

Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche
Scientifique

République du Mali

Un Peuple

Un But

Une Foi



FACULTE DE PHARMACIE

Année 2019

THESE N° : _____

THESE

***Impact des mutations de la protéine
convertase subtilisine kexine de type 9 sur les
variations lipidiques au cours de l'évolution du
paludisme chez les enfants.***

Présentée et Soutenue publiquement le 13/08/2019 devant la
Faculté de pharmacie (FAPH) pour l'obtention du grade de

Docteur en Pharmacie (Diplôme d'état)

Par **Mme Henda DOUCOURE**

Jury

PRESIDENT DU JURY : Pr Boubacar TRAORE

MEMBRE : Dr Boubacar Sidiki Ibrahim DRAME

MEMBRE : Dr Antoine DARA

CO-DIRECTEUR DE THESE : Dr Charles ARAMA

DIRECTEUR DE THESE : Pr Agrégé Bourèma KOURIBA

Ce travail a été financé par la Fondation Mérieux Lyon France

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

DOYEN :	M. Boubacar TRAORE -Professeur
VICE-DOYEN :	M. Ababacar I. MAIGA -Professeur
SECRETAIRE PRINCIPAL :	M. Seydou COULIBALY Administrateur civil
AGENT COMPTABLE :	M. Famalé DIONSAN, inspecteur des finances

PROFESSEURS HONORAIRES

M. Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
M. Mahamadou	CISSE	Biologie
M. Daouda	DIALLO	Chimie ; générale & minérale
M. Souleymane	DIALLO	Bactériologie- Virologie
M. Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
M. Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
M. Boulkassoum	H Aidara	Législation
M. Moussa	HARAMA	Chimie organique (décédé)
M. Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
M. Alou A	KEITA	Galénique
M. Mamadou	KONE	Physiologie
M. Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
M. Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
M. Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
M. Elimane	MARIKO	Pharmacologie

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Mounirou	BABY	Hématologie
M. Bakary M.	CISSE	Biochimie
M. Abdoulaye	DABO	Biologie/parasitologie
M. Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
M. Alassane	DICKO	Santé Publique
M. Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
M. Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
M. Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
M. Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

M. Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
M. Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
M. Aldjouma	GUINDO	Hématologie
M. Bourèma	KOURIBA	Immunologie / Chef de DER
M. Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé environnement

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

M. Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
M. Charles	ARAMA	Immunologie
M. Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
M. Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
M. Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie clinique
M. Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
M. Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie
Mme Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
M. Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
M. Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
M. Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
M.Yaya	GOITA	Biochimie clinique
M. Ibrehima	GUINDO	Bactériologie virologie

Mme Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
M. Kassoum	KAENTAO	Santé Publique/Bio statistiques
M. Birama Apho	LY	Santé publique
Mme. Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
M. Issaka	SAGARA	Santé Publique/Bio statistiques
M. Samba Adama	SANGARE	Bactériologie
Mme Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
M. Mahamadou Soumana	SISSOKO	Santé Publique/Bio statistiques

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

Mme Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
M. Issa	DIARRA	Immunologie
M. Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
Mme Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
Mme Merepen dit Agnes	GUINDO	Immunologie
M. Oumar	GUINDO	Epidémiologie
M. Falaye	KEITA	Santé publique/Santé environnement
Mme.N'Deye Lallah Nina	KOITA	Nutrition
M. yacouba	MAIGA	Bio statistique
M. Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
M. Oumar	SANGHO	Epidémiologie
M. Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
M. Saibou	MAIGA	Législation
Mme Rokia	SANOGO	Pharmacognosie / Chef de DER

2. MAITRE DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

Néant - -

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

M. Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
-----------	---------	------------------------

M. Bakary Moussa	CISSE	Galénique
M. Yaya	COULIBALY	Législation
M. Issa	COULIBALY	Gestion
M. Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
M. Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
M. Moussa	SANOGO	Gestion
Mme Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

M. Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
M. Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
M. Adama	DENOU	Pharmacognosie
M. Sekou	DOUMBIA	Pharmacognosie
M. Mahamane	HAIDARA	Pharmacognosie
Mme. Assitan	KALOGA	Législation
M. Ahmed	MAIGA	Législation
Mme. Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
M. Aboubacar	SANGHO	Législation
M. Bourama	TRAORE	Législation
M. Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
M. Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
Mme. Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
M. Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

DER DES SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
M. Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

M. Sékou	BAH	Pharmacologie / Chef de DER
----------	-----	------------------------------------

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

M. Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
---------------------	-------	--------------------

M. Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
M. Tidiane	DIALLO	Toxicologie
M. Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

M. Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
M. Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
M. Blaise	DACKOUCO	Chimie Analytique
Mme. Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
M. Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
M. Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
M. Madani	MARIKO	Chimie Analytique
M. Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
M. Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
M. Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

DER SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

M. Mouctar	DIALLO	Biologie/ Chef de DER
M. Cheik F.	TRAORE	Biologie/Entomologie
M. Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

M. Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée
------------	---------	------------------

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

M. Abdoulaye	KANTE	Anatomie
M. Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

M. Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
M. Modibo	DIALLO	Génétique
M. Moussa	KONE	Chimie Organique
M. Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

M. Cheik Oumar	BAGAYOKO	Informatique
M. Babou	BAH	Anatomie
M. Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie médicale
M. Souleymane	COULIBALY	PNCpsychologie
M. Bouba	DIARRA	Bactériologie
M. Modibo	DIARRA	Nutrition
M. Moussa I	DIARRA	Biophysique
M. Babacar	DIOP	Chimie
M. Atimé	DJIMDE	Bromatologie
M. Yaya	KANE	Galénique
M. Boubacar	KANTE	Galénique
M. Aboubacary	MAIGA	Chimie organique
M. Massambou	SACKO	SCMP/SIM
M. Modibo	SANGARE	Anglais
M. Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
Mme. Fatoumata	SOKONA	Hygiène du milieu
M. Fana	TANGARA	Maths
M. Abdel Kader	TRAORE	Pathologie médicales
Mme. Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
M. Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

DEDICACES

Je dédie ce travail,

A Allah

Le tout puissant

Qui m'a inspirée

Qui m'a guidée sur le bon chemin

Je vous dois ce que je suis devenue

Louanges et remerciements

Pour votre clémence et miséricorde.

<< Gloire à vous ! Nous n'avons de savoir que ce que vous nous aviez appris.
Certes c'est vous l'Omniscient, le Sage >> Sourate 2, Verset : 32 (le saint Coran).

A ma très chère MAMAN, Souadou CISSE.

A celle qui m'a mis au monde, celle à qui je dois le meilleur de moi-même.

Tu as veillé sur mon éducation et mon bien être avec amour.

Tes prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.

Mon amour et mon respect pour toi sont sans limite et dépassent toute
description.

J'espère qu'en ce jour l'un de tes rêves se réalise à travers moi en concrétisant
le fruit de tes sacrifices.

A toi, je dédie ce travail en gage de mon amour et mon respect.

Puisse ALLAH le tout puissant te préserve et faire de moi une fille à la hauteur
de ton espérance.

Puisse ALLAH le tout miséricordieux t'accorder longue vie, santé, bonheur
pour que notre vie reste illuminée pour toujours.

A mon très cher PAPA, Moussa DOUCOURE.

Mon âme, mon bonheur et mon idole.

Dont la vie est l'exemple de générosité, d'honnêteté, de persévérance, du sacrifice.

Tu m'as appris comment affronter la vie, et c'est grâce à ton enseignement des valeurs que j'ai pu m'accomplir.

Tes prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.

En ce jour ta fille va réaliser l'un de ses plus grands rêves, et couronne tes années de sacrifice et d'espoir.

Tu es toujours présent dans mon cœur, tu fus et tu resteras mon premier exemple.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon grand amour que je n'ai su exprimer avec les mots.

Puisse ALLAH le tout puissant t'accorder longue vie, santé et bonheur pour que notre vie reste illuminée pour toujours.

A ma précieuse sœur Aminata et son mari Mounasse TRAORE, et mon très cher frère Mamadou DOUCOURE et sa femme Mariam COULIBALY

En témoignage de toute l'affection et des profonds sentiments fraternels que je vous porte et de l'attachement qui nous unit.

Pour tous vos encouragements et tout le réconfort qui n'ont cessé de m'épauler.

Aucun mot ne saurait exprimer ma reconnaissance et ma gratitude à votre égard.

Je vous souhaite du bonheur et du succès dans toute votre vie.

Qu'ALLAH vous garde et vous guide sur le droit chemin.

A tous les membres de ma très chère famille,

Chacun avec son nom.

**A tous ceux qui ont toujours cru en moi aux plus durs moments de ma vie et
de mon parcours d'étudiante.**

A ceux sans qui je n'aurais jamais pu arriver là où j'en suis...

**A ceux qui ont toujours cru en mes capacités et qui ont toujours été présents
pour moi...**

A ceux qui ont toujours prié pour moi durant toutes ces années

Ceux à qui fièrement je dédie ce travail avec tout l'amour du monde

A vous, mes chères tantes Mari CISSE, Dala CAMARA

**A mes chers oncles, Aladji DOUCOURE, Boubacar DOUCOURE, Feu Bourama
DOUCOURE, Djibi CISSE, et Gnagni CISSE.**

A ma meilleur amie et cousine Magou MAIGA.

A mes chers collègues du MRTC

A la 9^{ème} promotion « N'golo DIARRA ».

A l'Association des étudiants Soninké du Mali

A la Jeune Chambre Internationale Bamako ESPOIR

A ma grande famille RASERE.

A tous mes amis sans exception.

A toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de

Ce travail.

Infiniment Merci à Tous !!!

REMERCIEMENTS

Au Malaria Research and Training Center (MRTC) / Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP) qui a permis la réalisation de ce travail.

A la Fondation Mérieux Lyon France qui a financé la réalisation de ce travail.

Ces travaux de thèse n'auraient jamais pu voir le jour sans l'aide de nombreuses personnes que je souhaite tout particulièrement remercier,

A mes maîtres: Feu Pr Ogobara K. DOUMBO, Pr Mahamadou Ali THERA, Dr Drissa COULIBALY,

A toute l'équipe du MRTC et particulièrement : Dr Moussa DJIMDE, Dr Issa DIARRA, Dr Karim BENGALY, Mr Ismaël THERA, Mr Privat AGNIWO, Mr Salif YIRAMPO, ainsi que tous les autres. Sans vous, cette thèse ne serait pas ce qu'elle est. Vous avez tous participé à sa réalisation de par vos conseils et vos encouragements.

Merci pour vos gentillesse et vos disponibilités.

Recevez ici mes sincères salutations ainsi que ma reconnaissance.

HOMMAGES AU JURY

A nos Maîtres Professeurs siégeant au sein du Jury

Je tiens à vous témoigner ma très respectueuse reconnaissance pour avoir accepté de siéger dans ce jury. Je vous remercie infiniment de m'avoir fait cet immense honneur de m'éclairer de la diversité et la profondeur de vos connaissances et méthodes respectives...

A notre Maître et Président du Jury

Professeur Boubacar TRAORE

- ✓ **Professeur de Parasitologie – Mycologie**
- ✓ **Chef de l'unité paludisme et grossesse au MTRC/DEAP**
- ✓ **Doyen de la Faculté de Pharmacie de Bamako**

Cher Maître,

C'est un honneur pour nous d'être comptés parmi vos étudiants,

Nous vous sommes profondément reconnaissants d'avoir bien voulu accepter de présider ce jury malgré vos multiples occupations.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de notre grande attention et notre profond respect.

A notre Maître et Juge

Dr Boubacar Sidiki Ibrahim DRAME

- ✓ **Médecin Biologiste**
- ✓ **Chercheur et Maître assistant à la faculté de médecine et odontostomatologie (FMOS)**
- ✓ **Chef de service du laboratoire d'Analyse Biologie Médicale, du CHU Hôpital du Mali,**
- ✓ **Officier de gestion de risque biologique certifié par IFBA (International Federation of Biosecurity Association).**

Cher Maître,

Nous sommes particulièrement touchés par la spontanéité avec laquelle vous avez bien voulu accepter de juger ce travail.

Nous vous remercions de ce grand honneur que vous nous faites.

Veillez accepter, cher maître, ce travail avec notre grande estime.

A notre Maître et Juge

Dr Antoine DARA

- ✓ **Docteur en Pharmacie**
- ✓ **PhD en Microbiologie moléculaire et Immunologie**
- ✓ **Maitre-Assistant en Biologie moléculaire à la FAPH**

Cher Maître,

Nous sommes profondément reconnaissants de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de notre grande attention et notre profond respect.

A notre Maître et Co-directeur

Dr Charles ARAMA

- ✓ **Docteur en Pharmacie**
- ✓ **PhD en Immunologie**
- ✓ **Maitre-Assistant en Immunologie à la FAPH**

Cher Maître,

Malgré vos multiples obligations, vous avez bien voulu accepter d'encadrer ce travail.

J'en suis profondément reconnaissante. Vos orientations ont permis à ce travail de voir le jour. Vos remarques judicieuses ont permis de l'affiner.

Ce travail est le vôtre. Croyez seulement à notre sincère reconnaissance pour votre gentillesse et votre disponibilité.

A notre Maître et Directeur

Professeur Bourèma KOURIBA

- ✓ **Maitre de Conférences Agrégé d'Immunologie à la FAPH**
- ✓ **Chef de l'unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire du MRTC/DEAP,**
- ✓ **Directeur Scientifique du Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM) de Bamako,**
- ✓ **Président de la Société Malienne d'Immunologie.**

Cher Maître,

Je suis très sensible à l'honneur que vous m'accordez en acceptant de diriger notre thèse. Nous avons eu le privilège de bénéficier de votre enseignement lumineux durant nos années d'études et de vos conseils pour ce projet.

Veillez cher maître, trouver dans ce travail, le témoignage de notre profond respect et de notre haute estime.

Puisse Dieu combler votre vie de bonheur, santé et beaucoup de succès.

Table des Matières

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE	ii
DEDICACES	viii
REMERCIEMENTS	xi
HOMMAGES AU JURY	xii
SIGLES ET ABREVIATIONS	xvii
LISTE DES FIGURES	xx
LISTE DES TABLEAUX	xxi
1. INTRODUCTION	1
2. OBJECTIFS	3
1. Objectif général.....	3
2. Objectifs spécifiques.....	3
3. GENERALITES	4
Partie 1: Pro-protéines Convertases	4
1.1. Les Pro-protéines Convertases (PCs).....	4
1.2. Historique de la PCSK9.....	6
1.3. Structure PCSK9.....	8
1.4. Mécanisme d'action de PCSK9.....	9
1.5. La Régulation de la PCSK9.....	10
1.6. Rôle de la PCSK9.....	12
1.7. Mutations du gène <i>PCSK9</i>	12
Partie 2 : Rappel sur le cholestérol et les lipoprotéines	14
2.1. Le Cholestérol.....	14
2.2. La Structure du Cholestérol.....	14
2.3. Rôles du cholestérol	15
2.4. Les sources et devenir du cholestérol.....	16
2.5. Le métabolisme du cholestérol	16
2.6. Métabolisme des lipoprotéines	17
2.6.1 . Structure des lipoprotéines.....	17
2.6.2 . Les différents types de lipoprotéines.....	18
2.6.3 . Le transport du cholestérol	20
2.6.4 . Les Apolipoprotéines Apo(s).....	20
2.6.5 Les LDLR.....	21
Partie 3 : Paludisme et <i>Plasmodies</i>	22

3.1. Le Paludisme.....	22
3.2. <i>Le Plasmodium</i>	23
3.3. La Biologie du parasite	25
3.4. Perturbations métaboliques du Cholestérol au cours du paludisme .	28
4. METHODOLOGIE	30
1. Lieux d'étude	30
4.1.1. Bandiagara.....	30
4.1.2. Institut de recherches de l'Hôpital d'Ottawa (IRHO), Canada.....	33
4.1.3. Centre d'Infectiologie Charles Mérieux du Mali (CICM).....	33
2. Type et période d'étude	34
3. Population d'étude	35
4. Echantillonnage.....	35
4.4.1. Critères d'inclusion dans l'étude.....	35
4.4.2. Critères de non inclusion	36
5. Méthodes d'études	36
4.5.1. Méthodes cliniques.....	37
4.5.2. Méthodes biologiques	37
6. Variables étudiées	43
7. Saisie et analyse des données	45
8. Considérations éthiques.....	45
5. RESULTATS.....	46
1. Sociaux démographiques	46
2. Résultats cliniques et parasitologiques	48
3. Résultats biochimiques en fonction des polymorphismes de la PCSK9.....	50
6. DISCUSSION.....	59
7. CONCLUSION.....	64
8. RECOMMANDATIONS.....	64
9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	65
Fiche signalétique	72
Résumé.....	72
SERMENT DE GALIEN.....	74

SIGLES ET ABREVIATIONS

AA : Acide aminé

ADN : Acide désoxyribonucléique

Apo : Apolipoprotéine

ApoA : Apoprotéine A

ApoB : Apolipoprotéine B

ARNm : ARN messagé

BMP : Bandiagara Malaria Project

cDNA : ADN complémentaire

Chol T : Cholestérol total

CHRD : Cysteine and Histidine Rich Domain

CICM : Centre d'Infectiologie Charles Mérieux du Mali

CL : Cholestérol libre

CPNC : Chimio-prévention saisonnier

DEAP : Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires

DMID : Division of Microbiology and Infectious Diseases

EGF-A : Epidermal Growth Factor A

FAPH : Faculté de Pharmacie

FTA : Fast Technology for Analysis

GE : Goutte épaisse

GOF : Gain-de-fonction

HDL : High Density Lipoprotein

HF : Hypercholestérolémie familiale

HMG-CoA : Hydroxyméthylglutaryl-Coenzyme A

IDL : Intermediate Density Lipoprotein

KO : Knock-Out

LCAT : Lécithine-cholestérol-acyl-transférase

LDL : Density Lipoprotein-Cholesterol (lipoprotéines de basse densité)

LDL : Low Density Lipoprotein

LDL-C : Low Density Lipoprotein-Cholesterol

LDLR : Low-Density Lipoprotein-Receptor (Récepteur des lipoprotéines de basse densité)

LOF : Perte de fonction

LPL : Lipoprotéine lipase

LXR : Liver X receptor

MII : Moustiquaires imprégnées d'insecticide

MRTC : Malaria Research and Training Center

NaCL : Chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

NARC-1: Neuronal Apoptosis Regulated Convertase-1

NIAID: National Institutes of Allergy and Infectious Diseases

NIH: National Institutes of Health

OMS : Organisation mondiale de la santé

P : Plasmodium

PBS : Phosphate Buffered Saline

PCR : Réaction en chaîne par polymérase

PCs : Proprotéines Convertases

PCSK9 : Protéine convertase subtilisine kexine de type 9

PPAR α : Peroxisome Proliferator Activated Receptor α

SNP : Polymorphismes Nucléotidiques Simples

SP : Peptide signal

SR-BI : Récepteur Scavenger de classe B type I

SREBP : Sterol Regulatory Element-Binding Protein

TG : Triglycérides

TPIg : Traitement préventif intermittent des femmes enceintes

TPIIn : Traitement préventif intermittent du nourrisson

USTTB : Université des Sciences Techniques et Technologiques de Bamako

LISTE DES FIGURES

Figure 1:	<i>Schéma de la structure primaires des 9 PCs</i>	5
Figure 2:	Représentation schématique du trafic des PCs dans la voie de la sécrétion	6
Figure 3:	Tissue distribution of the PCs	6
Figure 4:	Structure cristallographique du PCSK9	8
Figure 5:	Mécanisme d'action de PCSK9	10
Figure 6:	Régulation de la PCSK9	11
Figure 7:	Représentation schématique de la structure du gène PCSK9	13
Figure 8:	Structure de la molécule de cholestérol	14
Figure 9:	Structure d'une lipoprotéine	18
Figure 10:	Cycle parasitaire de Plasmodium	27
Figure 11:	Répartition des enfants en fonction des catégories d'âge	46
Figure 12:	Ratio LDL/HDL en fonction du polymorphisme et de l'état de santé	58

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I:	Répartition des enfants en fonction du sexe	46
Tableau II:	Répartition des enfants en fonction de l'ethnie	47
Tableau III:	Répartition des enfants ayant le paludisme grave en fonction de l'anémie	48
Tableau IV:	Répartition des enfants ayant le paludisme grave en fonction de la densité parasitaire	48
Tableau V:	Fréquence des signes cliniques chez les enfants ayant un paludisme grave.	49
Tableau VI:	Répartition des enfants de l'étude en fonction du nombre de polymorphisme de PCSK9	50
Tableau VII:	Comparaison des paramètres biochimiques en fonction du polymorphisme I474V.	51
Tableau VIII:	Comparaison des paramètres biochimiques en fonction du polymorphisme A443T.	51
Tableau IX:	Comparaison des paramètres biochimiques en fonction du polymorphisme C679X.	52
Tableau X:	Comparaison des paramètres biochimiques en fonction du polymorphisme E670G.	52
Tableau XI:	Taux de cholestérol en fonction de l'état de santé.	53
Tableau XII:	Taux des triglycérides en fonction de l'état de santé.	53
Tableau XIII:	Taux des HDL en fonction de l'état de santé.	54
Tableau XIV:	Taux des LDL en fonction de l'état de santé.	54
Tableau XV:	Rapport de cholestérol total sur le HDL en fonction de l'état de santé.	55
Tableau XVI:	Association entre paramètres biologiques, le gain ou la perte de fonction, l'état de santé et l'âge des enfants.	55
Tableau XVII:	Association entre la survenue du paludisme grave et les polymorphismes de la PCSK9 en fonction du polymorphisme Gain de fonction.	56
Tableau XVIII :	Fréquence des polymorphismes de la PCSK9 en fonction de l'état de santé.	57
Tableau XIX :	Fréquence des polymorphismes de la PCSK9 en fonction de l'état de santé.	58

1. INTRODUCTION

La Protéine Convertase Subtilisine Kexine de type 9 (PCSK9) est une serine protéase qui joue un rôle clé dans la régulation du cholestérol. Elle est impliquée dans le métabolisme des particules lipoprotéiques de basse densité (LDL) et peut parfois conduire à une hypercholestérolémie ou une hypocholestérolémie. Elle était initialement appelée NARC-1 (Neuronal Apoptosis Regulated Convertase -1), car elle avait d'abord été identifiée comme une protéine régulatrice dans l'apoptose au niveau des cellules neuronales ¹. La PCSK9 est le 9^{ème} membre de la famille des protéines de type convertases, qui est active sur une multitude de substrats (hormones, neuropeptides, etc.) en les clivant et les impliquant ainsi dans de très nombreux processus biologiques.

La PCSK9 est synthétisée principalement dans le réticulum endoplasmique des hépatocytes sous forme de précurseur. Bien qu'elle soit principalement produite dans le foie, elle est exprimée dans d'autres tissus comme les reins, l'intestin, le pancréas, y compris, les cellules musculaires lisses et le cerveau ². La seule activité biologique reconnue de la PCSK9 est d'inhiber la voie du récepteur du LDL (LDL-R) ³.

En effet en 2003, C. Boileau et *al.* ont identifié la PCSK9 comme le troisième gène associé à l'hypercholestérolémie familiale autosomale dominante, après le LDL-R et son ligand, et l'apolipoprotéine B (ApoB) ⁴. Des polymorphismes nucléotidiques (SNP) non-synonymiques de son gène ont été associés à une cholestérolémie réduite ou élevée, selon qu'ils diminuent (perte de fonction, LOF) ou augmentent (gain de fonction, GOF) l'activité de la PCSK9. Les SNP Gain de fonction (GOF) accentuent l'activité de PCSK9, conduisant à l'hypercholestérolémie, tandis que ceux qui favorisent la perte de fonction (LOF) atténuent son activité, conduisant à une hypocholestérolémie.

Le cholestérol, une molécule de la famille des stérols, joue un rôle important dans de nombreux processus biochimiques. C'est un composant structurel essentiel de toutes les membranes cellulaires et de la couche externe des lipoprotéines plasmatiques ⁵. Les lipides sont des modulateurs importants de la stabilité membranaire de l'érythrocyte normal, lui-même inapte à les synthétiser ⁶.

Le cholestérol est aussi le principal stérol du parasite. Pourtant, beaucoup de parasites sont incapables de synthétiser leur propre cholestérol. Ils dérivent des lipoprotéines de leurs hôtes ⁷. En effet le *Plasmodium*, parasite responsable de l'infection palustre en fait partie. Le *Plasmodium* infecte et se multiplie dans les hépatocytes puis dans les érythrocytes. Ce pouvoir infestant du *Plasmodium* requiert du cholestérol, bien que le parasite n'étant pas capable de synthétiser le cholestérol, alors il utilise celui de l'hôte. *In vivo*, le *Plasmodium* détourne continuellement le cholestérol des hépatocytes et des érythrocytes, ce qui conduirait à un taux de cholestérol inférieur chez les patients atteints de paludisme ⁸.

Le paludisme est une parasitose due à des hématozoaires du genre *Plasmodium*, transmise par des moustiques femelles infectés du genre *Anophèles* dont une trentaine d'espèces sont des vecteurs très importants du paludisme ^{9,10}.

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) le classe parmi les pathologies prioritaires en termes d'intervention, avec la tuberculose et le VIH/Sida. Au Mali comme dans la plupart des pays d'Afrique au Sud du Sahara, le paludisme constitue un véritable problème de santé publique, il est la première cause de morbidité et de mortalité chez les enfants de moins de cinq ans. Il constitue la première cause de consultation, d'hospitalisation et de mortalité dans les formations sanitaires. Les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes constituent les groupes à risque et paient chaque année le plus lourd tribut à cette maladie ¹¹. Or les enfants de moins de cinq ans représentent environ 20% de la population au Mali ¹².

Malgré toutes les stratégies de lutte, le rapport sur le paludisme dans le monde en 2018 démontre que le paludisme continue de faire plus de 435 000 victimes chaque année, principalement en Afrique. Les enfants de moins de 5 ans sont particulièrement vulnérables. Il est nécessaire de trouver de nouveaux outils de lutte contre le paludisme.

Le but de cette étude est de vérifier si les mutations non-sens, hypocholestérolémiantes du gène *PCSK9* confèrent une protection contre le paludisme grave chez des enfants âgés de 3 mois à 14 ans à Bandiagara, une ville sahélienne du Mali, où le paludisme est endémique à transmission saisonnière de Juillet à Décembre.

2. OBJECTIFS

1. Objectif général

Évaluer l'impact de la mutation du gène PCSK9 sur le métabolisme lipidique au cours de l'infection palustre chez les enfants âgés de 3 mois à 14 ans.

2. Objectifs spécifiques

- 1) Rechercher les polymorphismes de la PCSK9 chez les enfants atteints de Paludisme et enfants en bonne santé à Bandiagara.
- 2) Mesurer dans le sérum les taux de cholestérol total (Chol T), cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL), cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL), et triglycérides (TG) chez les enfants atteints de Paludisme et enfants en bonne santé à Bandiagara.
- 3) Déterminer l'association entre les niveaux des paramètres biochimiques (Chol T, HDL, LDL et TG) et le portage de mutation gain de fonction (GOF) ou perte de fonction (LOF) dans les groupes d'enfants PG, PNC et BS à Bandiagara.
- 4) Comparer les ratios LDL/HDL entre les 3 groupes d'enfants PG, PNC et BS et en fonction du portage de mutation gain de fonction (GOF) ou perte de fonction (LOF) de la PCSK9 à Bandiagara.

3. GENERALITES

Partie 1: Pro-protéines Convertases

1.1. Les Pro-protéines Convertases (PCs)

Les pro-protéines convertases (PCs) sont des sérines protéases de mammifères sécrétoires apparentées à des enzymes bactériennes de type subtilisine ^{13,14} .

Des études sur la biosynthèse de l'insuline dans un insulinome humain à partir de 1965 ont fourni la première preuve d'un précurseur de l'insuline, le premier prohormone à être identifié ¹⁵. La découverte des précurseurs d'autres protéines pour une variété d'hormones peptidiques, de neuropeptides ou de protéines plasmatiques a ensuite suivi, tous ayant principalement des sites de clivage dibasiques pour le traitement.

Les prohormones et proprotéines (zymogènes) sont initialement synthétisées sous forme de précurseurs, qui subissent ultérieurement des modifications post-traductionnelles donnant naissance à la forme active et sécrétée de la protéine ou de l'hormone polypeptidique. La protéolyse limitée touchant certains liens peptidiques spécifiques représente une des principales modifications post-traductionnelles qui ont lieu durant le transport intracellulaire et la ségrégation dans les granules de sécrétion ¹⁶ .

La famille de la pro-protéine convertase (PC) sécrétoire comprend neuf membres: PC1 / 3, PC2, furin, PC4, PC5 / 6, PACE4, PC7, SKI-1 / S1P et PCSK9 (*figure 2*). Alors que les sept premiers PCs clivent leurs substrats à des résidus basiques simples ou appariés avec une préférence de coupure C-terminale à certaines paires d'acides aminés basiques, ou C-terminale à quelques acides aminés monobasiques, les deux derniers clivent sur des résidus non basiques et la dernière PCSK9 clive seulement un substrat pour son activation ¹³. Elle serait responsable de l'homéostasie du cholestérol et des acides gras, par l'intermédiaire soit de la coupure de facteurs de transcription membranaires du type SREBP (Sterol Regulatory Element-Binding

Protein) au niveau du Golgi (SKI-1), ou de la dégradation du récepteur du LDL-cholestérol (LDL-R) au niveau des hépatocytes dans le foie ¹⁶. Leur activité enzymatique et leur spécificité de coupure ont été démontrées après co-expression avec divers substrats à partir de vecteurs d'expression viraux ou plasmidiques dans différents types cellulaires ¹⁷.

Des analyses biochimiques approfondies et *in vivo* ont permis d'élargir la compréhension de certaines des fonctions physiologiques de ces PC et de leur rôle dans le développement embryonnaire et chez l'adulte. La localisation subcellulaire (*Figure 2*) et la distribution tissulaire (*Figure 3*) de ces enzymes ont révélé que PC1 / 3 et PC2 sont principalement localisés dans des granules de sécrétion de noyaux immatures et denses des cellules neuronales et endocrines, et sont prêtes à traiter la plupart des prohormones polypeptidiques dans la régulation de la voie de sécrétion ^{13,14}.

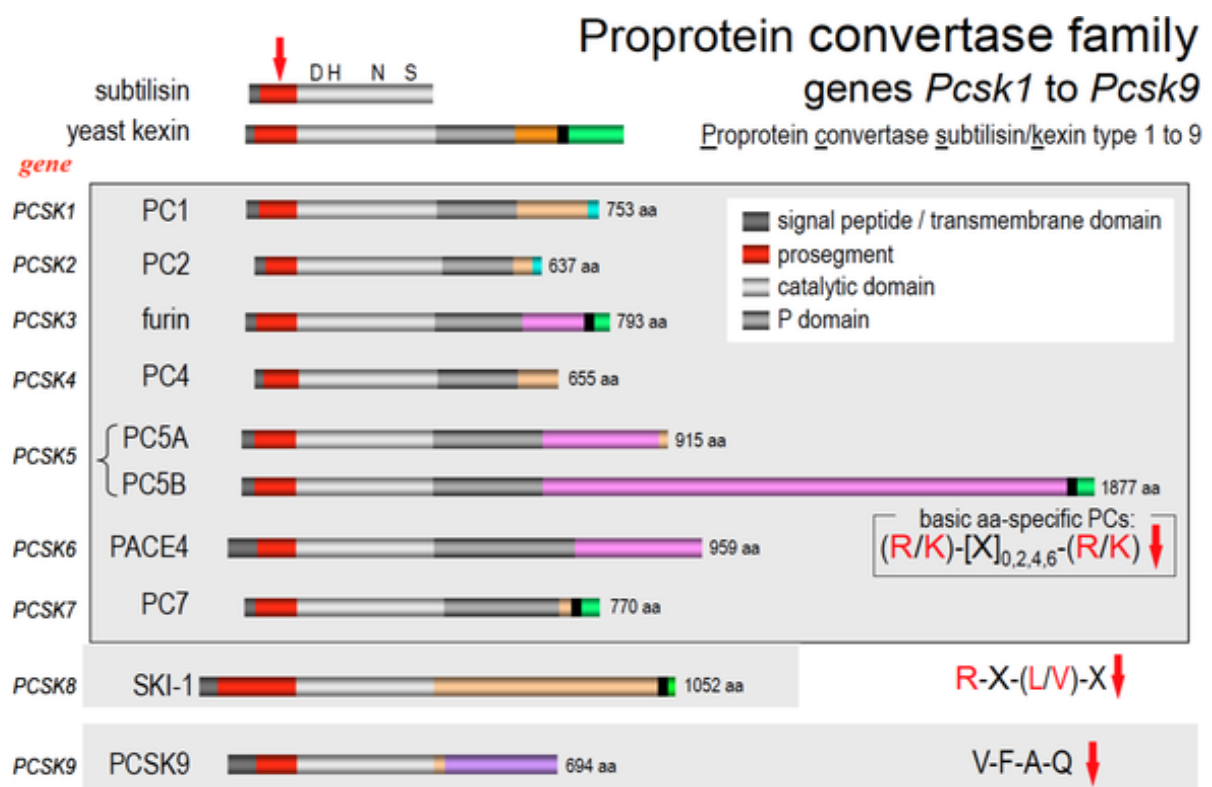


Figure 1. Schéma de la structure primaire des 9 PCs. Source: Seidah NG, 2010 ; <http://www.societe-neuroendocrinologie.fr/Les-lectures-de-la-SNE/Lecture-Jacques-Benoit/2010>.

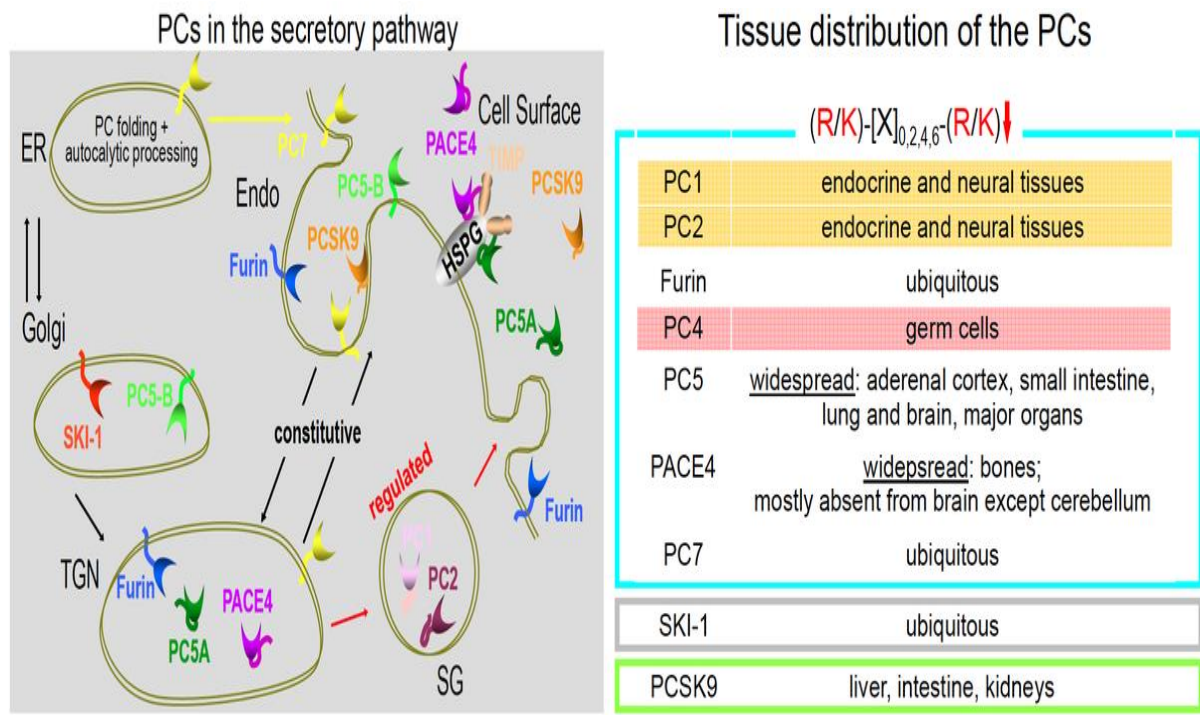


Figure 2. Représentation schématique du trafic des PCs dans la voie de sécrétion : (TGN = Transgolgi, SG granule secretoire, Endo = endosome, ER =Réticulum Endoplasmique). Source: Seidah NG, 2010 ; [httpPNC://www.societe-neuroendocrinologie.fr/Les-lectures-de-la-SNE/Lecture-Jacques-Benoit/2010](http://www.societe-neuroendocrinologie.fr/Les-lectures-de-la-SNE/Lecture-Jacques-Benoit/2010).

Figure 3. Distribution tissulaire des PCs. Source: Seidah NG, 2010 [httpPNC://www.societe-neuroendocrinologie.fr/Les-lectures-de-la-SNE/Lecture-Jacques-Benoit/2010](http://www.societe-neuroendocrinologie.fr/Les-lectures-de-la-SNE/Lecture-Jacques-Benoit/2010).

1.2. Historique de la PCSK9

La PCSK9 a été découverte par des chercheurs travaillant sur les proprotéines convertases, elle a été clonée en 2003 par le groupe de Nabil Seidah à partir d'une banque d'ADNc issue de neurones en culture primaire en apoptose ¹. Elle était initialement dénommée NARC-1 (Neural Apoptosis-Regulated Convertase-1). Dans le même temps, l'équipe de Catherine Boileau identifiait *PCSK9* comme étant le 3ème gène impliqué dans l'hypercholestérolémie familiale autosomique dominante, grâce au séquençage génétique dans l'hypercholestérolémie familiale (HF) de patients français atteints d'une HF sévère sur plusieurs générations mais qui ne portent pas les mutations connues des gènes du LDL-récepteur (LDL-R) ou de l'apolipoprotéine B (APOB) ¹⁸. En effet, des mutations « gains de fonction » de PCSK9 ont été retrouvées chez 2 familles françaises avec une hypercholestérolémie familiale (HF) en 2003.

Les expérimentations sur un modèle animal ont permis de clarifier la situation :

En 2004, des expériences effectuées sur des souris ont montré que la surexpression de la PCSK9 diminuait le taux de LDL-R à la surface des hépatocytes sans impacter la synthèse de ces récepteurs. Les souris « transgéniques » surexprimant la PCSK9 avaient un taux de cholestérol total plasmatique doublé, dû à une augmentation du LDL-c et un taux de non HDL-c quintuplé. Le phénotype des souris surexprimant la PCSK9 était quasiment similaire à celui des souris knock-out (KO) pour le gène codant pour le LDL-R ¹⁹.

A l'inverse, en 2005, d'autres expériences sur des souris knock-out pour la PCSK9 (où avait été supprimé le gène PCSK9), présentent des taux plus élevés de protéines LDL-R dans le foie et 42% de cholestérol total en moins, avec une baisse de 80% du LDL-c ²⁰.

En 2005, chez les 6.000 participants de la cohorte «Dallas Heart study», sont découverts chez des sujets porteurs de mutations typiquement destructrices du PCSK9, des taux de LDL-c de 40% inférieurs aux individus sans mutation ²¹ et également un risque plus faible de maladie coronarienne (*Figure 7*).

L'inactivation du gène de la PCSK9 associé à une augmentation du nombre de LDL-R et une diminution des taux plasmatiques de cholestérol, soulignent l'intérêt de l'inhibition de cette protéine. De plus, il a été observé chez des souris sous lovastatine une augmentation de la synthèse d'ARNm de LDL-R mais également d'ARNm de PCSK9, via SREBP-2. Cela montre également l'intérêt de l'association d'un inhibiteur de la PCSK9 aux statines pour potentialiser leur effet hypocholestérolémiant ²⁰.

Le développement des inhibiteurs de la PCSK9 comme cible thérapeutique potentielle dans le traitement de l'hypercholestérolémie a été la démonstration en 2006, des variants génétiques « perte de fonction de la PCSK9 » étaient associés à une baisse de 15 à 28% du LDL-cholestérol (LDL-c) et à une diminution de la survenue des événements cardiovasculaires à 15 ans de 47 à 88% selon les ethnies ²¹. Cette étude pilote démontrait clairement que l'inhibition de PCSK9 était à la fois bénéfique sur le plan cardiovasculaire et apparemment sans danger.

1.3. Structure PCSK9

La PCSK9 est une protéine de 692 AA de poids moléculaire de 60 kDa sous sa forme mature active et sécrétée. Son gène est localisé sur le chromosome 1 humain p32.3 et comprend 12 exons formant un cDNA de 3617pb ^{22,23}.

La protéine codée par *PCSK9* possède une structure cristalline divisée en 4 domaines ²⁴ :

- Le peptide signal (SP), une séquence signal

- Le prodomaine ou le domaine N-terminal

- Le domaine catalytique

- Le domaine C-Terminal ou domaine V riche en cystéine et histidine (CHRD).

Le prodomaine s'étend des résidus 61 à 152, et l'autocatalyse rompt la liaison peptidique entre Gln152 et Ser153. Le domaine catalytique s'étend des résidus 153 à 447 mais possède deux boucles dépourvues de densité électronique. Le domaine V s'étend des résidus 452 à 683 avec deux régions désordonnées ²⁵.

La structure tridimensionnelle de la protéine PCSK9 (*Figure 4*) présente les trois domaines principaux : le pro (en pourpre), le catalytique (en gris) et le V (en bleu). Par analogie avec les enzymes mieux caractérisées de cette famille de subtilases ²⁶, le domaine pro sert de chaperon intramoléculaire et d'inhibiteur transitoire, le domaine catalytique contient la poche active de l'enzyme et le domaine V pourrait influencer la sensibilité au pH et les interactions entre protéines.

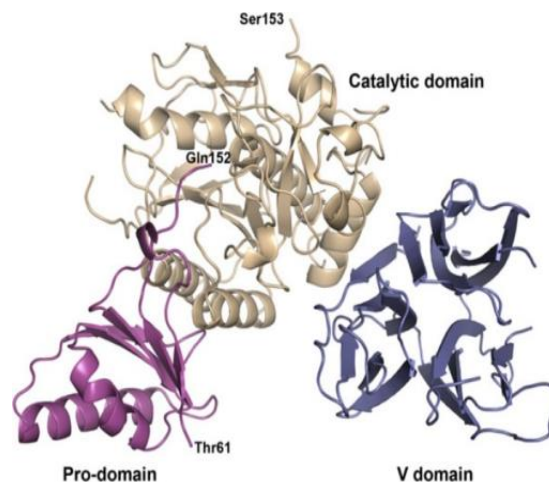


Figure 4. Structure cristallographique du PCSK9: Diagramme en rubans de la structure PCSK9 avec le pro-domaine en magenta, le domaine catalytique en jaune-blé et le domaine V en bleu. Thr61 marque le premier résidu observé et Gln152 marque l'extrémité C du prodomaine. Ser153 marque l'extrémité N du domaine catalytique (d'après Piper et al.)²⁵.

1.4. Mécanisme d'action de PCSK9

La protéine PCSK9 est principalement exprimée au niveau hépatique où elle est sécrétée par le foie.

La PCSK9 subit un autoclivage dans le réticulum endoplasmique, progresse dans l'appareil de golgi et est finalement sécrétée dans le sang, le peptide libéré par l'autoclivage, correspondant au prodomaine. Contrairement aux prodomaines des autres proconvertases qui peuvent être à nouveau clivés à distance du site de synthèse de l'enzyme libérant ainsi leur activité enzymatique, les études de cristallographie démontrent que le prodomaine de la PCSK9 demeure lié à la protéine, une fois celle-ci sécrétée dans le plasma². Elle a une demie-vie courte (environ 5 min) et agit très rapidement et préférentiellement sur le LDL-R hépatique.

La PCSK9 dégrade le récepteur LDL (LDL-R) de manière post-transcriptionnelle. Elle circulante se lie aux LDL-récepteurs (LDL-R) par son domaine catalytique qui se lie au domaine EGF-A de la LDL-R, et le complexe résultant PCSK9-LDL-R est ensuite dirigé dans les lysosomes pour la dégradation, diminuant les LDL-R à la surface cellulaire et augmentant les LDL circulants. A l'inverse, l'absence ou l'inhibition de la PCSK9 permet aux LDL-R d'être recyclés à la surface de l'hépatocyte de nombreuses fois, afin de capter et métaboliser plus de LDL circulants pour en diminuer le taux sanguin (fig.5).

En l'absence de PCSK9, la lipoprotéine LDL, riche en cholestérol, se lie à son récepteur et l'ensemble subit une endocytose. Alors que la particule de LDL est orientée vers les lysosomes, où ses composants sont métabolisés ou recyclés, le récepteur des lipoprotéines de basse densité (LDL-R) est redirigé vers la surface de l'hépatocyte pour capturer une nouvelle particule de LDL. La PCSK9 circulante interrompt ce cycle en se liant au domaine extracellulaire du LDL-R, agissant ainsi

comme une protéine chaperon, l'ensemble subit une endocytose mais, au lieu de repartir vers la membrane, le LDL-R et la PCSK9 sont détruits dans les lysosomes ². Par conséquent, la concentration de LDL-récepteur à la membrane cellulaire se réduit et empêche alors l'assimilation du cholestérol sanguin dans la cellule. On a donc une augmentation de la concentration de cholestérol circulant ou plasmatique. En d'autres termes, plus les concentrations de PCSK9 sont élevées, moins la quantité de LDL-récepteur présent à la surface des hépatocytes est importante et plus la cholestérolémie augmente.

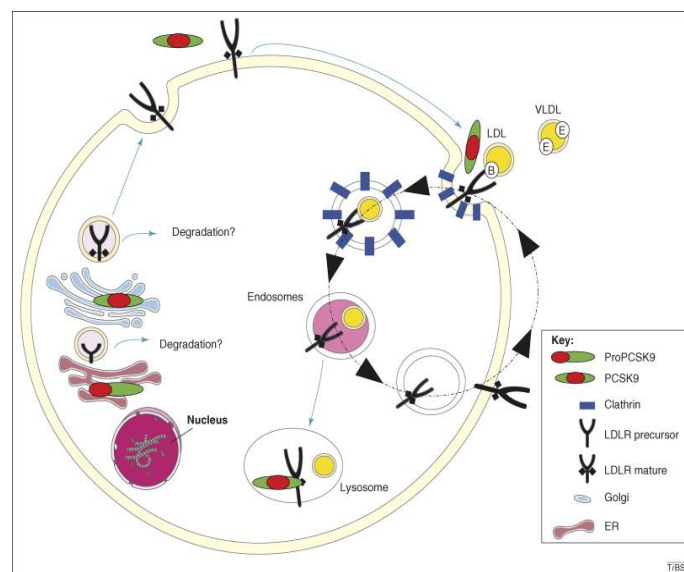


Figure 5. PCSK9 est transcrit et traduit sous forme d'un précurseur inactif : pro-PCSK9. Au cours de son transport dans le réticulum endoplasmique, pro-PCSK9 subit un autoclivage en libérant le prodomaine, qui reste néanmoins attaché à la protéine. PCSK9 mature est sécrétée par l'hépatocyte et se lie au récepteur au LDL au niveau de son domaine extracellulaire EGF-A. La liaison de PCSK9 avec le LDLR interrompt son recyclage à la membrane en le dirigeant vers la voie de dégradation lysosomale, contribuant ainsi à l'hypercholestérolémie. Figure adaptée de Costet P, Krempf M, Cariou B ².

1.5. La Régulation de la PCSK9

L'expression du gène *PCSK9* est régulée par le facteur de transcription SREBP-2 (Sterol Regulatory Element-Binding Protein-2), le même qui régule aussi l'expression du récepteur aux LDL. Ainsi, les statines qui augmentent l'activité de ce facteur de transcription SREBP-2 par le biais d'une diminution du cholestérol intracellulaire,

déclenchent non seulement la synthèse de plus de LDL-R, mais augmentent aussi la production et l'activité des protéines PCSK9 qui dégradent ces récepteurs ²⁷. Ces deux effets opposés contribueraient donc à limiter l'effet hypocholestérolémiant des statines. On voit ici l'intérêt d'une approche thérapeutique combinant statine et inhibiteur de la PCSK9.

Il a également été démontré par Philippe C. et al. que ce gène était régulé positivement par SREBP-1c en réponse à l'insuline ou aux ligands du récepteur nucléaire LXR (liver X receptor) ²⁸. Alors que le SREBP-2 favorise généralement la transcription de gènes de la synthèse du cholestérol, le SREBP-1c active plutôt des gènes de la synthèse des acides gras. De façon surprenante, ils ont aussi montré que le *PCSK9* était régulé négativement par le jeûne et les ligands de PPAR alpha, un facteur de transcription essentiel au catabolisme des acides gras ²⁹. En général, l'expression de ce gène va dépendre de facteurs impliqués dans le métabolisme du cholestérol mais aussi des acides gras.

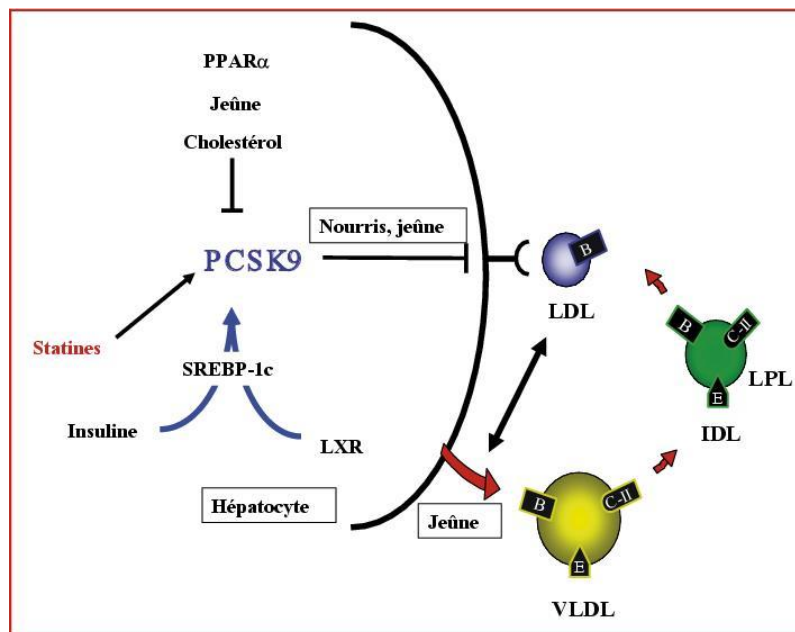


Figure 6 : La régulation de la pcsk9 : PCSK9 est sous l'influence de divers facteurs de transcription qui activent ou répriment l'expression du gène suivant la nature du stimulus : peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPARα), liver X receptor (LXR) et sterol response element binding protein (SREBP) 2 et 1c. ²⁸.

1.6. Rôle de la PCSK9

La pro-protéine convertase subtilisine kexine de type 9 (PCSK9) est une sérine protéase qui joue un rôle clé dans la régulation de la fonction des récepteurs hépatiques des lipoprotéines de basse densité (LDL-R) ³⁰. En effet la PCSK9 comme tous les convertases, clive les précurseurs de différentes protéines. Elle est responsable de la dégradation des LDL-R (récepteurs des lipoprotéines des LDL) principalement au niveau des hépatocytes, ce phénomène ralentit le captage et la dégradation du LDL-c et augmente ainsi la concentration du LDL-cholestérol plasmatique, permettant ainsi d'assurer l'apport nécessaire de cholestérol à la cellule ²³. Et par conséquent conduit à un dépôt de LDL dans les vaisseaux sanguins. D'où son implication dans l'hypercholestérolémie familiale.

L'hypercholestérolémie familiale autosomique dominante est une des maladies héréditaires les plus fréquentes et constitue une des causes majeures d'athérosclérose et de ses complications cardiovasculaires.

1.7. Mutations du gène *PCSK9*

Les variations des nucléotides dans le gène *PCSK9* ont été liées à l'hypo et l'hypercholestérolémie. Deux types de mutations ont été identifiés sur le gène :

- Les mutations de type «gain-de-fonction» identifiées en 2003 par Abifadel M. et collaborateurs ⁴, qui augmentent le taux ou l'affinité de la PCSK9 pour le LDL-R, entraînant une dégradation plus importante des récepteurs et donc augmentant le taux de LDL-c circulant. Un même phénotype (l'hypercholestérolémie) est dû à des mutations qui touchent des régions différentes de la protéine (S127R, D374Y, F216L et N157K) et suppriment ou non le clivage de la forme précurseur de PCSK9 (pro-PCSK9). Ces mutations sont associées à un risque cardiovasculaire important.

- Les mutations de type « perte-de-fonction » ont été décrites en 2005 par *Cohen JC.* et collaborateurs ²¹, diminuent le taux de PCSK9 ou l'affinité de la PCSK9 pour le LDL-R, il y a donc plus de LDL-R à la surface des hépatocytes pour capter le cholestérol et ainsi entraîne une hypocholestérolémie chez ces personnes. L'hypocholestérolémie est liée à plusieurs mutations sur le gène *PCSK9*. Deux mutations non-sens hétérozygotes (Y142X et C679X) furent identifiées chez 7 des 64 Noirs (Afro-Américains) génotypés par *Cohen JC et al.* en 2005, représentant 1,8 % de la population totale dans le comté de Dallas. Moins élevé qu'en Afrique avec 3,3% de la fréquence porteuse combinée pour la mutation C679X dans une étude de 520 échantillons d'ADN ouest-africains, de différents groupes ethniques recrutés au Burkina Faso, au Bénin et au Togo, par *Francine Sirois et al* en 2008 ³¹. Ces mutations étaient associées à une diminution du LDL-c de 40 % en moyenne.

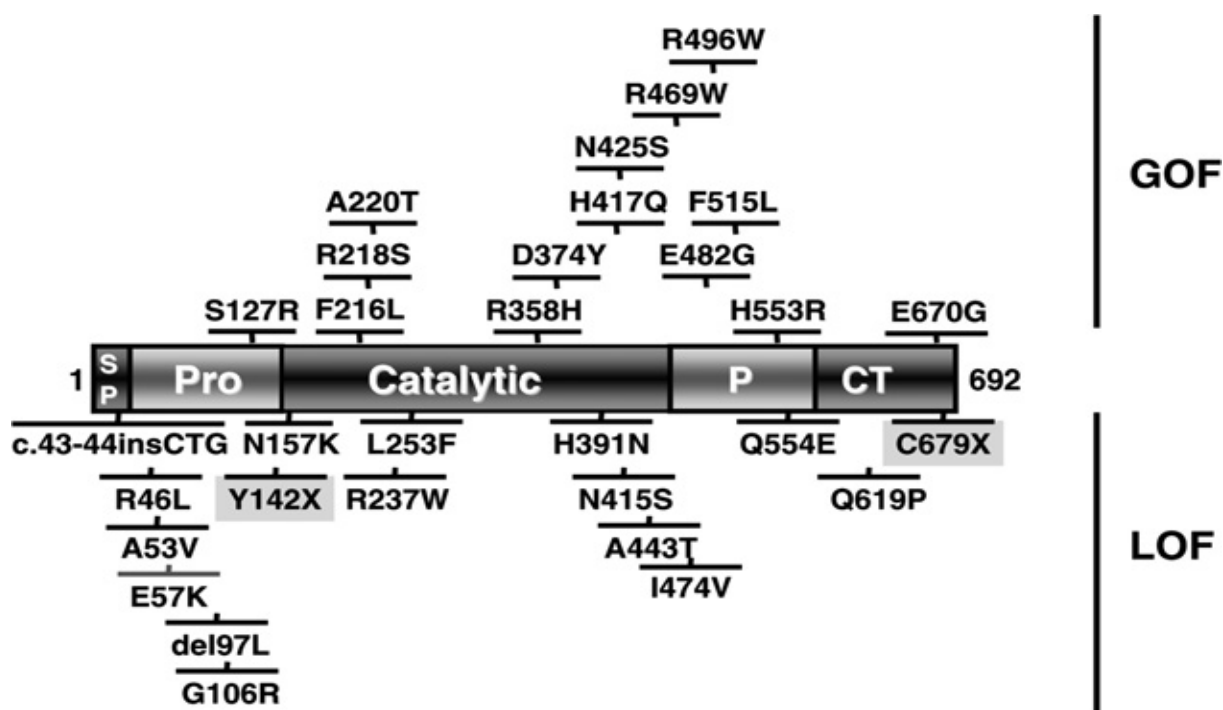


Figure 7 : Polymorphismes identifiés et leur impacts ⁷.

Partie 2 : Rappel sur le cholestérol et les lipoprotéines

2.1. Le Cholestérol

Le cholestérol est une molécule lipidique appartenant à la famille des stérols (un stéroïde alcool mono-insaturé), un lipide simple indispensable au fonctionnement des organismes vivants. Le cholestérol est la substance lipidique la plus abondante du monde animal, c'est la plus importante du point de vue métabolique et d'intérêt médical. Il est présent dans toute les cellules et peut se présenter sous deux formes : la forme libre non associée et la forme estérifiée liée à un acide gras pour former les stérides ³².

2.2. La Structure du Cholestérol

La molécule de Cholestérol possède 27 atomes de carbone, constituée de quatre cycles carbonés qui constituent le noyau stérol dont 3 cycles pyraniques (à 6 C) A, B et C et 1 cycle furanique (à 5 C) D appelés noyau stérane, d'une fonction OH en C3, ce groupe chimique constitue la tête polaire, est donc la partie hydrophile du cholestérol. Cette fonction OH du cholestérol peut être estérifiée par un acide gras qui rend la molécule totalement apolaire et insoluble dans l'eau. La molécule présente également une double liaison entre C5 et C6 sous sa forme libre ou d'un acide gras fixé sur le groupement OH quand il est estérifié, ce qui le rend totalement apolaire.

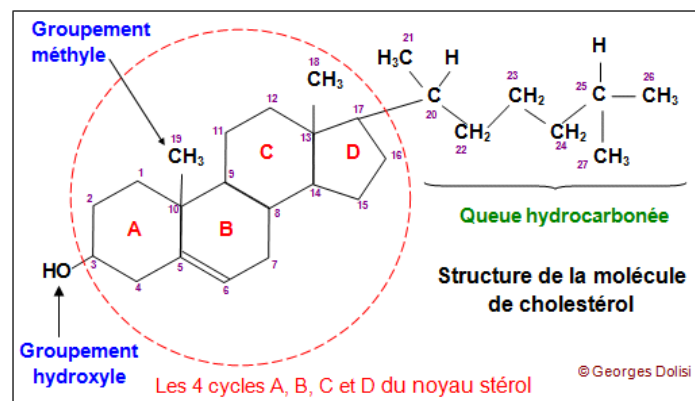


Figure8 : Structure de la molécule de cholestérol. Source : http://www.bio-top.net/Physiopathologie/Physiopatho_atherosclerose.htm.

2.3. Rôles du cholestérol

Le cholestérol est une molécule indispensable à la physiologie animale. Son rôle est double : structural et métabolique ³³.

Fonction structurale :

Le cholestérol est, en s'associant avec des phospholipides et d'autres protéines, l'un des constituants lipidiques des membranes cellulaires (10% du poids sec) et, dans une moindre mesure de la membrane des organites. Où il régule la répartition des protéines membranaires. De par sa structure tétracyclique rigide, le cholestérol réduit la fluidité dans la biomembrane. La fluidité des membranes diminue quand la quantité de cholestérol membranaire augmente. Il est abondant dans les structures myélinisées du système nerveux central (25% du cholestérol de l'organisme dans le cerveau). ; assurant ainsi la coordination de la transduction du signal.

Fonction métabolique :

Le cholestérol est le précurseur de la synthèse :

- Des acides biliaires dans le foie, constituant majeur de la bile et indispensables à la digestion des lipides ;
- Des hormones stéroïdes dans les organes stéroïdogènes (corticosurrénale, gonades et placenta) ;
- Du cholécalciférol (vitamine D3) dans la peau, joue un rôle dans l'homéostasie calcique.

2.4. Les sources et devenir du cholestérol

Le cholestérol est le chef de file des stérols. Il est spécifique des eucaryotes et est bien représenté chez les animaux. Le cholestérol sanguin a une source à la fois exogène ou alimentaire et endogène donc provenant des tissus, notamment hépatiques ou intestinaux (Estérifié).

Le cholestérol exogène (environ un tiers) d'origine alimentaire (animale), ce Cholestérol alimentaire est absorbé par les entérocytes, intégré dans les Chylomicrons, et transporté jusqu'au foie via le système porte.

Le cholestérol endogène (environ deux tiers) dont la biosynthèse s'effectue dans toutes les cellules de l'organisme mais surtout le foie, l'intestin, la peau et autres comme les glandes surrénales, testicules/ovaires... Notre corPNC produit lui-même la majeure partie de son cholestérol et assure ainsi une quantité suffisante de cette substance vitale. La production journalière s'élève de 1 à 2 grammes, ce qui couvre suffisamment les besoins journaliers même lors d'alimentation entièrement dépourvue de cholestérol.

2.5. Le métabolisme du cholestérol

Le foie est l'organe central du métabolisme du cholestérol. Elle en fabrique jusqu'à 1,2 g/jour et il est aussi synthétisé dans les glandes surrénales.

La synthèse du cholestérol s'effectue principalement dans le réticulum endoplasmique des cellules. Le précurseur de la synthèse du cholestérol est l'acétylcoenzyme A qui, par une succession de condensation, donne lieu à Hydroxyméthylglutaryl-Coenzyme A (l'HMG-CoA), ou l'HMG-CoA-synthétase y joue un rôle régulateur. On a ensuite l'action de l'HMG-CoA réductase, des réactions de phosphorylation, de condensation, entre autres, afin d'arriver au squalène. Les dernières étapes peuvent se dérouler selon plusieurs voies convertissant alors le lanostérol en cholestérol ³⁴.

Cette biosynthèse du cholestérol se déclenche que lorsque l'apport exogène, c'est-à-dire l'apport alimentaire, est insuffisant. Les lipides alimentaires sont absorbés grâce à l'intervention des acides biliaires qui créent une émulsion au niveau du duodénum. On a alors une hydrolyse des triglycérides par des enzymes, dont la lipase et la phospholipase pancréatique, pour aboutir à des monoglycérides et des acides gras qui diffusent à travers la membrane entérocytaire. Puis, c'est par un système de transport que ces lipides peuvent être amenés aux tissus périphériques puis au final au foie, lieu central du métabolisme lipidique.

Le cholestérol est présent dans les tissus et dans les lipoprotéines plasmatiques sous forme de cholestérol libre ou, combiné à un acide gras à longue chaîne, sous forme d'ester de cholestérol.

2.6. Métabolisme des lipoprotéines

2.6.1. Structure des lipoprotéines

Les lipoprotéines sont des particules formées de lipides et de protéines (apolipoprotéines) dont la fonction est de permettre la circulation des lipides dans le sang.

Ce sont des macromolécules sphériques de taille et composition variables. Leur structure générale est identique. Elles sont formées d'un cœur lipidique hydrophobe contenant essentiellement des triglycérides et des esters de cholestérol, enrobés d'une monocouche de lipides polaires constituée de phospholipides et de cholestérol libre. Des protéines spécifiques, nommées apolipoprotéines (Apo), à la surface des lipoprotéines assurent la stabilité de la macromolécule et en contrôlent le devenir métabolique. Les lipoprotéines se groupent en plusieurs classes selon leur origine, composition chimique et propriétés physiques ³⁵.

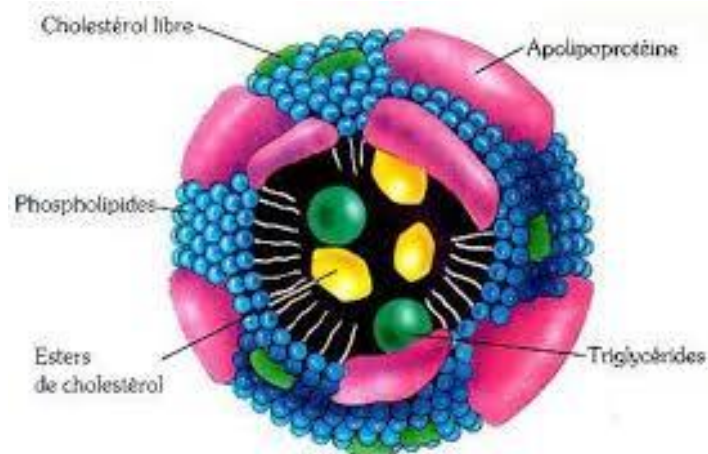


Figure 9. Structure d'une lipoprotéine : La lipoprotéine est une structure sphérique composée d'un cœur de cholestérol estérifié et de triglycérides (TG), entourée par une couche de phospholipides et de cholestérol libre dans laquelle sont encastrées des apolipoprotéines ³⁵.

2.6.2. Les différents types de lipoprotéines

En fonction de leur densité, on distingue cinq types du moins dense au plus dense. On a : les chylomicrons, les VLDL (Very Low Density Lipoprotein), les IDL (Intermediate Density Lipoprotéin), les LDL (Low Density Lipoprotein) et les HDL (High Density Lipoprotein). Ces lipoprotéines intestinales, transportent les triglycérides et le cholestérol d'origine alimentaire vers les tissus de stockage.

❖ Les chylomicrons

Un chylomicron est une lipoprotéine qui a pour fonction de transporter les lipides de l'alimentation vers le foie et d'autres tissus. Ils sont synthétisés dans les cellules de la paroi intestinale (entérocytes) d'où ils passent dans le plasma sanguin. Ils sont le plus grand type de lipoprotéine, dépassant 100 nm. Sa composition est de 90% de triglycérides, 7% de phospholipides, 1% de cholestérol et 2% de protéines spéciales appelées apolipoprotéines. Dans des circonstances normales, il n'y a pas de chylomicrons dans le sang après un jeûne de 12 heures.

Les chylomicrons transportent les graisses alimentaires absorbées dans l'intestin, contournant le foie, via le système lymphatique dans la grande circulation sanguine et ont approximativement la composition suivante:

- 1% de protéines;
- 4% de cholestérol et d'esters de cholestérol;
- 5% de phospholipides;
- 90% de triglycérides.

Source : <http://www.aquaportail.com/definition-6129-chylomicron.html> consulté le 16/08/2019

❖ **Les VLDL « Very Low Density Lipoproteins »** constituent moins de 15 % des lipoprotéines du plasma à jeun. Il assure la distribution des triacylglycérols d'origine hépatique et le cholestérol endogène.

Après sécrétion dans le système intravasculaire, elles subissent une hydrolyse de leurs TG par la LPL et la lipase hépatique (Hepatic lipase, HL). Cette étape entraîne une réduction progressive du cœur hydrophobe des VLDL qui deviennent successivement des lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL) puis des LDL.

❖ **Les IDL « intermediary density lipoprotein »** se forment à la suite des VLDL, précurseurs de la formation des LDL. Participent aux transports des lipides endogènes du foie vers les tissus utilisateurs.

❖ **Les LDL « le « mauvais » transport de cholestérol »** constituent 55 % des lipoprotéines du plasma à jeun. Très riches en cholestérol estérifié, issues du remaniement des IDL. Ils se forment après l'action d'enzymes sur le VLDL et assurent la distribution du cholestérol aux tissus. Le LDL transporte le cholestérol aux différents endroits du corps où, grâce à des prises de réception spéciales, il peut pénétrer dans les cellules. Lorsque l'offre en cholestérol est plus importante que la capacité d'assimilation de la cellule, le LDL peut se déposer sur les parois vasculaires. Au fil du temps, le vaisseau devient de plus en plus étroit et on aboutit à une calcification des artères (athérosclérose), un des facteurs de risque les plus importants des maladies

cardio-vasculaires. C'est pourquoi la concentration de cholestérol LDL doit être la plus faible possible dans le sang.

- ❖ **Le HDL – le « bon » transport de cholestérol** » d'origine essentiellement hépatique mais aussi intestinale, il est riche en cholestérol estérifié qu'ils ramènent des tissus vers le foie. Les HDL sont par contre de bonnes formes de transport de cholestérol. Elles captent l'excédent de cholestérol des cellules et du sang et le retransportent dans le foie. Le HDL peut même redissoudre le cholestérol déjà fixé sur les parois vasculaires. Il fait donc obstacle de façon décisive à la formation d'athérosclérose. C'est pourquoi plus il y a d'HDL, mieux c'est !

2.6.3. Le transport du cholestérol

Le cholestérol est une substance adipeuse et est en soi insoluble dans le sang. Il a besoin d'une substance transporteuse qui assurera son transport sanguin vers les cellules qui vont le transformer. Le cholestérol est entouré par une enveloppe de protéine hydrosoluble, l'apoprotéine. L'association d'apoprotéine et de lipides donne lieu à des lipoprotéines hydrosolubles qui sont formées dans le foie et qui vont assurer le transport du cholestérol jusque dans les cellules de l'organisme.

2.6.4. Les Apolipoprotéines Apo(s)

Les lipoprotéines sont caractérisées par la présence de protéines spécifiques de poids moléculaire variable à leurs surfaces appelées les apolipoprotéines. Elles ont une double fonction, de structure et de régulation métabolique. Elles assurent la cohésion du complexe lipidique et sa solubilisation et agissent également comme activateurs des enzymes (lipoprotéine lipase (LPL), lipase hépatique, lécithine-cholestérol-acyl-transférase (LCAT)) du métabolisme des lipides à la surface de ces lipoprotéines et aussi en tant que ligands pour des récepteurs à la surface cellulaire ³⁵.

Il existe différentes sous-classes d'apolipoprotéines (AI, AII, B100, C, D, E...) et l'association de plusieurs types d'entre elles sont à l'origine des sous-populations au sein des lipoprotéines ³⁶.

Les apolipoprotéines A-I et A-II sont les principales apolipoprotéines des HDL. L'apolipoprotéine B100 est la principale apolipoprotéine des VLDL et de LDL. L'apo B fait partie intégrante de la lipoprotéine sécrétée par l'hépatocyte jusqu'à son catabolisme final. L'apolipoprotéine B48 est la principale apolipoprotéine des chylomicrons. Contrairement à l'apolipoprotéine B, l'apolipoprotéine E et les Apo Cs sont transférables entre différentes lipoprotéines. Elles sont sécrétées par le foie et l'intestin probablement sous forme libre.

L'apolipoprotéine A [apo (A)], qui est associée à l'apo B par un pont disulfure, a un rôle marginal dans le métabolisme des lipides plasmatiques. Elle est la protéine caractéristique de la Lp (A) ³⁵.

2.6.5 Les LDLR

Le récepteur des LDL (LDLR) est une protéine transmembranaire, présente à la surface des cellules des tissus périphériques fortement demandeurs en cholestérol. Sa découverte par Michael S. Brown et Joseph L. Goldstein, les lauréats d'un prix Nobel en 1985 ³⁷, a permis de comprendre le mécanisme d'épuration hépatique du LDL-c.

En effet il intervient dans l'absorption hépatique du LDL plasmatique et contribue ainsi à l'élimination du cholestérol plasmatique ³⁸. Il est au cœur de l'homéostasie du cholestérol, permettant l'endocytose des particules LDL, l'apport de cholestérol aux tissus et son catabolisme ²².

Les LDL-récepteur (ou récepteur B/E) reconnaissent les apoprotéines B et E (Apo B et Apo E) des LDL et IDL. L'apo B48 n'est pas reconnu par ce récepteur. L'interaction du récepteur avec une lipoprotéine stimule l'internalisation du complexe ainsi formé dans des vésicules de clathrine afin de subir une dégradation lysosomale. Les lipoprotéines captées par le récepteur sont dégradées et leurs différents composants sont recyclés ³⁵. Une fois les récepteurs recyclés à la surface des hépatocytes, ils peuvent capter à nouveau d'autres particules de LDL-C. La voie LDL récepteur dépendante semble être concernée dans les hypercholestérolémies liées à des mutations du gène PCSK9 ³⁸.

Partie 3 : Paludisme et Plasmodies

3.1. Le Paludisme

Le Paludisme (malaria en anglais) est une érythrocytopathie fébrile due à des parasites du genre *Plasmodium* transmis d'une personne à l'autre par des piqûres principalement nocturnes de moustiques anophèles infectés, appelés « vecteurs du paludisme ».

Certains groupes de population sont plus vulnérables à une telle infection : les femmes enceintes, les nourrissons, les enfants de moins de 5 ans, les personnes porteuses du VIH ou atteintes du sida, les migrants non immunisés, les populations itinérantes et les voyageurs. Ces personnes sont plus à risque de développer une forme sévère de la maladie ³⁹.

Il constitue aujourd'hui encore la plus importante endémie parasitaire au monde. Il est encore présent dans 91 pays du globe ⁴⁰. Cette maladie, surtout importante pour les populations vivant en zone d'endémie (zone intertropicale) où les conditions climatiques sont favorables toute l'année ou de façon saisonnière à la vie des espèces de moustiques vecteurs. On estime que près de la moitié de la population mondiale vit en zone d'endémie.

En 2017, on estimait à 435 000 le nombre de décès dus au paludisme dans le monde, contre 451 000 en 2016 et 607 000 en 2010 et c'est les enfants de moins de 5 ans qui constituent le groupe le plus touché par le paludisme. En 2017, ils représentaient 61% (266 000) de tous les décès dus au paludisme dans le monde. Un enfant meurt du paludisme toutes les deux minutes ⁴¹. La Région africaine de l'OMS a été à l'origine de 93% de tous les décès dus au paludisme en 2017, et près de 80% de ces décès étaient concentrés dans 17 pays de la Région africaine de l'OMS et en Inde.

Le rapport de l'OMS sur le paludisme publié le 29 novembre 2017, indique une stagnation des progrès, voire une augmentation des chiffres mondiaux en 2016 par rapport à 2015. En 2016 deux cent seize millions de cas de paludisme ont été dénombrés dans 91 pays, soit une augmentation par rapport aux deux cent onze

millions soit 5 millions de cas de plus enregistrés en 2015 ⁴⁰. Il en est de même pour 2017 avec une estimation de 219 millions de cas de paludisme dans le monde, Dr Tedros Adhanom Ghebreyesus, Directeur général de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) affirme également qu'entre 2015-2017 une absence de progrès significatifs dans la réduction du nombre de cas de paludisme dans le monde de manière générale ⁴¹.

Néanmoins, selon le rapport de 2017 au niveau mondial ainsi que celui de 2018, l'incidence de paludisme est en baisse de 18% : elle a passé de 76 cas pour 1 000 habitants exposés au risque en 2010 à 63 pour 1000 en 2016. La Région Asie du Sud-Est a enregistré la baisse la plus marquée (48%), suivie de la Région des Amériques (22%) et de la Région Afrique (20%).

Le ralentissement des progrès peut s'expliquer par l'émergence de la résistance aux antipaludiques, d'où l'urgence de trouver des solutions alternatives, telles que la protection des molécules déjà existante et le développement de nouvelles molécules thérapeutiques.

3.2. Le *Plasmodium*

Le genre *Plasmodium* est un protozoaire de l'ordre des Haemosporidae, de l'embranchement des Apicomplexa. Cet embranchement est caractérisé par la présence d'un complexe apical généralement constitué d'un conoïde qui aide à la pénétration dans la cellule hôte, d'un anneau polaire et de rhoptries, qui probablement sécrètent une enzyme protéolytique ainsi que des microtubules sous membranaires, qui assurent la mobilité de la cellule. Il est composé d'organismes unicellulaires eucaryotes, parasites intracellulaires obligatoires.

Il existe de très nombreuses espèces de plasmodium (plus de 140), dont seulement 5 espèces responsables du paludisme chez l'homme, il s'agit de *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* et *Plasmodium knowlesi*, parasite habituel des singes (macaques) d'Asie qui vient de

passer récemment chez l'homme, des cas de paludisme dus à cette cinquième espèce ont été signalés vers 2004 ⁴².

Des études récentes ont identifié deux sous espèces sympatriques de l'espèce *Plasmodium ovale* : *P. ovale wallikeri* et *P. ovale curtisi*. Ces deux sous espèces sont distinctes, uniquement distinguables par des méthodes moléculaires telles que la PCR ⁴³.

Les deux les plus fréquentes et les plus dangereuses espèces sont *P. falciparum* et *P. vivax* :

- *Plasmodium falciparum* est l'espèce la plus pathogène causant le paludisme humain. En effet *P. falciparum* est celui qui est le plus largement répandu à travers le monde surtout sur le continent africain ⁴⁴, qui développe des résistances aux antipaludiques et qui est responsable de la plupart des cas mortels dans le monde. Sa période d'incubation s'étend de 7 à 12 jours ⁴⁵.
- *Plasmodium vivax* qui est le parasite prédominant dans les zones d'endémie en dehors de l'Afrique sub-saharienne principalement en Asie et en Amérique du sud ⁴⁶, rarement létale mais provoquant des rechutes périodiques ('relaPNCe'). Cette espèce de *Plasmodium* se différencie des autres espèces par une période d'incubation plus longue allant de 15 à 21 jours ⁴⁵.

3.3. La Biologie du parasite

Le cycle se déroule successivement chez l'homme (phase asexuée chez l'hôte intermédiaire ou réservoir) et chez l'anophèle femelle (phase sexuée chez l'hôte définitif) (Fig. 10).

Cycle chez l'homme

Chez l'homme le cycle est lui-même divisé en 2 phases

La phase hépatique ou pré-érythrocytaire (= exo-érythrocytaire), elle correspond à la phase d'incubation, cliniquement asymptomatique et la phase sanguine ou érythrocytaire, elle correspond à la phase clinique de la maladie ⁴².

➤ Phase exo-érythrocytaire :

Au cours de la piqûre, l'Anophèle femelle infectée injecte dans un capillaire des sporozoïtes. Les sporozoïtes transitent dans la circulation générale et, en quelques minutes, ils envahissent les hépatocytes grâce à une interaction spécifique entre la protéine majeure de surface du sporozoïte et un récepteur spécifique situé sur la membrane plasmique de l'hépatocyte du côté de l'espace de Disse, espace directement en contact avec le sang circulant.

Le sporozoïte entre alors dans une phase de réplication, au sein de la vacuole parasitophore, et de prolifération intracellulaire qui repousse en périphérie le noyau de la cellule et finit par constituer une masse multinucléée appelée schizonte qui conduit à la libération de plusieurs dizaines de milliers de mérozoïtes dans la circulation (Fig. 10). Cette phase de multiplication est asymptomatique et dure de 8 à 15 jours, selon les espèces. Contrairement à *P. vivax* où certains parasites peuvent rester dans le foie sous forme dormante durant des semaines, voire des mois ou des années ⁴⁷ : ces formes sont appelées « hypnozoïtes » et sont responsables des rechutes fréquemment observées après une infection à *P. vivax*, le *P. falciparum* ne possède pas de formes de persistance hépatique ou hypnozoïtes.

➤ **Phase intra-érythrocytaire :**

Seule cette phase sanguine est responsable des symptômes qui peuvent être d'intensité variable. Les mérozoïtes libérés lors de la rupture de l'hépatocyte vont débiter le cycle sanguin asexué de prolifération du plasmodium en infectant les érythrocytes. Les érythrocytes sont infectés à la suite de l'attachement et de l'invasion par le mérozoïte. Diverses phases du développement du parasite peuvent être observées pendant le cycle érythrocytaire de 48 h chez *P. falciparum*, c'est-à-dire la différenciation du mérozoïte au sein de la vacuole parasitophore en anneau, puis en trophozoïte, stade à partir duquel une intense phase répllicative commence, il donne alors naissance au schizonte ⁴⁸. Celui-ci après segmentation montre une forme caractéristique de rosace, puis libère 8 à 32 mérozoïtes qui rapidement réinfectent des érythrocytes sains.

L'apparition des gamétocytes a lieu en général la deuxième semaine qui suit l'infection et ces formes peuvent persister plusieurs semaines après la guérison. A la suite d'une nouvelle piqûre par une Anophèle, les gamétocytes mâles et femelles (au dimorphisme sexuel marqué) sont ingérés avec le repas sanguin.

Il est important de noter que l'érythrocyte, ne possédant pas de système de synthèse et de transport des protéines et n'exprimant pas de molécules du MHC de classe I ou II à sa surface, est un refuge idéal pour un parasite qui doit perdurer de longues périodes chez son hôte, afin d'être transmis au moustique.

Cycle chez l'Anophèle

Lors d'un repas sanguin sur un individu infecté, l'Anophèle femelle ingère des gamétocytes, à potentiel sexuel mâle ou femelle. Ceux-ci parviennent dans l'estomac du moustique et se transforment en gamètes. Le gamète mâle subit un processus d'exflagellation à la suite duquel les gamètes femelles sont fécondés. La fécondation a alors lieu dans le tractus digestif. Il en résulte un zygote appelé ookinète ; celui-ci s'implante sous la paroi stomacale en formant l'oocyste. Cette brève phase diploïde s'achève par une division méiotique et est suivi par plusieurs milliers de mitoses qui conduisent au développement de sporozoïtes (jusqu'à 20 000 sporozoïtes par

sporogonie). Les sporozoïtes gagnent préférentiellement les glandes salivaires du moustique d'où ils pourront être injectés avec la salive lors d'une piqûre infestante. Chez le moustique, l'ensemble de ce cycle se déroule en 10 à 40 jours, suivant la température extérieure et les espèces en cause.

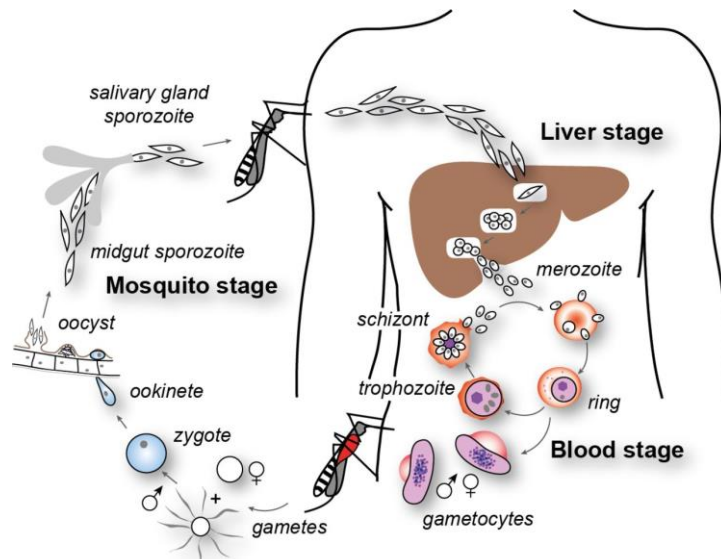


Figure 10. Cycle évolutif du Plasmodium ⁴⁹

3.4. Perturbations métaboliques du Cholestérol au cours du paludisme

Le paludisme est impliqué dans la régulation du cholestérol. L'hypercholestérolémie et l'hypertriglycéridémie ont été observées dans le paludisme non compliqué et compliqué ⁵⁰.

Les lipides sont des modulateurs importants de la stabilité membranaire de l'érythrocyte normal, lui-même inapte à les synthétiser ⁶.

Il a été observé que le cholestérol membranaire joue un rôle dans la pathogenèse, l'évasion immunitaire et des manifestations cliniques du paludisme à *P. falciparum* ⁵¹. Une étude menée en Arabie Saoudite a montré qu'il existe une corrélation inverse significative entre la parasitémie et le taux de cholestérol chez les patients ⁵².

Les stades érythrocytaires du *Plasmodium* n'ont pas de lipides en réserve et sont incapables de synthétiser eux-mêmes acides gras ou cholestérol de *novo*. Ils sont obligés d'incorporer des lipides de leur environnement chez l'hôte pour satisfaire aux besoins de lipoprotéines de la schizogonie ⁵³. Au cours de son développement intra-érythrocytaire, le parasite établit des structures de liaison avec l'érythrocyte hôte, produisant des changements dans la membrane érythrocytaire afin d'assurer sa nutrition et sa survie ⁵⁴. Les variations dans la teneur en lipides de l'érythrocyte parasité ont comme conséquence des modifications dans la rigidité et la perméabilité de la membrane érythrocytaire.

Cependant, il a été rapporté par Vial HJ et al. en 2003 que, le génome de *P. falciparum* contient des gènes similaires à ceux de la voie de synthèse des acides gras de type II. Les produits protéiques de ces gènes sont situés dans l'apicoplaste et permettent la production d'acides gras, dont certains sont uniques au parasite ⁵⁵. Ainsi, le parasite pourrait être capable de répondre à un grand nombre de ses besoins en lipides à partir de ses propres voies de biosynthèse, bien que certains lipides extracellulaires soient nécessaires pour la croissance *in vitro*.

Le sérum humain HDL est nécessaire pour *P. falciparum* en culture *in vitro*. Même si, les HDL peuvent être toxiques pour le parasite à des concentrations élevées ³⁴.

Durant le cycle parasitaire chez l'homme, le *Plasmodium* subit d'abord une phase de développement obligatoire et cliniquement silencieuse dans le foie. Au cours du stade hépatique de l'infection, lors de leur réplication dans le foie, les *Plasmodies* utilisent les ressources des cellules hôtes afin d'assurer leur besoins de développement.

Le parasite a besoin de cholestérol pour sa multiplication, sa survie (évasion immunitaire et résistance aux médicaments) et l'infectivité. En plus, les sporozoïtes du paludisme peuvent utiliser la même porte d'entrée dans les cellules hépatiques. Un groupe de recherche de Lisbonne MM Mota et al⁵⁶ a montré que le récepteur SR-BI (récepteur scavenger de classe B type I) qui est le port d'entrée du cholestérol HDL, ouvre également la porte aux parasites du paludisme. Cela établit un premier lien clair entre l'infection palustre et les voies d'absorption du cholestérol, et une nouvelle stratégie d'intervention contre le paludisme. En plus, la capacité de réplication des formes hépatiques du parasite est remarquable, atteignant l'un des taux de croissance les plus rapides parmi les cellules eucaryotes⁵⁷.

4. METHODOLOGIE

Pour atteindre nos objectifs, nous avons utilisé les données d'une étude cas-témoins sur le paludisme grave réalisée à Bandiagara suivant la méthodologie ci-dessous.

1. Lieux d'étude

Notre étude s'est déroulée dans la ville de Bandiagara. Le génotypage des polymorphismes de la PCSK9 a été réalisé au laboratoire de protéolyse fonctionnelle à l'Institut de recherches cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada et les analyses biochimiques ont été réalisées au Centre d'Infectiologie Charles Mérieux du Mali (CICM).

4.1.1. Bandiagara

Chef-lieu de cercle situé au cœur de la région de Mopti (5^e région administrative du Mali) sur le plateau Dogon. La ville est située à environ 65 Km à l'Est de celui-ci. D'une superficie de 10.520 km², le cercle de Bandiagara est localisé entre les 3^{ème} et 4^{ème} degrés de longitude Ouest et les 14^{ème} et 15^{ème} de latitude Nord, à environ 700 km à l'Est de Bamako.

Le cercle de Bandiagara compte 21 communes : Bandiagara, Bara, Sara, Borko, Dandoli, Béré, Doucoumbo, Dourou, Kendé, Kendié, Lowol-Guéou, Métoumou, Ondougou, Pélou, Pignary, Pignari, Bana, Sangha, Ségué Iré, Soroly, Timniri et Wadouba ⁵⁸.

Bandiagara est une ville sahélienne, la transmission du paludisme est d'une intensité saisonnière et couvre toute la saison des pluies, et une faible transmission observée en saison sèche avec moins d'une piqure infectante. La ville de Bandiagara a été depuis 1993, le site d'études épidémiologiques et entomologiques du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires (DEAP) de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'université de Bamako.

➤ Historique

Bandiagara a été fondé vers 1770, par un grand chasseur dogon originaire de Gandakilema Nangabanou Tembely. Depuis, la localité n'a cessé de grandir pour devenir une préfecture sous l'administration coloniale, statut qu'elle a gardé après l'indépendance.

➤ Milieu naturel

La végétation est de type sahélien sur un plateau rocailleux. Elle est dominée par des essences épineuses (dattiers sauvages, tamiers, gommiers) et d'autres tels que les balanzans, les tamariniers et les raisins sauvages.

Sur ces sols sont produits les céréales et les cultures maraîchères dont l'échalote. La céréale servant de base à l'alimentation des Dogon est le mil qui est cultivé par 88 % des producteurs. Ils cultivent également le sorgho (79 % des producteurs) et le fonio (73 %), notamment sur les terres plus humides que le mil supporte mal.

La culture de légumineuses est également répandue sur tout le Plateau, à des fins d'autoconsommation et de vente. L'arachide est la plus répandue (79 % des producteurs), viennent ensuite le niébé (70 %) et le voandzou (61 %). Le maraîchage excelle avec la culture de l'échalote. L'échalote est le produit maraîcher le plus cultivé sur le Plateau ⁵⁹.

➤ Climat

Le climat est caractérisé par une courte saison de pluie allant de juin -juillet à août-septembre avec une pluviométrie de 400 à 700 mm d'eau par an (673.2 mm pour l'année 2003), et une saison sèche plus longue. Le relief est dominé par une grande table de grès. Le climat est caractérisé par une saison humide de mai à octobre et une sèche couvrant la période de novembre à avril. Le mois de mai accuse des températures élevées tandis que janvier enregistre des basses températures.

La moyenne annuelle de l'humidité est de 44 % avec un maximum en août de 79 % et un minimum en mars de 18 %. La vitesse annuelle moyenne du vent est de 2,2 m/s avec un maximum en janvier de 2,9 m/s et un minimum en octobre de 1,5 m/s.

➤ **Hydrographie**

Le réseau hydrographique est couvert par trois unités de bassins versants :

- le bassin versant du Yamé (un affluent du fleuve Niger) de Bandiagara ;
- les bassins versants le long de la falaise de Bandiagara ;
- les bassins versants drainant vers la plaine du Niger.

Le bassin du Douro et le Yamé en amont de Bandiagara ont un grand potentiel en eau de surface. Le "Yamé" constitue un gîte pour le développement des anophèles pendant une bonne partie de l'année. Les ressources en eaux de surface du bassin du Yamé de Bandiagara s'élèvent à 108.000 m³ en année moyenne et à 67.000 m³ année sèche.

➤ **Secteur d'activité**

L'activité économique de la population de Bandiagara est essentiellement basée sur l'agropastorale, le tourisme est également assez développé.

Elle est le siège de plusieurs projets de développement. Depuis 1999 Bandiagara abrite un projet de préparation du site pour la conduite d'essais cliniques de vaccins antipaludiques du DEAP avec le support financier et technique du NIH, et en partenariat avec l'université de Maryland, connu sous le nom de BMP (Bandiagara Malaria Project). Ce projet a conduit plusieurs études notamment : des études d'incidence du paludisme, une étude cas de paludisme sévère comparée au témoin paludisme simple et aux sujettes bonnes santés pour évaluer la susceptibilité immunogénétique au paludisme, une étude d'interaction immunologique entre l'infection palustre et la schistosomiase, une étude de clairance parasitaire par la chloroquine.

4.1.2. Institut de recherches de l'Hôpital d'Ottawa (IRHO), Canada

L'Institut de recherches de l'Hôpital d'Ottawa (IRHO) est l'une des grandes institutions de recherche biomédicale au Canada. Affilié à l'Université d'Ottawa et à l'Hôpital d'Ottawa, il compte plus de 100 chercheurs principaux, des stagiaires post-doctoraux et des étudiants de 2^{ème} et 3^{ème} cycles qui travaillent dans les sujets aussi divers que l'épidémiologie clinique, les maladies infectieuses, les maladies chroniques, les maladies dégénératives, le cancer et la médecine moléculaire. L'IRHO est équipé d'instruments de pointe pour la recherche, dont ceux pour le génotypage automatisé. Une bibliothèque informatisée donne à ses chercheurs un accès instantané à la littérature scientifique internationale.

4.1.3. Centre d'Infectiologie Charles Mérieux du Mali (CICM)

Fruit de la collaboration entre le Gouvernement de la République du Mali et la Fondation Mérieux, le CICM a été mis en place suite à la signature de l'Accord- cadre N° 0956/1899 du 18 février 2004 entre le Gouvernement de la République du Mali et la Fondation Mérieux ainsi que la Convention du 16 janvier 2005 et son Protocole annexe du 11 mai 2011 entre le Ministère de la Santé et la Fondation Mérieux.

8 décembre 2003 : Création de la Fondation Mérieux Mali

15 janvier 2004 : Pose de la première pierre du CICM

17 janvier 2005 : Inauguration du CICM

2 mai 2005 : Démarrage des activités

Le CICM Mali comprend:

- Une Administration Générale.
- Un Centre de Formation avec une formation diplômante le BAMS (Bachelor de Biologie Médicale Appliquée), des formations qualifiantes et des formations par compagnonnage.

- Un laboratoire d'analyses médicales dénommé Laboratoire Rodolphe Mérieux (LRM) avec des activités de recherche et des activités de routines.

Le CICM a pour mission de participer tout comme les autres structures du Ministère de la Santé et de l'hygiène publique au développement sanitaire du Mali par le service rendu aux malades, la formation, la recherche et le renforcement des capacités dans le domaine du diagnostic biologique, dans des conditions désintéressées au bénéfice de la population.

Les ressources humaines du CICM sont composées de 29 agents, répartis entre les services techniques du LRM (17 agents) et les fonctions de support administratif, financier et logistique (12 agents).

Le LRM se compose des Laboratoires 1 et 2 aux seins desquels les activités de diagnostic sont effectuées, des laboratoires de recherche et d'un laboratoire P3 sous forme d'un centenaire. Le Laboratoire 1 offre le cadre et le matériel pour la réalisation des examens d'hématologie, de biochimie et d'immunologie, le laboratoire 2 prend en charge les examens de microbiologie (bactériologie, mycologie et parasitologie), Les laboratoires de biologie moléculaire permettent d'effectuer les études de recherche, le P3 est utilisé pour les pathogènes dangereux.

Le centre dispose également d'un laboratoire mobile pour le diagnostic des pathogènes émergents et re-émergents.

Les activités de biologie moléculaire se déroulent dans 3 pièces : une sale d'extraction, une sale de préparation du « Mix » et la sale d'amplification.

2. Type et période d'étude

C'est une étude cas-témoins qui s'est déroulé à Bandiagara. Chaque cas grave de paludisme était apparié à un cas de paludisme simple et un témoin en bonne santé apparente suivant le sexe, l'âge, l'ethnie et le lieu de résidence. L'étude épidémiologique sur le paludisme s'est déroulée de juin 1999 à décembre 2003 Les analyses génotypiques de la PCSK9 ont été réalisées en 2016 et les analyses biochimiques ont été effectuées en 2018.

3. Population d'étude

Notre étude a porté sur un sérothèque d'échantillon de 312 tiré d'une grande étude qui s'est déroulée de 1999 à 2003 dont la population était composée d'enfants âgés de 3 mois à 14 ans (n = 752), résident dans la ville de Bandiagara et dans les villages situés dans un rayon de 15 km.

4. Echantillonnage

L'étude pilote a porté sur l'ensemble des cas graves et des cas simples de paludisme vus pendant la période d'étude, répondant aux critères d'inclusion de l'étude. Chaque cas indexé de paludisme grave était associé à l'âge, au lieu de résidence et à l'appartenance ethnique à un cas de paludisme non compliqué (PNC) et à un contrôle sain (BS) : 253 témoins sains (BS), 246 patients paludisme non compliqué (PNC) et 253 patients atteints de paludisme grave (PG).

Ce présent travail porte sur 312 échantillons tirés au sort de cette grande cohorte de 752 enfants ; 104 cas de paludisme graves, 104 témoins de paludisme simple et 104 témoins en bonne santé.

4.4.1. Critères d'inclusion dans l'étude

Ont été inclus dans l'étude les participants ayant répondu à tous les critères à savoir:

- Etre âgés de 3 mois à 14ans au moment de l'inclusion,
- Avoir obtenu consentement éclairé et écrit des parents/tuteurs,
- Résider à Bandiagara ou dans une localité située dans un rayon de 15km,
- Avoir un paludisme grave, pour la sélection des cas graves, selon les critères de l'OMS ⁶⁰.
- Etre atteint d'une forme non compliqué de paludisme confirmé à *P. falciparum* à l'inclusion pour le premier type de témoin
- Etre en bonne santé à l'examen clinique et avoir une absence de parasitémie confirmé à l'observation microscopique pour le second type de témoin,
- Être disponible à participer au suivi pendant toute la durée de l'étude ;

4.4.2. Critères de non inclusion

Tous les participants qui remplissaient un des critères suivants n'ont pas été inclus dans l'étude ;

- La participation simultanée à un essai clinique d'intervention ;
- L'utilisation prolongée d'un médicament (comme le triméthoprime-sulfaméthoxazole pour la prévention des infections opportunistes associées au SIDA) avec une activité antipaludique connue ;
- Avoir une maladie chronique connue ou état d'immunodépression qui pourrait modifier les résultats des puces à protéine ;
- Toute condition qui, dans l'opinion du PI mettrait en péril la sécurité ou les droits d'un participant de l'étude ou rendrait le participant incapable de respecter le protocole.

5. Méthodes d'études

Matériels et équipements :

- **Cliniques** : Il était constitué de : thermomètres électroniques, stéthoscopes, tensiomètre, pèse-personne, alcool à 70°, coton hydrophile, seringues (5ml et 10ml), un stock de médicaments (antipaludiques, antipyrétiques, antiémétiques, antibiotiques etc.), une fiche de consentement et un cahier d'observation.
- **Hématologie et parasitologie** : Hémocue, vaccinostyles, lames porte-objets, gants stériles, bac de coloration, solution de Giemsa 10% ; eau distillée ; râtelier, séchoir, boîte de collection type OMS, minuterie, alcool, coton hydrophile, microscopes, huile d'immersion.
- **Biochimie et biologie moléculaire**: centrifugeuse thermo scientific labofuge 200; kenza 450tx; imprimante; ipocleaning solution - extra cleaning; eau distillée; papier absorbant; gants à usage unique; micropipettes, microtubes, Stragene Mx 300 SP, sonde Fam et Vic, Haute.

4.5.1. Méthodes cliniques

Elle consistait à l'examen clinique et à la prise en charge médicale des participants à l'étude. Au cours de l'examen clinique un interrogatoire suivi d'un examen physique était pratiqué chez les participants.

Examen du malade

Les participants étaient interrogés à la recherche d'antécédents médicaux et de signes en faveur du paludisme comme : la fièvre, la céphalée, la diarrhée, la douleur abdominale, les vomissements, la courbature, la nausée, signes respiratoires, les frissons, et l'absentéisme scolaire.

L'examen physique comprenait : la prise de la température axillaire à l'aide d'un thermomètre électronique pour l'identification des cas fébriles, la prise du poids corporel à l'aide d'un pèse-personne, la mesure de la tension artérielle, l'examen de la peau et des phanères à la recherche d'une pâleur, d'une déshydratation ou d'un ictère, la mesure de la fréquence respiratoire le pouls, à l'auscultation cardiaque et pulmonaire.

Prises-en charge des malades

Les cas de paludisme non compliqué ont été traités conformément à la politique nationale en la matière qui consistait à l'administration de la chloroquine à la dose de 10 mg/kg les deux premiers jours et 5 mg/ kg le 3eme jour.

Les formes graves de paludisme ont été traitées avec la quinine en perfusion dans du sérum glucosé à 5-10% à la dose 10mg/ kg les 8^e premières heures, puis 8 mg/kg les 7 heures suivants et 7mg/kg le Jour1 : 10 mg/kg les 8 premières heures, puis 8 mg/kg.

4.5.2. Méthodes biologiques

L'étude comporte le dosage des différents paramètres biologiques faisant l'objet de notre étude.

Pré-analytique

Le prélèvement sanguin s'effectue selon certains critères :

Tous les prélèvements ont été effectués avec pose de garrot. Nous avons prélevé les sujets en position semi- assise. Les prélèvements ont été réalisés dans deux tubes : EDTA (5 ml) et sec (3ml). Quelques gouttes de sang ont été prélevé un sur papier filtre et sur une lame porte-objet

Le tube EDTA a été centrifugé à 4000 tr/mn pendant 15 mn le jour même du prélèvement, le sérum a été divisé en deux tubes secs étiquetés pour le dosage des paramètres lipidiques et le dosage de l'homocystéine au sein du laboratoire de biochimie CHU-C. Le reste du tube EDTA était préservé pour l'extraction d'ADN en vue de l'étude moléculaire. Le deuxième tube sec a été centrifugé dans les mêmes conditions, le jour même du prélèvement.

Les sérums ont été séparés par centrifugation à 2900 tours par minute pendant 10 minutes). Ils étaient congelé à -80 ° C jusqu'en 2018. Ces sérums ont été décongelés en 2018 pour le dosage des lipides.

Analytique

- **Hématologie et parasitologie** : Taux d'hémoglobine et GE
- **Biologie moléculaire** : génotypage ADN (Extraction d'ADN, PCR quantitative)
- **Biochimie** : CHOL T, HDL, LDL et TG.

❖ **Mesure du taux d'hémoglobine**

Les cas d'anémie ont été détectés à l'aide d'un hémoglobinomètre.

L'hémoglobinomètre de type « HEMOCUE » a été utilisé pour mesurer le taux d'hémoglobine des participants.

Une goutte de sang capillaire obtenue sur un doigt du participant est mise dans une cuvette placée dans l'appareil. Celui-ci affichait automatiquement le taux d'hémoglobine sur un écran.

❖ **Goutte épaisse et frottis mince** (selon la technique standard OMS 1982)

Mode opératoire :

Après désinfection d'un des doigts d'une main, de préférence un doigt de la main gauche avec un tampon d'alcool, à l'aide d'un vaccinostyle stérile, on fait une ponction capillaire d'un coup sec. La première goutte de sang est éliminée à l'aide d'un coton sec, ensuite une goutte de sang est déposée au centre d'une lame étiquetée (portant la date, le numéro et le jour de suivi), à l'aide de l'extrémité d'une autre lame, des mouvements circulaires et centrifuges sont effectués jusqu'à atteindre un cercle d'environ 1 cm de diamètre. Après les lames sont déposées dans la boîte de collection type OMS pour séchage.

Les lames ont été colorées avec le Giemsa dilué à 10% dans l'eau tamponnée pH=7,2 pendant 15 mn et compté contre 300 leucocytes.

Les densités de *Plasmodium falciparum* ont été enregistrés comme le nombre de parasites asexués / μ L de sang basé sur un nombre moyen de leucocytes de 7500 / μ L. Chaque lame a été évaluée séparément par 2 experts microscopistes, et les divergences ont été résolues par un troisième microscopiste expert.

Examen microscopique :

La lecture des lames était faite après séchage à l'aide d'un microscope optique binoculaire (marque Olympus CX 31) à l'objectif 100 avec l'huile d'immersion. La méthode leucocytaire quantitative (sur la base de 7500 leucocytes par mm^3 de sang) a été utilisée pour la détermination de la parasitémie.

Le nombre de parasites était compté sur 300 leucocytes et la parasitémie exprimée selon la formule suivante : $P=N \times \text{GB}/L$

P est le nombre de parasites par mm^3 de sang

N est le nombre de parasites comptés sur leucocytes

L est le nombre de leucocytes comptés (300).

GB est le nombre de leucocytes (globules blancs) dans la formule sanguine du sujet

Le nombre exact de leucocytes n'ayant pas été déterminé chez les participants au cours des évaluations biologiques, nous avons estimé le nombre moyen de leucocytes à 7500/mm³ de sang. Pour le calcul de la parasitémie par mm³ de sang nous avons utilisé la formule ci-dessous :

$$P=N \times 7500/(300)= N \times (25)$$

Le taux d'hémoglobine a été déterminé à l'aide d'un hémoglobinomètre.

❖ **Analyses moléculaires des mutations PCSK9**

Leur ADN génomique a été extrait et génotypé pour les SNP *PCSK9* en utilisant des tests de Taqman qui impliquent une PCR en temps réel ciblant les exons contenant le SNP combinée à l'hybridation aux amplicons de sondes fluorogènes spécifiques d'allèles.

Extraction d'ADN :

L'ADN génomique a été isolé des ponctions des cartes FTA (6 mm de diamètre) incubées dans 0,4 mL de la solution saline tamponnée au phosphate (1X PBS), à pH 7,4 ; pendant 20 min à température ambiante sous agitation douce. Après centrifugation, le surnageant a été jeté et le papier a été traité avec 40 µl d'une solution contenant 10 mM de NaOH, 200 mM de NaCl et 0,05% de dodécylsulfate de sodium pendant 6 minutes à 95 ° C. Après centrifugation pendant 3 minutes, le surnageant a été recueilli. Des aliquotes ont été diluées à 12,5 X dans de l'eau et utilisées pour la PCR.

Analyse génétique (PCR Quantitative) :

Les tests TaqMan ont été utilisés pour le génotypage des SNP. Le test est basé sur la présence de fluorescence due à la dégradation de sondes conjuguées à des fluorochromes spécifiques d'allèles après hybridation à un amplicon de PCR ciblant la partie du SNP ⁶¹. Il a été réalisé sur un thermocycleur Stratagene Mx 3005P (Cedar Creek, TX). Des amorces et des sondes fluorogènes ont été achetées chez Applied Biosystems (Etobicoke, ON). Les sondes pour les allèles communs et mineurs

portaient respectivement à leur extrémité 5' des fluorochromes VIC © et FAM ©. Ils portaient tous un extincteur non fluorescent (NFQ) à leur extrémité 3'.

Un mélange réactionnel de PCR typique contenait 2 µL d'échantillon d'ADN, 1 mélange maître FastStart TaqMan Probe Master Rox (Roche, Laval, QC), des amorces à 0,9 µM chacune et des sondes fluorogènes à 0,2 µM chacune. La réaction a été conduite pendant 45-50 cycles impliquant une dénaturation de 15-20 sec à 95 ° C, un recuit de 20 secondes à la température appropriée et un allongement de 20 secondes à 72 ° C.

❖ Analyses Biochimiques

Dosages lipidiques

Le bilan lipidique désigne un examen des différents composés lipidiques présents dans le sang, à savoir :

- le cholestérol total (un corPNC gras qui entre notamment dans la composition des membranes cellulaires et qui sert à la synthèse d'hormones stéroïdes) ;
- le cholestérol-LDL, que l'on considère comme le « mauvais » cholestérol. Le corPNC gras est effectivement lié à des transporteurs, les LDL (pour low-density lipoproteins) qui naviguent du foie vers le reste de l'organisme ;
- le cholestérol-HDL, désigné comme le « bon » cholestérol. Il est lié aux HDL (pour high-density lipoproteins) qui circulent vers le foie. A cet endroit, le cholestérol est stocké ;
- les triglycérides (un type de graisse qui constitue une importante réserve d'énergie et qui provient essentiellement des sucres et de l'alcool ingérés en grande quantité).

Principe de dosages lipidiques :

Le dosage lipidique utilisé était une méthode colorimétrique enzymatique, à l'aide un spectrophotomètre (Un automate analyseur multiparamétriques (KENZA 450 TX))

- **Cholestérol total :**

Le cholestérol total correspond au taux de cholestérol HDL et LDL. La réaction colorée est directement proportionnelle au taux de cholestérol.

Le cholestérol estérifié est transformé en cholestérol libre (CL) grâce au cholestérol estérase. Le CL est oxydé en présence du cholestérol oxydase, en cholesténone avec libération de peroxyde d'hydrogène; ce dernier oxyde l' amino-4-antipyrine, en présence de phénol et de peroxydase pour donner une quinone imine colorée dont l'intensité de la coloration évaluée à 510 nm est proportionnelle à la quantité de CL.

- **Triglycérides**

Les triglycérides sont des esters de glycérol et de 3 acides gras à longue chaîne

Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéinlipase libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par du glycérophosphate déshydrogénase et de l'ATP en présence de glycérol kinase pour produire du glycérol-3-phosphate et de l' adénosine-5-di phosphate. Le glycérol-3-phosphate est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate et en peroxyde d'hydrogène par le glycérophosphate déshydrogénase. Au final, le peroxyde d'hydrogène réagit avec du 4-aminophénazone et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase, ce qui donne une couleur rouge,

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l'échantillon testé.

- **HDL**

Le dosage direct des fractions lipidiques : Cholestérol HDL

Retour du cholestérol vers le foie.

- **LDL**

Le taux de LDL a été calculé selon la formule de Friedewald :

LDL-Cholestérol (en g/L) = (Chol. total) - (Chol. des HDL) - (Triglycérides) / 5

6. Variables étudiées

❖ *Variables sociodémographiques*

Les variables sociodémographiques sont : L'âge, sexe, la résidence, et l'ethnie.

❖ *Variables biologiques*

Les variables biologiques sont : La parasitémie, le CHOL T, HDL, LDL, TG,

Les définitions opérationnelles

- **Densité parasitaire**
 - Faible densité parasitaire : 1-5000 trophozoïtes/mm³
 - Densité modérée : 5001-50000 trophozoïtes/mm³
 - Forte densité parasitaire : > 50000 trophozoïtes/mm³
- **Fièvre** : Était définie par une température axillaire supérieure ou égale à 37,5°C.
- **Anémie modérée** : Taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl.
- **Anémie sévère** : Taux d'hémoglobine inférieur ≤ 05 g/dl.
- **Accès palustre** : Le paludisme a été défini par la présence d'un signe d'appel du paludisme (fièvre, céphalées, vomissement, courbature, douleur abdominale, diarrhée etc..) associé à une parasitémie avec ou sans fièvre mesurée.
 - **Paludisme grave** :
Les cas ont été classés comme paludisme grave selon les critères de l'Organisation Mondiale de la Santé qui incluent un ou plusieurs des symptômes suivants: troubles de conscience, prostration, convulsions multiples, acidose, hypoglycémie, insuffisance rénale, anémie sévère, jaunisse, œdème pulmonaire, choc ou hyperparasitémie ³⁹.
 - **Paludisme non compliqué (PNC)** :

Le PNC a été définie comme une parasitémie à *P. falciparum* et une température axillaire ≥ 37,5 ° C détectée par une surveillance active ou une parasitémie et des symptômes entraînant un comportement de recherche de traitement en l'absence d'autre cause évidente de fièvre sous surveillance passive.

-
- **Bonne santé :** Les enfants qui étaient en bonne santé à l'examen clinique avec une absence de parasitémie confirmé à l'observation microscopique.

 - **Valeurs de références des différents paramètres lipidiques :**
 - **Cholestérol Total :**
 - Inf à 3,5 mmol/l
 - 3,5 à 6 mmol/l
 - Sup à 6 mmol/l
 - **Triglycérides :**
 - Inf à 0,5 mmol/l
 - 0,5 à 2 mmol/l
 - Sup à 2 mmol/l
 - **HDL :**
 - Inf à 0,90 mmol/l
 - Sup à 0,9 mmol/l
 - **LDL :**
 - Inf à 3,35 mmol/l
 - Sup ou égal à 3,35 mmol/l
 - **Rapport Cholestérol Total/HDL :**
 - Inf à 4,5
 - 4,5 à 5
 - Sup à 5

7. Saisie et analyse des données

Les données recueillies sur les fiches d'enquêtes, les données moléculaires et biochimiques ont été saisies sur ACCESS - Excel et analysées sur R studio et SPNCS 20.0, en utilisant la méthode d'analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA). Les statistiques de comparaison incluaient le rapport de cotes pondéré de Mantel-Haenszel (OR), la limite de confiance de 95% (CL) exacte, le chi-carré sommaire de Mantel-Haenszel et le test exact de Fisher (si nécessaire) pour la recherche de liens statistiques. Le seuil de signification statistique a été fixé à $p < 0,05$.

8. Considérations éthiques

Le protocole de recherche a été approuvé par les comités d'éthique de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako.

La participation à l'étude était volontaire.

L'étude a été menée dans le respect strict du protocole, des bonnes pratiques cliniques et des traditions locales. Nous avons obtenu la permission communautaire d'entreprendre l'étude auprès des responsables administratifs, des leaders communautaires et des guérisseurs traditionnels. Nous avons obtenu le consentement éclairé des parents ou des tuteurs d'enfant et l'assentiment des enfants âgés de 13 ans et plus. Toutes les informations concernant les participants étaient gardées confidentielles et n'avaient accès aux informations que les personnes autorisées. Les résultats de l'étude ont été restitués à la population de Bandiagara et aux autorités sanitaires. Les enfants ont bénéficié d'un traitement gratuit du paludisme, et des affections courantes rencontrées.

5. RESULTATS

1. Sociaux démographiques

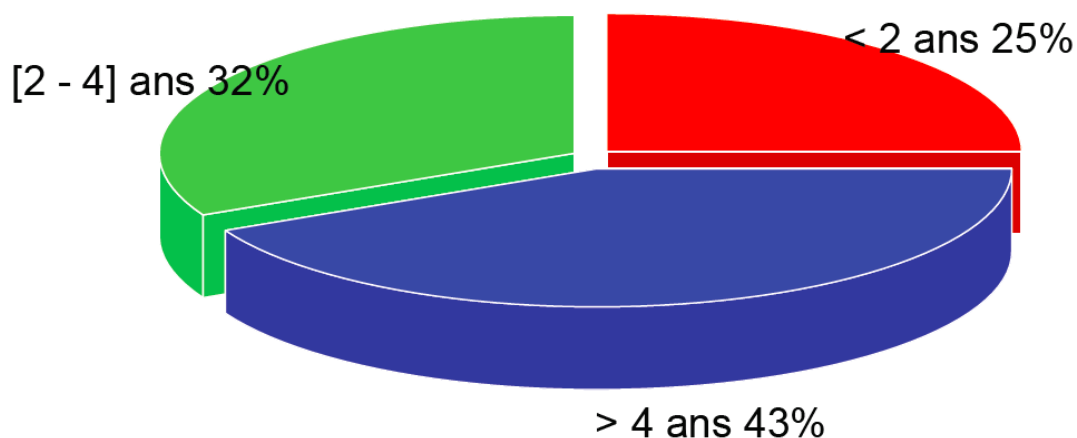


Figure 11 : Répartition des enfants de l'étude en fonction des classes d'âge.

Les enfants de plus de 4 ans étaient majoritaires avec 42,6 % suivi de ceux de 2-4 ans (32%).

Tableau I : Répartition des enfants de l'étude en fonction du sexe.

Sexe	Effectifs	Pourcentage (%)
Féminin	156	50
Masculin	156	50
Total	312	100

Dans notre étude il y avait autant de filles que garçons.

Après la répartition des enfants de l'étude en fonction de l'âge et du sexe, celle de l'ethnie est présentée dans le tableau suivant.

Tableau II : Répartition des enfants de l'étude en fonction de l'ethnie.

Ethnie	Fréquence (n)	Pourcentage (%)
Bambara	10	3,2
Bobo	1	0,3
Bozo	2	0,6
Dogon	253	81,1
Haoussa	3	1
Kassonkhé	1	0,3
Malinké	4	1,3
Minyanka	3	1
Mossi	2	0,6
Wolof	1	0,3
Maure	1	0,3
Peulh	15	4,8
Samogo	2	0,6
Senoufo	5	1,6
Soninké	4	1,3
Sonrhai	4	1,3
Indéterminé	1	0,3
Total	312	100

Les enfants étaient majoritairement de l'ethnie Dogon suivie des Peulh.

2. Résultats cliniques et parasitologiques

Tableau III : Répartition des enfants ayant un paludisme grave en fonction du degré

Statut anémique	Fréquence (n=104)	Pourcentage (%)
Pas d'anémie	39	37,50
Anémie modérée	57	54,81
Anémie sévère	8	7,69
<i>p-value</i>		< 0,0001

d'anémie.

La majorité des enfants ayant le paludisme grave avait une anémie modérée ou ne présentait pas d'anémie.

Les cas d'anémies sévères représentaient 7,69%.

Tableau IV : Répartition des enfants ayant un paludisme grave en fonction de la densité parasitaire.

Densité parasitaire	Fréquence (n=104)	Pourcentage (%)
Faible densité	36	34,62
Densité Moyenne	64	61,54
Forte densité	4	3,85
<i>p-value</i>		< 0,0001

La majorité des enfants ayant le paludisme grave présentait une densité parasitaire moyenne avec 61,54 % alors que seul 3,85 % avaient une forte densité parasitaire.

Tableau V : Fréquence des signes cliniques chez les enfants ayant un paludisme grave.

Signes cliniques	Fréquence	Pourcentage (%)
Coma	23	7,4
Obnubilation	9	2,9
Prostration	12	3,8
Déstresse respiratoire	6	1,9
Hypoglycémie	2	0,6
Ictère	7	2,2
Anurie	0	0
Urines foncées	4	1,3
Etat de choc	1	0,3
Malnutrition	15	4,8
Vomissement répétitif	9	2,9
Vomissement	106	34
Convulsion	50	16
Douleur abdominale	47	15,1
Prurit	14	4,5
Hématurie	5	1,6
Maux de tête	91	29,2
Diarrhée	55	17,6
Syndrome respiratoire	96	30,8
Dysurie	6	1,9
Fièvre	150	48,1
Autres signes	91	29,2

Les signes cliniques majoritairement observés étaient la fièvre (48,1%), les vomissements (34%) et la présence d'un syndrome respiratoire (30,8%).

3. Résultats biochimiques en fonction des polymorphismes de la PCSK9

Tableau VI: Répartition des enfants de l'étude en fonction du nombre de polymorphisme de PCSK9.

Type de polymorphisme	I474V n (%)	A443T n (%)	C679X n (%)	E670G n (%)
Pas de mutation	179 (58,31)	222 (72,31)	282 (91,86)	134 (43,65)
Mutation Hétérozygote	116 (37,79)	77 (25,08)	24 (7,82)	153 (49,84)
Mutation Homozygote	12 (3,91)	8 (2,61)	1 (0,33)	20 (6,51)
p-value	<i>< 0,0001</i>	<i>< 0,0001</i>	<i>< 0,0001</i>	<i>< 0,0001</i>

Le polymorphisme E670G était le plus prévalent avec 56,4% (notamment 49,84% de mutation hétérozygote et 6,51 de mutation homozygote) dans la population étudiée ($p=0,004$). Elle était suivie respectivement des polymorphismes I474V (41,7%), A443T (27,7%) et C679X (8%).

Contrairement aux autres polymorphismes où l'absence de mutation est significativement plus fréquente, le taux de mutations était plus élevé pour le polymorphisme E670G comparé au génotype sauvage avec respectivement 56,37 % et 43,65 % $p < 0,0001$.

Tableau VII : Comparaison des paramètres biochimiques en fonction du polymorphisme **I474V**.

Paramètres biochimiques	Absence de mutation (N=177) Médiane (Q1 - Q3)	Présence de mutation (N=127) Médiane (Q1 - Q3)	<i>p-value</i>
Triglycérides	0,36 (0,19 – 0,63)	0,27 (0,16 – 0,48)	0,049
Cholestérol	0,68 (0,48 – 0,94)	0,81 (0,57 – 1,11)	0,118
HDL	0,11 (0,01 – 0,26)	0,19 (0,05 – 0,32)	0,001
Rapport cholestérol/HDL	7,82 (3,17 – 43,25)	4,08 (2,52 – 12,94)	0,002
LDL	0,35 (0,21 – 0,57)	0,42 (0,22 – 0,72)	0,153

Les taux médianes des paramètres biologiques en fonction du polymorphisme I474V : nous observons que le taux médiane du triglycéride est significativement plus élevé chez enfants qui ne présentent pas de mutation (0,36 mmol/L) comparés à ceux présentant au moins une mutation (0,27 mmol/L) ($p= 0,049$). Par contre le taux médian de HDL était plus élevé en présence d'au moins une mutation. La différence était statistiquement significative ($p= 0,001$).

De même, le rapport cholestérol total/HDL était significativement plus élevé chez les patients ne présentant pas de mutation I474V ($p= 0,002$).

Tableau VIII : Comparaison des paramètres biochimiques en fonction du polymorphisme **A443T**.

Paramètres biochimiques	Absence de mutation (N=220) Médiane (Q1 - Q3)	Présence de mutation (N=84) Médiane (Q1 - Q3)	<i>p-value</i>
Triglycérides	0,31 (0,17 – 0,54)	0,31 (0,18 – 0,61)	0,858
Cholestérol	0,75 (0,52 – 1,070)	0,69 (0,45 – 0,91)	0,632
HDL	0,17 (0,01 – 0,31)	0,11 (0,01 – 0,26)	0,075
Rapport cholestérol/HDL	4,77 (2,81 – 33,00)	7,01 (2,86 – 37,87)	0,187
LDL	0,38 (0,22 – 0,62)	0,36 (0,20 – 0,61)	0,684

Les variations des paramètres biochimiques étaient comparables entre les porteurs et les non porteurs de la mutation du polymorphisme A443T ($P > 0,05$).

Tableau IX : Comparaison des paramètres biochimiques en fonction du polymorphisme **C679X**.

Paramètres biochimiques	Absence de mutation (N=280) Médiane (Q1 - Q3)	Présence de mutation (N=24) Médiane (Q1 - Q3)	p-value
Triglycérides	0,31 (0,17 – 0,56)	0,23 (0,15 – 0,57)	0,443
Cholestérol	0,75 (0,510 – 1,06)	0,58 (0,47 – 0,81)	0,092
HDL	0,16 (0,01 – 0,29)	0,10 (0,01 – 0,21)	0,305
Rapport cholestérol/HDL	5,07 (2,77 – 33,00)	8,08 (2,97 – 48,17)	0,658
LDL	0,38 (0,22 – 0,63)	0,31 (0,20 – 0,46)	0,220

Nous n'avons pas observés de différence statistiquement significative ($P > 0,05$) dans les variations des paramètres biochimiques en fonction du polymorphisme C679X.

Tableau X : Comparaison des paramètres biochimiques en fonction du polymorphisme **E670G**.

Paramètres biochimiques	Absence de mutation (N=171) Médiane (Q1 - Q3)	Présence de mutation (N=133) Médiane (Q1 - Q3)	p-value
Triglycérides	0,300 (0,15 – 0,55)	0,335 (0,18 – 0,57)	0,577
Cholestérol	0,770 (0,51 – 0,980)	0,695 (0,51 – 1,085)	0,073
HDL	0,17 (0,03 – 0,30)	0,13 (0,01 – 0,28)	0,179
Rapport cholestérol/HDL	4,340 (2,5600 – 22,67)	6,495 (3,0175 – 41,50)	0,321
LDL	0,40 (0,2300 – 0,57)	0,36 (0,2025 – 0,64)	0,335

Les variations des paramètres biochimiques en fonction du polymorphisme E670G entre les porteurs et les non porteurs de la mutation étaient statistiquement non significative ($p > 0,05$).

Tableau XI : Fréquence des polymorphismes en fonction de l'état de santé.

	Bonne Santé n (%)	Paludisme simple n(%)	Paludisme grave n (%)	<i>p</i>
I474V	51 (40)	42 (33)	35 (27)	0,08
A443T	29 (34)	23 (27)	33 (39)	0,4
C679X	13 (52)	7 (28)	5 (20)	0,11
E670G	51 (29)	53 (31)	69 (40)	0,03

Le polymorphisme I474V (perte de fonction) est majoritairement présent dans le groupe Bonne santé, contre le polymorphisme E670G (gain de fonction) est plus élevé dans le groupe Paludisme grave et la différence est statistiquement significatifs.

Tableau XII : Taux de cholestérol en fonction de l'état de santé.

	Médiane	Min	Max	Q25	Q75
BS	0,9	0,22	4,71	0,67	1,26
PNC	0,63	0,04	3,87	0,49	0,87
PG	0,64	0,09	3,4	0,46	0,91
<i>p-value</i>	< 0,0001				

Le taux médian du cholestérol total était significativement plus bas chez les enfants présentant un paludisme simple ou grave.

Tableau XIII : Taux des triglycérides en fonction de l'état de santé.

	Médiane	Min	Max	Q25	Q75
BS	0,22	0,01	3,44	0,12	0,39
PNC	0,31	0,05	2,16	0,19	0,59
PG	0,43	0,04	2,78	0,25	0,75
<i>p-value</i>	<i>< 0,0001</i>				

Le taux médian de triglycéride était significativement plus élevé chez les enfants présentant un paludisme grave.

Tableau XIV : Taux des HDL en fonction de l'état de santé.

	Médiane	Min	Max	Q25	Q75
BS	0,27	0,01	0,70	0,18	0,40
PNC	0,13	0,01	2,43	0,03	0,27
PG	0,02	0,01	0,37	0,01	0,16
<i>p-value</i>	<i>< 0,0001</i>				

La médiane du taux de HDL reste significativement très basse chez les enfants ayant le paludisme grave.

Tableau XV : Taux des LDL en fonction du polymorphisme et de l'état de santé.

	Médiane	Min	Max	Q25	Q75
BS	0,49	0,07	4,28	0,30	0,80
PNC	0,31	0,01	2,43	0,03	0,53
PG	0,33	0,02	0,37	0,01	0,52
<i>p-value</i>	<i>0,0008</i>				

Le taux médian du LDL était significativement plus élevé chez les enfants en Bonne santé.

Tableau XVI : Rapport de cholestérol total sur le HDL en fonction de l'état de santé.

	Médiane	Min	Max	Q25	Q75
BS	3,46	0,93	259	2,21	5,95
PNC	4,73	0,56	117	2,67	18,33
PG	24,00	0,83	295	4,68	51,25
<i>p-value</i>	<i>< 0,0001</i>				

Le rapport cholestérol total sur le HDL était significativement plus élevé en présence de paludisme grave.

Tableau XVII : Association entre paramètres biologiques, le gain ou la perte de fonction, l'état de santé et l'âge des enfants.

	Triglycérides OR (95% CI)	Cholestérol OR (95% CI)	HDL OR (95% CI)	LDL OR (95% CI)
Gain de fonction	0,67 * (0,47 – 0,94)	0,89 (0,57 – 1,40)	0,79 ** (0,68 – 0,91)	0,89 (0,62 – 1,29)
Polymorphisme mixte	0,57 * (0,35 – 0,92)	0,68 (0,36 – 1,27)	0,73 ** (0,60 – 0,89)	0,78 (0,46 – 1,30)
Perte de fonction	0,67 * (0,48 -0,93)	0,92 (0,59 – 1,43)	0,78 *** (0,68 – 0 ,90)	0,92 (0,64 - 1,31)
Paludisme Grave	1,37 *** (1,20 – 1,56)	0,77 ** (0,65 – 0,91)	0,81 *** (0,77 – 0,86)	0,83 * (0,72 – 0,95)
Paludisme Simple	1,15* (1,01 – 1,31)	0,71 *** (0,60 – 0,85)	0,89 *** (0,84 – 0,94)	0,77 *** (0,67 – 0,89)
Age : 2 à 4 ans	0,74 *** (0,64 – 0,85)	0,73 *** (0,60 – 0,87)	0,96 (0,91 – 1,02)	0,82 * (0,71 – 0,96)
Age : > 4 ans	0,81 ** (0,71 – 0,93)	0,87 (0,73 – 1,04)	1 (0,94 – 1,05)	0,91 (0,78 – 1,05)

Codes de Significativité : 0 **** 0,001 *** 0,01 ** 0,05 * 0,1 ' ' 1

La présence de mutation gain de fonction est significativement associée à une diminution des paramètres lipidiques comme :

- Les triglycérides (OR=0,67 ; 95% IC (0,47 – 0,94), p< 0,05)
- Le HDL (OR= 0,79 ; 95% IC (0,68 – 0,91), p< 0,05)

Il en est de même que pour les mutations mixtes (OR=0,57 ; 95% IC (0,35 – 0,92), p< 0,05) pour les triglycérides et (OR=0,73 ; 95% IC (0,60 – 0,89), p< 0,001) pour le taux de HLD.

Les associations vont dans le même sens pour la mutation perte de fonction (OR=0,67 ; 95% IC (0,48 -0,93), p< 0,001) pour les triglycérides et (OR=0,78 ; 95% IC (0,68 – 0 ,90), p< 0,0001) pour le taux de HDL.

Le paludisme grave tout comme le paludisme simple étaient significativement associés à une augmentation du taux de Triglycérides. Les OR et 95% IC sont respectivement : 1,37 (1,20 – 1,56), $p < 0,0001$ et 1,15 (1,01 – 1,31), $p < 0,05$. Le paludisme grave comme simple sont associés à une diminution du taux de cholestérol, du HDL et du LDL.

La tranche d'âge de 2 à 4 ans est significativement associée à une diminution des taux de Triglycérides, du Cholestérol et du LDL. Les OR et 95% IC sont respectivement : 0,74 (0,64 – 0,85), $p < 0,0001$; 0,73 (0,60 – 0,87), $p < 0,0001$ et 0,82 (0,71 – 0,96), $p < 0,05$.

Tableau XVIII : Association entre la survenue du paludisme grave et les polymorphismes de la PCSK9 en fonction du polymorphisme Gain de fonction.

	OR	Intervalle de confiance		<i>p-value</i>
		Limite inférieure	Limite supérieure	
Sauvage	0,53	0,02	14,08	0,6673
Mixte	0,58	0,27	1,2	0,1448
Perte	0,35	0,17	0,69	0,0028

Comparé au polymorphisme Gain de fonction, le polymorphisme Perte de fonction est significativement associé à une protection contre la survenue du Paludisme grave avec un OR de 0.35, un IC de (0.17 à 0.69) et *p-value* de 0,0028.

Tableau XIX : Fréquence des polymorphismes de la PCSK9 en fonction de l'état de santé

	Gain	Perte	p-value
Bonne Santé	21 (28,77%)	52 (71,23%)	< 0,0001
Paludisme Grave	39 (53,42%)	34 (46,58%)	0,510
Paludisme non Complicé	29 (42,03%)	40 (57,97%)	0,088

La mutation gain de fonction était plus fréquente chez les enfants ayant un paludisme grave que les autres ayant un paludisme non compliqué ou en bonne santé.

La comparaison entre mutation gain de fonction et perte de fonction à l'intérieur de chaque groupe nous montre que la différence est significative dans seulement le groupe Bonne santé avec un $p < 0,0001$.

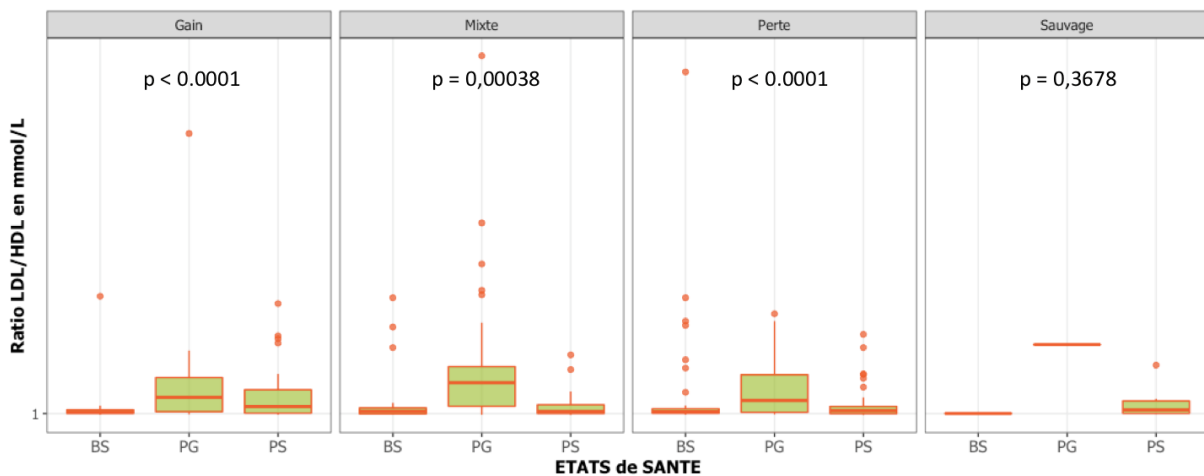


Figure 12 : Ratio LDL/HDL en fonction du polymorphisme et de l'état de santé.

Le ratio LDL/HDL s'élève en fonction du paludisme, on observe une nette élévation du taux médian dans le groupe paludisme grave. Cette élévation est très prononcée chez ceux qui présentent une mutation gain et perte de fonction (mutation Mixte).

6. DISCUSSION

Le but de cette étude était d'évaluer l'impact des mutations du gène de PCSK9 sur les variations lipidiques au cours de l'infection palustre. A cet effet nous avons analysé des échantillons de sang total et de sérums d'une étude cas témoins qui s'est déroulée de 1999 à 2003 à Bandiagara.

Notre population d'étude était composée de 312 enfants âgés de 0 à 14 ans dont le sexe ratio était de 1, ce qui démontre l'application correcte des critères d'inclusion et d'échantillonnage Cas-Témoins pour minimiser les facteurs de biais liés au sexe. Au cours de notre étude, la moyenne d'âge était 3,8 ans avec un écart-type de 2,5 et IC de (3,5-4,0) et la tranche d'âge de plus de 4 ans étaient significativement ($p=0,0006$) plus représentées avec 42,6 %. Cette tranche d'âge élevée s'expliquerait par la disponibilité des plus âgés pour l'étude. Il ressort que l'ethnie Dogon était plus élevée avec 81,1% suivi des peulh avec 4,5%. Cela serait dû au fait que l'étude a été menée à Bandiagara, une ville à majorité dogon et le choix de la ville de Bandiagara est justifié par la fréquence du paludisme grave qui était élevée à l'époque dans cette ville ⁶². La répartition des différents groupes était équitable. Car il s'agissait d'une étude cas témoin, d'où la sélection de 104 cas de paludisme grave appariés à 104 cas témoin de paludisme simple et 104 bonne santé comme témoin sains.

Dans cette étude 48,1% avaient de la fièvre ; 34% présentaient des vomissements ; 30,8% présentaient un syndrome respiratoire. Ces signes sont très fréquents dans les accès palustres graves. La majorité des enfants ayant un paludisme grave avait une anémie modérée ou ne présentait pas d'anémie avec respectivement 54,81 et 37,5 %. Il y avait au total 8 cas d'anémies sévères.

La majorité des enfants ayant le paludisme grave présentait une densité parasitaire moyenne avec 61,54 % alors que seul 3,85 % avait une forte densité parasitaire. Ces densités parasitaires moyennes sont probablement dues aux séquestrations des parasites dans les capillaires profonds contribuant à la gravité du paludisme ⁶³.

Plus de la moitié des enfants ne prenaient pas d'antipaludique. Ce qui pourrait expliquer la fréquence des cas graves de paludisme à cette période à Bandiagara.

Sur un total de 752 échantillons d'ADN génotypés pour les SNP Y142X, A443T, I474V, E670G et C679X en 2016, il en est sortie dans cet échantillon de la population malienne que ces phénotypes de mutation étaient respectivement de 0,00, 0,12, 0,20, 0,26 et 0,022 ⁶⁴. Ces prévalences étaient inférieures à celles trouvées en 2006 par Jonathan C. Cohen et al. qui ont trouvé chez les sujets afro-américain les allèles Y142X et C679X a des fréquence respectives de 0,8% et 1,8% ⁶⁵. Dans une autre étude de 520 échantillons d'ADN ouest-africains notamment de Burkina Faso, Bénin et de Togo où seule la mutation C679X a été détectée à une fréquence de 3,3% ³¹. Ce taux est comparable à celui rapporté dans une taille similaire d'échantillon de femmes zimbabwéennes (3,7%, n = 653) ⁶⁶.

Dans notre échantillon (312) le taux de mutation E670G était le plus représenté avec 55,4 % comparé au génotype sauvage ($p=0,026$) contrairement aux autres polymorphismes ou c'est l'absence de mutation qui était significativement plus dominante. De même, la comparaison entre les différents polymorphismes révèle que le polymorphisme E670G était le plus prévalent ($p= 0,004$).

Contrairement aux autres mutations où les variations lipidiques n'étaient pas statistiquement significatives, le polymorphisme I474V était significativement associé à un taux médian de triglycéride élevé ($p= 0,04$) chez les enfants qui ne présentaient pas de mutation (0,36 mmol/L) que ceux présentant au moins une mutation (0,27 mmol/L). Par contre le taux médian de HDL était plus élevé ($p= 0,0014$) en présence d'au moins une mutation I474V. Le rapport cholestérol total/HDL était significativement plus élevé chez les patients qui ne présentent pas mutation I474V ($p= 0,0019$).

Dans notre étude, nous avons déterminé les niveaux des paramètres biochimiques en fonction de l'état de santé et il en ressort que les taux médians du cholestérol total, du HLD, et du LDL restent bas au cours de l'accès palustre et ce quel que soit sa gravité. Ceci peut s'expliquer par le fait que pendant le paludisme, le parasite utilise ces lipides pour assurer leur croissance. Nos résultats corroborent ceux des travaux menés au Nigéria par Chukwuocha et al. en 2011, qui ont démontré une modification des taux lipidiques pendant la phase aiguë de l'infection palustre.

Cette étude établit une importante corrélation (12,9%, $p < 0,01$) entre le statut parasitaire du paludisme et le taux de cholestérol, ils ont trouvé que (90%) des personnes atteintes de paludisme avaient un taux de cholestérol bas (<180 mg/dL) comparés aux témoins non paludéens ⁸.

Contrairement aux autres lipides nous avons remarqué que le taux médian de triglycéride reste plus élevé chez les enfants présentant un paludisme grave. La même tendance a été retrouvée en 2013 par Benjamin et al. qui ont eu à faire une revue systématique et une méta-analyse sur 42 études effectuées sur les Lipides et les lipoprotéines sériques au cours du paludisme ⁶⁷. De cette revue, il ressort que dans 23 des 42 études, les triglycérides ont été mesurés au cours du paludisme et 78% (18/23 études) ont signalé une hypertriglycéridémie et / ou une concentration plasmatique moyenne en triglycérides significativement plus élevée chez les patients atteints de paludisme que chez les témoins. Chez les patients présentant un paludisme sévère, les taux de triglycérides du paludisme étaient supérieurs à ceux des patients présentant un paludisme sans complication ⁶⁷. Également au Maroc, l'équipe d'Assya Khermach et al. ont trouvée l'hypertriglycéridémie dans 36,6% des cas de paludisme d'importation ⁶⁸.

Le tableau de régression (Tableau XVI) nous démontre également une association entre les paramètres lipidiques et l'état de santé. Le paludisme grave comme simple sont associés à une diminution des taux de cholestérol, du HDL et du LDL statistiquement significative par rapport aux témoins sains. Par contre le paludisme grave tout comme le paludisme simple sont significativement associés à une augmentation du taux de triglycérides. Les OR et 95% IC sont respectivement 1,37 (1,20 – 1,56), $p < 0,0001$ et 1,15 (1,01 – 1,31), $p < 0,5$. Le même constat ressortait dans la revue publiée par Benjamin et al ⁶⁷ qui ont trouvé que sur 42 études où les paramètres biochimique comme le cholestérol total, le HDL, le LDL, les TG ont été mesuré pendant le paludisme :

- Le cholestérol total sérique a été signalé 83% (30/36 études), une hypocholestérolémie chez les patients atteints de paludisme ou avaient un taux de cholestérol total considérablement réduit par rapport au groupe témoin.

-
- Aussi 87% (20/23 études) ont signalé une baisse importante des concentrations de HDL. Deux études ont montré une diminution plus importante du taux de HDL dans le paludisme grave par rapport au paludisme non compliqué. Ainsi, HDL est significativement plus faible dans le paludisme.
 - De même 81% (13/16 études) ont signalé une concentration inférieure de LDLc chez les patients atteints de paludisme. Et encore deux études ont montré une baisse plus importante et significative du LDL chez les patients atteints de paludisme grave par rapport aux patients atteints de paludisme non compliqué. Ainsi, le LDL est significativement plus bas dans le paludisme.

Dans une autre étude publiée en 2016 par Phuong et al. sur les modifications de la composition lipidique au cours du cycle de développement sexué du *Plasmodium falciparum* à travers une analyse complète de la composition en lipides des globules rouges infectés par les cinq stades gamétocytes ⁶⁹. L'étude a montré que la composition lipidique des globules rouges infectés par le parasite se modifiait de manière significative pendant la phase sexuée du cycle de *P. falciparum* ⁶⁹. Étant donné que les gamétocytes absorbent des quantités importantes de cholestérol et d'autres lipides de la cellule hôte et/ou le plasma pour subvenir à leur besoin de croissance.

Nous avons trouvé que le nombre d'enfants ayant une mutation gain de fonction augmente avec la détérioration de l'état de santé. Le nombre plus élevé (39) de la mutation gain de fonction a été observé chez les enfants souffrant de paludisme grave contre 21 et 29 respectivement chez enfants en bonne santé et ceux souffrant de paludisme simple.

Par contre le nombre de mutation perte de fonction est élevé chez les enfants en bonne santé mais la différence n'est pas statistiquement significative.

La comparaison entre mutation gain de fonction et perte de fonction à l'intérieur de chaque groupe nous montre que la différence est significative dans seulement le groupe Bonne santé avec un $p < 0,0001$.

L'analyse de l'association entre la survenue du paludisme grave et les polymorphismes de la PCSK9 en fonction du polymorphisme gain de fonction à montrer que comparé au polymorphisme gain de fonction, le polymorphisme perte de fonction est significativement associé à une protection contre la survenue du Paludisme grave avec un OR de 0.35, un IC de (0.17 à 0.69) et *p-value* de 0,0028.

Nous avons également déterminé le rapport LDL/HDL entre les 3 groupes et en fonction du portage de mutation gain de fonction (GOF) ou perte de fonction (LOF). Le rapport LDL/HDL était élevé en présence du paludisme avec une élévation plus forte dans le groupe paludisme grave. Cette élévation est plus prononcée chez les enfants qui présentent à la fois une mutation gain et perte de fonction (mutation mixte). L'équipe Maria Donata en 2018 a décrit le rapport LDL / HDL comme étant un meilleur paramètre que le LDL-circulant pour la discrimination des patients ayant une mutation, aux patients sans mutation ⁷⁰.

Donc pour résumer, les polymorphismes E670G, I474V, A443T et C679X étaient présents dans la population d'enfants étudiés à Bandiagara à des fréquences variables.

Notre étude démontre que le paludisme grave et simple sont significativement associés à une diminution du taux de cholestérol total, de HDL et de LDL et à une augmentation du taux de Triglycérides.

Cette étude montre que le nombre d'enfants ayant une mutation gain de fonction augmente avec la gravité du paludisme.

Elle présente des limites qu'il faudrait prendre en considération pour l'interprétation de nos résultats. En effet la sérothèque utilisée datait de plus de 15 ans, ce qui a affecté les dosages et dans certains prélèvements réduisant la taille de l'échantillon. Aussi la PCSK9 plasmatique n'a pu être dosée alors qu'une comparaison entre son taux et les niveaux de paramètres lipidiques aurait permis de mieux comprendre leur interaction. Il est en effet possible de mesurer les concentrations plasmatiques de PCSK9 dans le sang par ELISA. Malheureusement faute de ressources financières ce dosage de la PCSK9 n'a pu être réalisé.

7. CONCLUSION

L'étude montre que comparé au gain de fonction, le polymorphisme perte de fonction de la *PCSK9* est significativement associé à une protection contre la survenue du paludisme grave qui est associé à un faible taux de cholestérol total, HDL, LDL et un taux élevé de triglycérides.

La compréhension des mécanismes de cette association pourrait conduire au développement de nouveaux médicaments interagissant avec la *PCSK9* et d'améliorer la prise en charge des cas graves de paludisme.

8. RECOMMANDATIONS

- Poursuivre cette étude avec un design et un échantillonnage appropriés.
- Effectuer le bilan lipidique sur des échantillons fraîchement prélevés afin de garantir des résultats fiables.
- Effectuer un dosage de la *PCSK9* plasmatique.

9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Seidah, N. G. *et al.* The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): Liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (2003). doi:10.1073/pnas.0335507100
2. Costet, P., Krempf, M. & Cariou, B. PCSK9 and LDL cholesterol: unravelling the target to design the bullet. *Trends in Biochemical Sciences* (2008). doi:10.1016/j.tibs.2008.06.005
3. Cariou, B. PCSK9 : la nouvelle arme anti-cholestérol. *CORDIAM* (2015).
4. M, A. *et al.* Mutations in PCSK9 Cause Autosomal Dominant Hypercholesterolemia. *Nat. Genet.* (2003). doi:10.1038/NG1161
5. Bansal, D., Bhatti, H. S. & Sehgal, R. Role of cholesterol in parasitic infections. 7, 1–7 (2005).
6. Boivin, Y. A free response approach to the measurement of brand perceptions. *Int. J. Res. Mark.* (1986). doi:10.1016/0167-8116(86)90039-X
7. Mbikay, M., Mayne, J., Seidah, N. G. & Chrétien, M. Of PCSK9, cholesterol homeostasis and parasitic infections: Possible survival benefits of loss-of-function PCSK9 genetic polymorphisms. *Med. Hypotheses* (2007). doi:10.1016/j.mehy.2007.03.018
8. Chukwuocha, U. M. & Eke, K. N. Malaria parasite status and cholesterol level of malaria patients in parts of the IMO River Basin of Nigeria. *Asian Pac. J. Trop. Med.* (2011). doi:10.1016/S1995-7645(11)60232-0
9. Harbach, R. E. The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull. Entomol. Res.* (2004). doi:10.1079/ber2004321
10. Sinka, M. E. *et al.* A global map of dominant malaria vectors. *Parasites and Vectors* (2012). doi:10.1186/1756-3305-5-69

-
11. Ministère de la Santé, M. Enquête sur les Indicateurs du Paludisme (EIPM). <http://www.dhsprogram.com/pubs/pdf/MIS24/MIS24.pdf>; Consulté le 18 Mars 2019 (2015).
 12. Université de Sherbrooke, Québec, C. Perspective monde, Pyramide des âge. <http://perspective.usherbrooke.ca/bilan/servlet/BMPagePyramide?codePays=ML&annee=2015>; Consulté le 18 Mars 2019 (2015).
 13. Seidah, N. G. The proprotein convertases, 20 years later. *Methods Mol. Biol.* (2011). doi:10.1007/978-1-61779-204-5_3
 14. M.Mbikay, N. G. S. *Proprotein convertases Methods in Molecular Biology Series, Vol. 768.* (Springer Science+Business Media, 2011). doi:http://doi:10.1007/978-1-61779-204-5_3
 15. Steiner, D. F. Donald F. Kettl. in 768, 3–5 (Springer Science+Business Media, 2011).
 16. Seidah, N. G., Sadr, M. S. & Mbikay, M. The Multifaceted Proprotein Convertases : Their Unique , Redundant , Complementary , and Opposite Functions * □. 288, 21473–21481 (2013).
 17. Seidah, N. G., Chrétien, M. & Day, R. The family of subtilisin/kexin like pro-protein and pro-hormone convertases: Divergent or shared functions. *Biochimie* (1994). doi:10.1016/0300-9084(94)90147-3
 18. Abifadel, M. *et al.* Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. 34, 154–156 (2003).
 19. Maxwell, K. N. & Breslow, J. L. Adenoviral-mediated expression of Pcsk9 in mice results in a low-density lipoprotein receptor knockout phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 7100–7105 (2004).
 20. Rashid, S. *et al.* Decreased plasma cholesterol and hypersensitivity to statins in mice lacking Pcsk9. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 5374–5379 (2005).
 21. Cohen, J. *et al.* Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. 37, 161–166 (2005).
-

-
22. Abifadel, M., Rabès, J. P., Boileau, C. & Varret, M. Après le récepteur des LDL et l'apolipoprotéine B, l'hypercholestérolémie familiale révèle son troisième protagoniste : PCSK9. *Annales d'Endocrinologie* (2007).
doi:10.1016/j.ando.2007.02.002
 23. Hunt, S. C. *et al.* Genetic localization to chromosome 1p32 of the third locus for familial hypercholesterolemia in a Utah kindred. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* (2000). doi:10.1161/01.ATV.20.4.1089
 24. Seidah, N. G. & Prat, A. The proprotein convertases are potential targets in the treatment of dyslipidemia. *Journal of Molecular Medicine* (2007).
doi:10.1007/s00109-007-0172-7
 25. Piper, D. E. *et al.* Article The Crystal Structure of PCSK9 : A Regulator of Plasma LDL-Cholesterol. 153, 545–552 (2007).
 26. Seidah, N. G. & Chrétien, M. Proprotein and prohormone convertases: a family of subtilases generating diverse bioactive polypeptides1Published on the World Wide Web on 17 August 1999.1. *Brain Res.* (2002). doi:10.1016/s0006-8993(99)01909-5
 27. Dubuc, G. *et al.* Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* (2004).
doi:10.1161/01.ATV.0000134621.14315.43
 28. Phillip Costel, Bertrand Cariou, M. K. PCSK9 : une nouvelle cible pour traiter les dyslipidémies. *STV vol. 19, n°3* (2007).
doi:htPNC://doi:10.1684/stv.2007.0068
 29. Lambert, G. *et al.* Fasting induces hyperlipidemia in mice overexpressing proprotein convertase subtilisin kexin type 9: Lack of modulation of very-low-density lipoprotein hepatic output by the low-density lipoprotein receptor. *Endocrinology* (2006). doi:10.1210/en.2006-0098
 30. Norata, G. D., Tavori, H., Pirillo, A., Fazio, S. & Catapano, A. L. Biology of proprotein convertase subtilisin kexin 9 : beyond low-density lipoprotein
-

-
- cholesterol lowering. 429–442 (2016). doi:10.1093/cvr/cvw194
31. Sirois, F. *et al.* Ethnic Differences in the Frequency of the Cardioprotective C679X PCSK9 Mutation in a West African Population. 12, 377–380 (2008).
 32. KOOHMAN J., R. K. *Atlas de poche de biochimie.* (Médecine. Science, 2003).
 33. Alloui AS. LE CHOLESTEROL : METABOLISME ET DESTINEES METABOLIQUES. (2017). Available at: <http://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/bioch2an-cholesterol2017>.
 34. Grellier P, Rigomier D, Clavey V, Fruchart JC, S. J. Lipid traffic between high density lipoproteins and Plasmodium falciparum infected red blood cells. *J Cell Biol* 112:267–77, (1991).
 35. Rachid Saïle et Taki Hassan. Cholestérol, lipoprotéines et athérosclérose : de la biochimie à la physiopathologie. *Researchgate* (2007).
 36. Genest J, L. P. Lipoprotein disorders and cardiovascular disease. in eds. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine* (Elsevier, 2011).
 37. Brown, M. S. & Goldstein, J. L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* (80-.). (1986). doi:10.1126/science.3513311
 38. Goldstein, J. L. & Brown, M. S. The LDL receptor. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* (2009). doi:10.1161/ATVBAHA.108.179564
 39. World Health Organization. *World Malaria Report 2015 - Summary.* World Health Organization (2015). doi:ISBN 978 92 4 1564403
 40. WHO. *World Malaria Report 2017.* World Health Organization (2017). doi:10.1016/S0264-410X(07)01183-8
 41. WHO. *World Malaria Report 2018.* (2018).
 42. Association française des enseignants de parasitologie et mycologie (ANOFEL). Paludisme. *Université Médicale Virtuelle Francophone* (2014). Available at:
-

-
- <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/paludisme/site/html/cours.pdf>.
43. Joste, V. *et al.* Distinction of Plasmodium ovale wallikeri and Plasmodium ovale curtisi using quantitative Polymerase Chain Reaction with High Resolution Melting revelation. *Sci. Rep.* (2018). doi:10.1038/s41598-017-18026-1
 44. Gething, P. W. *et al.* A new world malaria map: Plasmodium falciparum endemicity in 2010. *Malar. J.* (2011). doi:10.1186/1475-2875-10-378
 45. GENTILINI Marc, CAUMES Eric, DANIS Martin, B. P.-P. liminaires. Médecine tropicale. in (ed. Lavoisier) (Médecine. Science, 2012).
 46. Gething, P. W. *et al.* A Long Neglected World Malaria Map: Plasmodium vivax Endemicity in 2010. *PLoS Negl. Trop. Dis.* (2012). doi:10.1371/journal.pntd.0001814
 47. White, N. J. Determinants of relapse periodicity in Plasmodium vivax malaria. *Malaria Journal* (2011). doi:10.1186/1475-2875-10-297
 48. Bansal, D., Bhatti, H. S. & Sehgal, R. Role of cholesterol in parasitic infections. *Lipids in Health and Disease* doi:10.1186/1476-511X-4-10
 49. Cowman, A. F., Berry, D. & Baum, J. The cellular and molecular basis for malaria parasite invasion of the human red blood cell. *J. Cell Biol.* (2012). doi:10.1083/jcb.201206112
 50. Das, B. S., Thurnham, D. I. & Das, D. B. Plasma α -tocopherol, retinol, and carotenoids in children with falciparum malaria. *Am. J. Clin. Nutr.* (1996). doi:10.1093/ajcn/64.1.94
 51. Sein, K. K. & Aikawa, M. The prime role of plasma membrane cholesterol in the pathogenesis of immune evasion and clinical manifestations of falciparum malaria. *Biochem. Pharmacol.* 105–110 (1998).
 52. Al-Omar, I. A., Eligail, A. M., Al-Ashban, R. M. & Shah, A. H. Effect of falciparum malaria infection on blood cholesterol and platelets. *J. Saudi Chem. Soc.* (2010). doi:10.1016/j.jscs.2009.12.013
-

-
53. Wunderlich, F., Fiebig, S., Vial, H. & Kleinig, H. Distinct lipid compositions of parasite and host cell plasma membranes from *Plasmodium chabaudi*-infected erythrocytes. *Mol. Biochem. Parasitol.* (1991). doi:10.1016/0166-6851(91)90013-V
 54. Vial, H. J., Ancelin, M. L., Philippot, J. R. & Thuet, M. J. Biosynthesis and dynamics of lipids in *Plasmodium*-infected mature mammalian erythrocytes. *Blood Cells* (1990).
 55. Vial HJ, Eldin P, Tielens AG, V. J. Phospholipids in parasitic protozoa. *Mol Biochem Parasitol.* 126, 143–154 (2003).
 56. Rodrigues, C. D. *et al.* Host Scavenger Receptor SR-BI Plays a Dual Role in the Establishment of Malaria Parasite Liver Infection. *Cell Host Microbe* (2008). doi:10.1016/j.chom.2008.07.012
 57. Labaied, M. *et al.* *Plasmodium* salvages cholesterol internalized by LDL and synthesized de novo in the liver. *Cell. Microbiol.* (2011). doi:10.1111/j.1462-5822.2010.01555.x
 58. Cahier de proposition du cercle de Bandiagara. 1 (2010). Available at: <http://base.afrique-gouvernance.net/docs/bandiagara.pdf>.
 59. USAID-MALI. Plan de sécurité alimentaire commune rurale de Ségué-Iré,. 9p, 2–5 (2AD).
 60. WHO. Severe falciparum malaria. World Health Organization, Communicable Diseases Cluster. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* (2000). doi:10.1006/meth.2000.1031
 61. Morin, P. A., Saiz, R. & Monjazebe, A. High-throughput single nucleotide polymorphism genotyping by fluorescent 5' exonuclease assay. *Biotechniques* (1999).
 62. Lyke, K. E. *et al.* Incidence of severe *Plasmodium falciparum* malaria as a primary endpoint for vaccine efficacy trials in Bandiagara, Mali. *Vaccine* (2004). doi:10.1016/j.vaccine.2004.01.054

-
63. Miller, L. H., Baruch, D. I., Marsh, K. & Doumbo, O. K. The pathogenic basis of malaria. 415, 673–679 (2002).
 64. Arama, C. *et al.* Malaria severity : Possible influence of the E670G PCSK9 polymorphism : A preliminary case-control study in Malian children. 1–10 (2018).
 65. Jonathan C. Cohen, Eric Boerwinkle, Hobbs, H. H. Sequence Variations in PCSK9, Low LDL, and Protection against Coronary Heart Disease. *The new engl J. Med. Lect.* 1264–1272 (2006). doi:10.1056 / NEJMoa054013
 66. Hooper, Amanda, AD Marais , DM Tanyanyiwa, B. J. . The C679X mutation in PCSK9 is present and lowers blood cholesterol in a Southern African population. *Athérosclérose* 193, 445–448 (2007).
 67. Visser, B. J., Wieten, R. W., Nagel, I. M. & Grobusch, M. P. Serum lipids and lipoproteins in malaria - a systematic review and meta-analysis. *Malar. J.* (2013). doi:10.1186/1475-2875-12-442
 68. A., K. *et al.* Biological disturbances affecting people with malaria: About thirty cases. *Pan Afr. Med. J.* (2017). doi:10.11604/pamj.2017.26.174.9008
 69. Tran, P. N. *et al.* Changes in lipid composition during sexual development of the malaria parasite Plasmodium falciparum. *Malar. J.* (2016). doi:10.1186/s12936-016-1130-z
 70. Maria Donata Di Taranto, Renato de Falco, Ornella Guardamagna, al. Lipid profile and genetic status in a familial hypercholesterolemia pediatric population: exploring the LDL/HDL ratio. *De Gruyter* (2018). doi:doi: 10.1515 / cclm-2018-1037

Fiche signalétique

Nom : DOUCOURE

Prénom : Henda

Tel : 00223 75 82 65 61

Email : henda@icermali.org / hendadoucoure0@gmail.com

Pays d'origine : MALI

Titre de la thèse : *Impact des mutations de la protéine convertase subtilisine kexine de type 9 sur les variations lipidiques au cours de l'évolution du paludisme chez les enfants.*

Année universitaire : 2018– 2019

Date de soutenance : 13/08/2019

Ville de soutenance : Bamako

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la FMOS/FAPH de Bamako.

Source d'intérêt : Biochimie, Parasitologie, Santé publique, Génétique

Résumé

Cette étude a été conduite dans le but d'évaluer l'impact de la mutation du gène PCSK9 sur le métabolisme lipidique au cours de l'infection palustre chez les enfants âgés de 3 mois à 14 ans. Elle a porté sur des enfants âgés de 3 mois à 14 ans tirés d'une étude cas-témoin, qui s'est déroulée de juin 1999 à décembre 2003.

Les polymorphismes E670G, I474V, A443T et C679X étaient présents dans la population d'enfants étudiés à Bandiagara à des fréquences variables. Les taux médians de cholestérol total, de HDL, et de LDL étaient bas au cours de l'accès palustre quel que soit sa gravité. Contrairement aux autres lipides le taux médian de triglycéride était plus élevé chez les enfants présentant un paludisme grave.

Comparé au gain de fonction, le polymorphisme perte de fonction était significativement associé à une protection contre la survenue du paludisme grave qui est associé à un faible de cholestérol total. La compréhension des mécanismes de cette association pourrait conduire au développement de nouveaux médicaments interagissant avec la PCSK9 et d'améliorer la prise en charge des cas graves de paludisme.

Mots clés : PCSK9, Mutation, Cholestérol, Paludisme.

Name : DOUCOURE

Surname : Henda

Phone number : 00223 75 82 65 61

Email : henda@icermali.org / hendadoucoure0@gmail.com

Nationality : Malian

Title : *Impact des mutations de la protéine convertase subtilisine kexine de type 9 sur les variations lipidiques au cours de l'évolution du paludisme chez les enfants.*

Year of thesis defense: 2018– 2019

Date of thesis defense: 13/08/2019

Town of thesis defense: Bamako

Place of deposit : Library of the Faculty of Medecine and Dentistry and Faculty of Pharmacie (FMOS/FAPH) of Bamako.

Field : Biochimie, Parasitology, Public Health, Genetic

Summary Abstract

This study was conducted to evaluate the impact of the PCSK9 gene mutation on lipid metabolism during malaria infection in children aged 3 months to 14 years. It focused on children aged 3 months to 14 years from a case-control study, which ran from June 1999 to December 2003.

Polymorphisms E670G, I474V, A443T and C679X were present in the population of children studied at Bandiagara at varying frequencies. The median levels of total cholesterol, HLD, and LDL were low during malaria regardless of severity. Unlike other lipids, the median triglyceride level was higher in children with severe malaria.

Compared to function gain, the loss of function polymorphism was significantly associated with protection against the occurrence of severe malaria that is associated with low total cholesterol. Understanding the mechanisms of this association could lead to the development of new drugs interacting with PCSK9 and improve the management of severe malaria cases.

Keywords : PCSK9, Mutation, Cholesterol, Malaria.



SERMENT DE GALIEN



Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes Condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement,

D'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement,

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine,

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels,

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses,

Que je sois couverte d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque !

Je le jure !

