

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



Faculté des Sciences
Département de Biologie

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

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

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Génétique**

Rôle du gène *SAA1* dans le développement de l'amylose rénale AA
secondaire à la Fièvre Méditerranéenne familiale dans la population
Algérienne- Etude cas/témoins

Présenté par :

- **Haddadi Baya**
- **Tarzout Hadjer**
- **Zebboudj Hadjer**

Soutenu le : /07/2021, devant le jury :

Présidente : HALLADJ Fatima..... MCB (UMBB)
Promotrice : AIT-IDIR Djouher..... MCA (UMBB)
Examinatrice : REMANA Soumia..... MAA (UMBB)

Promotion 2020/2021

Remerciements :

Au tout puissant Allah pour nous avoir donné la santé, la volonté,

La force, et le courage de mener ce travail à bien.

à l'issue de ce travail, nous voudrions adresser notre profonde

Reconnaissance et nos sincères remerciements au:

Dr. D. Aït Idir de nous avoir fait l'honneur de nous encadrer.

*Merci à vous d'avoir accepté de diriger ce travail .merci pour votre perfectionnisme,
soutien, disponibilité, et gentillesse .merci pour votre sympathie et d'avoir partagé vos
compétences avec nous tout au long de ces mois malgré la situation de notre pays avec la
pandémie de corona*

Nous remercions également les membres du jury de nous avoir fait

Nos plus sincères remerciements à tous nos amis pour leur précieux

Soutien tout au long de ce travail

Merci à tous et à toutes.

Dédicace

Du profond de mon cœur je dédie ce travail

A ma chère mère

Quoi que je fasse ou quoi que je dise, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour le soutien et l'amour que vous m'avez porté depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours, que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices .Puisse dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A la mémoire de mon père

Ce travail est dédié à mon père qui nous a quitté ça fait 7 ans, qui a toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, et la personne méticuleuse. Grâce à lui, j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour lui. Puisse dieu, faire en sorte que ce travail porte son fruit et le garde dans son vaste Paradis.

A mon mari Rafik

Pour l'amour et l'affection qui nous unissent, tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu, je prie dieu le tout puissant de préserver notre attachement mutuel, et d'exaucer tous nos rêves.

A mes frères et sœurs

A mes très chers frères, Meziane et sa mariée Anissa, Marzak et sa mariée Nassima et surtout je n'oublierai jamais, mon frère Momoh qui a toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager moralement et physiquement. Puisse dieu, vous donner santé et bonheur et je remercie aussi mes beaux-frères : Salim, Samir et Mohamed.

A mes chères sœurs, Hakima et son mari kamel qui m'ont aidé dans ma formation d'étude, Imane et son mari Mohamed, assia, narimane, mouni et warda et ma belle-sœur Nassima, mes nièces zineb, romaissa, amira, omar et rassim.

A ma belle famille

A ma belle-mère Malika et mon beau père Said qui m'ont poussé et encouragé durant la réalisation de mon mémoire de fin d'études, merci énormément pour votre soutien et respect. Puisse dieu vous protéger.

A mes amies

fatma, lynda, sabrina et safia, je ne peux pas trouver les justes et S'incères mots, pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs.

Baya

Dédicace

*A la mémoire de mon cher papa
et ma très chère maman*

*Papa : tu es pour moi un exemple de courage, de persévérance et d'honnêteté dans
l'accomplissement du travail bien fait, j'aurais souhaité que tu sois parmi nous et que tu
sois fier de moi.*

*Maman : tu as tout donner pour ma réussite. Ton affectation et ton attention à mon égard
n'ont pas d'égale. Puisse dieu le tout puissant te donner une longue vie pour goûter au
fruit de ton labeur.*

*Puisse ce mémoire m'offrir l'occasion de me rendre digne de vos conseils, de votre estime et
votre confiance.*

*A mon frère Mustapha et mes chers sœurs : Adra et son mari Samir , Hanane et son mari
khaled, Amina et son mari Mohamed et Fatima zahra, pour lesquels je souhaite tout le
bonheur du monde et j'oublierai jamais mes petits neveux et nièces : jaoud, ayoub,
haythem, rawad, farah, tasnim et lodjain .*

*A toute ma famille, amies et collègues, à tous ceux qui sont dans mon cœur dont je n'ai pas
cité le nom.*

Hadjer

Dédicace

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

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

*A mon grand -père * Ahmed * que dieu te garde et te préserve pour nous.*

*A la mémoire de mes grands- mères *Tata baya* et* Mani* que dieu les garde dans son vaste paradis, vous resterez toujours dans mon cœur.*

*A vous mes deux chères sœurs *Rania* et *Hiba* et à mon frère *Badi* merci pour votre encouragement, et conseils que vous m'avez donné, que dieu vous garde pour moi.*

A mes meilleures adorables chères copines: Samaa*, *Bouchera*,*Maria *, *Ahlem*, *Chahinez * et mes belles cousines : *Amira*, *Ikram * pour tous les moments qu'on a passé ensemble, vous êtes les meilleures.*

Hadjer

Liste d'abréviations :

- AA: Amylose A
- ADN: acide désoxyribonucléotide
- dNTP: désoxynucleoside triphosphate
- FMF: fièvre méditerranéenne familiale
- IL-1: Interleukine-1
- IL-6: Interleukine-6
- Ile: Isoleucine
- MAI: Maladies Auto-Inflammatoires
- MEFV: MEditerranean FeVer
- PCR: Polymerase-Chain Reaction
- RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
- SNP: Single Nucleotidic Polymorphism
- T.B.E : Tris- Borate- EDTA
- TNF- α : Tumor Necrosis- Factor α .
- Ban I :
- Bcl I :

Liste des figures

Figure 1 : Propagation de la FMF à travers le monde.....	04
Figure 2 : Schéma du gène <i>MEFV</i> et les différentes mutations liées.....	06
Figure 3 : Inflammation chronique et formation des dépôts amyloïdes.....	09
Figure 4 : Carte schématisée de la famille des gènes <i>SAA</i>	10
Figure 5 : Les variations de séquence des gènes <i>SAA1</i> et <i>SAA2</i>	11
Figure 6 : Principe schématisé de la technique PCR.....	14
Figure 7 : Principe schématisé de la technique de RFLP.....	15
Figure 8 : Séquence de l'exon 3 du gène <i>SAA1</i> amplifiée (http://genome.ucsc.edu/).....	16
Figure 9 : Présentation schématique d'une électrophorèse sur gel d'agarose.....	19
Figure 10 : Electrophorèse des produits d'amplification sur gel d'agarose (1,5%) chez les individus sains.....	21
Figure 11 : Les différents profils de restriction en fonction du génotype au locus <i>SAA1</i>	22
Figure 12 : Electrophorèse sur gel d'agarose (2,5%) pour les produits RFLP des individus sains.....	24
Figure 13 : Electrophorèse sur gel d'agarose (2,5%) pour les produits RFLP des individus sains.....	25
Figure 14 : Electrophorèse sur gel d'agarose (2,5%) pour les produits RFLP des individus sains.....	26
Figure 15: Histogramme montrant les proportions des différents génotypes chez les trois groupes d'individus.....	29
Figure 16 : Électrophorèse sur gel d'agarose (2%) pour les produits d'amplification des individus sains par l'enzyme de restriction <i>Bcl I</i> .	
Figure 17 : Électrophorèse sur gel d'agarose (2%) pour les produits d'amplification des individus sains par l'enzyme.	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Représentation des trois haplotypes et trois isoformes de la SAA1.....	10
Tableau 2 : Composition du milieu réactionnel.....	17
Tableau 3 : Conditions d'amplification.....	17
Tableau 4 : Les fréquences génotypiques des témoins.....	27
Tableau 5 : Les fréquences alléliques des témoins.....	27
Tableau 6 : Etude comparative du génotype et leur fréquence.....	28



Sommaire

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Données Bibliographiques.	
I. La fièvre méditerranéenne familiale.....	3
1. Épidémiologie	3
2. Signes cliniques de la FMF.....	4
3. Génétique de la FMF.....	5
II. L'amylose rénale de type AA : Complication de la FMF.....	7
1) Définition de l'amylose AA.....	7
2) l'amylose de la FMF	8
a. Mécanisme moléculaire de l'amylose rénale de type AA.....	8
b. Le gène <i>SAA1</i> et le développement de l'amylose	9
b.1 Le gène de la <i>SAA1</i>	9
b.2 Polymorphismes du gène <i>SAA1</i> et leur implication dans l'amylose AA	10
b.3 Rôle du gène <i>SAA1</i> dans le développement de l'amylose AA.....	12
Chapitre II : Partie expérimentale	
II. Matériel et méthodes	13
1) Individus	13
2) Recherche de polymorphismes C3010T et C2995T par PCR –RFLP.....	13
2.1) amplification d'ADN par PCR	14
2.2) Technique de PCR-RFLP pour la détection des polymorphismes	15
2.3) Application de la PCR-RFLP pour la recherche des polymorphismes du gène de la <i>SAA1</i>	16
2.3.1) Composition du milieu réactionnel de la PCR	17
2.3.2) Conditions d'amplification.....	17
2.3.3) Réactions de digestion des produits PCR.....	17
2.3.4) Électrophorèse des acides nucléiques.....	18
3) Comparaison entre les individus sains et les patients FMF avec sans amylose AA.....	19
4) Traitement statistique.....	19

Chapitre III : Résultats et discussion

III. Résultats et discussion	21
III.1 Résultats	21
1) Amplification de la région de l'exon 3 contenant les deux polymorphismes	21
2) Polymorphismes du gène SAA1	21
2.1) Génotypes identifiés chez les groupes des témoins.....	22
2.2) Fréquence génotypique et allélique	27
3) Étude comparative entre les individus sains et les patients FMF avec et sans amylose	28
3.1) Fréquence génotypique	28
3.2) Fréquence allélique	30
IV. Discussion	31
Conclusion	33

Références bibliographiques

Annexes



Introduction

Introduction

Introduction

La fièvre méditerranéenne familiale (FMF, OMIM 249100) est considérée comme le prototype des maladies auto-inflammatoires. La notion de l'auto-inflammation a été créée pour caractériser un groupe de pathologies liées à un déficit de l'immunité innée par analogie aux maladies auto-immunes liées à un déficit de l'immunité acquise.

Comme son nom l'indique, la FMF touche principalement les populations du pourtour Méditerranéen. Cependant, bien qu'elle soit répandue dans le monde entier, le nombre de malades reste nettement plus important dans les populations Arménienne, Juive sépharade, Turque et Arabe (Ben-Chetrit and Touitou, 2009).

Sur le plan clinique, la FMF est caractérisée par des crises fébriles brèves récurrentes, souvent accompagnées d'inflammations au niveau des séreuses, à l'origine des douleurs abdominales, thoraciques, des arthralgies et des myalgies (Sohar *et al.*, 1967; Vinceneux and Pouchot, 2005b). La complication la plus grave de la FMF est l'amylose rénale de type AA qui évolue vers une insuffisance rénale terminale et par conséquent le décès du patient en absence de tout traitement (Grateau *et al.*, 2005).

Le gène responsable de la FMF est le *MEFV* (*M*editerranean *F*e*V*er), identifié en 1997 sur le bras court du chromosome humain (The French FMF Consortium *et al.*, 1997; Les mutations qui conduisent à la FMF sont surtout localisées dans l'exon 10 du gène *MEFV* (The French FMF Consortium *et al.*, 1997; The International FMF Consortium, 1997).

L'amylose AA est de façon générale déterminée par la durée et l'intensité de l'inflammation chronique à l'origine d'une élévation soutenue du taux de la SAA1 (*Serum Amyloid A*), une protéine de la phase aigüe de la réaction inflammatoire (De Beer *et al.*, 1982; Babaoglu *et al.*, 2020; Sorić Hosman *et al.*, 2021). Cependant, des facteurs environnementaux et génétiques semblent intervenir. En effet, le gène *MEFV* est l'un des facteurs de risque génétique pour le développement de l'amylose AA, en particulier l'homozygotie pour les variantes pathogènes p.M694V et p.M694I situés dans l'exon 10 (Delibaş *et al.*, 2005; Akar *et al.*, 2012; Ait-Idir *et al.*, 2017).

L'autre facteur de risque est le gène qui code pour la protéine SAA1. Dans l'exon 3 du gène *SAA1*, deux polymorphismes C2995T et C3010T définissent trois génotypes : SAA1 α/α (SAA1.1/1.1), SAA1 β/β (SAA1.5/1.5) et SAA1 γ/γ (SAA1.3/1.3). Le génotype SAA1 α / α a été lié au développement de l'amylose rénale chez les patients Caucasiens (Delibaş *et al.*, 2005;

Introduction

Atoyán *et al.*, 2016), alors que le génotype γ/γ a été lié au développement de cette complication rénale chez les patients Japonais (Migita *et al.*, 2013; Okuda, 2019).

En Algérie, aucune donnée relative à l'implication du gène *SAAI* dans le développement de l'amylose rénale AA n'a été rapportée. Ainsi, l'objectif de cette étude vise à rechercher le rôle du gène *SAAI* dans

Le développement de cette complication chez des patients FMF Algériens. Pour cela, l'étude est organisée de la manière suivante :

- Identification des génotypes dans le locus *SAAI* par la recherche des polymorphismes C2995T et C3010T chez un groupe d'individus sains.
- Comparaison entre les individus sains et les patients FMF avec et sans amylose AA.

Chapitre I

Données

Bibliographiques

I. La Fièvre Méditerranéenne Familiale

La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) également connue sous le nom de la maladie périodique est une maladie auto-inflammatoire héréditaire à transmission autosomique récessive. La FMF a été décrite pour la première fois en 1908 par Janeway et Mosental et le nom fièvre méditerranéenne familiale a été proposé en 1955 ou 1958 par Heller (Adwan, 2015).

1. Épidémiologie

La FMF est fréquente chez les individus originaires du bassin Méditerranéen, notamment les Juifs Sépharades, les Arméniens, les Turcs et les Arabes (El-Shanti *et al.*, 2006; Ben-Chetrit and Touitou, 2009).

Néanmoins, la répartition de la maladie a changé au cours des siècles. La FMF s'est propagée le long de toute la mer Méditerranée, notamment par les migrations des anciens marins.

Actuellement, une propagation de la maladie entre différentes régions géographiques autres que le bassin classique de la Méditerranée orientale est observée (Figure1) (Cerrito *et al.*, 2015).

La Turquie est probablement le pays qui compte le plus grand nombre de patients atteints de FMF dans le monde, la prévalence est de 1/400 à 1/1000. En Israël, la prévalence est légèrement supérieure à 1/1000 (Ben-Chetrit and Touitou, 2009). La fréquence des porteurs a été estimée de 1/5 à 1/6, 1/5 et 1/7, chez les Juifs sépharades, les Turcs et les Arméniens respectivement (Cerrito. *et al.*, 2015). Le nombre croissant de cas signalés dans les ethnies occidentales et orientales permet d'émettre l'hypothèse que plus de 200000 personnes dans le monde sont touchées par la FMF (Cerrito. *et al.*, 2015).

2. Signes cliniques de la FMF

Sur le plan clinique, la FMF évolue par des accès récidivants de fièvre, avec inflammation aiguë des séreuses (péritoine, plèvre, synoviales articulaires). L'apparition des premiers symptômes de la maladie se fait généralement très tôt dans la vie du malade. Les poussées commencent avant l'âge de 20 ans dans 90 % des cas, et l'âge de début est en moyenne de 4 ans (Ben-Chetrit and Levy, 1998).

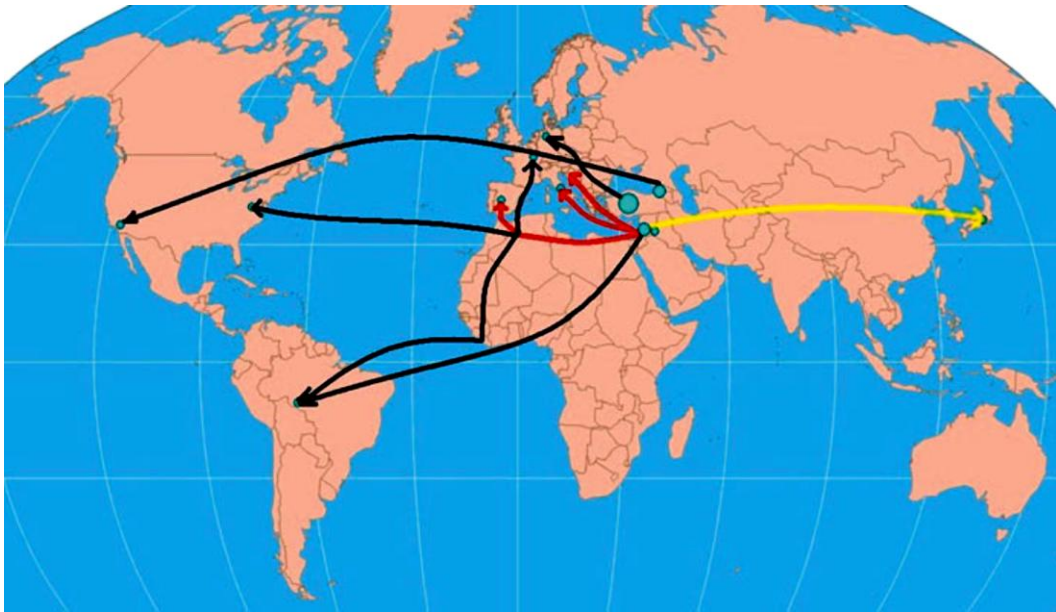


Figure 1 : Propagation de la FMF à travers le monde; Cerrito. *et al.*, 2015). (Flèches rouges : propagation des mutations du *MEFV* à travers l’ancien monde ; Flèche jaune : route de la soie ; Flèches noires : propagation de la FMF dans le nouveau monde).

- a. **La fièvre** : apparaît de manière plus ou moins fulgurante en fonction des crises. Elle se situe en général entre 38,5 et 39° C, et peut atteindre 40° C. Celle-ci est accompagnée de frissons. Elle dure en moyenne de 48 à 72 heures (Koné-Paut, 2008).
- b. **Les douleurs abdominales** : ce sont les manifestations cliniques les plus fréquentes accompagnant la fièvre. On les retrouve dans 90 % des crises chez l’enfant, leur incidence diminuant à l’âge adult (Vinceneux and Pouchot, 2005b; Koné-Paut, 2008)
- c. **Les douleurs thoraciques** : en fréquence, viennent ensuite les douleurs thoraciques qui touchent 50% des cas (par inflammation de la plèvre qui recouvre les poumons et/ou péricarde qui recouvre le cœur) (Vinceneux and Pouchot, 2005b; Koné-Paut, 2008).
- d. **Les atteintes articulaires** : L’atteinte articulaire concerne 50 à 70 % des malades, touchant généralement une seule articulation (Georgin-Lavialle *et al.*, 2018).
- e. **Les myalgies** : Environ 20% des patients présentent des myalgies au cours de la FMF (Langevitz *et al.*, 2000).

3. Génétique de la FMF

Le gène responsable de la FMF est le gène MEFV (MEditerraneanFeVer). Il est localisé sur le bras court du chromosome 16 (16p13.3), de taille environ 14 kb et comprend 10 exons (The French FMF Consortium et al., 1997;).

Le gène MEFV code pour la pyrine (ou encore marénostrine), qui est une protéine de 781 acides aminés qui s'exprime principalement dans les cellules de l'immunité innée, en particulier les polynucléaires neutrophiles, les éosinophiles, les cellules dendritiques et les fibroblastes synoviaux.

Environ 300 mutations différentes du gène MEFV ont été identifiées, réparties le long du gène (Figure 2). Cependant, seuls les variantes suivants ont été classés comme pathogènes : p.M680I (c.2040G>A, c.2040G>C), p.M694V (c.2080A>G), p.M694I (c.2082G>A) et p.V726A (c.2177T>C) (Van Gijn et al., 2018).

Les cinq mutations fondatrices, p.V726A, p.M694V, p.M694I, p.M680I (exon 10) et p.E148Q (exon 2), représentent 74% des chromosomes FMF chez les groupes ethniques à risque (Arméniens, Arabes, Juifs et Turcs) (Touitou, 2001).

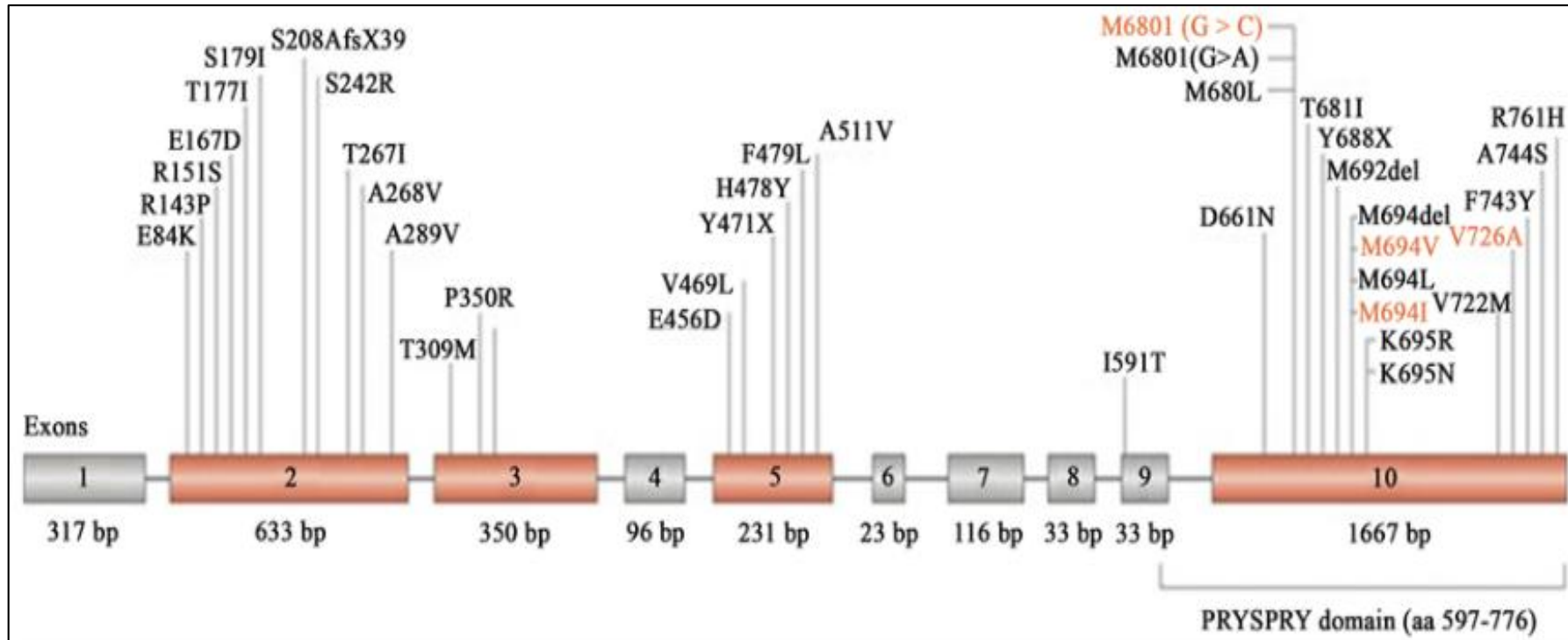


Figure 2 : Schéma du gène *MEFV* et les différentes mutations liées

II. L'amylose rénale de type AA : complication de la FMF

1) Définition de l'amylose AA

Les amyloses constituent un groupe hétérogène de maladies liées au dépôt extracellulaire de protéines fibrillaires insolubles dans les tissus (Jaccard and Ferman, 2004).

L'amylose AA (Amyloid Associated) est associée à trois groupes de pathologies pouvant entraîner une élévation prolongée des protéines de la phase aiguë de l'inflammation (Stojanovic et al., 2017):

- Les maladies inflammatoires chroniques,
- Les maladies infectieuses chroniques,
- Les cancers.

Dans l'amylose AA, la protéine amyloïde est la protéine AA, qui dérive par clivage de la SAA1, une des protéines majeures de la réaction inflammatoire. Ainsi, l'amylose AA est dite amylose inflammatoire (Stojanovic *et al.*, 2017).

L'évolution clinique de l'amylose rénale AA se fait en 4 phases successives : préclinique, protéinurique, néphrotique et enfin urémique (Vinceneux and Pouchot, 2005a).

La phase préclinique : Est définie par l'existence de dépôts amyloïdes latents dans le parenchyme rénal. La recherche de protéinurie (la présence de protéines dans l'urine, qu'elle soit physiologique ou pathologique) est négative et le diagnostic ne pourrait être fait que par un examen histologique rénal systématique (Vinceneux and Pouchot, 2005a).

La phase protéinurique : la phase préclinique est suivie d'une phase clinique dont le signe révélateur est essentiellement la protéinurie. Cette phase est caractérisée par l'existence d'une protéinurie asymptomatique modérée, découverte lors d'un examen de dépistage systématique. Sa durée est en moyenne de 3 à 4 ans (Vinceneux and Pouchot, 2005a)

La phase néphrotique : la néphropathie amyloïde évolue naturellement vers le syndrome néphrotique et l'insuffisance rénale chronique, dans un délai de deux à dix ans (Stojanovic *et al.*, 2017).

La phase urémique : correspondant à l'apparition d'une insuffisance rénale qui survient après un ou deux ans d'évolution, en moyenne. La dégradation de la fonction rénale progresse ensuite rapidement, pour atteindre son stade terminal 12 à 18 mois plus tard. La durée de survie est en moyenne de 7 ans après l'apparition de la protéinurie et de 3 ans après celle de l'insuffisance rénale avant l'ère de l'hémodialyse (Vinceneux and Pouchot, 2005a).

2) L'amylose de la FMF

L'amylose AA est la principale complication de la FMF et la plus grave. Avant l'ère du traitement par la colchicine, la prévalence de l'amylose AA était de 25 à 30 % conduisant au décès dans 90 % des cas

avant l'âge de 40 ans (Georgin-Lavialle *et al.*, 2018). Même après introduction du traitement à la colchicine, l'amylose AA secondaire à la FMF était potentiellement létale (Akar *et al.*, 2012). Il s'agit d'une amylose multi-systémique qui atteint principalement les reins pour évoluer vers une insuffisance rénale terminale (Georgin-Lavialle *et al.*, 2018).

Certains cas de FMF se manifestent d'emblée par une amylose secondaire AA, en absence du tableau clinique ; il s'agit de la FMF de phénotype II. Ainsi, la FMF doit donc être suspectée devant une amylose secondaire inexpliquée (Soriano and Manna, 2012).

Le traitement continu par la colchicine, utilisé depuis 1972, prévient le développement de l'amylose dans la plupart des cas (Vinceneux and Pouchot, 2005a).

a. Mécanisme moléculaire de l'amylose rénale de type AA

Au cours de la FMF, la pyrine mutée est responsable du dérèglement du système immunitaire inné, c'est à dire de la première réponse immunitaire immédiate non spécifique. Cette anomalie se situe principalement au niveau des monocytes et polynucléaires neutrophiles et se traduit par la sécrétion anormale de certaines cytokines telles que l'IL-1 β , l'IL-6, l'IL18 et le TNF α (Notarnicola C *et al.*, 2002).

Dans l'hépatocyte, le gène de la SAA1 est principalement induit par les cytokines pro-inflammatoires : IL-1 β , IL-6 et le TNF- α (Figure 3) (Varan *et al.*, 2019; Brunger *et al.*, 2020). En effet, des taux de SAA1 maintenus élevés au cours d'un état inflammatoire chronique est une condition pour le développement de l'amylose AA (Brunger *et al.*, 2020). D'autres travaux récents ont montré que des niveaux constamment élevés de CRP pendant les phases de rémission peuvent être un facteur de risque important pour le développement de l'amylose rénale AA chez les patients adultes atteints de FMF (Varan *et al.*, 2019).

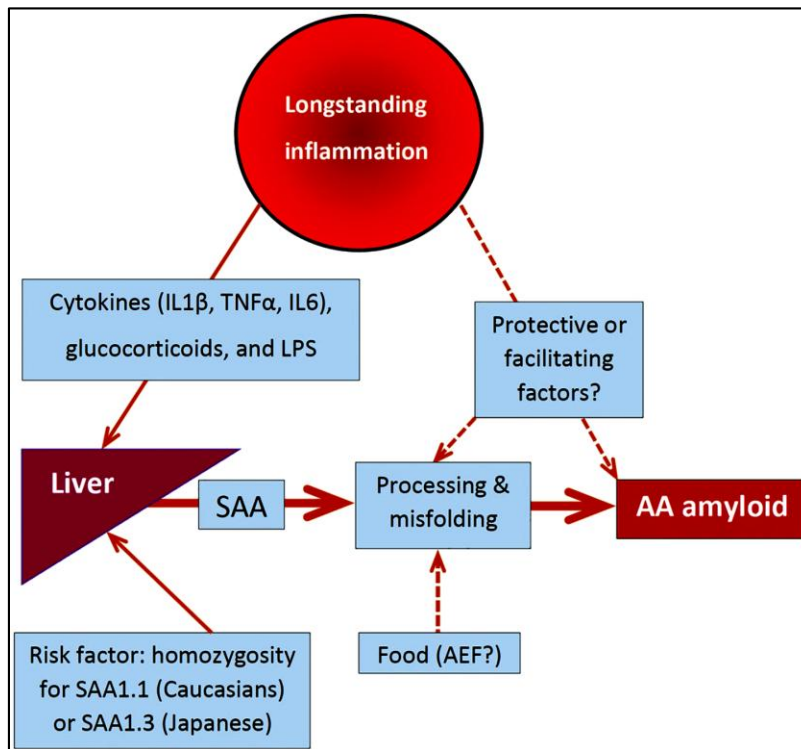


Figure 3 : Inflammation chronique et formation des dépôts amyloïdes (Brunger *et al.*, 2020) (AEF : *amyloïdenhancing factor*).

Cependant, au cours des rhumatismes inflammatoires de longue durée et sévères, pas plus de 10 à 30 % des patients développent une amylose. [La question se pose de savoir s'il existe des facteurs protecteurs chez ces patients ou encore des facteurs autres que la SAA qui faciliteraient le développement de l'amylose AA (Brunger *et al.*, 2020)].

b. Le gène *SAA1* et le développement de l'amylose AA

b.1 Le gène de la *SAA1*

La protéine de la phase aigue, la serum-amyloid A ou SAA1 est le précurseur majeur du peptide amyloïde. SAA est le nom générique d'une famille de protéines de 103-104 acides aminés qui partagent des niveaux élevés d'homologie de séquence, mais sont codées par des gènes différents.

Chez l'homme, il existe 4 gènes *SAA* (*SAA1*, *SAA2*, *SAA3* et *SAA4*) cartographiés dans une région de 150 kb du chromosome 11p15 (Figure 4). Parmi ces gènes, *SAA1* et *SAA2* codent pour les isoformes inductibles de la SAA : *SAA1* et *SAA2*. Le gène *SAA4* code pour une protéine *SAA* exprimée de manière constitutive, et *SAA3* est un pseudogène (Sellar *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 2019).

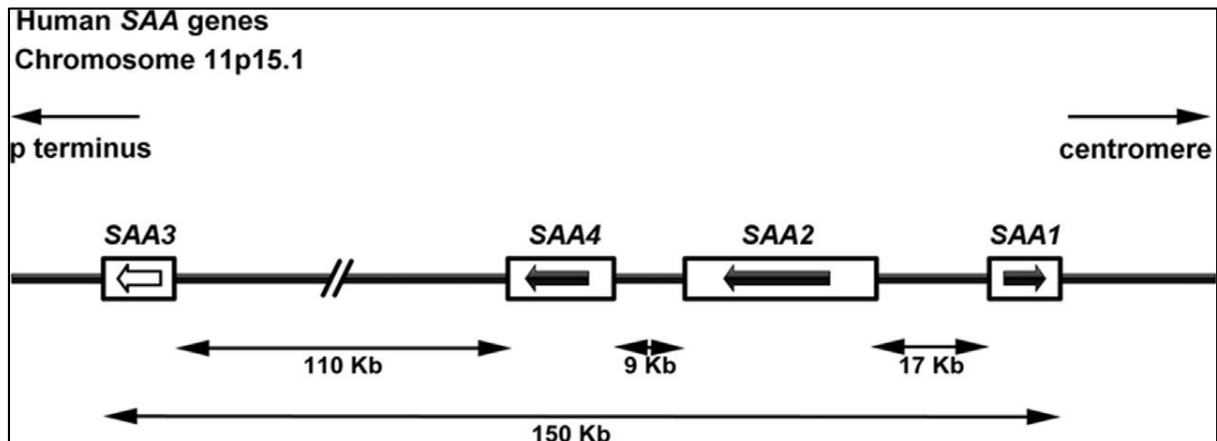


Figure 4 : Carte schématisée de la famille des gènes *SAA* (Zhang *et al.*, 2019)

b.2 Polymorphismes du gène *SAA1* et leur implication dans l'amylose AA

Des polymorphismes bi-alléliques (SNP) ont été identifiés dans les régions codantes et non codantes du gène *SAA1* humain (Figure 5).

La présence des deux polymorphismes, C2995T et C3010T, dans l'exon 3 du gène *SAA1* définissent au moins trois variants alléliques :

- SAA1 α (SAA1.1).
- SAA1 β (SAA1.5).
- SAA1 γ (SAA1.3).

Le gène *SAA2* présente deux variants alléliques, SAA 2.1 et SAA 2.2 (Uhlar and Whitehead, 1999). Chacun des variants *SAA1* code pour une isoforme de la SAA1 qui lui correspond et dont les variations concernent les acides aminés en positions 52 et 57 (Tableau I) (Sun and Ye, 2016).

Tableau I : Les trois haplotypes et trois isoformes de la SAA1

Allèles au niveau du locus SAA1	Haplotypes	Isoformes de la SAA1
SAA1 α (SAA1.1)	2995T- 3010C	SAA1.1 : Val52- Ala57
SAA1 β (SAA1.5)	2995C- 3010T	SAA1.5 : Ala52- Val57
SAA1 γ (SAA1.3)	2995C- 3010C	SAA1.3 : Ala52- Ala57

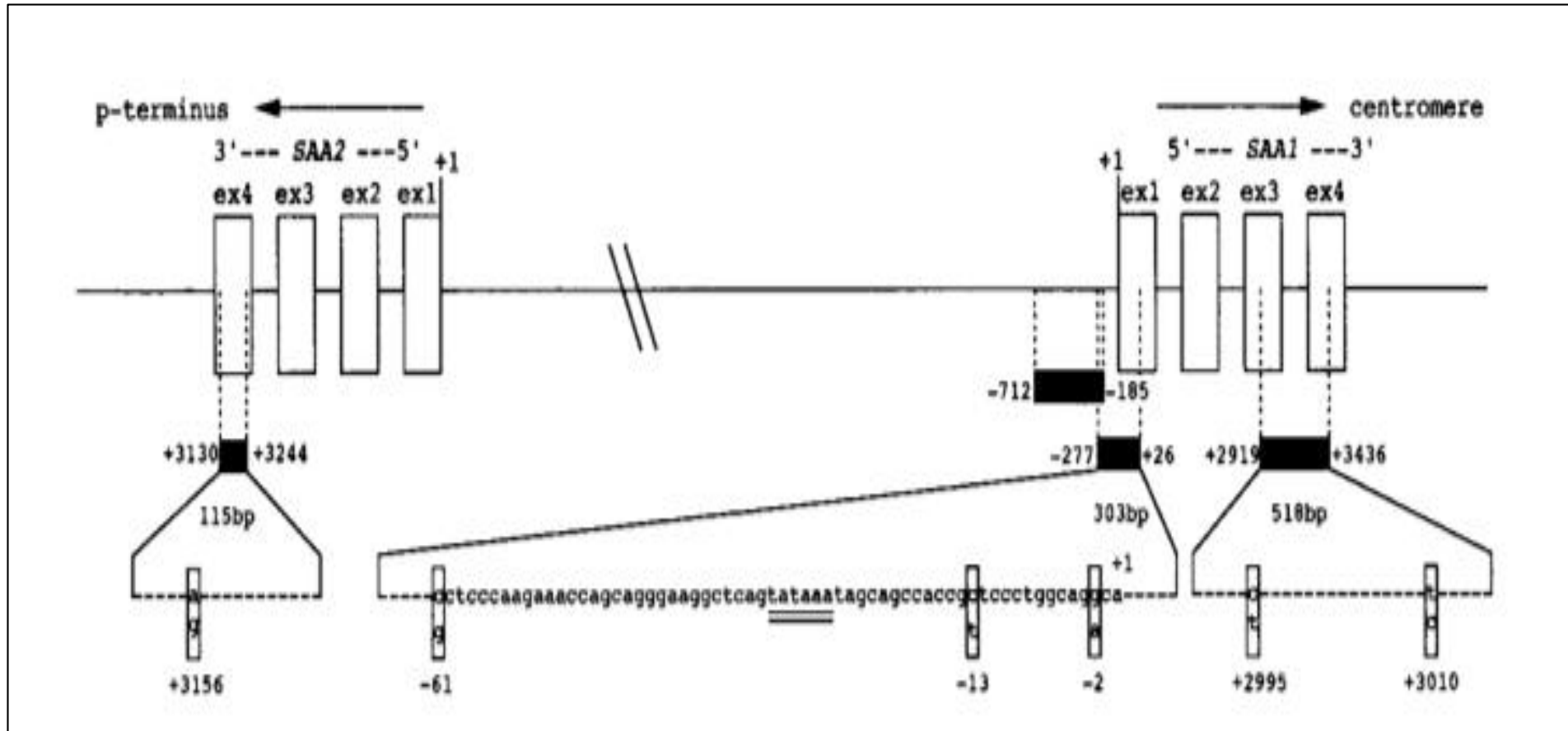


Figure 5 : Les variations de séquence des gènes SAA1 et SAA2 (Moriguchi *et al.*, 2001)

(ex : exons ; rectangles pleins : produits PCR ; les sites des SNP sont encadrés)

b.3 Rôle du gène *SAA1* dans le développement de l'amylose AA

Chez les Caucasiens, l'homozygotie pour *SAA1.1* est associée à une augmentation significative du risque d'amylose AA (Atoyan *et al.*, 2016). [Bien que l'homozygotie pour *SAA1.1* soit signalée comme étant un facteur de risque génétique pour le développement de l'amylose AA chez les patients atteints de la FMF et chez les Caucasiens atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR)]. Chez les patients Japonais atteints de PR, c'est l'allèle *SAA1.3*, et non l'allèle *SAA1.1* qui est étroitement associé à l'amylose AA (Obici *et al.*, 2009). L'autre polymorphisme situé dans la région flanquant 5' de la séquence *SAA1*, -13T/C, a été corrélé avec la présence de l'amylose AA chez les patients japonais atteints de PR (Yamada *et al.*, 2003).

Les allèles *SAA1* diffèrent par les deux SNP situés dans l'exon 3, qui entraînent des changements d'acides aminés aux positions 52 et 57, respectivement (Tableau I). Il a été proposé que la présence d'une alanine en position 57 puisse conférer à *SAA1.1* une sensibilité accrue à la protéolyse par les métalloprotéases favorisant la libération des peptides N-terminaux et expliquant la plus grande influence de cette isoforme sur le développement de l'amylose AA (van der Hilst, 2011).

Chapitre II

Partie

expérimentale

Matériel et méthodes

Cette étude pratique a été réalisée au laboratoire de biologie moléculaire (FS, UMBB).

Cette étude a pour objectif de rechercher une possible implication des polymorphismes C3010T et C2995T situés dans l'exon 3 du gène de la *SAAI* dans le développement de l'amylose rénale de type AA secondaire à la FMF dans la population Algérienne.

Cette recherche a été réalisée par la technique de PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) utilisant les enzymes de restriction *Bcl I* et *Ban I*.

1) Individus échantillonnage

Cette étude a impliqué 50 individus sains (témoins) recrutés de la population générale, dans les centres de transfusion sanguine des hôpitaux de Rouïba et d'Ain-Taya (Alger).

Les témoins ont été sélectionnés sur la base de l'absence de mutation dans le gène *MEFV*. En effet, aucune mutation n'a été identifiée dans les exons 2, 3, 5 et 10 après séquençage (Ait-Idir *et al.*, 2017).

2) Recherche des polymorphismes C3010T et C2995T par PCR-RFLP

Le génotypage SNP (*Single Nucléotide Polymorphisme*) consiste à déterminer le nucléotide présent à une position précise du génome chez un ou plusieurs individus. Les SNP étant des marqueurs le plus souvent bi-alléliques, seuls deux nucléotides sont attendus (Tagu *et al.*, 2018).

Pour le génotype d'un polymorphisme SNP déjà connu, une réaction de PCR-RFLP (*Polymérase-Chain Réaction- Restriction Fragment Length Polymorphisme*) est souvent appliquée. Pour cela, les étapes suivies sont :

- Amplification de la région d'intérêt par PCR.
- Vérification des produits d'amplification par électrophorèse sur gel d'agarose ou de polyacrylamide.
- Digestion des produits d'amplification par l'enzyme de restriction appropriée.
- Visualisation des produits de restriction sur gel d'agarose ou de polyacrylamide.

2.1) Amplification d'ADN par PCR

L'amplification en chaîne par polymérisation (PCR) est une méthode de biologie moléculaire qui permet d'obtenir, par répllication *in vitro*, des copies multiples d'un fragment d'ADN à

partir d'un extrait. L'ADN matrice peut être un ADN génomique, un ADN codant obtenu à partir de l'ARN messager ou encore un ADN mitochondrial (REF).

C'est une technique pour obtenir une grande quantité d'une séquence d'ADN spécifique à partir d'un échantillon d'ADN. La réaction de PCR se déroule en trois étapes: dénaturation, hybridation et élongation (Figure 6). Les produits de chaque étape de synthèse servent de modèle pour les étapes suivantes, ainsi une amplification exponentielle est obtenue.

Ainsi, le principe de l'amplification *in vitro* repose sur la répétition d'un cycle constitué de ces trois étapes:

- Une phase de dénaturation par la chaleur pour séparer les deux brins d'ADN (92-95°C).
- Une phase d'hybridation des amorces spécifiques de la région d'intérêt.
- Une phase d'extension par l'ADN polymérase à partir des amorces (72°C).

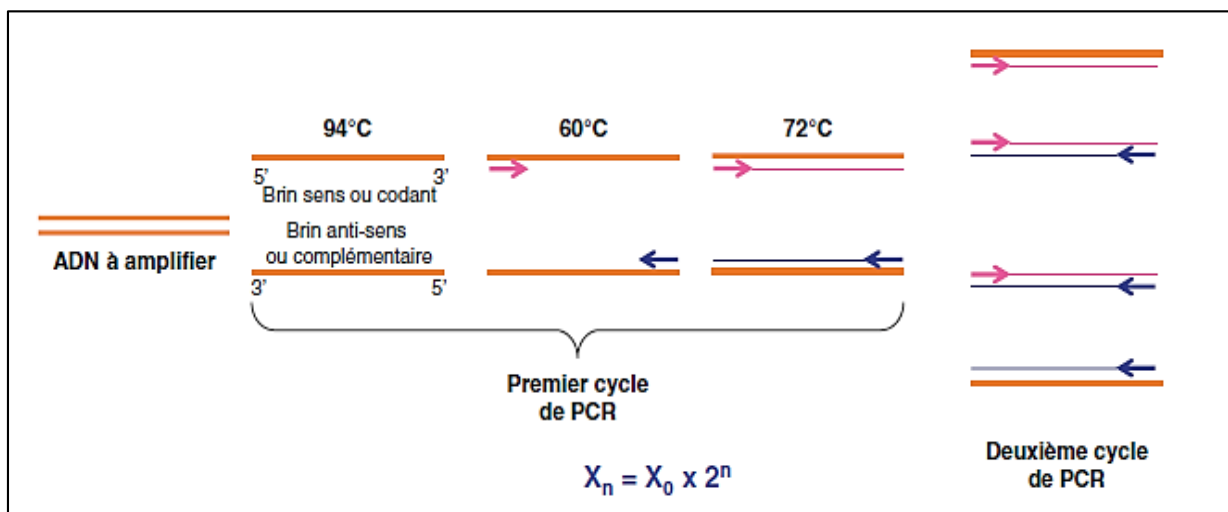


Figure 6 : Principe schématisé de la technique PCR (Collège des Enseignants d'Immunologie, 2014)

Le mélange réactionnel de la PCR comprend l'ADN cible, la *Taq* polymérase (ADN polymérase - ADN dépendante), les amorces et les quatre désoxyribonucléosides triphosphates (dNTP). Les tubes contenant le mélange réactionnel sont placés dans un appareil à PCR ou thermocycleur qui permet la programmation de la durée et de la succession des cycles ainsi que la température de chaque cycle (REF).

2.2) Technique de PCR- RFLP pour la détection des polymorphismes

La technique PCR-RFLP est l'association entre les techniques d'amplification et d'observation de polymorphismes sur des fragments digérés par des enzymes de restriction. Ce sont des endonucléases d'origine bactériennes qui ont la particularité de couper les molécules d'ADN bicaténaire à des sites spécifiques de la séquence. Chaque enzyme de restriction reconnaît et coupe une séquence nucléotidique donnée. De ce fait, pour un polymorphisme donné, il y a création ou abolition d'un site de restriction pour une enzyme donnée (Tagu *et al.*, 2018).

Il est possible d'amplifier par PCR un segment d'ADN spécifique de la région d'intérêt. Le produit d'amplification est ensuite soumis à l'action d'une enzyme de restriction appropriée. L'analyse du profil de restriction permet de détecter des modifications du génome (Rasmussen, 2012). Le principe repose sur la comparaison de profils de coupure par les enzymes de restriction suite à l'existence d'un polymorphisme dans la séquence d'une molécule d'ADN par rapport à une autre (Figure 7) (Tagu *et al.*, 2018).

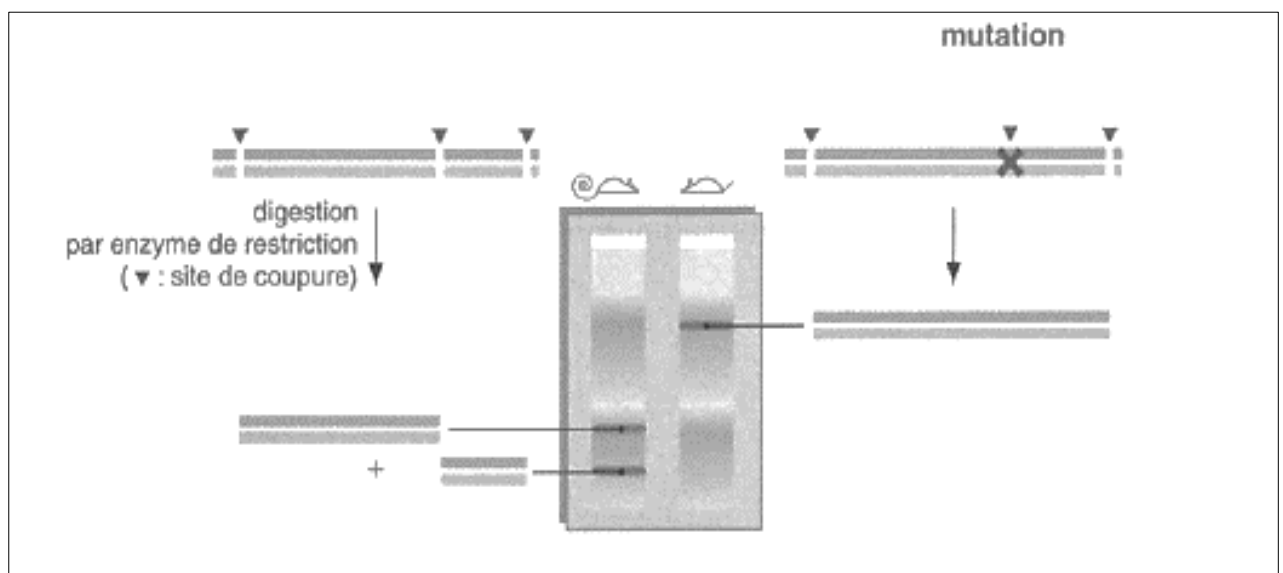


Figure 7 : Principe schématisé de la technique de RFLP (Tagu *et al.*, 2018).

2.3) Application de la PCR-RFLP pour la recherche des polymorphismes du gène de la SAA1

La région de l'exon 3 contenant les deux SNP, C3010T et C2995T (Figure 8) est d'abord amplifiée en utilisant les amorces suivantes (Moriguchi *et al.*, 2001) :

- 5'-GCC AAT TAC ATCGGC TCA G-3' (Amorce forward).
- 5'-TGG CCA AAG AAT CTC TGGAT-3' (Amorce reverse).

5'-GCCAATTACATCGGCTCAGACAAATACTTCCATGCTCGGGGGAACTATGATGCTGCC
 AAAAGGGGACCTGGGGGTGC/T(2995)CTGGGCTGCAGAAGC/T(3010)GATCAGGTA
 ACTGAGCTCCTGGGACGTTAGGGCTGGGTGAGCAGAGCTTGCCTGCCTTGGACAGTCAGGAG
 GGAGACGAGCTCCTTGTGGAGAAGTTAGAGGCTGCGGCCCTCCTCCTTGGCCCTCTCTC
 TGCCTCTGTGCTCAGTGTGAGGTCTGAGTGGATGGTAGGAGTGAGTGATTCCTCATCCTCC
 CTCTCTGGGTGCTGTTTCATCCAGCCTAGGGGTGCCAGCCTGGCTGAATGGGGTGGTGCC
 CAGTGTTCATCCCTCCTTCCCTTGGCCTTTCTGGGCTCCTCTCTGAGCCCTCCCTTGGAAC
 AGGGAGAATGGGAGGGTGGGCTATTGCTCACTGGCCTGATTATTAATCTCCTTCTTGCCT
 GCCTTGATTACAGCGATGCCAGAGAGAATATCCAGAGATTCTTTGGCCA-3'

Figure 8 : Séquence de l'exon 3 du gène *SAA1* amplifiée (<http://genome.ucsc.edu/>)

Les sites d'hybridation des 2 amorces sont soulignés sur la séquence ci-dessus et génèrent un fragment long de 517pb.

2.3.1) Composition du milieu réactionnel de la PCR

Le mélange réactionnel ayant servi aux réactions de PCR est donné dans le tableau II. La répartition du mélange réactionnel se fait à raison de 23µl par tube additionné de 2µl d'ADN à analyser (200- 300 ng/µl).

Parallèlement aux échantillons d'individus à analyser, un témoin négatif dans lequel l'ADN est remplacé par 2µl d'eau-ultra pure ayant servi au mélange réactionnel est utilisé.

Tableau II : composition du milieu réactionnel

Composants	Concentrations finales
Tampon de PCR (5X)	1X
MgCl ₂ (25mM)	1,5 mM
Dntp (10mM)	0,2mM
Amorce Forward	10-2 μM
Amorce Reverse	10 -2μM
<i>Taq</i> polymérase	0,5U
Eau –ultra pure	100μl

2.3.2) Conditions d'amplification

Les réactions de PCR se sont déroulées dans un Thermocycleur BioRAD. La température d'hybridation des amorces est de 59°C (Tableau III).

Tableau III : Conditions d'amplification

Dénaturation initiale		94°C, 7min
35 cycles	Dénaturation	94°C, 30s
	Hybridation	59°C, 45s
	Elongation	72°C, 30 s
Elongation finale		72°C, 7min

2.3.3) Réactions de digestion des produits PCR

Les réactions de RFLP ont été réalisées après vérification des produits d'amplification. La digestion des produits PCR a été réalisée conformément au protocole décrit par (Nakashima et al. 2003)

Pour chaque 5µl de produit PCR, sont additionnés:

- 1µl de tampon 10X de l'enzyme,
- 1µl d'enzyme de restriction (*Bcl* I ou *Ban* I).
- 3µl d'eau distillée stérile.

L'enzyme *Ban* I reconnaît la séquence : 5'-GGYRCC-3' (Y: C ou T ; R: A ou G)

L'enzyme *Bcl* I reconnaît la séquence : 5'-TGATCA-3'

Les réactions de digestion ont été réalisées en incubant les tubes à la température optimum des enzymes, *Bcl* I (55°C) et *Ban* I (38°C), pendant 1 à 3 heures.

Parallèlement, un témoin négatif dans lequel l'enzyme de restriction est remplacé par 1µl d'eau distillée a été incubé dans les mêmes conditions que le reste des échantillons analysés.

2.4) Électrophorèse des acides nucléiques

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une technique utilisée en biologie moléculaire pour permettre la séparation des molécules d'acides nucléiques en fonction de leur taille (Figure 9). En milieu légèrement basique, l'ADN se comporte comme une chaîne poly anionique. Placés dans un gel d'agarose ou de polyacrylamide et soumis à un champ électrique, des fragments d'ADN de taille différente migrent plus ou moins rapidement suivant leur masse moléculaire. La charge relative des fragments étant la même, c'est essentiellement l'effet de tamisage exercé par le gel qui influe sur la migration. La vitesse de déplacement est fonction de la taille des fragments exprimée en nombre de paires de bases (pb) ou en Kb (Kilo bases) (Wu *et al.*, 2013).

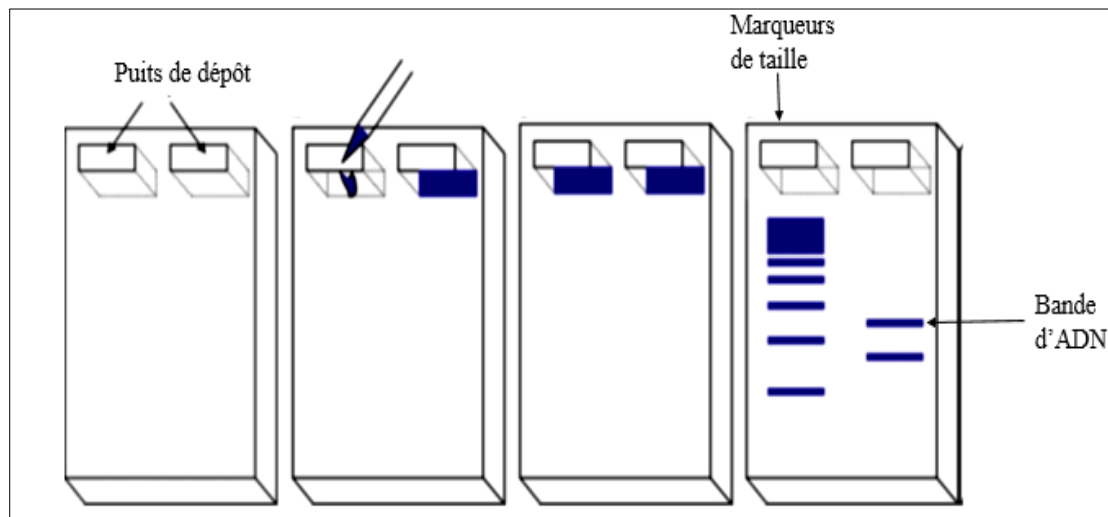


Figure 9 : Présentation schématique d'une électrophorèse sur gel d'agarose (Wu *et al.*, 2013)

Mode opératoire de l'électrophorèse sur gel d'agarose

La préparation des gels d'agarose se fait dans le tampon T.B.E 1X (Tris- Borate-EDTA) qui sert également de tampon de migration. Le bromure d'éthidium est ajouté au gel d'agarose en fusion à raison de 0,5 μ g/ml. Le gel est ensuite coulé dans une cuve horizontale, puis les peignes sont placés pour former les puits pour y déposer les échantillons d'ADN :

- La migration des produits PCR a été réalisée dans un gel d'agarose à 1,5%.
- La migration des fragments de restriction a été réalisée dans un gel d'agarose à 2,5%.

Les échantillons d'ADN analysés sont d'abord mélangés avec le tampon de dépôt (loading dye) (4 μ l d'ADN pour 1 μ l de tampon de dépôt), puis déposés dans le gel d'agarose.

La migration des échantillons analysés se fait parallèlement à un marqueur de poids moléculaire (100pb).

L'électrophorèse est réalisée dans un champ électrique de 85V pendant 30 minutes à 1heure. La révélation des bandes d'ADN se fait sous la lumière ultraviolette (trans-illuminateur) grâce à la fluorescence émise par le bromure d'éthidium. L'image est observée directement sur un écran d'ordinateur relié au trans-illuminateur.

3) Comparaison entre les individus sains et les patients FMF avec et sans amylose AA

Dans cette étude comparative, le groupe d'individus témoins a été comparé à deux groupes de patients :

- Avec amylose AA secondaire à la FMF (n= 30),
- Sans amylose AA (n= 21).

Les patients de ces deux groupes sont porteurs d'au moins une mutation dans l'exon 10 du gène *MEFV* (Ait-Idir *et al.*, 2017).

Il s'agit de comparer les fréquences génotypiques et alléliques au niveau du locus de la SAA1 afin d'identifier un génotype lié au développement de l'amylose rénale AA.

4) Traitement statistique

L'étude comparative est basée sur un traitement statistique par :

- Comparaison des proportions génotypiques et alléliques.

La comparaison des proportions entre les 3 groupes a été effectuée par le logiciel de traitement statistique, XL-STAT, version 2018. Dans le cas des petits échantillons ($n \leq 30$), la correction de continuité doit être appliquée. Cette correction a pour effet de réduire la différence observée entre les deux proportions.

Le seuil de risque retenu est $\alpha = 0,05$. Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme statistiquement significative.

Chapitre III

Résultats et

Discussion

Résultats et discussion

I. Résultats

1) Amplification de la région de l'exon 3 contenant les deux polymorphismes

Avant les réactions de digestion enzymatique, l'amplification de la région de l'exon 3 du gène *SAA1* contenant les deux SNP (C2995T et C3010T) est vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5%.

Pour les échantillons amplifiés, les résultats ont montré que la taille des amplicons est de 517pb, ce qui correspond au fragment attendu.

Au total, **50** échantillons d'ADN de témoins ont pu être amplifiés. La figure 10 est une illustration de quelques échantillons d'ADN amplifiés.

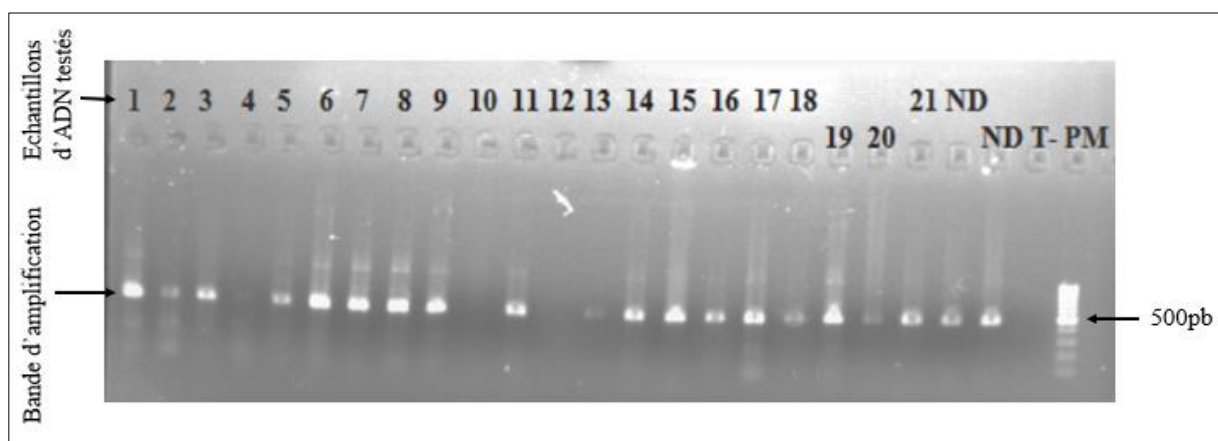


Figure 10 : Electrophorèse des produits d'amplification sur gel d'agarose (1,5%) chez les individus sains

(ND : échantillon qui ne sera pas digéré)

2) Polymorphismes du gène *SAA1*

L'identification des deux SNP chez les individus témoins a été réalisée par les enzymes :

- *BclI* pour la mise en évidence de C3010T.
- *BanI* pour la mise en évidence de C2995T.

Les sites de restriction et la taille des fragments générés ont été obtenus à partir du site : www.restrictionmapper.org. Les différents produits de restriction générés, ainsi que les génotypes correspondants sont récapitulés sur la figure 10.

Avec l'enzyme *Ban I* :

- L'allèle α est digéré en 3 fragments : 317, 176 et 25 pb. Dans ce cas, présence de T en position 2995 (pas de coupure au niveau de la séquence reconnue par l'enzyme).
- Les allèles β et γ amplifiés sont digérés en 4 fragments : 243, 176, 73 et 25 pb. Dans ce cas, présence d'une C en position 2995 (coupure au niveau de la séquence reconnue par l'enzyme).

Avec l'enzyme *Bcl I*,

- Les allèles α et γ ne sont pas digérés : un fragment de 517 pb. En présence d'une C en position 3010, il n'y a pas de coupure au niveau de la séquence reconnue par l'enzyme.
- L'allèle β est digéré en 2 fragments : 425 et 92 pb. En présence d'une T en position 3010, il y a une coupure au niveau de la séquence reconnue par l'enzyme.

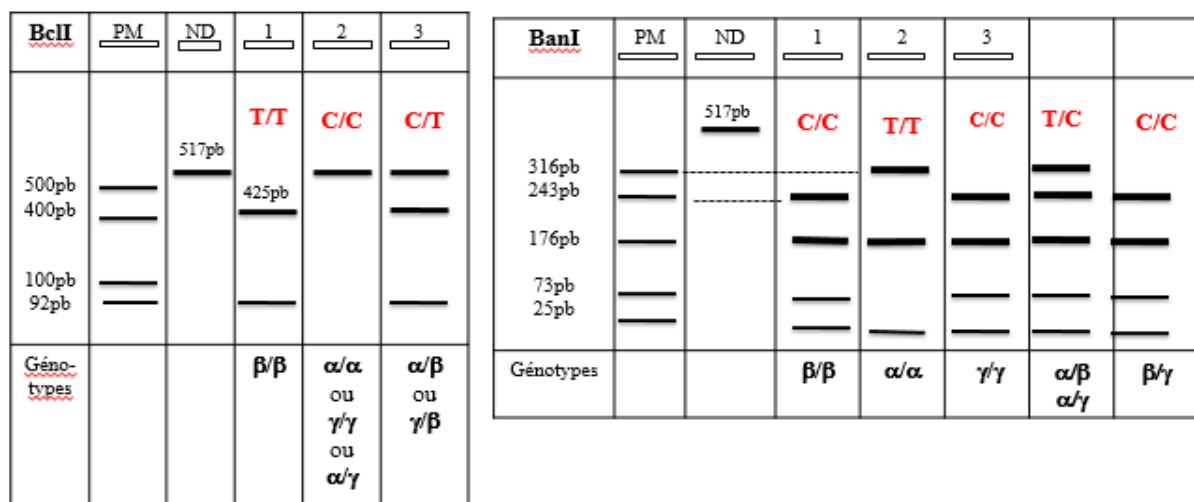


Figure 11: Les différents profils de restriction en fonction du génotype au locus *SAA1*

2.1) Génotypes identifiés chez le groupe des témoins

Pour chaque échantillon d'ADN, l'action combinée des deux enzymes de restriction, *BclI* et *BanI*, permet d'identifier le génotype au niveau du locus *SAA1*. L'analyse des profils de restriction ainsi obtenus chez ce groupe de témoins a permis d'observer 6 génotypes différents :

- SAA1 α/α (SAA1.1/SAA1.1),
- SAA1 β/β (SAA1.5/SAA1.5),
- SAA1 γ/γ (SAA1.3/SAA1.3),
- SAA1 α/β (SAA1.1/SAA1.5),
- SAA1 α/γ (SAA1.1/SAA1.3),
- SAA1 β/γ (SAA1.5/SAA1.3).

Ces différents génotypes sont illustrés dans les figures 12, 13 et 14, pour 29 échantillons pris comme exemples. Les autres échantillons n'ont pas été représentés.

L'analyse de tous les profils a montré la forte récurrence du génotype SAA1 α/β :

- Chez les individus : 1, 3, 5, 6,7, 8 et 9 (Figure 12),
- Chez les individus : 1, 3, 4 et 5 (Figure 13),
- Chez les individus : 8 et 9 (Figure 14).

Le génotype SAA1 β/β a été moins fréquent, observé par exemple chez les individus : 6 et 7 (Figure 13) et l'individu 1 (Figure 14).

Le génotype SAA1 α/α a été moins fréquent, observé par exemple chez l'individu 2 (Figure 12) et les individus 6, 10 et 11 (Figure 14).

Le génotype SAA1 β/γ a été identifié chez les individus : 4 (Figure 12), 3 (Figure 13) et 8 (Figure 14).

Le génotype SAA1 α/γ a été identifié chez trois individus : exemple l'individu 3 (Figure 14).

Le génotype SAA1 γ/γ a été identifié chez uniquement l'individu 9 (Figure 13).

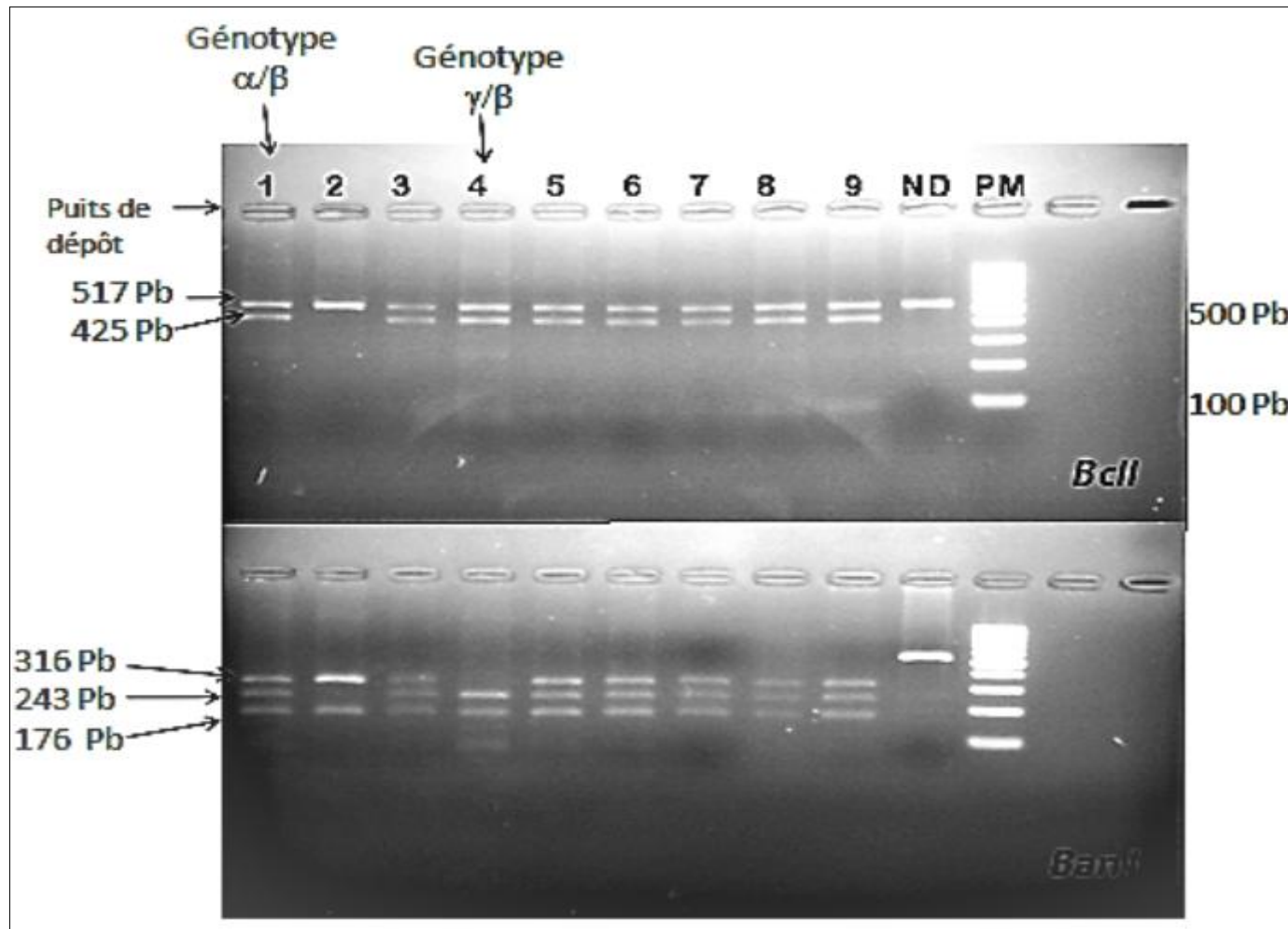


Figure 12 : Electrophorèse sur gel d'agarose (2,5%) pour les produits RFLP des individus sains

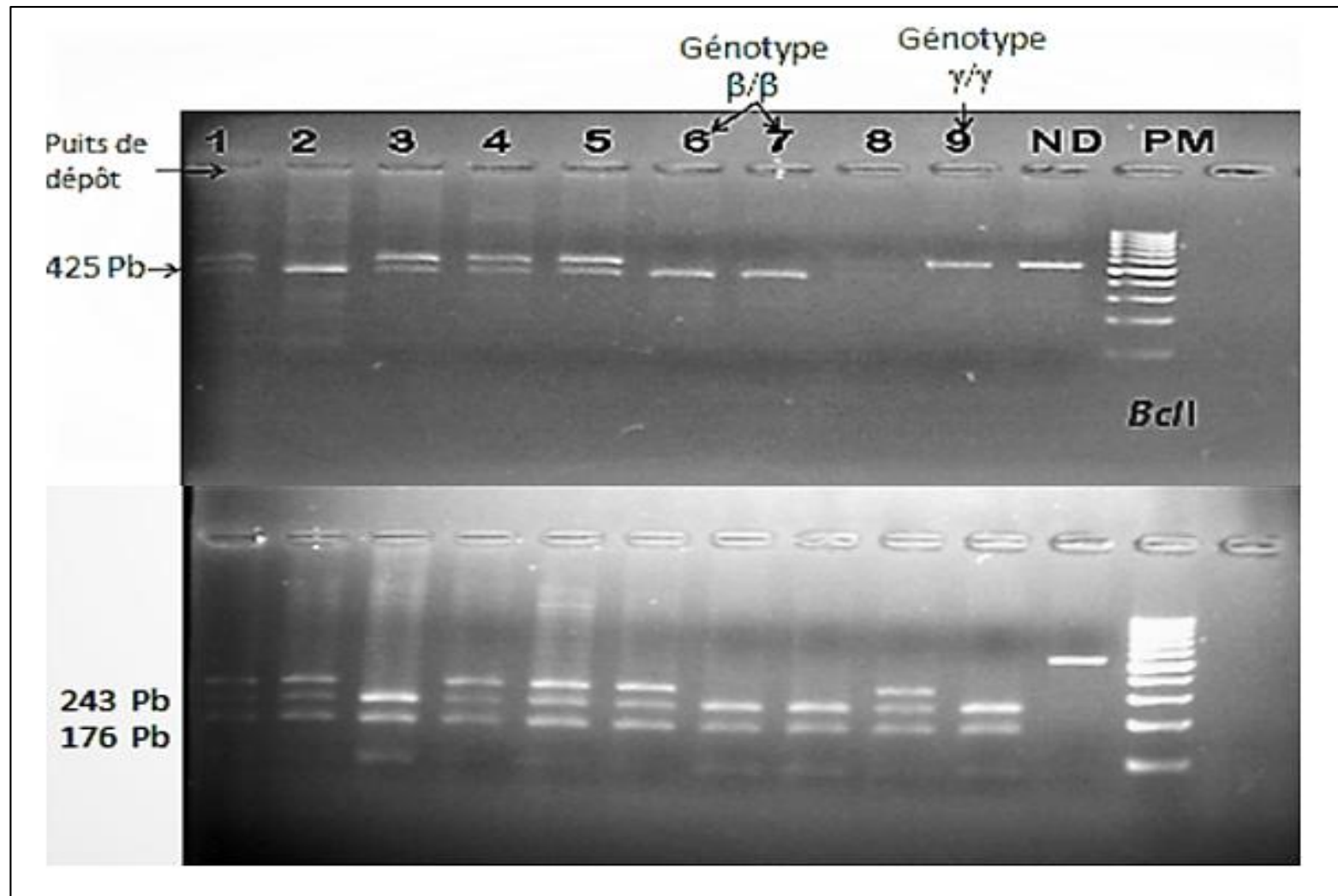


Figure 13 : Electrophorèse sur gel d'agarose (2,5%) pour les produits RFLP des individus sains

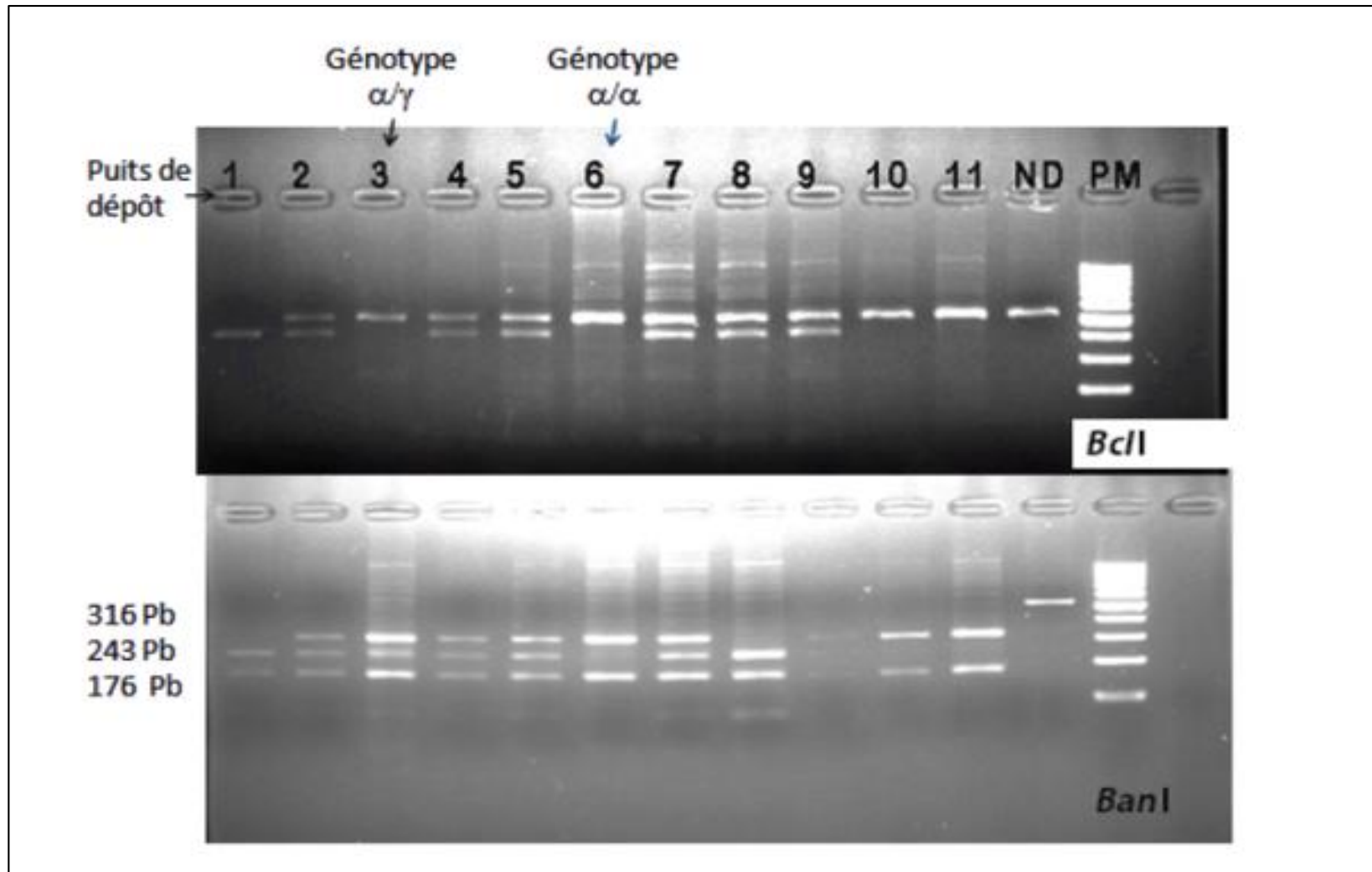


Figure 14: Electrophorèse sur gel d'agarose (2,5%) pour les produits RFLP des individus sains

2.2) Fréquences génotypiques et alléliques

Les six génotypes ont été identifiés avec des fréquences variables, cependant avec une nette prédominance du génotype hétérozygote SAA1 α/β . En effet, sur les 50 individus analysés, 28 (56%) étaient porteurs de ce génotype (Tableau IV).

Les autres génotypes sont moins fréquents. Le génotype homozygote SAA1 γ/γ a été rencontré chez un seul individu uniquement (Tableau IV).

Tableau IV : les fréquences génotypiques des témoins

Génotypes au locus <i>SAA1</i>	Nombre (n= 50)	Proportion (%)
SAA1 α/β	28	56%
SAA1 β/β	8	16%
SAA1 α/α	6	12%
SAA1 β/γ	4	8%
SAA1 α/γ	3	6%
SAA1 γ/γ	1	2%
Total	50	100%

La détermination des fréquences alléliques (n = 100, nombre de chromosomes analysés pour le locus *SAA1*) a montré la prédominance de l'allèle β (SAA1.5), suivi de l'allèle α (43%). Cependant, l'allèle γ a été rencontré avec une très faible fréquence (Tableau V).

Tableau V: Les fréquences alléliques chez les témoins

Les allèles au locus <i>SAA1</i>	Nombre d'allèle (n= 100)	Fréquence allélique
L'allèle β (SAA1.5)	48	48%
L'allèle α (SAA1.1)	43	43%
L'allèle γ (SAA1.3)	9	9%
Total	100	100%

3) Étude comparative entre les individus sains et les patients FMF avec et sans amylose

La recherche des génotypes au niveau du locus SAA1, chez les patients FMF avec et sans amylose AA, a été réalisée dans une étude antérieure.

Cette comparaison a pour objectif d'identifier le génotype à risque ou le génotype lié au développement de l'amylose rénale AA chez les patients FMF, ainsi que les allèles prédominants au locus SAA1 chez les trois groupes d'individus.

La comparaison des proportions a été réalisée par le logiciel XL-STAT (2018). Le seuil de significativité est fixé à $p < 0,05$.

3.1) Fréquences génotypiques

Le tableau VI résume les proportions génotypiques observées chez les deux groupes de patients FMF.

Tableau VI : Proportions génotypiques chez les 3 groupes d'individus étudiés

Génotypes	Patients avec amylose (n=30)	Patients sans amylose (n=21)	Individus sains (n=50)
SAA1 α/α	20 (66.66%)	4 (19.04%)	6 (12%)
SAA1 α/γ	5 (16.66%)	0 (0%)	3 (6%)
SAA1 α/β	4 (13.33%)	9 (42.85%)	28 (56%)
SAA1 β/γ	1(3.33%)	2 (9.52%)	4 (8%)
SAA1 β/β	0 (0%)	6 (28.57%)	8 (16%)
SAA1 γ/γ	0 (0%)	0 (0%)	1 (2%)
Total	30 (100%)	21 (100%)	50 (100%)

- Cette comparaison a montré que le génotype homozygote SAA1 α/α est significativement plus élevé chez les patients avec amylose AA comparé aux patients sans amylose AA ($p=0,002$) et les individus sains ($p < 0,0001$). Cependant, la différence n'est pas significative entre les témoins sains et les patients sans amylose ($p=0,685$) (Figure 15).
- Cependant, chez les individus témoins et les patients sans amylose, c'est le génotype SAA1 α/β qui est prédominant par rapport aux patients avec amylose AA, sans différence

significative entre ces deux groupes ($p=0,452$) (Figure 15). Ce génotype est significativement plus élevé chez les témoins ($p=0,0000$) et chez les patients sans amylose ($p=0,04$) par rapport aux patients avec amylose (Figure 15).

- Le génotype homozygote SAA1 β/β a été observé chez les patients sans amylose et les témoins ($p=0,374$), alors qu'aucun patient avec amylose n'était porteur de ce génotype.
- La présence de génotype α/γ chez les patients avec amylose et les individus sains ($p=0,248$), mais absent chez les patients sans amylose.
- Le génotype SAA1 γ/γ n'a été observé que chez un seul individu, montrant la rareté de ce génotype dans notre population. Par ailleurs, le génotype SAA1 β/γ est également moins présent entre les trois groupes d'individus analysés, identifié avec des proportions équivalentes ($p>0,05$) (Figure 15).

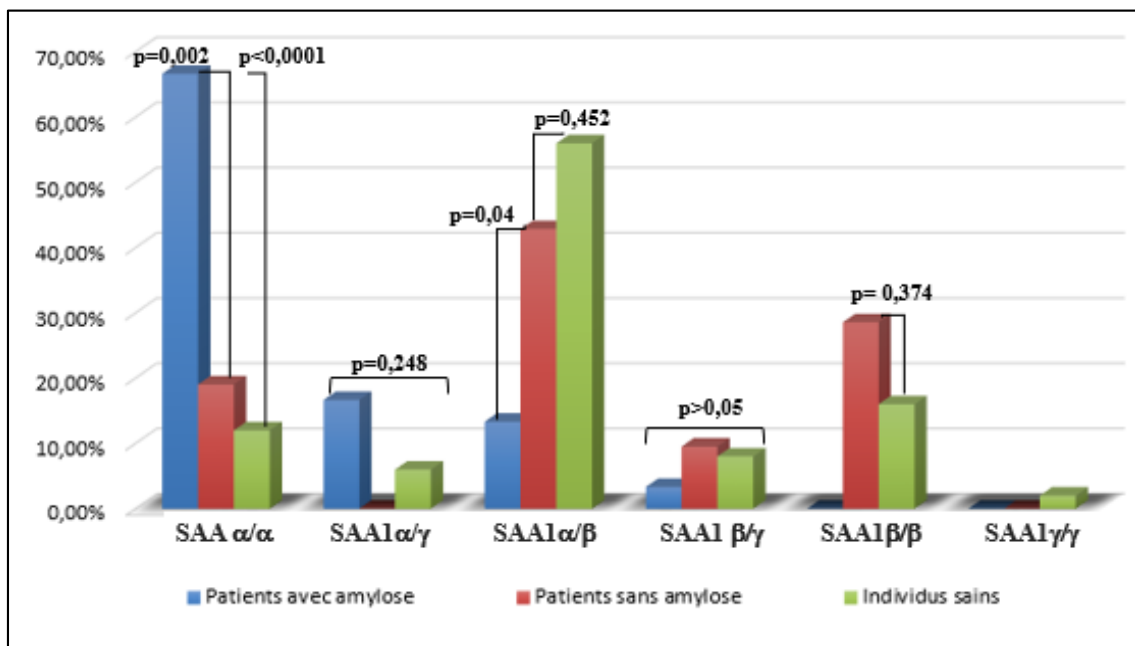


Figure 15 : Histogramme montrant les proportions des différents génotypes chez les trois groupes d'individus

Ainsi, d'après les résultats représentés sous forme d'un histogramme (Figure 15), une prédominance du génotype homozygote SAA1 α/α a été rencontrée chez les patients FMF avec amylose, alors que dans le groupe des patients sans amylose et le groupe des témoins c'est le génotype hétérozygote SAA1 α/β qui prédomine.

3.2) Fréquences alléliques

- La détermination des fréquences alléliques a démontré la prédominance significative de l'allèle α (Tableau VII) avec amylose AA comparé à ceux sans amylose ($p < 0,0001$) et aux témoins ($p < 0,0001$). La proportion de l'allèle α est équivalente entre les témoins et les patients sans amylose ($p = 0,781$).

Tableau VII : Proportions alléliques chez les 3 groupes d'individus étudiés

Les Allèles	Nombre d'allèle chez les patients avec amylose (n=60)	Nombre d'allèle chez les patients sans amylose (n=42)	Nombre d'allèle chez les individus sains (n=100)
α	49 (81.66%)	17 (40.47%)	43 (43%)
β	5 (8.33%)	23 (54.76%)	48 (48%)
γ	6 (10%)	2 (4.76%)	9 (9%)
Total	60 (100%)	42 (100%)	100 (100%)

- Au contraire, l'allèle β est significativement supérieur chez les patients FMF sans amylose et les individus sains par rapport aux patients avec amylose ($p < 0,0001$), mais similaire entre les témoins et les patients sans amylose ($p = 0,462$).
- Quant à la fréquence de l'allèle γ est similaire entre les trois groupes d'individus.

Discussion

Dans la plupart des troubles mendéliens, il est désormais bien établi que des individus présentant des mutations identiques peuvent présenter des différences cliniques. Ces observations reflètent l'existence de facteurs environnementaux ou de gènes supplémentaires qui contribuent au phénotype de la maladie (Ozen *et al.*, 2003).

La gravité de la FMF réside dans la complication rénale de type AA que risquent de développer les patients, en particulier les patients non traités ou encore ceux diagnostiqués tardivement porteurs de la FMF (Nursal *et al.*, 2016).

Dans cette étude, il s'agit de rechercher l'association entre les polymorphismes du gène *SAA1* et la survenue de l'amylose AA associée à la FMF chez des patients FMF Algériens. Dans une étude inférieure (Ait-Idir, 2017), il a été démontré que le génotype M694I /M694I était un facteur de risque génétique lié au développement de l'amylose rénale chez les patients FMF algériens. Au contraire, dans les autres ethnies, le variant pathogène p.M694V a été également corrélé, surtout à l'état homozygote, au développement de l'amylose rénale AA (Mukhin *et al.*, 2015; Nursal *et al.*, 2016).

Les résultats obtenus au cours de cette étude suggèrent que le génotype *SAA1* α/α pourrait être le facteur de risque génétique impliqué dans l'apparition de l'amylose rénale AA chez les patients FMF Algériens. Ce résultat est compatible avec ce qui a été observé pour des populations Caucasiennes. En Turquie et en Allemagne, des études ont montré que le risque de développer l'amylose rénale est augmenté de 2,4 à 4,86 chez les patients FMF homozygotes pour l'allèle *SAA1* α (Delibaş *et al.*, 2005; Blank *et al.*, 2015). En effet, chez les patients d'origine Allemande ayant développé une amylose AA secondaire aux maladies inflammatoires chroniques (PR, maladie de Crohn), le génotype *SAA1* α/α a été identifié chez 92% des cas (Blank *et al.*, 2015). Au contraire, chez les patients FMF Egyptiens, l'implication de l'haplotype α dans le développement de la complication rénale n'a pas été trouvée (Wilson *et al.*, 2016). Par ailleurs, chez les patients Japonais atteints de polyarthrite rhumatoïde, c'est l'allèle *SAA1* γ qui constitue le facteur de risque de développer l'amylose (Migita *et al.*, 2013; Migita *et al.*, 2018). En revanche, chez les individus analysés dans notre étude, la fréquence de *SAA1* γ était faible.

Dans une large étude menée à partir de 1017 patients FMF Arméniens, il a été montré que le génotype SAA1 β / β conférait une protection contre le développement de l'amylose AA (Atoyan *et al.*, 2016). En effet, dans notre étude, ce génotype a été identifié uniquement chez les patients sans amylose et chez les témoins.



Conclusion

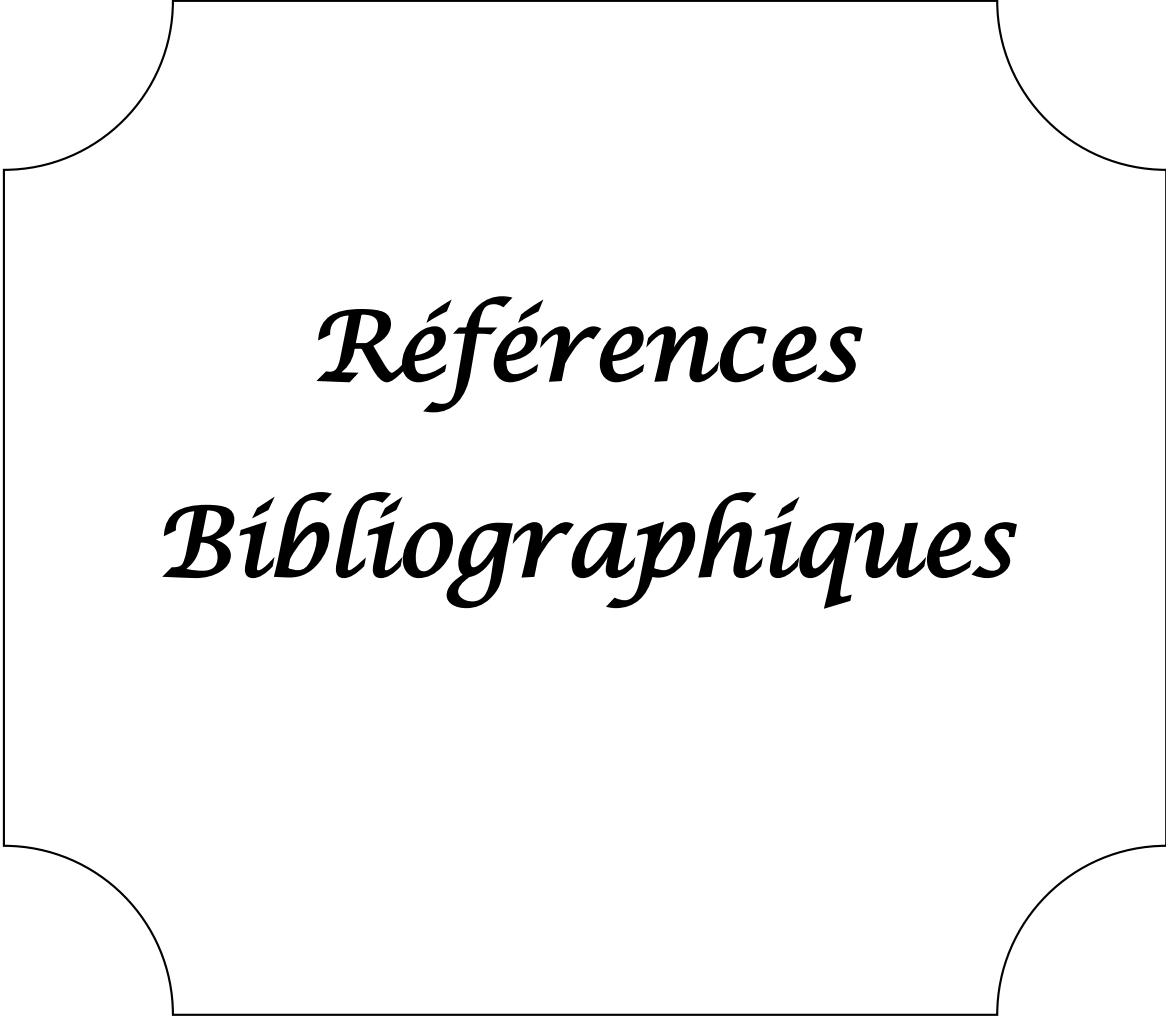
Conclusion

Conclusion

Le développement de l'amylose AA est toujours un problème de santé publique puisque les patients atteints développent une insuffisance rénale terminale et dialyse. En Algérie, cette étude a démontré que l'allèle SAA1 α et le génotype SAA1 α/α sont associées à ce phénotype grave alors que l'allèle SAA1 β a montré un effet protecteur contre son développement.

Par ailleurs, nos résultats ont permis de montrer que le génotype au niveau du locus de la SAA1 pourrait constituer un facteur de prédiction de l'amylose AA et qu'une surveillance est recommandée notamment chez les enfants FMF homozygotes pour le variant SAA1 α (SAA1.1), même en absence de symptômes.

Sur le plan pratique, l'instauration d'un diagnostic moléculaire de la FMF en Algérie est d'une importance capitale aussi bien pour les cliniciens que pour les patients. Il pourra permettre de sensibiliser les familles potentiellement porteuses sur les effets néfastes des mariages consanguins.



Références
Bibliographiques

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Ait-Idir, D., Djerdjouri, B., Bouldjennet, F., Taha, R.Z., El-Shanti, H., Sari-Hamidou, R., Khellaf, G., Benmansour, M., Benabadji, M., Haddoum, F., 2017. The M694I/M694I genotype: A genetic risk factor of AA-amyloidosis in a group of Algerian patients with familial Mediterranean fever. *European Journal of Medical Genetics* 60, 149-153.
- Atoyan, S., Hayrapetyan, H., Sarkisian, T., Ben-Chetrit, E., 2016. MEFV and SAA1 genotype associations with clinical features of familial Mediterranean fever and amyloidosis in Armenia. *Clin Exp Rheumatol* 34, 72-76.
- Adwan, M.H., 2015. A brief history of familial Mediterranean fever. *Saudi Med J* 36, 1126-1127.
- Ait-Idir, D., Djerdjouri, B., Bouldjennet, F., Taha, R.Z., El-Shanti, H., Sari-Hamidou, R., Khellaf, G., Benmansour, M., Benabadji, M., Haddoum, F., 2017. The M694I/M694I genotype: A genetic risk factor of AA-amyloidosis in a group of Algerian patients with familial Mediterranean fever. *European Journal of Medical Genetics* 60, 149-153.
- Akar, S., Yuksel, F., Tunca, M., Soysal, O., Solmaz, D., Gerdan, V., Celik, A., Sen, G., Onen, F., Akkoc, N., 2012. Familial Mediterranean Fever: Risk Factors, Causes of Death, and Prognosis in the Colchicine Era. *Medicine* 91, 131-136.
- Atoyan, S., Hayrapetyan, H., Sarkisian, T., Ben-Chetrit, E., 2016. MEFV and SAA1 genotype associations with clinical features of familial Mediterranean fever and amyloidosis in Armenia. *Clin Exp Rheumatol* 34, 72-76.
- Babaoglu, H., Armagan, B., Bodakci, E., Satis, H., Atas, N., Sari, A., Yasar Bilge, N.S., Bilici Salman, R., Yardımcı, G.K., Avanoglu Guler, A., Karadeniz, H., Kilic, L., Ozturk, M.A., Goker, B., Haznedaroglu, S., Kalyoncu, U., Kasifoglu, T., Tufan, A., 2020. Predictors of persistent inflammation in familial Mediterranean fever and association with damage. *Rheumatology* 60, 333-339.
- Ben-Chetrit, E., Levy, M., 1998. Familial Mediterranean fever. *Lancet* 351, 659-664.
- Ben-Chetrit, E., Touitou, I., 2009. Familial mediterranean Fever in the world. *Arthritis Rheum* 61, 1447-1453.
- Brunger, A.F., Nienhuis, H.L.A., Bijzet, J., Hazenberg, B.P.C., 2020. Causes of AA amyloidosis: a systematic review. *Amyloid* 27, 1-12.
- Blank, N., Hegenbart, U., Lohse, P., Beimler, J., Röcken, C., Ho, A.D., Lorenz, H.M., Schönland, S.O., 2015. Risk factors for AA amyloidosis in Germany. *Amyloid* 22, 1-7.
- Cerrito L., Sicignano L.L., Verrecchia E., R., M., 2015. Epidemiology of FMF Worldwide. In: Gattorno M. (eds) *Familial Mediterranean Fever. Rare Diseases of the Immune System.*, Springer, Cham.
- Collège des Enseignants d'immunologie. 2014 .Méthodes en immunologie :Des principes à l a bonne application .Elsevier Health Sciences France.
- Delibaş, A., Öner, A., Balcı, B., Demircin, G., Bülbül, M., Bek, K., Erdoğan, Ö., Baysun, Ş., Yılmaz, E., 2005. Genetic Risk Factors of Amyloidogenesis in Familial Mediterranean Fever. *American Journal of Nephrology* 25, 434-440.

Références Bibliographiques

De Beer, F.C., Mallya, R.K., Fagan, E.A., Lanham, J.G., Hughes, G.R., Pepys, M.B., 1982. Serum amyloid-A protein concentration in inflammatory diseases and its relationship to the incidence of reactive systemic amyloidosis. *Lancet* 2, 231-234.

Delibaş, A., Öner, A., Balcı, B., Demircin, G., Bülbül, M., Bek, K., Erdoğan, Ö., Baysun, Ş., Yılmaz, E., 2005. Genetic Risk Factors of Amyloidogenesis in Familial Mediterranean Fever. *American Journal of Nephrology* 25, 434-440.

El-Shanti, H., Majeed, H.A., El-Khateeb, M., 2006. Familial mediterranean fever in Arabs. *Lancet* 367, 1016-1024.

Georgin-Lavialle, S., Hentgen, V., Stankovic Stojanovic, K., Bachmeyer, C., Rodrigues, F., Savey, L., Abbara, S., Conan, P.L., Fraisse, T., Delplanque, M., Rouet, A., Sbeih, N., Koné-Paut, I., Grateau, G., 2018. La fièvre méditerranéenne familiale. *La Revue de Médecine Interne* 39, 240-255.

Grateau, G., Jéru, I., Rouaghe, S., Cazeneuve, C., Ravet, N., Duquesnoy, P., Cuisset, L., Dodé, C., Delpech, M., Amselem, S., 2005. Amyloidosis and auto-inflammatory syndromes. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 4, 57-65.

Jaccard, A., Fermand, J.P., 2004. Amyloses. *EMC - Hématologie* 1, 46-58.

Kadri, K., 2019. Polymerase Chain Reaction (PCR): Principale and applications.

Koné-Paut, I., 2008. Fièvre méditerranéenne familiale « Maladie périodique ». *Médecine thérapeutique / Pédiatrie* 11, 146-156.

Langevitz, P., Sidi, G., Livneh, A., Shinar, Y., Pras, M., Pras, E., 2000. Protracted febrile myalgia of FMF: mutation analysis and clinical features, *Familial Mediterranean Fever II International Conference*, pp. 3-7.

Migita, K., Agematsu, K., Masumoto, J., Ida, H., Honda, S., Jiuchi, Y., Izumi, Y., Maeda, Y., Uehara, R., Nakamura, Y., Koga, T., Kawakami, A., Nakashima, M., Fujieda, Y., Nonaka, F., Eguchi, K., Furukawa, H., Nakamura, T., Nakamura, M., Yasunami, M., 2013. The contribution of SAA1 polymorphisms to Familial Mediterranean fever susceptibility in the Japanese population. *PLoS One* 8, 20.

Migita, K., Asano, T., Sato, S., Koga, T., Fujita, Y., Kawakami, A., 2018. Familial Mediterranean fever: overview of pathogenesis, clinical features and management. *Immunol Med* 41, 55-61.

Mukhin, N.A., Kozlovskaya, L.V., Bogdanova, M.V., Rameev, V.V., Moiseev, S.V., Simonyan, A., 2015. Predictors of AA amyloidosis in familial Mediterranean fever. *Rheumatol Int* 35, 1257-1261.

Migita, K., Agematsu, K., Masumoto, J., Ida, H., Honda, S., Jiuchi, Y., Izumi, Y., Maeda, Y., Uehara, R., Nakamura, Y., Koga, T., Kawakami, A., Nakashima, M., Fujieda, Y., Nonaka, F., Eguchi, K., Furukawa, H., Nakamura, T., Nakamura, M., Yasunami, M., 2013. The contribution of SAA1 polymorphisms to Familial Mediterranean fever susceptibility in the Japanese population. *PLoS One* 8, 20.

Moriguchi, M., Terai, C., Kaneko, H., Koseki, Y., Kajiyama, H., Uesato, M., Inada, S., Kamatani, N., 2001. A novel single-nucleotide polymorphism at the 5'-flanking region of SAA1 associated with risk of type AA amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 44, 1266-1272.

Références Bibliographiques

- Nursal, A.F., Tekcan, A., Kaya, S.U., Turkmen, E., Yigit, S., 2016. Mutational Spectrum of the MEFV Gene in AA Amyloidosis Associated With Familial Mediterranean Fever. *Iran J Kidney Dis* 10, 107-112.
- Ozen, S., Bakkaloglu, A., Yilmaz, E., Duzova, A., Balci, B., Topaloglu, R., Besbas, N., 2003. Mutations in the gene for familial Mediterranean fever: do they predispose to inflammation? *J Rheumatol* 30, 2014-2018.
- The International FMF Consortium, 1997. Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. *Cell* 90, 797-807.
- Nakachima, H., Akahoski, M., Tanaka, Y., 2003. Mutation detection using RT-PCR-RFLP. *Methods Mol Biol* 226, 319-322.
- Obici, L., Raimondi, S., Lavatelli, F., Bellotti, V., Merlini, G., 2009. Susceptibility to AA amyloidosis in rheumatic diseases: A critical overview. *Arthritis Care & Research* 61, 1435-1440.
- Okuda, Y., 2019. AA amyloidosis - Benefits and prospects of IL-6 inhibitors. *Mod Rheumatol* 29, 268-274.
- Rasmussen, H., 2012. Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified Fragment (PCR-RFLP) and Gel Electrophoresis - Valuable Tool for Genotyping and Genetic Fingerprinting.
- Sellar, G.C., Jordan, S.A., Bickmore, W.A., Fantes, J.A., van Heyningen, V., Whitehead, A.S., 1994. The human serum amyloid A protein (SAA) superfamily gene cluster: mapping to chromosome 11p15.1 by physical and genetic linkage analysis. *Genomics* 19, 221-227.
- Sohar, E., Gafni, J., Pras, M., Heller, H., 1967. Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature. *Am J Med* 43, 227-253.
- Soriano, A., Manna, R., 2012. Familial Mediterranean fever: new phenotypes. *Autoimmun Rev* 12, 31-37.
- Sorić Hosman, I., Kos, I., Lamot, L., 2021. Serum Amyloid A in Inflammatory Rheumatic Diseases: A Compendious Review of a Renowned Biomarker. *Frontiers in Immunology* 11.
- Stojanovic, K.S., Georgin-Lavialle, S., Grateau, G., 2017. [AA amyloidosis]. *Nephrol Ther* 13, 258-264.
- Sun, L., Ye, R., 2016. Serum amyloid A1: Structure, function and gene polymorphism. *Gene* 583 1, 48-57.
- Tago, D., Jaubert-Possamai, S., Mereau, A., 2018. Principe des techniques de biologie moléculaire et génomique 3^{ième} édition revue et augmentée. Editions QUAE.
- The French FMF Consortium, Bernot, A., Clépet, C., Dasilva, C., Devaud, C., Petit, J.L., Caloustian, C., Cruaud, C., Samson, D., Pulcini, F., Weissenbach, J., Heilig, R., Notanicola, C., Domingo, C., Rozenbaum, M., Ben-Chétrit, E., Topaloglu, R., Dewalle, M., Dross, C., Hadjari, P., Dupont, M., Demaille, J., Touitou, I., Smaoui, N., Nedelec, B., Méry, J., Chaabouni, H., Delpech, M., Grateau, G., 1997. A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nature Genetics* 17, 25-31.

Références Bibliographiques

Touitou, I., 2001. The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet* 9, 473-483.

Uhlar, C.M., Whitehead, A.S., 1999. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* 265, 501-523.

van der Hilst, J.C., 2011. Recent insights into the pathogenesis of type AA amyloidosis. *ScientificWorldJournal* 11, 641-650.

Van Gijn, M.E., Ceccherini, I., Shinar, Y., Carbo, E.C., Slofstra, M., Arostegui, J.I., Sarrabay, G., Rowczenio, D., Omoyimmi, E., Balci-Peynircioglu, B., Hoffman, H.M., Milhavet, F., Swertz, M.A., Touitou, I., 2018. New workflow for classification of genetic variants' pathogenicity applied to hereditary recurrent fevers by the International Study Group for Systemic Autoinflammatory Diseases (INSAID). *J Med Genet* 55, 530-537.

Varan, O., Kucuk, H., Babaoglu, H., Tecer, D., Atas, N., Bilici Salman, R., Satus, H., Ozturk, M.A., Haznedaroglu, S., Goker, B., Tufan, A., 2019. Chronic inflammation in adult familial Mediterranean fever patients: underlying causes and association with amyloidosis. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 48, 315-319.

Vinceneux, P., Pouchot, J., 2005a. [From familial Mediterranean fever to amyloidosis]. *Presse Med* 34, 958-966.

Vinceneux, P., Pouchot, J., 2005b. Maladie périodique, symptomatologie clinique et biologique. *La Presse Médicale* 34, 938-946.

Wilson, M., Abou-Elalla, A.A., Zakaria, M.T., Marzouk, H., Fayed, H.L., Hanna, M.O.F., 2016. Serum Amyloid A Type 1 Gene Polymorphism in Egyptian Children with Familial Mediterranean Fever. *Pathobiology* 83, 295-300.

Wu, J., Ye, F., Cui, M., Shibata, R., Xu, R., Cheng, L., Zhang, D.Y., 2013. Diagnostic Methodology and Technology in Molecular Genetic Pathology, in: Cheng, L., Zhang, D.Y., Eble, J.N. (Eds.), *Molecular Genetic Pathology*. Springer New York, New York, NY, pp. 211-300.

Yamada, T., Okuda, Y., Takasugi, K., Wang, L., Marks, D., Benson, M.D., Kluge-Beckerman, B., 2003. An allele of serum amyloid A1 associated with amyloidosis in both Japanese and Caucasians. *Amyloid* 10, 7-11.

Zhang, Y., Zhang, J., Sheng, H., Li, H., Wang, R., 2019. Chapter Two - Acute phase reactant serum amyloid A in inflammation and other diseases, in: Makowski, G.S. (Ed.), *Advances in Clinical Chemistry*. Elsevier, pp. 25-80.



Annexes

Annexes

Annexe 1 :

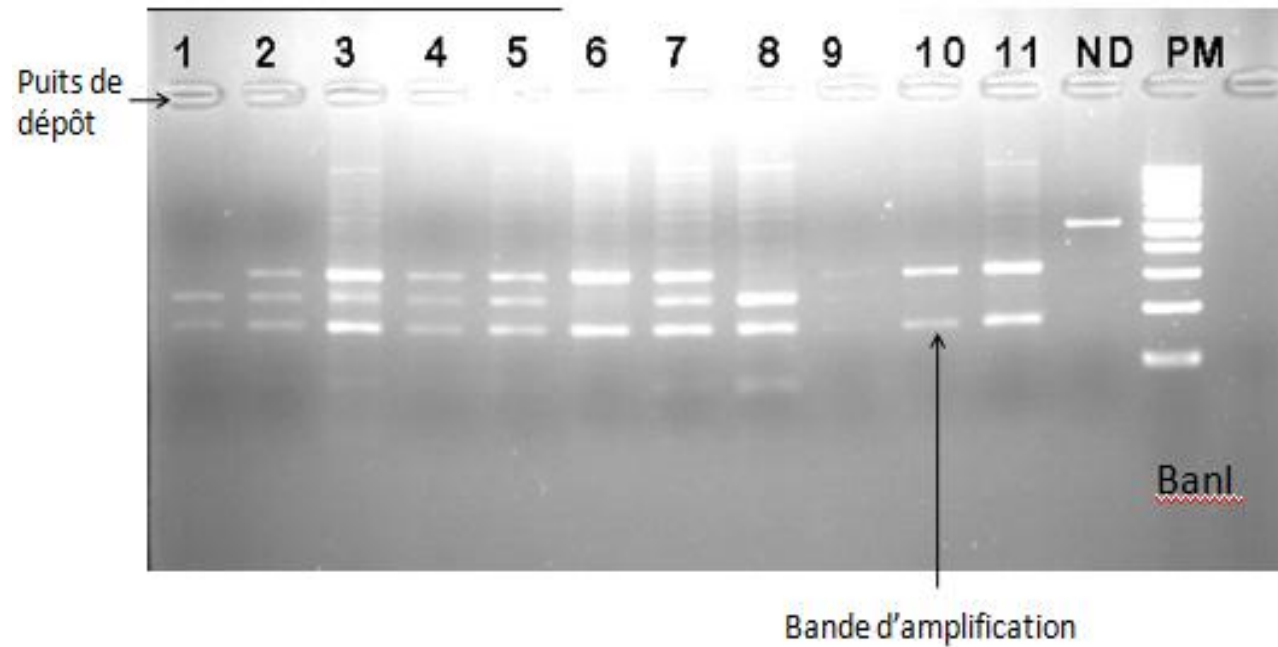


Figure 16 : Électrophorèse sur gel d'agarose (2,5%) pour les produit d'amplification des individus sains par l'enzyme De restriction *Bcl I*

Annexes

Annexe 2 :

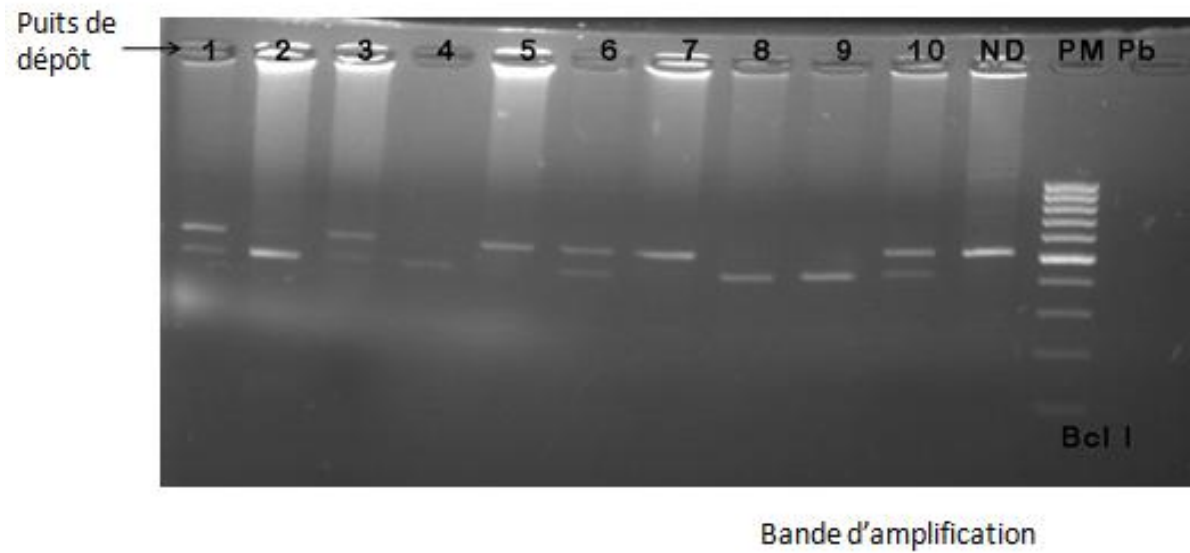


Figure 17 : Électrophorèse sur gel d'agarose (2,5%) pour les produit d'amplification des individus sains par l'enzyme

De restriction *Bcl* I

Résumé : La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie autosomique récessive causée par des mutations dans le gène MEFV. En absence de traitement, les patients peuvent développer une amylose rénale de type AA, une complication sévère conduisant à une insuffisance rénale terminale. En Algérie, les données génétiques sur l'amylose AA secondaire à la FMF sont très insuffisantes. Ainsi, cette étude consiste à mettre en évidence la contribution du gène SAA1 dans le développement de cette complication chez les patients FMF algériens.

Cette étude a inclus 50 sujets sains. Le génotypage du locus SAA1 (SAA1 α , SAA1 β et SAA1 γ) a été réalisé par PCR-RFLP, en utilisant deux enzymes de restriction, BanI et Bcl I.

Dans le groupe analysé, le génotype SAA1 α/β était prédominant (56 %), suivi de SAA1 β / β (16 %) et SAA1 α / α (12 %). La proportion des autres génotypes était inférieure à 10 %. [Ces résultats ont été comparés à ceux obtenus chez des patients FMF sans (n = 21) et avec AA-amylose (n = 30), dans une étude précédente]. Le génotype SAA1 α / α est significativement prédominant chez les patients atteints d'amylose par rapport à ceux sans AA-amylose (p=0,002) et aux témoins sains (p<0,0001). Cependant, le génotype SAA1 α/β est significativement plus élevé chez les témoins et les patients sans AA-amylose par rapport à ceux avec complication rénale. Le génotype SAA1 β / β n'a été identifié que chez les sujets non atteints d'amylose.

Nos données suggèrent une corrélation entre le génotype SAA1 α / α et le développement d'une AA-amylose secondaire à la FMF chez les patients algériens.

Mots clés : Amylose AA, FMF, gène MEFV, polymorphismes SAA1, RFLP

Abstract: Familial Mediterranean fever (FMF) is an autosomal recessive disease caused by mutations in the MEFV gene. Untreated patients may develop renal AA-amyloidosis, a harmful complication leading to renal failure. In Algeria, genetic data about the renal AA-amyloidosis secondary to FMF are largely lacking. Thus, this study aimed to explore the contribution of SAA1 locus in the development of this renal complication in Algerian FMF patients.

This study included 50 healthy subjects. Genotypes of SAA1 locus (SAA1 α , SAA1 β , and SAA1 γ) were determined by PCR-RFLP, using two restriction enzymes, BanI and Bcl I.

In the analyzed group, the SAA1 α/β genotype was predominant (56%), followed by SAA1 α / β (16%) and SAA1 α / α (12%). The proportion of other genotypes was less than 10%. These results were compared to those obtained from FMF patients without (n= 21) and with AA-amyloidosis (n= 30), in a precedent study. The SAA1 α / β genotype was significantly predominant in patients with amyloidosis compared to those without AA-amyloidosis (p=0,002) and healthy controls (p<0,0001). However, the SAA1 α/β genotype was significantly higher in controls and patients without AA-amyloidosis compared to those with renal complication. The SAA1 β / β genotype was identified only in absence of amyloidosis.

Our data suggest a positive correlation between the SAA1 α / α genotype and the development of AA-amyloidosis secondary to FMF in Algerian patients.

Keywords: AA-Amyloidosis, FMF, MEFV gene, SAA1 polymorphisms, RFLP.

ملخص: حمى البحر الأبيض المتوسط العائلية (FMF) هو مرض وراثي جسيمي منقول عبر طفرات وراثية على مستوى المورثة MEFV ، إذا تُركت دون علاج ، يمكن للمرضى أن يصابوا بالداء النشواني الكلوي من النوع AA ، وهو اختلاط شديد يؤدي إلى مرض الكلى في نهاية المرحلة. في الجزائر ، البيانات الوراثية حول داء النشواني AA الثانوي إلى FMF غير كافية للغاية. وهكذا ، تكونت هذه الدراسة في التحقيق في مساهمة الجين SAA1 في تطوير هذه المضاعفات في مرضى حمى البحر المتوسط الجزائرية.

تضمنت هذه الدراسة 50 شخصًا صحيًا. تم إجراء التتميط الجيني لموضع SAA1 (SAA1 α , SAA1 β et SAA1 γ) بواسطة PCR-RFLP ، باستخدام اثنين من إنزيمات التقطيع ، BanI و Bcl I.

في المجموعة التي تم تحليلها ، كان النمط الوراثي SAA1 α / β هو السائد (56 %) ، يليه SAA1 β / β (16 %) و SAA1 α / α (12 %). (كانت نسبة التراكيب الجينية الأخرى أقل من 10 %). تمت مقارنة هذه النتائج مع تلك التي تم الحصول عليها في مرضى حمى المتوسط من دون (ن = 21) ومع داء النشواني (AA العدد = 30) ، في دراسة سابقة. كان النمط الجيني SAA1 α / β سائدًا بشكل كبير في المرضى الذين يعانون من الداء النشواني مقارنة مع أولئك الذين لا يعانون من داء النشواني (P = 0.002) والضبوابط الصحية (P < 0.0001). ومع ذلك ، كان النمط الجيني SAA1 α / β أعلى بشكل ملحوظ في الضبوابط والمرضى الذين لا يعانون

من داء النشواني AA مقارنة بأولئك الذين يعانون من مضاعفات كلوية. تم تحديد النمط الجيني b / SAA1b فقط في حالة عدم وجود الداء النشواني.

تشير بياناتنا إلى وجود علاقة بين النمط الوراثي SAA1a/a وتطور داء النشواني AA الثانوي إلى FMF في المرضى الجزائريين. الكلمات الأساسية: داء النشواني AA ، FMF ، جين MEFV ، تعدد الأشكال SAA1 ، RFLP