

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



Faculté des Sciences
Département de Biologie

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

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

Filière : **Sciences biologiques**

Spécialité : **Génétique**

Thème :

Rôle des polymorphismes 2995C/T et 3010C/T du gène *SAAT1* dans le développement de l'amylose rénale AA liée à la fièvre Méditerranéenne familiale

Présenté par :

**Mme TCHOULAK Hanane
Mme ZINET Lynda**

Soutenu le : 10/11/2020, devant le jury :

Présidente :	BENZINA Farida.....	MCA (UMBB)
Promotrice :	AIT-IDIR Djouher.....	MCA (UMBB)
Examinatrice :	BENHABYLES-BOUTTABA Narimen.....	MCB (UMBB)

Promotion 2019/2020

Remerciements

Tout d'abord nous tenons à remercier le Dieu tous puissant qui nos a permis d'accomplir ce travail et nous avoir donné la force pour dépasser toutes les difficultés.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre Promotrice, "Dr. D. Ait Idir" d'avoir accepté de nous encadrer, pour sa disponibilité, sa patience durant toute cette période avec ses moments difficiles et de nous orienter tout au long de ce mémoire. Merci beaucoup madame

Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail:

*A « Mme **BENZINA Farida** » d'avoir accepté de présider le jury et d'évaluer notre travail.*

*« Mme **BENHABLES-BOUTTABA Narimen** » d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

Veillez trouver ici l'expression de notre grand respect et nos vifs remerciements.

Enfin, à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à nos recherches et à l'élaboration de ce mémoire.

Dédicace :

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude à ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne .son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

Particulièrement, à mon ange et mon cadeau de la vie, ma mère, qui a œuvrer pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consenties et ses précieux conseils et pour toutes son assistance et sa présence dans ma vie .Que dieu te protège et te garde pour nous.

*À la mémoire de mon père, qui peut être fière de trouver le résultat de longues années de sacrifices. Puisse dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit, et lui garde dans son vastes Paradies. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanant venu de toi **Papa**.*

*Mes trésors et ma force, « **Salah** » et « **Aissa** », qui n'ont cessé d'être pour moi un exemple de courage, et de générosité. Merci pour vos encouragements. Que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse vous offrir.*

*À vous mes très chers sœurs « **Dalila, Lamia et Assia** », mes chers frères et mon beau frère, qui m'avez toujours soutenu et encourager durant ces années d'études. Je vous aime*

*À celui que j'aime et qui m'a soutenu tout au long de ce projet : mon fiancé « **Mohamed** », qui n'a pas cessé de m'encourager. Merci pour votre confiance, support, tes conseils, merci par ce que tu as souhaité toujours le meilleurs pour moi.*

*À mes meilleures, adorables chers copines, surtout « **Hafsa** » et « **Manel** », et mes très belles cousines « **Soumia** » et « **Amel** » pour tous les bons moments qu'on a passé ensembles, et pour les moments qui seront encore à l'avenir.*

Ma joie, mes amours, mes adorables nouveaux et nièces

*Sans oublier « **Hanane** », cher amie avant d'être binôme, pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

À mes formidables collègues de spécialité « Génétique »

Et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin durant toute la période de mon projet.

Lynda

Dédicace :

Avec un grand honneur et immense plaisir je dédie ce travail :

*A 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 tendance 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. En témoignage, je t'offrir ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'a toujours entouré, que dieu te garde long temps afin que tu puisses goûter aux arbres que tu as planté.*

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

Ce travail n'est qu'une goutte d'eau de l'océan de bonheur que je souhaite vous offrir.

*Une spéciale dédicace à mon moitié « **Mohamed** », pour avoir toujours été là qu'en avais besoin et pour avoir su comprendre les concessions et les sacrifices. Ton amour, ton patience, ton soutien et encouragements lors de la réalisation de ce travail si cela n'a pas toujours été facile, ta compréhension et le réconfort que tu m'as apporté auront été irréprochables. Merci mon chéri, pour m'avoir permis de réaliser mes objectifs et m'avoir donné ta confiance. Que dieu réunisse nos chemins pour un long chemin serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et mon amour sincère et fidèle.*

*A ma **belle famille** ; en particulier, **ma belle mère et mon beau père**.*

*A ma petite ange "**Mayar Hanine**" je suis désolé ma fille de ne pas être avec toi tout au long de tes deux ans de ton enfance, j'espère que tu seras fière de moi un jour. Je te souhaite un avenir plein de joie, de réussite, du bonheur, que dieu te préserve et te protège pour nous, je t'aime ma perle.*

A mes chères frères et sœurs, les mots me manquent pour vous exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance, merci d'être là et merci pour votre soutien. Que dieu vous bénisse.

*A mes **chères neveux et nièces**, meilleur vœux de succès dans vos études et dans votre vie.*

*A mes **grand parents**, que dieu procure santé et longue vie.*

*A mes très chères tantes « **Fatiha et Hafida** », merci pour vos encouragements, que dieu vous accorde tout le bonheur que vous méritez.*

*A ma très chère amie « **Ismahane** ». Merci pour les merveilleux moments que nous avons passés ensemble. Tu sais que les paroles n'expriment jamais ce que je veux te transmettre, je veux simplement te dire je t'aime.*

*A mon très cher binôme et amie « **Lynda** », qui a été coopérative et compréhensive tout au long de la réalisation de ce travail.*

Hanane

Sommaire

Introduction	1
Partie I :	3
Données bibliographiques	3
I- La fièvre méditerranéenne familiale	4
1. Définition	4
2. Epidémiologie	4
3. Signes cliniques de la FMF et la complication rénale	4
4. Le gène de la FMF	6
5. Mécanismes physiopathologies de la FMF	9
II- L'amylose rénale AA au cours de la FMF	13
1. Epidémiologie de l'amylose AA	13
2. L'amylose AA au cours des maladies auto-inflammatoires	14
3. La famille des gènes <i>SAA</i>	15
4. Régulation transcriptionnelle du gène <i>SAA1</i> par les cytokines pro-inflammatoires	18
5. Mécanisme pathogénique de l'amylose AA	20
6. Les facteurs influençant la survenue de l'amylose AA	21
Partie II :	23
Approche méthodologique appliquée à la recherche des polymorphismes dans le gène <i>SAA1</i>	23
1. Recrutement des patients	24
2. Recherche des polymorphismes	25
2.1 Extraction de l'ADN génomique à partir du sang total	25
<i>Technique au phénol chloroforme</i>	25
<i>Technique de salting-out</i>	25
3. Analyse statistique	32
3.1 Comparaison de deux proportions	32
3.2 Régression logistique	32
Partie III :	34
Étude rétrospective cas/témoins sur des patients Algériens	34
2. Patients	35
2. Résultats	36
2.1 Fréquences génotypiques	36
2.2 Fréquences alléliques	38
2.3 Evaluation du risque par régression logistique	40
Discussion	41
Conclusion	43
Références bibliographiques :	45

Liste des abréviations :

AA : Amyloïde A

Ala: Alanine

CARD: CAspase Recruitment Domain

CARDINAL: CARD Inhibitor of Nuclear factor- κ B Activating Ligand

DAMP: Damage-Associated Molecular Patterns

dNTP : désoxyribonucléosides triphosphates

FMF : Fièvre Méditerranéenne Familiale

HDL: Haut Density Lipoprotein

HIDS: Hyper-IgD Syndrome

IC : Intervalle de Confiance

IL-1: InterLeukine-1

IL-6: InterLeukine-6

Ile : Isoleucine

MAI : Maladies Auto-Inflammatoires

MEFV: MEditerranean FeVer

MMP: MétalloProtéases

NF-IL6: Nuclear Factor for InterLeukin-6

NF- κ B: Nuclear Factor- κ B

NLR: NOD-Like Receptors

NLRP3: NLR family Pysin domain-containing 3

OR: Odds Ratio

PAMP: Pathogen-Associated Molecular Patterns

PCR: Polymerase-Chain Reaction

PRR: Pattern Recognition Receptors

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism

SAA: Serum Amyloid Associated protein

SAA1: Serum Amyloid A type 1

SAF: SAS-binding factor

SNP: Single Nucléotidic Polymorphism

TNF- α : Tumoral-Nuclear-Factor α

TRAPS: TNF Receptor-Associated Periodic Syndrome

Val : Valine

Liste de figures :

Figure 1: Schéma montrant la structure du gène <i>MEFV</i> , les mutations liées au <i>MEFV</i> et la structure de la pyrine/marénostrine.....	7
Figure 2: Schéma d'activation de l'inflammasome-NLRP3	11
Figure 3: Schéma montrant les interactions entre la pyrine et les autres composants de l'inflammasome-NLRP3	12
Figure 4: Famille des gènes SAA : leur position et leur orientation sur le chromosome 11 humain (A, B). Structure du gène SAA1 et les polymorphismes associés (C).....	16
Figure 5: Représentation schématique des isoformes de la SAA1 et de ses variations de séquence ...	18
Figure 6: Activation des facteurs de transcription qui permettent d'augmenter la transcription des gènes A-SAA pendant la phase aiguë	19
Figure 7: mécanisme schématisé de la formation de l'amylose de type AA.....	21
Figure 8 : Principe de la technique de PCR.....	27
Figure 9 : séquence amplifiée.....	28
Figure 10 : Répartition par sexe des patients atteints de FMF	35
Figure 11 : Les profils de restriction obtenus par les deux enzymes de restriction <i>BanI</i> et <i>BclI</i>	36
Figure 12: Fréquences génotypiques dans le locus SAA1 des trois groupes d'individus	38
Figure 13: fréquences alléliques dans le locus SAA1 des trois groupes d'étude	39

Liste de tableaux :

Tableau I : Prévalence de l'amylose AA au cours de certaines MAI	Erreur ! Signet non défini.
Tableau II : Critères de diagnostic Tel-Hashomer.....	Erreur ! Signet non défini.
Tableau III: Critères simplifiés de Livneh.....	Erreur ! Signet non défini.
Tableau IV: Tableau de contingence 2×2	Erreur ! Signet non défini.
Tableau V: Fréquences génotypiques dans le locus SAA1 de patients FMF avec et sans amylose et des témoins	Erreur ! Signet non défini.
Tableau VI: Comparaison des fréquences alléliques du gène SAA1 chez les trois groupes d'individus analysés	Erreur ! Signet non défini.
Tableau VII : résultats de la régression logistique	40

Introduction

La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) appartient au groupe des maladies auto-inflammatoires monogéniques. Elle affecte essentiellement les populations originaires du bassin Méditerranéen comme les Juifs non-Ashkénazes, les Arméniens, les Arabes et les Turques (Guz *et al.*, 2009).

La FMF est causée par des mutations qui touchent le gène *MEFV* (MEditerranean FeVer) localisé sur le bras court du chromosome 16 humain (Pras *et al.*, 1992). Cliniquement, elle évolue par des crises fébriles récurrentes accompagnées souvent de douleurs abdominales, thoraciques et/ou articulaires. Les épisodes inflammatoires de la FMF s'accompagnent d'une élévation de médiateurs de l'inflammation, comme les cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF- α) qui induisent la synthèse hépatique de protéines de la réaction inflammatoire, en particulier la SAA1 (*Serum Amyloid A*) (Ozdemir *et al.*, 2015; Yashiro *et al.*, 2018). Une concentration maintenue élevée de la SAA1 est à l'origine de la survenue de l'amylose rénale de type AA, principale complication de la FMF, qui peut conduire à une insuffisance rénale terminale et au décès du patient, en absence de tout traitement (Grateau *et al.*, 2005; van der Hilst *et al.*, 2005).

Parmi les gènes modificateurs qui peuvent influencer le développement de cette complication rénale figure au premier rang le gène de la SAA1. Deux polymorphismes bi-alléliques dans l'exon 3 du gène *SAA1*, C3010T et C2995T, déterminent 3 haplotypes : SAA1 α (SAA1.1), SAA1 β (SAA1.5) et SAA1 γ (SAA1.3). L'homozygotie pour l'allèle *SAA1a* a été surtout liée au développement de l'amylose rénale (van der Hilst, 2011).

L'amylose rénale AA a été rapportée avec différentes incidences entre les différentes populations (Said *et al.*, 1992). En Algérie, l'exploration du polymorphisme du gène *SAA1* dans le développement de l'amylose rénale secondaire à la FMF reste insuffisante.

Dans notre cas, il s'agit d'une étude rétrospective (cas-témoins) qui vise à analyser des résultats déjà obtenus afin de faire ressortir l'influence des polymorphismes dans le gène *SAA1* sur la survenue de l'amylose rénale AA chez des patients FMF Algériens. Ainsi, le travail présenté dans le cadre de ce mémoire a été organisé en trois parties qui portent sur :

- Une synthèse bibliographique,
- Les méthodes d'analyse génétique appliquée à la thématique étudiée.
- Une étude cas-témoins (application).

Partie I :
Données bibliographiques

I- La fièvre méditerranéenne familiale

1. Définition

La fièvre méditerranéenne familiale est une maladie héréditaire à transmission autosomique récessive. Elle est la plus fréquente des maladies auto inflammatoires mono-géniques (Georgin-Lavialle *et al.*, 2018). Le premier cas a été décrit par Janeway et Mosenthal en 1908, et le nom « fièvre méditerranéenne familiale » a été proposé en 1955 par Heller et depuis lors accepté à l'échelle mondiale (Ben-Chetrit and Levy, 1998)

2. Epidémiologie

La FMF est presque toujours limitée aux Turques, aux Arméniens, aux Arabes et aux Juifs non-Ashkénazes. C'est une maladie assez rare dans le reste du monde, bien que des cas de FMF aient été signalés dans des pays européens tels que la France, l'Allemagne, l'Italie et l'Espagne, ainsi qu'aux États-Unis et en Australie (Ben-Chetrit et Touitou, 2009). Les cas observés dans les populations non originaires du bassin Méditerranéen peuvent être expliqués par les flux migratoires ; les pays qui ont accueilli les individus ayant des origines Méditerranéennes comptent de nombreux cas de FMF (Ebrahimi-Fakhari, 2012 ; Yilmaz, 2012).

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. L'Arménie est probablement le prochain pays où la FMF est répandue où la prévalence a été estimée à environ 1/500 (Ben-Chetrit and Touitou, 2009). Cependant, chez les populations Arabes, la prévalence de la FMF n'est pas connue) (Sarı *et al.*, 2014)

3. Signes cliniques de la FMF et la complication rénale

3.1 Symptomatologie de la FMF

La FMF est une maladie, généralement, à début pédiatrique. Elle débute avant l'âge de 20 ans dans 80% des cas, en moyenne à l'âge de 4 ans, et très rarement après l'âge de 40 ans (Koné-Paut, 2008).

La maladie peut se manifester différemment d'une personne à l'autre ou changer d'évolution au cours de la vie du patient. De même, différentes manifestations de la FMF ont été observées chez des populations d'origines ethniques diverses.

- 3.1.1 La fièvre :** c'est le symptôme cardinal de la maladie et peut atteindre 39-40°C. Elle dure en moyenne de 1 à 3 jours, ensuite elle régresse progressivement en quelques heures, et s'accompagne de frissons. Chez les jeunes enfants, la fièvre peut être la seule manifestation de la FMF (Koné-Paut, 2008)
- 3.1.2 Les douleurs abdominales :** résultent de l'inflammation du péritoine et constituent avec la fièvre les signes cardinaux de la FMF. Elles sont observées chez plus de 90% des patients, et simulent souvent une appendicite conduisant à une appendicectomie inutile (Lamoril *et al.*, 2001).
- 3.1.3 Les atteintes articulaires :** sont présentes dans 40 à 70% des cas de FMF (Lidar *et al.*, 2005).
- 3.1.4 Les atteintes pleurales :** observées chez 45% des patients. L'atteinte thoracique se traduit par une pleurésie aigue unilatérale, qui survient au cours des accès en association avec la fièvre et les douleurs abdominales, et régresse totalement en 24 à 48 heures (Lega *et al.*, 2010).
- 3.1.5 Les myalgies :** Environ 20% des patients présentent des myalgies au cours de la FMF (Langevitz *et al.*, 2000).

3.2 Complication rénale liée à la FMF

L'amylose rénale de type AA est la complication évolutive la plus grave de la FMF, car elle conduit rapidement à une insuffisance rénale terminale et au décès du patient, en absence de tout traitement (Grateau *et al.*, 2005).

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

- 3.2.1 La phase préclinique :** durant laquelle des dépôts amyloïdes peuvent être détectés au sein des organes mais sans retentissement clinique (Youakim *et al.*, 2004). La recherche de protéinurie est négative et le diagnostic ne pourrait être fait que par un examen histologique rénal systématique (Vinceneux and Pouchot, 2005a). Cette phase se déroule sur plusieurs années et la médiane de la durée d'évolution de la maladie inflammatoire précédant l'apparition de signes cliniques est de 15 à 18 ans (Grateau, 2006).
- 3.2.2 La phase protéinurique :** la phase préclinique est suivie d'une phase clinique dont le signe révélateur est essentiellement la protéinurie (Grateau, 2006). La protéinurie reste le premier signe détectable de l'amylose AA (Grateau *et al.*,

2005). Elle 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, 2005).

3.2.3 La phase néphrotique : La néphropathie amyloïde devrait être dépistée par la recherche de protéinurie au cours de toute maladie inflammatoire chronique, comme la néphropathie diabétique est dépistée par la recherche de la micro albuminurie. La néphropathie amyloïde évolue naturellement vers le syndrome néphrotique et l'insuffisance rénale chronique, dans un délai de 2 à 10 ans (Vinceneux and Pouchot, 2005) (Grateau, 2006).

3.2.4 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 était 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).

4 Le gène MEFV

Le gène responsable de la FMF, le *MEFV* (Mediterranean FeVer) a été identifié dans la région 16p13.3 du chromosome 16 humain. Il a été identifié par la démarche de clonage positionnel basée sur l'analyse des marqueurs génétique lié au gène morbide. La position de ce gène a été située dans une région de 60kb entre les deux marqueurs D16S2617 (télomère) et D16S3373 (centromère) (Consortium, 1997a; Consortium, 1997b).

Le *MEFV* comprend 10 exons et s'étend sur une région de 14 Kb. Il est transcrit en ARN messager de 3.7 Kb, qui code pour une protéine de 781 acides aminés, appelée pyrine par le consortium international (Consortium, 1997b) et marénostrine par le consortium Français (Consortium, 1997a) (Figure 1).

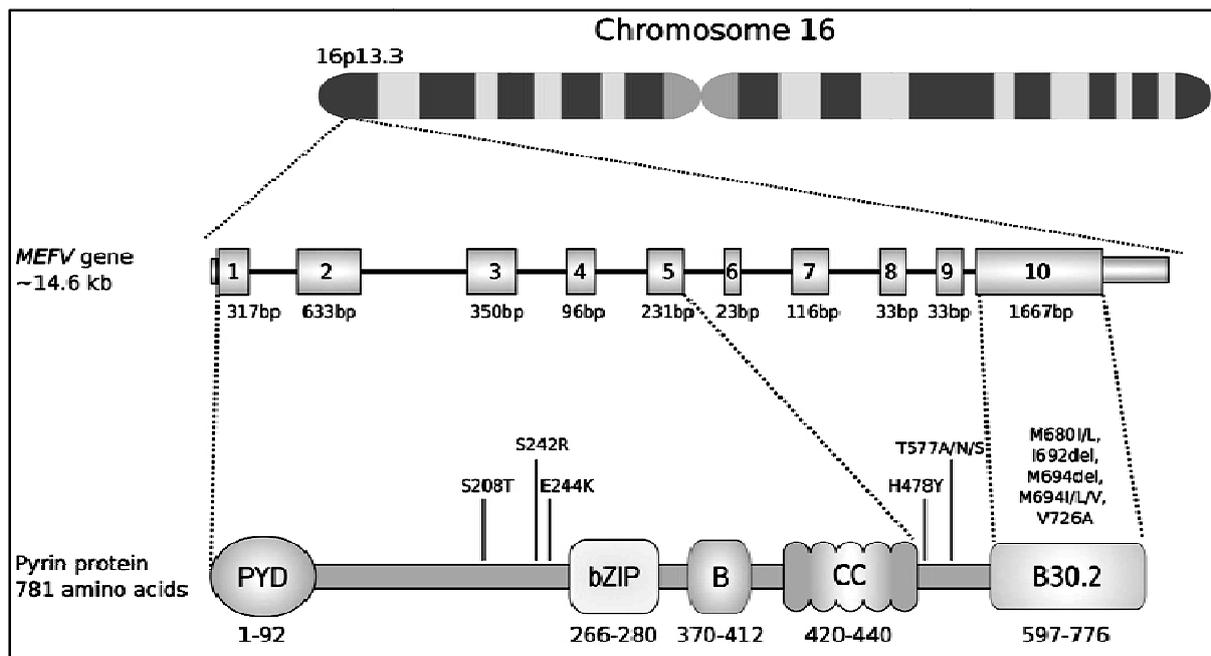


Figure 1: Schéma montrant la structure du gène *MEFV*, les mutations liées au *MEFV* et la structure de la pyrine/marénostrine (Schnappauf *et al.*, 2019)

4.1 Mutation du gène *MEFV*

De nombreuses variations de séquence touchant la totalité du gène *MEFV* ont été décrites depuis son identification. Actuellement, 378 variants ont été rapportés dans la base des données INFEVERS (<https://infevers.umai-montpellier.fr>). Une classification des variants nucléotidiques a été proposée selon leur incidence clinique :

i. 4.1.1 Les variants clairement pathogènes :

Un exemple typique est la mutation p.M694V situé dans l'exon 10. Cette mutation est la plus fréquente de toutes les mutations chez les patients méditerranéens et montre pénétrance quasi complète.

Selon la base des données Clin Var, neuf variants ont été rapportés comme pathogènes dans l'exon 10 du *MEFV* : p.A653H (c.1958G>A), p.M680I (c.2040G>A), p.M680I (c.2040G>C), p.T688T (c.2064C>G), p.I692del (c.2076_2078delAAT), p.M694V (c.2080A>G), p.M694del (c.2081_2083delTGA), p.M694I (c.2082G>A), p.V726A (c.2177T>C) (Figure 1) (Gaggiano *et al.*, 2019).

Parmi ces variants pathogènes, p.M694V, p.M694I, p.M680IGC et p.V726A et le variant p.E148Q (c.442G>C) dans l'exon 2 sont responsables de l'apparition de plus de 85% de cas

de FMF, mais avec une fréquence de distribution qui varie en fonction de la population concernée (Touitou, 2001).

ii. 4.1.2 Les variants de signification incertaine :

Ce sont des variants trouvés ou associé à la FMF, mais pas nécessairement causatifs :

- Il peut s'agir de variants initialement décrits comme pathogènes mais ultérieurement retrouvé dans la population générale avec une grande prévalence. C'est l'exemple de la variation p.E148Q identifiée dans l'exon 2. D'autres variants rentrent dans cette catégorie : p.K695R, p.P369S, p.F479L et p.I591T (Shinar *et al.*, 2012).
- Il peut s'agir de variants avec une information non disponible, c'est le cas des nouveaux variants identifiés. Ainsi leur implication réelle dans le tableau clinique du patient n'est pas connue (Shinar *et al.*, 2012).

iii. 4.1.3 Les Variants bénins

Ce sont des variants clairement définis comme n'étant pas la cause génétique de la maladie. Des polymorphismes bi-alléliques sont souvent rencontrés, comme p.R202Q et p.P706P (Shinar *et al.*, 2012).

D'autres variants ont été classés comme étant probablement pathogéniques et probablement bénins (Gaggiano *et al.*, 2019).

4.2 La Pyrine

La pyrine codée par le gène *MEFV* est une protéine 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 (Consortium, 1997b).

Elle est composée de 781 acides aminés (95 kDa) répartis en cinq domaines :

- Domaine pyrine (PYD) N-terminal codé par l'exon 1.
- Domaine bZIP basique.
- Domaine B-Box zinc finger.
- Domaine Coiled-Coil (CC).
- Domaine B30·2 (PRY-SPRY) C-terminal codé par l'exon 10.

5 Mécanismes physiopathologies de la FMF

La FMF appartient au groupe des inflammasomopathies définies comme étant dues à une anomalie génétique touchant les gènes qui codent pour des protéines qui agissent ou qui font partie des inflammasomes comme la pyrine et le NLRP3 (NLR family pyrin domain-containing 3 (ou NACHT, LRR and PYD domains-containing protein-3) (Georgin-Lavialle *et al.*, 2018).

Les inflammasomes sont des plateformes protéiques, qui en réponse à des signaux de danger, vont recruter la caspase-1, capable de cliver les pro-IL1 β et la pro-IL18 et aboutir à la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires IL1 et IL18. Dans ces maladies, le rôle de l'interleukine-1 (IL-1) est au premier plan (Georgin-Lavialle *et al.*, 2018).

5.1 Synthèse de l'IL-1

La pyrine a été impliquée dans la réaction inflammatoire par sa capacité à moduler la synthèse de l'IL-1 β , par sa capacité d'interaction avec les composants d'un inflammasome. L'inflammasome-NLRP3 est le mieux caractérisé. Il est formé :

- D'une molécule de NLRP3 appelée également cryopyrine. C'est un récepteur intracellulaire de la famille des NLR (NOD-Like Receptors) formé d'un domaine central NACHT (domain present in NAIP, CIITA, HET-E and TP1), d'un domaine PYD et d'un domaine LRR (Leucine Rich Repeats).
- La protéine ASC : protéine adaptatrice qui joue un rôle central dans l'assemblage de l'inflammasome. ASC est une protéine de 22 KDa à deux domaines, un domaine CARD C-Terminal et un domaine PYD N-Terminal.
- La protéine CARDINAL (CARD Inhibitor of Nuclear factor-kB Activating Ligand): protéine adaptatrice à deux domaines FIIND et CARD C-terminal.
- Deux molécules de pro-caspase-1 (Sidiropoulos *et al.*, 2008).

L'activation de l'inflammasome-NLRP3 requiert la conjonction de deux signaux véhiculés par deux classes de récepteurs de l'immunité innée, les TLR (Toll-Like receptors) et les NLR (NOD- Like receptors) qui appartiennent à la grande famille de récepteurs PRR (Pattern Recognition Receptors) (Jamilloux *et al.*, 2014; Zito *et al.*, 2020) (Figure 2) :

Le signal 1 : correspond le plus souvent à l'activation d'un TLR. Il conduit à l'activation du facteur de transcription cytoplasmique, le NF- κ B (Nuclear Factor- κ B) qui induit l'expression du gène de la pro-IL-1 β , précurseur de l'IL-1 β .

Le signal 2 : stimule l'activation de l'inflammasome-NLRP3 et la libération de l'IL-1 β mature. Le NLRP3 peut être activé par plusieurs ligands comme les motifs microbiens conservés ou PAMP (Pathogen-Associated Molecular Patterns) et les signaux de danger ou DAMP (Damage-Associated Molecular Patterns). Leur activation conduit à un changement conformationnel qui permet l'interaction de ces récepteurs intracellulaires avec d'autres protéines du complexe de l'inflammasome.

NLRP3 interagit avec la protéine adaptatrice ASC par des interactions homotypiques de type PYD-PYD. La protéine ASC sert d'adaptateur entre le récepteur et la procaspase-1. ASC interagit alors par son domaine C-terminal CARD (Caspase Recruitment Domain) avec le domaine CARD de la procaspase-1. L'autre protéine adaptatrice, CARDINAL, permet le rapprochement d'une autre procaspase-1 au complexe. La juxtaposition de deux molécules de procaspase-1 permet leur activation par clivage protéolytique et libération de la caspase-1 active contenant les deux sous-unités p20 et p10.

La caspase-1 active convertit ensuite la pro-IL-1 β et la pro-IL-18 en leurs formes actives par clivage des pro-domaines ce qui permet leur sécrétion (Sidiropoulos *et al.*,2008a; Jamilloux *et al.*,2014;.Zito*etal.*,2020)

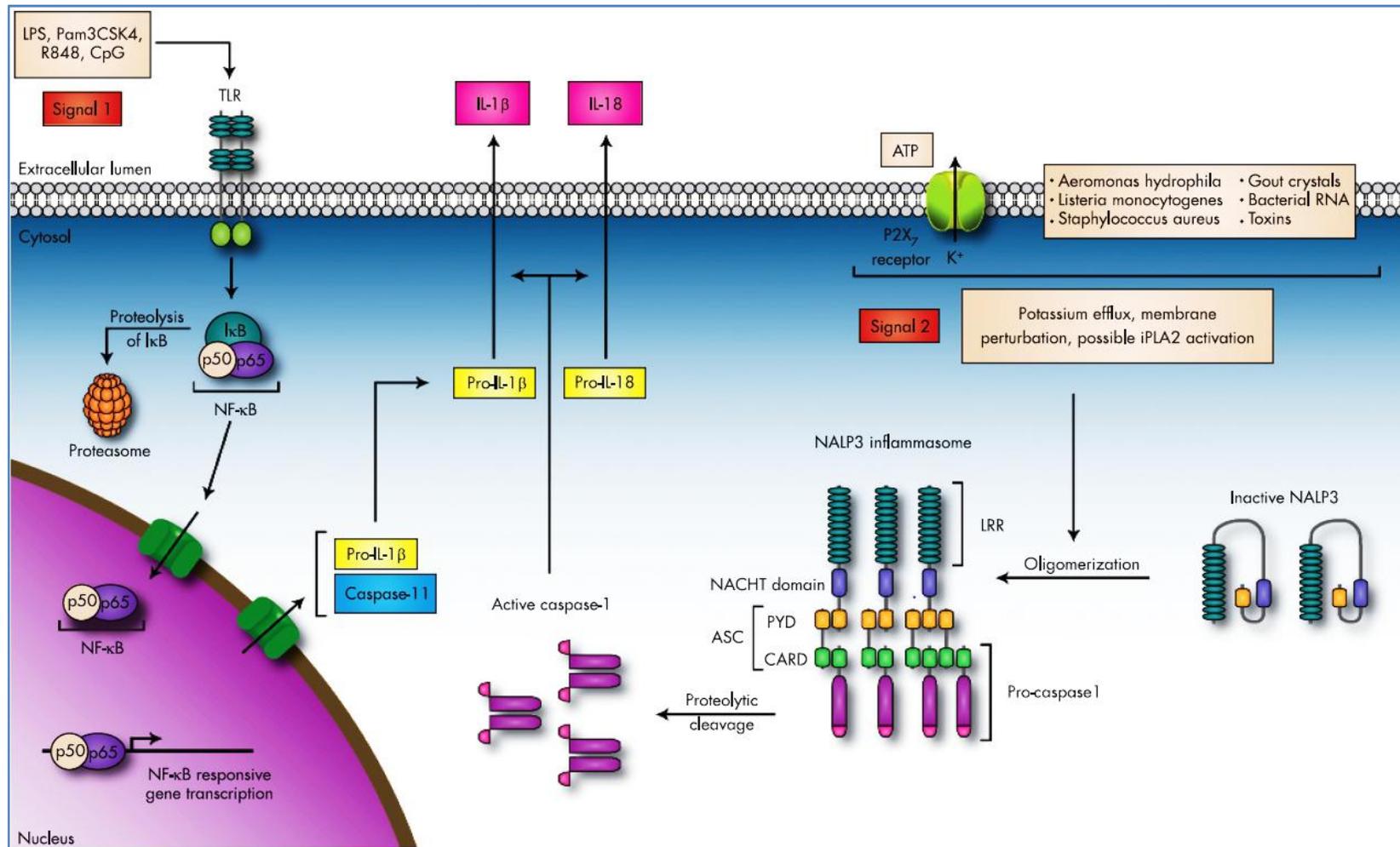


Figure 2: Schéma d'activation de l'inflammasome-NLRP3 (Sidiropoulos *et al.*, 2008b)

5.2 Rôle de la pyrine dans la pathogénie de la FMF

La pyrine est impliquée dans la régulation de la réponse inflammatoire. La levée de cette inhibition par la production d'une protéine anormale dans le cas de la FMF, serait à l'origine d'une réaction inflammatoire inappropriée provoquant les accès de la maladie.

Le rôle anti-inflammatoire de la pyrine consiste à inhiber la production de l'IL-1 β , grâce aux interactions avec les composants de l'inflammasome-NLRP3 (Bozkurt *et al.*, 2015)(Figure 3) :

- a) La pyrine en se liant à ASC par le domaine PYD empêche celle-ci de participer à la formation de l'inflammasome-NLRP3 (Figure 3,1). Par conséquent, la caspase-1 n'est plus recrutée au complexe de l'inflammasome, ce qui a comme conséquence une inhibition du processus de maturation de la pro-IL-1 β (Yasemin Bozkurt, 2015)
- b) Des travaux ont montré que la pyrine était capable de se lier directement par l'intermédiaire de son domaine C-terminale B30.2 à la caspase-1 et à la procaspase-1, empêchant ainsi la sécrétion de l'IL-1 β (Figure 3, 2). Au cours de la FMF, la majorité des mutations associées au phénotype sévère de la FMF se situent dans le domaine B30.2. Ainsi, les interactions entre ce domaine et les sous unités p20/p10 sont altérées, ce qui conduit à une sécrétion exagérée de la forme mature de l'IL-1 β (Chae *et al.*, 2006).
- c) La pyrine est également capable de se lier directement à la pro-IL-1 β ce qui va inhiber la sécrétion de l'IL-1 β (Chae *et al.*, 2006).

Ainsi, la dérégulation de l'activité de l'inflammasome-NLRP3 due à la pyrine mutée a été proposée comme mécanisme principal pour expliquer physiopathologie de la FMF.

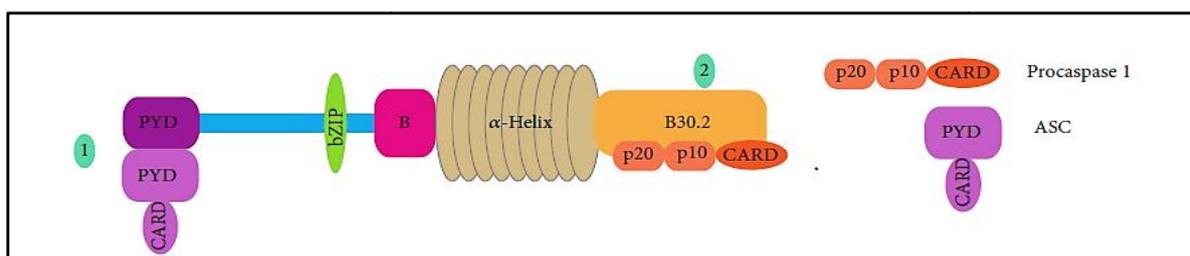


Figure 3: Schéma montrant les interactions entre la pyrine et les autres composants de l'inflammasome-NLRP3 (Bozkurt *et al.*, 2015)

1 : La pyrine se lie à ASC par le domaine PYD empêche celle-ci de participer à la formation de l'inflammasome-NLRP3.

2 : la pyrine se lie directement par l'intermédiaire de son domaine C-terminale B30.2 à la caspase-1 et à la procaspase-1.

II- L'amylose rénale AA au cours de la FMF

Le terme "amyloïdes" a été introduit dans la littérature médicale en 1845 par Rudolph Virchow lorsqu'il décrit des dépôts qui prennent la même couleur que la cellulose avec l'iode (Cuchard *et al.*, 2012). Les amyloses forment un groupe hétérogène de maladies qui résultent de dépôts extracellulaires de protéines capables d'adopter une conformation fibrillaire en feuillet β (bêta) plissé qui les rend insolubles et résistantes à la protéolyse (Cuchard *et al.*, 2012; Jaccard and Fermand, 2004).

Dans l'amylose de type AA, la protéine amyloïde est la protéine AA, qui dérive par clivage de la protéine Serum Amyloid Associated protein (SAA), une des protéines majeures de la réaction inflammatoire (Stojanovic *et al.*, 2017). L'amylose AA accompagnant la FMF est une amylose réactionnelle associée à un état inflammatoire chronique et touchant principalement le rein. En effet, l'amylose AA réactive est habituellement associée aux maladies inflammatoires et/ou infectieuses chroniques (Jaccard and Fermand, 2004). L'atteinte rénale au cours des amyloses est fréquente et le plus souvent inaugurale. Elle se voit dans plus de 90% des cas au cours des amyloses AA, et dans 50-60% au cours des amyloses AL (Jaccard and Fermand, 2004).

La survenue d'une amylose au cours de la FMF transforme une affection invalidante mais bénigne en une maladie mortelle, avec une quasi-certitude. Le traitement continu par la colchicine, utilisé depuis 1972, prévient le développement de l'amylose dans la plupart des cas (Vinceneux and Pouchot, 2005a).

1. Epidémiologie de l'amylose AA

Dans le monde, l'amylose AA est la fréquente des amyloses systémiques. Dans la population espagnole, des études réalisées sur six séries de patients ont montré une large prévalence de l'amylose AA (56- 72%) (Real de Asúa *et al.*, 2014). Au Royaume Uni, l'amylose AA occupe le 3^{ème} rang parmi les amyloses systémiques, avec une incidence de 10% de nouveaux cas par an (Pinney and Lachmann, 2012).

La prévalence de l'amylose AA est variable en fonction des groupes ethniques. Elle touche 60 % des Turcs, 27 % des Juifs non ashkénazes, et 1 à 2 % des Arméniens vivant aux États-Unis d'Amérique. En l'absence de traitement, chez les patients juifs nord-africains, la fréquence de l'amylose augmente progressivement avec l'âge et touche jusqu'à 75% des personnes âgées de plus de 43 ans (Mimouni *et al.*, 2000). Cette distribution inégale a fait discuter l'intervention d'une hétérogénéité génétique selon les ethnies ou d'un facteur d'environnement géographique, dans la survenue de l'amylose (Vinceneux and Pouchot, 2005a).

Cependant, l'incidence de l'amylose AA est en diminution dans les pays occidentaux. Cela a été attribué à une diminution significative des infections chroniques, ainsi qu'à des thérapies améliorées pour les maladies inflammatoires (Reddy *et al.*, 2018).

2. L'amylose AA au cours des maladies auto-inflammatoires

Plusieurs étiologies peuvent être à l'origine de l'amylose AA, comme les maladies inflammatoires chroniques, les maladies d'origine infectieuse et les maladies malignes. En absence de tout traitement, la survenue de l'amylose rénale AA varie en fonction des différentes maladies auto-inflammatoires (Tableau I) (Obici and Merlini, 2012).

Tableau I: Prévalence de l'amylose AA au cours de certaines MAI (Obici and Merlini, 2012)

Maladie auto-inflammatoire	Prévalence de l'amylose AA
FMF (Fièvre Méditerranéenne familiale)	Environ 50%
TRAPS (TNF receptor-associated periodic syndrome)	10- 20%
HIDS (Hyper-IgD syndrome)	<10%
Cryopyrinopathies	<10% - environ 25%

Ainsi, la FMF apparaît comme la principale cause de l'amylose AA, avant qu'un traitement efficace ne soit disponible. Cependant, elle reste la principale cause de décès, même après introduction du traitement à la colchicine (Akar *et al.*, 2012; Twig *et al.*, 2014).

Tous les patients atteints de FMF ne développent pas d'amylose AA. L'amylose survient généralement chez les patients présentant des crises inflammatoires précoces et sévères, c'est le phénotype 1 de la FMF. Cependant, une amylose peut survenir dans d'autres circonstances, et même chez des patients sans crise inflammatoire ; c'est le phénotype 2 de la FMF qui est rare (Grateau *et al.*, 2005).

Comme pour la FMF, Le pronostic à long terme des TRAPS peut être compromis par le développement de l'amyloïdes AA. Des études estiment qu'environ 20 % des patients atteints de TRAPS développer cette complication. L'amylose associée aux TRAPS pourrait être déterminé en partie par des facteurs génétiques. En fait, la plupart des cas d'amylose ont été signalés chez des patients présentant une mutation des résidus de cystéine. Toutefois, cela n'est pas exclusif, car les mutation non liées à la cystéine peuvent être associé à l'amylose (Grateau *et al.*, 2005).

3. La famille des gènes SAA

3.1 Structure et organisation

Chez l'homme, la famille des gènes de la SAA comprend quatre membres : *SAA1*, *SAA2*, *SAA3* et *SAA4* qui forment un cluster dans une région de 150 kb du chromosome 11p15.1 (Figure 4, A) (Sellar *et al.*, 1994). L'ordre des gènes dans cette région a été précisé par la cartographie utilisant des enzymes de restriction ; la famille des gènes SAA se situe entre les gènes LDHA et TPH. LDHA est à 135- 155 kb en amont de SAA1 et TPH est à 35- 85 kb de SAA3. Ainsi l'ordre des gènes dans ce locus est comme suit : *LDHC- LDHA- SAA1- SAA2- SAA4- SAA3- TPH* (Figure 4, B) (Sellar *et al.*, 1994). Les gènes *SAA1* et *SAA2* sont espacés de 18 kb dans une orientation transcriptionnelle opposée, alors que le gène *SAA4* est situé à 11 kb en aval de *SAA2* et sont dans la même orientation : 3'(SAA1)5'- 18kb- 5'(SAA2)3'- 11 kb- 5'(SAA4)3' (Figure 4, A, B) (Kluve-Beckerman and Song, 1995).

Les gènes *SAA1* et *SAA2* sont inductibles dans les conditions inflammatoires et codent respectivement pour les formes inductibles de la SAA, SAA1 et SAA2 désignées A-SAA (Acute phase-SAA). Le gène *SAA4* code l'isoforme constitutive SAA4 (C-SAA) alors que le *SAA3* est un pseudogène (Jensen and Whitehead, 1998). Cependant, des travaux ont montré que le gène *SAA3* était inductible par la prolactine et le lipopolysaccharide dans les cellules épithéliales humaines des glandes mammaires (Larson *et al.*, 2003). Les gènes SAA contiennent quatre exons et trois introns, à l'exception du gène *SAA3* qui est formé de trois exons et de deux introns (De Buck *et al.*, 2016a).

La région promotrice des gènes inductibles *SAA1* et *SAA2* contiennent des séquences de reconnaissance de facteurs de transcriptions, NF-κB (Nuclear Factor-kappa B) et NF-IL6 (Nuclear Factor for Interleukin-6), permettant leur induction en réponse aux cytokines pro-inflammatoires, l'IL-1β, l'IL-6 et le TNF-α. De plus, une séquence d'activation SAA, qui est un site de liaison pour le facteur de transcription SAF (SAS-binding factor) (Uhlar and Whitehead, 1999). La région promotrice du gène *SAA4* diffère de celle des autres gènes SAA. Le promoteur du gène *SAA4* ne contient pas la séquence CTGGGA typique de certaines protéines de la phase aigüe ainsi que la séquence permettant la fixation du facteur de transcription NF-IL6 (TTACACAA). De plus, ce gène contient uniquement une séquence de reconnaissance du NF-κB mais tronquée (GACTTT), au lieu d'une séquence complète (GGGACTTCC) (Steel *et al.*, 1993; De Buck *et al.*, 2016a).

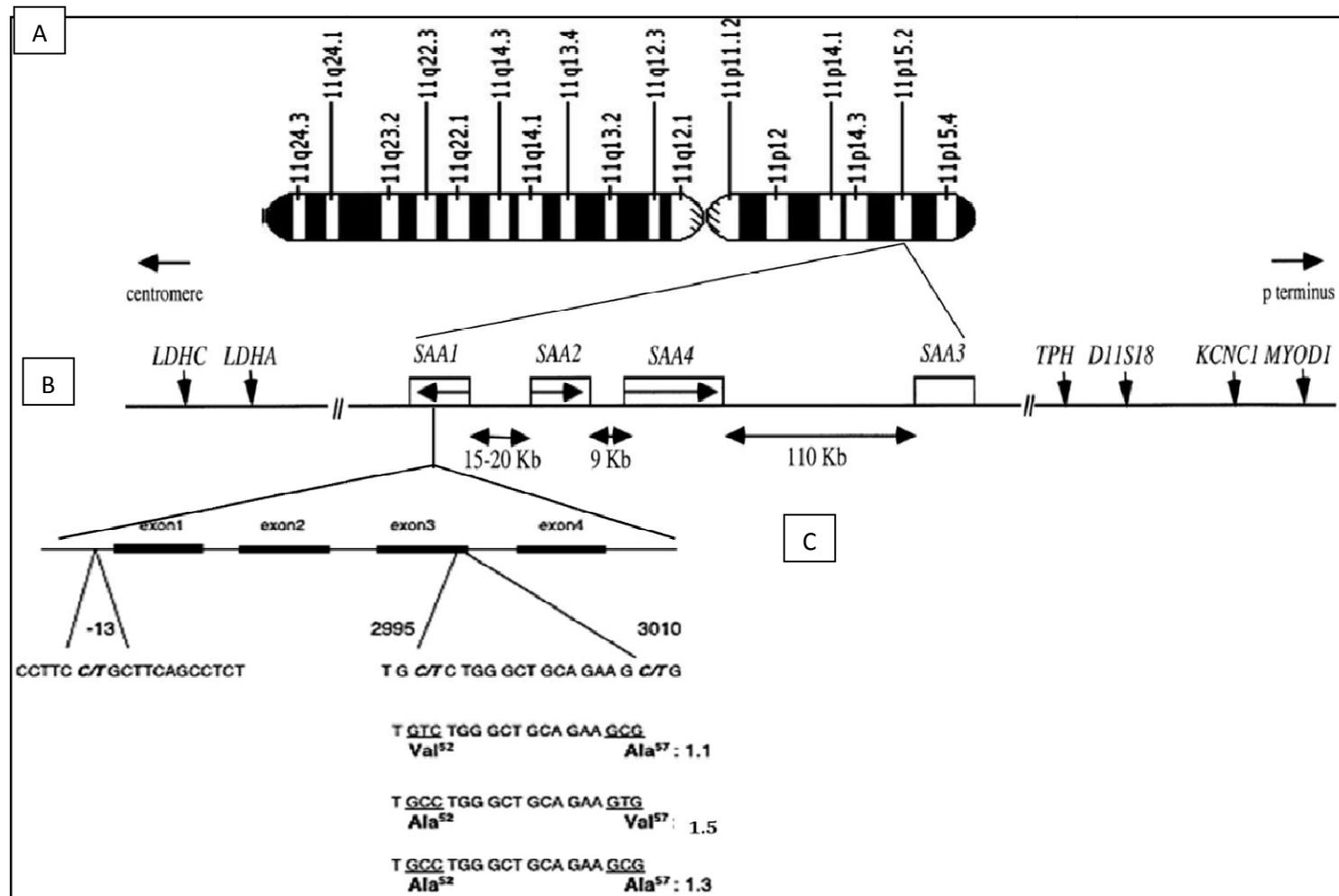


Figure 4: Famille des gènes SAA : leur position et leur orientation sur le chromosome 11 humain (A, B). Structure du gène SAA1 et les polymorphismes associés (C) (Uhlar and Whitehead,1999;Ajiro *et al.*, 2006b)

3.2 Polymorphismes des gènes SAA inductibles et leur implication dans l'amylose AA

Par la présence de polymorphismes, le gène *SAA1* présente au moins trois variants alléliques SAA1.1, SAA1.2 et SAA1.3, alors que le gène *SAA2* présente deux variants alléliques, SAA 2.1 et SAA 2.2 (Uhlar and Whitehead, 1999). Chacun de ces variants code pour une protéine SAA qui lui correspond : SAA1 α (SAA1.1), SAA1 β (SAA1.5), SAA1 γ (SAA1.3), SAA2 α (SAA2.1) et SAA2 β (SAA2.2) (Uhlar and Whitehead, 1999; De Buck *et al.*, 2016a).

Deux polymorphismes bi-alléliques ou SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) situés dans l'exon 3 du gène *SAA1* : 2995C/T (rs1136743) et 3010 C/T (rs1136747) définissent trois haplotypes et trois isoformes de la SAA1 (Ajiro *et al.*, 2006b; Moriguchi *et al.*, 2001) (Figure 4, C) :

- L'haplotype SAA1 α (SAA1.1) : 2995T- 3010C qui code pour la SAA1.1 (Val52-Ala57).
- L'haplotype SAA1 β (SAA1.5) : 2995C- 3010T qui code pour la SAA1.5 (Ala52-Val57).
- L'haplotype SAA1 γ (SAA1.3) : 2995C- 3010C qui code pour la SAA1.3 (Ala52-Ala57).

Les polymorphismes dans le gène de la SAA1 constituent un facteur de risque génétique pour le développement de l'amylose AA, avec des fréquences variables entre les groupes ethniques. Chez les Caucasiens, l'allèle *SAA1.1* est retrouvé avec une fréquence de 76% et l'homozygotie pour cet allèle augmente le risque de développer l'amylose AA chez les patients FMF (Moriguchi *et al.*, 1999; Yilmaz *et al.*, 2003). Chez la population Japonaise, le risque de développer l'amylose rénale AA secondaire à la polyarthrite rhumatoïde a été lié à l'allèle SAA1.3. Les patients homozygotes pour cet allèle présentent un risque de 8 de développer cette complication (Moriguchi *et al.*, 2001).

Les isoformes de la SAA1 codées par les différents allèles du gène *SAA1* résultent de changements des acides aminés en position 52 et 57 (Figure 5). Un autre variant SAA1 β (SAA1.2) a été rapporté, où l'aspartate (D) remplace une glycine (G) en position 72. Le second variant SAA1 β (SAA1.4) contient une asparagine (N) en position 60 à la place de

l'aspartate (D). Ces deux derniers variants sont très peu fréquents (Sun and Ye, 2016; Zhang *et al.*, 2019).

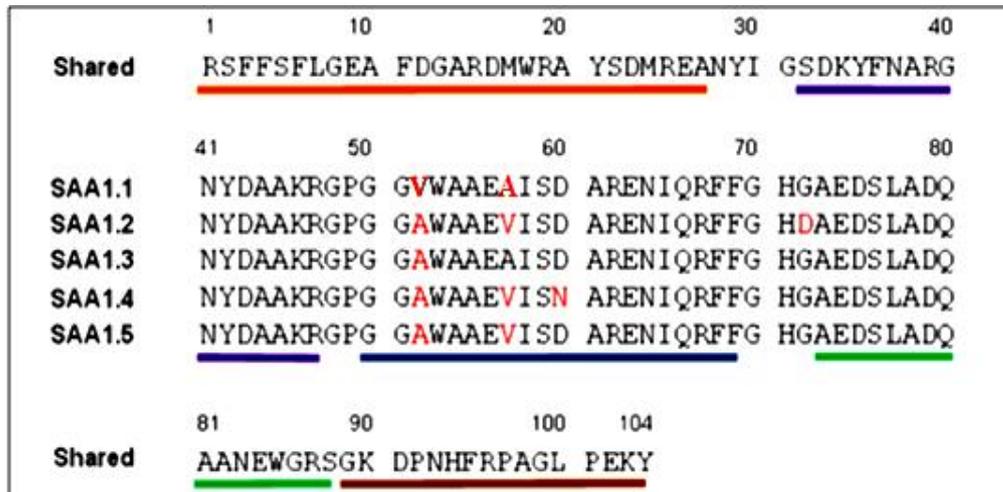


Figure 5: Représentation schématique des isoformes de la SAA1 et de ses variations de séquence (Sun and Ye, 2016)

4. Régulation transcriptionnelle du gène SAA1 par les cytokines pro-inflammatoires

SAA1 code une pré-protéine de 122 acides aminés, dont un peptide signal de 18 acides aminés. Le clivage du peptide signal donne une protéine SAA1 mature de 104 acides aminés qui est sécrétée par les hépatocytes et libérée dans la circulation sanguine. En raison de la production massive de SAA1 et SAA2 (A-SAA) pendant la phase aiguë, le niveau plasmatique de ces protéines SAA augmente jusqu'à 1 000 fois par rapport au taux normal (Jensen and Whitehead, 1998; Uhlar and Whitehead, 1999; Zhang *et al.*, 2019). Une synthèse extra-hépatique de la SAA inductible a été rapportée dans les monocytes/macrophages. Cette synthèse fait impliquer le facteur de transcription SAF (Uhlar and Whitehead, 1999; De Buck *et al.*, 2016b).

Au cours de la phase aiguë, la stimulation hépatique est induite, principalement, par les cytokines pro-inflammatoires, l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α . Ces médiateurs agissent en se liant à leurs récepteurs respectifs à la surface des hépatocytes et activent un ensemble de facteurs de transcription (De Buck *et al.*, 2016a; Uhlar and Whitehead, 1999; Zhang *et al.*, 2019). De plus, chacune de ces cytokines peut agir en synergie avec IL6 pour augmenter l'expression de SAA. Chez l'homme, la transcription des gènes *A-SAA* est sous la dépendance de quatre facteurs de transcription: NF- κ B, NF-IL6 (C/EBP β , CCAAT/Enhancer Binding Proteins), NF-IL6 β (C/EBP δ) et SAF. La fixation de ces facteurs de transcription au promoteur du gène

A-SAA induit la transcription de l'ARNm et la synthèse de la SAA1/2 (Figure 6) (De Buck *et al.*, 2016b; Jensen and Whitehead, 1998; Uhlar and Whitehead, 1999).

Le signal induit par la fixation de l'IL-1 et de l'IL-6 à leurs récepteurs aboutit à la phosphorylation du facteur de transcription NF-IL6 qui transloque vers le noyau pour l'induction des gènes de la phase aiguë, en plus de l'induction du gène d'un autre facteur de transcription NF-IL6 β . Le NF-IL6 β nouvellement synthétisé pénètre dans le noyau et contribue à la transcription de gènes de la phase aiguë comme les gènes SAA1 et SAA2 (Jensen and Whitehead, 1998).

Le signal véhiculé par le récepteur de l'IL-1 et le récepteur du TNF- α aboutit à la phosphorylation de I κ B, une protéine inhibitrice du NF- κ B. La phosphorylation de I κ B conduit à sa dégradation dans la voie du protéasome et à la libération du NF- κ B qui va alors transloquer vers le noyau pour induire les gènes A-SAA (Jensen and Whitehead, 1998; Zhang *et al.*, 2019).

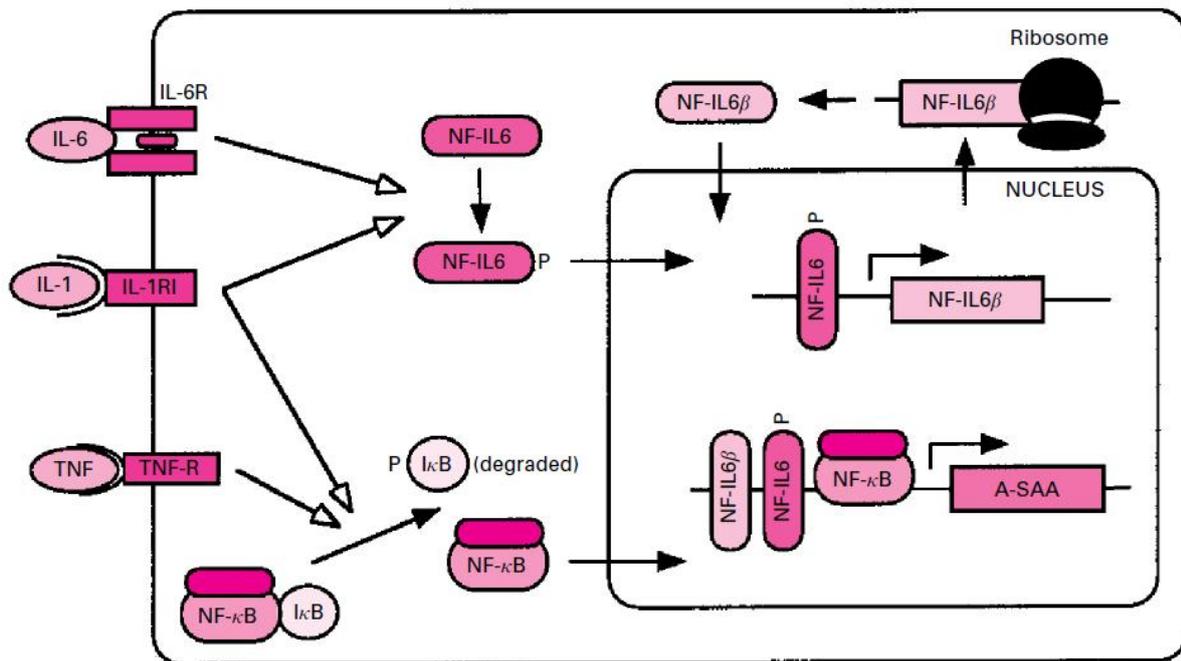


Figure 6: Activation des facteurs de transcription qui permettent d'augmenter la transcription des gènes A-SAA pendant la phase aiguë (Jensen and Whitehead, 1998)

5. Mécanisme pathogénique de l'amylose AA

Une synthèse maintenue de la SAA1 est une condition préalable dans le développement de l'amylose AA au cours des maladies auto-inflammatoires et d'autres maladies inflammatoires chroniques (Grateau, 2006; Obici and Merlini, 2012).

La SAA est le précurseur de la protéine amyloïde AA présente dans les dépôts amyloïdes (Grateau, 2006). Les deux isoformes inductibles, SAA1 et SAA2, peuvent être présentes dans les dépôts amyloïdes, mais l'isoforme SAA1 est majoritaire, ce qui indique que des résidus d'acides aminés spécifiques prédisposent au mauvais repliement ou qu'il existe des différences dans le catabolisme de ces 2 protéines (Obici *et al.*, 2009).

Bien que la taille de la SAA produite par le foie soit composée de 104 acides aminés, les fibrilles amyloïdes trouvées chez les patients avec l'amylose AA consistent principalement en une accumulation de 76 acides aminés N-terminaux de cette protéine (van der Hilst *et al.*, 2005). Dans des conditions normales, la SAA est complètement dégradée dans les macrophages sans l'apparition des fibrilles amyloïdes. Durant la phase aiguë, la concentration sérique de la SAA1 peut atteindre 1000mg/l. 90% de la SAA synthétisée se lie aux HDL (high-density lipoproteins). Après dissolution des particules HDL, la SAA est internalisée par les macrophages où elle atteint le compartiment lysosomal pour être clivée par les cathepsines. Dans les conditions normales, cette dégradation est complète. Au contraire, chez les patients ayant développé une amylose AA, la dégradation est incomplète ce qui conduit à la formation de fragments intermédiaires de 76 acides aminés après clivage de la partie C-terminale. Ces fragments vont ensuite adopter une conformation en feuillet β sous l'effet du pH acide des lysosomes (van der Hilst *et al.*, 2005). Dans les espaces extracellulaires, plusieurs autres composants s'associent aux fibrilles amyloïdes, comme les glycosaminoglycanes, la SAP (Serum Amyloid P) et les composants lipidiques, ce qui confère à cette structure une résistance à la protéolyse (Figure 6) (Van der Hilst *et al.*, 2005; Obici *et al.*, 2009; Rumjon *et al.*, 2012;).

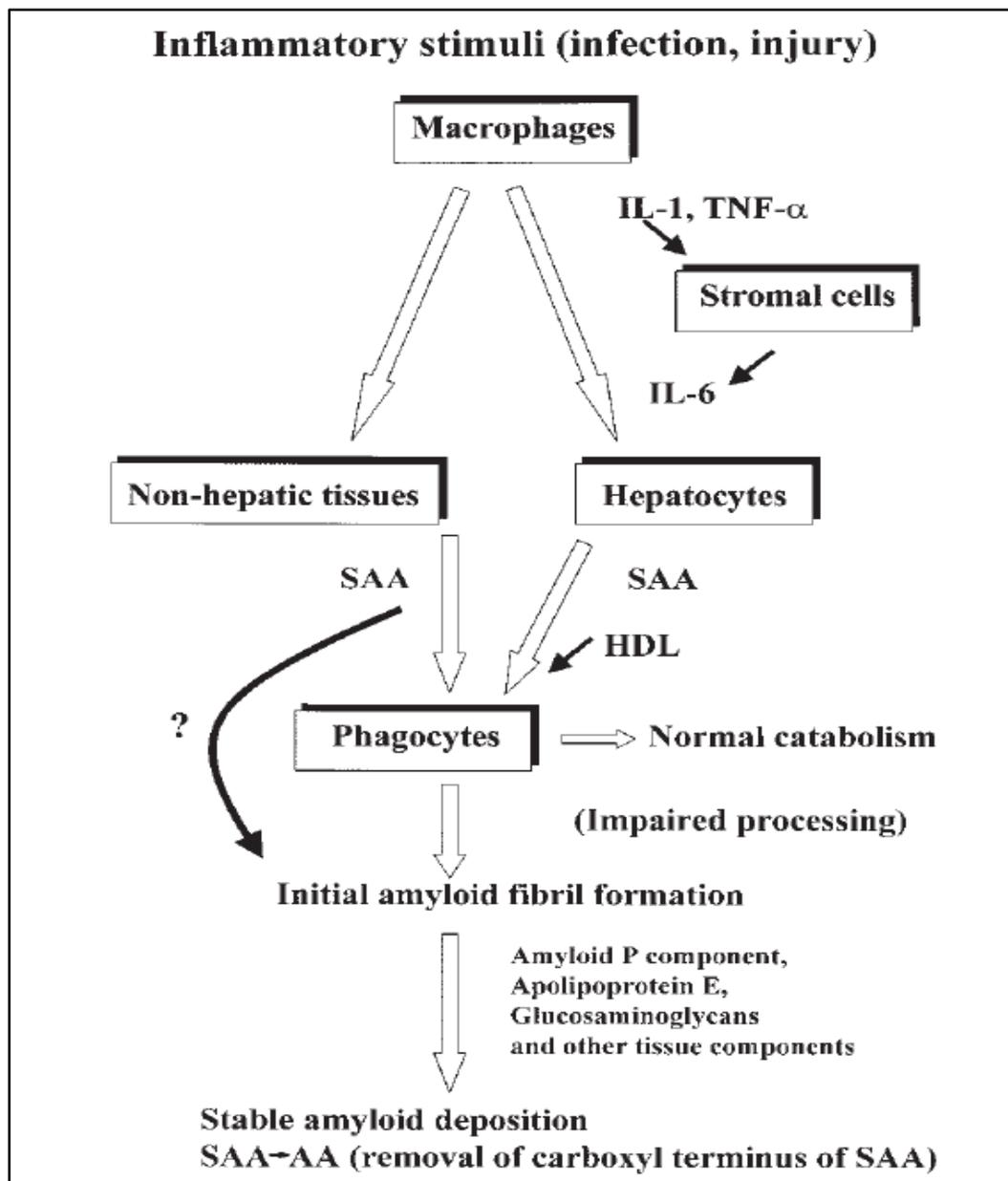


Figure 7: mécanisme schématisé de la formation de l'amylose de type AA (Yamada, 1999)

6. Les facteurs influençant la survenue de l'amylose AA

6.1 Facteurs génétiques : le gène *MEFV*

La mutation p.M694V située dans l'exon 10 du gène *MEFV* a été liée au phénotype sévère de la FMF, en particulier au développement de l'amylose rénale AA (Gangemi *et al.*, 2018). Cette mutation a été associée au développement de l'amylose rénale en Turquie (Kasifoglu *et al.*, 2014) et en Israël (Grossman *et al.*, 2019). Au contraire, chez les patients FMF Algériens avec amylose rénale AA, c'est la mutation p.M694I qui a été principalement identifiée (Ait-Idir *et al.*, 2017).

6.2 Métalloprotéases

Les métalloprotéases (MMP) constituent un ensemble de protéases impliquées dans le remodelage de la matrice extracellulaire. La présence de MMP-1, MMP-2 et MMP-3 dans les dépôts amyloïdes AA a été démontrée par les techniques d'immunohistochimie (Müller *et al.*, 2000). Des travaux ont montré l'implication de MMP-1 dans le développement de l'amylose de type AA. De plus, une action différentielle de MMP-1 a été observée en fonction des isoformes de la SAA1. L'isoforme SAA1.1 était plus sensible à la dégradation comparée à la SAA1.5. Cette capacité à cliver la SAA1 est déterminée par les acides aminés en position 57 et 58 : SAA1.1 (Ala57- Ile58) et SAA1.5 (Val57- Ile58) (van der Hilst *et al.*, 2008;van der Hilst, 2011).

6.3 Facteurs environnementaux

Une association significative a été trouvée entre le nombre d'attaques ou crises de FMF, le pays de résidence et l'ethnicité. Chez les Arméniens vivant à Yerevan (Arménie), le nombre de crises est significativement élevé par rapport aux Arméniens vivant aux états unis d'Amérique, bien que leurs génotypes soient identiques (Mimouni *et al.*, 2000). De plus, le nombre d'attaques par an était le même entre les Juifs de différentes ethnies (Maroc, Algérie, Tunisie, juifs non Ashkénazes) mais vivant tous en Israël (Mimouni *et al.*, 2000). Plus tard, dans une méta-analyse, il a été montré que le pays de résidence contribuait à la sévérité des symptômes cliniques plus que le génotype (Touitou *et al.*, 2007). En 2009, il a été montré que les enfants Turcs vivants en Turquie présentent un phénotype de la FMF plus sévère en comparaison aux enfants Turcs vivant en Allemagne (Ozen *et al.*, 2009).

Partie II :

Approche méthodologique appliquée à la recherche des polymorphismes dans le gène *SAA1*

1. Recrutement des patients

Les patients cliniquement suspectés de FMF présentent des épisodes récurrents fébriles avec des manifestations douloureuses dans les articulations, le thorax, l'abdomen, le scrotum, les muscles et/ou une éruption cutanée de type érysipèle.

Le diagnostic de la FMF est basé sur un ensemble de critères dont ceux de Tel-Hashomer (Tableau II). L'hôpital de Tel-Hashomer a créé les premiers critères pour la FMF ; le diagnostic clinique est retenu en présence de deux symptômes majeurs ou plus ou un symptôme majeur plus deux symptômes mineurs (Sohar *et al.*, 1967;Pras, 1998).

Tableau II: Critères de diagnostic Tel-Hashomer (Pras, 1998;Bashardoust, 2015)

Critères majeurs	Critères mineurs
Épisodes fébriles récurrents avec péritonite, synovite ou pléurésie. Amylose de type AA sans maladie prédisposante Réponse favorable au traitement régulier à la colchicine.	Épisodes fébriles récurrents. Érythème de type érysipèle. FMF chez un parent au premier degré.

D'autres critères ont été validés par Livneh (Livneh *et al.*, 1997). Dans ce cas, les critères de diagnostic comprennent les critères typiques, incomplets et favorables (Giancane *et al.*, 2015).

Tableau III : Critères simplifiés de Livneh

Critères majeurs	Critères mineurs
Attaques typiques 1- Péritonite généralisée 2- Pleurite unilatérale ou péricardite 3- Monoarthrite (hanche, genou, cheville) 4- Fièvre seule 5- Attaque abdominale incomplète	Les attaques incomplètes impliquant l'un ou l'autre des sites suivants, ou les deux 1- La poitrine 2- Articulations 3- Douleur des membres inférieurs à l'effort 4- réponse favorable à la colchicine

Diagnostic de la complication rénale de type amylose AA est réalisé par biopsie au niveau du rein.

2. Recherche des polymorphismes

2.1 Extraction de l'ADN génomique à partir du sang total

La recherche des polymorphismes du gène de la SAA1 se fait à partir d'ADN génomique extrait à partir du sang périphérique recueilli sur anticoagulant (EDTA). Il existe plusieurs techniques d'extraction basées sur l'utilisation de solvants organiques ou non et par kit commerciaux.

Technique au phénol chloroforme

L'extraction au phénol-chloroforme appelée aussi extraction organique est la méthode dite de "référence". Le principe consiste à traiter le lysat cellulaire dans un premier temps par un mélange de phénol-chloroforme pour séparer l'ADN des protéines. Le phénol est un puissant agent déprotéinisant dans lequel les acides nucléiques ne sont pas solubles. Après centrifugation, les protéines dénaturées par le phénol vont se placer à l'interface entre la phase la phase organique et la phase aqueuse qui contient les acides nucléiques.

La phase aqueuse est recueillie et traitée volume à volume par le mélange chloroforme-alcool isoamylique 24:1, dans le but d'éliminer toute trace de phénol qui est à la fois toxique et inhibiteur de la *Taq* polymérase. Après une nouvelle centrifugation de 10 min à 4 000 rpm, la phase aqueuse est recueillie et l'ADN est précipité par l'addition d'une solution d'éthanol absolu (2 volumes). L'ADN recueilli est lavé par une solution d'éthanol à 70 %, puis séché et redissous dans le tampon Tris-EDTA (TE, pH 8) (Bienvenu *et al.*, 1999).

Technique de salting-out

Le principe est basé sur l'utilisation de solutions salines saturées conduisant à l'élimination des protéines par précipitation (Miller *et al.*, 1988). Le sang doit être initialement mélangé à une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges. Le lysat est centrifugé et après élimination du surnageant, le culot cellulaire, contenant les leucocytes, est traité par une solution de lyse des leucocytes contenant la protéinase K (enzyme qui digère les protéines cellulaires). Les protéines seront par la suite éliminées par l'intermédiaire du NaCl 6M, et la précipitation de l'ADN génomique est effectuée en utilisant une solution d'éthanol absolu.

2.2 Mise en évidence des polymorphismes du gène SAA1

La recherche d'un polymorphisme déjà connu (génotypage) nécessite souvent une réaction de PCR (*Polymerase-Chain Reaction*) pour amplifier le segment d'ADN contenant le polymorphisme d'intérêt. Les amplifiats pourront ensuite être étudiés par plusieurs techniques dont la RFLP (*restriction fragment length polymorphism*).

Principe de la PCR

La PCR permet d'obtenir, par répllication *in vitro*, des copies multiples d'un fragment d'ADN à partir d'un extrait. Il s'agit d'une technique permettant d'obtenir de grandes quantités d'une séquence d'ADN spécifique à partir d'un échantillon d'ADN. Cette amplification est basée sur la répllication d'une matrice d'ADN double brin. La technique de PCR est constituée d'une trentaine de cycles, chacun d'eux comportant trois étapes : une phase de dénaturation, une phase d'hybridation avec des amorces, et une phase d'élongation (Figure 9). Les produits de chaque étape de synthèse servent de matrice pour les étapes suivantes, ce qui permet d'obtenir une amplification exponentielle.

Le mélange réactionnel de la PCR comprend l'ADN cible, la *Taq* polymérase, les amorces et les quatre désoxyribonucléosides triphosphates (dNTP). Les tubes contenant le mélange réactionnel sont placés dans un thermocycleur, un appareil qui permet la programmation de la durée et de la succession des cycles ainsi que la température de chaque cycle (Kadri, 2019).

Principe de la PCR-RFLP

La PCR-RFLP est une méthode qui combine l'amplification d'une région d'ADN cible avec la digestion des produits de la PCR par une ou plusieurs endonucléases de restriction. Le polymorphisme recherché est mis en évidence par abolition ou création d'un site de restriction. Le produit d'amplification, après digestion par une enzyme appropriée, est soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose ou de polyacrylamide. C'est une technique rapide, efficace et extrêmement robuste (Robert, 2010; Rasmussen, 2012).

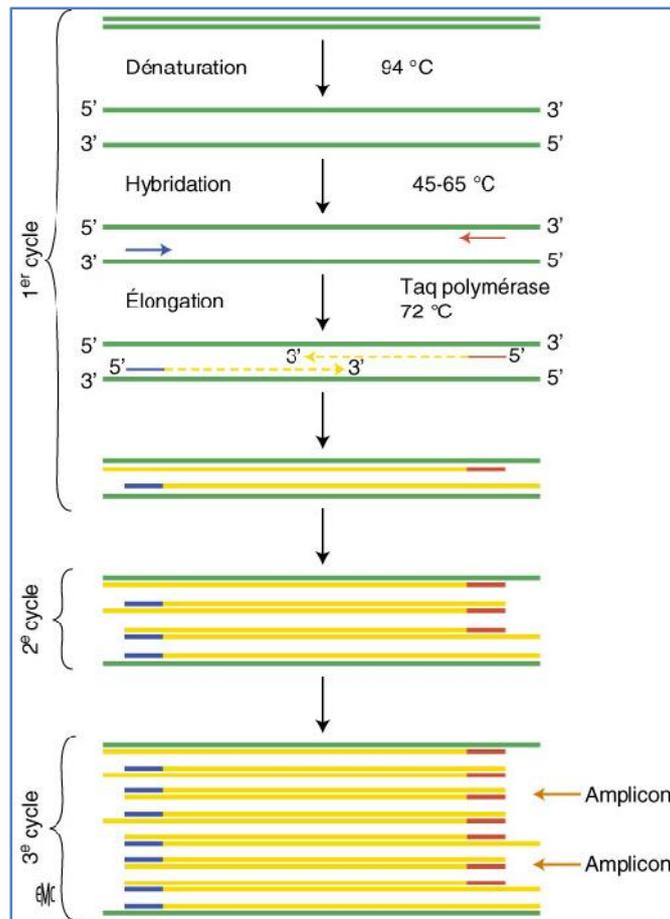


Figure 8 : Principe de la technique de PCR

(Vassias, 2012)

L'électrophorèse des acides nucléiques

Le principe de l'électrophorèse d'ADN en gel En milieu légèrement basique, l'ADN se comporte comme une chaîne polyanionique. Placés dans un gel d'agarose 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 diminue donc avec la taille des fragments, celle-ci étant exprimée en nombre de paires de bases (pb) ou en Kb. La visualisation des amplicons traités par des enzymes de restriction peut se faire à l'aide d'un marquage fluorescent. (Rasmussen, 2012).

Application de la PCR-RFLP pour la recherche du polymorphisme de la SAA1

Pour la recherche du polymorphisme de la SAA1, la PCR-RFLP a été largement utilisée. La région de l'exon 3 contenant les deux SNP est d'abord amplifiée, ensuite digérée par deux enzymes de restriction : *Bcl* I et *Ban* I pour identifier, respectivement, C3010T et C2995T (Moriguchi *et al.*, 1999) (Figure10).

L'amplification de la région de l'exon 3 contenant les deux SNP se fait par les deux amorces suivantes (Moriguchi *et al.*, 1999), ce qui permet l'amplification d'une région de 517pb (Figure10).

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

5'-

GCCAATTACATCGGCTCAGACAAATACTTCCATGCTCGGGGGAACTATGATGCTGC
CAAAAGGGGACCTGGGGGTG**C/T(2995)**CTGGGCTGCAGAAG**C/T(3010)**GATCAGGT
AACTGGAGCTCCTGGGACGTTAGGGCTGGGTGAGCAGAGCTTGCCTGCCTTGGAC
AGTCAGGAGGGAGACGAGCTCCTTGTGGAGAAGTTAGAGGCTGCGGCCCTCCTC
CTCTTGCCCTCTCTCTGCCTCTGTGCTCAGTGTGAGGTCTGAGTGGATGGTAGGAG
TGAGTGATTCCATCCTCCCTCTCTGGGTGCTGTTTCATCCAGCCTAGGGGTGCC
AGCCTGGCTGAATGGGGTGGTGCCAGTGTTTTTCATCCCTCCTTGGCCTTTCT
GGGCTCCTCTCTGAGCCCTCCCTTGGAACAGGGAGAATGGGAGGGTGGGCTATTG
CTCACTGGCCTGATTATTAATCTCCTTCTTGCCTGCCTTGATTACAGCGATGCCAGA
GAGAATATCCAGAGATTCTTTGGCCA-3'

Figure 9 : séquence amplifiée (<http://genome.ucsc.edu/>)

Les fragments digérés sont ensuite séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 2,5 % (Ajiro *et al.*, 2006).

Action des enzymes de restriction sur le fragment amplifié

Les sites de restriction et la taille des fragments générés ont été obtenus à partir du site : www.restrictionmapper.org

- i. Avec l'enzyme ***Ban* I** :
 - L'allèle α amplifié est digéré en 3 fragments : 317, 176 et 25 pb.
 - Les allèles β et γ amplifiés sont digérés en 4 fragments : 243, 176, 73 et 25 pb.
- ii. Avec l'enzyme ***Bcl* I**,
 - L'allèle β est digéré en 2 fragments de 425 et 92 pb.
 - Les allèles α et γ ne sont pas digérés.

→ SAA1.1 (SAA1 α) :2995T-3010C (Val52-Ala57).

Séquence	Longueur du site	Surplomb	La fréquence	Positions de coupure
GGYRCC	6	5'	3	316, 341

longueur	Enzyme 5'	Base de 5'	Enzyme 3'	Base de 3'	Séquence
243	Ban I	74	Ban I	316	GTGCCTGGGC TGCAGAAGTG ATCACGTA ACTGGAGCTCCT GGGACGTTAGGGCTGGGTGAGCAGAGCTTGCCTGCCTTGGGA CAGTCAGGAGGGAGACGAGCTCCTTGTGGAGAAGTTAGAGG CTGCGGCCCTCCTCCTCTTGCCCTCTCTCTGCCTCTGTGCTC AGTGTGAGGTCTGAGTGGATGGTAGGAGTGAGTGATTCCTCA TCCTCCCTCTCTGGGTGCTGTTC ATCCAGCCTA GGG
176	Ban I	342	aucun	517	GTGCCCAGTGTTTTTCATCCCTCCTTCCTTGGCCTTTCTGGGCTC CTCTGAGCCCTCCCTTGGAACAGGGAGAATGGGAGGGTGGGC TATTGCTCACTGGCCTGATTAT TAATCTCCTT CTTGCCTGCCTT GATTACAGCGATGCCAGAGAGAATATCC AGAGATTCTT TGGCCA
25	Ban I	317	Ban I	341	GTGCCCAGCCTGGCTGAATG GGGTG

- SAA1.5 (SAA1 β) :2995C-3010T (Val52-Ala57).

Longueur	Enzyme 5'	Base de 5'	Enzyme 3'	Base de 3'	Séquence
243	Ban I	74	Ban I	316	GTGCCTGGGC TGCAGAAGTG ATCACGTAAC TGGAGCTCCT GGGACGTTAGGGCTGGGTGAGCAGAGCTTGCCTGCCTTGGAC AGTCAGGAGGGAGACGAGCTCCTTGTGGAGAAGTTAGAGGCT GCGGCCCTCCTCCTCTTGCCCTCTCTGCCTCTGTGCTCAGT GTGAGGTCTGAGTGGATGGTAGGAGTGAGTGATTCTCATCC TCCCTCTCTG GGTGCTGTTC ATCCAGCCTA GGG
176	Ban I	342	aucun	517	GTGCCCAGTG TTTTCATCCC TCCTTCCTTG GCCTTTCTGGGCTCCTCTGAGCCCTCCCTTGGAACAGG GAGAATGGGA GGGTGGGCTA TTGCTCACTGGCCTGATTAT TAATCTCCTTCTTGCCCTGCCTTGATTACAGCGATGCCAGAGAG AATATCC AGAGATTCTT TGGCCA
73	aucun	1	Ban I	73	GCCAATTACATCGGCTCAGACAAATACTTCCATGCTCGGGGG AACTATGATGCTGCCAAAAGGGGACCTG GGG
25	Ban I	317	Ban I	341	GTGCCCAGCCTGGCTGAATG GGGTG

- SAA1.3 (SAA1 γ) :2995C-3010C (Val52-Ala57).

Longueur	Enzyme 5'	Base de 5'	Enzyme 3'	Base de 3'	Séquence
243	Ban I	74	Ban I	316	GTGCCTGGGC TGCAGAAGTG ATCACGTAAC TGGAGCTCCT GGGACGTTAGGGCTGGGTGAGCAGAGCTTGCCTGCCTTGGAC AGTCAGGAGGGAGACGAGCTCCTTGTGGAGAAGTTAGAGGCT GCGGCCCTCCTCCTCTTGCCCTCTCTGCCTCTGTGCTCAGT GTGAGGTCTGAGTGGATGGTAGGAGTGAGTGATTCCATCCT CCCTCTCTG GGTGCTGTTC ATCCAGCCTA GGG
176	Ban I	342	aucun	517	GTGCCAGTG TTTTCATCCC TCCTTCCTTG GCCTTCTGGGCTCCTCTGAGCCCTCCCTTGGAACAGG GAGAATGGGA GGGTGGGCTA TTGCTCACTGGCCTGATTAT TAATCTCCTTCTTGCCCTGCCTTGATTACAGCGATGCCAGAGAG AATATCC AGAGATTCTT TGGCCA
73	aucun	1	Ban I	73	GCCAATTACATCGGCTCAGACAAATACTTCCATGCTCGGGGG AACTATGATGCTGCCAAAAGGGGACCTG GGG
25	Ban I	317	Ban I	341	GTGCCAGCCTGGCTGAATG GGGTG

3. Analyse statistique

Les fréquences des allèles et du génotype ont été déterminées à la fois dans les groupes de patients atteints de FMF et dans les groupes témoins.

3.1 Comparaison de deux proportions

Les fréquences relatives d'un certain caractère qualitatif dans deux échantillons d'effectifs n_1 et n_2 ont respectivement pour valeur $q_1=a_1/n_1$ et $q_2=a_2/n_2$, c'est-à-dire qu'on y a dénombré respectivement a_1 et a_2 individus présentant tel caractère.

Le programme XL-STAT permet de calculer la valeur p, dans le cas de la comparaison de deux proportions. Dans le cas des petits échantillons, la correction de continuité doit être appliquée. Cette correction a pour effet de réduire la différence observée entre les deux proportions.

- *Le test du chi deux*(Rousson, 2013)

Dans le cas particulier fréquent d'une table de contingence de dimension $I \times J$ avec $I = J = 2$, l'application d'un test du khi-deux revient à comparer la distribution d'une variable binaire entre deux groupes, c'est-à-dire à comparer deux proportions π_1 et π_0 . Dans ce qui suit, nous appellerons ce cas particulier de test du khi-deux un test du khi-deux pour deux proportions.

$$\chi^2_{\text{cal}} = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

O : Fréquence observé.

E : Effectif théorique. _{cal}

X² : Valeur du khi-deux.

Cette valeur est ensuite comparée à la valeur du Chi-deux théorique au d.d.l (C-1) (L-1) = 3,84 ($\alpha=0,05$) et pour un tableau de contingence 2×2 .

(d.d.l, degré de liberté ; C : nombre de colonnes ; L : nombre de lignes).

3.2 Régression logistique

La régression logistique est appliquée dans le cas où les variables dépendantes et indépendantes sont dichotomiques.

Les valeurs de la variable dépendante indiquent généralement si un sujet a contracté une maladie ou non. Les valeurs de la variable indépendante indiquent le statut du sujet par rapport à la présence ou à l'absence d'un facteur de risque(Schneider *et al.*, 2012).

Les paramètres d'un modèle de régression logistique s'interprètent en termes d'odds-ratio. Les résultats sont donnés sous forme de rapport de cotes ou odds-ratio (OR) avec un intervalle de confiance de 95% (IC 95).

Dans ce cas, l'analyse de régression logistique est utilisée pour étudier la contribution des variables indépendantes au développement de l'amylose.

L'odds ratio et son intervalle de confiance (Held, 2010)

Le rapport des cotes ou Odds ratio dans notre cas permet de comparer les chances d'être atteint d'un amylose AA avec un facteur de risque (le génotype SAA1 α/α).

$$OR = \frac{\text{Odds}(p_1)}{\text{Odds}(p_0)} = \frac{p_1/(1-p_1)}{p_0/(1-p_0)}$$

Comme l'échantillonnage est soumis à des fluctuations, l'intervalle de confiance (IC, 95%) de l'odds ratio est calculé. Ainsi, l'OR est susceptible de prendre n'importe quelle valeur de son intervalle de confiance.

$$IC = e^{\ln(OR)} \pm Z_{\alpha} \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}$$

Lorsque l'intervalle de confiance n'inclut pas la valeur de 1, alors l'OR est significatif.

Le P-value : (Kirkwood and Sterne, 2010)

La valeur P permet de décider si on rejette ou non l'hypothèse nulle selon le seuil α que l'on s'est préalablement choisi, avec la règle suivante : On rejette H_0 au seuil α si $p \leq \alpha$; une valeur P inférieure à 0,05 est considérée comme significative (par convention, en biologie cette valeur est fixée à 0,05).

Partie III :

**Étude rétrospective cas/témoins sur des patients
Algériens**

1. Patients

Dans notre cas, il s'agit d'une étude rétrospective (cas-témoins) qui vise à analyser des résultats déjà obtenus afin de faire ressortir l'implication des polymorphismes dans le gène *SAA1* dans la survenue de l'amylose rénale AA chez des patients FMF Algériens.

Notre étude a concerné trois groupes d'individus :

- i. Un groupe de patients FMF avec amylose rénale : n = 29.
- ii. Un groupe de patients FMF sans amylose rénale : n = 20.
- iii. Un groupe de témoins ou individus sains sans aucune mutation dans le gène *MEFV* : n= 13.

Tous les patients FMF impliqués dans cette étude sont porteurs d'au moins une mutation dans l'exon 10 du gène *MEFV*.

- *Le sex-ratio des patients*

Parmi les 49 patients avec FMF, 22 sujets sont de sexe masculin et 27 de sexe féminin, soit un sex-ratio de 0,81 (Figure 10).

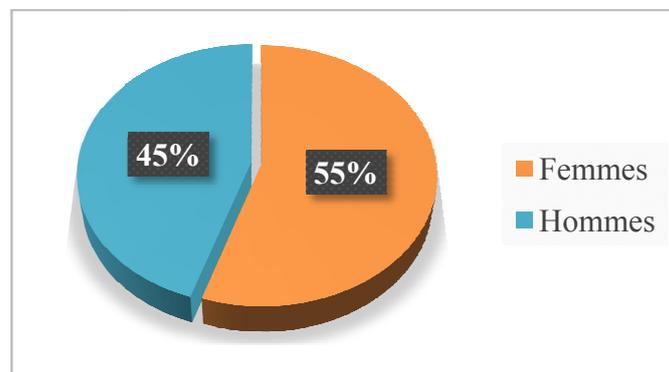


Figure 10 : Répartition par sexe des patients atteints de FMF

- *Age des patients*

L'âge des patients au recrutement était de $39,70 \pm 13,19$ ans chez les patients avec amylose et de $33,80 \pm 14,71$ ans chez les patients FMF sans amylose. La différence d'âge est comparable entre les deux groupes de patients ($p = 0,189$).

D'autres critères ont été pris en considération pour la sélection des patients sans amylose :

- Age du début des crises, comparable à celui des patients avec amylose,
- La durée moyenne de la maladie, comparable avec les patients sans amylose.

2. Résultats

Les deux SNP ont été distingués à l'aide de 2 enzymes de restriction (Ban I et Bcl I). Le niveau d'association entre les génotypes impliquant les deux sites du SNP et l'amylose AA a été évalués à l'aide de tests statistiques.

2.1 Fréquences génotypiques

Dans cette étude, l'analyse des profils de restriction obtenus a permis de mettre en évidence cinq génotypes différents chez l'ensemble des individus analysés :

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

<u>BclII</u>	PM	ND	1	2	3
500pb		517pb			
400pb	=====		425pb	=====	=====
	=====				
	=====		92pb		
100pb	=====				=====
			β/β		α/β γ/β

<u>BanI</u>	PM	ND	1	2	3
		517pb			
316pb	=====			=====	
243pb	=====		=====		=====
176pb	=====		=====	=====	=====
73pb	=====		=====		=====
25pb	=====		=====	=====	=====
			β/β	α/α	γ/γ

Figure 11 : Les profils de restriction obtenus par les deux enzymes de restriction *BanI* et *BclII* (ND, non digéré)

L'analyse de la répartition de ces génotypes au sein des deux groupes de patients a montré la prédominance du génotype SAA1 α/α chez les patients avec amylose AA. En effet, ce résultat a été confirmé par le test du chi-deux à partir d'un tableau de contingence 2 \times 2 (Tableau IV).

Tableau IV: Tableau de contingence 2 \times 2

Facteur de risque	Patients avec amylose	Patients sans amylose	Total
SAA1 α/α	20	4	24
SAA1 (autres génotypes)	9	16	25
Total	29	20	49

Chi-deux calculé $\chi^2 = 11,33$ ($\alpha = 0,05$). Ce résultat permet de conclure que la distribution du génotype SAA1 α/α n'est pas la même entre les patients avec et sans amylose AA (la différence des proportions n'est pas nulle).

Chez les patients FMF ayant développé l'amylose rénale, en plus du génotype SAA1 α/α , deux autres génotypes ont été observés avec des proportions différentes (Tableau V, Figure 12).

Tableau V: Fréquences génotypiques dans le locus SAA1 de patients FMF avec et sans amylose et des témoins

Génotypes au locus SAA1	Patients FMF avec amylose (n=29)	Patients FMF sans amylose (n=20)	Témoins (n=13)
α/α	20 (68,97 %)	4 (20%)	1 (7,70%)
α/β	4 (13,80%)	9 (45%)	8 (61,50%)
α/γ	5 (17,24 %)	0	0
β/β	0	6 (30%)	2 (15,30)
β/γ	0	1 (5%)	2 (15,30%)
Total	100%	100%	100%

De plus, les résultats ont montré l'absence des génotypes SAA1 β/β et SAA1 β/γ chez les patients avec amylose AA (Tableau V), ils ont été identifiés chez les patients sans amylose et les témoins avec des proportions équivalentes (Figure 12).

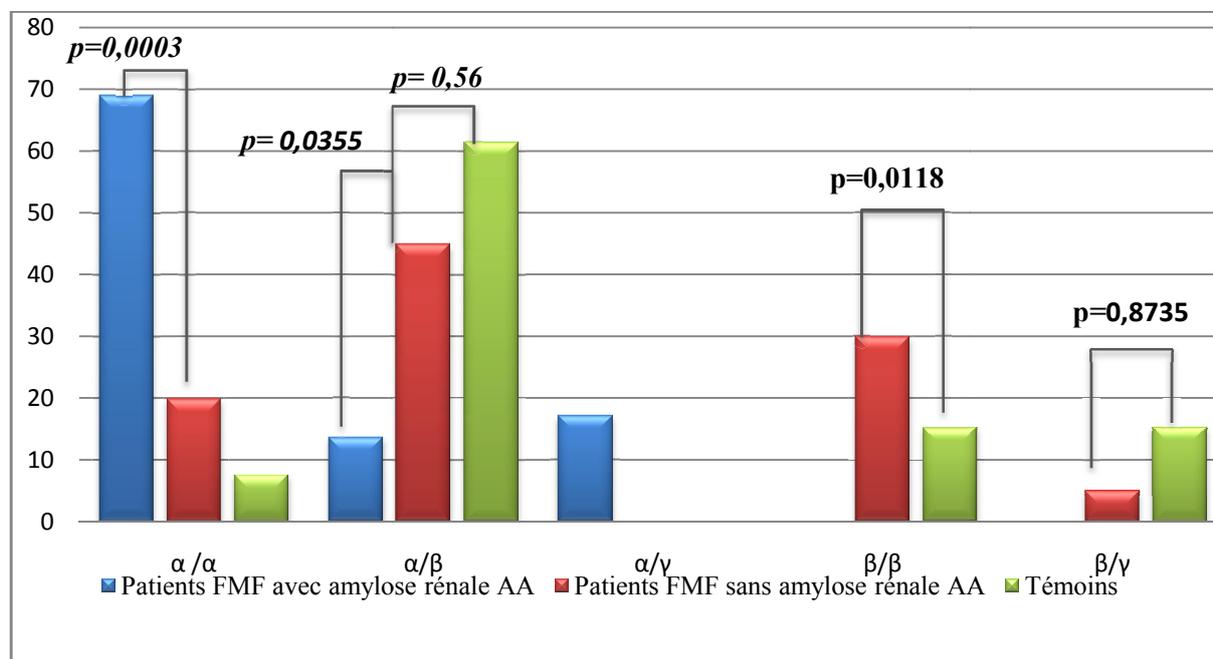


Figure 12: Fréquences génotypiques dans le locus SAA1 des trois groupes d'individus

L'analyse des fréquences génotypiques a montré que le génotype SAA1 α/β était prédominant chez les patients sans amylose et chez les témoins, avec des proportions équivalentes ($P=0,56$). En effet, il a été identifié à une fréquence significativement plus élevée chez les patients sans amylose par rapport aux patients avec amylose ($P=0,0355$) (Figure 11).

Concernant les autres génotypes, il est à signaler que le génotype SAA1 α/γ a été identifié uniquement chez les patients avec amylose (Tableau V).

2.2 Fréquences alléliques

Les allèles SAA1 α , β et γ ont été rencontrés à la fois chez les patients atteints de FMF et chez les sujets témoins (Tableau IV). La fréquence de l'allèle α était significativement plus élevée dans les patients avec amylose comparé aux patients sans amylose. Cependant la proportion allélique n'est pas statistiquement différente entre les patients sans amylose AA et les témoins ($P=0,944$) (Figure 12).

Pour l'allèle β , il est significativement plus élevé chez les patients sans amylose par rapport aux patients avec amylose ($P < 0,0001$). En même temps cet allèle a été identifié dans le

groupe des témoins avec une fréquence supérieure à celle des patients avec amylose ($p < 0,0001$) (Figure 12). La proportion de cet allèle est la même entre les patients sans amylose et les témoins ($p=1$). Il est à remarquer que cet allèle n'a pas été identifié à l'état homozygote chez les patients FMF avec amylose AA (Figure 3).

Pour l'allèle γ , la comparaison a montré que la différence n'est pas significative entre les patients avec amylose et les patients sans amylose et les témoins réunis ($p= 0,460$) (Figure 12).

Tableau VI: Comparaison des fréquences alléliques du gène *SAA1* chez les trois groupes d'individus analysés

Allèles au locus <i>SAA1</i>	Patients FMF avec amylose n=58	Patients FMF sans amylose n=40	Témoins n= 26
α	47 (81,01%)	17 (42,5%)	10 (38,5%)
β	4 (6,90%)	22 (55%)	14 (53,8%)
γ	5 (8,62%)	1 (2,5)	2 (7,7%)
Total	100%	100%	100%

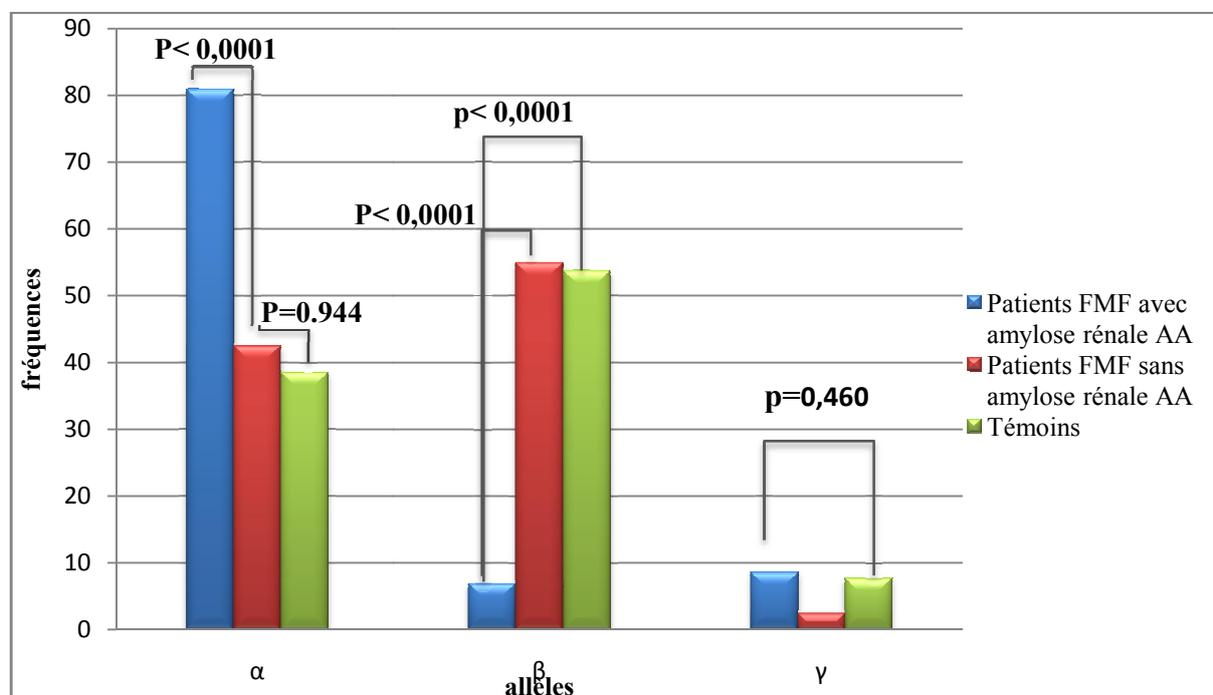


Figure 13: fréquences alléliques dans le locus *SAA1* des trois groupes d'étude

2.3 Evaluation du risque par régression logistique

L'analyse des résultats permet d'associer le génotype SAA1 α/α au développement de l'amylose rénale de type AA chez les patients analysés. Ainsi, dans une deuxième étape, il s'agit d'évaluer le risque lié à ce génotype pour développer l'amylose AA.

Les résultats sont exprimés sous forme d'un rapport ou odds-ratio (OR) avec son intervalle de confiance (IC, 95%). Ces deux paramètres ont été calculés à partir du même tableau de contingence précédent (Tableau IV).

Tableau VII : résultats de la régression logistique

Génotype au locus <i>SAA1</i>	OR	IC (95%)
SAA1 α/α	8,679	[2,25 – 33,1]

Un OR = 8,71 signifie que les patients porteurs de génotype SAA1 α/α ont un risque de développer une amylose AA 8 fois plus élevé que les patients porteurs des autres génotypes.

De plus, l'intervalle de confiance de l'OR n'inclut pas la valeur de 1. En conséquence, ces données suggèrent que le génotype SAA1 α/α est significativement associé au développement de l'amylose rénale AA au cours de la FMF.

Discussion

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.

La fréquence de l'amylose chez les patients atteints de FMF est de 2,2% dans la population arabe, 6% chez les Juifs séfarades et de 12,9% à 40,0% chez la population turque (Nursal *et al.*, 2016).

Dans cette étude cas- témoins, 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 Algériens. Les résultats de cette analyse ont montré la prédominance du génotype homozygote *SAA1* α/α chez les patients avec amylose AA, ce qui est compatible avec ce qui a été rapporté à partir des populations Caucasiennes (Obici *et al.*, 2009 ; Atoyán *et al.*, 2016). Ce résultat suggère que le génotype *SAA1* α/α pourrait être un facteur de risque génétique pour l'apparition de l'amylose rénale AA chez les patients Algériens atteints de FMF. Ainsi, chez les Turcs, des études ont montré la prédominance de *SAA1* α/α chez les patients FMF ayant développé une amylose rénale AA, comparé aux patients FMF sans amylose rénale et aux individus sains (Delibas *et al.*, 2005; Yilmaz *et al.*, 2003). 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 (Baba *et al.*, 1995; Moriguchi *et al.*, 1999). 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 l'allèle *SAA1* α était fortement associé à l'amylose AA, alors que le génotype *SAA1* β/β était protecteur contre le développement de l'amylose AA (Atoyán *et al.*, 2016). En effet, chez nos patients analysés, le génotype homozygote pour l'allèle *SAA1* β/β a été retrouvé seulement chez les patients sans amylose et chez les témoins.

L'analyse par régression logistique a permis d'estimer le risque de développer l'amylose rénale chez les patients Algériens homozygotes pour *SAA1* α . Ce risque est augmenté d'un facteur de 8,7 par rapport aux autres génotypes. Le risque déterminé dans notre étude est plus important que celui rapporté chez les autres populations. Chez les patients Arméniens, ce risque est 7 (Cazeneuve *et al.*, 2000), alors qu'il est de 2,4 chez les patients FMF Turcs (Delibas *et al.*, 2005) et de 2,99 chez les patients Juifs (Gershoni-Baruch *et al.*, 2003).

Conclusion

Le développement de l'amylose est la complication la plus redoutable observée chez les patients FMF. Dans cette étude, nous avons analysé la distribution de deux polymorphismes dans l'exon 3 du gène *SAA1* chez les patients FMF avec et sans amylose ainsi qu'un groupe d'individus sains. Cette étude cas-témoins a démontré que l'allèle *SAA1* α et le génotype *SAA1* α/α sont associés à ce phénotype grave, alors que l'allèle *SAA1* β a montré un effet protecteur contre son développement. Ainsi le génotype *SAA1* α/β constitue un facteur de risque de survenue de l'amylose rénale secondaire à la FMF chez les patients Algériens. En même temps, notre résultat permet de montrer que le génotype au niveau du locus de la *SAA1* pourrait constituer un facteur de prédiction de l'amylose AA.

Cependant, l'amylose est une maladie complexe, et d'autres facteurs génétiques et environnementaux, doivent être pris en compte. Il est également nécessaire de tester ces polymorphismes et de mener des études supplémentaires sur des échantillons plus grands pour obtenir des conclusions plus précises.

Références bibliographiques :

Ait-Idir, D., Djerdjouri, B., Bouldjennet, F., Taha, R. Z., El-Shanti, H., Sari-Hamidou, R., Khellaf, G., Benmansour, M., Benabadji, M. and Haddoum, F. (2017). The M694I/M694I genotype: A genetic risk factor of AA-amyloidosis in a group of Algerian patients with familial Mediterranean fever. *Eur J Med Genet* **60**, 149-153.

Ajiro, J., Narita, I., Sato, F., Saga, D., Hasegawa, H., Kuroda, T., Nakano, M. and Gejyo, F. (2006). SAA1 gene polymorphisms and the risk of AA amyloidosis in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Modern rheumatology* **16**, 294-299.

Akar, S., Yuksel, F., Tunca, M., Soysal, O., Solmaz, D., Gerdan, V., Celik, A., Sen, G., Onen, F. and Akkoc, N. (2012). Familial Mediterranean fever: risk factors, causes of death, and prognosis in the colchicine era. *Medicine (Baltimore)* **91**, 131-6.

Atoyan, S., Hayrapetyan, H., Sarkisian, T. and 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.

Baba, S., Masago, S. A., Takahashi, T., Kasama, T., Sugimura, H., Tsugane, S., Tsutsui, Y. and Shirasawa, H. (1995). A novel allelic variant of serum amyloid A, SAA1 gamma: genomic evidence, evolution, frequency, and implication as a risk factor for reactive systemic AA-amyloidosis. *Hum Mol Genet* **4**, 1083-7.

Bashardoust, B. (2015). Familial Mediterranean fever; diagnosis, treatment, and complications. *J Nephroarmacol* **4**, 5-8.

Ben-Chetrit, E. and Levy, M. (1998). Familial mediterranean fever. *The Lancet* **351**, 659-664.

Bienvenu, T., Meunier, C., Bousquet, S., Chiron, S., Richard, L., Gautheret-Dejean, A., Rouselle, J. F. and Feldmann, D. (1999). [Different procedures for the isolation of DNA from blood samples]. *Ann Biol Clin (Paris)* **57**, 77-84.

Bozkurt, Y., Demir, A., Erman, B. and Gül, A. (2015). Unified Modeling of Familial Mediterranean Fever and Cryopyrin Associated Periodic Syndromes. *Comput Math Methods Med* **2015**, 893507.

Cazeneuve, C., Ajrapetyan, H., Papin, S., Roudot-Thoraval, F., Geneviève, D., Mndjoyan, E., Papazian, M., Sarkisian, A., Babloyan, A., Boissier, B. et al. (2000). Identification of MEFV-independent modifying genetic factors for familial Mediterranean fever. *Am J Hum Genet* **67**, 1136-43.

Chae, J. J., Wood, G., Masters, S. L., Richard, K., Park, G., Smith, B. J. and Kastner, D. L. (2006). The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1beta production. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 9982-7.

Consortium, F. F. (1997a). A candidate gene for familial Mediterranean fever. *Nat Genet* **17**, 25-31.

Consortium, I. F. (1997b). Ancient missense mutations in a new member of the RoRet gene family are likely to cause familial Mediterranean fever. The International FMF Consortium. *Cell* **90**, 797-807.

Cuchard, P., Cuchard, R., Rotman, S., Burnier, M. and Gauthier, T. (2012). [Renal amyloidosis]. *Rev Med Suisse* **8**, 446-51.

De Buck, M., Gouwy, M., Wang, J. M., Van Snick, J., Opdenakker, G., Struyf, S. and Van Damme, J. (2016a). Structure and Expression of Different Serum Amyloid A (SAA) Variants and their Concentration-Dependent Functions During Host Insults. *Curr Med Chem* **23**, 1725-55.

De Buck, M., Gouwy, M., Wang, J. M., Van Snick, J., Proost, P., Struyf, S. and Van Damme, J. (2016b). The cytokine-serum amyloid A-chemokine network. *Cytokine Growth Factor Rev* **30**, 55-69.

Delibas, A., Öner, A., Balci, B., Demircin, G., Bülbül, M., Bek, K., Erdoğan, Ö., Baysun, S. and Yilmaz, E. (2005). Genetic Risk Factors of Amyloidogenesis in Familial Mediterranean Fever. *Am J Nephrol* **25**, 434-440.

Gaggiano, C., Rigante, D., Vitale, A., Lucherini, O. M., Fabbiani, A., Capozio, G., Marzo, C., Gelardi, V., Grosso, S., Frediani, B. et al. (2019). Hints for Genetic and Clinical Differentiation of Adult-Onset Monogenic Autoinflammatory Diseases. *Mediators Inflamm* **2019**, 3293145.

Gangemi, S., Manti, S., Procopio, V., Casciaro, M., Di Salvo, E., Cutrupi, M., Ganci, G., Salpietro, C., Chimenz, R. and Cuppari, C. (2018). Lack of clear and univocal genotype-phenotype correlation in familial Mediterranean fever patients: A systematic review. *Clinical Genetics* **94**, 81-94.

Georgin-Lavialle, S., Rodrigues, F., Hentgen, V., Fayand, A., Quartier, P., Bader-Meunier, B., Bachmeyer, C., Savey, L., Louvrier, C., Sarrabay, G. et al. (2018). [Clinical overview of auto-inflammatory diseases]. *Rev Med Interne* **39**, 214-232.

Gershoni-Baruch, R., Brik, R., Zacks, N., Shinawi, M., Lidar, M. and Livneh, A. (2003). The contribution of genotypes at the MEFV and SAA1 loci to amyloidosis and disease severity in patients with familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* **48**, 1149-55.

Giancane, G., Ter Haar, N. M., Wulffraat, N., Vastert, S. J., Barron, K., Hentgen, V., Kallinich, T., Ozdogan, H., Anton, J. and Brogan, P. (2015). Evidence-based recommendations for genetic diagnosis of familial Mediterranean fever. *Annals of the rheumatic diseases* **74**, 635-641.

Grateau, G. (2006). Autoinflammatory diseases: Taylor & Francis.

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

Grossman, C., Kassel, Y., Livneh, A. and Ben-Zvi, I. (2019). Familial Mediterranean fever (FMF) phenotype in patients homozygous to the MEFV M694V mutation. *European Journal of Medical Genetics* **62**, 103532.

Guz, G., Kanbay, M. and Ozturk, M. A. (2009). Current perspectives on familial Mediterranean fever. *Current opinion in infectious diseases* **22**, 309-315.

Held, U. (2010). Qu est-ce que l Odds ratio et à quoi sert-il? In *Forum Médical Suisse*, vol. 10, pp. 634-635: EMH Media.

Jaccard, A. and Femand, J. P. (2004). Amyloses. *EMC - Hématologie* **1**, 46-58.

Jamilloux, Y., Sève, P. and Henry, T. (2014). [Inflammasomes in human diseases]. *Rev Med Interne* **35**, 730-41.

Jensen, L. E. and Whitehead, A. S. (1998). Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochem J* **334 (Pt 3)**, 489-503.

Kadri, K. (2019). Polymerase Chain Reaction (PCR): Principle and Applications. In *Perspectives on Polymerase Chain Reaction*: IntechOpen.

Kasifoglu, T., Bilge, S. Y., Sari, I., Solmaz, D., Senel, S., Emmungil, H., Kilic, L., Oner, S. Y., Yildiz, F., Yilmaz, S. et al. (2014). Amyloidosis and its related factors in Turkish patients with familial Mediterranean fever: a multicentre study. *Rheumatology (Oxford)* **53**, 741-5.

Kirkwood, B. R. and Sterne, J. A. (2010). Essential medical statistics: John Wiley & Sons.

Kluve-Beckerman, B. and Song, M. (1995). Genes encoding human serum amyloid A proteins SAA1 and SAA2 are located 18 kb apart in opposite transcriptional orientations. *Gene* **159**, 289-290.

Lamoril, J., Bogard, C. and Pouchot, J. (2001). La maladie périodique ou fièvre méditerranéenne familiale (FMF). *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* **16**, 7-14.

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

Larson, M. A., Wei, S. H., Weber, A., Weber, A. T. and McDonald, T. L. (2003). Induction of human mammary-associated serum amyloid A3 expression by prolactin or lipopolysaccharide. *Biochem Biophys Res Commun* **301**, 1030-7.

Lega, J., Khouatra, C., Cottin, V. and Cordier, J.-F. (2010). Isolated recurrent pleuritis revealing familial Mediterranean fever in adulthood. *Respiration* **79**, 508-510.

Lidar, M., Tokov, I., Chetrit, A., Zaks, N., Langevitz, P. and Livneh, A. (2005). Diagnosis delay in familial Mediterranean fever (FMF): social and gender gaps disclosed. *Clin Exp Rheumatol* **23**, 357-63.

Livneh, A., Langevitz, P., Zemer, D., Zaks, N., Kees, S., Lidar, T., Migdal, A., Padeh, S. and Pras, M. (1997). Criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* **40**, 1879-85.

Miller, S. A., Dykes, D. D. and Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* **16**, 1215.

Mimouni, A., Magal, N., Stoffman, N., Shohat, T., Minasian, A., Krasnov, M., Halpern, G. J., Rotter, J. I., Fischel-Ghodsian, N., Danon, Y. L. et al. (2000). Familial Mediterranean fever: effects of genotype and ethnicity on inflammatory attacks and amyloidosis. *Pediatrics* **105**, E70.

Moriguchi, M., Terai, C., Kaneko, H., Koseki, Y., Kajiyama, H., Uesato, M., Inada, S. and 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.

Moriguchi, M., Terai, C., Koseki, Y., Uesato, M., Nakajima, A., Inada, S., Nishinarita, M., Uchida, S., Nakajima, A., Kim, S. Y. et al. (1999). Influence of genotypes at SAA1 and SAA2 loci on the development and the length of latent period of secondary AA-amyloidosis in patients with rheumatoid arthritis. *Human Genetics* **105**, 360-366.

Müller, D., Roessner, A. and Röcken, C. (2000). Distribution pattern of matrix metalloproteinases 1, 2, 3, and 9, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases 1 and 2, and alpha 2-macroglobulin in cases of generalized AA- and AL amyloidosis. *Virchows Arch* **437**, 521-7.

Nursal, A. F., Tekcan, A., Kaya, S. U., Turkmen, E. and Yigit, S. (2016). Mutational spectrum of the MEFV gene in AA amyloidosis associated with familial Mediterranean fever.

Obici, L. and Merlini, G. (2012). Amyloidosis in autoinflammatory syndromes. *Autoimmun Rev* **12**, 14-7.

Obici, L., Raimondi, S., Lavatelli, F., Bellotti, V. and Merlini, G. (2009). Susceptibility to AA amyloidosis in rheumatic diseases: a critical overview. *Arthritis Rheum* **61**, 1435-40.

Ozdemir, O., Kayatas, M., Cetinkaya, S., Yildirim, M. E., Silan, F., Kurtulgan, H. K., Koksall, B., Urfali, M. and Candan, F. (2015). Bc1 1—RFLP profiles for serum amyloid A1 and mutated MEFV gene prevalence in chronic renal failure patients requiring long-term hemodialysis. *Renal Failure* **37**, 292-296.

Ozen, S., Aktay, N., Lainka, E., Duzova, A., Bakkaloglu, A. and Kallinich, T. (2009). Disease severity in children and adolescents with familial Mediterranean fever: a comparative study to explore environmental effects on a monogenic disease. *Ann Rheum Dis* **68**, 246-8.

Pinney, J. H. and Lachmann, H. J. (2012). Systemic AA amyloidosis. *Subcell Biochem* **65**, 541-64.

Pras, E., Aksentijevich, I., Gruberg, L., Balow, J. E., Jr., Prosen, L., Dean, M., Steinberg, A. D., Pras, M. and Kastner, D. L. (1992). Mapping of a gene causing familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. *N Engl J Med* **326**, 1509-13.

Pras, M. (1998). Familial Mediterranean fever: from the clinical syndrome to the cloning of the pyrin gene. *Scand J Rheumatol* **27**, 92-7.

Rasmussen, H. B. (2012). Restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified fragments (PCR-RFLP) and gel electrophoresis-valuable tool for genotyping and genetic fingerprinting. In *Gel electrophoresis-principles and basics*: InTechopen.

Real de Asúa, D., Costa, R., Galván, J. M., Filigheddu, M. T., Trujillo, D. and Cadiñanos, J. (2014). Systemic AA amyloidosis: epidemiology, diagnosis, and management. *Clin Epidemiol* **6**, 369-77.

Reddy, A., Ballesteros, E. and J., H. (2018). The Clinical Spectrum of Amyloidosis. In *Amyloid Diseases*, (ed. D. Kourouski).

Robert, J. (2010). Polymorphismes génétiques. *Bulletin du Cancer* **97**, 1253-1264.

Rousson, V. (2013). Statistique appliquée aux sciences de la vie: Springer.

Rumjon, A., Coats, T. and Javaid, M. M. (2012). Review of eprodisate for the treatment of renal disease in AA amyloidosis. *Int J Nephrol Renovasc Dis* **5**, 37-43.

Said, R., Hamzeh, Y., Said, S., Tarawneh, M. and al-Khateeb, M. (1992). Spectrum of renal involvement in familial Mediterranean fever. *Kidney Int* **41**, 414-9.

Sari, İ., Birlik, M. and Kasifoğlu, T. (2014). Familial Mediterranean fever: an updated review. *European journal of rheumatology* **1**, 21.

Schnappauf, O., Chae, J. J., Kastner, D. L. and Aksentijevich, I. (2019). The pyrin inflammasome in health and disease. *Frontiers in immunology* **10**, 1745.

Schneider, C. A., Rasband, W. S. and Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods* **9**, 671-675.

Sellar, G. C., Jordan, S. A., Bickmore, W. A., Fantes, J. A., van Heyningen, V. and 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.

Shinar, Y., Obici, L., Aksentijevich, I., Bennetts, B., Austrup, F., Ceccherini, I., Costa, J. M., De Leener, A., Gattorno, M., Kania, U. et al. (2012). Guidelines for the genetic diagnosis of hereditary recurrent fevers. *Ann Rheum Dis* **71**, 1599-605.

Sidiropoulos, P. I., Goulielmos, G., Voloudakis, G. K., Petraki, E. and Boumpas, D. T. (2008a). Inflammasomes and rheumatic diseases: evolving concepts. *Ann Rheum Dis* **67**, 1382-9.

Sidiropoulos, P. I., Goulielmos, G., Voloudakis, G. K., Petraki, E. and Boumpas, D. T. (2008b). Inflammasomes and rheumatic diseases: evolving concepts. *Annals of the rheumatic diseases* **67**, 1382-1389.

Sohar, E., Gafni, J., Pras, M. and Heller, H. (1967). Familial Mediterranean fever. A survey of 470 cases and review of the literature. *Am J Med* **43**, 227-53.

Steel, D. M., Sellar, G. C., Uhlar, C. M., Simon, S., DeBeer, F. C. and Whitehead, A. S. (1993). A constitutively expressed serum amyloid A protein gene (SAA4) is closely linked to, and shares structural similarities with, an acute-phase serum amyloid A protein gene (SAA2). *Genomics* **16**, 447-54.

Stojanovic, K. S., Georgin-Lavialle, S. and Grateau, G. (2017). [AA amyloidosis]. *Nephrol Ther* **13**, 258-264.

Sun, L. and Ye, R. D. (2016). Serum amyloid A1: Structure, function and gene polymorphism. *Gene* **583**, 48-57.

Touitou, I. (2001). The spectrum of Familial Mediterranean Fever (FMF) mutations. *Eur J Hum Genet* **9**, 473-83.

Touitou, I., Sarkisian, T., Medlej-Hashim, M., Tunca, M., Livneh, A., Cattan, D., Yalçinkaya, F., Ozen, S., Majeed, H., Ozdogan, H. et al. (2007). Country as the primary risk factor for renal amyloidosis in familial Mediterranean fever. *Arthritis Rheum* **56**, 1706-12.

Twig, G., Livneh, A., Vivante, A., Afek, A., Shamiss, A., Derazne, E., Tzur, D., Ben-Zvi, I., Tirosh, A., Barchana, M. et al. (2014). Mortality risk factors associated with familial Mediterranean fever among a cohort of 1.25 million adolescents. *Ann Rheum Dis* **73**, 704-9.

Uhlar, C. M. and Whitehead, A. S. (1999). Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* **265**, 501-23.

van der Hilst, J. C. (2011). Recent insights into the pathogenesis of type AA amyloidosis. *ScientificWorldJournal* **11**, 641-50.

van der Hilst, J. C., Simon, A. and Drenth, J. P. (2005). Hereditary periodic fever and reactive amyloidosis. *Clin Exp Med* **5**, 87-98.

van der Hilst, J. C., Yamada, T., Op den Camp, H. J., van der Meer, J. W., Drenth, J. P. and Simon, A. (2008). Increased susceptibility of serum amyloid A 1.1 to degradation by MMP-1: potential explanation for higher risk of type AA amyloidosis. *Rheumatology (Oxford)* **47**, 1651-4.

Vassias, I. (2012). Amplification en chaîne par polymérase. *EMC Biologie médicale* **7**, 1- 5.

Vinceneux, P. and Pouchot, J. (2005a). [From familial Mediterranean fever to amyloidosis]. *Presse Med* **34**, 958-66.

Vinceneux, P. and Pouchot, J. (2005b). La maladie périodique au sein des maladies auto-inflammatoires. *La Presse Médicale* **34**, 947-957.

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

Yamada, T. (1999). Serum amyloid A (SAA): a concise review of biology, assay methods and clinical usefulness. *Clin Chem Lab Med* **37**, 381-8.

Yashiro, M., Furukawa, H., Asano, T., Sato, S., Kobayashi, H., Watanabe, H., Suzuki, E., Nakamura, T., Koga, T., Shimizu, T. et al. (2018). Serum amyloid A1 (SAA1)

gene polymorphisms in Japanese patients with adult-onset Still's disease. *Medicine (Baltimore)* **97**, e13394.

Yilmaz, E., Balci, B., Kutlay, S., Ozen, S., Ertürk, S., Oner, A., Beşbaş, N. and Bakkaloğlu, A. (2003). Analysis of the modifying effects of SAA1, SAA2 and TNF-alpha gene polymorphisms on development of amyloidosis in FMF patients. *Turk J Pediatr* **45**, 198-202.

Youakim, C., Cottin, V., Juillard, L., Fouque, D., MacGregor, B. and Cordier, J.-F. (2004). Renal AA amyloidosis secondary to bronchiectasis: a report of two cases (including one with Mounier-Kuhn syndrome). *Revue des maladies respiratoires* **21**, 821-824.

Zhang, Y., Zhang, J., Sheng, H., Li, H. and Wang, R. (2019). Acute phase reactant serum amyloid A in inflammation and other diseases. *Adv Clin Chem* **90**, 25-80.

Zito, G., Buscetta, M., Cimino, M., Dino, P., Bucchieri, F. and Cipollina, C. (2020). Cellular Models and Assays to Study NLRP3 Inflammasome Biology. *Int J Mol Sci* **21**.

<https://infervers.umai-montpellier.fr>

www.restrictionmapper.org

<http://genome.ucsc.edu/>

المخلص:

حمى البحر الأبيض المتوسط العائلية (FMF) هي مرض وراثي متنحي. وهو ناتج عن طفرات في جين MEFV الذي يرمز إلى بروتين البيرين Pyrin. يعتبر الداء النشواني الثانوي (AA) من أخطر مضاعفات حمى البحر المتوسط التي تؤدي إلى الفشل الكلوي. في الجزائر، البيانات المتعلقة بالداء النشواني الكلوي نادرة. تم تحليل الارتباطات المحتملة بين هذه النيوكليوتيدات والداء النشواني في دراسة الحالات والشواهد. شمل هذا التحليل 62 شخصا، 29 مصابًا بالداء النشواني و 20 غير مصابًا بالداء النشواني الكلوي، بالإضافة إلى مجموعة من 13 شخصا يتمتعون بصحة جيدة. تم توضيح تعدد الأشكال بواسطة PCR-RFLP. لوحظ أليل ألفا بشكل ملحوظ في مرضى حمى البحر المتوسط المصابين بالداء النشواني ($p < 0.0003$). أظهر تحليل الانحدار اللوجستي أن التماثل لأليل SAA1 α / α (نسبة الأرجحية [OR] 8.67، فاصل الثقة [95% IC] [2.25 - 33.1]) كان مرتبطًا بشكل كبير بالداء النشواني الكلوي. وهكذا تظهر هذه الدراسة أن التركيب الوراثي SAA1 α / α هو عامل خطر وراثي محتمل لتطوير داء النشواني الكلوي AA في المرضى الجزائريين الذين يعانون من حمى البحر المتوسط.

الكلمات الدالة: تعدد الأشكال ثنائي الأليلات، حمى البحر الأبيض المتوسط العائلية، جين SAA1، داء النشواني AA، MEFV.

Résumés :

La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie à transmission autosomique récessive, causée par des mutations dans le gène du MEFV. La complication la plus grave de la FMF est l'amylose rénale AA, dont la survenue peut être influencée par des polymorphismes dans le gène qui code pour la SAA1. En Algérie, les données concernant l'implication de ce polymorphisme dans le développement de l'amylose AA sont rares. Les associations possibles entre ces SNPs et l'amylose ont été analysées par une étude cas-témoin. Cette analyse a impliqué 62 patients dont 29 avec amylose et 20 sans amylose rénale, ainsi qu'un groupe de 13 sains. Les polymorphismes ont été mis en évidence par PCR-RFLP. L'allèle SAA1a est significativement plus élevé chez les patients FMF avec amylose ($p < 0,0003$), comparé aux patients sans amylose et aux témoins. L'analyse de régression logistique a montré que l'homozygotie pour l'allèle SAA1 α/α (odds ratio [OR] 8,67, intervalle de confiance [IC 95%] [2,25 – 33,1]), étaient significativement associés à l'amylose rénale. Cette étude montre ainsi que le génotype SAA1 α/α est un facteur de risque génétique potentiel pour le développement de l'amylose rénale AA chez les patients algériens atteints de FMF.

Mots clés : Amylose AA; Fièvre méditerranéenne familiale; gène SAA1, MEFV, polymorphisme bi-allélique.

Abstracts :

Familial Mediterranean Fever (FMF) is an autosomal recessive disease caused by mutations in the MEFV gene. The most serious complication of FMF is AA renal amyloidosis, the occurrence of which can be influenced by polymorphisms in the gene that codes for AAA1. In Algeria, data on the involvement of this polymorphism in the development of AA amyloidosis are scarce. Possible associations between these SNPs and amyloidosis were analyzed in a case-control study. This analysis involved 62 patients, 29 with amyloidosis and 20 without renal amyloidosis, as well as a group of 13 healthy patients. Polymorphisms were detected by PCR-RFLP. The SAA1 allele was significantly higher in FMF patients with amyloidosis ($p < 0.0003$) compared to patients without amyloidosis and controls. Logistic regression analysis showed that homozygosity for the SAA1 α/α allele (odds ratio [OR] 8.67, confidence interval [95% CI] [2.25 - 33.1]) was significantly associated with renal amyloidosis. This study thus shows that the SAA1 α/α genotype is a potential genetic risk factor for the development of AA amyloidosis in Algerian patients with FMF.

Keywords: AA amyloidosis, bi-allelic polymorphism.; Familial Mediterranean fever; MEFV,SAA1 gene.