



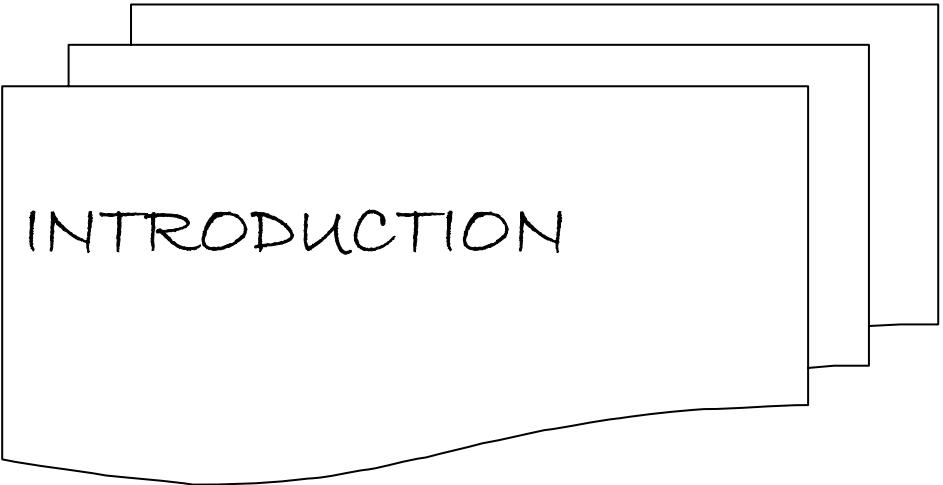
ABREVIATIONS

HLA	: Human leucocyte antigen
ESSG	: Groupe Européen d'Etude des Spondylarthropathies
PCR	: Polymerase Chain Reaction
SSP	: Sequence specific primers
TCR	: T cell receptor
PBR	: Peptide binding region
SPA	: Spondylarthrite ankylosante
SA	: Spondylarthropathies



PLAN

INTRODUCTION.....	1
BUT DE L'ETUDE.....	4
MATERIELS ET METHODES.....	6
I- Le type d'étude.....	7
II-La population cible.....	7
1- Critères d'inclusion.....	7
2- Critères d'exclusion.....	7
III- Echantillon.....	8
IV- Variables étudiées.....	8
V- Déroulement de l'étude	8
VI- Saisie et analyse des données.....	9
VII- Considérations éthiques.....	9
VIII- Typage HLA B27.....	10
RESULTATS.....	12
I- Caractéristiques générales de la population étudiée.....	13
II- Caractéristiques démographiques.....	13
1- L'âge.....	13
2- Le sexe.....	13
III- Incidence du marqueur HLA B27.....	14
DISCUSSION.....	15
I- Rappel du système HLA.....	16
II- Fonction du système HLA.....	16
III- Structure biochimique des molécules et gènes HLA.....	17
IV- Le système HLA B27.....	20
V- Répartition géographique de HLA B27 dans le monde	24
VI- Pourquoi établir le typage HLA B27 dans la population générale ?.....	28
CONCLUSION.....	31
ANNEXES.....	33
RESUMES	
BIBLIOGRAPHIE	



INTRODUCTION



Plusieurs travaux de recherche ont mis en évidence l'association de certains gènes du système HLA à certaines maladies.

Ces maladies sont le plus souvent le résultat d'interaction de plusieurs gènes avec, dans le cadre des maladies auto-immunes, l'intervention de facteurs environnementaux.

Les principales associations décrites avec des marqueurs HLA de classe I en rhumatologie sont :

- HLA-B27 et spondylarthrite ankylosante : Plus de 90% des patients sont B27 positifs.
- La maladie de Behçet avec l'antigène HLA-B51
- Le psoriasis et le marqueur HLA-Cw6

Les principales associations avec des marqueurs HLA classe II sont :

- La polyarthrite rhumatoïde et l'antigène DR4

Pour d'autres maladies auto-immunes, telles que la sclérose en plaques et l'arthrite juvénile idiopathique, l'association avec une molécule HLA donnée est établie, même si les séquences d'acides aminés impliqués ne sont pas encore clairement spécifiées [1].

Ces constatations émanent d'études européennes ou américaines, nous manquons d'études génétiques adaptées à notre contexte.

Ainsi, s'avère l'utilité de l'étude de la fréquence d'un gène donné de l'HLA chez une population malade rapportée à une population saine au Maroc, afin de déterminer la prédisposition génétique à cette maladie.

Notre travail s'intéresse à l'étude de la fréquence du gène HLA-B27 dans la Wilaya de Marrakech.

Actuellement, le rôle du gène HLA B27 est démontré dans la prédisposition génétique à certains rhumatismes inflammatoires, notamment les spondylarthropathies.

Sa présence figure parmi les critères de diagnostic et de classification des spondylarthropathies comme les critères d'AMOR et de l'ESSG (Groupe Européen d'Etude des Spondylarthropathies).

Le diagnostic précoce des rhumatismes inflammatoires chroniques a un intérêt pronostique et thérapeutique. Ainsi sont élaborés des critères diagnostiques permettant d'assurer un diagnostic précoce.

Pour les spondylarthropathies, les critères de diagnostic précoce en cours d'élaboration par l'EULAR donnent une place très importante au marqueur génétique.

Il est donc nécessaire d'établir la prévalence du gène HLA B27 dans la population marocaine et chez le patient atteint de spondylarthropathies afin de pouvoir appliquer ces critères au patient marocain.

Nous avons cherché à déterminer la fréquence du gène HLA B27 chez 250 sujets pris au hasard dans la population de la Wilaya de Marrakech.

Ce travail vient comme suite logique de la première étude déterminant le lien entre HLA et spondylarthrite ankylosante (SPA).



Notre travail se fixe comme objectif d'étudier la fréquence du HLA B27 dans la population générale de la wilaya de marrakech.

MATERIELS

§

METHODES

I- Le type d'étude :

C'est une étude transversale à visée descriptive

II- La population cible :

Toute personne adulte se présentant au centre de transfusion pour don de sang, les étudiants en médecine, le personnel médical et paramédical des services de médecine.

1- Critères d'inclusion :

- Personne volontaire acceptant de participer à l'étude présentée par l'investigateur.
- Ne sont incluses que les personnes dont la fiche d'exploitation ne comporte aucun item validé des critères d'AMOR, ni de l'ESSG.
- Prélèvement sanguin de 4 cc de sang veineux sur tube hépariné.

2- Critères d'exclusion :

- Toute personne ayant validé un des items des critères de diagnostic et de classification d'AMOR et de l'ESSG.
- Les parents de 1^{er} degré de malades hospitalisés ou consultants en rhumatologie.
- Tout prélèvement sanguin inférieur à 4 cc de sang veineux.
- Tout prélèvement sur tube non hépariné.

III- Echantillon :

Se référant aux prévalences de HLA B27 rapportées dans les pays avoisinants le Maroc, à savoir la péninsule ibérique et la France qui varient de **5% à 7,5%**, nous avons calculé la taille de l'échantillon de notre étude en fixant la prévalence attendue entre 5% à 7,5%. Le risque d'erreur α a été de 5% et la précision est de 3%. La taille de l'échantillon calculé est de 241 qu'on a majoré à 250.

IV- Variables étudiées :

Le sexe, l'âge, les antécédents de rhumatisme personnels ou familiaux, les critères de classification et de diagnostic d'AMOR et d'ESSG et la positivité ou non de l'HLA B27 (Annexe I=fiche d'observation).

V- Déroulement de l'étude :

Nous avons demandé à un peu plus de 450 personnes vues au hasard la possibilité de participer à l'étude. Les personnes répondant favorablement ont rempli un questionnaire comportant des données démographiques et les critères de classification et de diagnostic d'AMOR et de l'ESSG (Annexe II).

250 personnes ont répondu aux critères d'inclusion et ont donc été incluses à l'étude.

Les personnes interrogées sont : les donneurs de sang, les étudiants en médecine, le personnel médical et paramédical des services de Rhumatologie, Dermatologie, Endocrinologie, Neurologie et Médecine interne.

Le recrutement a été réalisé sur deux semaines. Les personnes participant à la réalisation de l'étude sont :

- Les étudiants de 5 ème année du groupe affecté au service de Rhumatologie qui ont rempli les fiches d'exploitation pour les personnes ayant accepté l'étude.
-

• Le personnel médical et paramédical des services de Rhumatologie et du centre de transfusion a réalisé les prélèvements. Celui-ci a consisté en une prise de sang veineux de 4 cc sur tube hépariné.

La conservation des prélèvements a été faite au congélateur -80°C.

L'acheminement des prélèvements au laboratoire de Biochimie-Immunologie à la faculté des sciences de l'université Mohammed V de Rabat-Agdal a été réalisé dans une glacière avec de l'azote liquide, sur un trajet de 4 heures.

Le traitement des prélèvements est fait par **Professeur Y. BAKRI** du service d'immunologie de la faculté des sciences de l'université Mohamed V de Rabat Agdal. Il a d'abord consisté à l'extraction de l'ADN, ensuite à l'amplification des gènes : HLA-B27 et de contrôle par la technique PCR (polymérase Chain reaction), puis la résolution sur gel d'Agarose et la visualisation aux Ultraviolets (UV).

VI- Saisie et analyse des données:

L'analyse statistique a été réalisée, avec la collaboration du Dr. Mohammed Amine, au laboratoire d'Epidémiologie de la faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech.

Elle a fait appel aux techniques simples d'analyse univariée avec calcul de mesures de tendances centrales et de dispersions pour les différentes variables. Le logiciel utilisé a été l'EPI INFO version 6.04 d fr.

VII- Considérations éthiques :

- Consentement libre et éclairé a été obtenu oralement de tous les participants.
 - L'anonymat : Nous avons procédé à un codage en anonymat des prélèvements acheminés au traitement.
 - Confidentialité des données : Les résultats n'ont été communiqués qu'aux personnes ayant désiré connaître le résultat.
-

VIII- Typage HLA B27 :

La technique utilisée est l'amplification de l'allèle HLA-B27 par PCR-SSP_(Sequence-Specific Primers) :

L'ADN génomique a été purifié en utilisant un kit commercial d'extraction d'ADN selon les instructions du manufacturier (wizard® Genomic DNA purification kit, Promega, WI, USA).

L'exon 2 du gène HLA-B27 a été amplifié en utilisant les amores d'oligonucléotides décrits par Sayer *et al.* 1999. L'amorce sens HLA27s (5'-GTGGCTACGTGGACGACACGCT-3') et l'amorce anti-sens HLA27as (5'-GTCAGT CTGTGCCTTGGCCTTGC-3') permettent d'amplifier un fragment de 150-paires de bases (Pb) d'une région de l'exon 2. Comme contrôle interne, nous avons utilisé l'amorce G6PDs sens (5'-GGA GAT GGT GCAGAA CCT CAT GG-3') et l'amorce G6PDas anti-sens (5'-CCA GAC ACA GCATCT GCA GTA GG-3') permettant d'amplifier un fragment de 739-pb du gène G6PD (glucose-6-phosphate déshydrogénase). Ces amores étaient synthétisées par GibcoBRL, France.

La PCR-SSP conventionnelle du HLAB27 a été réalisée dans un volume final de 50 µl contenant 25 µl du tampon PCR Master Mix 2x (50 unités/ml de Taq DNA polymérase dans un tampon de réaction, pH 8,5, 400 µM de chaque dNTP, 3 mM MgCl₂) (GibcoBRL, Life technologies, France), 2,5 µl de chaque amorce HLA-B27 (10 µM), 2,5µl de chaque amorce G6PD (10 µM), 10 µl d'eau stérile DNase-free et 5 µl d'ADN génomique purifié à partir du sang des patients. La PCR a été réalisée dans un thermocycleur TechGene PCR System thermocycler (Cambridge, UK), en utilisant un cycle initial de dénaturation à 95 °C pendant 5 min; deux cycles à 95 °C pendant 45 s, puis 72 °C pendant 1 min; suivi de 30 cycles à 95 °C pendant 45 s, 60 °C durant 40 s, puis 72 °C pendant 45 s, et une extension finale à 72 °C pendant 7 min. 20 µl des produits de PCR ont été séparés sur un gel d'agarose à 2% dans un tampon TBE (Tris-Borate-EDTA), le Bromure d'ethidium a été utilisé pour visualiser l'ADN par un transilluminator à ultraviolets.

Le gel a été photographié et analysé pour l'expression du HLA-B27. Un marqueur de taille 100-bp (GibcoBRL, Life technologies, France) a été utilisé pour comparer les tailles des

produits de PCR. Un exemple de résultats du test HLA-B27 par la PCR-SSP est montré dans la figure ci-dessous pour 8 patients.

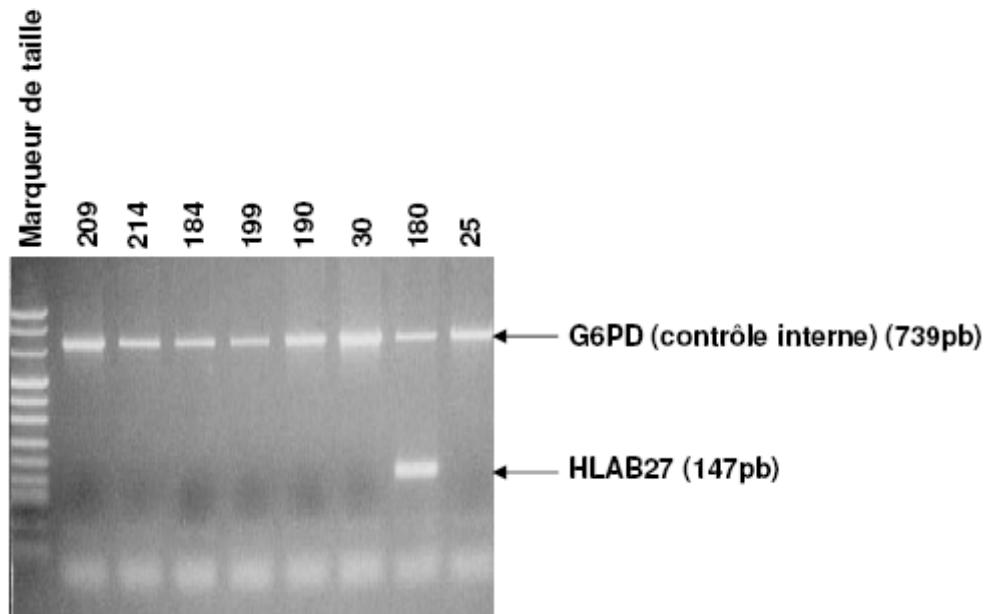


Figure1 : Photographie d'un gel agarose 2% marqué au bromure d'ethidium des produits de la PCR-SSP. Les amores HLA-B27 amplifient une région de 150-pb de l'exon 2 du HLA-B27. Les amores contrôle (G6PDs et G6PDas) amplifient un produit de 739-pb. Les échantillons d'ADN du donneur 180 sont positifs pour l'allèle HLA-B27.



RESULTATS

I- Caractéristiques générales de la population étudiée:

Les participants à l'étude constituent un échantillon de la population générale de la région de Marrakech. Ils sont colligés à partir de volontaires sains d'origine rurale et urbaine, de phénotype différent témoignant du brassage de la population de Marrakech. Cet échantillon est considéré comme représentatif des caractéristiques de notre pays.

II- Caractéristiques démographiques :

1- L'âge :

L'âge moyen était de **29 ans** $+/- 9$, une médiane de **26** [17-56].

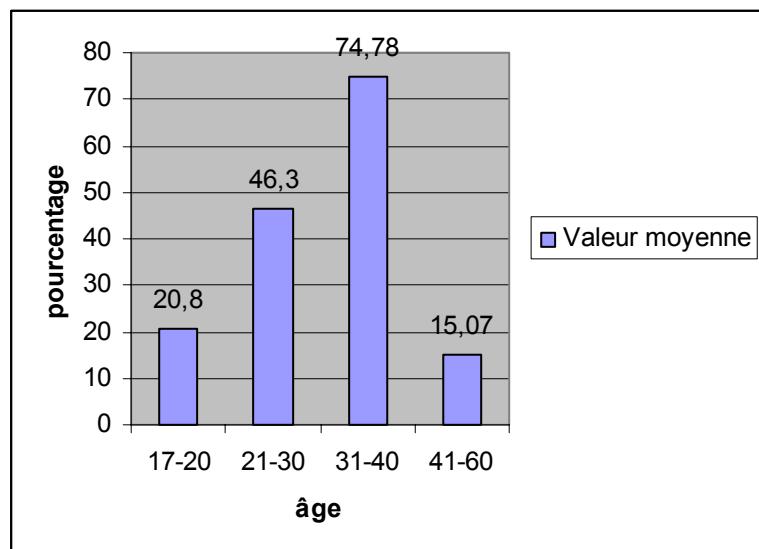


Figure 2 : Représentation graphique des tranches d'âge

2- Le sexe :

Notre étude a comporté la participation de 127 hommes (soit **50,6%**) versus 124 femmes (49,4%).

Le sexe ratio est de 1,024.

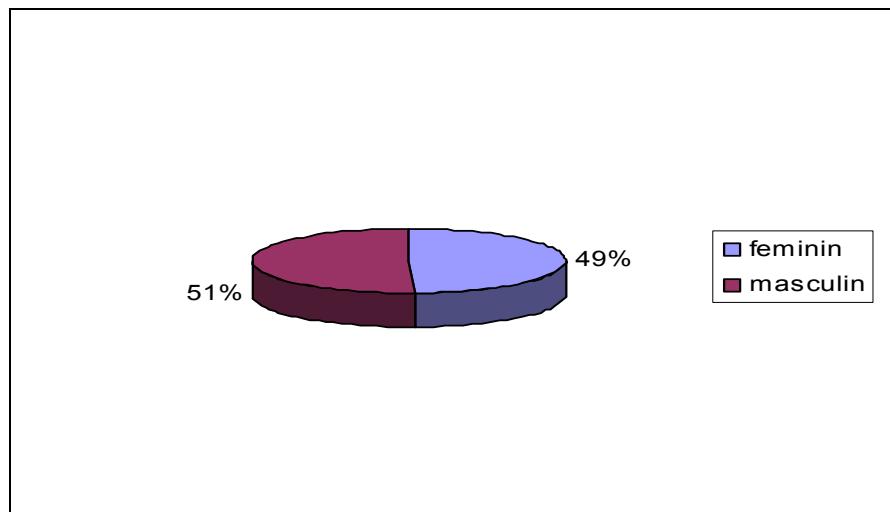


Figure 3 : Représentation graphique du sexe

III- Incidence du marqueur HLA-B27 :

Le marqueur HLA-B27 a été retrouvé chez **14** participants à l'étude parmi 250, soit une incidence de **6%**.



DISCUSSION

I- Rappel du système HLA :

On appelle système HLA (human leucocytes antigens) le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de l'homme.

Ce terme désigne un ensemble de gènes étroitement liés sur un même chromosome, localisé chez l'homme sur le bras court du chromosome 6 (bande 6 p 21,3).

La reconnaissance des premières molécules HLA à partir de 1952 par DAUSSET, prix Nobel de médecine en 1980, représente le point de départ d'une extraordinaire épopée scientifique et médicale.

La diversité structurale, ou polymorphisme, de ces nombreuses molécules et leur spécialisation, expliquent la diversité fonctionnelle observée et donc les implications cliniques variées du système HLA [1].

II- Fonction du système HLA :

Du point de vue fonctionnel, les molécules HLA sont les initiatrices de la réponse immunitaire par leur capacité de présentation de peptides immunogènes aux lymphocytes T, qui les reconnaissent via leur récepteur spécifique (TCR).

L'autre grande fonction est de participer à la formation, dans le thymus, d'un répertoire de lymphocytes T matures et éduqués pour reconnaître le "soi" du "non soi" [1].

Les molécules HLA, selon différents mécanismes, jouent un rôle quelquefois prépondérant de facteur génétique de susceptibilité ou de résistance à de nombreuses maladies et dans l'immuno-surveillance antitumorale [1].

L'association HLA et maladies signifie que les groupes d'individus malades expriment certaines molécules d'HLA plus fréquemment que la population générale.

III- Structure biochimique des molécules et gènes HLA :

Les molécules exprimées à la surface cellulaire sont regroupées en deux classes principales dites classe I et classe II qui correspondent à des différences de structure (**Tableau I, fig. 4, fig. 5**) [1].

Tableau I : Structure biochimique des molécules et gènes HLA [1]:

Les molécules HLA classe I (fig4)		
Classiques	Non classiques	Apparentées aux classes I
<p>A- Codées par :</p> <ul style="list-style-type: none"> * Les gènes HLA-A, B, et C codant pour les chaînes : lourde (44 KDa) et légère (11,5 KDa). <p>B- Organisées en hétéro dimères :</p> <ul style="list-style-type: none"> + Une chaîne lourde α à trois domaines $\alpha 1$, $\alpha 2$ et $\alpha 3$ + une chaîne de $\beta 2$-microglobuline (fig4) <p>* La chaîne lourde α comporte :</p> <p>une partie intra cytoplasmique, une partie transmembranaire et une partie extracellulaire.</p> <p>C- Distribuées</p> <p>Sur les cellules nucléées et plaquettes.</p>	<p>A- Codées par :</p> <ul style="list-style-type: none"> * Les gènes : HLA-E, F et G <p>B- Les Différences structurales avec les molécules HLA classiques :</p> <p>Raccourcissement de la partie intra cytoplasmique des 3 molécules correspondant à ces gènes.</p>	<p>Homologie de séquences de 20 à 30% avec les gènes de classe I classiques.</p>

Les molécules HLA classe II (fig5)	
Classiques	Apparentées aux classes II
<p>A- Codées par :</p> <ul style="list-style-type: none"> * Les gènes HLA-A et B <p>B- Ces molécules appartiennent à 3 séries :</p> <p>HLA- DR, -DQ et DP :</p> <ul style="list-style-type: none"> * Constituées de 2 chaînes α et β. <p>C- Les gènes correspondants :</p> <p>DRA, DRB, DQA et DQB, DPA, DPB.</p>	<p>A- Organisées en hétéro dimères :</p> <p>2 molécules HLA-DQ et HLA-DM</p> <p>B- Structure:</p> <p>25% d'homologie de séquences nucléotidiques avec HLA classe II.</p>

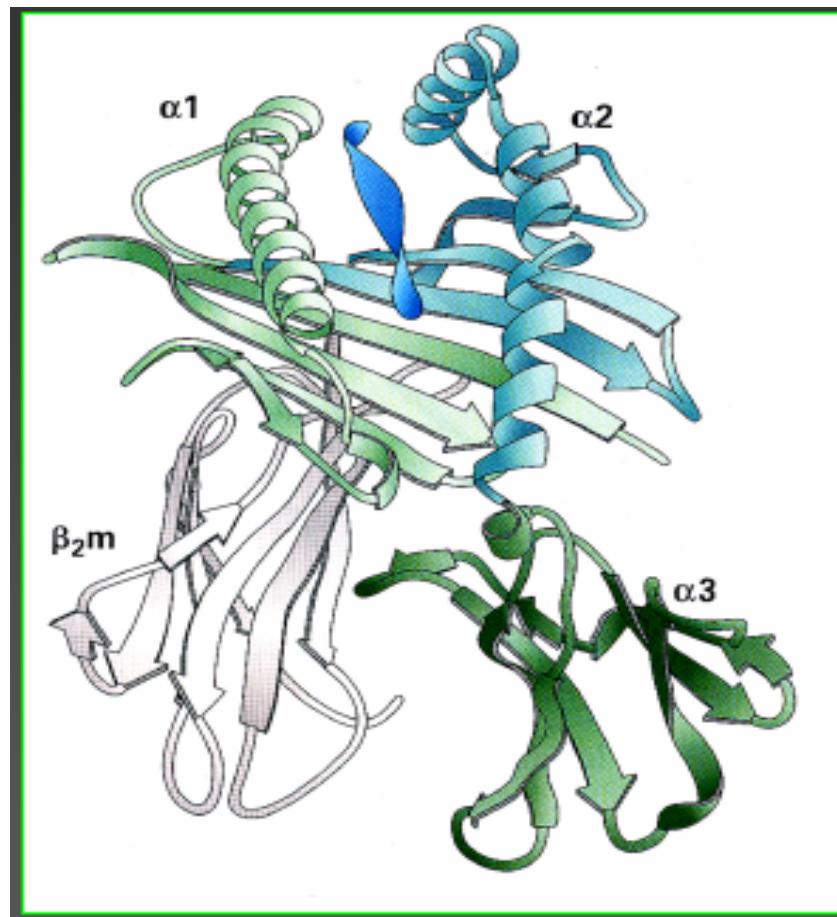


Figure 4 : Structure tridimensionnelle de l'hétéro dimère HLA de classe I [1].

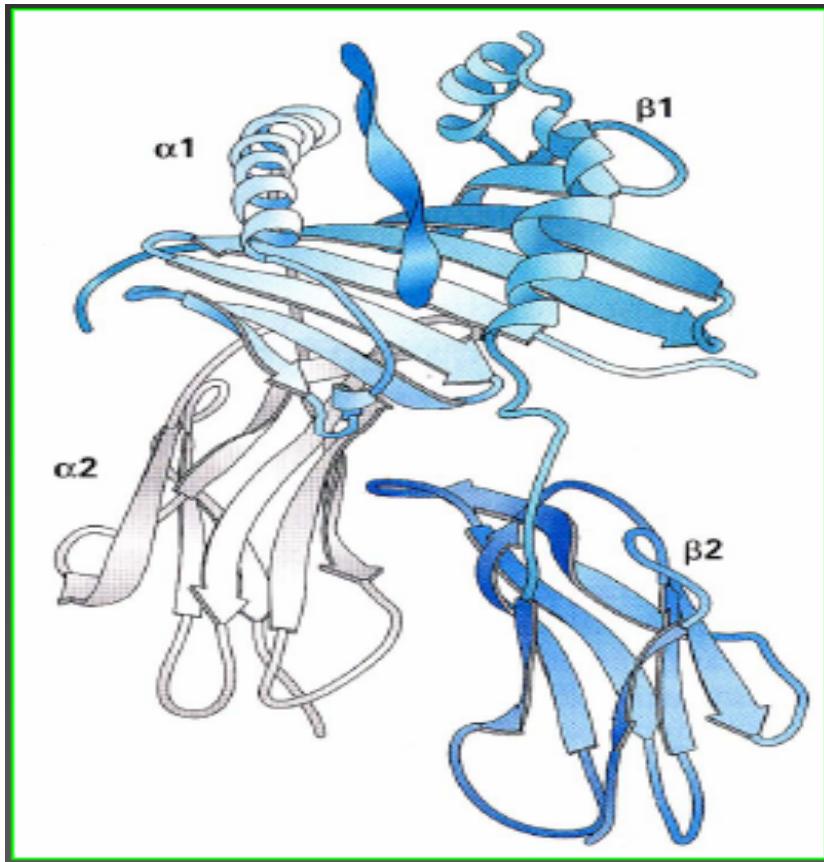


Figure 5 : Structure tridimensionnelle de l'hétéro dimère HLA de classe II [1].

IV- LE SYSTEME HLA B27 :

Le HLA-B27 est un marqueur sérologique, recherché au niveau de la surface cellulaire des lymphocytes.

Il représente une famille de 25 allèles (B*2701 à B*27023), aussi appelés sous-types, codant pour 23 protéines différentes qui diffèrent par la position de 24 acides aminés [2].

Le polymorphisme de HLA B27 est dû à la substitution de différents nucléotides codant pour la région présentatrice d'antigène (PBR : peptide binding region) à l'origine de différents allèles [3,4].

Les sous-types B27 diffèrent par des substitutions d'un ou plusieurs acides aminés correspondant à des variations des exons 2 et 3. Ceux-ci codent respectivement pour les domaines $\alpha 1$ et $\alpha 2$ de la molécule HLA B27. **Tableau II.**



Tableau II: Variations de séquences en acides aminés des sous-types de HLA-B27

	Variations en acides aminés du domaine alpha 1 de HLA-B27												Variations en acides aminés du domaine alpha 2 de HLA-B27											
	59	63	67	69	70	71	74	77	80	81	82	83	94	95	97	103	113	114	116	131	152	163		
B*2705	Tyr	Glu	Cys	Ala	Lys	Ala	Asp	Asp	Thr	Leu	Leu	Arg	Thr	Leu	Asn	Val	Tyr	His	Asp	Ser	Val	Glu		
B*2701	—	—	—	—	—	—	Tyr	Asn	—	Ala	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B*2702	—	—	—	—	—	—	—	Asn	Ile	Ala	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B*2703	His	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B*2704	—	—	—	—	—	—	—	Ser	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Glu	—
B*2706	—	—	—	—	—	—	—	Ser	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Asp	Tyr	—	Glu	—	—
B*2707	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Ser	—	His	Asn	Tyr	Arg	—	—	—	—
B*2708	—	—	—	—	—	—	—	Ser	Asn	—	Arg	Gly	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B*2709	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	His	—	—	—	—
B*2710	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Glu	—
B*2711	—	—	—	—	—	—	—	Ser	—	—	—	—	—	—	Ser	—	His	Asn	Tyr	Arg	—	—	—	—
B*2712	—	—	—	Thr	Asn	Thr	—	Ser	Asn	—	Arg	Gly	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B*2713	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B*2714	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Trp	Thr	Leu	—	—	—	—	—	—	—
B*2715	—	—	—	—	—	—	—	Ser	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Glu	Thr
B*2716	—	—	—	Thr	Asn	Thr	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B*2717	Phe	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B*2718	—	—	Ser	Thr	Asn	Thr	Tyr	Ser	Asn	—	Arg	Gly	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Glu	—
B*2719	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Ile	Ile	Arg	—	—	—	—	—	—	—	—
B*2720	—	—	—	—	—	—	—	Ser	—	—	—	—	—	—	—	—	—	His	Asn	Tyr	Arg	Glu	—	—
B*2721	—	—	—	—	—	—	—	Ser	—	—	—	—	—	—	—	Arg	—	—	Asp	Tyr	—	Glu	—	—
B*2722	—	—	—	—	—	—	—	Ser	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Asp	Tyr	—	Glu	—	—
B*2723	—	Asn	Phe	Thr	Asn	Thr	Tyr	Ser	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Le mécanisme moléculaire qui paraît générer et maintenir le polymorphisme de HLA-B27 est la recombinaison intra allélique ou la conversion génique.

Toutefois, la mutation ponctuelle est un mécanisme également important dans cette variabilité [5, 6,9]. **Tableau III.**

Tableau III : Polymorphisme des résidus des acides aminés responsables de la variabilité des allèles de B27.

	AS	-20	59	63	67	69	70	71	74	77	80	81	82	83	94	95	97	103	113	114	116	131	152	163	211
B*2705 P	ALA	TYR	GLU	CYS	ALA	LYS	ALA	ASP	ASP	THR	LEU	LEU	ARG	THR	LEU	ASN	VAL	TYR	HIS	ASP	SER	VAL	GLU	ALA	
B*2701 ?	-	-	-	-	-	-	-	-	TYR	ASN	-	ALA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N.C	
B*2702 P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ASN	ILE	ALA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B*2703 P	-	HIS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B*2704 P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SER	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	GLU	-	GLY	
B*2706 N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SER	-	-	-	-	-	-	-	ASP	TYR	-	GLU	-	-	-	
B*2707 P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SER	-	HIS	ASN	TYR	ARG	-	-	-	-	
B*2708 P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SER	ASN	-	ARG	GLY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B*2709 N	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HIS	-	-	-	-	-	
B*2710 ?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	GLU	-	N.C	-	-	
B*2711 ?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SER	-	-	-	-	SER	-	HIS	ASN	TYR	ARG	-	-	-	-	-
B*2712 ?	-	-	-	-	-	THR	ASN	THR	-	SER	ASN	-	ARG	GLY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B*2713 ?	GLU	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B*2714 ?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	TRP	THR	LEU	-	-	-	-	-	-	-	N.C
B*2715 ?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SER	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	GLU	THR	N.C	
B*2716 ?	-	-	-	-	-	THR	ASN	THR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N.C
B*2717 ?	-	PHE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N.C
B*2718 ?	-	-	-	SER	THR	ASN	THR	TYR	SER	ASN	-	ARG	GLY	-	-	-	-	-	-	-	GLU	-	N.C	-	-
B*2719 ?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ILE	ILE	ARG	-	-	-	-	-	-	-	N.C
B*2720 ?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SER	-	-	-	-	-	-	-	HIS	ASN	TYR	ARG	GLU	-	N.C	
B*2721 ?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SER	-	-	-	-	-	ARG	-	ASP	TYR	-	GLU	-	N.C	-	-
B*2722 ?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	SER	-	-	-	-	-	-	-	ASP	TYR	-	GLU	-	GLY	-	-
B*2723 ?	-	-	ASN	PHE	THR	ASN	THR	TYR	SER	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N.C
Pockets	-	A	B	B	-	B	-	C/F	C/F	C/F	C/F	C/F	C/F	-	C/F	-	D	D/E	F	-	E	-	-	-	-

Le HLA B27 est présent chez **80% à 90%** des sujets atteints de spondylarthropathies contre **5% à 7%** chez la population caucasienne sans pathologies auto-immunes [7].

La variabilité des allèles de B27 dûe au changement de quelques acides aminés a un impact pathogénique important [10] :

C'est l'exemple des allèles B*2718 et B*2723 qui changent au niveau de la pochette B par la position de Cystéine en 67. La pathogénie de ces allèles reste inconnue, mais il importe de remarquer que la mutation de Cystéine 67 en Serine en B*2705 transgénique chez des rats, aide au développement de maladies mais, expose moins aux arthrites [14].

HLA-B*2705 est clairement associé à la spondylarthrite ankylosante (SPA) et aux spondylarthropathies (SA) dans l'ensemble des régions géographiques, sauf sans doute dans les populations du Sénégal et de la Gambie [15,16,17].

B*2705 comprend les types B*27052, B*27053 et B*27054 qui diffèrent par des substitutions silencieuses d'un seul nucléotide.

Le sous-type B*2713 est identique à B*27052, à l'exception d'une base (C changée en A) dans la région de l'exon 1 codant pour le peptide signal. Cette différence amène une substitution de Alanine en Glutamine en position 20 [20].

La structure de la protéine B*2713 est donc identique à celle de B*27052, B*27053 et B*27054. Si la modification du peptide signal est sans effet, il est ainsi probable que ce sous-type serait associé à la spondylarthrite ankylosante (SPA) et aux spondylarthropathies (SA).

HLA-B*2701 est un sous-type très rarement observé dans les populations caucasiennes, asiatiques, de métis hispano-indien et africaines d'Amérique. Ce sous-type a été associé à une SA dans une seule famille dans une étude menée par Taurog J en Oxford en 1998 [21].

Il diffère des autres par sa capacité à lier la glutamine ou l'arginine en P2 du peptide, alors que les autres ne peuvent se lier qu'à l'arginine [22].

La substitution du résidu 74 (tyrosine au lieu d'acide aspartique) se trouvant juste à l'extérieur de la poche B est sans doute à l'origine de la sélectivité particulière de B*2701 [22]

Tableau II.

HLA-B2702 est présent chez **4 à 10%** des individus positifs pour B27 issus d'Europe du nord. Ces proportions atteignent **20%** dans la péninsule ibérique (Espagne et Portugal) et vont jusqu'à **55%** dans les populations sémites (Arabes et Juifs) [11, 23, 24, 25].

HLA-B*2703 et HLA-B*2717 diffèrent de B*2705 par la substitution d'un seul acide aminé : une tyrosine en position 59 substituée par une histidine pour B*2703 et par une phénylalanine pour B*2717 [26,27]. Tableau II.

Les nouvelles méthodes d'étude génétique notent que tous les gènes HLA-B27 ne prédisposent pas forcément au risque élevé de développer la spondylarthrite ankylosante (par exemple, HLA-B*2706 et HLA-B*2709 n'y sont pas associés).

Quels sont alors ces sous-types et comment sont-ils distribués dans le monde ?

V- Répartition géographique de HLA B27 dans le monde :

La constitution génétique et la distribution géographique de HLA B27, est sous l'influence de plusieurs facteurs : génétiques et géographiques dûs à la migration des populations à travers l'histoire.

HLA-B27 est retrouvé approximativement chez toutes les populations du monde, avec une distribution différente de ses allèles dans des ethnies variables [11].

Dans notre étude, nous rapportons une prévalence de 6% de HLA B27 chez notre population générale. Elle rejoint celle retrouvée chez les populations : caucasienne (5 à 7%) et française (7,5%). **Tableau IV.**

Tableau IV : Tableau comparatif entre les différentes prévalences de HLA B27 des populations générales dans le monde.

<u>Population générale</u>	<u>La fréquence de HLA B27</u>
Caucasienne	5 à 7 %
France	7,5 %
Chypriotes Grecques [8,9]	4,5%
Moyen orient et L'Iraq [10,11]	4 %
Afrique équatoriale et Liban	rare
Notre étude	6 %

La prévalence des sous-types de HLA-B27 varie entre les différentes populations raciales ou ethniques du monde [12,13].

Les variations de séquences des sous-types B27 et leur profil de distribution géographique suggèrent que l'ensemble des sous-types dérivent du sous-type ancestral **B*2705**. En effet, il est à l'origine de B*2701, B*2702, B*2703, B*2704, B*2706, B*2707, B*2708, B*2709, B*2710, B*2711 et B*2712 [2] (Fig.6; 7).

B*2705 est présent chez approximativement toutes les populations du monde, représenté intensivement dans les régions d'Eurasie, d'Amérique du nord et de la Corée.

Il est également surreprésenté dans la région circumpolaire du fait d'un gradient géographique nord-sud décroissant [42].

C'est l'unique sous-type présent chez les esquimaux (migrant de la Sibérie vers l'Amérique du nord) et populations coréennes. Cet allèle est retrouvé également chez les indiens mais, sa fréquence est nettement inférieure à celle de l'Eurasie de l'ouest. Il se peut qu'il soit introduit 9000 ans avant Jésus-Christ par l'expansion de l'agriculture des populations et quelques mouvements de migrations décrites mais, rarement à partir de l'ouest de l'Eurasie [40].

B*2705 représente 90% à 96% de HLA-B27 positif des Euro caucasiens, au nord de l'Inde et de l'Afrique de l'ouest [31].

Il est le sous-type le plus prédominant en Afrique de l'ouest où la prévalence de B*27 en Mbuti et pygmées est de 7 à 10%. [33].

Ce sous-type est le seul à avoir été observé parmi les populations natives de Sibérie orientale et d'Amérique du nord. Il est présent chez approximativement 90% des individus issus d'Europe du nord portant B*27 [11, 18,19].

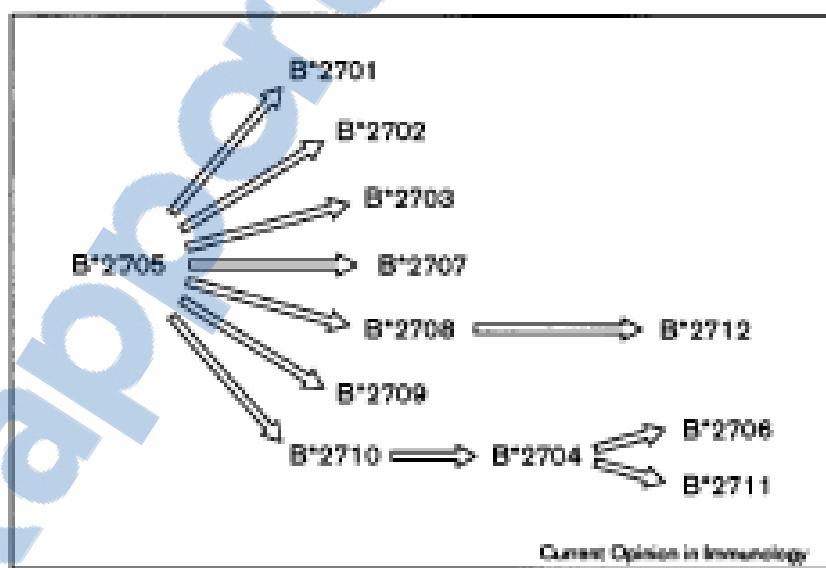


Figure 6: HLA-B2705 ancêtre des sous-types de HLA-B27

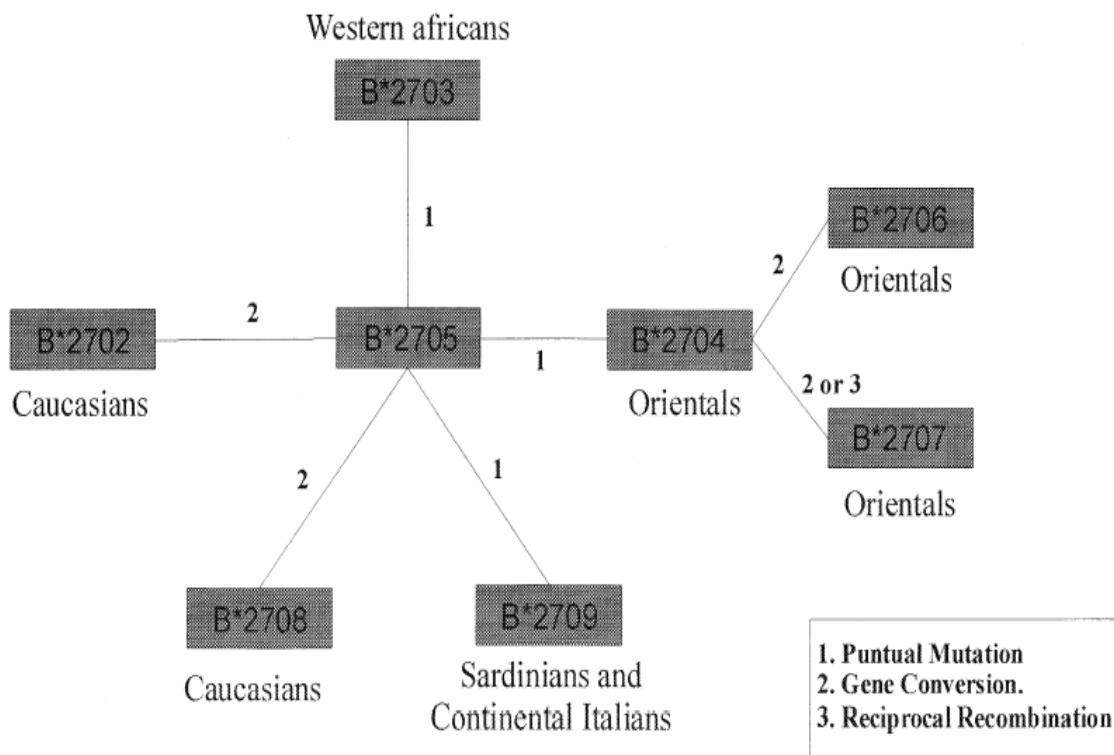


Figure 7 : Origine et évolution des sous types de HLA-B27

Les B*2701, B*2702, B*2708 et B*2709 ont été rapportés chez les caucasiens, tandis que B*2704, B*2706, et B*2707 ont été uniquement détectés chez les asiatiques [28, 29,30].

Parmi les populations d'Afrique de l'ouest positives pour B27, B*2705 (65%) et B*2703 (35%) sont les seuls sous-types observés. Cependant, les SA sont très peu fréquentes dans ces populations [16,17].

Le sous-type prédominant chez les individus américains d'origine africaine est le B*2705, alors que le B*2703 est peu fréquent [11, 15,16].

Parmi les populations chinoises et japonaises d'Asie, HLA-B*2704 est dominant et il est fortement associé à la SPA et aux SA.

En Thaïlande, HLA B*2704 et HLA B*2706 sont également représentés mais, B*2706 serait faiblement associé à la SPA et aux SA.

B*2702 est restreint aux caucasiens où il est le sous-type le plus prédominant au niveau du moyen est et au nord d'Afrique (chez les berbères) introduit dans ces populations par les immigrés venant du Moyen-Orient. B*2702 et B*2705 sont nettement les sous types les plus prédominants en Tunisie [43].

Il existe une distribution sud-est et nord-ouest de B*2702 qui est l'allèle prédominant dans les régions de l'est où il représente 51,7%-73,8% des patients atteints de SPA de race blanche tels les Grecs et chypriotes [31].

HLA B*2708 est un sous-type européen rare d'abord observé au Royaume-Uni [39]. Il est associé à la SPA dans une grande famille des îles des Açores, territoire du Portugal dans l'océan Atlantique qui possède le plus haut degré de polymorphisme de HLA-B27 au monde [40]. Cinq différents sous-types : B*2705, B*2702, B*2703, B*2707 et B*2708 témoignant d'une combinaison génétique entre européens, asiatiques et africains [41] (fig. 8).

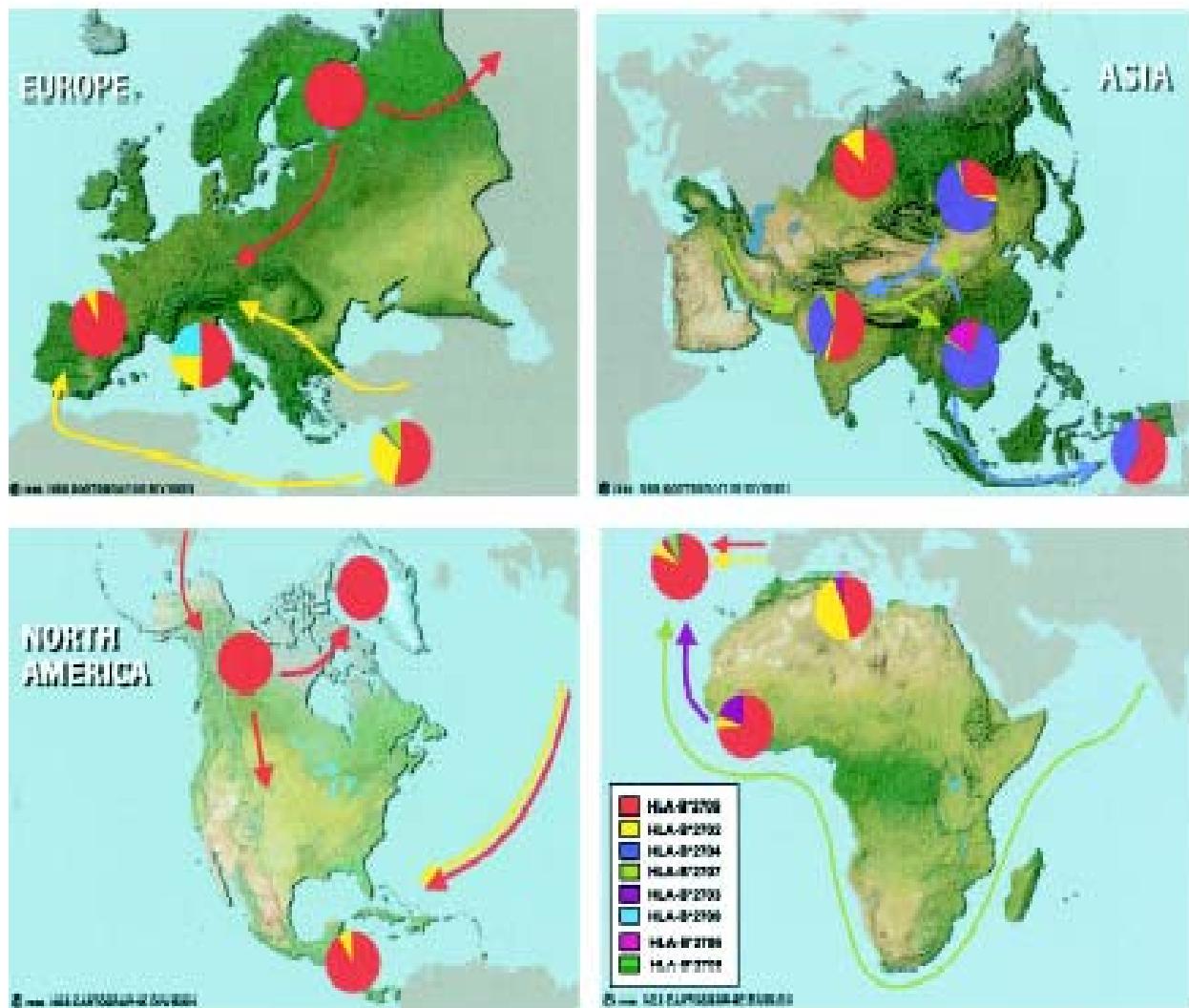


Figure 8: Distribution des allèles de HLA-B27 à travers les populations du monde. Les origines et routes possibles de l'expansion des différents allèles de HLA-B27.

VI- Pourquoi établir le typage HLA B27 dans la population générale ?

L'évaluation du typage HLA B27 et des sous types alléliques pourra élucider un certain nombre de notions; à savoir :

- ❖ Rapporter la fréquence de HLA B27 de la population saine à celle malade, pour identifier le rôle prédicteur de ce marqueur et porter un diagnostic précoce.

- ❖ L'existence de sous types de HLA B27 protecteurs contre la SPA et d'autres prédisposants à la maladie.

En effet, plusieurs études de différentes populations ont indiqué que B*2702, B*2704, B*2705 et B*2707 sont des sous types retrouvés chez les patients atteints de SPA [29, 30,19] **Tableau V.**

Tableau V: Sous types de HLA-B27 et association à la SPA

	Association à la maladie	Prévalence	Population géographique
B*2705	Oui	Variable	A travers le monde
B*2702	Oui	Variable	Moyen Est, nord africains et euro caucasiens
B*2703	Oui	Réduite	Africains de l'ouest
B*2704	Oui	Variable	Chinois, Japonais, Thailandais, Indonésiens et Polynésiens
B*2706	Non	Variable	Asiatiques du sud
B*2707	Oui	Basse	Indiens, chinois, thaïlandais
B*2708	Oui	Rare	Grande Bretagne, îles d'Açores
B*2709	Non	Réduite	Italiens et sardiniens

Alors que B*2706 et B*2709 ont été identifiés comme des allèles protecteurs probables chez les thaïlandais et sardes respectivement [30,34].

Dans un travail réalisé par l'équipe du **Pr. El Hassani** et visant d'établir la prévalence de HLA B27 chez le malade atteint de SPA, cette prévalence est de **67%**. Lorsqu'on rapporte cette fréquence à celle que nous avons trouvée, ce rapport rejoint celui retrouvé chez la population

caucasienne générale 5 à 7% versus 80 à 90% chez les patients atteints de la SPA où la prédisposition de HLA B27 à cette maladie a été établie [7].

Par analogie, l'association entre la SPA et HLA – B27 au Maroc serait établie et HLA – B27 serait un marqueur génétique de la maladie en question.

L'existence d'allèles prédisposants à la maladie et d'autres protecteurs, nous amène à penser que non seulement la positivité de HLA-B27 est une valeur prédictive de la SPA, mais la recherche de sous types arthritogéniques devient une nécessité.

Dans cette optique, on a prévu de rechercher ces sous types dans notre étude, mais ceci nécessite la poursuite de l'étude avec des effectifs plus importants.

Récemment, les études épidémiologiques se rendent à l'évidence de l'existence d'autres gènes que HLA B27 influençant la susceptibilité à la SPA. Une nouvelle famille de gènes polymorphes a été décrite, il s'agit de loci appartenant à la classe I : MICA et TNF α [35].



CONCLUSION

HLA B27 est un marqueur génétique dont le rôle de prédisposition aux spondylarthropathies est actuellement démontré.

Sa présence figure parmi les critères de diagnostic et de classification des spondylarthropathies comme les critères d'AMOR et de l'ESSG (Groupe Européen d'Etude des Spondylarthropathies).

Le diagnostic précoce des rhumatismes inflammatoires chroniques a un intérêt pronostique et thérapeutique majeur. C'est ainsi que sont élaborés des critères diagnostiques pour assurer un diagnostic et une prise en charge précoce.

Dans cette optique, nous avons essayé au cours de notre étude d'évaluer la prévalence de HLA B27 chez la population générale de Marrakech et de la rapporter à celle des malades atteints de SPA afin de pouvoir appliquer ces critères au patient marocain.

Ceci nous a permis de conclure que HLA B27 serait un facteur génétique prédisposant à la SPA au Maroc. Toutefois, une étude complémentaire des sous types HLA B27 s'avère nécessaire pour déterminer les allèles du gène HLA B27 et leur liaison avec la maladie.



ANNEXES

ANNEXE I:

Fiche d'exploitation

Prévalence du gène HLA B27 dans la population de la région de Marrakech Tensift El Haouz

Nom :

N° d'ordre :

Prénom :

N° pvt

Sexe : F M

Age :ans

Téléphone :

Adresse :

ATCD de rhumatisme : Personnels :

Familiaux :

Critères d'AMOR *

A- Signes cliniques	oui	non	Points
1. Douleurs nocturnes lombaires ou dorsales et/ou raideur matinale lombaire ou dorsale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1
3. Douleur fessière sans précision	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1
4. ou douleur fessière à bascule	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2
5. Doigt ou orteils en saucisse	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2
6. Talalgie ou toute autre enthésiopathie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2
7. Iritis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2
8. Urétrite non gonococcique ou cervicite moins d'un mois avant le début de l'arthrite	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1
9. Diarrhée moins d'un mois avant l'arthrite	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1
10. Présence ou antécédent de psoriasis et/ou d'une balanite, entérocopathie chronique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2
B-Signes radiologiques	oui	non	Points
11. Sacroiliite radiologique (stade ≥ 2 bilatérale ou stade ≥ 3 si unilatérale)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3
C- Terrain génétique	oui	non	Points
12. Présence de l'antigène B27 et/ou ATCD familiaux de pelvispondylite et/ou de syndrome de Reiter et/ou de psoriasis et/ou d'uvéite et/ou d'entérocopathie chronique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2
D-Sensibilité au traitement	oui	non	Points
13. Amélioration en 48h des douleurs par les AINS et/ou rechute rapide (48 heures) des douleurs à leur arrêt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2

Total

ANNEXE II:

Critères ESSG **

Critères majeurs

1 / Rachialgies inflammatoires

Passées ou présentes (lombaires, dorsales ou cervicales)

2 / Synovite

Asymétrique

Prédominant aux membres inférieurs

Critères mineurs

Histoire familiale de SPA ou d'uvéite ou d'entérocolopathie

Psoriasis

Entérocolopathie inflammatoire

Urétrite, cervicite, diarrhée aigue moins d'un mois avant l'arthrite

Enthésiopathie

Sacroiliite radiologique

HLA B27	Positif <input type="checkbox"/>	Négatif <input type="checkbox"/>
---------	----------------------------------	----------------------------------



RESUMES

RESUME

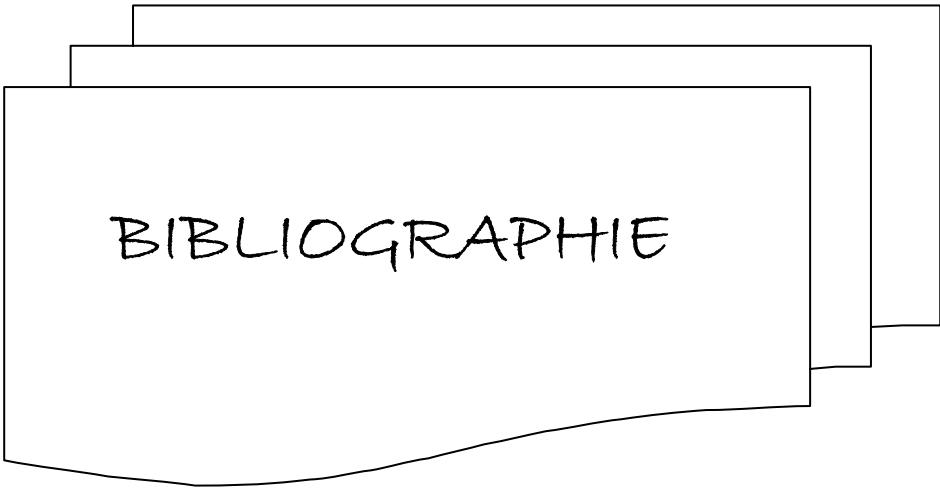
HLA-B27, ce marqueur génétique, est défini comme critère de diagnostic et de classification de la spondylarthrite ankylosante (SPA). Il importe alors de connaître sa prévalence dans la population générale marocaine afin de l'appliquer au patient marocain. Au Maroc, il n'existe aucune étude évaluant la prévalence de l'antigène HLA-B27 dans la population générale. Notre étude est donc le premier travail épidémiologique au Maroc qui se fixe comme objectif d'étudier la prévalence du gène HLA-B27 dans la population générale. Deux cent cinquante personnes répondant aux critères d'inclusion de l'étude sont incluses. La recherche du gène HLA-B27 par PCR-SSP_(Sequence-Specific Primers) a été réalisée en collaboration avec le laboratoire de Biochimie- immunologie à la faculté des sciences de l'université Mohammed V de Rabat. Le gène HLA B27 est retrouvé chez **6 %** de la population générale, correspondant à une prévalence identique à celle rapportée dans les études euro-caucasiennes et africaines. Le diagnostic précoce des rhumatismes inflammatoires chroniques a un intérêt pronostique et thérapeutique. La fréquence de l'antigène HLA B27 retrouvée dans notre série comparée à celle des patients spondylarthropathiques marocains (67%) suggère qu'il existerait une probable association entre la SPA et le HLA-B27 au Maroc, ce qui fait de ce dernier un marqueur génétique de susceptibilité à la maladie. La détermination dans la population générale du gène HLA B27 est importante afin de pouvoir conclure à l'association HLA-B27 et SPA et à l'intérêt diagnostique de la recherche dans les situations de diagnostic douteux.

Summary

HLA-B27, this genetic marker, is defined like criterion of diagnosis and classification of the ankylosing spondylitis (AS). It is then important to know its prevalence in the Moroccan general population in order to apply it to the Moroccan patient. In Morocco, There is no study evaluating the prevalence of HLA – B27 in the general population. Our study is thus, the first epidemiologic work in Morocco which the aim is to study the prevalence of the gene HLA- B27 in the general population. Two hundred and fifty people answering the criteria of inclusion of the study were included. The research of the HLA-B27 gene by PCR-SSP (Primers Sequence-Specific) was carried out in collaboration with the laboratory of Biochemistry – immunology with the Faculty of Science of the university Mohammed V of Rabat. HLA B27 is found at 6 % of the general population, corresponding to the prevalence found in euro – caucasian and african studies. The early diagnosis of chronic inflammatory rheumatisms has a prognostic and a therapeutic interest. The frequency of antigen HLA B27 found in our study compare with Moroccan spondylarthropathic patients (67%) suggests that there is a probable association between the AS and HLA- B27 in Morocco, which makes of this last a genetic marker of susceptibility to the disease. The determination in the general population of the gene HLA B27 is very important so as to show the association between HLA- B27 and AS and when there is a doubtful diagnosis.

ملخص

يعتبر الجين الوراثي HLA-B₂₇ أحد معايير تشخيص وتصنيف التهاب العمود الفقري التيبسي. يترتب عن ذلك ضرورة معرفة مدى تفشي في الساكنة العامة لتطبيقه على المريض المغربي. في المغرب، لا توجد أية دراسة ابيميلوجية تقيم تفشي هذا الجين الوراثي بالساكنة العامة، وتعتبر الدراسة هذه، الأولى من نوعها لدراسة مدى تواجد الجين الوراثي HLA-B₂₇ بالساكنة العامة المغربية. أدمجنا في دراستنا مائتان وخمسون شخصا استجابوا لمعايير الدراسة. تم البحث على الجين HLA-B₂₇ بطريقة PCR-SSP بمساعدة مختبر البيوكيماء وعلم المناعة لكلية العلوم بجامعة محمد الخامس بالرباط. تم إيجاد الجين الوراثي- HLA-B₂₇ لدى 6% من الساكنة العامة وهي نسبة مطابقة لنتائج دراسات أورو - قوقازية وافريقية. يكتسي التشخيص المبكر لأمراض الروماتيزم المزمن أهمية قصوى في تسهيل العلاج ونتائج. وان مقارنة نسبة الجين الوراثي HLA-B₂₇ المتواجدة بدراسة بنسبيه لدى المرضى المغاربة المصابين بداء التهاب العمود الفقري التيبسي التي تصل إلى 67%， توحى بتواجد ترابط بين الجين الوراثي HLA-B₂₇ وهذا الداء بال المغرب، مما يدل على أن الجين يعد عاملا وراثيا لقابلية اكتساب المرض. يكتسي البحث عن الجين- HLA-B₂₇ لدى الساكنة العامة أهمية بالغة لإيجاد رابط بينه وبين داء التهاب العمود الفقري التيبسي وللتشخيص المبكر خاصة في الحالات غير المؤكدة منها.



BIBLIOGRAPHIE

1. Bignon JD. Système HLA. EMC,Hématologie 2000;13-000-M-53.
2. Ball EJ, Khan MA. Le polymorphisme HLA-B27. Rev Rhum 2001;68: 379-82.
3. Parham P, Lawlor DA, Lomen CE, Ennis PD. Diversity and diversification of HLA-B, C alleles. J Immunol 1989;11:3937.
4. Hughes AL, Hughes MK. Natural selection on the peptide-binding regions of major histocompatibility complex molecules. Immunogenetics 1995; 42:233.
5. Lopez De Castro JA. HLA-B73 polymorphism and its role on antigenicity peptide presentation and disease susceptibility. Clin Rheumatol 1996;15: 67-71.
6. Madden DR, Gorga JC, Strominger JL, Wiley DC. The three dimensional structure of HLA-B27 at 2.1. A resolution suggests a general mechanism for tight peptide binding to MHC. Cell 1992;70: 1035-48.
7. Gonzalez S, Garcia-Fernandez S, Martinez-Borra J et al, High variability of HLA-B27 alleles in ankylosing spondylitis and related spondyloarthropathies in the population of northern spain. Hum Immun 2002;63: 673-76.
8. Varnavidou-Nicolaïdou A, Karpasites S, Palaeontiou I, Kyriakides GK: HLA-A, -B, -DR antigens in the Greek Cypriot population. Transplantation Proc 1997;29:2920.
9. Maxime Breban A B, Corinne Miceli-Richard C, Elena Zinovieva A et al. La génétique des spondylarthropathies. Rev Rhum 2006;73: 665-72.

10. Khan MA, Kellner H: Immunogenetics of spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1992;18: 837.
 11. Khan MA: HLA-B27 and its subtypes in world population. *Curr Opin Rheumatol* 1995;7:263.
 12. Alvarez I, Lopez de Castro JA. HLA-B27 and immunogenetics of spondylarthropathies. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12 :248-53
 13. Khan MA. HLA-B27 and HLA-B73 polymorphism and association with disease. *J Rheumatol* 2000;27:1104-10.
 14. Mc Lean L Hammer RE, Taurog JD: Cytokine profiles and site directed B27 mutation in the HLA-B27 mutation in the HLA-B27 transgenic rat. (Abstract) 1996;47:74.
 15. Khan MA. Update: the twenty subtypes of HLA-B27. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12:235-8.
 16. Brown MA, Jepson A, Young A, Whittle HC, Greenwood BM, Wordsworth BP. Ankylosing spondylitis in West Africans: evidence for a non-HLA-B27 protective effect. *Ann Rheum Dis* 1997;56: 68-70.
 17. Wordsworth P, Brown M. HLA-B27, ankylosing spondylitis and the spondylarthropathies. In: Calin A, Taurog J, and Eds. *Spondylarthritides*. Oxford: Oxford UP 1998;179-93.
 18. Khan MA. Worldwide overview: The epidemiology of HLA-B27 and associated spondyloarthritides. In calin A, Taurog J, Eds. *Spondyloarthritides*. Oxford UP 1998;17-27.
-

19. Gonzales-Roces S, Alvarez MV, Gonzalez S, Dieye A, Makni H et al. HLA-B*27 polymorphism and worldwide susceptibility to ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens* 2000;49:116-23.
20. Seurnick K, Baxter-Lowe LA. Novel polymorphism detected in exon 1 of HLA-B*2713. *Tissue Antigens* 1998;52:187-9.
21. Taurog J. HLA-B27 subtypes, disease susceptibility, and peptide binding specificity. In Calin A, Taurog J, Eds. *Spondylarthritides*. Oxford UP 1998;267-73.
22. Garcia F, Galocha B, Villadangos JA, Lamas JR, Albar JP, Marina A, et al. HLA-B27 (B*2701) specificity for peptides lacking Arg2 is determined by polymorphism outside the B pocket. *Tissue Antigens* 1997;49:580-7.
23. Fraile A, Martin J, Lopez-Nevot MA, Mataran L, Nieto A. HLA-B*27 subtyping by PCR-RFLP in Spanish patients with ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens* 1998;52:492-6.
24. Lopez-Larrea C, Ed. *HLA-B27 in the development of spondylarthropathies*. Austin Texas: Chapman Hall 1996; 45:234-239.
25. Lopez-Larrea C, Gonzalez S, Martinez-Borra J. The role of HLA-B27 polymorphism and molecular mimicry in spondylarthropathy. *Mol Med Today* 1998;4:540-9.
26. Marsh SGE. Nomenclature for the factors of the HLA system, update October/November 1999. *Tissue Antigens* 2000;55:191-4.

27. Mason PM, Parham P. HLA class I region sequences, 1998. *Tissue Antigens* 1998;51:416-7.
 28. Khan MA, van der Linden SM: Ankylosing spondylitis and other spondyloarthropathies. *Rheum Dis Clin North Am* 1990;16:551.
 29. Breur-Vriesendorp BS, Dekker-Saeys AJ, Ivanyi P: Distribution of HLA-B27 subtypes in patients with ankylosingspondylitis: the disease associated with a common determinant of the various B27 molecules. *Ann Rheum Dis* 1987; 46:353.
 30. López-Larrea C, Sujirachato K, Mehra NK et al: HLA-B27 subtypes in Asian patients with ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens* 1995;65:165.
 31. Disotell Tr. Human evolution: The southern route. *Curr Biol* 1999;9:925.
 32. Gonzalez-Roces S, Brautbar C, Pena M, Dominguez O, Coto E et al : Molecular analysis of HLA-B27 haplotypes in caucasoids : Frequencies of HLA-B27/HLA-Cw in Jewish and spanish populations. *Hum Immunol* 1994; 41:127.
 33. Khan MA: Prevalence of HLA-B27 in world populations. In Lopez-Larrea C. HLA-B27 in the development of spondylarthropathies. Austin, TX: Landes, Springer1997;1-16.
 34. D'Amato M, Fiorillio MT, Carcassi C, Mathieu A, Zuccarelli A, Bitti PP, Tosi R, Sorrentino R: Relevance of residue 116 of HLA-B27 in determining susceptibility to ankylosing spondylitis. *Eur J Immunol* 1995;25:3199.
-

35. Martinez- Borra. J, Gonzalez.S, Lopez-Vaquez. A, Gelaz. M.A, Bruges J, Kanga U et al: HLA-B27 Alone Rather than B27-Related Class I Haplotypes contributes to Ankylosing Spondylitis susceptibility. *Human immunology* 2000; 61:131–139.
 36. Cavalli-Sforza LL, Menozzi P, Piazza A: The history and geography of human genes. New York: Princeton University Press, 1994.
 37. Crawford MH. The origin of native Americans evidence from anthropological genetics. Cambridge university Press, 1998.
 38. Disco tells TR. Human evolution: The southern route. *Curr Biol* 1999;9: 925.
 39. Hilddebrand WH, Domena J , Shen SY et al. The HLA B7Qui antigen is encoded by a new subtype of HLA B27 (B*2708). *Tissue Antigens* 1994; 44: 47–51.
 40. Armas JB, Gonzalez S, Martinez Borra et al. Susceptibility to ankylosing spondylitis is independant to Bw4 and Bw6 epitopes of HLA B27 allele. *Tissue Antigens* 1999;53:237–43.
 41. Khan MA. HLA B27 polymorphism and assoiation with disease. *J Rheumatol* 2000;27:1110–4.
 42. Gonzalez-Roces S, Alvarez MV, Gonzalez S, Dieye A, Makni H et al. HLA B27 polymorphism and worldwide susceptibility to ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens* 1997;49:116.
-

43. K Ben Radhia, S Ayed-Jendoubi et al. Distribution des sous types HLA B27 en Tunisie et leur association avec la spondylarthrite ankylosante. Rev de rhum 2008 ;75 :250-53.