque et de protection dans le LES (Graham et *al.* ,2006 , 2007). Dans les populations européennes, les variantes d' *IRF5* avec les plus fortes probabilités d'être causales dans le LES sont un SNP (rs10488631) situé en 3' de l' *IRF5* et un polymorphisme d'insertion-délétion CGGGG situé à 64 paires de bases en amont du premier exon non traduit de l' *IRF5*.(Sigurdsson et *al.*, 2008). Plusieurs groupes ont signalé que les patients atteints de LES porteurs d'haplotypes à risque pour l' *IRF5* ont une activité IFN- α sérique plus élevée (Niewold et *al.*,2007 ; Rullo et *al.*,2010), et cet effet peut être plus important chez les patients présentant une protéine de liaison anti-ARN (RBP) ou anticorps

anti-ADNdb. Il convient de noter que l'IRF5 est également impliquée dans l'activation des lymphocytes B et la production d'IL-12 par les cellules du système immunitaire inné.

2.3.1.3 STAT4

STAT4 code le transducteur de signal et l'activateur de la protéine de transcription 4 (STAT4) et s'est avéré associé au LES dans plusieurs GWAS utilisant des populations d'ascendance européenne ou asiatique. Comme dans les études précédentes sur les gènes candidats, l'allèle T mineur de rs7574865, dans le troisième intron de *STAT4*, est fortement associé au LES avec un rapport de cotes de 1,5 à 1,7.(Harley et al.,2008) Fait intéressant, cette variante de risque rs7574865 est associée à un phénotype de LES plus sévère qui se caractérise par l'apparition de la maladie à un jeune âge (< 30 ans), une fréquence élevée de néphrite, la présence de des anticorps dirigés contre l'ADN double brin,(Sigurdsson et al.,2008) et une sensibilité accrue à la signalisation IFN- α dans les cellules mononucléées du sang périphérique. Études pour identifier les variantes causales de *STAT4* conduit à la découverte de plusieurs marqueurs qui sont indépendamment associés au LES et/ou à des niveaux différentiels d'expression de *STAT4* ; (Sigurdsson et al.,2008) un haplotype de risque (couvrant 73 kb du troisième intron au dix-septième exon de *STAT4*) commun aux Américains d'origine européenne, coréens et hispano-américains a également été identifié. Fonctionnellement, l'IFN de type I ou l'interleukine (IL)-12 induit la phosphorylation de STAT4, qui a un rôle de transduction du signal dans ces voies. Les individus porteurs d'un ou plusieurs allèles à risque d' *IRF5* et de *STAT4* présentent un risque accru de LES, ce qui suggère une interaction génétique entre ces deux gènes (Sigurdsson et al.,2008) .

2.3.1.4 IRAK1-MECP2 région

La kinase 1 associée au récepteur IL-1 (IRAK1 ; codée par *IRAK1*), une protéine kinase sérine-thréonine, régule de multiples voies dans les réponses immunitaires innées et adaptatives en liant plusieurs complexes de récepteurs immunitaires au facteur 6 associé au récepteur TNF. (Kollewe et al.,2004). Dans les modèles murins de lupus, *Irak1* régule le facteur nucléaire κ B (NF κ B) dans la signalisation du TCR et l'activation du TLR, ainsi que l'induction de l'IFN- α et de l'IFN- γ (Jacob et al.,2009) impliquant IRAK1 dans le LES . Dans une étude portant sur quatre groupes ethniques différents, plusieurs SNP au sein d' *IRAK1* ont été associés à la fois au LES chez l'adulte et chez l'enfant.(Jacob et al.,2009)

Un autre gène de risque potentiel pour le LES, la methyl-CpG-bindingprotein 2 (*MECP2*), situé dans une région de LD avec *IRAK1* , joue un rôle essentiel dans la suppression transcriptionnelle des gènes sensibles à la méthylation.(Sawalha et *al.*,2008)Une vaste étude de réplication dans une population d'origine européenne a confirmé l'importance de cette région (*IRAK1-MECP2*) pour le LES, bien que des travaux supplémentaires soient nécessaires pour identifier les variantes causales. L'emplacement de *IRAK1* et *MECP2* sur le chromosome X soulève la possibilité que le biais sexiste du LES pourrait, en partie, être attribué aux gènes du chromosome sexuel.

2.3.1.5 TNFAIP3 , TNIP1

Deux protéines interagissant dans l'inflammation, la protéine 3 induite par le TNF α (TNFAIP3) et la protéine 1 interagissant avec le TNFAIP3 (TNIP1), ont été identifiées comme des loci de risque (Bates et *al.*,2009). TNFAIP3 code pour la protéine A20, qui aide à désactiver la signalisation via NFB après une réponse inflammatoire (Honma et *al.*,2009). TNIP1 interagissant avec TNFAIP3 est impliqué dans plusieurs voies de transduction du signal.

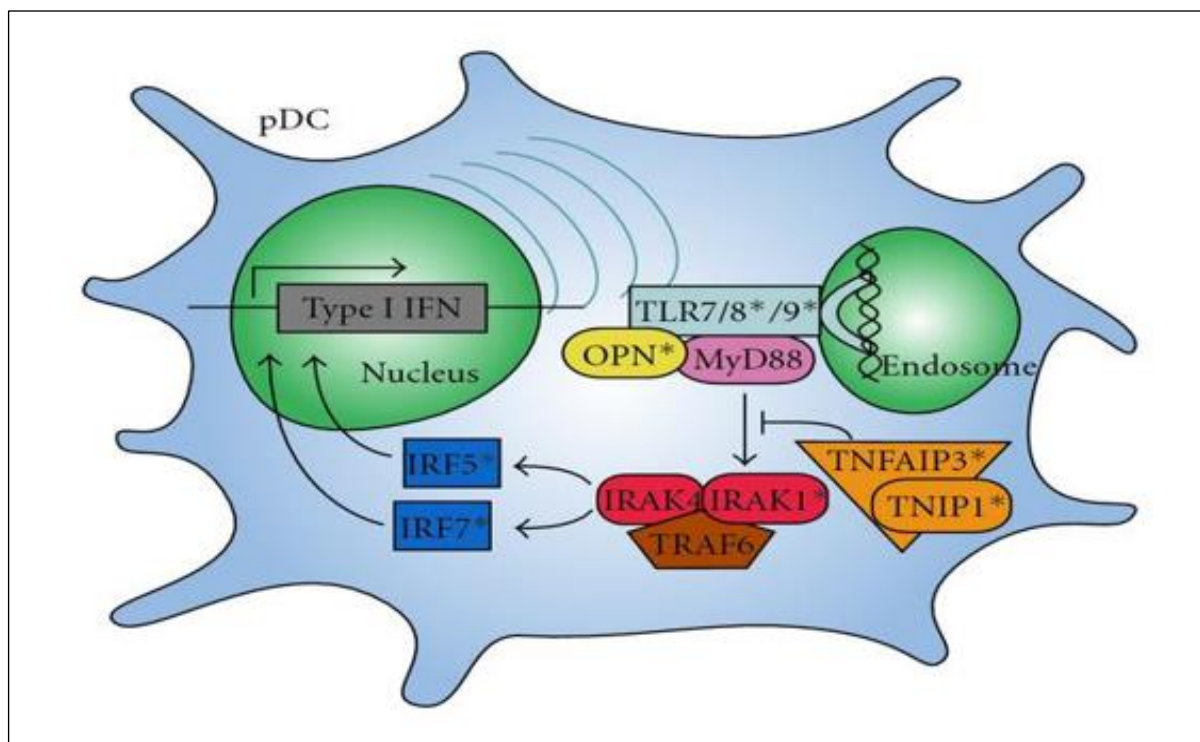


Figure.6 De multiples gènes impliqués dans la production et la régulation de l'interféron sont associés au risque de lupus.

La figure montre les composants de la voie de transduction du signal depuis la stimulation du TLR par les acides nucléiques jusqu'à la production d'IFN. Les gènes qui ont été associés au risque de lupus sont marqués (*). IFN : interféron, IRAK : kinase associée au récepteur de l'interleukine-1, IRF : facteur de régulation de l'interféron, MyD88 : gène de réponse primaire de différenciation myéloïde 88, OPN : ostéopontine, pDC : cellule dendritique plasmacytoïde, TLR : récepteur toll-like, TNFAIP3 : nécrose tumorale protéine 3 induite par le facteur alpha, TNIP1 : protéine 1 interagissant avec TNFAIP3 et TRAF6 : facteur 6 associé au récepteur du facteur de nécrose tumorale. (Timothy et al., 2010)

2.3.1.6 TLR7, 8 et 9

La famille Toll like Receptor (TLR) joue un rôle central dans le système immunitaire inné des mammifères et a été considérée dans l'équilibre de l'auto-immunité puisqu'elle active les cellules B auto réactives et les cellules dendritiques plasmacytoïdes par les ligands TLR (Dos et al., 2012). Les TLR sont des récepteurs de reconnaissance de formes très bien étudiés et les altérations du gène *TLR7/8/9* sont fréquemment associées au LES principalement en raison de leur activation de la production d'INF- α en tant que réponse antivirale. TLR7 et TLR8 reconnaissent l'ARN et TLR9 reconnaissent l'ADN (Xu et al., 2012). TLR7 et 9 sont exprimés

dans les cellules dendritiques B et plasmacytoïdes (pDC) et TLR8 est exprimé dans les cellules dérivées des monocytes, telles que les macrophages et les DC myéloïdes (mDC) (Xu et al.,2012) .

Le gène *TLR7* est situé sur le chromosome X (Xp22.3-p22.2) et contient le SNP rs179008, ce qui entraîne un changement d'un Gln (allèle A) à un Leu (allèle T) à la position 11 dans le peptide. Cet échange abrège la région N de la protéine *TLR7* et étend la région hydrophobe dans la séquence signal, altérant le traitement de *TLR7* . *TLR8* est situé sur le chromosome X, à 16 kb de *TLR7*, et semble être un déséquilibre de liaison entre eux (Møller et al.,2008). *TLR8* code deux variantes d'épissage (*TLR8v1* et *TLR8v2*) avec des sites de début de traduction alternatifs. En fait, *TLR7* et *TLR8* sont homologues et ont *TLR9* comme leur plus proche parent évolutif (Dos et al.,2012) . Le gène *TLR9* est situé sur le chromosome 3 (3p21.3) et possède deux polymorphismes capables de former les quatre haplotypes courants de *TLR9* : rs5743836 et rs352140 (Lazarus et al.,2003). L'expression de la protéine TLR9 est régulée par rs3764880, ce SNP particulier conduit à un échange A à G au niveau du premier codon, et l'allèle G est responsable de l'augmentation de la traduction de *TLR8v1* sans modification des niveaux d'ARNm ni même de la fonction protéique (Gantier et al.,2010).

Les TLR reconnaissant les acides nucléiques auto-dérivés peuvent contribuer à la pathogenèse de maladies auto-immunes, notamment le LES et en particulier la néphrite lupique. Les TLR sont exprimés dans les cellules rénales des patients diagnostiqués avec un LES. Dans la néphrite lupique, une lésion immunologique, provoquée par une attaque d'auto-anticorps, un dépôt de complexe immun et une lésion à médiation cellulaire, conduit à une infiltration des reins par les leucocytes. L'étude réalisée par Papadimitraki *et al.* , 2009, ont évalué l'expression de *TLR9* dans le tissu rénal de patients atteints de lupus par rapport à des individus sains. L'étude a montré pour la première fois la régulation positive de *TLR9* dans le glomérule de patients atteints de néphrite lupique (Papadimitraki et al.,2009). Dans la revue de Conti *et al.*, 2011, il a été montré que la signalisation des TLR est des composants clés de la néphrite lupique dans plusieurs modèles animaux (Conti et al.,2011) (**Figure.7**).

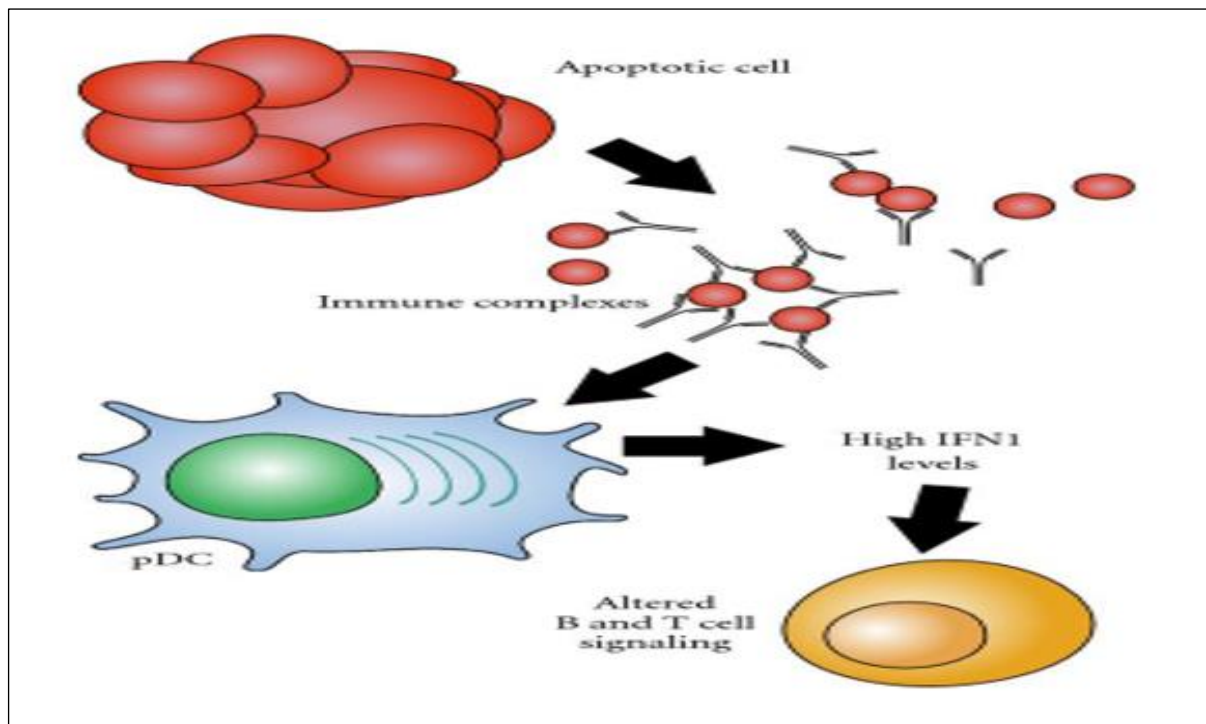


Figure.7 Source et effets putatifs de l'interféron alpha dans le lupus.

Les complexes contenant de l'ARN provenant de cellules apoptotiques sont liés par des auto-anticorps. Ces complexes immuns sont internalisés après liaison aux récepteurs FC sur les cellules dendritiques plasmacytoïdes et stimulent les récepteurs Toll-like dans les endosomes. La ligature du récepteur Toll-like entraîne la production d'interféron alpha, entraînant une altération des profils de cellules T, une perturbation des réseaux de cellules T régulatrices et une altération du développement des cellules B. (Timothy et al., 2010)

2.3.1.7 TYK2

La tyrosine kinase 2 (*TYK2*) est située sur le chromosome 19 (19p13.2), un locus de liaison pour le LES. *TYK2* phosphoryle les sous-unités réceptrices des récepteurs de cytokines, y compris les récepteurs IFN de type I, conduisant à une production accrue de gènes sensibles à l'IFN-1 (Cunninghame et al., 2011). Les taux sériques d'IFN- α chez les patients atteints de LES suivent les poussées d'activité de la maladie et l'expression de manifestations externes, telles qu'une éruption cutanée et de la fièvre (Qin et al., 2010). *TYK2* fait partie de la Janus kinase (JAK) qui se lie au récepteur de l'interféron (IFN)- α , IFNAR, à la surface cellulaire des cellules productrices d'IFN. Cette liaison conduit à la phosphorylation et à l'activation de *TYK2*. L'actif *TYK2* phosphoryle ensuite l'IFNAR pour permettre la liaison de STAT3 et STAT5. La production d'IFN de type I et la régulation des gènes inductibles par l'IFN jouent un rôle crucial

dans l'étiologie du LES. De plus, un niveau accru d'IFN- α est un phénotype bien connu chez les patients atteints de LES et est fortement corrélé à la fois à l'activité et à la gravité de la maladie (Järvinen et al.,2010).

Dans la méta-analyse réalisée par Lee *et al.* 2012, les auteurs ont étudié quatre *TYK2* SNPs à savoir: rs2304256, rs12720270, rs280519 et rs12720356 dans le LES. Dans la méta-analyse, le *TYK2* rs2304256 a présenté une association significative avec le LES. Cependant, lors de la stratification par origine ethnique, l'étude a identifié une association significative avec le LES chez les Européens, mais pas chez les Asiatiques. De plus, aucune association n'a été trouvée pour les polymorphismes *TYK2* rs12720270, rs280519 et rs12720356 et la susceptibilité au LES par la méta-analyse (Lee et al.,2012). Il est important de noter que la plupart des études ont été réalisées sur des populations d'ascendance européenne, et seulement deux études (Lee et al.,2012) ont été menées sur des populations asiatiques.

Très peu d'études visaient à corréliser les polymorphismes de *TYK2* avec les manifestations cliniques de la maladie du LES. Néanmoins, l'étude de Li *et al.* 2011, a étudié le rôle de *TYK2* SNPs dont rs12720270, rs2304356 et rs2304255 sans trouver aucune association avec la sensibilité SLE, mais les associations de rs2304256 et rs12720270 avec photosensibilité et éruption discoïde chez les patients atteints de LES ont été observés (Li et al.,2011) .

2.3.1.8 IFIH1

Le gène du domaine 1 de l'hélicase C induit par l'interféron (*IFIH1*) est situé sur le chromosome 2 (2q24) et la protéine codée participe à l'activation de l'apoptose dans les cellules infectées par l'ARNdb viral, modulant la réponse IFN de type 1, la production de cytokines pro-inflammatoires et l'apoptose processus (Chistiakov et al.,2010). L'activation erronée de ces protéines sensibles aux virus par des acides nucléiques auto-dérivés et intracellulaires pourrait altérer l'équilibre immunitaire. L'IFN-1 joue un rôle clé dans la pathogenèse du LES en améliorant les processus auto-immuns et les complications de la maladie (Cunninghame et al.,2011).

Les études sur le gène *IFIH1* sont limitées, bien que celles impliquant des gènes induits par l'INF puissent être utilisées pour comprendre les mécanismes de régulation impliqués dans l'activité et le développement du LES (Cen et al.,2013). La délétion du domaine de liaison à l'ATP, qui comprend le SNP rs10930046, est associée à l'apoptose dans les cellules de mélanome. L'autre SNP fréquemment étudié dans les maladies auto-immunes est rs1990760,

qui est situé au site de liaison HNF-3b dans l'exon 15, codant pour un changement d'alanine en thréonine. Cette région protéique est hautement conservée chez les mammifères et peut avoir d'autres fonctions inconnues ou peut influencer les domaines actifs par des effets sur la structure tertiaire (Cen et *al.*,2013). Les études Rs10930046 dans les maladies auto-immunes n'ont pas été concluantes car ce SNP est en déséquilibre de liaison (LD) avec d'autres polymorphismes du gène *IFIH1* (rs2068330, rs2111485 et rs984971) et aussi en raison de l'hétérogénéité de la distribution de fréquence dans différentes populations (Cen et *al.*,2013).

Selon Gateva, *et al.*, En 2009, la première association entre les SNP *IFIH1* et la susceptibilité au LES : les auteurs ont identifié le polymorphisme à risque altéré A946T (rs1990760) pour la susceptibilité au LES dans les populations suédoises et américaines (Gateva et *al.*,2009). Les résultats ont été confirmés par une étude de Han *et al.* , 2009 (Han et *al.*,2009). Le rs1990760 a également été associé à des niveaux accrus d'IFN- α chez des patients atteints de LES présentant une positivité pour les anticorps anti-ADNdb et la méta-analyse réalisée par Moura *et al.* , 2013, ont renforcé l'association de ce SNP à l'apparition du LES (Moura et *al.*,2013) . Le rs1990760 est le plus associé *IFIH1* SNP dans le LES et il augmente l'expression des gènes, ce qui peut conduire à une cascade d'IFN initiée par les acides nucléiques qui est fortement liée à la pathogenèse du LES et à la gravité de la maladie.

2.3.1.9 PHRF1

Deux GWAS dans des populations européennes ont signalé un SNP associé au LES (rs4963128) dans *PHRF1* (également connu sous le nom de *KIAA1542*), un gène qui code pour un facteur d'élongation. L'association génétique avec le LES pourrait être attribuable à sa proximité avec *IRF7* , un gène impliqué dans la signalisation de l'IFN de type I . (Hom et *al.*,2008) De plus, une étude a indiqué une association de l' allèle de risque *IRF7-PHRF1* et des auto-anticorps associés au LES avec une activité IFN- α élevée dans des échantillons de sérum de patients atteints de LES, impliquant *IRF7* plutôt que *PHRF1* dans la pathogenèse du LES.

2.3.1.10 TREX1

TREX1 code pour l'exonucléase de réparation 3' 1, une exonucléase majeure de l'ADN 3'-5'. Cette enzyme corrige l'ADN polymérase et fonctionne potentiellement aussi comme une enzyme dégradant l'ADN dans l'apoptose médiée par le granzyme-A et comme un capteur d'ADN cytosolique .(Stetson et *al.*,2008) la carence en TREX1 altère la réparation des dommages à l'ADN, entraînant l'accumulation d'ADN endogène dérivé de rétro éléments. Une

clairance défectueuse de cet ADN induit la production d'IFN et une réponse inflammatoire à médiation immunitaire, favorisant l'auto-immunité systémique. Une étude de populations du Royaume-Uni, d'Allemagne et de Finlande a signalé des mutations mono-alléliques de décalage du cadre de lecture ou faux-sens et une seule variante 3' UTR de *TREX1* présentes chez les patients atteints de LES, toutes absentes chez les témoins. (Lee et *al.*,2007) Une autre étude a identifié plusieurs nouvelles mutations de *TREX1* chez des patients atteints du syndrome d'Aicardi-Goutières, qui partage plusieurs caractéristiques communes avec le LES. (Ramantani et *al.*,2011). Bien que rare, l'association de *TREX1* avec le LES indique un rôle pour la clairance défectueuse de l'ADN endommagé dans l'activation de l'immunité innée et le développement du LES.

2.3.1.11 Gènes C1q

Le système du complément, grâce à l'opsonisation, facilite l'élimination des débris apoptotiques et des fragments cellulaires qui pourraient contenir des antigènes nucléaires, qui sont des cibles pour les auto-anticorps associés au LES. Le composant du complément 1q (C1q ; codé par *CIQA* , *CIQB* et *CIQC*) fait partie de la voie classique d'activation du complément et, avec les composants enzymatiquement actifs C1r et C1s, forme le complexe C1. Un déficit complet en C1q, bien que rare, est un puissant facteur de risque de LES et > 90 % des personnes atteintes de ce déficit développent un LES ou des manifestations de type lupus. (Walport et *al.*,1998) De plus, un SNP synonyme de *CIQA*(rs172378), dont l'allèle A est lié à une diminution des taux sériques de C1q, est associé au lupus cutané subaigu.(Racila et *al.*,2003). D'autres SNP dans les gènes C1q sont également associés à des sous-phénotypes de LES (tels que la néphrite lupique et la photosensibilité) dans les populations afro-américaines et hispaniques. (Namjou et *al.*,2009). On pense que le mécanisme pathogène dans ces cas est une clairance IC défectueuse .Cependant, des études ont montré que le C1q a un effet régulateur sur la production de cytokines induite par les récepteurs Toll-like (TLR),(Yamada et *al.*,2004) ainsi que sur la production d'IFN- α induite par IC,(Lood et *al.*,2009) fournissant des explications supplémentaires pour le risque élevé de LES associé au C1q- carence.

Chapitre III : Méthodes moléculaires appliquées

Chapitre III Méthodes moléculaires appliquées

Plusieurs techniques ont été utilisées pour mettre en évidence l'implication de l'interféron plus précisément INF de type I dans la pathologie du Lupus érythémateux systémique, parmi ces techniques une technique de la cytogénétique moléculaire, l'hybridation génomique comparative (CGH) mais aussi deux techniques de la biologie moléculaire ; la polymérase chain réaction PCR, la RT PCR et la RFLP.

Dans cette partie on a choisi de se focaliser sur trois techniques les plus utilisées par les chercheurs dans leur quête de recherche sur l'implication de l'interféron dans le LES ; la RT-PCR (réaction de polymérisation en chaîne par transcriptase inverse) et la PCR et les puces à ADN.

1 Les puces à ADN :

Dans les années 1990, les puces à ADN génomique ou micro-array ont été mises au point pour permettre un criblage global du génome avec une meilleure résolution que celle du caryotype, ces puces permettent de mettre en évidence des déséquilibres génomiques en perte ou en gain de tout ou partie d'une ou plusieurs régions génomiques (Baron et *al.*, 2007).

Les puces à ADN existent en deux types de puces la première est la puce d'hybridation génomique comparative (CGH) et la seconde est une puce SNP (cible les polymorphismes nucléotidique).

Principe :

Les puces à ADN permettent d'étudier le transcriptome cellulaire (ce dernier est défini comme l'ensemble des transcrits présents dans une cellule à un moment donné et dans des conditions données) par l'observation simultanée de l'expression de plusieurs milliers de gènes dans une cellule ou un tissu donné, mesurant ainsi les modifications des différents états cellulaires.

La technique des puces à ADN est basée sur le principe d'hybridation (Southern M et *al.*, 1999) qui stipule que deux fragments d'acides nucléiques complémentaires peuvent s'associer et se dissocier de façon réversible sous l'action de la chaleur et de la concentration saline du

milieu. Une puce à ADN est un support rigide (verre ou nylon) de quelques centimètres carrés, sur lequel de courtes séquences d'ADN ont été déposées (ADNs).

Les ADNs fixés sur la puce s'appellent des **sondes**, l'avantage des puces c'est qu'on peut réaliser l'hybridation de milliers de sondes vis à vis d'une population choisie d'acides nucléiques alors que dans les anciennes expériences (Southern blot, Northern blot), on hybridait la population d'acides nucléiques avec une seule sonde marquée.

On parle de **sonde** (fragment d'ADN synthétique représentatif des gènes dont on cherche à étudier l'expression, fixé de façon covalente à la surface de la biopuce) et de **cible** (ARNm que l'on cherche à identifier et/ou à quantifier (échantillon)). Les cibles sont marquées par fluorescence (**Figure.8**). Trois étapes constituent l'usage des puces à ADN

1. Préparation de la puce, ce qui implique de choisir l'acide nucléique le plus approprié à se lier à un support solide, ainsi que la méthode de construction de la puce. (dépôts physiques ou synthèse in situ des différents oligonucléotides-méthode photolithographique).
2. La préparation de la sonde marquée par des fluorochromes et son hybridation (souvent c'est de l'ARN qui est converti en ADNc).
3. La saisie des données et leur analyse.

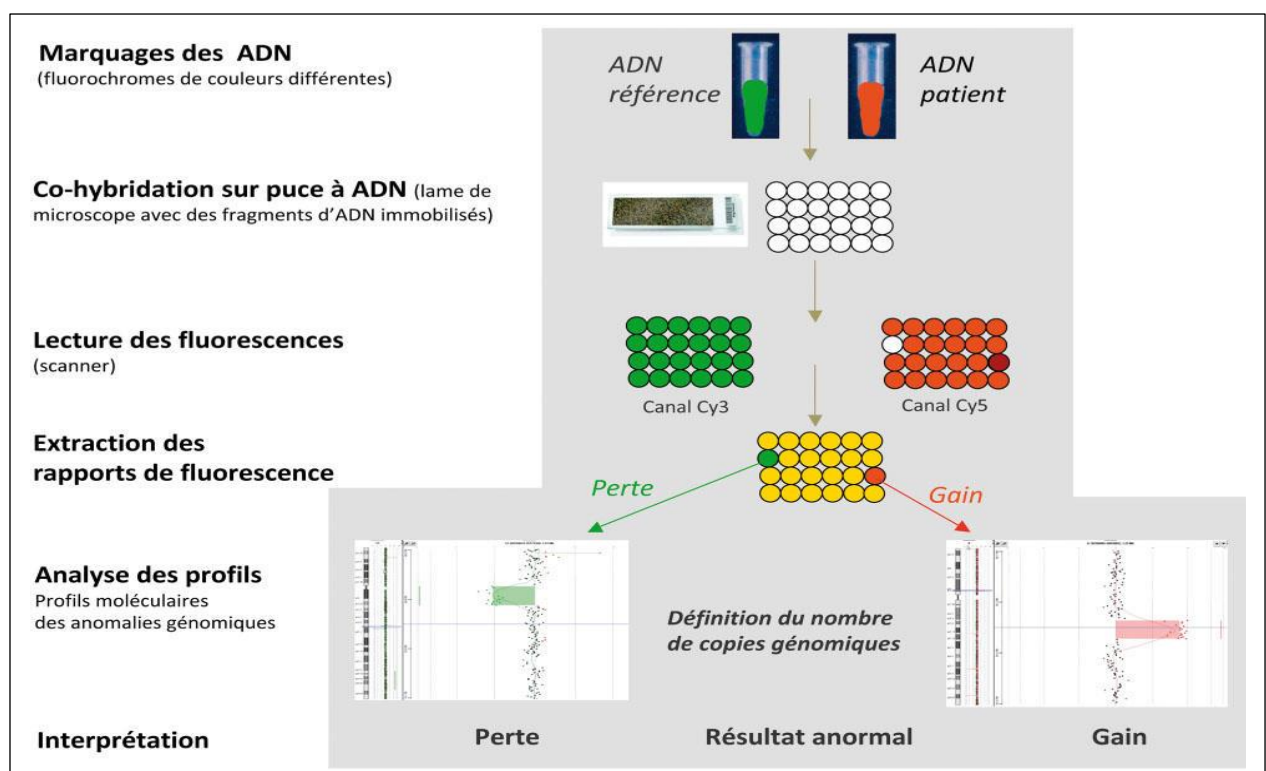


Figure 8 : principe de la méthodologie par "puce à ADN"

<https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2010/revue-medicale-suisse-237/puce-a-adn-pourquoi-et-pour-qui>

a- Les puces CGH :

Ces puces permettent de comparer le génome de l'échantillon étudié à un génome de référence (témoin normal ou standard) pour identifier des différences entre les deux génomes et localiser des régions de déséquilibre génomique (variation du nombre de copies VNC) chez l'échantillon étudié. Une VNC est définie comme un segment d'ADN de 1 000 bases ou plus présent dans un nombre variable de copies comparé à l'ADN standard. Pour faciliter l'analyse, l'ensemble du génome est fragmenté en de nombreuses petites régions et la puce à ADN est disposée de manière à pouvoir identifier l'emplacement précis de chaque fragment au sein du génome global. Il est ensuite possible d'établir le contenu génique de tout déséquilibre et d'évaluer les gènes contre le phénotype l'échantillon étudié. (Baron et *al.*, 2007). La CGH est utilisée, pour déterminer la différence entre le nombre de copies de l'échantillon étudié et celui de l'échantillon de référence (témoin).

b- Les puces SNP :

Le polymorphisme nucléotidique (ou SNP pour single nucleotide polymorphism), une variation de l'ADN sur un seul site, est le type de variation de génome le plus fréquent. Par exemple, on a identifié près de 50 millions de SNP dans le génome humain.

Les principes et techniques de base de la puce SNP sont semblables à ceux de l'CGH, mais l'utilisation du SNP permet de recueillir des informations de génotypage en plus des données d'intensité standards, Cette technique permet donc de mettre en évidence des pertes d'hétérozygotie ou LOH (Loss of Heterozygosity) ou ROH (Region of Homozygosity). Les ROH correspondent à des régions où tous les marqueurs de l'individu sont homozygotes (Rooney et *al.*, 2001) (**Figure.9**).

La SNP-array fait partie des analyses chromosomiques sur puce à ADN (ACPA) au même titre que la CGH-array. Elle permet une étude du génome entier. Contrairement à la CGH-array qui utilise une hybridation compétitive échantillon contre témoin (gains ou pertes par rapport au témoin), en SNP-array, l'ADN étudié est hybridé à une sonde complémentaire, sans compétition. Ceci génère un signal, qui sera diminué en cas de perte de copie (délétion) ou

augmenté en cas de gain de copie (duplication, triplification...). De plus, la SNP-array exploite également les données de génotypage : les sondes sont situées au niveau de nucléotides polymorphes du génome puis subissent l'extension d'une seule base (SNP : single nucleotide polymorphism). Ceci permet de confirmer les pertes et gains de copie mais également de détecter les pertes d'hétérozygotie (LOH) ou les triploïdies (www.eurofins-biomnis.com).

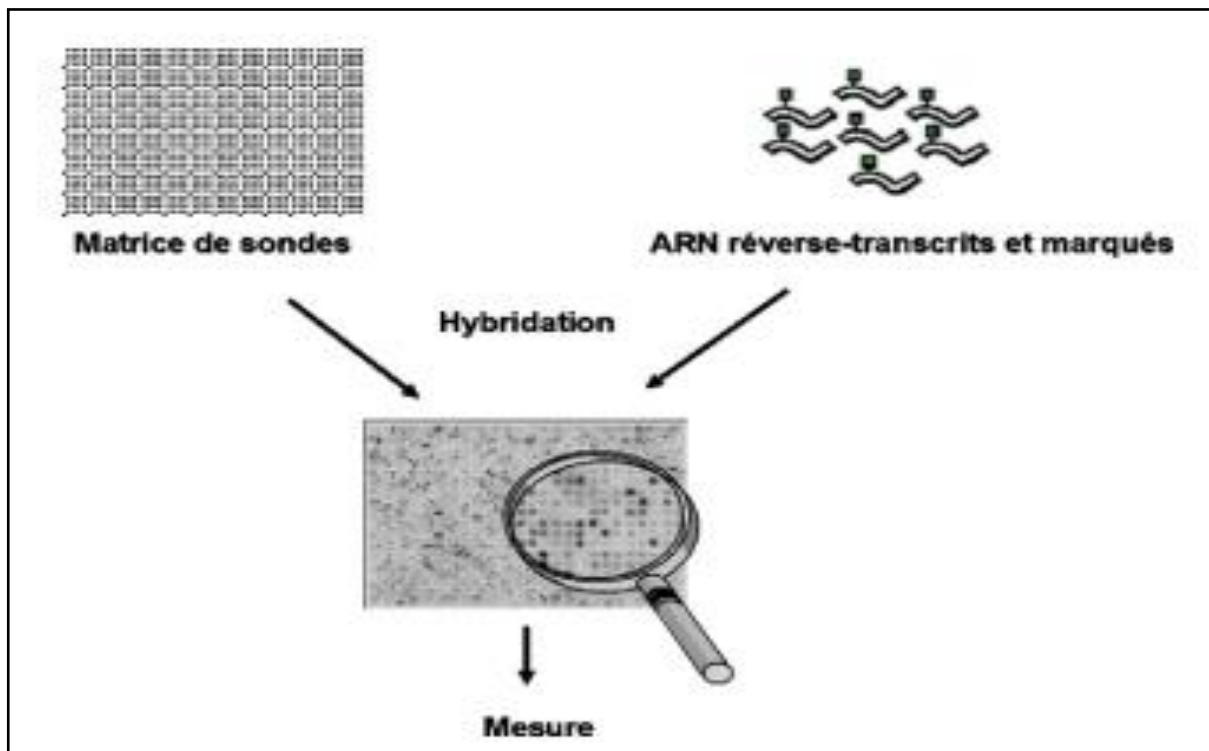


Figure 9 : le principe des puces à ADN (Baron et al., 2007).

1.1 Le principe de la CGH

1. L'ADN de l'échantillon et celui de référence sont marqués avec des sondes de couleur différente (rouge et verte).
2. Les deux échantillons sont soumis à l'ADN immobilisé dans une puce et les séquences complémentaires se lient. Un scanner recueille des informations relatives à la couleur et à l'intensité.
3. En l'absence d'un changement dans le nombre de copies de la séquence dans l'échantillon à analyser, on observera une liaison similaire de l'ADN de l'échantillon et de l'ADN de référence

avec des quantités de fluorescence égales de chaque couleur, ce qui générera une couleur d'émission nette (jaune).

4. Dans les séquences qui présentent une duplication dans l'échantillon analysé, la fluorescence verte sera supérieure au rouge et l'émission globale sera de couleur verte ; inversement, des délétions entraîneront une diminution du niveau de la fluorescence verte par rapport à la fluorescence rouge de l'échantillon de référence et l'émission nette sera de couleur rouge.

Ainsi, les principaux avantages de la puce SNP par rapport à l'CGH sont qu'elle permet de déterminer à la fois les VNC et la perte d'hétérozygotie (perte de matériel génétique de l'un des deux parents) et de détecter des aneuploïdies et des triploïdies.

Les puces à ADN est une technique pan-génomique qui peut être utilisées pour évaluer la présence de déséquilibres génomiques de type variation du nombre de copies (VNC) donc cette technique moderne agit comme un microscope plus puissant. En fonction de la technique et du nombre de sondes d'ADN utilisées, il est possible de déceler des changements de plus de 1 Mb (un million de paires de bases) à faible résolution ou des changements pouvant impliquer seulement 10 000 paires de bases à haute résolution.

Les SNPs présentent une source principale de polymorphisme dans un génome, ils sont présents dans les parties codantes et non codantes d'un génome et sont souvent révélé par des techniques rapides de marquages moléculaire tels que les puces à ADN (Rafalski,2002).

Selon Baechler, E. C et *al.*, 2003 le lupus érythémateux systémique (LES) est une maladie auto-immune complexe, inflammatoire et auto-immune qui affecte plusieurs systèmes organiques. Durant leur études les chercheurs ont utilisé le profilage de l'expression génétique globale des cellules mononucléaires du sang périphérique afin d'identifier des modèles distincts d'expression génétique qui distinguent la plupart des patients atteints de LES des témoins sains. Ce profilage de l'expression génique à l'échelle du génome réaliser à l'aide des puces à ADN est une technologie émergente puissante qui permet la mesure simultanée de milliers de transcrits d'ARNm dans un échantillon biologique.

Cette approche a été appliquée avec succès à la classification et à la prédiction de l'issue des tumeurs malignes humaines (par exemple, lymphome, leucémie, mélanome, carcinome du sein, du côlon et de la prostate), ainsi qu'à l'identification des gènes et des voies de communication déréglés dans les tissus humains malades(Crow, M. K et *al.*.,2003).

Les progrès récents dans l'étude des schémas globaux d'expression des gènes grâce à la technologie des puces à ADN couplées à l'analyse des données à l'aide d'algorithmes statistiques sophistiqués, ont permis de mieux comprendre les nouvelles perspectives sur les mécanismes pathogènes des maladies.

Des projets ambitieux visant à caractériser de larges profils d'expression génique dans un grand nombre de PBMC du LES ont abouti en 2003 par Baechler et ses collègues qui ont rapporté des données de microarray provenant de 48 patients atteints de LES et 42 témoins sains avec les Affymetrix U95AGeneChips. Après avoir éliminé les gènes qui étaient très sensibles à l'induction *ex vivo*, il restait 4566 gènes à analyser (Crow, M. K et *al.*, 2003).

Un premier ensemble de gènes a été sélectionné sur la base d'un test t de Student non apparié (apparemment sans correction pour les comparaisons multiples) et une sélection supplémentaire sur la base d'une différence d'expression de plus de 1,5 fois entre les deux échantillons de lupus et les témoins.

Un regroupement hiérarchique de ces gènes a ensuite été effectué pour identifier les modèles d'expression génétique parmi les échantillons étudiés. Une augmentation frappante de l'expression d'un groupe de gènes précédemment signalés comme étant induits par l'IFN a été observée chez environ la moitié des sujets atteints de LES (Baechler, E. C et *al.*, 2003).

Les auteurs ont identifié 23 des 161 gènes différentiellement exprimés comme des cibles de l'IFN en déterminant l'expression génique des PBMCs cultivés pendant 6 heures soit avec l'IFN- α plus l'IFN- β , soit avec l'IFN- β et IFN- γ . Il convient de noter que les schémas d'expression génique induits dans les PBMC par les IFN de type I et de type II peuvent varier avec le temps après la stimulation initiale. Les données de Baechler, ne fournissent donc qu'une évaluation partielle des gènes régulés par l'IFN à un moment donné précis dans le temps (Crow, M. K et *al.*, 2003).

Le schéma d'expression des gènes régulés par l'IFN était complexe. Onze des gènes régulés par l'IFN qui étaient exprimés de manière différentielle entre le SLE et ceux du groupe témoin se sont regroupés et ont été préférentiellement induits par une combinaison de l'IFN- α .

Ces données sur le LES, ainsi que les informations très utiles sur les gènes induits par les IFNs de type I et II confirment que les IFN de type I sont particulièrement importants dans le schéma d'expression génétique qui distingue les PBMC du LES de celles des témoins sains. La confirmation de ces données par une technique plus quantitative sera essentielle pour

déterminer plus précisément l'expression relative de cet ensemble de gènes chez les patients atteints de LES, ainsi que chez ceux atteints d'autres maladies auto-immunes (Crow, M. K et al .,2003).

Bien que certains schémas d'expression génétique, notamment l'expression accrue des molécules d'activation de la surface des cellules du système immunitaire, confirment des données antérieures obtenues avec d'autres techniques, certains nouveaux gènes exprimés de manière différentielle ont été identifiés.

Le plus intéressant est le modèle dominant d'expression génétique induite par l'interféron détecté dans les cellules mononucléaires sanguines des patients atteints de lupus érythémateux systémique , Ces données sont cohérentes avec les observations de longue date indiquant une augmentation de l'interféron- α circulant dans le sang des patients atteints de lupus actif, mais attirent l'attention sur la prédominance de la voie de l'interféron dans la hiérarchie des voies d'expression génétique impliquées dans l'auto-immunité systémique(Baechler, E. C et al ..2003).

Le concept selon lequel l'identification des gènes qui sont exprimés de manière différentielle dans un état pathologique et la volonté d'élucider les mécanismes des maladies a conduit au développement de nouvelles technologies.

Les différentes approches y compris le Northernblotting, la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) et la protection contre la RNase, ont permis d'analyser un petit nombre de transcrits génétiques, l'hybridation soustractive et l'analyse des différences de représentation qui consistent à comparer l'expression des gènes dans deux populations cellulaires, sont des approches qui demandent beaucoup de temps et qui sont utilisées à la fin des années 1990 pour aider à la découverte de gènes et à l'identification de voies moléculaires pertinentes pour une maladie.

Les puces à ADN sont une technologie innovante qui a déjà changé notre compréhension des mécanismes qui sous-tendent les maladies auto-immunes.

Donc l'étude de Baechler, a prouvé d'une manière frappante, qu'environ la moitié des patients étudiés présentaient une expression dérégulée de gènes de la voie de l'IFN.

De plus, cette " signature " de l'expression génique de l'IFN a servi de marqueur pour une maladie plus sévère impliquant les reins, les cellules hématopoïétiques et/ou le système nerveux central.

Ces résultats permettent de mieux comprendre les voies génétiques qui sous-tendent le LES et d'identifier un sous-groupe de la population qui n'a pas encore été identifié qui pourrait bénéficier de thérapies ciblant la voie de l'IFN.

Les auto-anticorps du LES endommagent les organes en se liant directement aux tissus de l'hôte et en formant des complexes immuns qui se déposent dans les tissus vasculaires et activent les cellules du système immunitaire.

Par ailleurs et au début du 2003, Rus et ses collègues ont rapporté des données provenant d'une étude sur l'expression des gènes dans les cellules mononucléaires du sang (PBMC) de 21 patients atteints de lupus et de 12 témoins, ces données étaient les premières réalisées avec les puces à ADN provenant de l'utilisation du sang périphérique du LES (Crow, M. K et al., 2003).

Le test de microarray utilisé (Panorama Cytokine Gene Membranes Array, Genosys, Inc) comprenait 375 gènes enrichis en cytokines, chimiokines, récepteurs de surface cellulaire et autres molécules de surface cellulaire du système immunitaire, y compris les molécules d'adhésion. Le gène qui a montré la plus grande différence de plis entre le groupe atteint de LES et le groupe témoin analysé par microarray, celui codant pour le récepteur α du facteur neurotrophique ciliaire, a été identifié comme étant le plus important.

Dans l'ensemble, les données présentées dans cette étude ont confirmé la valeur de l'approche des puces à ADN pour détecter les gènes différentiellement exprimés parmi les PBMCs provenant de patients atteints de lupus.

Les résultats dérivés des deux études de Baechler et Bennett est remarquable, ce qui confirme fortement l'importance de la voie de l'IFN dans le LES dans la maladie et démontrant également la puissance de la technologie des puces à ADN même lorsqu'elle est appliquée à des populations hétérogènes de cellules du sang périphérique (Baechler, E. C et al., 2003)

Rajoutant que depuis l'illustration spectaculaire de l'utilité clinique de la technologie des puces à ADN chez des patients atteints d'une maladie maligne, des efforts ont été déployés pour étudier les populations de cellules mononucléaires mixtes chez les patients atteints de maladies

auto-immunes. non seulement les données dérivées des puces à ADN interprétables et significatives, mais elles ont également attiré notre attention sur un cytokine clé.

Maintenant, l'apparition répétée de gènes induits par l'IFN parmi les gènes les plus significativement surexprimés dans les données provenant de plusieurs laboratoires utilisant des puces à ADN distinctes fait apparaître l'IFN comme un médiateur pathogène de la multitude d'altérations du système immunitaire observées dans le LES.

Compte tenu des effets importants de l'IFN sur la fonction du système immunitaire, y compris les activités qui pourraient contribuer au développement de l'auto-immunité systémique, cette cytokine pourrait représenter une excellente cible pour la modulation thérapeutique du LES.

Au-delà de l'impressionnante signature génétique de l'IFN, chacune des études ont identifié des gènes supplémentaires qui étaient exprimés de manière différentielle dans les échantillons de LES.

2 La RT- PCR

Le principe

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) a galvanisé les biologistes moléculaires en raison de sa capacité à leur fournir de grandes quantités de n'importe quel échantillon désiré. Cette puissance combinée à sa flexibilité a également inspiré de nombreuses applications utiles, notamment de nouvelles méthodes de séquençage, de clonage et de mutagenèse de l'ADN, une variation logique de la PCR a permis son application à la détection et à l'analyse de l'ARN messager (Garibyan, L., & Avashia, N. 2013), par l'ajout d'une étape de transcription inverse avant d'effectuer la PCR et en raison de la sensibilité extrême de la PCR, la transcription inverse-PCR (RT-PCR) a été utilisée pour caractériser des ARNm auparavant indétectables par les méthodes d'analyse de l'ARN telles que la northern l'hybridation et les tests de protection contre la RNase.

D'après (Ohan, N. W et *al.*, 1993) la RT-PCR est une technique qui permet de faire une PCR (réaction en chaîne par polymérase) à partir d'un échantillon d'ARN. L'ARN est tout d'abord rétrotranscrit grâce à une enzyme appelée transcriptase inverse, qui permet la synthèse de l'ADN complémentaire (ADNc). Ce dernier est ensuite utilisé pour réaliser une PCR. La transcriptase inverse ou rétrotranscriptase selon (Santos, C et *al.*, 2004), est une enzyme utilisée par les rétrovirus et les rétrotransposons qui transcrivent l'information génétique des virus ou

rétrotransposons de l'ARN en ADN, qui peut s'intégrer dans le génome de l'hôte la RT-PCR a été mise au point pour utiliser les ARN comme matrice d'amplification de la PCR. Elle est certainement la méthode la plus sensible pour détecter (et éventuellement quantifier), les ARN messagers au niveau d'un organe, d'un tissu ou d'une cellule. Dans ce but elle est souvent réalisée *in situ* (PCR *in situ*) c'est-à-dire sur du matériel biologique fixé. Elle est également utilisée pour la construction de banques d'ADNc, le tri d'ARNm (Differential Display RT-PCR) ainsi que la construction de sondes d'ADN.

Le matériels utilisés lors de la RT PCR

Selon (Mo, Y et *al.*, 2012) on utilise durant la RT PCR différents matériels et réactifs :

✓ Pour isolement de l'ARN total :

1. Réactif TRI, conserver a 2-3 °C.
2. Chloroforme, conserver à température de la pièce.
3. Isopropanol, conserver à température de la pièce.
4. Éthanol à 75 % (40 ml) : dans un tube de 50 ml stérile et dépourvu de RNase , ajouter 10 ml d'eau de grade moléculaire dépourvue de nucléase et 30 ml d'éthanol à 100% pour obtenir 40 ml d'éthanol à 75% , conserver à 20°C.
5. Eau de grade moléculaire, dépourvue de nucléase, conserver à 2-8 °C.

✓ Pour la reverse transcription

1. Transcriptase inverse M-MLV (Transcriptase inverse codée par le virus de la leucémie murine Moloney) avec tampon de réaction M-MLV 5×, conserver à 20°C.
2. Inhibiteur de ribonucléase RNasin recombinant, conserver à 20°C.
3. Mélange de dNTP, 10 mM , conserver à 20°C.
4. Primer Oligo (dT) : synthétisé par SIGMA (The Woodlands,TX) et préparée à une concentration de 0,5 mg/ ml avec de l'eau de grade moléculaire et dépourvue de nucléase. Extraire et conserver à 20°C.
5. Eau de grade moléculaire, dépourvue de nucléase, conserver à 2-8 °C.
6. Thermocycleur (Mastercycler, Eppendorf, Westbury, NY ect.....).

✓ Pour la PCR on va détailler la technique par la suite.

Les étapes de la RT-PCR

Toujours selon (Mo, Y et *al.*, 2012) la RT-PCR se déroule en deux phases :

- Une première phase correspond à la rétrotranscription de l'ARN messager en ADN complémentaire (ADNc) - une seconde phase correspond à une réaction PCR classique sur le ADNc synthétisé.

Dans la première phase, l'ARN messager à étudier est repéré en utilisant une sonde oligonucléotidique spécifique (amorce 1 qui s'hybride à l'extrémité 3' du seul ARNm auquel on s'intéresse), puis la transcriptase inverse (ou rétrotranscriptase) permet la synthèse du brin complémentaire (sous une forme de ADNc simple brin), une seconde amorce oligonucléotidique spécifique (amorce 2) permettra la synthèse du second brin par extension.

L'ADN complémentaire synthétisé servira ensuite de matrice pour une réaction PCR classique (**Figure.11**).

Le principe de la PCR qui est la seconde phase de la RT PCR est simple, et son efficacité est réellement hors du commun, depuis son invention, la PCR est devenue la technique la plus utilisée pour la détection de l'ADN et de l'ARN. À partir d'une simple copie d'une séquence particulière d'acides nucléiques, cette séquence peut être spécifiquement amplifiée et détectée (Poitras et *al.*, 2002). La PCR est une méthode de biologie moléculaire d'amplification génique *in vitro*. Elle peut être considérée comme une technique de clonage moléculaire « en tube » et trouve, à ce titre, de très nombreuses applications en recherche fondamentale (Larzul, D. 1989). elle permet de dupliquer et amplifier d'une manière exponentielle (avec un facteur de multiplication de l'ordre du milliard), une séquence d'ADN ou d'ARN connue, par action cyclique d'une ADN polymérase ceci est possible à partir d'une faible quantité (de l'ordre de quelques picogrammes) d'acide nucléique, et d'amorces spécifiques ou l'initiation de la synthèse d'ADN par une enzyme a lieu au niveau de courtes séquences oligonucléotidiques, 20 à 25 nucléotides (Rychlik et *al.*, 1990).

Les conditions de la réalisation d'une PCR dépendent du nombre total de cycles à exécuter ainsi que de la température et la durée de chaque étape de ces cycles (Kainz, 2000). Le nombre de cycles à exécuter est basée sur la quantité d'ADN initiale ainsi que le nombre de copies du produit PCR (amplicon) souhaité ; en général, 25 à 35 cycles est la norme pour une réaction PCR (Kainz, 2000).

Une technique PCR de base nécessite plusieurs composants et réactifs, dont la matrice d'ADN (ADN template), deux primers, la Taq polymérase ou une autre ADN polymérase, une solution tampon, des dNTP et des cations divalents tels que Mg^{2+} . Les réactifs suivants sont utilisés de façon courante pour la RT-PCR une technique qu'on va détailler prochainement.

Le kit PCR contient généralement :

1. Un tube de marqueur de poids moléculaire à bouchon rouge.
2. Un tube de produit de PCR à bouchon marron.
3. Un tube de bleu de dépôt à bouchon blanc.
4. Un tube de TAQ polymérase à bouchon vert.
5. Un tube de tampon de réaction concentré 10 fois à bouchon bleu.
6. Un tube de $MgCl_2$ à bouchon jaune.
7. Un tube de désoxiribonucléotides à bouchon violet.
8. Un tube d'amorces de PCR à bouchon noir.
9. Un tube d'ADN génomique de phage lambda à bouchon incolore.
10. Un sachet d'agarose.
11. Un flacon de 400 ml d'Azur A.
12. 100 ml de tampon TAE 10X.
13. Un sachet de 12 microtubes avec leurs bouchons.

Le matériel :

Un Thermocycleur à PCR

Ou

-bain-marie et un chronomètre.

-cuve à électrophorèse d'ADN avec moule à gel et peigne à gel.

-Alimentation pour la cuve à électrophorèse.

- Gant anti-chaleur ou moufle de préhension

-Micro-onde.

-Micropipettes et cônes.

-Ethanol absolu, eau distillée, flacons d'un litre

Ce kit propose de réaliser une électrophorèse d'ADN sur gel d'agarose afin de comparer l'ADN avant répllication par PCR et l'ADN obtenu suite à la PCR.

Chaque cycle d'amplification nécessite 4 étapes différentes. Les cycles d'amplification sont précédés d'une dénaturation initiale, et sont suivis par une élongation finale.

La PCR nécessite la présence d'ADN matrice, de primers, de nucléotides et d'ADN polymérase, L'ADN polymérase est l'enzyme clé qui relie les nucléotides individuels pour former le produit de la PCR. Les nucléotides comprennent les quatre bases - adénine, thymine, cytosine et guanine (A, T, C, G) qui se trouvent dans l'ADN (déjà citer dans la partie matériels utilisé lors de la PCR) (Garibyan, L., &Avashia, N. 2013).

Ceux-ci agissent comme les blocs de construction utilisés par l'ADN polymérase pour créer le produit de la PCR. Les primers dans la réaction spécifient le produit exact d'ADN à amplifier. Ces derniers sont de courts fragments d'ADN avec une séquence définie complémentaire à l'ADN cible à détecter et à amplifier (Garibyan, L., &Avashia, N. 2013) ils servent comme un point d'extension sur lequel l'ADN polymérase peut s'appuyer.

Les composants susmentionnés sont mélangés dans un tube à essai ou une plaque à 96 puits, puis placés dans une machine qui permet de réaliser des cycles répétés d'amplification de l'ADN en trois étapes fondamentales (Garibyan L et *al.* , 2013).

La machine, essentiellement un thermocycleur, comporte un bloc thermique avec des trous dans lesquels sont insérés les tubes à essai ou les plaques contenant le mélange de réaction PCR. La machine élève et abaisse la température du bloc par étapes discrètes, précises et préprogrammées (Weier et Gray, 1988).

La solution réactionnelle est d'abord chauffée au-dessus du point de fusion des deux brins d'ADN complémentaires de l'ADN cible ce qui permet aux brins de se séparer, un processus appelé dénaturation.

La température est ensuite abaissée pour permettre aux amorces spécifiques de se lier aux segments d'ADN cibles, un processus connu sous le nom d'hybridation ou d'annealing.

L'hybridation entre les primers et l'ADN cible ne se produit que si leur séquence est complémentaire (par exemple, A se liant à G).

La température est à nouveau augmentée, et l'ADN polymérase est alors capable d'étendre les amorces en ajoutant des nucléotides au brin d'ADN en développement. À chaque répétition de ces trois étapes, le nombre de molécules d'ADN copiées est doublé. (Garibyan L et *al.*, 2013).

Les composants susmentionnés doivent être présents dans la PCR dans un milieu réactionnel qui doit contenir selon Joseph Sambrook et *al.*, (2001), la région d'ADN à amplifier recommandée à 1 ng/50 µL de volume réactionnel, 0,5 à 2,5 unités d'ADN polymérase par 50 µL de volume réactionnel, 20 à 50 pmol de chaque amorce complémentaire aux régions 3' des deux brins de l'ADN à amplifier, les dNTPs avec une concentration finale typique de 200 µM par nucléotide. En plus d'une solution tampon pour assurer le bon fonctionnement des enzymes, à concentration finale 1X, donc 5 µL pour un volume final standard de 50 µL (Powell et *al.* 1987).

Des réactifs supplémentaires peuvent comprendre du sel de magnésium Mg²⁺ (à une concentration finale de 0,5 à 5,0 mM), du sel de potassium (à une concentration finale de 35 à 100 mM) (Lorenz, 2012), diméthylsulfoxyde (DMSO ; à une concentration finale de 1-10%) (Sun et *al.*, 1993), ou le formamide (à une concentration finale de 1,25 à 10%) (Sarkar et *al.*, 1990), pour permettre une amplification d'ADN cibles difficiles, généralement due à leur richesse en G-C.

D'une manière plus claire la PCR s'effectue en 3 grandes étapes : la phase de dénaturation, la phase d'hybridation et la phase d'élongation (**Figure.10**). Ces étapes sont :

La dénaturation initiale

Avant de commencer les cycles de PCR, une étape de chauffage (généralement 10 à 15 minutes à 95 °C) est réalisée. Cette étape permet de dés-hybrider les ADN double brin, de casser les structures secondaires, d'homogénéiser le milieu réactionnel par agitation thermique, d'activer les polymérases de type « Hot start », et de dénaturer d'autres enzymes, qui pourraient être dans la solution (Rychlik et *al.*, 1990).

La phase de dénaturation

Cette étape (généralement 0 à 1 minute à 95 °C) permet de dés-hybrider les ADN, de détacher les polymérases qui seraient encore liées à la matrice, et d'homogénéiser le milieu réactionnel (Ferralli et *al.*, 2007).

La phase d'hybridation

Cette étape (généralement 2 à 60 secondes à 56–64 °C) permet aux amorces sens et anti-sens (qui sont en concentration bien plus importante que l'ADN à amplifier) de s'hybrider aux ADN matrices, grâce à une température qui leur est thermodynamiquement favorable, pour éviter que les brins d'ADN matrice ne s'hybrident avec leur brin complémentaire, ce qui empêcherait la fixation des amorces, car ces dernières sont bien plus courtes (Ferralli et *al.*, 2007).

La phase d'élongation

Cette étape (généralement 4 à 120 secondes à 72 °C), permet aux polymérases de synthétiser le brin complémentaire de leur ADN matrice à une température qui leur est optimale. Ce brin est fabriqué à partir des dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel. La durée de cette étape dépend normalement de la longueur de l'amplicon (Ferralli et *al.*, 2007).

L'élongation finale

Etape réalisée à 70-74°C pendant 5 à 15 minutes, permet de s'assurer que tous les brins d'ADN monocaténaire s'hybrident et que l'élongation se fait correctement (Ferralli et *al.*, 2007).

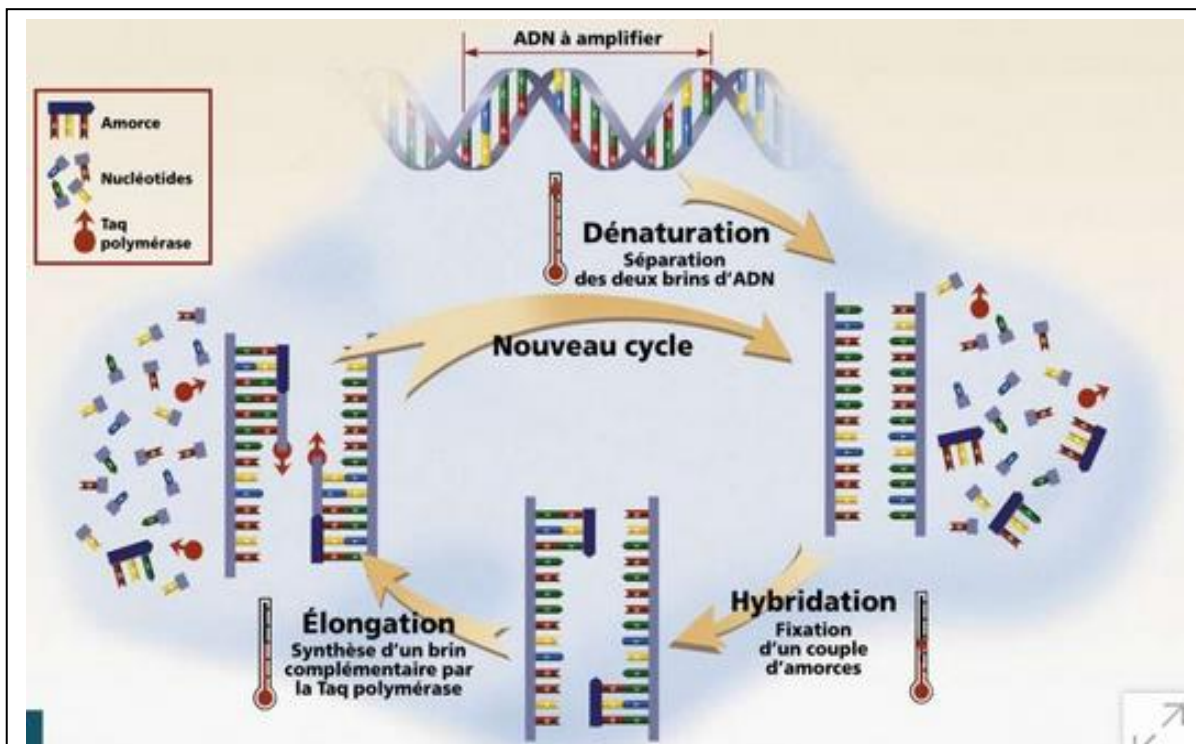


Figure 10 Les étapes de PCR : amplification de fragments d'ADN *in vitro*
gnis-pedagogie.org

Il est très important de noter que la RT-PCR peut être réalisée en deux étapes ou en une seule étape. Comme son nom l'indique et selon Shiao, Y.-H. 2003, la RT-PCR en une seule étape combine la synthèse de l'ADN complémentaire (ADNc) du premier brin (la transcription inverse, RT) et la PCR subséquente dans un seul tube de réaction. Cette configuration de réaction simplifie le travail, réduit les variations et minimise les contaminations possibles. La RT-PCR en une seule étape permet de traiter plus facilement un grand nombre d'échantillons, ce qui permet d'effectuer des applications à haut débit. Cependant, la RT-PCR en une étape utilise des amorces spécifiques de gène pour l'amplification, limitant l'analyse à quelques gènes par échantillon d'ARN. Comme la réaction est un compromis entre les conditions de transcription inverse et d'amplification, la RT-PCR en une seule étape pourrait être moins sensible et moins efficace dans certains cas. Cependant, l'utilisation d'une amorce spécifique du gène dans la RT-PCR peut aider à maximiser le rendement de l'ADNc cible et minimiser l'amplification.

La RT-PCR en deux étapes implique deux réactions distinctes, elle est réalisée dans des conditions optimales à commencer par la synthèse de l'ADNc du premier brin (transcription inverse - RT). La synthèse de l'ADNc est d'abord réalisée dans un tampon de RT et un dixième de la réaction est retiré pour la PCR, l'amplification d'une partie de l'ADNc résultant par PCR dans un tube séparé. Par conséquent, la RT-PCR en deux étapes est utile pour détecter de multiples gènes dans un seul échantillon d'ARN. La séparation des réactions RT et PCR permet d'optimiser les conditions réactionnelles pour chaque étape ainsi que la souplesse avec l'amorçage par transcription inverse amorces oligo (dT), hexamères aléatoires ou amorces spécifiques de gènes) et PCR (par exemple choix d'ADN polymérase et des composants PCR). Comparés à la RT-PCR en une étape, les inconvénients de la RT-PCR en deux étapes incluent plusieurs étapes pour un flux de travail étendu, une manipulation et un traitement supplémentaires de l'échantillon, et augmentent les risques de contamination et de variation des résultats.

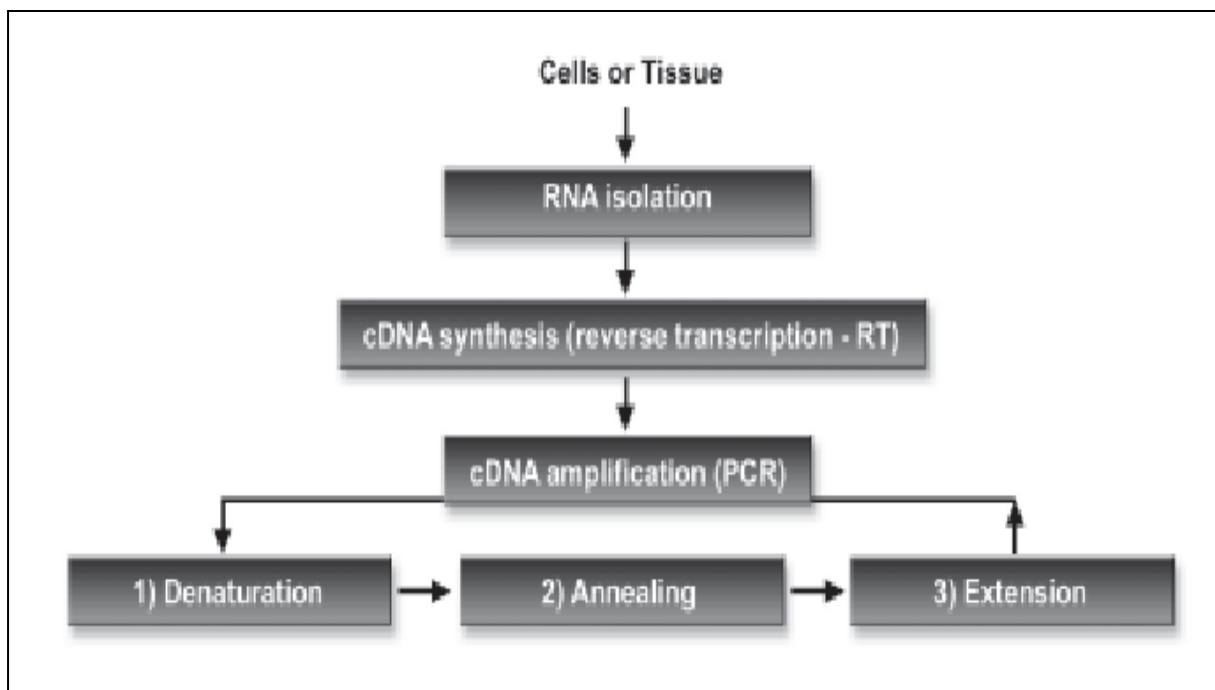


Figure 11 : Schéma de la RT-PCR montrant que l'ARN isolé des cellules ou du tissu est utilisé comme substrat dans la transcription inverse pour la synthèse de l'ADNc qui servira de matrice pour l'amplification par PCR (Santos, C *et al.* , 2004).

Dans une autre recherche consacrée à la caractérisation des gènes impliqués dans la pathogénèse du LES, la RT PCR a été utilisée (silvia *et al.*,2008). Cette technique a été utilisée pour déterminer l'implication du IFN- α comme facteur de risque héréditaire du LES humain.

3 La RFLP

Principe de la RFLP

Le polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) est une méthode d'analyse génétique employée pour la toute première fois en 1980 par Botstein *et al.* Il s'agit d'une technique à travers laquelle les polymorphismes de longueur des fragments de restriction (RFLP= restriction fragment length polymorphism), sont identifiés en utilisant les enzymes de restriction qui coupent l'ADN uniquement sur des «sites de restriction» déterminés (Rasmussen,2012). A présent, l'utilisation la plus courante des RFLP est en aval de la PCR (PCR-RFLP) pour détecter les allèles qui diffèrent en séquence à un site de restriction donné (Rasmussen,2012).

Les étapes de la RFLP :

Selon Grivet et al (2003), la mise en œuvre de la technique RFLP (**Figure.12**) implique de réaliser les manipulations suivantes :

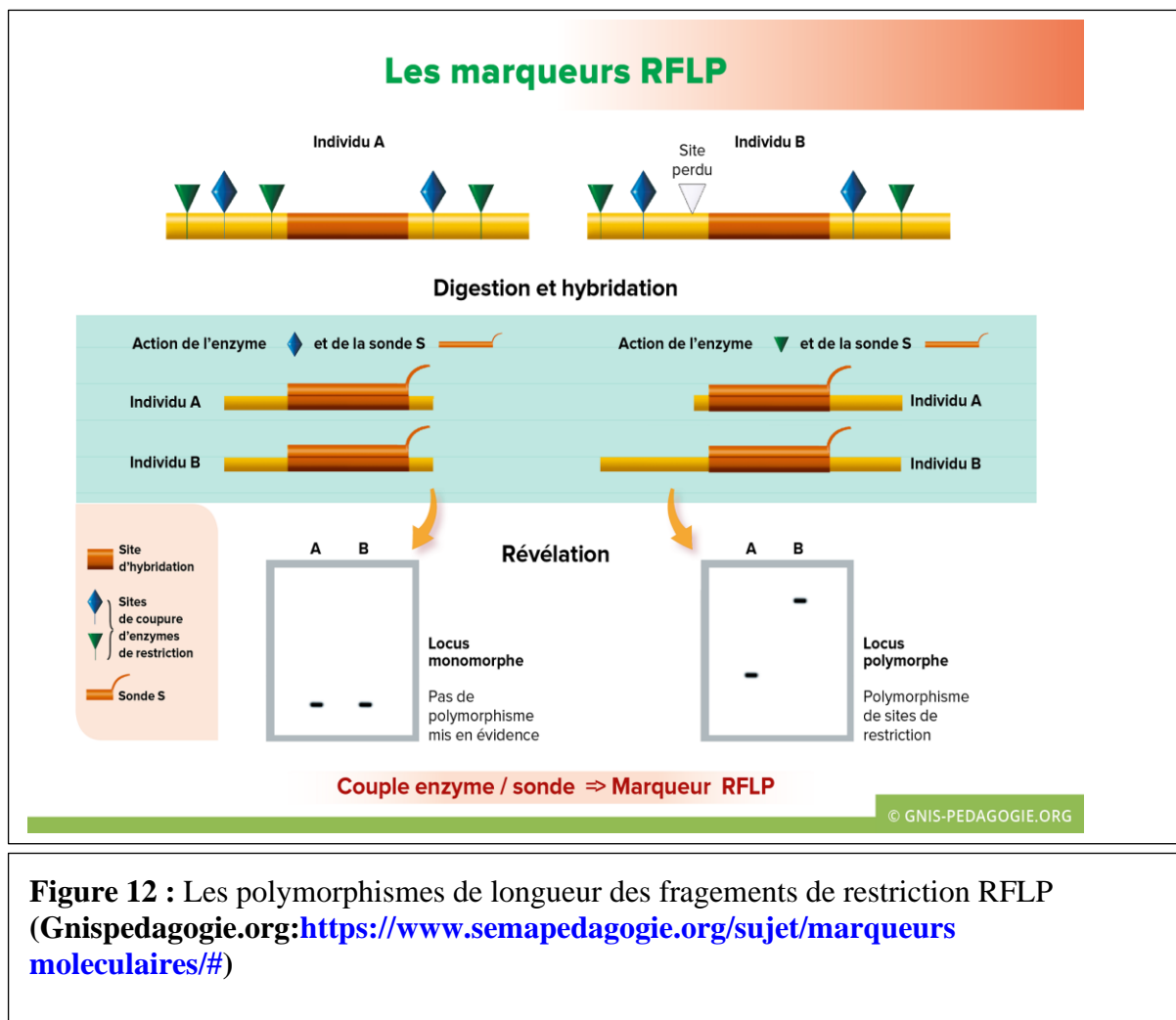
- L'ADN génomique total extrait est purifié en quantité assez importante à partir de chaque génotype avant d'être soumis à une digestion par une enzyme de restriction.
- Les fragments générés sont séparés selon leur taille par une électrophorèse sur gel.
- L'ADN est ensuite transféré du gel sur une membrane (Southern-blot).
- La dernière étape consiste en la réalisation de l'hybridation moléculaire avec une sonde d'ADN marquée préalablement soit par la radioactivité, soit chimiquement ; la sonde va alors s'hybrider avec le ou les fragments d'ADN avec lesquels elle présente des homologies (Hamon et al., 2003 ; Grivet et al., 2003).

Le résultat est présenté sous forme d'autoradiographie. Les bandes observées matérialisent les différents allèles d'un locus cible ; chaque allèle correspond à une configuration particulière du site de restriction autour de la région homologue de la sonde (Hamon et al. 2003 in : Grivet et al.,2003)

Une RFLP peut être détecté en examinant le profil des fragments de restriction générés lors de la digestion d'une manière classique sans utilisation des sondes. Les fragments résultants sont séparés selon leurs taille par électrophorèse sur gel (d'agarose ou polyacrylamide) et visualisés après révélation par du bromure d'éthidium (Walker et al.,2000). Même les grands fragments d'ADN tels que des chromosomes peuvent être séparés par l'électrophorèse sur gel en champ pulsé (PFGE) (Walker et al.,2000).

Les avantages et les inconvénients de la RFLP

Les avantages importants de la technique comprennent le faible coût et l'absence d'exigence d'instruments avancés. L'avantage par rapport aux loci polymorphes traditionnels est le fait qu'elle représente une technologie relativement uniforme qui peut être appliquée à n'importe quel chromosome, que ce soit dans une bactérie, un humain, un végétal ou un animal (Williams,1989). Les inconvénients comprennent la nécessité d'endonucléases spécifiques, et des difficultés à identifier la variation exacte dans le cas où plusieurs SNP affectent le même site de reconnaissance de l'enzymes de restriction (Williams,1989).



Selon une étude faite par Marwa M. Azab et *al.*, la RFLP a été employé pour plusieurs applications d'analyse génétique depuis son invention, notamment pour évaluer et analyser les polymorphismes de nucléotides simples (SNP) dans les gènes TLR7 (rs3853839) et TLR9 (rs187084). Les TLR (toll-likereceptors 7/9) sont des récepteurs qui reconnaissent les acides nucléiques et induisent des réponses proinflammatoires en activant le NF-κB et en produisant de l'interféron de type I. Ces récepteurs jouent un rôle dans le déclenchement des réponses immunitaires innées/adaptatives et dans le développement de l'inflammation chronique. Les polymorphismes de nucléotides simples (SNP) de TLR7 et TLR9 ont été associés au lupus érythémateux disséminé dans de nombreuses études (SLE). L'étude a été faite sur des patients égyptiens atteints de lupus érythémateux disséminé et les témoins sains. Lors de cette étude des échantillons de sang total ont été prélevés sur 100 patients atteints de LED et 100 témoins ; l'ADN a été extrait puis traité pour le polymorphisme nucléotidique simple de TLR9 pour

rs187084 a été réalisé par la technique de la réaction en chaîne de la polymérase et du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (PCR/RFLP), en utilisant l'amorce directe : CCT GCC TGC CAT GAT ACC AC et l'amorce inverse : TGC TAG CAC ACC GGA TCA TT dans la région promotrice du chromosome 3..A travers lequel ils ont également évalué l'association entre le polymorphisme des gènes TLR 7 et TLR 9 et les paramètres cliniques du LED. Les résultats ont montré que les génotypes TLR7 rs3853839 CG et l'allèle G étaient significativement associés au LED et ont confirmé l'association entre le SNP TLR7 rs3853839 et le LED dans une cohorte égyptienne. De plus, différents génotypes et allèles de TLR7 rs3853839 ont été associés à d'autres manifestations cliniques telles que l'arthrite, l'ulcère buccal et la thrombocytopenie et le rôle du polymorphisme TLR 9 comme l'un des facteurs de risque possibles pour le LED.

Dans une autre recherche, consacrée à l'évaluation de la contribution génétique des polymorphismes -1123G>C et +1858C>T de la PTPN22 et de leurs haplotypes chez les patients atteints de LED, ainsi que l'expression de l'ARNm en fonction du polymorphisme du promoteur -1123G>C et de l'activité de la maladie. Cent cinquante patients atteints de LED et 150 témoins sains non apparentés, tous deux métis mexicains, ont été génotypés par la technique PCR-RFLP pour les polymorphismes PTPN22 -1123G>C et +1858C>T. l'équipe de recherche a constaté l'absence d'association entre les polymorphismes PTPN22 -1123G>C et +1858C>T et le risque de développer un LED dans une population mexicaine (Machado-Contreras et *al.*,2016).

L'étude de la corrélation entre 2 SNP des gènes TNFR II et PTPN22 et la susceptibilité au LED dans une cohorte d'enfants égyptiens comparés à des témoins et l'étude de leur association possible avec différents signes cliniques a été aussi étudiée grâce à la RFLP. Le ciblage des SNP TNFR II rs1061622 et PTPN22 rs2476601 a été effectué à l'aide de la RFLP pour 74 enfants atteints de LED et 100 témoins sains correspondants. Les résultats montrent que L'allèle G et le génotype GG du TNFR II rs1061622 et l'allèle T et le génotype TT du PTPN22 rs2476601 peuvent être considérés comme des facteurs de risque pour le développement du LED (Eid et *al.*,2021).

4 La PCR en temps réel :

Principe de la PCR en temps réel

La PCR en temps réel est une amplification durant laquelle est réalisée la collecte continue de signaux fluorescents d'une ou plusieurs réactions en chaîne de la polymérase sur une série

de cycles. Elle est quantitative si les signaux fluorescents provenant de chaque réaction sont convertis en une valeur numérique pour chaque échantillon (Poitras et al., 2003).

Sa technologie est basée sur la détection et la quantification d'un «reporter» fluorescent (Poitras et al., 2003). L'augmentation du signal fluorescent est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés durant la réaction de PCR, comme indiqué dans **Figure.13** ; en observant la quantité de fluorescence émise à chaque cycle, il devient possible de suivre la réaction PCR (Poitras et al., 2003).

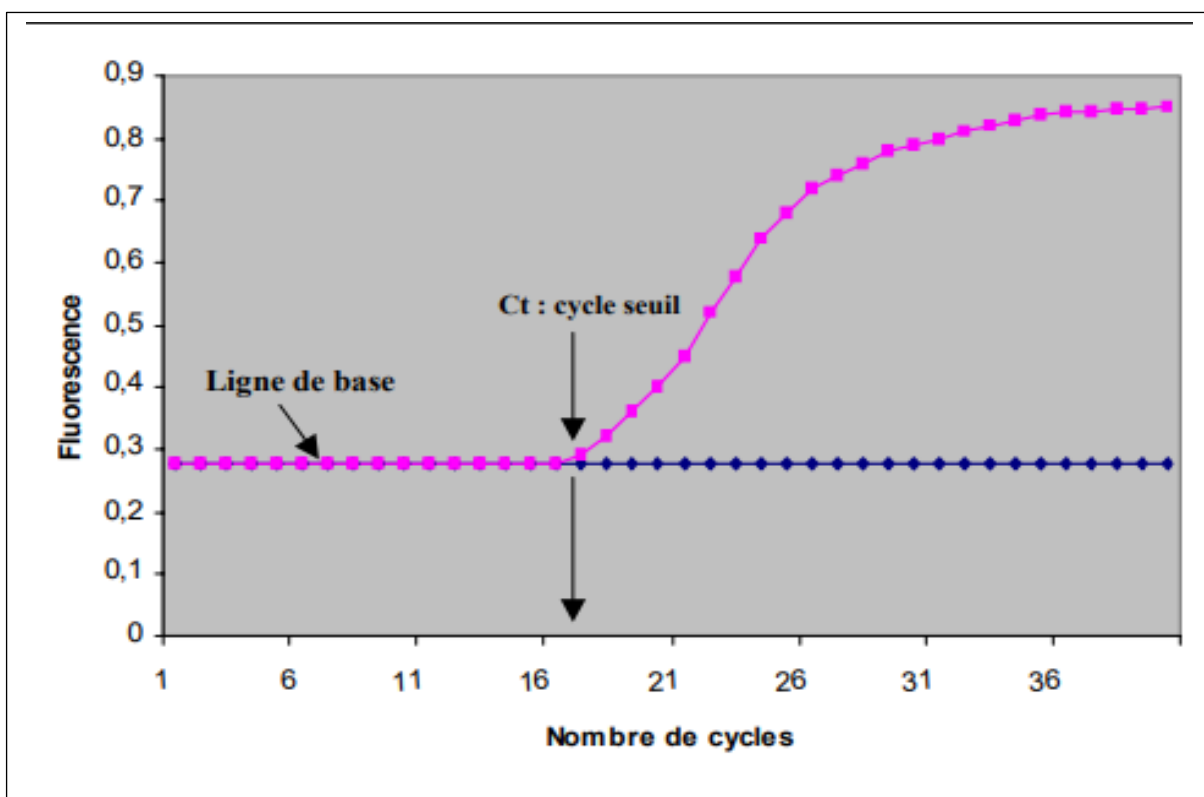


Figure.13 Modèle graphique de la PCR en temps réel où l'intensité de la fluorescence est exprimée en fonction du nombre de cycles. L'intensité de la fluorescence à chaque cycle est proportionnelle à la concentration d'amplicons, le cycle seuil (Ct) représente le nombre de cycles requis où le signal d'émission de fluorescence est statistiquement et significativement plus élevé que la ligne de base (Poitras et al., 2003).

Les appareils développés pour cette technologie, utilisent généralement un système en tubes fermés et la quantification ne requiert aucune manipulation post-amplification, ce qui minimise ou élimine les problèmes de contamination par les amplicons suite à la réaction PCR, et réduit le temps d'analyse (Bustin, 2000).

Les étapes de la PCR en temps réel :

Selon (Mackay,2002), la PCR en temps réel nécessite les étapes suivantes :

- ✓ La première consiste à distribuer la solution mère de la PCR dans les puits nécessaires à l'expérience, les échantillons sont pipetés dans les puits d'une plaque contenant le mélange réactionnel de la PCR. Une fois que la plaque PCR, le tube ou les jeux de capillaires ont été remplis avec tous les composants nécessaires, ils sont prêts à être utilisés sur un instrument en temps réel.
- ✓ Les étapes qui suivent sont les mêmes que les étapes d'une PCR normale, sauf pour la collecte de données, qui nécessite un cycle spécifique.
- ✓ Pour ce programme, un cycle en trois étapes est généralement utilisé. Ici, le cycle commence par passer à la température d'hybridation (95°C) pendant 15 secondes, passe ensuite à 60°C pour 2 secondes et passe enfin jusqu'à 72°C pour 30 secondes, répété à chaque cycle.
- ✓ La collecte de données à la température la plus élevée permet des résultats plus précis.

En raison de sa simplicité, la PCR en temps réel a été utilisée par Moez et al en 2012 pour évaluer l'association possible entre le polymorphisme 1858 CT du gène de la protéine tyrosine phosphatase non réceptrice 22 (PTPN22) et la prédisposition au lupus érythémateux disséminé (LED) chez des patients égyptiens, ainsi que son influence sur les paramètres cliniques .Les polymorphismes du gène 1858 CT du PTPN22 ont été analysés chez quarante patients atteints de lupus érythémateux disséminé et vingt témoins normaux par réaction en chaîne par polymérase (PCR) en temps réel, à l'aide du test TaqMan de discrimination des 5 allèles. Le génotype CC a été observé chez 47,5 % des patients atteints de LED et 80 % des témoins ; le génotype CT a été observé chez 52,5 % des patients et 20 % des témoins. Les fréquences des allèles C et T étaient respectivement de 74 et 26 % chez les patients atteints de LED et de 90 et 10 % chez les témoins. La présence du génotype CT augmentait de 4,42 le risque de développer un LED. L'atteinte rénale était significativement plus élevée chez les

patients atteints de LED avec le génotype CT (76,2 %) que chez ceux avec le génotype CC (42,1 %).

La PCR en temps réel a été utilisée aussi pour évaluer l'association possible entre le polymorphisme 1858C→T du gène PTPN22 et la prédisposition et l'expression clinique de deux maladies auto-immunes systémiques, la polyarthrite rhumatoïde (PR) et le lupus érythémateux disséminé (LED). La population d'étude comprenait 826 patients atteints de PR, 338 patients atteints de LED et 1 036 sujets sains. Tous les sujets étaient d'origine caucasienne espagnole. Le génotypage du polymorphisme 1858C→T du gène PTPN22 a été réalisé par la technologie de réaction en chaîne par polymérase en temps réel, en utilisant le test TaqMan de discrimination des 5' allèles. Les résultats suggèrent que l'allèle PTPN22 1858T peut conférer une susceptibilité différentielle à la PR et au LED dans la population espagnole (Orozco et al., 2005).

Par ailleurs un protocole basé sur la PCR en temps réel a été développé pour étudier le polymorphisme nucléotidique simple (SNP) C-T situé en position 1858 de l'ADN complémentaire (ADNc) de la protéine tyrosine phosphatase humaine non réceptrice de type 22 (PTPN22) qui est associé à un risque accru de lupus érythémateux disséminé (LED). La façon dont l'activité globale de PTPN22 est régulée et dont l'expression de PTPN22 diffère entre les individus sains et les patients atteints de lupus est mal comprise. L'objectif était d'identifier de nouvelles formes d'épissage alternatif de la PTPN22 et d'examiner l'expression des isoformes de la PTPN22 chez des donneurs sains et des patients atteints de lupus. Diverses isoformes humaines de PTPN22 ont été identifiées dans la base de données GenBank ou amplifiées directement à partir de cellules T humaines. L'expression de ces isoformes dans les cellules T primaires et les macrophages a été examinée par réaction en chaîne de la polymérase en temps réel. L'étude a révélé que l'activité globale de la PTPN22 est déterminée par l'équilibre fonctionnel entre toutes les isoformes. Les niveaux des isoformes de la PTPN22 dans le sang périphérique pourraient représenter un biomarqueur utile du LED (Chang et al., 2014).

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

Notre travail a porté sur le lupus érythémateux systémique, qui est une maladie auto-immune multifactorielle. Nous nous sommes focalisées à étudier le rôle de la composite génétique dans cette pathologie et cela en recherchant l'association entre les polymorphismes de quelques gènes comme le gène PTPN2 , IRF5, C1q, STAT4 et IRAK-MECP2 avec :

- L'influence et l'augmentation de l'expression de l'INF type I.
- La susceptibilité au lupus érythémateux disséminé.
- L'explication de l'étiologie complexe de l'auto-immunité.
- Implication de ces gènes dans d'autres maladies auto-immunes.

1-l'association du SNP (rs2476601) du gène PTPN22 et la susceptibilité au lupus érythémateux :

- Shi et al., dans une méta-analyse de l'association entre les polymorphismes du gène PTPN22 et la susceptibilité au lupus érythémateux disséminé qui comprend 4 études cas-témoins, dont une en Chine. Ces études ont inclus 1864 participants : 772 cas et 1092 témoins, les 4 études ont montré que le génotype T/C (OR : 2,33, 95% CI : 1,78-3,04, $P < 0,00001$) était corrélé avec la susceptibilité au LED qui est principalement en Europe, ce qui indique que la corrélation entre le polymorphisme du gène PTPN22 et la susceptibilité au LED peut être affectée par la nationalité et la race et la région. La méta-analyse a montré que le polymorphisme 1858C/T du gène PTPN22 est corrélé à la susceptibilité au lupus érythémateux disséminé, après évaluation des caractéristiques de distribution telles que la nationalité, la race et la région. Il est nécessaire de disposer d'un échantillon important de la population chinoise pour mener une étude prospective plus poussée avant de pouvoir établir un lien de causalité (Shi et al.,2013).
- Lea et al., en 2010 dans une méta-analyse avaient confirmé que le polymorphisme PTPN22 C1858T est associé à la susceptibilité au LED dans différents groupes ethniques et que sa prévalence dépend de l'origine ethnique. L'objectif de cette étude était de déterminer si le polymorphisme fonctionnel C1858T (rs2476601) de la protéine tyrosine phosphatase non réceptrice 22 (PTPN22) confère une susceptibilité au lupus

érythémateux disséminé (LED) dans des populations ethniquement différentes. Une méta-analyse a été réalisée sur le polymorphisme PTPN22 C1858T dans 11 études comparatives. La méta-analyse a montré une association entre l'allèle PTPN22 1858T et le LED chez tous les sujets de l'étude (odds ratio (OR) 1,560, intervalle de confiance à 95 % (IC) 1,336, 1,822, $p = 2,0 \times 10^{-8}$). L'analyse après stratification par ethnie a indiqué que l'allèle PTPN22 1858T était significativement associé au LED chez les Européens et les Hispaniques (OR 1,490, 95% CI 1,280, 1,735, $p = 2,0 \times 10^{-8}$; OR 2,355, 95% CI 1,644, 3,373, $p = 2,9 \times 10^{-6}$). La méta-analyse a montré que le génotype C/T + T/T était associé à la susceptibilité au LED chez tous les sujets de l'étude, les Européens et les Hispaniques, et qu'il existait une association entre le génotype T/T et le LED chez les Européens. La prévalence de l'allèle T était beaucoup plus faible chez les Afro-Américains (2,2 %) que dans toutes les autres populations étudiées, et c'est chez les Européens qu'elle était la plus élevée (9,5 %) (Lea et al.,2010).

- Zheng et al., dans une étude montrent que l'association du polymorphisme PTPN22 avec les maladies auto-immunes dépend de la localisation du tissu affecté, ce qui suggère un rôle de la variation des organes ciblés dans les manifestations de la maladie. La protéine tyrosine phosphatase non réceptrice de type 22 (PTPN22) est un gène de forte susceptibilité partagé par de nombreuses maladies auto-immunes. L'objectif de cette étude était d'explorer les mécanismes sous-jacents à cette relation. Ils ont effectué une analyse complète de l'association entre le polymorphisme C1858T du PTPN22 et les maladies auto-immunes. Les résultats ont montré un schéma remarquable : PTPN22 C1858T était fortement associé au diabète de type I, à la polyarthrite rhumatoïde, à la thrombocytopénie immunitaire, au vitiligo généralisé avec maladies auto-immunes concomitantes, aux myopathies inflammatoires idiopathiques, à la maladie de Graves, à l'arthrite juvénile idiopathique, à la myasthénie grave, au lupus érythémateux disséminé, à la vascularite associée aux anticorps anti-neutrophiles cytoplasmiques et à la maladie d'Addison. En revanche, le gène PTPN22 C1858T a montré une association négligeable avec la sclérose systémique, la maladie cœliaque, la sclérose en plaques, le psoriasis, la spondylarthrite ankylosante, le pemphigus vulgaire, la colite ulcéreuse, la cholangite sclérosante primitive, la cirrhose biliaire primitive, la maladie de Crohn et l'uvéite antérieure aiguë. Une analyse plus poussée a révélé une distinction claire entre les deux groupes de maladies en ce qui concerne les tissus ciblés : la plupart des

maladies auto-immunes présentant une association insignifiante avec PTPN22 C1858T se manifestent au niveau de la peau, du tractus gastro-intestinal ou dans des sites privilégiés sur le plan immunitaire. Ces résultats montrent que l'association du polymorphisme PTPN22 avec les maladies auto-immunes dépend de la localisation du tissu affecté, ce qui suggère un rôle de la variation des organes ciblés dans les manifestations de la maladie (Zheng et al., 2012).

- Tizaoui et al., avaient confirmé l'association montrant l'association génétique de PTPN22 avec différents types de maladies, notamment le diabète sucré de type 1, le lupus érythémateux disséminé, l'arthrite juvénile idiopathique et plusieurs autres maladies. L'étiologie et les résultats cliniques des maladies auto-immunes sont associés à une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. En ce qui concerne le facteur génétique, les SNP du gène PTPN22 ont montré de fortes associations avec plusieurs maladies. L'explosion récente du nombre d'études génétiques a permis de trouver rapidement ces associations, et l'on a constaté que diverses maladies auto-immunes étaient associées à des polymorphismes du gène PTPN22. Les protéines codées par PTPN22 jouent un rôle clé dans les systèmes adaptatif et immunitaire en régulant à la fois les cellules T et B. Les variants génétiques, en particulier les SNP, jouent un rôle important dans la régulation du système immunitaire. Il a été démontré que les variantes génétiques, en particulier les SNP, perturbent de manière significative plusieurs fonctions immunitaires. Dans cette revue, les chercheurs ont résumé le mécanisme par lequel la PTPN22 et ses variantes génétiques sont impliquées dans la pathophysiologie des maladies auto-immunes. Les chercheurs précisent que les résultats trouvés permettent l'explication de l'étiologie complexe de l'auto-immunité et aident à déterminer les critères de diagnostic et de pronostic de la maladie, ainsi que les développements en matière de médicaments (Tizaoui et al., 2022).

2- l'association du polymorphisme rs2004640 T/G du gène du facteur de régulation de l'interféron (IRF)5 et la susceptibilité au lupus érythémateux disséminé (LED) :

- Wang et al., dans méta-analyse ont calculé l'association entre le polymorphisme rs2004640 et le LED par contraste allélique (T vs G), modèle additif (TT vs GG), modèle récessif (TT vs TG + GG) et modèle dominant (TT + TG vs GG). Au total, 28 comparaisons ont été identifiées, incluant 11 228 cas de LED et 14 374 témoins. La

méta-analyse a révélé une association significative entre l'allèle T et le LED dans l'ensemble des populations (odds ratio [OR] = 1,393, IC 95 % : 1,276-1,522, $P < 0,001$). La stratification par ethnie a révélé des associations fortes entre l'allèle T et le LED chez les Asiatiques, les Européens et les Latino-Américains (OR = 1,256, IC à 95 % : 1,073-1,469, $P = 0,004$; OR = 1,338, IC à 95 % : 1,080-1,659, $P = 0,008$; OR = 1,853, IC à 95 % : 1,488-2,308, $P < 0,001$). Les résultats ont également montré des associations significatives entre le modèle additif et le LED chez tous les sujets et les Asiatiques (OR = 1,999, 95% CI : 1,442-2,771, $P < 0,001$; OR = 1,544, 95% CI : 1,009-2,362, $P < 0,045$). En outre, nous avons trouvé des associations significatives entre le modèle dominant et le LED dans toutes les populations et les Asiatiques (OR = 1,521, 95% CI : 1,257-1,841, $P < 0,001$; OR = 1,270, 95% CI : 1,136-1,421, $P < 0,001$). Une association marginale a été détectée entre le mode récessif et le LED chez l'ensemble des sujets (OR = 1,480, 95% CI : 1,022-2,144, $P = 0,038$). L'étude actuelle suggère que les individus porteurs de l'allèle T rs2004640 sont corrélés à un risque élevé de LED, et que le polymorphisme IRF5 rs2004640 est associé à la susceptibilité au LED (Wang et al., 2019).

- Hu et al., ont recensé les études sur l'association des rs2204640, rs10954213, rs729302 ou rs2280714 de l'IRF5 avec le LED en utilisant PubMed, Embase et Web of Science jusqu'en février 2011. Pour estimer plus précisément l'association entre les polymorphismes du facteur de régulation de l'interféron 5 (IRF5) et le risque de lupus érythémateux disséminé (LED), Deux chercheurs ont évalué indépendamment la qualité des données et les ont extraites. Au total, 17 comparaisons issues de dix études pertinentes impliquant 6403 patients et 7475 témoins ont été incluses pour analyser l'association entre IRF5 rs2004640 et le risque de LED (odds ratio, OR = 1,41, intervalle de confiance à 95 % (IC) 1,34-1,49, $P = 0,000$). En ce qui concerne le rs10954213, dix comparaisons issues de six études pertinentes impliquant 3461 patients et 3692 témoins ont été incluses pour analyser l'association entre le rs10954213 de l'IRF5 et le risque de LED (OR = 1,23, IC à 95 % 1,08-1,39, $P = 0,002$). Les chercheurs durant cette méta-analyse ont également montré une association significative entre rs729302 (OR = 0,78, 95% CI 0,74-0,83, $P = 0,000$), rs2280714 (OR = 0,90, 95% CI 0,83-0,98, $P = 0,021$) et le lupus érythémateux disséminé. Dans une analyse de sous-groupe par ethnie, un risque significativement accru de LED a été associé à l'allèle T de l'IRF5 rs2004640 dans les populations d'origine européenne, asiatique et latino-américaine, et l'allèle A rs10954213 est significativement associé au LED dans les populations d'origine

européenne, mais pas dans les populations d'origine asiatique. Cette méta-analyse suggère que le polymorphisme du gène IRF5 est associé au LED dans plusieurs populations ethniques (Hu et al., 2011).

- Bae et al., Avaient comme objectif dans une méta analyses de déterminer si le polymorphisme fonctionnel du facteur de régulation de l'interféron 5 (IRF5) rs2004640 est associé à la susceptibilité au lupus érythémateux disséminé (LED) dans plusieurs populations ethniques. Cette méta-analyse a été réalisée sur l'allèle T du polymorphisme IRF5 rs2004640 chez tous les participants à l'étude ainsi que dans chaque population ethnique. Vingt articles de recherche comprenant 28 études comparatives portant sur 20 892 patients et 24 930 témoins ont été inclus dans la méta-analyse. La population asiatique présentait une prévalence de l'allèle T beaucoup plus faible que toute autre population étudiée (28 %), et la population européenne présentait la prévalence la plus élevée de l'allèle T (52 %). La méta-analyse a montré une association entre le polymorphisme IRF5 rs2004640 et le LED chez tous les participants (odds ratio = 1,472, intervalle de confiance à 95 % = 1,370-1,582, $p < 0,001$). L'analyse après stratification par ethnie a indiqué que l'allèle T de l'IRF5 rs2004640 est significativement associé au LED chez les Européens, les Asiatiques, les Latino-Américains et les Arabes. Cette méta-analyse confirme que le polymorphisme IRF5 rs2004640 est associé à la susceptibilité au LED dans différents groupes ethniques et que sa prévalence dépend de l'origine ethnique (Bae et al., 2019).

2- L'association des polymorphismes rs7574865 et rs10168266 du gène STAT4 (signal transducer and activator of transcription 4) avec le risque de lupus érythémateux disséminé (LED)

- Wang et al., dans une méta analyses avaient confirmé L'association des polymorphismes rs7574865 et rs10168266 du gène STAT4 (signal transducer and activator of transcription 4) avec le risque de lupus érythémateux disséminé (LED) . cette étude a été réalisée sur la corrélation entre les polymorphismes rs7574865 et rs10168266 et le lupus érythémateux disséminé. Vingt-six études ont été recrutées dans notre étude (17 389 patients et 29 273 témoins). Pour rs7574865, les résultats ont montré des associations significatives entre l'allèle T et la susceptibilité au LED dans l'ensemble de la population, chez les Asiatiques et les Européens (OR=1,557, 95%CI : 1,505-1,611, $P < 0,001$; OR=1,557, 95%CI : 1,498-1,661, $P < 0,001$; OR=1,548, 95%CI : 1,474-1,625, $P < 0,001$). Des associations significatives entre les génotypes TT, GT, TT+TG et le

risque de LED ont été observées chez les sujets généraux, les Asiatiques et les Européens (toutes $P < 0,001$). En ce qui concerne le rs10168266, une fréquence accrue de l'allèle T a été détectée dans l'ensemble des cas de LED et chez les personnes d'origine asiatique (OR=1,532, 95%CI : 1,440-1,631, $P < 0,001$; OR=1,575, 95%CI : 1,445-1,717, $P < 0,001$). Les données globales ont montré que le génotype TT, le génotype CT et le génotype TT+CT étaient significativement corrélés avec le LED (tous $P < 0,001$). Les chercheurs dans cette étude ont permis de vérifier la forte association entre les polymorphismes rs7574865 et rs10168266 du gène STAT4 et la susceptibilité au LED (Wang et al., 2021).

- Selon Gao et al., L'équipe de chercheurs ont réalisé une méta-analyse complète de toutes les études répondant aux critères d'inclusion afin de révéler l'association exacte entre les polymorphismes du gène STAT4 et le risque de LED, méta-analyse de toutes les études pertinentes publiées jusqu'en août 2017. Ils ont consulté des bases de données électroniques, notamment Scopus, ISI Web of Science, ScienceDirect et PubMed, pour trouver des études portant sur les polymorphismes du gène STAT4 et le LED dans différentes populations. Les odds ratios (OR) regroupés et leurs intervalles de confiance à 95 % (IC) correspondants ont été utilisés pour analyser l'association entre les polymorphismes STAT4 et le LED. Selon les critères d'inclusion, 19 articles comprenant 8522 cas et 11199 sujets sains pour le SNP STAT4 rs7574865 et 6 articles comprenant 1105 cas et 5106 sujets sains pour le SNP STAT4 rs7601754 ont été inclus dans la méta-analyse finale. Cette méta-analyse a révélé des associations significatives entre les deux SNP et le risque de LED. Alors que rs7574865 augmente le risque de LED (OR = 1.559, 95% CI = 1.473-1.644), rs7601754 est associé à une diminution de la susceptibilité au LED (OR = 0.679, 95% CI = 0.610-0.747). Cette étude a révélé une association entre rs7574865 et un risque accru de LED, bien que rs7601754 ait indiqué une association avec un risque réduit de LED (Gao et al., 2019).

3-L'association du polymorphisme des gènes IRAK1-MECP2 et la susceptibilité au lupus érythémateux :

- Selon Kaufman et al., durant une étude le groupe de chercheurs ont établi une cartographie fine de ≥ 136 SNP dans une région de ~ 227 kb sur Xq28, contenant IRAK1, MECP2 et sept gènes adjacents (L1CAM, AVPR2, ARHGAP4, NAA10, RENBP, HCFC1 et TMEM187), pour l'association avec le LED chez 15 783 sujets cas-témoins issus de quatre groupes ancestraux différents. De multiples SNP ont montré une forte

association avec le LED chez les Américains d'origine européenne, les Asiatiques et les Hispaniques à $p < 5 \times 10^{-8}$ avec une association cohérente chez les sujets d'ascendance africaine. Parmi ceux-ci, six SNP situés dans la région TMEM187-IRAK1-MECP2 ont capturé le(s) variant(s) causal(aux) sous-jacent(s) résidant dans un haplotype de risque commun partagé par les quatre groupes ancestraux. Parmi eux, le rs1059702 expliquait le mieux les signaux d'association Xq28 dans les tests conditionnels et présentait la valeur p la plus forte dans la méta-analyse transversale ($p(\text{meta}) = 1,3 \times 10^{-27}$, OR=1,43), et a donc été considéré comme la variante causale la plus probable. L'allèle à risque du rs1059702 entraîne la substitution de l'acide aminé S196F dans l'IRAK1 et il a déjà été démontré qu'il augmentait l'activité du NF- κ B in vitro. Nous avons également constaté que le génotype homozygote à risque de rs1059702 était associé à des niveaux plus faibles d'ARNm de MECP2, mais pas d'IRAK1, chez les patients atteints de LED ($p=0,0012$) et chez les témoins sains ($p=0,0064$). Ces données suggèrent que IRAK1 et MECP2 contribuent à la susceptibilité au LED (Kaufman et al., 2013).

- Selon Liu et al., et Afin d'obtenir une estimation précise et systématique, une méta-analyse a été réalisée. Une recherche documentaire systématique a été effectuée dans les bases de données anglaises et chinoises (PubMed/Medline, Web of Knowledge, Wanfang Data (chinois), etc.) pour les études éligibles. En raison de l'hétérogénéité entre les études, des modèles à effets fixes ou aléatoires ont été sélectionnés pour analyser le risque de LED associé aux polymorphismes mononucléotidiques (SNP) des polymorphismes génétiques de MECP2. Une augmentation significative du risque des deux SNP des variances génétiques de MECP2 associées au LED a été trouvée. L'analyse réalisée à l'aide d'un modèle à effets fixes a révélé un risque accru de LED avec l'allèle A de rs2075596 (OR = 1,41, IC à 95 % : 1,34 à 1,49, $p < 0,001$), et le modèle à effets aléatoires a également identifié un facteur de risque de l'allèle A de rs2239464 (OR = 1,31, IC à 95 % : 1,15 à 1,49, $p = 0,001$). L'analyse des sous-groupes et l'analyse de sensibilité ont suggéré que la principale source d'hétérogénéité entre les études provenait de la différence entre les divers groupes ethniques. Après l'exclusion de la plus petite étude, aucun biais de publication n'a été constaté, ce qui a confirmé la fiabilité et la stabilité de la méta-analyse. Les mutations des SNP (rs2075596, rs2239464) de MECP2 ont montré un risque accru de développer un LED (Liu et al., 2013).

4-Les associations entre les polymorphismes du TLR et la susceptibilité au lupus érythémateux disséminé :

- Lee et al., le travail réalisé dans cette étude par l'équipe était de déterminer si les polymorphismes des récepteurs Toll-like (TLR) confèrent une susceptibilité au lupus érythémateux disséminé (LED). Les auteurs ont réalisé une revue systématique et une méta-analyse des rapports sur les associations entre les polymorphismes du TLR et la susceptibilité au lupus érythémateux disséminé. Au total, 8 études (11 comparaisons distinctes) ont été incluses dans cette méta-analyse, qui portait sur des populations européennes et asiatiques. La méta-analyse a montré une association entre l'allèle 2 de rs3853839 (TLR7) et le LED chez les sujets asiatiques (OR 1.246 ; 95% CI 1.160, 1.388 ; $p=2 \times 10^{-9}$). Aucune étude sur rs3853839 (TLR7) et rs352139 (TLR9) n'a été réalisée chez les Européens. Aucune association n'a été trouvée entre le LED et les 2 allèles du polymorphisme rs5743836 (TLR9) chez l'ensemble des sujets ou chez les Européens, mais une étude a montré une association significative chez les Asiatiques (OR 4.243 ; 95% CI 1.487, 12.10 ; $p=0.007$). En outre, aucune association n'a été trouvée entre le polymorphisme rs5744168 (TLR5) et la susceptibilité au LED chez les Européens ou entre les polymorphismes rs187084 (TLR8) ou rs352140 (TLR9) et la susceptibilité au LED chez les Asiatiques. Cette méta-analyse suggère que les polymorphismes TLR7 et TLR9 sont associés au développement du LED chez les Asiatiques. D'autres études sont nécessaires pour déterminer si les polymorphismes TLR contribuent à la susceptibilité au LED dans d'autres groupes ethniques (Lee et al., 2012).
- Dans ce travail Azab et al., ont voulu évaluer et analyser les polymorphismes de nucléotides simples (SNP) dans les gènes TLR7 (rs3853839) et TLR9 (rs187084) chez les patients égyptiens atteints de lupus érythémateux disséminé et chez les témoins sains. Le lupus érythémateux systémique (LES) se caractérise par une forte production d'auto-anticorps dirigés contre des composés nucléaires. Les TLR (toll-like receptors 7/9) sont des récepteurs qui reconnaissent les acides nucléiques et induisent des réponses pro-inflammatoires en activant le NF- κ B et en produisant de l'interféron de type I. Ces récepteurs jouent un rôle dans le déclenchement des réponses immunitaires innées/adaptatives et dans le développement de l'inflammation chronique. Les polymorphismes de nucléotides simples (SNP) de TLR7 et TLR9 ont été associés au lupus érythémateux disséminé dans de nombreuses études (SLE). Des échantillons de sang total ont été prélevés sur 100 patients atteints de LED et 100 témoins ; l'ADN a été

extrait puis traité pour l'analyse des polymorphismes nucléotidiques simples TLR7 rs3853839 et TLR9 rs187084 par la technologie de réaction en chaîne de la polymérase en temps réel et le polymorphisme de longueur des fragments de restriction. Les chercheurs ont également évalué l'association entre le polymorphisme des gènes TLR 7 et TLR 9 et les paramètres cliniques du LED, les résultats ont montré que les génotypes TLR7 rs3853839 CG et l'allèle G étaient significativement associés au LED. De même, les génotypes et les allèles de TLR7 rs3853839 sont significativement associés à la néphrite, à l'arthrite, aux ulcères buccaux et à la thrombocytopénie. En revanche, les génotypes et les allèles de TLR9 n'étaient pas significativement associés au risque ni aux caractéristiques cliniques du LED, à l'exception de l'éruption cutanée malaire. Dans la cohorte égyptienne étudiée, nos résultats suggèrent que les polymorphismes du gène TLR7 rs3853839 augmentent le risque de développement du LED et jouent un rôle dans le développement des caractéristiques cliniques, en particulier la néphrite (Azab et al., 2022).

5-L'association du polymorphisme du gène C1q et la susceptibilité au LED

- Ebrahimiyanzt et al., ont effectué une recherche exhaustive pour trouver et méta-analyser tous les polymorphismes des gènes du complément associés au LED. Le dysfonctionnement du complément se traduit par une capacité réduite à éliminer les débris cellulaires apoptotiques qui peuvent stimuler la production d'auto-anticorps dans le lupus érythémateux disséminé (LED). dans cette méta-analyse et afin de révéler l'association exacte avec le risque de LED. Des bases de données électroniques, dont Scopus, PubMed et Google Scholar, ont été consultées pour trouver des études portant sur les polymorphismes des gènes ITGAM, C1q et MBL et le risque de LED dans différentes populations.

L'association entre les polymorphismes des gènes ITGAM, C1q et MBL et la susceptibilité au LED a été analysée à l'aide de l'odds ratio (OR) regroupé et de l'intervalle de confiance à 95 % correspondant. Selon les critères d'inclusion, un total de 24 études, comprenant 4 études pour C1QA rs292001, 5 études pour C1QA rs172378, 9 études pour ITGAM rs1143679, 8 études pour MBL rs1800450, 3 études pour MBL2 rs1800451, et 3 études pour MBL2 rs5030737, ont été incluses dans la méta-analyse finale. Une association positive significative a été trouvée entre ces polymorphismes et le risque de LED (Ebrahimiyanzt et al., 2022).

- Wang et al., ont assigné comme objectif principal dans leur méta-analyse d'examiner l'association entre les polymorphismes du gène C1q et le risque de LED. Tous les articles pertinents ont été recherchés dans PubMed, Web of Science et CNKI jusqu'en juin 2020. L'OR regroupé et l'IC à 95 % avec un modèle aléatoire ont été utilisés pour évaluer la force de l'association entre les polymorphismes C1q et le LED. Huit articles ont été inclus dans cette méta-analyse. Les résultats regroupés ont montré que le gène C1q rs631090 était associé au LED uniquement dans le modèle homozygote et récessif (modèle allélique : 1,169 (0,632-2,162), modèle homozygote : 2,342 (1,239-4,427), modèle hétérozygote : 0,983 (0,395-2,448), modèle dominant : 1,036 (0,418-2,567), modèle récessif : 2,281 (1,227-4,239)) et il n'y avait pas d'association entre C1q rs172378 et rs292001 et le LED (rs172378 (modèle allélique : 1,071 (0,949-1,210), modèle homozygote : 1,172 (0,868-1,584), modèle hétérozygote : 1,080 (0,892-1,306), modèle dominant : 1,100 (0,918-1,317), modèle récessif : 1,112 (0,863-1,431)) ; rs292001 (modèle allélique : 0,877 (0,657-1,170), modèle homozygote : 0,713 (0,320-1,589), modèle hétérozygote : 0,714 (0,448-1,138), modèle dominant : 0,703 (0,414-1,196), modèle récessif : 0,927 (0,601-1,430)). Néanmoins, la TSA a montré que davantage d'informations étaient nécessaires pour obtenir des résultats plus précis. Il n'y a pas de biais de publication. Cette méta-analyse suggère que le gène C1q rs631090, mais pas les gènes rs172378 et rs292001, pourrait être un facteur de susceptibilité potentiel associé au LED. Néanmoins, en raison de la taille limitée de l'échantillon dans cette méta-analyse, d'autres études d'association à grande échelle sont encore nécessaires pour confirmer les résultats (Wang et al.,2022).

Le lupus érythémateux systémique est une maladie auto-immune systémique complexe causée à la fois par des facteurs génétiques, environnementaux, endocriniens, et immunologiques. Les études déjà faites indiquent l'implication de multiple régions chromosomiques des gènes dans la susceptibilité à cette pathologie. L'influence des gènes sur la production accru de l'interféron type I (INF-I) est observée dans la maladie lupique est peut être déterminante.

Le présent travail est d'analyser les méta-analyses déjà faites auparavant

Les résultats montrent :

- ✓ La pathologie a une prédominance féminine.

- ✓ la corrélation entre le polymorphisme du gène PTPN22 et la susceptibilité au LED peut être affectée par la nationalité et la race et la région (Shi et al.,2013).
- ✓ Lors de méta-analyse l'allèle PTPN22 1858 T le génotype C/T + T/T était associé à la susceptibilité au LED chez tous les sujets de l'étude, les Européens et les Hispaniques, et qu'il existait une association entre le génotype T/T et le LED chez les Européens. La prévalence de l'allèle T était beaucoup plus faible chez les Afro-Américains (2,2 %) que dans toutes les autres populations étudiées, et c'est chez les Européens qu'elle était la plus élevée (9,5 %) (Lea et al.,2010).
- ✓ Les résultats montrent que l'association du polymorphisme PTPN22 avec les maladies auto-immunes dépend de la localisation du tissu affecté, ce qui suggère un rôle de la variation des organes ciblés dans les manifestations de la maladie (Zheng et al., 2012).
- ✓ Tizaoui et al., avaient confirmé l'association montrant l'association génétique de PTPN22 avec différents types de maladies, notamment le diabète sucré de type 1, le lupus érythémateux disséminé, l'arthrite juvénile idiopathique et plusieurs autres maladies.
- ✓ La stratification par ethnie a révélé des associations fortes entre l'allèle T et le LED chez les Asiatiques, les Européens et les Latino-Américains (Wang et al., 2019 ; hu et al., 2011)
- ✓ La vérification de la forte association entre les polymorphismes rs7574865 et rs10168266 du gène STAT4 et la susceptibilité au LED (Wang et al., 2021).
- ✓ les données suggèrent que IRAK1 et MECP2 contribuent à la susceptibilité au LED (Kaufman et al., 2013)et que les mutations des SNP (rs2075596, rs2239464) de MECP2 ont montré un risque accru de développer un LED (Liu et al., 2013).
- ✓ Les polymorphismes TLR7 et TLR9 sont associés au développement du LED chez les Asiatiques (Lee et al., 2012).
- ✓ Une variété de symptômes cliniques polymorphes est présente chez les patients souffrant du LES, phénotypiques externes, systémiques, et d'autres au niveau des organes internes dans la cohorte égyptienne étudiée, les résultats suggèrent que les polymorphismes du gène TLR7 rs3853839 augmentent le risque de développement du LED.
- ✓ L'association positive significative entre les polymorphismes des gènes ITGAM, C1q et MBL et la susceptibilité au LED positive significative a été trouvée entre ces polymorphismes et le risque de LED (Ebrahimiyanzt et al., 2022).

- ✓ La méta-analyse suggère que le gène C1q rs631090 pourrait être un facteur de susceptibilité potentiel associé au LED.

Appuyés par les données bibliographiques et les résultats des méta-analyses pris dans l'ensemble, ces derniers font ressortir l'implication de la composante génétiques dans la pathogénèse du LES mais aussi le rôle de la génétique des polymorphismes qui impactent l'INF-I à travers sa dérégulation dans le LES et dans d'autres maladies auto-immunes.

De ce fait, nous démontrons la corrélation entre les polymorphismes touchant ces gènes et le déséquilibre immunitaire induisant à la susceptibilité du LES.

Conclusion

Conclusion

A l'issue de notre étude, nous mettons en évidence l'implication du polymorphisme de certains gènes dans l'influence de l'expression de l'IFN type I qui est la cause principale de la réaction auto-immune chez les patients souffrant de lupus érythémateux systémique.

Le lupus érythémateux systémique est une maladie auto-immune évoluant en poussées, caractérisée sur le plan immunologique par la présence systématique d'une réaction auto-immune dirigée contre des antigènes d'origine nucléaire. Sa physiopathologie reste très imparfaitement connue mais fait intervenir une combinaison de facteurs environnementaux, génétiques et immunologiques.

En considérant l'ensemble des deux chapitres que nous avons rédigés au cours de notre étude, il est clair que cette maladie est très vaste car elle est multifactorielle et compliquée à la fois. Un nombre très important de gènes sont impliqués dans cette pathologie.

Le système IFN est notre système de défense le plus fondamental contre les infections, mais chez les patients atteints de LES, il existe une production continue d'IFN qui entretient un processus auto-immun. La complexité du système IFN, associée aux nombreuses caractéristiques cliniques du LES, a rendu difficile le ciblage des molécules appropriées chez chaque patient. Cependant, au cours des dernières années, nous avons assisté à une augmentation spectaculaire de la compréhension du système IFN et de son rôle dans le LES, car l'interféron où l'IFN type I en particulier est la cytokine chef d'orchestre de la réaction auto-immune chez les patients souffrant de LES, tout comme de nombreux chemins mènent à Rome, nous soutenons que de nombreuses altérations génétiques pourraient conduire à la surproduction soutenue d'IFN-I dans le LES humain.

Nos résultats révèlent l'association significative des polymorphismes de certains gènes qui influencent l'expression de l'IFN type I dans le lupus érythémateux systémique comme le PTPN22 rs24476601, l'IRF5 rs2004640 et le C1q rs631090 etc.

Au terme de la rétrospective réalisée et à travers laquelle nous avons abordé quatre méthodes moléculaires RT PCR pour la réaction de polymérisation en chaîne par transcriptase inverse et PCR pour la réaction en chaîne par polymérase, les puces à ADN, et la RFLP pour le polymorphisme de longueur des fragments de restriction et enfin PCR en temps réel. Il nous a été possible de constater l'intérêt et l'importance de ces approches.

En effet, ces techniques se sont révélées très utiles pour l'étude et la confirmation de l'association des différents polymorphismes avec le lupus érythémateux systémique plus précisément celui des gènes qui induisent à la dérégulation de l'expression de l'interféron de type I. Cette utilité est aussi évidente est cruciale pour la compréhension des autres facteurs impliquées dans la pathogénèse du lupus érythémateux qui font office de médiateurs dans cette maladie. Aussi Ces méthodes élargiront notre compréhension du LES et comment il a évolué au cours des années et son importance dans l'ouverture des portes pour la thérapie du LES.

Bien qu'ouvrant la voie à des perspectives prometteuses, nos résultats pris dans leur ensemble gagneraient toutefois à être approfondies à travers :

- On tient à vous informer du manque flagrant des études faites sur les polymorphismes des gènes qui influencent l'expression de l'IFN I dans le LES chez les patients Algériens souffrant de cette pathologie et des données épidémiologiques malgré que la production excessive de l'IFN dans le cas de cette maladie pourrait expliquer une grande parties des altérations immunitaires et caractéristiques pathologiques de la maladie dans notre pays.
- Il serait intéressant de faire un recensement des personnes atteintes en Algérie pour avoir une idée précise de l'ampleur de cette pathologie dans notre pays car le but principale de cette étude est de rapporter un plus à la recherche Algérienne sur cette maladie car les études d'association génétique des gènes mutés qui influencent l'IFN type I fournissent un outil potentiellement puissant pour identifier les variations génétiques qui influencent la pathogénèse du LES. Des réplifications supplémentaire entre des groupes distincts de patients d'origines ethniques différentes, permettent des gains significatifs dans le rétrécissement de l'intervalle associé à la maladie en raison.
- Toutes fois d'autres études seront nécessaire dans les pays voisins et populations proche ethniquement à savoir Maroc, Lybie et Tunisie et même dans le monde arabe afin de mieux comprendre les relations éventuelles entre la pathologie et ces polymorphismes dans la population africaine et Arabe.
- Des études plus poussées de ces polymorphismes permet l'explication de l'étiologie complexe de l'auto-immunité et aident à déterminer les critères de diagnostic et de pronostic de la maladie, ainsi que les développements en matière de médicaments.

Références Bibliographiques

- Abelson, A. K., Delgado-Vega, A. M., Kozyrev, S. V., Sánchez, E., Velázquez-Cruz, R., Eriksson, N., Wojcik, J., Linga Reddy, M. V., Lima, G., D'Alfonso, S., Migliaresi, S., Baca, V., Orozco, L., Witte, T., Ortego-Centeno, N., AADEA group, Abderrahim, H., Pons-Estel, B. A., Gutiérrez, C., Suárez, A., ... Alarcón-Riquelme, M. E. (2009). STAT4 associates with systemic lupus erythematosus through two independent effects that correlate with gene expression and act additively with IRF5 to increase risk. *Annals of the rheumatic diseases*, 68(11), 1746–1753.
- Ahmed, S., Ihara, K., Kanemitsu, S., Nakashima, H., Otsuka, T., Tsuzaka, K., Takeuchi, T., & Hara, T. (2001). Association of CTLA-4 but not CD28 gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus in the Japanese population. *Rheumatology (Oxford, England)*, 40(6), 662–667.
- Arnaud, L., & Amoura, Z. (2012). Lupus érythémateux systémique. EMC - Traité de Médecine AKOS, 7(2), 1–9.
- Amital, H., Szekanez, Z., Szucs, G., Danko, K., Nagy, E., Csepány, T., ... Shoenfeld, Y. (2010). Serum concentrations of 25-OH vitamin D in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) are inversely related to disease activity: is it time to routinely supplement patients with SLE with vitamin D. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(6), 1155–1157.
- Arnett, F. C., Jr., The genetics of human lupus. In “Dubois’ Lupus Erythematosus” (D. J. Wallace and B. H. Hahn, Eds.), pp. 77–117, Williams & Wilkins, Baltimore, 1997.
- Azab, M. M., Mostafa, F. M., Khalil, M., Salama, M., Abdelrahman, A. A., & Ali, A. A. (2022). Association of TLR7 and TLR9 genes polymorphisms in Egyptian patients with systemic lupus erythematosus. *Heliyon*, 8(11), e11680.
- Baccala R. Hoebe K. Kono DH. Beutler B. Theofilopoulos AN. TLR-dependent and TLR-independent pathways of type I interferon induction in systemic autoimmunity. *Nat Med*. 2007;13(5):543–551.
- Bae, S. C., & Lee, Y. H. (2019). Association between the interferon regulatory factor 5 rs2004640 functional polymorphism and systemic lupus erythematosus: an updated meta-analysis. *Lupus*, 096120331984401.

-
- Baechler, E. C., Batliwalla, F. M., Karypis, G., Gaffney, P. M., Ortmann, W. A., Espe, K. J., ... Behrens, T. W. (2003). Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(5), 2610–2615.
- Barber, M. R. W., Drenkard, C., Falasinnu, T., Hoi, A., Mak, A., Kow, N. Y., ... Ramsey-Goldman, R. (2021). Global epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Nature Reviews Rheumatology*, 17(9), 515–532.
- Baron, D., Raharijaona, M., & Houlgatte, R. (2007). Puces à ADN. *IRBM*, 28(5-6), 210–215.
- Bassi, C., Xavier, D., Palomino, G., Nicolucci, P., Soares, C., Sakamoto-Hojo, E., & Donadi, E. (2008). Efficiency of the DNA repair and polymorphisms of the XRCC1, XRCC3 and XRCC4 DNA repair genes in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 17(11), 988–995.
- Batteux F, Palmer P, Daeron M, Weill B, Lebon P. FCgammaRII (CD32)-dependent induction of interferon-alpha by serum from patients with lupus erythematosus. *Eur Cytokine Netw* 1999;10:509– 14.
- Bennett L. Palucka AK. Arce E. Cantrell V. Borvak J. Banchereau J. Pascual V. Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood. *J Exp Med*. 2003;197(6):711–723.
- Berg, H. (2012). Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified Fragments (PCR-RFLP) and Gel Electrophoresis - Valuable Tool for Genotyping and Genetic Fingerprinting. *Gel Electrophoresis - Principles and Basics*.
- Bielt M. Cutaneous diseases. Philadelphia: Lea & Carey; 1857.
- Blanco P, Palucka AK, Gill M, Pascual V, Banchereau J. Induction of dendritic cell differentiation by IFN-alpha in systemic lupus erythematosus. *Science* 2001;294:1540–3.
- Blomberg S, Eloranta ML, Cederblad B, Nordlin K, Alm GV, Ronnblom L. Presence of cutaneous interferon-alpha producing cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2001;10:484–90.
- Blotzer JW. Systemic lupus erythematosus, I: historical aspects. *Md State Med J* 1983;32:439–41.

-
- Borchers, A. T., Keen, C. L., & Gershwin, M. E. (2007). Drug-Induced Lupus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1108(1), 166–182.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32(3), 314–331.
- Botto, M., Dell' Agnola, C., Bygrave, A. E., Thompson, E. M., Cook, H. T., Petry, F., ... Walport, M. J. (1998). Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies. *Nature Genetics*, 19(1), 56–59.
- Bottini, N., Musumeci, L., Alonso, A., Rahmouni, S., Nika, K., Rostamkhani, M., ... Mustelin, T. (2004). A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes. *Nature Genetics*, 36(4), 337–338.
- Bruns, A., & Meyer, O. (2006). Manifestations neuropsychiatriques du lupus érythémateux disséminé. *Revue Du Rhumatisme*, 73(12), 1293–1300.
- Bustin, S. A. 2000. Absolute quantification of mRNA using real time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology* # 25: 169-193.
- Casciola-Rosen L, Andrade F, Ulanet D, Wong WB, Rosen A. Cleavage by granzyme B is strongly predictive of autoantigen status: implications for initiation of auto-immunity. *J Exp Med* 1999;190:815–26.
- Carding SR., Lu D., Bottomly KA. (1992). A polymerase chain reaction assay for the detection and quantification of cytokine gene expression in small number of cells. *J.Immunol.Methods* 151, 277-287.
- Cazenave PLA, Schedel HE. *Manual of the diseases of the skin*. Burgess (trans). London: Henry Renshaw; 1852.
- Chang, HH., Tseng, W., Cui, J. et al. Altered expression of protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22 isoforms in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 16, R14 (2014).
- Cohen S, Dadi H, Shaoul E, Sharfe N, Roifman CM. Cloning and characterization of a lymphoid-specific, inducible human protein tyrosine phosphatase, Lyp. *Blood*. 1999;93:2013–2024.

-
- Crow, M. K., Kirou, K. A., & Wohlgemuth, J. (2003). Microarray Analysis of Interferon-regulated Genes in SLE. *Autoimmunity*, 36(8), 481–490.
- Cutolo, M., Otsa, K., Paolino, S., Yprus, M., Veldi, T., & Serio, B. (2009). Vitamin D involvement in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 68(3), 446–447.
- Delrieu O, Michel M, Frances C, Meyer O, Michel C, Wittke F, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase alleles in French Caucasians are associated neither with lupus nor with primary antiphospholipid syndrome. GRAID Research Group. Group for Research on Auto-Immune Disorders. *Arthritis Rheum* 1999;42:2194–7.
- Deng, Y., & Tsao, B. P. (2010). Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in the genomic era. *Nature Reviews Rheumatology*, 6(12), 683–692.
- Donald Jr ET. *The lupus encyclopedia: a comprehensive guide for patients and families*. Johns Hopkins University Press; 2014.
- Doria, A., Iaccarino, L., Sarzi-Puttini, P., Atzeni, F., Turriel, M., & Petri, M. (2005). Cardiac involvement in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 14(9), 683–686.
- Ebrahimiyan, H., Mostafaei, S., Aslani, S., Faezi, S. T., Farhadi, E., Jamshidi, A., & Mahmoudi, M. (2022). Association between complement gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *Clinical and experimental medicine*, 22(3), 427–438.
- Ehrenstein MR, McSweeney E, Swane M, Worman CP, Goldstone AH, Isenberg DA. Appearance of anti-DNA antibodies in patients treated with interferon-alpha. *Arthritis Rheum* 1993;36:279– 80.
- Eid, R., Hammad, A., Abdelsalam, M., Fathy, A. A., Abd-El Ghafaar, D. M., Elmarghany, E. B., ... Hamdy, N. (2021). Tumor necrosis factor receptor II and PTPN22 genes polymorphisms and the risk of systemic lupus erythematosus in Egyptian children. *Lupus*, 30(9), 1449–1458.
- Elkon, K. B., & Stone, V. V. (2011). Type I Interferon and Systemic Lupus Erythematosus. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 31(11), 803–812.

-
- Ferralli, P., Egan, J. D., & Erickson, F. L. (2007). Making TaqDNA polymerase in the undergraduate biology laboratory. *BIOS*, 78(2), 69–74.
- Fatovic-Ferencic, S., & Holubar, K. (2004). Early history and iconography of lupus erythematosus. *Clinics in Dermatology*, 22(2), 100–104.
- Fitzgerald-Bocarsly P. Dai J. Singh S. Plasmacytoid dendritic cells and type I IFN: 50 years of convergent history. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2008;19(1):3–19.
- Galibert L, Burdin N, De Saint-Vis B, Garrone P, Van Kooten C, Banchereau J, et al. CD40 and B cell antigen receptor dual triggering of resting B lymphocytes turns on a partial germinal center phenotype. *J Exp Med* 1996;183:77–85.
- Gao, X., Wang, J., & Yu, Y. (2019). The Association Between STAT4 rs7574865 Polymorphism and the Susceptibility of Autoimmune Thyroid Disease: A Meta-Analysis. *Frontiers in Genetics*, 9.
- Garibyan, L., & Avashia, N. (2013). Polymerase Chain Reaction. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(3), 1–4.
- Gateva, V., Sandling, J. K., Hom, G., Taylor, K. E., Chung, S. A., Sun, X., ... Graham, R. R. (2009). A large-scale replication study identifies TNIP1, PRDM1, JAZF1, UHRF1BP1 and IL10 as risk loci for systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics*, 41(11), 1228–1233.
- Gregersen PK, Olsson LM. Recent advances in the genetics of autoimmune disease. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:363–391.
- Han, J.-W., Zheng, H.-F., Cui, Y., Sun, L.-D., Ye, D.-Q., Hu, Z., ... Zhao, G.-P. (2009). Genome-wide association study in a Chinese Han population identifies nine new susceptibility loci for systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics*, 41(11), 1234–1237.
- Harley, J. B., Alarcón-Riquelme, M. E., Criswell, L. A., Jacob, C. O., Kimberly, R. P., ... Langefeld, C. D. (2008). Genome-wide association scan in women with systemic lupus erythematosus identifies susceptibility variants in ITGAM, PDK, KIAA1542 and other loci. *Nature Genetics*, 40(2), 204–210.
- Hebra F. [Adams F, Trans.]. *On diseases of the skin including the exanthemata*, vol. 1. London: The New Sydenham Society; 1866.

-
- Heremans H, Billiau A, Colombatti A, Hilgers J, De Somer P. Interferon treatment of NZB mice: accelerated progression of autoimmune disease. *Infect Immun* 1978;21:925–30. [22]
- Santiago-Raber ML, Baccala R, Haraldsson KM, Choubey D, Stewart TA, Kono DH, et al. Type-I interferon receptor deficiency reduces lupus-like disease in NZB mice. *J Exp Med* 2003;197:777–88.
- Hu, W., & Ren, H. (2011). A meta-analysis of the association of IRF5 polymorphism with systemic lupus erythematosus. *International journal of immunogenetics*, 38(5), 411–417.
- Isaacs, A., & Lindenmann, J. (1957). Virus Interference. I. The Interferon. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 147(927), 258–267.
- Jacob, C. O., Zhu, J., Armstrong, D. L., Yan, M., Han, J., Zhou, X. J., ... Mohan, C. (2009). Identification of IRAK1 as a risk gene with critical role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(15), 6256–6261.
- Jego G, Palucka AK, Blanck JP, Chalouni C, Pascual V, Banchereau J. Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I interferon and interleukin 6. *Immunity* 2003;19:225–34.
- Kaposi M. *Lupus vulgaris*. [Tay W, Trans.]. In: Hebra FKM, editor. *On diseases of the skin including the exanthemata*, Vol. 7. London: The New Sydenham Society; 1875.
- Kariuki, S. N., Crow, M. K., & Niewold, T. B. (2008). The PTPN22C1858T polymorphism is associated with skewing of cytokine profiles toward high interferon- α activity and low tumor necrosis factor α levels in patients with lupus. *Arthritis & Rheumatism*, 58(9), 2818–2823.
- Kariuki, S. N., Kirou, K. A., MacDermott, E. J., Barillas-Arias, L., Crow, M. K., & Niewold, T. B. (2008). Cutting Edge: Autoimmune Disease Risk Variant of STAT4 Confers Increased Sensitivity to IFN- in Lupus Patients In Vivo. *The Journal of Immunology*, 182(1), 34–38.
- Kaufman, K. M., Zhao, J., Kelly, J. A., Hughes, T., Adler, A., Sanchez, E., Ojwang, J. O., Langefeld, C. D., Ziegler, J. T., Williams, A. H., Comeau, M. E., Marion, M. C., Glenn, S. B., Cantor, R. M., Grossman, J. M., Hahn, B. H., Song, Y. W., Yu, C. Y., James, J. A., Guthridge, J. M., ... Tsao, B. P. (2013). Fine mapping of Xq28: both MECP2 and IRAK1 contribute to risk for systemic lupus erythematosus in multiple ancestral groups. *Annals of the rheumatic diseases*, 72(3), 437–444.

-
- Kollewe, C., Mackensen, A.-C., Neumann, D., Knop, J., Cao, P., Li, S., ... Martin, M. U. (2003). Sequential Autophosphorylation Steps in the Interleukin-1 Receptor-associated Kinase-1 Regulate its Availability as an Adapter in Interleukin-1 Signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 279(7), 5227–5236.
- Koshy M, Berger D, Crow MK. Increased expression of CD40 ligand on systemic lupus erythematosus lymphocytes. *J Clin Invest* 1996;98: 826–37.
- Kriegel, M. A., Manson, J. E., & Costenbader, K. H. (2011). Does Vitamin D Affect Risk of Developing Autoimmune Disease: A Systematic Review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 40(6), 512–531.e8.
- Larzul, D. (1989). La PCR : principes et applications. *Immuno-Analyse & Biologie Spécialisée*, 4(4), 19–IN6.
- Lea, W., & Lee, Y. (2010). The association between the PTPN22 C1858T polymorphism and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis update. *Lupus*, 20(1), 51–57.
- Lee, K.J., Dong, X., Wang, J., Takeda, Y., and Dynan, W.S. (2002). Identification of human autoantibodies to the DNA ligase IV/XRCC4 complex and mapping of an autoimmune epitope to a potential regulatory region. *J Immunol* 169, 3413–3421.
- Lee JY, Goldman D, Piliero LM, Petri M, Sullivan KE. Interferon-gamma polymorphisms in systemic lupus erythematosus. *Genes Immun*. 2001 Aug;2(5):254-7.
- Lee-Kirsch, M. A., Gong, M., Chowdhury, D., Senenko, L., Engel, K., Lee, Y.-A., ... Hübner, N. (2007). Mutations in the gene encoding the 3'-5' DNA exonuclease TREX1 are associated with systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics*, 39(9), 1065–1067.
- Lee, Y. H., Lee, H. S., Choi, S. J., Ji, J. D., & Song, G. G. (2012). Associations between TLR polymorphisms and systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *Clinical and experimental rheumatology*, 30(2), 262–265.
- Litinskiy MB, Nardelli B, Hilbert DM, He B, Schaffer A, Casali P, DCs induce CD40-independent immunoglobulin class switching through BlyS and APRIL. *Nat Immunol* 2002;3:822–9.

-
- Liu, K., Zhang, L., Chen, J., Hu, Z., Cai, G., & Hong, Q. (2013). Association of MeCP2 (rs2075596, rs2239464) genetic polymorphisms with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Lupus*, 22(9), 908–918.
- Lood, C., Gullstrand, B., Truedsson, L., Olin, A. I., Alm, G. V., Rönnblom, L., ... Bengtsson, A. A. (2009). C1q inhibits immune complex-induced interferon- α production in plasmacytoid dendritic cells: A novel link between C1q deficiency and systemic lupus erythematosus pathogenesis. *Arthritis & Rheumatism*, 60(10), 3081–3090.
- Lorenz, T. C.2012. Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategies. *J. Vis. Exp.* 63:39-98.
- Machado-Contreras, J. R., Muñoz-Valle, J. F., Cruz, A., Salazar-Camarena, D. C., Marín-Rosales, M., & Palafox-Sánchez, C. A. (2016). Distribution of PTPN22 polymorphisms in SLE from western Mexico: correlation with mRNA expression and disease activity. *Clinical and experimental medicine*, 16(3), 399–406.
- Mackay, I. M., Arden, K. E. and Nitsche A. 2002. Real time PCR in virology. *Nucleic Acids Research* # 30: 1292-1305.
- MacLellan WR, Lusic AJ. Dilated cardiomyopathy: learning to live with yourself. *Nat Med* 2003;9:1455–6.
- Mathian, A., Arnaud, L., & Amoura, Z. (2014). Physiopathologie du lupus systémique : le point en 2014. *La Revue de Médecine Interne*, 35(8), 503–511.
- Magnusson, V., Nakken, B., Bolstad, A. I., & Alarcon-Riquelme, M. E. (2001). Cytokine Polymorphisms in Systemic Lupus Erythematosus and Sjogren's Syndrome. *Scandinavian Journal of Immunology*, 54(1-2), 55–61.
- Manning, M., & Hudgins, L. (2010). Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genetics in Medicine*, 12(11), 742–745.
- Meyer, O. (2005). Lupus érythémateux systémique. *EMC - Rhumatologie-Orthopédie*, 2(1), 1–32.
- Michel M ,2000.La revue de médecine interne - Vol 21 - n° 1004.

-
- Mo, Y., Wan, R., & Zhang, Q. (2012). Application of Reverse Transcription-PCR and Real-Time PCR in Nanotoxicity Research. *Nanotoxicity*, 99–112.
- Moez, P., & Soliman, E. (2012). Association of PTPN22 gene polymorphism and systemic lupus erythematosus in a cohort of Egyptian patients: impact on clinical and laboratory results. *Rheumatology international*, 32(9), 2753–2758.
- Ngaidé, A. A., Ly, F., Ly, K., Diao, M., Kane, A., Mbaye, A., ... Bâ, S. A. (2016). Les manifestations cardio-vasculaires au cours du lupus érythémateux systémique à Dakar : étude descriptive à propos de 50 cas. *Bulletin de La Société de Pathologie Exotique*, 109(5), 345–352.
- Namjou, B., Sestak, A. L., Armstrong, D. L., Zidovetzki, R., Kelly, J. A., Jacob, N., ... Jacob, C. O. (2009). High-density genotyping of STAT4 reveals multiple haplotypic associations with systemic lupus erythematosus in different racial groups. *Arthritis & Rheumatism*, 60(4), 1085–1095.
- Odendahl M, Jacobi A, Hansen A, Feist E, Hiepe F, Burmester GR, et al. Disturbed peripheral B lymphocyte homeostasis in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2000;165:5970–9.
- Ohan, N. W., & Heikkila, J. J. (1993). Reverse transcription-polymerase chain reaction: An overview of the technique and its applications. *Biotechnology Advances*, 11(1), 13–29.
- Orru, V., Tsai, S. J., Rueda, B., Fiorillo, E., Stanford, S. M., ... Dasgupta, J. (2008). A loss-of-function variant of PTPN22 is associated with reduced risk of systemic lupus erythematosus. *Human Molecular Genetics*, 18(3), 569–579.
- Osler W. On the visceral manifestations of the erythema group of skin diseases. *Am J Med Sci* 1904;127:1–23.
- Orozco, G., Sánchez, E., González-Gay, M. A., López-Nevot, M. A., Torres, B., Cáliz, R., ... Martín, J. (2005). Association of a functional single-nucleotide polymorphism of PTPN22, encoding lymphoid protein phosphatase, with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, 52(1), 219–224.
- Paisansinsup, T., Vallejo, A. N., Luthra, H., & David, C. S. (2001). HLA-DR Modulates Autoantibody Repertoire, But Not Mortality, in a Humanized Mouse Model of Systemic Lupus Erythematosus. *The Journal of Immunology*, 167(7), 4083–4090.

-
- Perdriger, A., Werner-Leyval, S., & Rollet-Elamrani, K. (2003). The genetic basis for systemic lupus erythematosus. *Joint Bone Spine*, 70(2), 103–108.
- Poitras, Elyse & Houde, Alain. (2003). La PCR en temps réel: Principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology*. 2. 2-11.
- Pons-Estel, G. J., Alarcón, G. S., Scofield, L., Reinlib, L., & Cooper, G. S. (2010). Understanding the Epidemiology and Progression of Systemic Lupus Erythematosus. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 39(4), 257–268.
- Powell, L. M., et al. 1987. A novel form of tissue-specific RNA processing produces apolipoprotein-B48 in intestine. *Cell* .50(6):831-840.
- Rafalski, A. 2002. Applications of Single Nucleotide Polymorphisms in Crop Genetics. *Current Opinion in Plant Biology*.5(2): 94–100.
- Ramantani, G., Kohlhase, J., Hertzberg, C., Innes, A. M., Engel, K., Hunger, S., ... Lee-Kirsch, M. A. (2010). Expanding the phenotypic spectrum of lupus erythematosus in Aicardi-Goutières syndrome. *Arthritis & Rheumatism*, 62(5), 1469–1477.
- Rooney. E. *Human Cytogenetics: constitutional analysis*. 3e édition.. Oxford University Press 2001.
- Ronblom LE. Alm GV. Oberg KE. Auto-immunité après traitement par interféron alpha pour les tumeurs carcinoïdes malignes. *Ann Stagiaire Med*. 1991 ; 115 (3) :178-183.
- Rychlik, W., Spencer, W. J., & Rhoads, R. E. (1990). Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro; *Nucleic Acids Research*, 18(21), 6409–6412.
- Salmon JE, Millard S, Schacter LA, Arnett FC, Ginzler EM, Gourley MF (1996), FcγRIIa alleles are heritable risk factors for lupus nephritis in African Americans. *J Clin Invest* 97:1348–1354.
- Sambrook J, Russel DW (2001) *Molecular cloning: a laboratory manual*, 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
- Sánchez-Guerrero, J., Uribe, A. G., Jiménez-Santana, L., Mestanza-Peralta, M., Lara-Reyes, P., Seuc, A. H., & Cravioto, M.-C. (2005). A Trial of Contraceptive Methods in Women with Systemic Lupus Erythematosus. *New England Journal of Medicine*, 353(24), 2539–2549.

-
- Sanchez Roman J. Castillo Palma MJ. Le juge Garcia Diaz E. Ferrer Ordinez. Le lupus érythémateux disséminé induit par un traitement par interféron alpha recombinant. *Med Clin.* 1994 ; 102 (5) : 198.
- Santos, C. F. dos, Sakai, V. T., Machado, M. A. de A. M., Schippers, D. N., & Greene, A. S. (2004). Reverse transcription and polymerase chain reaction: principles and applications in dentistry. *Journal of Applied Oral Science*, 12(1), 1–11.
- Sarkar,G., Kapelner,S., Sommer,S.S. 1990.Formamide can dramatically improve the specificity of PCR.*Nucleic Acids Res.*18:65-74.
- Savi, V., Moreau, J., Doffoel-Hantz, V., & Desmouliere, A. (2017). Le lupus érythémateux disséminé, un diagnostic complexe. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(567), 18–21.
- Sawalha AH, et al. Commonvariants within MECP2 confer risk of systemic lupus erythematosus. *PLoS ONE*. 2008;3:e1727.
- Schneider, W. M., Chevillotte, M. D., & Rice, C. M. (2014). Interferon-Stimulated Genes: A Complex Web of Host Defenses. *Annual Review of Immunology*, 32(1), 513–545.
- Schur, P. H. (1995). Review: Genetics of systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 4(6), 425–437.
- Shi, L., Wei, Y., Xun, W., & Han, D. (2013). Meta-Analysis of the Correlation Between PTPN22 Gene Polymorphisms and Susceptibility to Systemic Lupus Erythematosus. *Asia Pacific Journal of Public Health*, 25(4_suppl), 22S–29S.
- Shiao, Y.-H. (2003). A new reverse transcription-polymerase chain reaction method for accurate quantification *BMC Biotechnology*, 3(1), 22.
- Sibley J. T., Haug, B. L., and Lee, J. S. (1989) *Arthritis Rheum.* 32, 1045–1049.
- Sigurdsson, S., Nordmark, G., Garnier, S., Grundberg, E., Kwan, T., Nilsson, O., ... Ronnblom, L. (2008). A risk haplotype of STAT4 for systemic lupus erythematosus is over-expressed, correlates with anti-dsDNA and shows additive effects with two risk alleles of IRF5. *Human MolecularGenetics*, 17(18), 2868–2876.
- Smith CD, Cyr M. The history of lupus erythematosus, from Hippocrates to Osler. *Rheum Dis Clin North Am* 1988;14:1–14.

-
- Southern, E., Mir, K., & Shchepinov, M. (1999). Molecular interactions on microarrays. *Nature Genetics*, 21, 5–9.
- Stetson DB, Ko JS, Heidmann T, Medzhitov R. Trex1 prevents cell-intrinsic initiation of autoimmunity. *Cell*. 2008;134:587–598.
- Stojan, G., & Petri, M. (2018). Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Current Opinion in Rheumatology*, 30(2), 144–150.
- Stone, N. M., Williams, A., Wilkinson, J. D., & Bird, G. (2000). Systemic lupus erythematosus with C1q deficiency. *British Journal of Dermatology*, 142(3), 521–524.
- Swiecki M. Colonna M. Unraveling the functions of plasmacytoid dendritic cells during viral infections, autoimmunity, and tolerance. *Immunol Rev*. 2010;234.
- Takeda, K., & Akira, S. (2001). Roles of Toll-like receptors in innate immune responses. *Genes to Cells*, 6(9), 733–742.
- Taylor, P. R., Carugati, A., Fadok, V. A., Cook, H. T., Andrews, M., Carroll, M. C., ... Walport, M. J. (2000). A Hierarchical Role for Classical Pathway Complement Proteins in the Clearance of Apoptotic Cells in Vivo. *The Journal of Experimental Medicine*, 192(3), 359–366.
- Theofilopoulos AN. Baccala R. Beutler B. Kono DH. Type I interferons (alpha/beta) in immunity and autoimmunity. *Annu Rev Immunol*. 2005;23:307–336.
- Tizaoui, K., Shin, J. I., Jeong, G. H., Yang, J. W., Park, S., Kim, J. H., Hwang, S. Y., Park, S. J., Koyanagi, A., & Smith, L. (2022). Genetic Polymorphism of PTPN22 in Autoimmune Diseases: A Comprehensive Review. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 58(8), 1034.
- Tsokos, G. C. (1987). *Systemic lupus erythematosus*. Edited by Robert G. Lahita. New York, John Wiley & Sons, 1986. 1,000 pages. illustrated. indexed. *Arthritis & Rheumatism*, 30(9), 1080–1080.
- Tsuzaka, K., Takeuchi, T., Onoda, N., Pang, M., & Abe, T. (1998). Mutations in T cell Receptor ζ Chain mRNA of Peripheral T cells from Systemic Lupus Erythematosus Patients. *Journal of Autoimmunity*, 11(5), 381–385.

-
- Ueda, T., Mizushige, K., Aoyama, T., Tokuda, M., Kiyomoto, H., & Matsuo, H. (2000). Echocardiographic Observation of Acute Myocarditis With Systemic Lupus Erythematosus. *Japanese Circulation Journal*, 64(2), 144–146.
- Uze G. Schreiber G. Piehler J. Pellegrini S. The receptor of the type I interferon family. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2007;316:71–95.
- Viallard JF, Bloch-Michel C, Neau-Cransac M, Taupin JL, Garrigue S, Miossec V., HLA-DR expression on lymphocyte subsets as a marker of disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 2001;125:485–91.
- Virchow R. Historische notizen uber lupus. *Arch F Pathol Anat u Physiol u F Kin Med* 1865;32:139–43.
- Wakeland, E. K., Liu, K., Graham, R. R., & Behrens, T. W. (2001). Delineating the Genetic Basis of Systemic Lupus Erythematosus. *Immunity*, 15(3), 397–408.
- Wang H, Wang T, Wang H, Wu Y, Wu L, Ling H, Ye DQ, Wang B. Risk of C1q variation in systemic lupus erythematosus: a meta-analysis with Trial Sequential Analysis. *PostepyDermatolAlergol*. 2022 Apr;39(2):353-361.
- Walker, J. M and Rapley, R. 2000. *Molecular Biology and Biotechnology*. ed. DeBOOCK, chapitre 2. p30-32. 592p.
- Wang, J. M., Huang, A. F., Yuan, Z. C., Su, L. C., & Xu, W. D. (2019). Association of IRF5 rs2004640 polymorphism and systemic lupus erythematosus: A meta-analysis. *International journal of rheumatic diseases*, 22(9), 1598–1606.
- Wang, J. M., Xu, W. D., & Huang, A. F. (2021). Association of STAT4 Gene Rs7574865, Rs10168266 Polymorphisms and Systemic Lupus Erythematosus Susceptibility: A Meta-analysis. *Immunological investigations*, 50(2-3), 282–294.
- Warchoń, T., Mostowska, A., Lianeri, M., Łacki, J. K., & Jagodziński, P. P. (2012). XRCC1 Arg399Gln Gene Polymorphism and the Risk of Systemic Lupus Erythematosus in the Polish Population. *DNA and Cell Biology*, 31(1), 50–56.
- Weier HU, Gray JW (1988) A programmable system to perform the polymerase chain reaction. *DNA* 7:441–7.

-
- Williams.R. C. 1989.Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP).yearbook of physical anthropology.32:159-184
- Wu J, Wilson J, He J, Xiang L, Schur PH, Mountz JD. Fas ligand mutation in a patient with systemic lupus erythematosus and lymphoproliferative disease. J Clin Invest. 1996 Sep 1;98(5):1107-13.
- Yamada, M., Oritani, K., Kaisho, T., Ishikawa, J., Yoshida, H., Takahashi, I., ... Matsuzawa, Y. (2004). Complement C1q regulates LPS-induced cytokine production in bone marrow-derived dendritic cells. European Journal of Immunology, 34(1), 221–230.
- Yang, W., Shen, N., Ye, D.-Q., Liu, Q., Zhang, Y., ... Qian, X.-X. (2010). Genome-Wide Association Study in Asian Populations Identifies Variants in ETS1 and WDFY4 Associated with Systemic Lupus Erythematosus. PLoS Genetics, 6(2), e1000841.
- Yim, Y.-S., & Wakeland, E. K. (2001). The genetics of lupus. Current Opinion in Nephrology and Hypertension, 10(3), 437–443.
- Ytterberg SR. Schnitzer TJ. Taux d'interféron sérique chez les patients atteints de lupus érythémateux disséminé. Arthrite Rheum. 1982 ; 25 (4) : 401-406.
- Zheng, J., Ibrahim, S., Petersen, F. et al. Meta-analysis reveals an association of PTPN22 C1858T with autoimmune diseases, which depends on the localization of the affected tissue. Genes Immun 13, 641–652 (2012).

Sites web

- (www.eurofins-biomnis.com).
- (<https://slideplayer.fr/slide/1185188/>) Estibaliz Lazaro ,2013.
- (Gnis-pedagogie.org: <https://www.semae-pedagogie.org/sujet/marqueurs-moleculaires/#>)
- <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2010/revue-medicale-suisse-237/puce-a-adn-pourquoi-et-pour-qui>

Résumé

الملخص: الذئبة الحمامية الجهازية أو الذئبة الحمراء هي مرض مناعي ذاتي معقد بالتهاب مزمن لأعضاء مختلفة مرتبط بوجود أجسام مضادة موجهة ضد المستضدات النووية، ويرتبط هذا المرض المناعي الجهازى المعقد بتشوهات مناعية متعددة واحدة من أهم هذه التشوهات هي الزيادة في النوع الأول من الأنترفيرون يمكن أن يؤثر على العديد من أنواع الخلايا المشاركة في مرض الذئبة. تلعب كل من عوامل الخطر الوراثية والبيئية دوراً في تطوير التسبب في مرض الذئبة الحمراء لتسليط الضوء على أهمية تعدد الأشكال الجينية التي تؤثر على تعبير الأنترفيرون، حددت دراسات الارتباط على مستوى الجينوم والجينات المرشحة عددًا من الجينات المشاركة في مسارات الأنترفيرون من النوع الأول المرتبطة بمرض الذئبة الحمراء (SLE) الذي يعد هدفًا واعدًا للتدخلات العلاجية. يتم تسليط الضوء على أوجه القصور الجينية المفردة التي تؤدي إلى أنماط ظاهرية تشبه الذئبة والعديد من المتغيرات متعددة الجينات التي ارتبطت باستمرار بمرض الذئبة وتناقش العلاقة بين هذه الجينات وإنتاج الأنترفيرون.

الكلمات المفتاحية: مرض الذئبة الحمامية، مرض مناعي ذاتي معقد، تشوهات مناعية متعددة، النوع الأول من الأنترفيرون، تعدد الأشكال.

Résumé : Le lupus Erythémateux systémique (LES) est une maladie auto-immune complexe caractérisée par l'inflammation chronique de différents organes associée à la présence d'anticorps dirigés contre des antigènes nucléaires, cette maladie auto-immune systémique complexe est associée à de multiples anomalies immunologiques. L'une des plus importantes anomalies immunologiques est l'augmentation de l'interféron de type I (IFN α) est une cytokine pléiotrope qui peut affecter plusieurs types de cellules impliquées dans le lupus. Les facteurs de risque tant génétiques qu'environnementaux jouent un rôle dans le développement de la pathogenèse du LES. Pour souligner l'importance des polymorphismes des gènes qui influencent l'expression de l'IFN, des études de gènes candidats et d'associations pangénomiques ont identifié un certain nombre de gènes impliqués dans les voies de l'IFN de type I associées au LES du lupus qui est une cible prometteuse pour les interventions thérapeutiques. Des déficiences monogéniques qui entraînent des phénotypes de type lupique et plusieurs variantes polygéniques qui ont été systématiquement associées au LES sont mises en évidence, et la relation de ces gènes avec la production d'IFN-I est discutée.

Mots clés : Lupus érythémateux systémique (LES), Maladies auto-immunes systémique complexe, anomalies immunologiques, L'interféron de type I (INF-I) , polymorphisme.

Abstract: Systemic lupus erythematosus (SLE) is a complex autoimmune disease characterized by chronic inflammation of various organs associated with the presence of antibodies directed against nuclear antigens. This complex systemic autoimmune disease is associated with multiple immunological abnormalities. One of the most important immunological abnormalities is the increase in type I interferon (IFN α), a pleiotropic cytokine that can affect several of the cell types involved in lupus. Both genetic and environmental risk factors play a role in the development of the pathogenesis of SLE. To highlight the importance of gene polymorphisms that influence IFN expression, candidate gene and genome-wide association studies have identified a number of genes involved in type I IFN pathways associated with lupus SLE that are promising targets for therapeutic interventions. Single gene deficiencies that lead to lupus-like phenotypes and several polygenic variants that have been consistently associated with SLE are highlighted, and the relationship of these genes to IFN-I production is discussed.

Keywords: Systemic Lupus Erythematosus (SLE), complex systemic autoimmune diseases, immunological abnormalities, type I interferon, polymorphism.