

**Université catholique de Louvain**

Faculté de Médecine



**MEMOIRE DE RECHERCHE CLINIQUE**

**Comparaisons des marqueurs histologiques synoviaux entre patients ACPA +  
et ACPA- dans la polyarthrite rhumatoïde.**

**PIRBUCCUS Fadil**

**Présentation : 24.04.2018**

**Promoteur : Pr. LAUWERYS Bernard**

<b>Table des matières</b>	<b>N° de page</b>
<b>ABSTRACT</b>	5
<b>RESUME</b>	6
<b>I.Introduction</b>	7
1. Epidémiologie	7
1.1.Variation géographique	7
1.2.Sexe	7
1.3.Age	7
2. Diagnostic	8
2.1.Critères de classification	8
2.2.Biomarqueurs de diagnostic	9
2.2.1. Facteur rhumatoïde	9
2.2.2. Anticorps anti-peptide/protéine citrulliné(e) (ACPA)	9
3. Etiologie et facteurs de risque	10
3.1. Les facteurs génétiques	10
3.1.1. Gènes HLA	11
3.1.2. Gènes non-HLA	11
3.2. Facteurs environnementaux et infectieux	11
4. Physiopathologie de la PR	12
4.1. Membrane synoviale	12
4.2. La synovite dans la PR	13
4.3. Rôle de l'immunité cellulaire adaptative	14
4.3.1. Lymphocytes T	14
4.3.2. Rôle des lymphocytes Th17	15
4.3.3. Lymphocytes T régulateurs	15
4.3.4. Lymphocytes B	15
4.4. Rôle de l'immunité cellulaire innée	15
4.4.1. Macrophages	15
4.5. L'angiogenèse dans la PR	16

4.6. La nécrose fibrinoïde	16
4.7. Cytokines	16
4.7.1. Cytokines pro-inflammatoires	17
4.7.1.1. TNF $\alpha$	17
4.7.1.2. IL-1	18
4.7.1.3. IL-6	18
4.7.1.4. IL-23	18
4.7.2. Cytokines anti inflammatoires	18
4.7.2.1. IL-10	18
4.7.2.2. IL-4	18
5. Evolution et marqueurs d'activité de la PR	19
5.1. DAS	19
5.2. SDAI et CDAI	20
6. Conséquences systémiques de la PR	21
7. Traitement de la PR	21
7.1. Disease modifying antirheumatic drugs(DMARDs)	21
7.1.1. Traitement de première ligne	23
7.1.2. Traitement de deuxième ligne	24
7.1.3. Corticothérapie	25
7.1.4. Réponse aux traitements	25
<b>II. Méthode</b>	27
1. Population	27
1.1. Critères d'inclusion	27
1.2. Critères d'exclusion	28
2. Biopsies synoviales	28
3. Données des patients	29
3.1. Caractéristiques de base	29
3.2. Statut tabagique	29
3.3. Evaluation de la douleur	30
3.4. Paramètres biologique	30
3.4.1. Sérologie	30
3.4.2. Paramètres inflammatoires	30

3.5. Capacité fonctionnelle	30
3.6. Traitements	30
3.7. Activité de la maladie	30
4. Analyses statistiques	31
<b>III. Résultats</b>	<b>31</b>
1. Données des patients	31
2. Biopsies synoviales	32
2.1. Observation N°1	32
2.2. Observation N°2	35
2.3. Analyse transcriptomique	36
<b>IV. Discussion</b>	<b>38</b>
<b>V. Conclusion</b>	<b>39</b>
<b>Références</b>	<b>40</b>

## **Abstract**

**Background/Purpose:** Differences in the pathogenesis of ACPA- versus ACPA+ rheumatoid arthritis are still poorly understood. In this study, we compared patterns of synovial changes in both disorders, and how they correlate with clinical parameters of disease activity.

**Methods:** Semi-quantitative histological scores (0-3) on synovial hyperplasia, diffuse and perivascular lymphocytic infiltrates, vascular hypertrophy and fibrinoid necrosis were obtained retrospectively from 76 ACPA+ and 41 ACPA- synovial biopsies, obtained by needle-arthroscopy from the knee of rheumatoid arthritis patients. Clinical and biological indices of disease activity (DAS28-CRP, SDAI, CDAI and their individual components) were retrieved from the medical records at the time of biopsy (T0). High-throughput transcriptomic data were available for 14 ACPA+ and 6 ACPA- patients.

**Results:** Synovial hyperplasia, vascular hypertrophy and fibrinoid necrosis scores were significantly higher in ACPA- compared to ACPA+ patients. Diffuse and perivascular lymphocytic infiltrates also scored higher in ACPA- patients, but the difference was not significant. In ACPA+ patients, all (except vascular hypertrophy) histological scores correlated with clinical and/or biological scores of disease activity at T0. By contrast, none of the histological scores displayed any correlation with disease activity measures in ACPA- patients. Transcriptomic analysis demonstrated a significant correlation between synovial hyperplasia and a T cell activation signature (e.g. IL6R, IL23R) in ACPA+ biopsies. This correlation was also present in ACPA- samples, but stronger correlations were found in this group with transcripts pointing at the activation of other T cell related pathways, such as IL10 and TGF $\beta$ 2.

**Conclusion:** Synovial biopsies from ACPA- versus ACPA+ rheumatoid arthritis patients display different histological characteristics and histoclinical correlations. In particular, synovial biopsies from ACPA- patients have a higher cellularity, yet are not associated with similar clinical disease activity. Preliminary transcriptomic data point at the presence of regulatory cells in ACPA- synovial tissue, as a potential explanation to this discrepancy.

## Résumé

**Contexte / Objectif :** Les différences dans la pathogenèse de l'ACPA- par rapport à l'ACPA + dans la polyarthrite rhumatoïde sont encore mal comprises. A travers cette étude, nous avons comparé les modèles de changements synoviaux dans les deux groupes, et comment ils sont corrélés avec les paramètres cliniques de l'activité de la maladie.

**Méthodes :** Des scores histologiques semi-quantitatifs (0-3) de l'hyperplasie synoviale, les infiltrats lymphocytaires diffus et périvasculaires, l'hypertrophie vasculaire et la nécrose fibrinoïde ont été obtenus rétrospectivement à partir de 76 biopsies synoviales des patients ACPA + et 41 ACPA- obtenues par arthroscopie à l'aiguille du genou de patients atteints de la polyarthrite rhumatoïde. Les indices cliniques et biologiques de l'activité de la maladie (DAS28-CRP, SDAI, CDAI et leurs composants individuels) ont été extraits des dossiers médicaux au moment de la biopsie (T0). Des données transcriptomiques à haut débit étaient disponibles pour 14 patients ACPA + et 6 patients ACPA -.

**Résultats :** Les scores d'hyperplasie synoviale, d'hypertrophie vasculaire et de nécrose fibrinoïde étaient significativement plus élevés chez les patients ACPA - que chez les l'ACPA +. Les infiltrats lymphocytaires diffus et périvasculaires ont également obtenu des scores plus élevés chez les patients ACPA-, mais la différence n'était pas significative. Chez les patients ACPA +, tous les scores histologiques (sauf l'hypertrophie vasculaire) étaient en corrélation avec les scores cliniques et / ou biologiques de l'activité de la maladie à T0. En revanche, aucun des scores histologiques n'a montré de corrélation avec les mesures de l'activité de la maladie chez les patients ACPA -. Les analyses transcriptomiques ont démontré une corrélation significative entre l'hyperplasie synoviale et une signature d'activation des cellules T (par exemple IL6R, IL23R) dans des biopsies d'ACPA +. Cette corrélation était également présente dans les échantillons ACPA-, mais des corrélations plus fortes ont été trouvées dans ce groupe avec des transcrits en lien avec l'activation d'autres voies liées aux cellules T, telles que IL10 et TGFβ2.

**Conclusion :** Les biopsies synoviales de patients ACPA- versus ACPA + présentent des caractéristiques histologiques et des corrélations histocliniques différentes. En particulier, les biopsies synoviales provenant de patients atteints d'ACPA- ont une cellularité plus élevée, mais ne sont pas associées à une activité clinique similaire. Des données transcriptomiques préliminaires indiquent la présence de cellules régulatrices dans le tissu synovial des patients ACPA -, ce qui pourrait potentiellement expliquer cette discordance.

## I. Introduction

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une pathologie inflammatoire chronique du tissu synovial. C'est une maladie non curable avec des conséquences lourdes sur le plan individuel, social et économique[1]. La PR peut mener à une destruction articulaire, à l'origine d'une altération de la qualité de vie, d'un handicap fonctionnel et d'une réduction de l'espérance de vie, en moyenne estimée à 3-10 ans dépendant de la sévérité et l'âge du début de la maladie[2–6]. L'étiologie de la polyarthrite rhumatoïde est inconnue et le pronostic est réservé. La compréhension de la pathogenèse a permis ces dernières années de développer des traitements avec des résultats tous à fait remarquables au niveau clinique. Hélas, il n'existe aucun marqueurs biologiques fiable pour prédire une réponse au traitement, l'évolution de la maladie ou même la toxicité des traitements chez un patient[7].

### 1. Epidémiologie

#### 1.1. Variation géographique

La PR est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires de l'adulte[8]. Des études menées dans les pays d'Europe du nord et en Amérique du nord estiment que la prévalence est de 0.5-1.1%[9–15] et de 0.3-0.7 % de la population pour les pays d'Europe du sud[16–20]. Les pays en voie de développement quant à eux sont moins affectés avec une prévalence de 0.1-0.5%[21–27].

#### 1.2. Sexe

L'incidence de la PR est plus élevée chez la femme que chez l'homme et les études montrent un ratio de 2/1 voire 3/1 [28].

#### 1.3. Age

La PR peut survenir à tout âge. Cependant, en général, elle survient le plus souvent entre 40 -50 ans chez la femme[2,4]. Il existe des formes pédiatriques/juvéniles. L'arthrite juvénile idiopathique (AJI) est la maladie rhumatismale la plus fréquente de l'enfance. Elle est définie selon l'American Rheumatism Association (ARA) comme une arthrite persistance sans cause reconnue, débutant avant l'âge de 16 ans et de durée supérieure à 6 semaines[5,6].

## 2. Diagnostic

En 1987, l'American College of Rheumatology (ACR) a mis en avant certains critères pour le diagnostic de la PR (table 1) en reprenant des observations cliniques, biologiques et radiologiques [29]. La présence d'au moins 4 critères permettait de faire le diagnostic de la PR avec une sensibilité +/- 80% et une spécificité de +/- 90% [30].

**Tableau 1. Critères de classification de 1987 de la PR selon l'American College of Rheumatology (ACR)**

1. Raideur matinale	Raideur au niveau des articulations et autour, pendant au minimum une heure jusqu'à l'amélioration maximale
2. Arthrite de $\geq 3$ articulations	$\geq 3$ articulations ayant eu une synovite objectivée par un médecin
3. Arthrite des articulations des mains	Au moins une articulation tuméfiée au niveau du poignet, de l'articulation métacarpo-phalangienne, ou de l'articulation interphalangienne proximale
4. Arthrite symétrique	Atteinte simultanée des mêmes articulations de chaque côté
5. Nodules rhumatoïdes	Nodules sous-cutanés sur les protubérances osseuses, les extenseurs ou les régions proche de l'articulation
6. Facteur rhumatoïde	Positivité du facteur rhumatoïde
7. Modifications radiologiques	Modifications typiques de la PR dans les radiographies de face des mains et des poignets

4/7 Critères nécessaire pour la PR, avec critères 1 à 4 depuis  $\geq 6$  semaines

### 2.1. Critères de classification

Très vite, on s'est aperçu que les critères établis ne permettaient pas une détection de la pathologie articulaire précocement. Certains éléments repris étaient des signes non

contestables que la maladie est bien installée avec des conséquences structurelles irréversibles (érosions marginales osseuses radiologiques). Ils montrent une faiblesse dans la détection de la maladie dans sa phase débutante avec un effondrement de la sensibilité à 77% et la spécificité à 77 %[30]. C'est la raison pour laquelle on a eu une collaboration américano-européenne (American college of rheumatology et European league against rheumatism) afin d'établir de nouveaux critères de classifications en 2010 dans le but d'identifier des patients avec une PR débutante (pré-dommage structurel irréversible) nécessitant l'introduction précoce d'un traitement de fond [31][32].

## 2.2. Biomarqueurs de diagnostic

Dans une optique de 'window of opportunity', le diagnostic précoce de la PR a toute son importance dans la mesure on pourrait prévenir des dégâts osseux importants et la progression au niveau radiologiques. Dans ce contexte, l'attention portée à l'identification des biomarqueurs ayant un rôle diagnostique dans les premiers stades de la maladie reste un sujet de grand intérêt [33,34]. Actuellement, les critères ACR/EULAR 2010 pour le diagnostic de la PR utilisent le facteur rhumatoïde(RF) et les anticorps contre les protéines citrullinées cycliques (anti-CCP). En plus d'eux, d'autres biomarqueurs diagnostiques pouvant aider au diagnostic précoce de la PR ont été identifiés.

### 2.2.1. Facteur rhumatoïde (FR)

Il s'agit d'un anticorps IgM dirigé contre la partie constante (Fc) des immunoglobulines IgG. La sensibilité du FR est de seulement 60-75% avec une spécificité de 40-85% [35][36]. Leur fréquence augmente avec l'âge et dans nombreuses autres pathologies suggérant que très probablement ils peuvent être qu'une simple activation polyclonale de lymphocytes B [37–39].

### 2.2.2. Anticorps anti peptide/protéine citrulliné(e) (ACPA)

Les ACPAs sont des anticorps qui reconnaissent un acide aminé particulier, la citrulline. Dans le temps on savait que certains auto-anticorps étaient élevés chez les patients atteints de PR. Ceux-ci étaient le facteur anti-périnucléaire(APF), les anticorps anti-kératine(AKA), et anti-Sa. En 1995, il a été montré que AKA et APF reconnaissaient en grande partie les mêmes autoantigènes, que sont les (Pro)filaggrines [40] et trois ans plus tard, il a été révélé que les anticorps mentionnés ci-dessus reconnaissaient des épitopes cibles dits citrullinés [41,42].

La citrullination est un processus de déimination post traductionnelle caractérisé par le remplacement d'un acide aminé (arginine) par un autre (citrulline) et lié à l'activité d'une enzyme, la peptidyl arginine déiminase (PAD). Dans la PR, plusieurs protéines peuvent être citrullinées par les enzymes PAD2 et PAD4 synoviales [43]. La (pro)fillagrine, collagène II,  $\alpha$  émolase, vimentine [44] et la fibrine [45] ont été identifiés dans la PR comme susceptibles d'être citrullinés et de devenir des autoantigènes potentiels pour les ACPA particulièrement lors de présentation par des molécules HLA de classe 2 [46].

Fait important, l'ACPA peut être détectée jusqu'à 10 ans avant l'apparition clinique de la maladie et son apparition augmente la probabilité de développement d'une PR [47–50]. Certaines équipes ont même démontré qu'elle pouvait être prédictif du développement de la maladie ou associée à des maladies plus sévères ou érosives [51]. On a montré que la vimentine qui est située à la surface des précurseurs des ostéoclastes et sous l'action inductible des PAD2, l'une des enzymes PAD responsable de la citrullination des protéines, la vimentine citrullinée est rendue accessible pour la liaison à des anticorps. Il a été démontré que la liaison d'anticorps anti-citrullinés à des précurseurs ostéoclastiques induit l'expression et la libération de  $\text{TNF}\alpha$ , qui est considéré comme le signal crucial pour une différenciation accrue des monocytes en précurseurs ostéoclastiques et en ostéoclastes matures. Fait intéressant, l'expression de PAD2 est régulée par une augmentation de la concentration en calcium, suggérant que la citrullination des protéines dans les ostéoclastes se développe en réponse au processus de résorption osseuse, dans lequel de grandes quantités de calcium sont mobilisées et les concentrations locales de calcium sont élevées [52].

Actuellement la présence de ces anticorps fait partie intégrante dans la description des nouveaux critères de classification de la PR et en clinique, la recherche des anticorps anti-CCP reste un outil très utile pour dépister la PR avec une bonne sensibilité (65-75 %) et une très bonne spécificité (90-95 %) [53].

### **3. Etiologie et facteurs de risque**

L'étiologie de la PR reste toujours inconnue à ce jour, mais il y a un consensus quant au fait qu'il s'agit d'une maladie multifactorielle qui résulte de l'interaction de différents facteurs génétiques, environnementaux, infectieux ou hormonaux.

#### **3.1. Les facteurs génétiques**

Les études sur des jumeaux ont impliqué des facteurs génétiques dans la PR, avec des taux de concordance de 15 à 30% chez les jumeaux monozygotes et de 5% chez les jumeaux

dizygotes[54]. Les analyses génomiques montrent clairement que les facteurs immunitaires régulateurs sous-tendent la maladie[55]. La prévalence de la PR chez un membre apparenté au premier degré d'un patient atteint de PR peut aller de 2 à 12 % , c'est à dire 2-10 x plus que dans la population générale[54,56]. Les études génétiques chez l'homme de type 'genome wide association studies'( GWAS) , et l'approche de gènes candidats ont permis d'identifier à ce jour plus de 30 loci de susceptibilité dans la PR en distinguant les gènes HLA(human leucocyte antigen) et non HLA[57].

### 3.1.1. Gènes HLA

Il a été établi que certains allèles dont les HLA-DRB1 \* 01 (HLA-DR1) et HLA-DRB1 \* 04 (HLA-DR4), contenant ce qu'on appelle l'épitope partagé, sont associés à la susceptibilité à la PR. Alors que les motifs d'acides aminés QKRAA, QQRAA et KKRAA sont des épitopes partagés connus conférant une susceptibilité. Le motif DERRAA quant à lui est plutôt responsable des effets protecteurs. L'HLADRB1 \* 1001 est également un allèle contenant un épitope partagé, qui peut contenir de la citrulline dans ses poches d'ancrage d'antigène et ainsi stimuler les réponses des cellules T spécifiques de la protéine citrullinée [58–61].

Les analyses génomiques montrent clairement que les facteurs immunitaires sous-tendent la maladie. D'autres explications possibles du lien entre la PR et l'épitope partagé comprennent la mimétisme moléculaire de l'épitope partagé par les protéines microbiennes, l'augmentation de la sénescence des cellules T induite par des molécules HLA contenant des épitopes partagés et une fonction de signalisation pro-inflammatoire potentielle sans rapport avec le rôle de l'épitope partagé dans la reconnaissance de l'antigène[62,63]. Cependant le locus HLA ne semble contribuer que pour 30-50 % de la susceptibilité génétique à la PR laissant supposer qu'il existe d'autres facteurs génétiques de susceptibilité non-HLA[64,65].

### 3.1.2. Gènes non-HLA :

De nombreux autres allèles qui confèrent un risque ont été identifiés dans la PR chez les patients ACPA-positifs. Ils sont en corrélation systématiquement avec la régulation immunitaire, impliquant la signalisation dépendant du facteur nucléaire  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) (par ex, TRAF1-C5 et c-REL), la stimulation et l'activation des lymphocytes T ainsi que leur différenciation (p. ex., PTPN22 et CTLA4) [66–69]. De plus, les interactions gène-gène qui augmentent le risque de maladie, telles que décrites entre HLA-DRB1 et PTPN22, illustrent la complexité du risque conféré par un gène donné[70]. Cependant les gènes non-HLA sont liés à un risque faible de développer la PR [71].

### 3.2. Facteurs environnementaux et infectieux

Le tabagisme et d'autres formes de stress bronchique (p. ex. exposition à la silice) augmentent le risque de polyarthrite rhumatoïde chez les personnes ayant des allèles HLA-DR4 sensibles[72]. De plus, le tabagisme et les allèles HLA-DRB1 augmentent de façon synergique le risque de contracter l'ACPA[73].

Les agents infectieux (p. ex., virus d'Epstein-Barr, cytomégalovirus, proteus et Escherichia coli) et leurs produits (p. ex. Protéines de choc thermique) ont longtemps été associés à la PR probablement par certaines formes de mimétisme moléculaire avec les molécules des articulations [74][75]. La formation de complexes immuns au cours de l'infection peut déclencher l'induction du facteur rhumatoïde(FR). En outre, la PR semble être associée à la maladie parodontale: porphyromonas gingivalis exprime PADI4, qui est capable de promouvoir la citrullination des protéines de mammifères [46]. Enfin, le microbiome gastro-intestinal est maintenant reconnu pour influencer le développement de l'auto-immunité et certaines bactéries sont même liées à un développement des auto anticorps dans la PR [76].

## 4. Physiopathologie de la PR

La polyarthrite rhumatoïde est principalement une maladie de la membrane synoviale. Le processus d'inflammation est généralement étroitement réglementé, impliquant à la fois les médiateurs qui initient et maintiennent l'inflammation et les médiateurs qui freinent le processus. Dans la polyarthrite rhumatoïde la membrane synoviale sera le siège d'un déséquilibre entre les deux médiateurs en faveur d'une inflammation chronique avec comme conséquence une destruction du cartilage et des os des articulations concernées.

### 4.1. Membrane synoviale

Normalement la couche interne de la capsule articulaire, appelée membrane synoviale est une structure de tissu pauci cellulaire et conjonctif qui tapisse les espaces des articulations diarthrodiales, des gaines tendineuses et des bourses. Elle assure la production du liquide articulaire qui a pour fonctions, la nutrition du cartilage avasculaire et aussi l'élimination de débris. Elle est composée de 3 couches, l'intima ou la couche bordante, la couche profonde ou subintima et la subsynoviale.

L'intima est constituée de 1 à 4 couches de synoviocytes, cellules de surface qui bordent l'intérieur de l'articulation, celle-ci est avasculaire. Il faut préciser qu'elle n'est pas considérée comme un épithélium ou endothélium car il manque des structures spécifiques d'adhésions telles des desmosomes, des jonctions serrées ou une membrane basale.

La subintima est par contre une couche vascularisée (capillaires, artéριοles et veinules), cellularisée (50% des cellules sont des synoviocytes, des mastocytes et des histiocytes, 30 à 50 % sont des lymphocytes T, 5 % des lymphocytes B et très peu de neutrophiles). Elle est bien organisée et contient des fibres de collagènes et de la substance fondamentale riche en mucopolysaccharides.

La subsynoviale est très peu cellularisée, elle contient quelques cellules conjonctivales et des cellules adipeuses baignant dans la substance fondamentale, qui peut être confondue avec les éléments capsulo-ligamentaire sous-jacents.

On retrouve dans l'intima et la subintima principalement deux types cellulaires de synoviocytes, le type A et le type B [77–79]. Les synoviocytes de type A ou synoviocytes de type macrophagiques (macrophage like synoviocyte, MLS) et ont pour rôle d'éliminer les débris cellulaires de l'espace articulaire et agissent comme une défense antibactérienne. Elles sont complètement différenciées et ont une faible capacité à proliférer. A la différence, les synoviocytes de type B ou synoviocytes de type fibroblastique (fibroblast like synoviocyte ou FLS), quant à eux gardent un potentiel de prolifération au sein de la membrane synoviale. Elles sont responsables de la protection et la nutrition de la cavité articulaire et du cartilage adjacent, de maintenir l'homéostasie articulaire par la sécrétion de protéines nutritives ou lubrifiantes dans la cavité articulaire comme l'hyaluronan ou la lubriline, et de contrôler le volume synovial. Ils jouent un rôle prépondérant dans la régulation du trafic leucocytaire par leur capacité à interagir avec les leucocytes car ils peuvent exprimer à leur surface des ligands impliqués dans la liaison avec d'autres cellules (CD44, vascular cell adhesion molecule1, ...) [80].

Enfin, les FLS permettent le maintien de la structure et de l'architecture de la membrane comme les cadhérines qui assurent les adhésions intercellulaires de même type. La cadhérine 11 étant principalement exprimé par les FLS de la synoviale.

#### 4.2. Synovite dans la PR

La membrane synoviale chez les patients atteints de PR est caractérisée par une hyperplasie de la couche bordante (l'intima) liée à la prolifération des fibroblastes synoviaux, une augmentation de la vascularité du subintima et un infiltrat de cellules inflammatoires (lymphocyte B, T ou macrophages). Ce sont principalement des lymphocytes T CD4+ les

principaux responsables des réponses immunitaires à médiation cellulaire pouvant s'organiser en structure folliculaire à centre germinatif (semblable à un organe lymphoïde secondaire). Il en résulte la formation d'un pannus synoviale, véritable lésion 'tumoral-like', siège de multiples interactions cellulaires, de production de médiateurs d'inflammatoires (cytokines et chemokines) et enzymes matricielles(métalloproteases) qui envahissent et détruisent le cartilage et les structures osseuses adjacents. La sécrétion de toutes ces molécules et l'interaction de ces cellules entre elles entretiennent la synovite rhumatoïde[77].

#### 4.3. Rôle de l'immunité cellulaire adaptative

##### 4.3.1. Lymphocyte T

Les lymphocytes T représentent entre 30-50 % des cellules dans la synovite. On ne sait pas à ce jour s'ils ont un rôle d'inducteur dans le développement de la maladie ou plutôt dans le maintien de la réponse inflammatoire [81–83]. Dans la synovite rhumatoïde, l'infiltration des lymphocytes T peut être *diffuse ou organisée*. Elle est souvent péri vasculaires et dans la couche profonde(subintima) , et forme parfois des agrégats de type follicule lymphoïdes contenant chez certains patients de véritables centres germinatifs[84–86]. Ces structures facilitent la présentation antigénique des cellules présentatrices d'antigènes(CPA) aux lymphocytes T et favorisent leur activation. On a trouvé par une analyse transcriptomique que chez les patients ACPA+, ces follicules lymphoïdes possédaient une signature moléculaire associée à une activation lymphocytaire(avec des gènes surexprimés dans les voies de JAK / STAT, voie signalisation du TCR,IL2R,IL7R et des voies de co-stimulation)[87].

Les lymphocytes CD4+ ont un rôle plus important que les lymphocytes CD8+ dans la pathogenèse de la PR. Ceci est suggéré par l'association des différents allèles MHC classe 2 avec la maladie et l'observation de nombreux clones de cellules T CD4+ dans la synovite. Ces cellules semblent jouer un rôle majeur dans la stimulation d'autres cellules (macrophage , RAFLS) à produire des cytokines inflammatoires (TNF  $\alpha$ , IL 1b)[88]. Dans le sang et la synoviale , les analyses de répertoire de lymphocytes T montrent des populations oligoclonales [89–91]. Dans la PR , on trouve des clones de cellules T qui diffèrent d'un patient à l'autre mais qui peuvent se retrouver dans plusieurs articulations d'un même patient à plusieurs moments de sa maladie[92,93].

#### 4.3.2. Rôle lymphocytes TH17

La découverte des lymphocytes TH17 a permis de mettre en évidence leur rôle fondamental dans la PR et par la même occasion de remettre en question l'idée qu'un déséquilibre entre cytokines TH1/TH2 au niveau de la synovial pourrait être explicatif du développement de la maladie. Les cellules TH17 ont un profil de sécrétion cytokinique très particulier comprenant l'IL-17A, IL 17 F, IL 21, et IL 22[94–96]. Par conséquent les lymphocytes TH17 ont un profil cytokinique différent de la classification classique TH1 ou de TH2. L'association de TGF $\beta$  et de l'IL6 induit la différenciation des cellules T naïves en cellules TH17[97–99]. On sait depuis quelques années que les lymphocytes TH17 ont un potentiel élevé d'inflammation au niveau tissulaire et qu'ils jouent un rôle important dans les maladies auto immunes[100–102]. On pense que dans la PR, il y aurait un déséquilibre en faveur des lymphocytes TH17 au profit des lymphocytes T régulateur.

#### 4.3.3. Lymphocytes T régulateurs

Ils interviennent en effet dans la suppression de clones de lymphocytes autoréactifs ayant échappé à la sélection négative dans le thymus et de l'activité des lymphocytes T dans une infection une fois le pathogène maîtrisé.

Ils possèdent une activité suppressive directe par la production de cytokines régulatrices IL-10, TGF B ou de IL-35 ou par leur activité sur la lyse cellulaire. Elles ont aussi une fonction indirecte de suppression par diminution de la présentation d'antigène par les CPA, en augmentant la production de molécules à activité suppressive entre autres[103,104]. Ce sont principalement des cellules CD4+ avec forte expression des CD25 et foxp3 à leur surface. Les cellules T régulatrices (fourche P3 [Foxp3 +]) détectées dans les tissus des patients atteints de PR semblent avoir une capacité fonctionnelle limitée[105]. Ce déséquilibre entre les cellules T régulatrices et Th17 peut également refléter le taux de TNF- $\alpha$  local, qui bloque l'activité de cellules T régulatrices [106]. Un traitement par un agent anti TNF $\alpha$  permet de restaurer leurs capacités suppressives soit en induisant de nouvelles populations différenciés T reg ( i Treg)[107].

#### 4.3.4. Lymphocytes B

Outre la production d'anticorps, les lymphocytes B présentent d'autres propriétés telles que la présentation des antigènes via des molécules HLA et des immunoglobulines de surface (BCR pour B cell receptor). Ils activent les lymphocytes T ou modulent leur profil de sécrétion de cytokines qui laisse imaginer que leur rôle n'est pas minime dans la PR.

D'ailleurs, l'utilisation de la Rituximab (anti CD 20- agent dépletant les lymphocytes B) a montré une évolution favorable de la PR.

#### 4.4. Rôle de l'immunité cellulaire inné

##### 4.4.1. Macrophages

Les monocytes sanguins se différencient en macrophages synoviales sous l'effet des facteurs de croissance (GM-CSF : granulocyte-macrophage colony stimulating factor) ou de cytokines environnantes (TNF $\alpha$ )[108,109]. Dans la PR, le nombre de macrophages synoviaux est augmenté. Ils sont activés par différents facteurs (stimulations physiques, TLR, cytokines). Ces macrophages contribuent à l'amplification de la réponse inflammatoire en stimulant la production de divers molécules effectrices ou régulatrices. Elles activent aussi les lymphocytes T et d'autres cellules de la synovite par leur fonction de cellules présentatrices d'antigènes[110]. On a montré une corrélation entre le degré d'infiltration des macrophages synoviaux et les destructions ostéoarticulaires évaluées radiologiquement[111].

#### 4.5. Angiogenèse dans la PR

L'angiogenèse se définit comme une formation de nouveaux capillaires à partir des vaisseaux préexistants. Dans la PR, il y a une néo-vascularisation incontrôlée[112]. Les facteurs pro-angiogéniques produits en excès contrecarrent les inhibiteurs angiogéniques pour soutenir l'infiltration des leucocytes transendothéliaux qui favorise l'inflammation synoviale ainsi que la destruction des os et du cartilage. Les macrophages synoviaux et les fibroblastes jouent un rôle prédominant dans l'angiogenèse de la PR. Le contact cellulaire entre les fibroblastes et les macrophages dans la couche profonde amplifie les cascades de signalisation inflammatoire puisque le simple contact de ces cellules provoque la production d'IL-6 et IL-8 [113] qui combinés avec les conditions hypoxiques locales activent les macrophages et les fibroblastes synoviaux à sécréter des facteurs de croissance tels que le facteur de croissance endothéliale vasculaire (VEGF). En outre, l'angiogenèse a été reconnue comme un événement clé la formation et la croissance du pannus synovial[114]. Le pannus synovial est un tissu vasculaire et enflammé, provenant du péri-chondre, se propage dans les surfaces du cartilage et envahit la matrice du cartilage causant une destruction considérable. La croissance et la propagation du tissu pannus dans la PR ont été comparés à des tumeurs néoplasiques [115]. Inversement, l'inhibition de la néovascularisation articulaire peut soulager la synovite et la formation de pannus[116,117].

#### 4.6. Nécrose fibrinoïde

La nécrose fibrinoïde est une forme de nécrose, ou mort de tissu, dans laquelle il y a accumulation de matière protéique amorphe et basique dans la matrice tissulaire avec un motif de coloration qui rappelle la fibrine. Dans la PR, on a des nodules rhumatoïdes qui consistent d'un centre avec de la nécrose fibrinoïde entourée de macrophages disposés en palissade.

#### 4.7. Cytokines

Les monocytes, les macrophages, les fibroblastes et les lymphocytes T libèrent de nombreuses cytokines lors de la stimulation. Le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 sont celles qui jouent un rôle essentiel et plus marqué dans la pathogenèse de la PR. Les concentrations sériques et synoviales des deux cytokines sont élevées chez les patients atteints de PR active[118,119]. En outre, le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 sont de puissants stimulateurs des cellules mésenchymateuses, telles que les fibroblastes synoviaux, les ostéoclastes et les chondrocytes. On pense que ces deux actions entraînent des lésions articulaires. Peut-être en induisant la production d'interleukine-11, TNF- $\alpha$  stimule le développement des ostéoclastes, qui sont responsables de la dégradation osseuse[120].

##### 4.7.1. Cytokines pro-inflammatoires

###### 4.7.1.1. TNF - $\alpha$

Il est produit principalement par les monocytes et les macrophages, mais aussi par les cellules B, les lymphocytes T et les fibroblastes. Le TNF- $\alpha$  est une puissante cytokine pro-inflammatoire et un stimulateur autocrine ainsi qu'un inducteur paracrine d'autres cytokines inflammatoires, notamment l'IL-1, l'IL-6, l'IL-8 et le facteur stimulant les colonies de granulocytes-monocytes[121–123]. Le TNF  $\alpha$  favorise également l'inflammation en stimulant les fibroblastes à exprimer des molécules d'adhésion, comme la molécule d'adhésion intercellulaire 1 [124]. Ces molécules d'adhésion interagissent avec leurs ligands respectifs à la surface des leucocytes, ce qui entraîne un transport accru des leucocytes dans les sites inflammatoires, y compris les articulations chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde.

En tant que cytokine inflammatoire, le TNF- $\alpha$  joue un rôle important, peut-être dominant dans la synovite rhumatoïde. Dans les cultures de cellules synoviales provenant de patients atteints de PR, le blocage du TNF- $\alpha$  avec des anticorps réduit significativement la production d'IL-1, d'IL-6, d'IL-8 et de mononucléose monocyttaire.

#### 4.7.1.2. IL-1

L'interleukine-1 est une protéine qui est principalement produite par les monocytes et les macrophages, mais elle est également produite par les cellules endothéliales, les lymphocytes B et les cellules T activées[125]. Des études sur l'arthrite chez les animaux ont fortement impliqué l'IL-1 dans les lésions articulaires. L'injection d'IL-1 dans les articulations du genou des lapins entraîne la dégradation du cartilage[126], alors que l'injection d'anticorps contre l'IL-1 améliore l'arthrite induite par le collagène chez la souris et diminue les dommages au cartilages[127]. Les macrophages dans le tissu synovial des patients atteints de la PR semblent être une source importante d'IL-1[128]. Comme le TNF  $\alpha$ , l'IL-1 peut causer des dommages en stimulant la libération de métalloprotéinases matricielles des fibroblastes et des chondrocytes[129,130].

#### 4.7.1.3. IL-6

L'interleukine-6 est une cytokine inflammatoire pléiotropique produite par les lymphocytes T, les monocytes, les macrophages et les fibroblastes synoviaux. À l'origine, l'IL-6 est impliquée dans divers processus biologiques, tels que la maturation finale des cellules B en plasmocytes, l'activation des cellules T, l'induction de la réponse en phase aiguë, la stimulation de la croissance et la différenciation des cellules précurseurs hématopoïétiques, et la prolifération des fibroblastes synoviaux[131]. L'IL-6 joue un rôle dans la différenciation des cellules T naïves en lymphocytes TH17.

#### 4.7.1.4. IL-23

IL-23 est sécrétée par les cellules dendritiques activées et les macrophages. L'IL-23 peut induire une inflammation chronique par deux voies indépendantes. La première voie est via l'amélioration de la sécrétion de l'IL-17 par les cellules non-T, et la deuxième voie est par l'activation des cellules Th17.

### 4.7.2. Cytokines anti inflammatoires

#### 4.7.2.1. IL-10

L'interleukine-10 est produite par les monocytes, les macrophages, les cellules B et les lymphocytes T. Il inhibe la production de plusieurs cytokines, y compris l'IL-1 et le TNF- $\alpha$ , et la prolifération des lymphocytes T in vitro[132] et fait partie des cytokines anti inflammatoire. L'IL-10 peut également inverser la dégradation du cartilage médiée par les cellules mononucléées stimulées par l'antigène chez les patients atteints de polyarthrite

rhumatoïde [133]. Bien que l'IL-10 se trouve dans le liquide synovial des patients atteints de PR, la quantité peut être insuffisante pour supprimer l'inflammation[134].

#### 4.7.2.2. IL-4

L'interleukine-4 est produite par des lymphocytes TH2 et participe à la différenciation et à la croissance des cellules B [132] . In vitro, l'IL-4 inhibe l'activation des lymphocytes TH1, ce qui diminue la production d'interleukines 1, le TNF  $\alpha$  et limite la destruction du cartilage [133]. L'IL-4 inhibe également la production d'IL-6 et d'IL-8[135]. Dans les cultures d'échantillons de synoviale provenant de patients atteints de PR, l'IL-4 inhibe la production d'IL-1 et augmente l'expression du récepteur antagoniste de l'IL-1[136].

## 5. Evolution et marqueurs d'activité de la PR

Il est difficile à ce jour de prévoir l'évolution naturelle chez un patient donné car elle peut être active au cours du temps ou elle peut se révéler par des poussées avec des phases d'accalmie ou même être peu symptomatique avec une progression à bas bruit responsable de dégâts ostéo-articulaire sous-jacents.

Malgré qu'on n'ait pas de marqueurs fiables pour prédire son évolution, on dispose cependant de marqueurs d'activité de la maladie. On va tenir en compte les symptômes et impotence fonctionnelle secondaire, les paramètres biologiques d'inflammation, l'examen physique des articulations ainsi que l'appréciation de l'état du malade par le médecin pour se faire une idée de l'activité de la PR et ses conséquences. Enfin, on accordera une importance à la progression radiologique des atteintes articulaires pour juger de l'activité de la maladie.

Depuis 1993 , dans le but d'uniformiser des essais thérapeutiques et la réponse au traitement, des critères d'activité de la maladie ont été mis au point par les organisations rhumatologiques internationales , ACR et EULAR , en association avec des méthodologistes de l'outcome measures in rheumatology (OMERACT)[137–140]. Ces critères reposent principalement sur des paramètres inflammatoires et sur les symptômes perçus par le patient. Les paramètres inflammatoires concernent le nombre d'articulations douloureuses (NAD), le nombre d'articulations gonflées (NAG) et l'inflammation biologique (CRP ou VS). Les symptômes reposent sur la douleur évaluée par le patient sur une échelle visuelle analogique (EVA), la capacité fonctionnelle évaluée par le patient en utilisant des échelles validées

comme le Health Quality Scale ou ( HAQ) ou le Short Form Health survey(SF 36) et finalement l'appréciation globale de l'activité de la maladie évalué par le patient et le médecin[141,142].

Ces paramètres permettent de calculer des scores d'activité ou de rémission de la maladie ainsi que des critères de réponse au traitement. Validés pour être utilisés en routine clinique , ils permettent d'améliorer l'évaluation de la PR , son suivi ainsi que l'efficacité de ses traitements [143].

### 5.1. DAS 28 CRP

Le disease activity score (DAS) est une échelle d'activité développée par EULAR[144]. Ce score sera simplifié sur base de l'examen de 28 articulations appelé le DAS28 CRP ou VS qui prend en considération la mesure de 3 ou 4 paramètres[145]. Il permet de distinguer les différences d'activité de la PR: on définira une PR très active lorsque le DAS 28 > 5.1, une PR modérément active lorsque DAS28 > 3.2 et ≤ 5.1, une PR faiblement active si le DAS 28 ≤ 2.6 (ou un DAS < 1.6), même si certains auteurs discutent encore le seuil de rémission pour l'abaisser à 2.4[146,147].

Formule du DAS 28 (CRP) :  $0.56 * \text{racine (NAD 28)} + 0.28 * \text{racine (NAG)} + 0.36 \log (\text{CRP mg/L} + 1) + 0.014(\text{EVA état globale du patient}) + 0.96$

(NAD : nombre d'articulation douloureuse NAG :nombre d'articulation gonflée, CRP : C Reactive protein, EVA : échelle visuelle analogique sur 100 mm)[148].

### 5.2. SDAI et CDAI

Le Clinical Disease Activity Index (CDAI) et le Simplified Disease Activity Index (SDAI) ont été créé afin de pallier à la limitation du score DAS 28 dont un manque de spécificité pour une activité faible de la maladie ou même en rémission sans oublier la complexité de la formule. Un des plus grands avantages du CDAI est potentiel à être employé dans l'évaluation des patients avec une fréquence rapprochée indépendamment de tout dispositif de calcul [143]. Ils sont très utiles pour réaliser une évaluation objective, reproductible et comparable de l'activité de la polyarthrite rhumatoïde. Autant pour le CDAI que pour le SDAI, les scores des 28 articulations douloureuses ou gonflées visent les mêmes articulations (épaules, coudes, poignets, articulations métacarpo-phalangiennes, articulations interphalangiennes proximales et les genoux).

$\text{SDAI} = \text{NAD}(0-28) + \text{NAG}(0-28) + \text{VAS patient}(0-10) + \text{VAS Médecin}(0-10) + \text{CRP}(\text{mg/L})$

$\text{CDAI} = \text{NAD}(0-28) + \text{NAG}(0-28) + \text{VAS patient}(0-10) + \text{VAS Médecin}(0-10)$

## 6. Conséquences systémiques de la polyarthrite rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde est associée à des taux accrus de maladie cardiovasculaire (taux de mortalité standardisé d'environ 1,5), y compris l'infarctus du myocarde, les événements vasculaires cérébraux et l'insuffisance cardiaque (figure 3) [149–151]. Ces taux accrus ne sont pas expliqués par les facteurs de risque traditionnels [152,153] utilisation de glucocorticoïdes ou de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens, ou de caractéristiques génétiques communes. Les voies inflammatoires circulantes impliquées comprennent les cytokines (interleukine-6 et TNF- $\alpha$ ), les réactifs de phase aiguë, les complexes immuns et les particules lipidiques altérées (p. Ex. HDL riche en amyloïde sérique) qui augmentent l'activation endothéliale et rendent potentiellement instables les plaques athéromateuses [154].

L'inflammation de la polyarthrite rhumatoïde affecte également le cerveau (fatigue et fonction cognitive réduite), le foie (réponse aiguë de phase aiguë et anémie de maladie chronique), les poumons (maladie inflammatoire et fibrotique), les glandes exocrines (syndrome de Sjögren secondaire), les muscles (sarcopénie) , et les os (ostéoporose). L'ostéoporose affecte le squelette axial et appendiculaire, avec seulement une légère élévation de la réponse en phase aiguë ou de l'inflammation subclinique, et survient probablement avant l'apparition de la maladie articulaire .

Le risque de lymphome augmente chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde [155] et est fortement associé à une activité inflammatoire. L'activité soutenue de la maladie confère le risque le plus élevé [156]. Cependant, l'inflammation augmente le risque de cancer du poumon indépendamment du tabagisme, peut-être en raison des effets extra-articulaires connus depuis longtemps de la polyarthrite rhumatoïde sur le remodelage fibrotique du tissu pulmonaire interstitiel.

## 7. Traitement de la PR

### 7.1. Disease modifying anti rheumatic drugs (DMARDs)

Le traitement de la PR repose principalement sur l'utilisation de médicaments antirhumatismaux modificateurs de la maladie (ARMM). Ces agents sont généralement caractérisés par leur capacité à améliorer les signes et symptômes de la maladie, l'handicap, l'altération de la qualité de vie et la progression des lésions articulaires[157]. Les ARMM forment deux classes principales : les composés chimiques synthétiques (sDMARDs) avec une subdivision en 'conventional' DMARDs (cDMARDs ) et 'targeted' DMARDs (tDMARDs) et les

agents biologiques (bDMARDs). Les cDMARDs sont des immunosuppresseurs au sens large tandis que les bDMARDs ciblent les molécules individuelles impliquées dans les processus d'inflammation et de dommages articulaires tels que les IL6 , IL17 , TNF  $\alpha$  , .... Les traitements actuels de la PR sont repris dans le tableau 2.

(A noter que le terme cDMARDs sera utilisé pour inclure des agents chimiques tels que le méthotrexate (MTX), la sulfasalazine et le léflunomide, alors que le terme tDMARDs désignera le tofacinib).

**Tableau 2 : Les traitements actuels de la Polyarthrite rhumatoïde**

Nom molécule	Nom commercial	Type de DMARD	ACTION
AINS		-	Inhibiteur COX Anti inflammatoire
Corticostéroïds	Medrol®	-	Anti inflammatoire
Méthotrexate	Ledertrexate ®	cDMARDS	Antimétabolite
Léflunomide	Arava®	cDMARDS	Antimétabolite
Sulfazalazine	salazopyrine®	cDMARDS	Immunomodulateur
Hydroxy chloroquine	Plaquenil®	cDMARDS	Immuomodulateur
Tofacinib	xeljanz® , Jakvinus®	tDMARDS	Inhibiteur JAK
Infliximab	Remicadev®	bDMARDS	Anti TNF $\alpha$
Adalimumab	Humira®	bDMARDS	Anti TNF $\alpha$
Golimumab	Simponi®	bDMARDS	Anti TNF $\alpha$
Certolizumab	Cimzia®	bDMARDS	Anti TNF $\alpha$
Etanercept	Enbrel®	bDMARDS	Anti TNF $\alpha$
Tocilizumab	Roactemra®	bDMARDS	Anti IL6
Anakinra	Kineret ®	bDMARDS	Anti IL1
Canakinumab	Ilaris®	bDMARDS	Anti IL1
Rilonacept	Arcalyst ®	bDMARDS	Anti IL1
Abatacept	Orencia ®	bDMARDS	Blocage co-stimulation (CTLA4-IgG)
Rituximab	Mabthera®	bDMARDS	Anti CD20 (anti lymphocyte B )

Pour une maladie débutante à modérées, on va débuter avec un traitement immunomodulateur ±

antiinflammatoire. Si on a une PR modérée en poussée ou sévère, un traitement de fond sera initié. En Belgique, les biothérapies sont prescrites en cas d'échec ou d'intolérance à au moins deux cDMARDS et une PR qui reste active de manière modérée ou sévère. Les biothérapies peuvent être initié comme traitement de deuxième ligne sauf pour le rituximab qui nécessite l'usage préalable d'au moins un antiTNF $\alpha$ .

Au vu des options thérapeutiques abondantes disponibles et des informations insuffisantes sur l'efficacité et l'innocuité différentielles, nous vous proposons ci-dessous les nouvelles recommandations de 2016 de l'EULAR pour la prise en charge de la PR qui sont issues d'une révision de ' 2010 et 2013 EULAR recommandations for the management of RA'. La mise à jour 2016 des recommandations de l'EULAR pour la gestion de la PR reflète l'équilibre entre une l'efficacité clinique , la sécurité, les coûts et les perceptions des patients pour les molécules disponibles.

#### 7.1.1. Traitement de première ligne

Le traitement de fond antirhumatismal de choix reste le méthotrexate(MTX) (cDMARDS) sur base de son efficacité, sa sécurité (en particulier en présence d'acide folique), la possibilité d'individualiser la dose et la voie d'administration ainsi que son coût relativement faible. Celui-ci est administré le plus tôt possible et surtout si la PR montre des signes d'activités ou de sévérité (HAQ > 0.5, Anti CCP, érosions osseuses) afin de réduire les comorbidités et mortalités [158][159]. Le MTX en monothérapie a été associée à des taux de réponse ACR70 ( faible activité de la maladie) chez 25 % des patients dans les 6 mois, même si elle n'a pas été combinée avec un glucocorticoïde de novo[160].

En cas de contre-indications au MTX ou d'intolérance précoce, le léflunomide ou la sulfasalazine doivent être considérés comme faisant partie du traitement de première ligne. Ils ont tous deux démontré une efficacité clinique, fonctionnelle et structurale [161–165]. Parmi tous les molécules mentionnées ci-dessus, seule la sulfasalazine a un profil d'innocuité acceptable pendant la grossesse[166].

Le Plaquenil® a un effet positif sur le métabolisme des lipides et du glucose [167] et peut réduire le risque cardiovasculaire dans la PR [168] mais les lésions articulaires ne sont pas retardées dans une mesure similaire à celle des autres cDMARDS [169].

Les récentes recommandations de 2016 n'étaient pas en faveur d'une combinaison des cDMARDS comme traitement de première ligne sans doute pour des effets secondaires de ces médicaments à court terme qui ne sont pas rares (infections, troubles

hématologiques, insuffisance rénale ou hépatique) ou dans le long terme (risque oncologique et cardiovasculaire ) [170].

#### 7.1.2. Traitement en deuxième ligne

Si la cible du traitement n'est pas atteinte avec la première stratégie cDMARD et lorsque de mauvais facteurs pronostiques sont présents, l'initiation d'un bDMARD ou d'un tDMARD devrait être envisagée. Dans la pratique actuelle on va démarrer avec un bDMARD.

La recommandation initiale était d'initier une biothérapie bloquant le TNF- $\alpha$  en première intention pour les patients en échec ou intolérance d'au moins deux cDMARDs [171,172] et dont la PR reste active de manière modérée à sévère ( DAS 28 > 3.7), puis seulement une place aux autres biothérapies si échec d'au moins un antiTNF- $\alpha$ . Aujourd'hui en Belgique, n'importe quelle biothérapie (agents bloquant le TNF- $\alpha$ , Abatacept, Tocilizumab), à l'exception du rituximab (qui nécessite encore l'échec préalable d'un anti TNF- $\alpha$  ), peut être accessible (et remboursés) en première intention pour les patients en échec ou intolérance d'au moins deux cDMARDs et dont la PR reste active de manière modérée à sévère (DAS 28 > 3.7).

Deux tiers des patients traités répondent aux antiTNF- $\alpha$  ou toute autre biothérapie, malheureusement un tiers de patients n'y répondra pas même après 6 mois d'utilisation. On prescrira alors vers un autre agent bloquant le TNF- $\alpha$  s'il y a une non réponse au premier antiTNF- $\alpha$  ou un bloquer d'une autre voie.

L'absence de réponse primaire est à distinguer d'une perte de réponse secondaire liée à la diminution d'effets du traitement initialement efficace en relation avec l'apparition anticorps contre les molécules thérapeutiques. Les anticorps les plus fréquemment décrits sont les anticorps anti chimérique dirigés contre la partie murine de l'infliximab (Remicade). 8-43% des patients développent ces anticorps au cours des traitements dans la PR [173,174]. L'ajout de méthotrexate , l'augmentation de la posologie d'infliximab ou un raccourcissement du délai entre les perfusions sont parfois proposés pour maintenir une efficacité thérapeutique [175,176].

Enfin, on doit noter que la surveillance doit être fréquente dans les maladies actives (tous les 1 à 3 mois) et chaque 6 mois si maladie en rémission. S'il n'y a pas d'amélioration dans les premiers 3 mois après le début du traitement ou si notre cible n'a pas été atteinte avant 6 mois, la thérapie doit être ajustée.

### 7.1.3. Corticothérapie

Les glucocorticoïdes à faible dose doivent être considérés comme faisant partie de la stratégie de traitement initial (soit dans le cadre d'une première thérapie cDMARDs au moment du diagnostic, soit par la suite si une stratégie initiale a échoué) pendant une période allant jusqu'à 6 mois, mais un sevrage en glucocorticoïdes doit être envisagé dès que c'est cliniquement faisable. Par faible dose on entend une dose quotidienne de 7,5 mg au moins de prednisone[177,178]. Et donc la corticothérapie sera réservée par la suite au patient lors des poussées aiguës ou lors d'une atteinte systémique, permettant ainsi d'éviter les conséquences désastreuses liées à sa prise chronique. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens seront utilisés mais n'ont aucun effet sur la progression de la maladie.

L'identification des patients susceptibles de réponse aux traitements avant leur mise en route est indispensable afin de limiter la balance risque/bénéfice tant pour le patient que sur le plan économique (+/- 1000 /mois).

### 7.1.4. Réponse aux traitements

On distingue les critères de réponse américains (critères de réponse de l'ACR-tableau 3) [145,179] et les critères de réponse européens (critères de réponse de l'EULAR-tableau 4)[139]. Les critères de réponse de l'ACR sont mesurés selon l'évolution d'un pourcentage d'amélioration (20, 50, 70, 90%) d'un certain nombre de paramètres cliniques, biologiques ou fonctionnelles. On considère un patient comme répondeur dès une réponse ACR 20. La rémission est définie selon la FDA (Food and Drug Administration) comme une réponse clinique majeure (ACR 70) maintenue pendant 6 mois consécutifs, sans progression structurale et sous le même traitement de fond [180].

**Tableau 3 : les critères de réponse de L'ACR**

1. Nombres d'articulations douloureuses (NAD)
2. Nombres d'articulations gonflées (NAG)
3. Echelle visuelle analogique de la douleur en mm / 100
4. Echelle visuelle analogique de l'activité de la maladie par le patient en MM / 100
5. Echelle visuelle analogique de l'activité de la maladie par le médecin en MM / 100
6. Variables biologiques (CRP ou VS)
7. Evaluation de la fonction physique du patient (questionnaire HAQ, SFR, ..)

On définit la réponse ACR20 ACR50 ACR70, ACR90 en fonction de la diminution sous l'effet du traitement de 20% 50% 70% 90% du nombre de NAD ou NAG + une diminution de 20% 50 % 70% 90% d'au moins 3 des 5 dernières variables, définit par American Rheumatism Association (ARA actuellement ACR) en 1981 avec révisions de ces critères en 1995.

Les critères de réponse EULAR (Tableau 4) sont calculés sur base de l'évolution de l'activité de la maladie (par mesure du DAS 28) sous l'effet du traitement et du score d'activité final. Ce score permet de distinguer les patients bons répondeurs, répondeurs modères ou mauvais répondeurs [139].

Tableau 4 : Critères de réponse de L'EULAR			
Réponse thérapeutique (différence entre DAS28 initial et final)			
DAS 28 Activité	Différence > 1.2	0.6 < Différence ≤ 1.2	Différence ≤ 0.6
	Bonne réponse	Réponse modérée	Non réponse
DAS 28 ≤ 3.2			
Activité faible			
3.2 < DAS 28 ≤ 5.1	Réponse modérée	Réponse modérée	Non réponse
Activité modérée			
DAS 28 > 5.1	Réponse modérée	Non réponse	Non réponse
Activité sévère			

Différentiel de deux mesures du Das 28 (activité de la maladie) au cours d'une période donnée (ex en début ou en fin de traitement).

Le différentiel de Das 28 est ensuite comparé à l'activité résiduelle de la maladie en fin de période et permet de définir une bonne réponse, une réponse modère ou une non réponse au traitement. L'activité de la maladie est définie comme faible, modéré ou sévère en fonction de la mesure de Das 28 à un moment donné.

## **Objectif de ce mémoire**

Il existe deux types de patients dans la polyarthrite rhumatoïde. D'un côté on a les patients qui sont positifs pour l'anticorps anti peptide citrulliné (ACPA +) et ceux qui ne l'ont pas (ACPA -). A travers de ce mémoire de recherche clinique on ira voir rétrospectivement les scores histologiques, qui sont effectués au diagnostic par notre pathologiste, dans une série d'échantillons de biopsie synoviale du genou de patients atteints de la PR. Pour chaque biopsie, nous avons récupéré les scores suivants dans les dossiers médicaux des patients : hyperplasie synoviale, infiltrats inflammatoires diffus, infiltrats inflammatoires nodulaires perivasculaires, prolifération vasculaire et la nécrose fibrinoïde et nous allons étudier leur corrélation avec les indices biologiques et cliniques de l'activité de la maladie. En particulier, nous nous sommes demandés s'il existait des différences entre les patients ACPA positifs et ceux qui sont ACPA négatifs. En d'autres mots, existe-t-il deux expressions différentes de la maladie au niveau de la synovial selon la présence ou non des anticorps anti peptides citrullinés chez nos malades.

## **II. Méthode**

### **1. Population**

#### **1.1. Critères d'inclusion**

Les patients qui remplissaient les critères de diagnostic pour la PR et en même temps chez qui on disposait d'une biopsie de la synoviale ont été inclus. Evidemment ces patients-là étaient tous suivis en rhumatologie aux Cliniques universitaires St-Luc.

#### Critères diagnostic de la PR :

Tous les patients ont été sélectionnés sur base des critères ACR/EULAR 2010 pour le diagnostic de la PR. Pour être diagnostiquer d'une PR, le patient devait satisfaire les critères d'éligibilité et un score  $\geq 6/10$  pour les critères mentionnés ci-dessous (Tableau 5).

#### Score critères d'éligibilité :

- 1) Avoir au moins une articulation avec synovite clinique (gonflement).
- 2) Absence de tout autre diagnostic pouvant expliquer la synovite.

**Tableau 5 : Nouveaux critères de classification ACR/EULAR 2010 de la PR**

<b>A. Atteinte articulaire</b>	
1 grosse articulation	0
2-10 grosses articulations	1
1-3 petites articulations (avec ou sans grosses articulations)	2
4-10 petites articulations (avec ou sans grosses articulations)	3
>10 articulations (dont au moins 1 petite articulation)	5
<b>B. Sérologie</b>	
FR négatif et ACPA négatif	0
Faible titre si positivité (FR ou Anti-CCP)	2
Fort titre si positivité (FR ou Anti-CCP)	3
<b>C. Syndrome inflammatoire</b>	
Crp normale et vs normale	0
Crp anormale ou vs anormale	1
<b>D. Durée de symptômes</b>	
<6 semaines	0
≥6 semaines	1

VS-vitesse de sédimentation, CRP-C reactive protein, Fr-Facteur rhumatoïde, anti ccp-anticorps anti peptide cyclique citrulliné. ACR/EULAR ont élaborés des nouveaux critères de classification pour pallier au manque de sensibilisé aux critères ACR 1987 à diagnostiquer les patients avec une PR débutante aux critères ACR 1987 afin qu'il puisse bénéficier des traitements au bon moment pour minimiser des séquelles osseuses.

L'atteinte articulaire concerne une articulation gonflée ou douloureuse à l'examen clinique (à noter que les atteintes des inter phalangiennes distales, les premières carpo-métacarpiennes et les premières métatarso-phalangiennes ne sont prise en compte).

Les grosses articulations sont les épaules, coudes, hanches, genoux et les chevilles.

Une faible positivité est une valeur plus que la normale supérieur mais  $\leq 3x$  les valeurs normales.

Un score  $\geq 6/10$  est requis pour retenir le diagnostic de PR.

### 1.2. Critère d'exclusion

Les patients atteints de psoriasis, ou toute forme de spondylarthropathie, ont été exclus.

## 2. Biopsies synoviales

Les échantillons ont été obtenus par arthroscopie-biopsie à l'aiguille à partir des genoux d'un total de 117 patients atteints de la PR. Tous les patients avaient une maladie active au moment de l'échantillonnage de la biopsie, même ceux avec une maladie établie. Les patients étaient soit non traités, soit traités avec des DMARDs classiques ou biologiques. Par la suite des études pathologiques ont été réalisées sur 4 à 6 échantillons de biopsie par genou. Tous les échantillons ont été notés par le **même pathologiste**, en utilisant une méthode semi-quantitative standard. Chaque paramètre a reçu un score de 0 (absent) à 3 (sévère).

Prenons par exemple l'hyperplasie synoviale, ou un score de 0 signifiait 1 ou 2 couches de synoviocytes; un score de 1, 3 ou 4 couches de synoviocytes; un score de 2 représentait 4 à 6 couches de synoviocytes et au moins 7 couches de synoviocytes pour un score de 3.

Rappelons-le, les paramètres pris en compte étaient l'hyperplasie synoviale, infiltrats inflammatoires diffus, infiltrats inflammatoires nodulaires, prolifération vasculaire, nécrose fibrinoïde.

## 3. Données des patients

### 3.1. Caractéristiques de base des patients

Le sexe, l'âge et la durée moyenne d'évolution de la maladie au moment de la biopsie ont été relevés.

### 3.2. Statut tabagique

Comme mentionné ci-dessus, le tabagisme et les allèles HLA-DRB1 augmentent de façon synergique le risque de contracter l'ACPA d'où la nécessité de nos collectes d'informations sur le statut tabagique des patients sélectionnés. Seuls les patients avec un tabagisme actif au moment de la biopsie ont été pris en compte, les anciens fumeurs n'ont pas été répertoriés.

### 3.3. Evaluation de la douleur

Nous avons recueilli la douleur évaluée par le patient sur une échelle visuelle analogique EVA (VAS patient) et l'appréciation globale de l'activité de la maladie évalué par le patient et le médecin (VAS médecin).

### 3.4. Paramètres biologiques

#### 3.4.1. Sérologie

Etant donné que l'objet de notre étude se porte sur la comparaison des marqueurs histologiques synoviaux entre patients ACPA + et ACPA- dans la PR, on a assigné un statut ACPA + (sérologie + pour l'anticorps anti peptide citrulliné) ou ACPA – aux 4-6 biopsies prélevés par patient. A noter que la présence du facteur rhumatoïde (FR) a aussi été enregistrés pour ces patients-là.

#### 3.4.2. Paramètres inflammatoires

Ils se traduisent par le nombre d'articulations gonflées (NAD), nombres d'articulations gonflées (NAG) et l'inflammation biologique (CRP).

### 3.5. Capacité fonctionnelle

Le sore HAQ, indicatif du retentissement fonctionnel chez les patients atteints de PR a été repris pour chaque patient dans notre étude.

### 3.6. Traitements

Tous les médicaments susceptibles d'influencer l'activité de la maladie ont été répertoriés chez les personnes participant à notre étude. Ils sont les cDMARDs, bDMARDs et les antiinflammatoires stéroïdiens ou non.

### 3.7. Activité de la maladie

Afin de comparer la moyenne des scores d'activité de la maladie entre les patients ACPA + et les ACPA- au To, c'est à dire au moment de la biopsie, on a calculé pour chacun de nos patients leurs scores suivants: Das-28 CRP, SDAI et CDAI.

#### 4. Analyses statistiques

On a utilisé le test U de Mann-Whitney qui est un test statistique pour la comparaison de nos valeurs non paramétriques. Une valeur de  $p < 0.05$  était considérée comme statistiquement significative.

### III. Résultats

#### 1. Données des patients

Au tout début 613 ont été retenus sur base des critères d'inclusion et d'exclusion mentionnés ci-dessus comme des potentiels candidats à la participation de notre étude. Finalement, les premiers 117 patients ont fait l'objet de ce mémoire ci. Les informations sur les patients au T0 (au moment de la biopsie) ont été repris dans le tableau 6. La plupart d'entre eux étaient positifs pour l'ACPA ( $n=76$ , 65%) avec une moyenne d'âge de 50.1 ans ( $\pm 15$  ans). Fait important, 68 personnes (58 %) n'avaient pas de traitement au moment de la biopsie, 34 (29%) avaient un cDMARDs et 15 (13%) étaient traités par des bDMARDs.

Tableau 6 : Les données des patients au moment de la biopsie (T0)			
Nombre de patient (N)	117		
Sexe	Femme : 86 (73%) et Homme : 31 (27%)		
Age moyenne (ans)	50,1 $\pm$ 15		
Durée médiane de la maladie au T0 (mois)	10(0-480)		
Tabac	ACPA+ : 15(19,7%) et ACPA- : 8(19,5%)		
ACPA +	76(65%)		
ACPA -	41(35%)		
Moyenne CRP (mg/dL)	2.33 ( $\pm$ 2.56)		
Moyenne DAS 28 CRP	4.63 ( $\pm$ 1.43)		
Traitement au T0	Pas de traitement	cDMARDs	bDMARDs
	58%	29%	13%

Les valeurs plus-moins sont les moyennes  $\pm$  écart-type pour les valeurs paramétriques ; Les valeurs non paramétriques sont exprimées en médiane (valeur minimale - valeur maximale); Les proportions sont exprimées en pourcentage

## 2. Biopsies Synoviales

### 2.1. Observation n° 1 : Score d'hyperplasie synovial et autres paramètres histologiques des patients ACPA + et ACPA -

Nos résultats indiquent la présence de différences significatives, et d'une manière ou d'une autre, inattendues entre les patients positifs à l'ACPA et les patients négatifs à l'ACPA ( $p = 0.0003$ , test de Mann-Whitney). La distribution des scores d'hyperplasie synoviale chez les patients ACPA + et chez les patients négatifs pour l'ACPA sont illustrés à travers les figures A et B. On constate que la majorité des patients ACPA + ont un score de 0 ou 1 ( $n=53$ , 69.7 %), au contraire des patients l'ACPA – qui quant à eux ont en grande partie un score de 2 ou 3 ( $n=26$ , 63.4%). Globalement, les scores que nous considérons comme sévères (score 2 et 3) sont significativement plus élevés chez les patients ACPA – comparés à ceux qui sont ACPA+ (ACPA - : 63.4% et ACPA + : 30.2% ,  $p=0.0003$ ).

**Tableau 7 : Comparaison du score d'hyperplasie synovial entre patients ACPA + et ACPA -**

Score hyperplasie synovial	ACPA +	ACPA-
0	29 (38.1%)	5 (12.2%)
1	24 (31.6%)	10 (24.4%)
2	17 (22.4 %)	18 (43.9%)
3	6 (7.9 %)	8 (19.5 %)

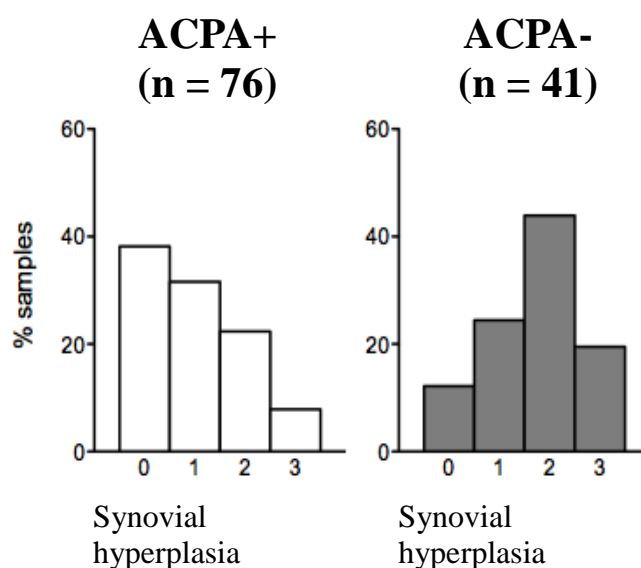
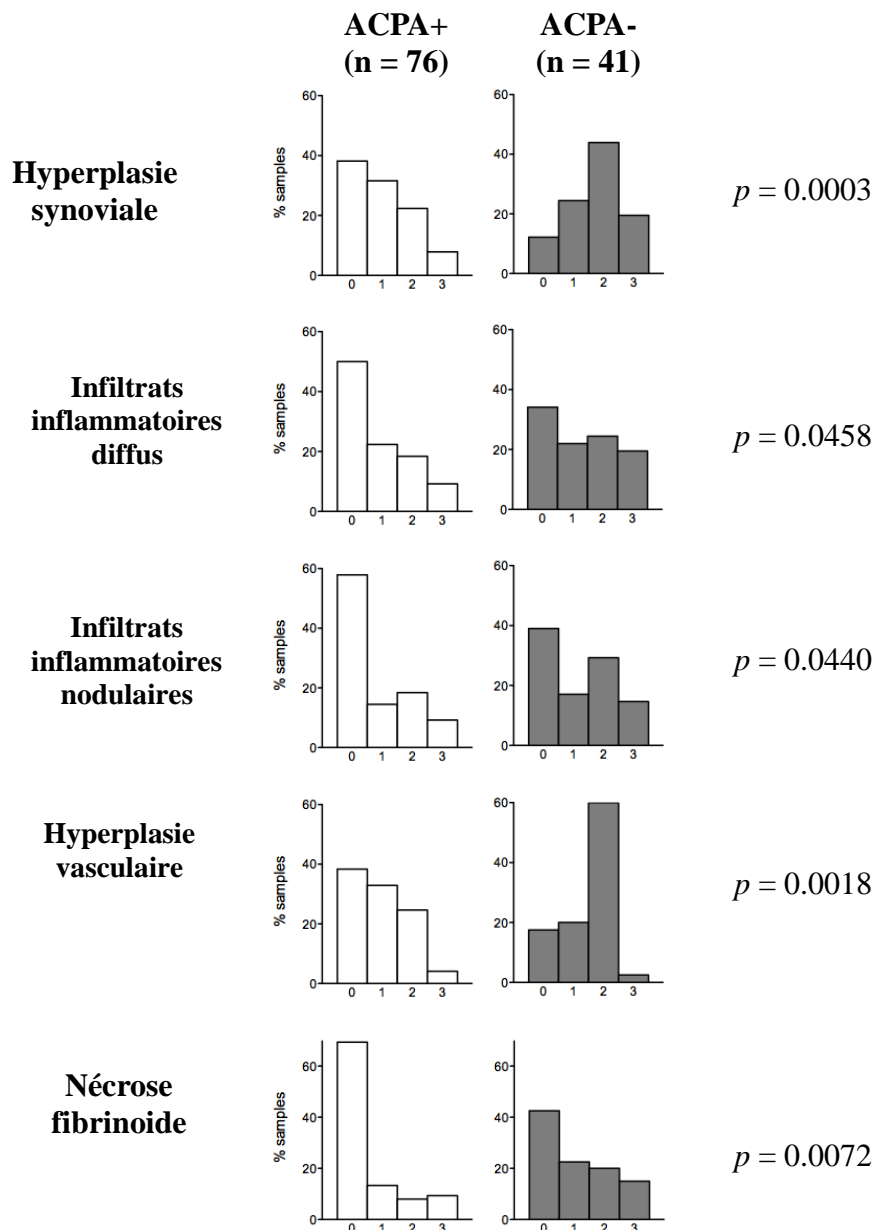


Figure A

Figure B

Cette observation était non seulement vraie pour l'hyperplasie synoviale. En effet, **les scores sévères au niveau histologiques étaient significativement plus élevés chez les patients négatifs à l'ACPA** que chez les patients positifs à l'ACPA: infiltrat inflammatoire diffus (ACPA- : 43.9% et ACPA + : 27.6%,  $p=0.0458$ ), infiltrat inflammatoire périvasculaire (ACPA- : 43.9% et ACPA + : 27.6%,  $p=0.0440$ ) , prolifération vasculaire (ACPA- : 61.0% et ACPA + : 27.6%,  $p=0.0018$ ) et la nécrose fibrinoïde (ACPA- : 34.1% et ACPA + : 17.1%,  $p=0.0072$ ) comme le montre bien les diagrammes ci-dessous.



Paramètres histologiques et leurs scores chez les patient ACPA + et ACPA -

## Biais potentiel

Nous nous sommes demandés si les différences observées entre les patients négatifs et positifs de l'ACPA pouvaient être le résultat d'un biais. Cependant, nous n'avons observé aucune différence clinique ou biologique entre les deux groupes. Nous avons imaginé qu'un DAS28-CRP plus élevé au T0 indiquant une activité de la maladie sévère au moment de la biopsie pourrait éventuellement être la cause du score plus sévère que nous avons observé chez les patients ACPA. Néanmoins la figure C montre une moyenne des scores de DAS28 CRP tout à fait comparable au T0 entre les deux types de patients. Les autres biais potentiels tels que l'âge moyenne, l'inflammation biologique et durée moyenne de la maladie au T0 chez les personnes ACPA+ et ACPA- étaient relativement semblable comme le démontre bien les figures D, E et F.

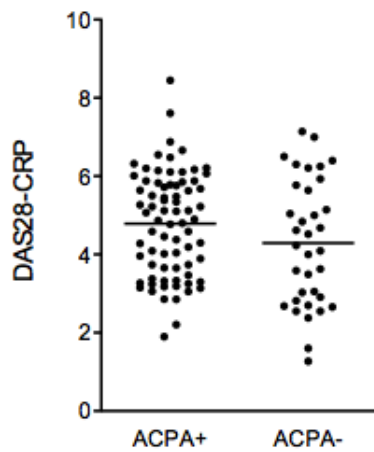


Figure C

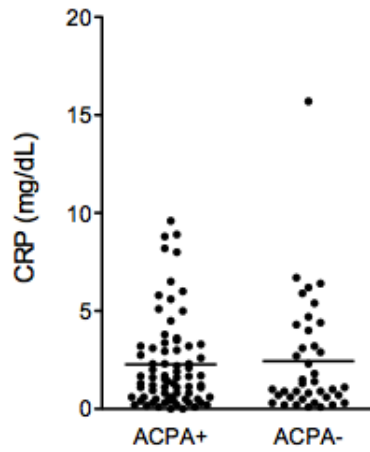


Figure D

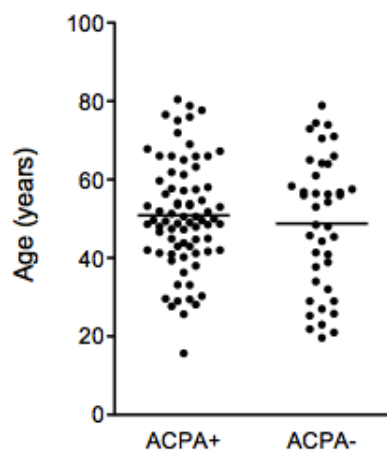


Figure E

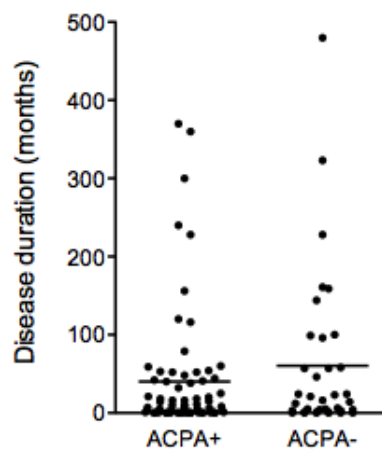


Figure F

Les informations des figures sont reprises dans le tableau 8.

Tableau 8 : Potentiels biais entre patients ACPA+ et ACPA- au T0

Moyenne au T0	ACPA+	ACPA -
DAS28 CRP	4.79±1.3	4.29±1.6
CRP (mg/dl)	2.27±2.34	2.44±2.94
Age des patients (ans)	50.8 ±13.8	48.8 ±17.1
Durée de la maladie ( mois)	40.1±79.6	72.6±60.4

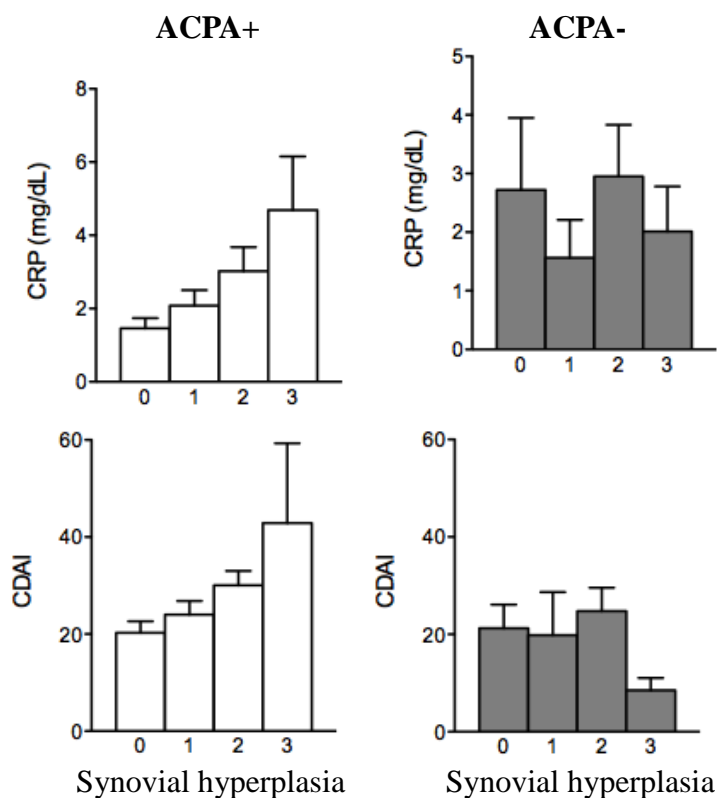
La thérapie n'a pas joué de rôle non plus. Les pourcentages de patients ne recevant pas les DMARDs ou ceux qui avaient soit un DMARDs conventionnels ou biologiques étaient similaires chez les patients positifs pour l'ACPA ainsi que chez les patients négatifs pour l'ACPA. De plus, les mêmes différences ont été observées lorsque nous avons limité les analyses aux seuls patients non traités.

Tableau 9 : Traitements des patients ACPA + et ACPA – au T0

	ACPA + (76)	ACPA- (41)
Aucun	56%	58%
cDMARDs	32%	28%
bDMARDs	12%	14%

## 2.2. Observation N° 2 : L'hyperplasie synoviale, la CRP et l'activité de la maladie chez les patients ACPA+ et ACPA-

Non seulement la cellularité est plus élevée dans les échantillons négatifs de l'ACPA que dans les biopsies positives à l'ACPA, mais nous avons également trouvé des différences dans les corrélations entre les scores histologiques et l'activité de la maladie dans les deux populations. A savoir, **le score d'hyperplasie synoviale présente une corrélation forte et significative avec la CRP (p= 0.002, r=0.34) et l'activité clinique de la maladie (CDAI, p =0.012, r=0.34) chez les patients positifs pour l'ACPA**, mais ce n'est pas le cas chez les patients négatifs pour l'ACPA (Figures G).



Figures G : Corrélation entre l'hyperplasie synoviale, la CRP et l'activité de la maladie chez les patients ACPA+ et ACPA-.

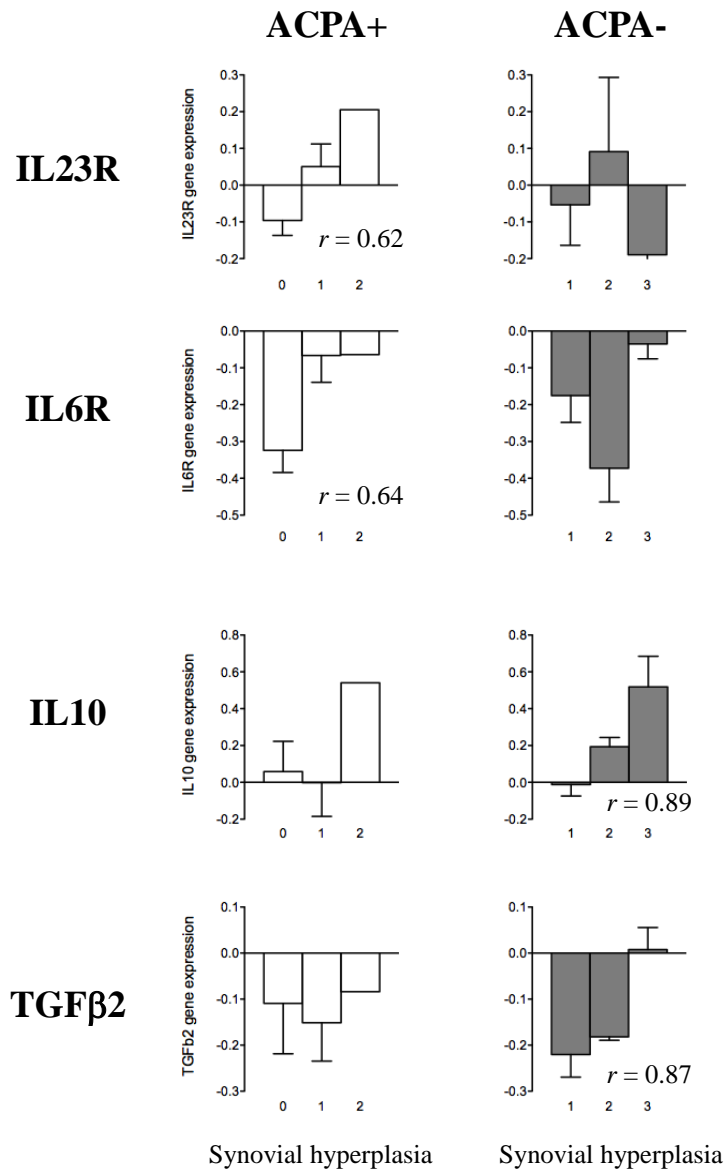
Tous les scores histologiques sont fortement corrélés les uns avec les autres, et il n'est donc pas surprenant que les mêmes schémas de corrélation soient retrouvés pour les infiltrats inflammatoires diffus et nodulaires, l'hyperplasie vasculaire et la nécrose fibrinoïde.

### 2.3. Analyse transcriptomique

Afin de comprendre ces différences inattendues, nous sommes retournés aux données transcriptomiques à haute densité que nous avons obtenues dans un petit nombre de biopsies synoviales ACPA - (n= 6) versus ACPA + (n=14). Lorsque nous avons d'abord comparé les profils d'expression génique globaux dans les deux séries d'échantillons, nous avons trouvé que les échantillons négatifs pour l'ACPA étaient caractérisés par une expression significativement plus élevée de cellules immunitaires, en particulier des transcrits liés à l'activation des lymphocytes. Cependant, ceci n'est pas une surprise, car ces échantillons sont en effet caractérisés par une infiltration plus importante des cellules inflammatoires et immunitaires.

Afin de contourner le biais dû aux différences de populations cellulaires dans les échantillons ACPA - et ACPA +, nous avons plutôt examiné les corrélations entre, dans ce cas, l'hyperplasie synoviale et les transcrits exprimés dans les échantillons négatifs ACPA versus ACPA positif. Lorsque nous avons effectué ces analyses, nous avons trouvé des modèles très différents émergeant dans les deux populations.

Dans les échantillons positifs pour l'ACPA, l'hyperplasie synoviale présentait une forte corrélation avec les transcrits liés à l'activation des leucocytes et des cellules T notamment IL1b, IL6R, IL23R, HLA II, Ig chaine lourde ( $r > 0.60$ ). Ce n'était pas le cas chez les patients ACPA-négatifs, chez qui les corrélations les plus élevées ont été trouvées avec des transcrits associés à des cellules régulatrices telles que IL-10, TGF  $\beta$  et BMP 6 ( $r > 0.70$ ).



Figures H : Transcrits chez les patients ACPA + et ACPA -.

**ACPA+** : Activation leucocytaire (IL1b, IL6R, IL23R, HLA II, Ig heavy chain ( $r > 0.60$ ))

**ACPA-** : régulation de la production cytokiniques (TGFb2, IL10, BMP6) ( $r > 0.70$ )

#### IV. Discussion

On sait qu'en générale dans la PR , les patients ACPA + ont une évolution plus agressive de la maladie avec un plus grand nombre d'articulations gonflées, douloureuses et une destruction osseuse plus sévère [181]. Cependant des analyses histologiques au niveau de la synovial, lieu où se développe la maladie pour une comparaison des deux types de patient font défauts. A travers ce mémoire, nous avons mis en évidence quelque chose d'inattendue, les scores histologiques sévères (score 2 et 3 ) ont été retrouvé significativement plus élevés chez les patients négatifs à l'ACPA notamment pour l'hyperplasie synoviale , l'infiltrats inflammatoires périvasculaire , infiltrats inflammatoires diffus, prolifération vasculaire et pour la nécrose fibrinoïde.

Nos analyses sur les données transcriptomiques à haute densité réalisés chez 20 patients ont montré que les patients ACPA - étaient caractérisés par une expression significativement plus élevée de cellules immunitaires, en particulier des transcrits liés à l'activation des lymphocytes ce qui est venu consolider notre observation.

Nous avons par la suite été plus loin en comparant l'hyperplasie synovial des patients ACPA + et ACPA- avec les transcrits exprimés afin de chercher une signature moléculaire propre à chacun des deux groupes. On a trouvé que ceux qui étaient + pour l'ACPA exprimaient des cytokines en lien avec l'activation des cellules inflammatoires. En revanche les ACPA- produisaient plus de cytokines en lien avec la régulation de l'activation des cellules inflammatoire.

En vue des résultats obtenus, nous pensons que bien qu'on parle de la polyarthrite rhumatoïde, il existe deux expressions différentes de la même maladie en fonction du statut pour l'anticorps anti peptide citrulliné. Ce ci tant au niveau histologique qu'au niveau de l'expression des cytokines impliqué dans la genèse de l'arthrite.

Afin d'expliquer le fait que les ACPA - ont des scores plus élevés au niveau histologique mais en même temps une maladie moins sévère, on a émis l'hypothèse que les cellules inflammatoires retrouvées dans la synoviale seraient plutôt de nature régulateur de l'activité de la maladie vu leur profil de sécrétion cytokiniques qui sont plutôt antiinflammatoire IL10, TGF  $\beta$ ,  
...

L'activité de la maladie est le principal déterminant de l'altération de la fonction physique et de la progression des lésions articulaires [182,183]. La reconnaissance des éléments qui influencent l'activité de la maladie revêt donc une importance particulière.

Nous avons aussi étudié la corrélation entre le score de l'hyperplasie synoviale et l'activité de la maladie évaluée par la CRP (mg/L) et le CDAI. On a montré ainsi, en cas de présence d'ACPA, il existe une concordance entre le niveau de score d'hyperplasie de la synoviale et l'activité de la maladie évaluée par la CRP ( $p=0.002$   $r=0.34$ ) et le CDAI ( $p=0.012$   $r=0.34$ ).

De ce fait, on pourrait envisager de ne plus faire des prélèvements synoviaux, qui reste un acte invasif chez les patient ACPA+ pour connaître la sévérité de la PR au niveau de la synovial. Il suffira de doser la CRP ou même calculer les scores d'activité de la maladie et on aura une idée précise de ce qui se passe au niveau des articulations.

Nous pensons que l'originalité de cette étude mérite d'être souligner, puisque peu de équipes dans le monde sont capables d'aligner des matériels synoviaux chez autant de patients atteints de PR pour une étude.

Cependant le caractère inattendu et inexplicé des résultats nécessitera une confirmation des observations dans une cohorte indépendante, et il serait aussi nécessaire de comprendre l'origine de la différence, pour en accroître la plausibilité.

## **V. Conclusion**

Nous avons fait l'observation que :

- 1) La cellularité globale est plus élevée chez les patients ACPA négatifs par rapport aux patients ACPA-positifs, appariés pour l'activité de la maladie clinique ou des traitements.
- 2) De plus, la cellularité synoviale est en corrélation avec l'activité de la maladie chez les patients positifs pour l'ACPA, mais ce n'est pas le cas chez les patients négatifs pour l'ACPA.

Ces observations suggèrent que des mécanismes distincts entraînent des modifications des cellules synoviales chez les patients ACPA-négatifs par rapport aux patients ACPA-positifs, et cette hypothèse est en outre soutenue par des modèles distincts d'expression génique dans les deux groupes de biopsies. Nous essayons actuellement de vérifier cette hypothèse en effectuant des expériences immunohistochimiques sur nos échantillons.

## Références

1. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2001 Mar 22;344(12):907–16.
2. Minaur NJ, Jacoby RK, Cosh JA, Taylor G, Rasker JJ. Outcome after 40 years with rheumatoid arthritis: a prospective study of function, disease activity, and mortality. *J Rheumatol Suppl*. 2004 Mar;69:3–8.
3. Callahan LF, Pincus T. Mortality in the rheumatic diseases. *Arthritis Care Res Off J Arthritis Health Prof Assoc*. 1995 Dec;8(4):229–41.
4. Kvalvik AG, Jones MA, Symmons DP. Mortality in a cohort of Norwegian patients with rheumatoid arthritis followed from 1977 to 1992. *Scand J Rheumatol*. 2000;29(1):29–37.
5. Dadoun S, Zeboulon-Ktorza N, Combescure C, Elhai M, Rozenberg S, Gossec L, et al. Mortality in rheumatoid arthritis over the last fifty years: systematic review and meta-analysis. *Jt Bone Spine Rev Rhum*. 2013 Jan;80(1):29–33.
6. Alamanos Y, Drosos AA. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. 2005 Mar;4(3):130–6.
7. McInnes IB, Schett G. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med*. 2011 Dec 8;365(23):2205–19.
8. Guillemin F, Saraux A, Guggenbuhl P, Roux CH, Fardellone P, Le Bihan E, et al. Prevalence of rheumatoid arthritis in France: 2001. *Ann Rheum Dis*. 2005 Oct;64(10):1427–30.
9. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. 2002;4 Suppl 3:S265-272.
10. Riise T, Jacobsen BK, Gran JT. Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis in the county of Troms, northern Norway. *J Rheumatol*. 2000 Jun;27(6):1386–9.
11. Gabriel SE, Crowson CS, O’Fallon WM. The epidemiology of rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota, 1955-1985. *Arthritis Rheum*. 1999 Mar;42(3):415–20.
12. Simonsson M, Bergman S, Jacobsson LT, Petersson IF, Svensson B. The prevalence of rheumatoid arthritis in Sweden. *Scand J Rheumatol*. 1999;28(6):340–3.
13. Symmons D, Turner G, Webb R, Asten P, Barrett E, Lunt M, et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in the United Kingdom: new estimates for a new century. *Rheumatol Oxf Engl*. 2002 Jul;41(7):793–800.
14. Power D, Codd M, Ivers L, Sant S, Barry M. Prevalence of rheumatoid arthritis in Dublin, Ireland: a population based survey. *Ir J Med Sci*. 1999 Sep;168(3):197–200.
15. Aho K, Kaipainen-Seppänen O, Heliövaara M, Klaukka T. Epidemiology of rheumatoid arthritis in Finland. *Semin Arthritis Rheum*. 1998 Apr;27(5):325–34.

16. Drosos AA, Alamanos I, Voulgari PV, Psychos DN, Katsaraki A, Papadopoulos I, et al. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis in northwest Greece 1987-1995. *J Rheumatol*. 1997 Nov;24(11):2129–33.
17. Andrianakos A, Trontzas P, Christoyannis F, Dantis P, Voudouris C, Georgountzos A, et al. Prevalence of rheumatic diseases in Greece: a cross-sectional population based epidemiological study. The ESORDIG Study. *J Rheumatol*. 2003 Jul;30(7):1589–601.
18. Carmona L, Villaverde V, Hernández-García C, Ballina J, Gabriel R, Laffon A, et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in the general population of Spain. *Rheumatol Oxf Engl*. 2002 Jan;41(1):88–95.
19. Cimmino MA, Parisi M, Moggiana G, Mela GS, Accardo S. Prevalence of rheumatoid arthritis in Italy: the Chiavari Study. *Ann Rheum Dis*. 1998 May;57(5):315–8.
20. Saraux A, Guedes C, Allain J, Devauchelle V, Valls I, Lamour A, et al. Prevalence of rheumatoid arthritis and spondyloarthritis in Brittany, France. *Société de Rhumatologie de l’Ouest. J Rheumatol*. 1999 Dec;26(12):2622–7.
21. Spindler A, Bellomio V, Berman A, Lucero E, Baigorria M, Paz S, et al. Prevalence of rheumatoid arthritis in Tucumán, Argentina. *J Rheumatol*. 2002 Jun;29(6):1166–70.
22. Pountain G. The prevalence of rheumatoid arthritis in the Sultanate of Oman. *Br J Rheumatol*. 1991 Feb;30(1):24–8.
23. Akar S, Birlik M, Gurler O, Sari I, Onen F, Manisali M, et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in an urban population of Izmir-Turkey. *Clin Exp Rheumatol*. 2004 Aug;22(4):416–20.
24. Darmawan J, Muirden KD, Valkenburg HA, Wigley RD. The epidemiology of rheumatoid arthritis in Indonesia. *Br J Rheumatol*. 1993 Jul;32(7):537–40.
25. Lau E, Symmons D, Bankhead C, MacGregor A, Donnan S, Silman A. Low prevalence of rheumatoid arthritis in the urbanized Chinese of Hong Kong. *J Rheumatol*. 1993 Jul;20(7):1133–7.
26. Dai S-M, Han X-H, Zhao D-B, Shi Y-Q, Liu Y, Meng J-M. Prevalence of rheumatic symptoms, rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, and gout in Shanghai, China: a COPCORD study. *J Rheumatol*. 2003 Oct;30(10):2245–51.
27. Senna ER, De Barros ALP, Silva EO, Costa IF, Pereira LVB, Ciconelli RM, et al. Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. *J Rheumatol*. 2004 Mar;31(3):594–7.
28. Alamanos Y, Drosos AA. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. 2005 Mar;4(3):130–6.
29. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis.

- Arthritis Rheum. 1988 Mar;31(3):315–24.
30. Banal F, Dougados M, Combescure C, Gossec L. Sensitivity and specificity of the American College of Rheumatology 1987 criteria for the diagnosis of rheumatoid arthritis according to disease duration: a systematic literature review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2009 Jul;68(7):1184–91.
  31. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2010 Sep 1;69(9):1580–8.
  32. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. 2010 Sep;62(9):2569–81.
  33. Schneider M, Krüger K. Rheumatoid arthritis--early diagnosis and disease management. *Dtsch Arzteblatt Int*. 2013 Jul;110(27–28):477–84.
  34. Heidari B. Rheumatoid Arthritis: Early diagnosis and treatment outcomes. *Casp J Intern Med*. 2011;2(1):161–70.
  35. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med*. 2007 Jun 5;146(11):797–808.
  36. Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis*. 2006 Jul;65(7):845–51.
  37. Song YW, Kang EH. Autoantibodies in rheumatoid arthritis: rheumatoid factors and anticitrullinated protein antibodies. *QJM Int J Med*. 2010 Mar;103(3):139–46.
  38. Edwards CJ, Goswami R, Goswami P, Syddall H, Dennison EM, Arden NK, et al. Growth and infectious exposure during infancy and the risk of rheumatoid factor in adult life. *Ann Rheum Dis*. 2006 Mar;65(3):401–4.
  39. Scott DL, Wolfe F, Huizinga TWJ. Rheumatoid arthritis. *Lancet Lond Engl*. 2010 Sep 25;376(9746):1094–108.
  40. Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson-Bessière C, Girbal E, Durieux JJ, et al. The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest*. 1995 Jun;95(6):2672–9.
  41. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest*. 1998 Jan 1;101(1):273–81.
  42. Girbal-Neuhauser E, Durieux JJ, Arnaud M, Dalbon P, Sebbag M, Vincent C, et al. The epitopes

- targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1999 Jan 1;162(1):585–94.
43. Foulquier C, Sebbag M, Clavel C, Chapuy-Regaud S, Al Badine R, Méchin M-C, et al. Peptidyl arginine deiminase type 2 (PAD-2) and PAD-4 but not PAD-1, PAD-3, and PAD-6 are expressed in rheumatoid arthritis synovium in close association with tissue inflammation. *Arthritis Rheum*. 2007 Nov;56(11):3541–53.
  44. Ménard HA, Lapointe E, Rochdi MD, Zhou ZJ. Insights into rheumatoid arthritis derived from the Sa immune system. *Arthritis Res*. 2000;2(6):429–32.
  45. The Major Synovial Targets of the Rheumatoid Arthritis-Specific Antifilaggrin Autoantibodies Are Deiminated Forms of the  $\alpha$ - and  $\beta$ -Chains of Fibrin | *The Journal of Immunology* [Internet]. [cited 2018 Apr 1]. Available from: [http://www.jimmunol.org/content/166/6/4177?ijkey=fda2afd2da3520016d7db5192c410c6e2276716e&keytype2=tf\\_ipsecsha](http://www.jimmunol.org/content/166/6/4177?ijkey=fda2afd2da3520016d7db5192c410c6e2276716e&keytype2=tf_ipsecsha)
  46. Wegner N, Lundberg K, Kinloch A, Fisher B, Malmström V, Feldmann M, et al. Autoimmunity to specific citrullinated proteins gives the first clues to the etiology of rheumatoid arthritis. *Immunol Rev*. 2010 Jan;233(1):34–54.
  47. Hughes-Austin JM, Deane KD, Derber LA, Kolfenbach JR, Zerbe GO, Sokolove J, et al. Multiple cytokines and chemokines are associated with rheumatoid arthritis-related autoimmunity in first-degree relatives without rheumatoid arthritis: Studies of the Aetiology of Rheumatoid Arthritis (SERA). *Ann Rheum Dis*. 2013 Jun;72(6):901–7.
  48. van der Woude D, Rantapää-Dahlqvist S, Ioan-Facsinay A, Onnekink C, Schwarte CM, Verpoort KN, et al. Epitope spreading of the anti-citrullinated protein antibody response occurs before disease onset and is associated with the disease course of early arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010 Aug;69(8):1554–61.
  49. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BAW, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003 Oct;48(10):2741–9.
  50. Nielen MMJ, van Schaardenburg D, Reesink HW, Twisk JWR, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, et al. Simultaneous development of acute phase response and autoantibodies in preclinical rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2006 Apr;65(4):535–7.
  51. De Rycke L, Peene I, Hoffman IEA, Kruithof E, Union A, Meheus L, et al. Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations. *Ann Rheum Dis*. 2004 Dec;63(12):1587–93.

52. Harre U, Georgess D, Bang H, Bozec A, Axmann R, Ossipova E, et al. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest*. 2012 May;122(5):1791–802.
53. van Venrooij WJ, van Beers JJBC, Pruijn GJM. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future. *Nat Rev Rheumatol*. 2011 Jul;7(7):391–8.
54. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, Koskenvuo M, Kaprio J, Aho K, et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum*. 2000 Jan;43(1):30–7.
55. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2007 Jun 7;447(7145):661–78.
56. Aho K, Koskenvuo M, Tuominen J, Kaprio J. Occurrence of rheumatoid arthritis in a nationwide series of twins. *J Rheumatol*. 1986 Oct;13(5):899–902.
57. Gregersen PK. Susceptibility genes for rheumatoid arthritis - a rapidly expanding harvest. *Bull NYU Hosp Jt Dis*. 2010;68(3):179–82.
58. van der Helm-van Mil AHM, Wesoly JZ, Huizinga TWJ. Understanding the genetic contribution to rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2005 May;17(3):299–304.
59. Deighton CM, Walker DJ, Griffiths ID, Roberts DF. The contribution of HLA to rheumatoid arthritis. *Clin Genet*. 1989 Sep;36(3):178–82.
60. van der Helm-van Mil AHM, Verpoort KN, le Cessie S, Huizinga TWJ, de Vries RRP, Toes REM. The HLA-DRB1 shared epitope alleles differ in the interaction with smoking and predisposition to antibodies to cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum*. 2007 Feb;56(2):425–32.
61. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1987 Nov;30(11):1205–13.
62. Weyand CM, Goronzy JJ. Disease-associated human histocompatibility leukocyte antigen determinants in patients with seropositive rheumatoid arthritis. Functional role in antigen-specific and allogeneic T cell recognition. *J Clin Invest*. 1990 Apr;85(4):1051–7.
63. De Almeida DE, Ling S, Pi X, Hartmann-Scruggs AM, Pumpens P, Holoshitz J. Immune dysregulation by the rheumatoid arthritis shared epitope. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2010 Aug 1;185(3):1927–34.
64. Pratt AG, Isaacs JD, Matthey DL. Current concepts in the pathogenesis of early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2009 Feb;23(1):37–48.
65. Clarke A, Vyse TJ. Genetics of rheumatic disease. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(5):248.
66. Kurreeman FAS, Padyukov L, Marques RB, Schrodi SJ, Seddighzadeh M, Stoeken-Rijsbergen G,

- et al. A candidate gene approach identifies the TRAF1/C5 region as a risk factor for rheumatoid arthritis. *PLoS Med.* 2007 Sep;4(9):e278.
67. Begovich AB, Carlton VEH, Honigberg LA, Schrodi SJ, Chokkalingam AP, Alexander HC, et al. A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet.* 2004 Aug;75(2):330–7.
  68. Remmers EF, Plenge RM, Lee AT, Graham RR, Hom G, Behrens TW, et al. STAT4 and the Risk of Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus. *N Engl J Med.* 2007 Sep 6;357(10):977–86.
  69. Plenge RM, Cotsapas C, Davies L, Price AL, de Bakker PIW, Maller J, et al. Two independent alleles at 6q23 associated with risk of rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 2007 Dec;39(12):1477–82.
  70. Kallberg H, Padyukov L, Plenge RM, Ronnelid J, Gregersen PK, van der Helm-van Mil AHM, et al. Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet.* 2007 May;80(5):867–75.
  71. Lee H-S, Korman BD, Le JM, Kastner DL, Remmers EF, Gregersen PK, et al. Genetic risk factors for rheumatoid arthritis differ in Caucasian and Korean populations. *Arthritis Rheum.* 2009 Feb;60(2):364–71.
  72. Symmons DP, Bankhead CR, Harrison BJ, Brennan P, Barrett EM, Scott DG, et al. Blood transfusion, smoking, and obesity as risk factors for the development of rheumatoid arthritis: results from a primary care-based incident case-control study in Norfolk, England. *Arthritis Rheum.* 1997 Nov;40(11):1955–61.
  73. Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Källberg H, Bengtsson C, Grunewald J, et al. A new model for an etiology of rheumatoid arthritis: smoking may trigger HLA-DR (shared epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum.* 2006 Jan;54(1):38–46.
  74. J AI and R. A function for the QKRAA amino acid motif: mediating binding of DnaJ to DnaK. Implications for the association of rheumatoid arthritis with HLA-DR4. - PubMed - NCBI [Internet]. [cited 2018 Jan 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9109425>
  75. Kamphuis S, Kuis W, de Jager W, Teklenburg G, Massa M, Gordon G, et al. Tolerogenic immune responses to novel T-cell epitopes from heat-shock protein 60 in juvenile idiopathic arthritis. *The Lancet.* 366(9479):50–6.
  76. Scher JU, Ubeda C, Pillinger M, Bretz W, De Paiva Buischi Y, Rosenthal PB. Characteristic oral and intestinal microbiota in rheumatoid arthritis: a trigger for autoimmunity. Vol. 62. 2010. S577 p.

77. Bartok B, Firestein GS. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunol Rev.* 2010 Jan;233(1):233–55.
78. Iwanaga T, Shikichi M, Kitamura H, Yanase H, Nozawa-Inoue K. Morphology and functional roles of synoviocytes in the joint. *Arch Histol Cytol.* 2000 Mar;63(1):17–31.
79. Noss EH, Brenner MB. The role and therapeutic implications of fibroblast-like synoviocytes in inflammation and cartilage erosion in rheumatoid arthritis. *Immunol Rev.* 2008 Jun;223:252–70.
80. Henderson KJ, Edwards JC, Worrall JG. Expression of CD44 in normal and rheumatoid synovium and cultured synovial fibroblasts. *Ann Rheum Dis.* 1994 Nov;53(11):729–34.
81. Firestein GS, Zvaifler NJ. How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis? *Arthritis Rheum.* 1990 Jun;33(6):768–73.
82. Firestein GS, Zvaifler NJ. How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis?: II. T cell-independent mechanisms from beginning to end. *Arthritis Rheum.* 2002 Feb;46(2):298–308.
83. Fournier C. Where do T cells stand in rheumatoid arthritis? *Jt Bone Spine Rev Rhum.* 2005 Dec;72(6):527–32.
84. Duke O, Panayi GS, Janossy G, Poulter LW. An immunohistological analysis of lymphocyte subpopulations and their microenvironment in the synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis using monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol.* 1982 Jul;49(1):22–30.
85. Weyand CM, Kurtin PJ, Goronzy JJ. Ectopic lymphoid organogenesis: a fast track for autoimmunity. *Am J Pathol.* 2001 Sep;159(3):787–93.
86. Thurlings RM, Wijbrandts CA, Mebius RE, Cantaert T, Dinant HJ, van der Pouw-Kraan TCTM, et al. Synovial lymphoid neogenesis does not define a specific clinical rheumatoid arthritis phenotype. *Arthritis Rheum.* 2008 Jun;58(6):1582–9.
87. Timmer TCG, Baltus B, Vondenhoff M, Huizinga TWJ, Tak PP, Verweij CL, et al. Inflammation and ectopic lymphoid structures in rheumatoid arthritis synovial tissues dissected by genomics technology: identification of the interleukin-7 signaling pathway in tissues with lymphoid neogenesis. *Arthritis Rheum.* 2007 Aug;56(8):2492–502.
88. Cope AP. T cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(Suppl 1):S1.
89. Goronzy JJ, Zettl A, Weyand CM. T cell receptor repertoire in rheumatoid arthritis. *Int Rev Immunol.* 1998;17(5–6):339–63.
90. Yang H, Rittner H, Weyand CM, Goronzy JJ. Aberrations in the primary T-cell receptor repertoire as a predisposition for synovial inflammation in rheumatoid arthritis. *J Investig Med Off Publ Am Fed Clin Res.* 1999 May;47(5):236–45.
91. Melchers I, Jooss-Rüdiger J, Peter HH. Reactivity patterns of synovial T-cell lines derived from a patient with rheumatoid arthritis. I. Reactions with defined antigens and auto-antigens

- suggest the existence of multireactive T-cell clones. *Scand J Immunol.* 1997 Aug;46(2):187–94.
92. Rittner HL, Zettl A, Jendro MC, Bartz-Bazzanella P, Goronzy JJ, Weyand CM. Multiple mechanisms support oligoclonal T cell expansion in rheumatoid synovitis. *Mol Med Camb Mass.* 1997 Jul;3(7):452–65.
  93. Schirmer M, Vallejo AN, Weyand CM, Goronzy JJ. Resistance to apoptosis and elevated expression of Bcl-2 in clonally expanded CD4+CD28- T cells from rheumatoid arthritis patients. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1998 Jul 15;161(2):1018–25.
  94. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, et al. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol.* 2005 Nov;6(11):1123–32.
  95. Miossec P. Interleukin-17 in fashion, at last: ten years after its description, its cellular source has been identified. *Arthritis Rheum.* 2007 Jul;56(7):2111–5.
  96. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang Y-H, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol.* 2005 Nov;6(11):1133–41.
  97. Mangan PR, Harrington LE, O’Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature.* 2006 May 11;441(7090):231–4.
  98. Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity.* 2006 Feb;24(2):179–89.
  99. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature.* 2006 May 11;441(7090):235–8.
  100. Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med.* 2007 Feb;13(2):139–45.
  101. Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med.* 2009 Aug 27;361(9):888–98.
  102. Korn T, Bettelli E, Gao W, Awasthi A, Jäger A, Strom TB, et al. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells. *Nature.* 2007 Jul 26;448(7152):484–7.
  103. Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell.* 2008 May 30;133(5):775–87.
  104. Rudensky AY. Regulatory T cells and Foxp3. *Immunol Rev.* 2011 May;241(1):260–8.
  105. Behrens F, Himsel A, Rehart S, Stanczyk J, Beutel B, Zimmermann SY, et al. Imbalance in

- distribution of functional autologous regulatory T cells in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2007 Sep;66(9):1151–6.
106. Nadkarni S, Mauri C, Ehrenstein MR. Anti-TNF-alpha therapy induces a distinct regulatory T cell population in patients with rheumatoid arthritis via TGF-beta. *J Exp Med*. 2007 Jan 22;204(1):33–9.
  107. Housley WJ, Adams CO, Nichols FC, Puddington L, Lingenheld EG, Zhu L, et al. Natural but not inducible regulatory T cells require TNF-alpha signaling for in vivo function. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2011 Jun 15;186(12):6779–87.
  108. Athanasou NA. Synovial macrophages. *Ann Rheum Dis*. 1995 May;54(5):392–4.
  109. Kinne RW, Bräuer R, Stuhlmüller B, Palombo-Kinne E, Burmester G-R. Macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. 2000;2(3):189–202.
  110. Kinne RW, Stuhlmüller B, Burmester G-R. Cells of the synovium in rheumatoid arthritis. Macrophages. *Arthritis Res Ther*. 2007;9(6):224.
  111. Mulherin D, Fitzgerald O, Bresnihan B. Synovial tissue macrophage populations and articular damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1996 Jan;39(1):115–24.
  112. Koch AE. Review: angiogenesis: implications for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1998 Jun;41(6):951–62.
  113. Firestein GS. Invasive fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. Passive responders or transformed aggressors? *Arthritis Rheum*. 1996 Nov;39(11):1781–90.
  114. Chen L, Lu Y, Chu Y, Xie J, Ding W, Wang F. Tissue factor expression in rheumatoid synovium: a potential role in pannus invasion of rheumatoid arthritis. *Acta Histochem*. 2013 Sep;115(7):692–7.
  115. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med*. 1995 Jan;1(1):27–31.
  116. Folkman J. Angiogenesis and angiogenesis inhibition: an overview. *EXS*. 1997;79:1–8.
  117. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem*. 1992 Jun 5;267(16):10931–4.
  118. Saxne T, Palladino MA, Heinegård D, Talal N, Wollheim FA. Detection of tumor necrosis factor alpha but not tumor necrosis factor beta in rheumatoid arthritis synovial fluid and serum. *Arthritis Rheum*. 1988 Aug;31(8):1041–5.
  119. Chikanza IC, Kingsley G, Panayi GS. Peripheral blood and synovial fluid monocyte expression of interleukin 1 alpha and 1 beta during active rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1995 Apr;22(4):600–6.
  120. Girasole G, Passeri G, Jilka RL, Manolagas SC. Interleukin-11: a new cytokine critical for osteoclast development. *J Clin Invest*. 1994 Apr;93(4):1516–24.
  121. Butler DM, Maini RN, Feldmann M, Brennan FM. Modulation of proinflammatory cytokine

- release in rheumatoid synovial membrane cell cultures. Comparison of monoclonal anti TNF-alpha antibody with the interleukin-1 receptor antagonist. *Eur Cytokine Netw.* 1995 Dec;6(4):225–30.
122. Haworth C, Brennan FM, Chantry D, Turner M, Maini RN, Feldmann M. Expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in rheumatoid arthritis: Regulation by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Eur J Immunol.* 1991 Oct 1;21(10):2575–9.
123. Nawroth PP, Bank I, Handley D, Cassimeris J, Chess L, Stern D. Tumor necrosis factor/cachectin interacts with endothelial cell receptors to induce release of interleukin 1. *J Exp Med.* 1986 Jun 1;163(6):1363–75.
124. Chin JE, Winterrowd GE, Krzesicki RF, Sanders ME. Role of cytokines in inflammatory synovitis. The coordinate regulation of intercellular adhesion molecule 1 and HLA class I and class II antigens in rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 1990 Dec;33(12):1776–86.
125. Koch AE, Kunkel SL, Strieter RM. Cytokines in rheumatoid arthritis. *J Investig Med Off Publ Am Fed Clin Res.* 1995 Feb;43(1):28–38.
126. Pettipher ER, Higgs GA, Henderson B. Interleukin 1 induces leukocyte infiltration and cartilage proteoglycan degradation in the synovial joint. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986 Nov;83(22):8749–53.
127. Joosten LA, Helsen MM, van de Loo FA, van den Berg WB. Anticytokine treatment of established type II collagen-induced arthritis in DBA/1 mice. A comparative study using anti-TNF alpha, anti-IL-1 alpha/beta, and IL-1Ra. *Arthritis Rheum.* 1996 May;39(5):797–809.
128. Arend WP, Dayer JM. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1995 Feb;38(2):151–60.
129. MacNaul KL, Chartrain N, Lark M, Tocci MJ, Hutchinson NI. Discoordinate expression of stromelysin, collagenase, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in rheumatoid human synovial fibroblasts. Synergistic effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha on stromelysin expression. *J Biol Chem.* 1990 Oct 5;265(28):17238–45.
130. Shingu M, Nagai Y, Isayama T, Naono T, Nobunaga M, Nagai Y. The effects of cytokines on metalloproteinase inhibitors (TIMP) and collagenase production by human chondrocytes and TIMP production by synovial cells and endothelial cells. *Clin Exp Immunol.* 1993 Oct;94(1):145–9.
131. Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annu Rev Immunol.* 1990;8:253–78.
132. Isomäki P, Punnonen J. Pro- and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. *Ann Med.* 1997 Dec;29(6):499–507.
133. van Roon JA, van Roy JL, Gmelig-Meyling FH, Lafeber FP, Bijlsma JW. Prevention and reversal

- of cartilage degradation in rheumatoid arthritis by interleukin-10 and interleukin-4. *Arthritis Rheum.* 1996 May;39(5):829–35.
134. Katsikis PD, Chu CQ, Brennan FM, Maini RN, Feldmann M. Immunoregulatory role of interleukin 10 in rheumatoid arthritis. *J Exp Med.* 1994 May 1;179(5):1517–27.
  135. Sugiyama E, Kuroda A, Taki H, Ikemoto M, Hori T, Yamashita N, et al. Interleukin 10 cooperates with interleukin 4 to suppress inflammatory cytokine production by freshly prepared adherent rheumatoid synovial cells. *J Rheumatol.* 1995 Nov;22(11):2020–6.
  136. Chomarat P, Vannier E, Dechanet J, Rissoan MC, Banchereau J, Dinarello CA, et al. Balance of IL-1 receptor antagonist/IL-1 beta in rheumatoid synovium and its regulation by IL-4 and IL-10. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1995 Feb 1;154(3):1432–9.
  137. Felson DT, Anderson JJ, Boers M, Bombardier C, Chernoff M, Fried B, et al. The American College of Rheumatology preliminary core set of disease activity measures for rheumatoid arthritis clinical trials. The Committee on Outcome Measures in Rheumatoid Arthritis Clinical Trials. *Arthritis Rheum.* 1993 Jun;36(6):729–40.
  138. Felson DT, Anderson JJ, Boers M, Bombardier C, Furst D, Goldsmith C, et al. American College of Rheumatology. Preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1995 Jun;38(6):727–35.
  139. van Gestel AM, Prevoo ML, van 't Hof MA, van Rijswijk MH, van de Putte LB, van Riel PL. Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization/International League Against Rheumatism Criteria. *Arthritis Rheum.* 1996 Jan;39(1):34–40.
  140. Aletaha D, Landewe R, Karonitsch T, Bathon J, Boers M, Bombardier C, et al. Reporting disease activity in clinical trials of patients with rheumatoid arthritis: EULAR/ACR collaborative recommendations. *Ann Rheum Dis.* 2008 Oct;67(10):1360–4.
  141. Ramey DR, Raynauld JP, Fries JF. The health assessment questionnaire 1992: status and review. *Arthritis Care Res Off J Arthritis Health Prof Assoc.* 1992 Sep;5(3):119–29.
  142. Ruta D, Garratt A, Abdalla M, Buckingham K, Russell I. The SF 36 health survey questionnaire. A valid measure of health status... *BMJ.* 1993 Aug 14;307(6901):448–9.
  143. Grigor C, Capell H, Stirling A, McMahon AD, Lock P, Vallance R, et al. Effect of a treatment strategy of tight control for rheumatoid arthritis (the TICORA study): a single-blind randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl.* 2004 Jul 17;364(9430):263–9.
  144. van der Heijde DM, van 't Hof M, van Riel PL, van de Putte LB. Development of a disease activity score based on judgment in clinical practice by rheumatologists. *J Rheumatol.* 1993 Mar;20(3):579–81.

145. Prevoo ML, van 't Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van de Putte LB, van Riel PL. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1995 Jan;38(1):44–8.
146. Mäkinen H, Kautiainen H, Hannonen P, Sokka T. Is DAS28 an appropriate tool to assess remission in rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis.* 2005 Oct;64(10):1410–3.
147. Aletaha D, Ward MM, Machold KP, Nell VPK, Stamm T, Smolen JS. Remission and active disease in rheumatoid arthritis: defining criteria for disease activity states. *Arthritis Rheum.* 2005 Sep;52(9):2625–36.
148. Vander Cruyssen B, Van Looy S, Wyns B, Westhovens R, Durez P, Van den Bosch F, et al. DAS28 best reflects the physician's clinical judgment of response to infliximab therapy in rheumatoid arthritis patients: validation of the DAS28 score in patients under infliximab treatment. *Arthritis Res Ther.* 2005;7(5):R1063-1071.
149. Wolfe F, Mitchell DM, Sibley JT, Fries JF, Bloch DA, Williams CA, et al. The mortality of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1994 Apr;37(4):481–94.
150. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, Cannuscio CC, Mandl LA, Manson JE, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation.* 2003 Mar 11;107(9):1303–7.
151. Holmqvist ME, Wedrén S, Jacobsson LTH, Klareskog L, Nyberg F, Rantapää-Dahlqvist S, et al. Rapid increase in myocardial infarction risk following diagnosis of rheumatoid arthritis amongst patients diagnosed between 1995 and 2006. *J Intern Med.* 2010 Dec;268(6):578–85.
152. del Rincón ID, Williams K, Stern MP, Freeman GL, Escalante A. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis Rheum.* 2001 Dec;44(12):2737–45.
153. Sattar N, McCarey DW, Capell H, McInnes IB. Explaining how 'high-grade' systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. *Circulation.* 2003 Dec 16;108(24):2957–63.
154. Sattar N, McInnes IB. Vascular comorbidity in rheumatoid arthritis: potential mechanisms and solutions. *Curr Opin Rheumatol.* 2005 May;17(3):286–92.
155. Smitten AL, Simon TA, Hochberg MC, Suissa S. A meta-analysis of the incidence of malignancy in adult patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(2):R45.
156. Baecklund E, Sundström C, Ekblom A, Catrina AI, Biberfeld P, Feltelius N, et al. Lymphoma subtypes in patients with rheumatoid arthritis: increased proportion of diffuse large B cell lymphoma. *Arthritis Rheum.* 2003 Jun;48(6):1543–50.
157. Smolen JS, Aletaha D, Koeller M, Weisman MH, Emery P. New therapies for treatment of

- rheumatoid arthritis. *The Lancet*. 2007 Dec 1;370(9602):1861–74.
158. Wasko MCM, Dasgupta A, Hubert H, Fries JF, Ward MM. Propensity-adjusted association of methotrexate with overall survival in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2013 Feb;65(2):334–42.
  159. Choi HK, Hernán MA, Seeger JD, Robins JM, Wolfe F. Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study. *Lancet Lond Engl*. 2002 Apr 6;359(9313):1173–7.
  160. Smolen JS, Aletaha D. Rheumatoid arthritis therapy reappraisal: strategies, opportunities and challenges. *Nat Rev Rheumatol*. 2015 May;11(5):276–89.
  161. van der Heijde DM, van Riel PL, Nuver-Zwart IH, Gribnau FW, van de Putte LB. Effects of hydroxychloroquine and sulphasalazine on progression of joint damage in rheumatoid arthritis. *Lancet Lond Engl*. 1989 May 13;1(8646):1036–8.
  162. Smolen JS, Kalden JR, Scott DL, Rozman B, Kvien TK, Larsen A, et al. Efficacy and safety of leflunomide compared with placebo and sulphasalazine in active rheumatoid arthritis: a double-blind, randomised, multicentre trial. European Leflunomide Study Group. *Lancet Lond Engl*. 1999 Jan 23;353(9149):259–66.
  163. Sharp JT, Strand V, Leung H, Hurley F, Loew-Friedrich I. Treatment with leflunomide slows radiographic progression of rheumatoid arthritis: results from three randomized controlled trials of leflunomide in patients with active rheumatoid arthritis. Leflunomide Rheumatoid Arthritis Investigators Group. *Arthritis Rheum*. 2000 Mar;43(3):495–505.
  164. Strand V, Cohen S, Schiff M, Weaver A, Fleischmann R, Cannon G, et al. Treatment of active rheumatoid arthritis with leflunomide compared with placebo and methotrexate. Leflunomide Rheumatoid Arthritis Investigators Group. *Arch Intern Med*. 1999 Nov 22;159(21):2542–50.
  165. Dougados M, Combe B, Cantagrel A, Goupille P, Olive P, Schattenkirchner M, et al. Combination therapy in early rheumatoid arthritis: a randomised, controlled, double blind 52 week clinical trial of sulphasalazine and methotrexate compared with the single components. *Ann Rheum Dis*. 1999 Apr 1;58(4):220–5.
  166. Skorpen CG, Hoeltzenbein M, Tincani A, Fischer-Betz R, Elefant E, Chambers C, et al. The EULAR points to consider for use of antirheumatic drugs before pregnancy, and during pregnancy and lactation. *Ann Rheum Dis*. 2016 May 1;75(5):795–810.
  167. Hage MP, Al-Badri MR, Azar ST. A favorable effect of hydroxychloroquine on glucose and lipid metabolism beyond its anti-inflammatory role. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2014 Aug;5(4):77–85.
  168. Sharma TS, Wasko MCM, Tang X, Vedamurthy D, Yan X, Cote J, et al. Hydroxychloroquine Use

- Is Associated With Decreased Incident Cardiovascular Events in Rheumatoid Arthritis Patients. *J Am Heart Assoc.* 2016 Jan 26;5(1):e002867.
169. van der Heijde DM, van Riel PL, Nuver-Zwart IH, van de Putte LB. Sulphasalazine versus hydroxychloroquine in rheumatoid arthritis: 3-year follow-up. *Lancet Lond Engl.* 1990 Mar 3;335(8688):539.
  170. Smolen JS, Landewé R, Bijlsma J, Burmester G, Chatzidionysiou K, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Ann Rheum Dis.* 2017 Jun 1;76(6):960–77.
  171. Saag KG, Teng GG, Patkar NM, Anuntiyo J, Finney C, Curtis JR, et al. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008 Jun 15;59(6):762–84.
  172. Smolen JS, Landewé R, Breedveld FC, Buch M, Burmester G, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Ann Rheum Dis.* 2013 Oct 23;annrheumdis-2013-204573.
  173. St Clair EW. Infliximab treatment for rheumatic disease: clinical and radiological efficacy. *Ann Rheum Dis.* 2002 Nov;61 Suppl 2:ii67-69.
  174. Wolbink GJ, Vis M, Lems W, Voskuyl AE, de Groot E, Nurmohamed MT, et al. Development of antiinfliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006 Mar;54(3):711–5.
  175. van Vollenhoven RF, Brannemark S, Klareskog L. Dose escalation of infliximab in clinical practice: improvements seen may be explained by a regression-like effect. *Ann Rheum Dis.* 2004 Apr;63(4):426–30.
  176. Radstake TRDJ, Svenson M, Eijsbouts AM, van den Hoogen FHJ, Enevold C, van Riel PL, et al. Formation of antibodies against infliximab and adalimumab strongly correlates with functional drug levels and clinical responses in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009 Nov;68(11):1739–45.
  177. Duru N, Goes MC van der, Jacobs JWG, Andrews T, Boers M, Buttgerit F, et al. EULAR evidence-based and consensus-based recommendations on the management of medium to high-dose glucocorticoid therapy in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 2013 Dec 1;72(12):1905–13.
  178. Buttgerit F, Silva JAPD, Boers M, Burmester G-R, Cutolo M, Jacobs J, et al. Standardised nomenclature for glucocorticoid dosages and glucocorticoid treatment regimens: current

- questions and tentative answers in rheumatology. *Ann Rheum Dis*. 2002 Aug 1;61(8):718–22.
179. Pinals RS, Masi AT, Larsen RA. Preliminary criteria for clinical remission in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1981 Oct;24(10):1308–15.
180. Jamnitski A, Bartelds GM, Nurmohamed MT, van Schouwenburg PA, van Schaardenburg D, Stapel SO, et al. The presence or absence of antibodies to infliximab or adalimumab determines the outcome of switching to etanercept. *Ann Rheum Dis*. 2011 Feb;70(2):284–8.
181. van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, Breedveld FC, Toes RE, Huizinga TW. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(5):R949–58.
182. Holm MB, Rogers JC, Kwoh CK. Predictors of functional disability in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res Off J Arthritis Health Prof Assoc*. 1998 Oct;11(5):346–55.
183. Aletaha D, Smolen J, Ward MM. Measuring function in rheumatoid arthritis: Identifying reversible and irreversible components. *Arthritis Rheum*. 2006 Sep;54(9):2784–92.