

Étude des variations génétiques de la Proprotéine Convertase Subtilisin/Kexin type 9 et de l'infection palustre sur les taux des lipides plasmatiques chez des enfants maliens.

Study of genetic variations of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9 and malaria infection on plasma lipid levels in Malian children.

Arama C¹, Doucouré H¹, Diarra I¹, Djimé M¹, Chrétien M², Mbikay M², Kouriba B^{1,3}.

¹ Parasites and Microbes Research & Training Center, Faculté de Pharmacie, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali.

² Institut de recherches cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada

³ Centre d'Infectiologie Charles Mérieux de Bamako, Mali

*Auteur correspondant : Pr Arama Charles ; mail : charama@icermali.org

Résumé

La proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9 (PCSK9) est une protéine sécrétée par le foie. Les variations non synonymes d'un seul nucléotide (SNP) de son gène ont été liées à une cholestérolémie réduite ou élevée, selon qu'elles diminuent (perte de fonction, LOF) ou augmentent (gain de fonction, GOF) l'activité de la protéine.

Cette étude a été conduite dans le but d'évaluer l'effet 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. Le polymorphisme E670G était le plus fréquent (56,4% notamment 49,84% de mutation hétérozygote et 6,51 de mutation homozygote) suivi de I474V (41,7%), A443T (27,7%) et C679X (8%).

Les taux médians de cholestérol total, de HDL, et de LDL étaient bas au cours de l'accès palustre.

La présence de mutation GOF est significativement associée à une diminution des triglycérides (OR=0,67 ; 95% IC [0,47 – 0,94], p< 0,5) et du HDL (OR= 0,79 ; 95% IC [0,68 – 0,91], p< 0,5). Cependant, le taux médian de triglycéride était plus élevé chez les enfants présentant un paludisme grave. Contrairement au gain de fonction, le polymorphisme LOF était significativement associé à une protection contre la survenue du paludisme grave qui est associé à un faible taux 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 Mali.

Abstract

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is a protein secreted by the liver. Non-synonymous single nucleotide variations (SNPs) in its gene have been linked to reduced or elevated cholesterol levels, depending on whether they decrease (loss of function, LOF) or increase (gain of function, GOF) the protein's activity.

This study was conducted to assess the effect of PCSK9 gene mutation on lipid metabolism during malaria infection in children aged 3 months to 14 years. We enrolled children aged 3 months to 14 years from a case-control study, which was carried out from June 1999 to December 2003.

Polymorphisms E670G, I474V, A443T and C679X were present in the Bandiagara population at varying frequencies. The E670G polymorphism was the most frequent (56.4%, including 49.84% heterozygous and 6.51 homozygous mutations), followed by I474V (41.7%), A443T (27.7%) and C679X (8%).

Median levels of total cholesterol, HDL and LDL were low during malaria attack. The presence of GOF mutation was significantly associated with lower triglycerides (OR=0.67 ; 95% CI [0.47–0.94], p< 0.5) and HDL (OR= 0.79; 95% CI [0.68–0.91], p< 0.5). However, median triglyceride levels were higher in children with severe malaria. In contrast to gain-of-function, the LOF polymorphism was significantly associated with protection against the occurrence of severe malaria, which is associated with low total cholesterol.

Understanding the mechanisms of this association could lead to the development of new drugs interacting with PCSK9 and may improve the management of severe malaria.

Keywords : PCSK9, Mutation, Cholesterol, Malaria, Mali.

INTRODUCTION

La proprotéine 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 lipoprotéines de basse densité (LDL, low-density lipoproteins) et peut parfois conduire à une hypercholestérolémie. 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 agit par protéolyse ciblée sur une multitude de substrats (hormones, neuropeptides, facteurs de croissances ou de transcription, récepteurs de surface, toxines bactériennes, glycoprotéines virales) et est ainsi impliquée dans de très nombreux processus biologiques (2). Elle est exprimée principalement dans les hépatocytes et en plus faibles quantités dans d'autres tissus comme les reins, l'intestin, le pancréas, les cellules musculaires lisses et le cerveau (3). Elle est synthétisée en tant que zymogène sécrétoire (proPCSK9) qui subit un clivage au niveau du pro-domaine amino-terminal, générant la forme mature de la protéine stable, mais sans activité protéasique, qui circule dans le sang (3).

L'activité biologique principale de la PCSK9 est d'empêcher la circulation du récepteur des LDL (LDLR) (4). En l'absence de PCSK9, la particule de LDL, riche en cholestérol, se lie au LDLR 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 LDLR 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 LDLR, agissant ainsi comme une protéine chaperon ; l'ensemble subit une endocytose, mais, au lieu d'être dirigé vers la membrane, le LDLR et la PCSK9 sont détruits dans les lysosomes (3). Par conséquent, l'expression de LDLR sur la membrane cellulaire est réduite. Ce qui inhibe l'assimilation du cholestérol sanguin dans la cellule, cela se traduit par une augmentation de la concentration de cholestérol circulant.

En effet en 2003, le gène de la PCSK9 a été identifié comme le troisième gène associé à l'hypercholestérolémie familiale autosomale dominante, après le LDLR et l'apolipoprotéine B (ApoB) (5). Des polymorphismes mononucléotidiques (SNP, single nucleotide

polymorphisms) 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 GOF accentuent l'activité de PCSK9, conduisant à l'hypercholestérolémie ; les SNP 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 structural essentiel de toutes les membranes cellulaires et de la couche externe des lipoprotéines plasmatiques (6). Les lipides sont des modulateurs importants de la stabilité membranaire de l'érythrocyte normal, lui-même inapte à les synthétiser (7). Le cholestérol est aussi le principal stérol dans les parasites. Pourtant, beaucoup de parasites dont *Plasmodium* sont incapables de synthétiser leur propre cholestérol. Ils dérivent des lipoprotéines de leurs hôtes (8).

Plasmodium falciparum (*P. falciparum*) infecte et se multiplie dans les hépatocytes puis dans les érythrocytes. Ce pouvoir infestant de *P. falciparum* requiert du cholestérol, le parasite n'étant pas capable de synthétiser le cholestérol alors utilise celui de l'hôte. *In vivo*, le parasite détourne continuellement le cholestérol des hépatocytes et des érythrocytes, ce qui conduit à une hypocholestérolémie chez les patients atteints de paludisme (9). Le cholestérol membranaire joue un rôle dans la pathogenèse, l'évasion immunitaire au cours du paludisme (10). 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 (11).

Le but de ce travail était d'étudier les facteurs de variations lipidiques au cours de l'infection palustre chez les enfants âgés de 3 mois à 14 ans en relation avec la présence ou l'absence de quatre SNPs de la PCSK9 qui influencent la cholestérolémie, trois SNPs LOF (A443T, I474V et C679X) et un SNP GOF (E650G).

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Lieux et population d'étude

L'étude s'est déroulée dans la ville de Bandiagara, et les analyses des lipides ont été réalisées au Centre d'Infectiologie Charles Mérieux du Mali (CICM). L'étude a porté sur un échantillon de 312 enfants sélectionnés d'une grande étude cas-témoins sur le paludisme grave qui s'est déroulée de 1999 à 2003 dont la

population était composée d'enfants âgés de 3 mois à 14 ans ($n = 752$), de Bandiagara ou des villages situés dans un rayon de 15 km.

Extraction de l'ADN génomique

L'ADN génomique a été extrait par poinçonnage à partir sang séché sur des cartes FTA (6 mm de diamètre). Les poinçons ont été placés dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL, puis incubés dans 0,4 mL de solution saline tamponnée au phosphate (1X PBS), pH 7,4, pendant 20 minutes à température ambiante avec une légère agitation. Après centrifugation, le surnageant a été jeté et le papier a été traité avec 40 μ L d'une solution contenant 10 mM NaOH, 200 mM NaCl et 0,05 % de dodécylsulfate de sodium pendant 6 min à 95°C. Après centrifugation pendant 3 min, le surnageant contenant l'ADN génomique a été recueilli, dilué 12,5 fois dans l'eau Ultrapure et conservé à 4 ° C pour l'utilisation ultérieure pour le génotypage du gène PCSK9.

Echantillonnage et génotypage

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 pour participer à l'étude. Chaque cas de paludisme grave (PG) était apparié selon l'âge, le lieu de résidence et l'appartenance ethnique à un cas de paludisme simple (PS) et à un contrôle en bonne santé (BS). Comme décrit par Arama et collaborateurs (2018) l'ADN génomique a été extrait pour le génotypage des polymorphismes du gène *PCSK9* par la méthode Taqman qui utilise la PCR quantitative en temps réel ciblant les exons contenant le SNP concerné, combinée à l'hybridation aux amplicons de sondes fluorescentes spécifiques aux deux allèles (12). La sonde pour l'allèle commun était couplée au fluorochrome VIC® ; celle pour l'allèle mineur au fluorochrome FAM®. Pour l'identification et l'analyse des différents SNPs, nous avons utilisé le logiciel SNPStats (Biocondactor version : 3.0). La validation des SNPs a été effectuée en utilisant la base de données du laboratoire de génomique et de protéomique de l'Institut de Recherches Cliniques de Montréal (IRCM), Montréal, Québec, Canada.

Détermination des paramètres lipidiques.

Le dosage des paramètres lipidiques a été effectué sur les sérums de 312 participants tirés au hasard de cette grande cohorte de 752 enfants : 104 cas graves, 104 témoins de paludisme simple et 104 témoins en bonne santé. L'analyseur KENZA 450TX a été utilisé au

dosage du cholestérol total (TC, total cholesterol), le cholestérol lié à lipoprotéine à haute densité (HDL-C, high-density lipoprotein), le cholestérol lié à la LDL-C et les triglycérides (TG).

Analyses statistiques.

Les fiches d'enquêtes individuelles ont été élaborées pour recueillir les données qui ont été saisies sur ACCESS 2013. Les logiciels SPSS 20.0 et R studio ont été utilisés pour les méthodes d'analyse statistique de moyennes et de variances unidirectionnelles (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 pour des données catégorielles stratifiées, et le test exact de Fisher (si nécessaire) pour la recherche de liens statistiques, le seuil de signification statistique a été fixé à $p < 0,05$.

Considérations éthiques.

Le protocole de recherche a été approuvé par le comité 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 (N°2014/31/CE/FMPOS). 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 et des leaders communautaires. Le consentement éclairé des parents ou des tuteurs d'enfant et l'assentiment des enfants âgés de 13 ans et plus ont été obtenus pour tous sujets inclus.

RÉSULTATS

Caractéristiques sociodémographiques, cliniques et polymorphismes du gène PCSK9.

L'échantillonnage des 312 participants était composé d'autant de filles que de garçons. La majorité, soit 42,6 %, était des enfants de plus de 4 ans. La majorité des enfants ne présentait pas d'anémie ou avait une anémie modérée avec respectivement 45,8 et 47,1 % (tableau I). Les signes cliniques majoritairement observés étaient les antécédents de fièvre (64,1%), la fièvre (48,1%), les vomissements (34%) et la présence d'un syndrome respiratoire (30,8%, Tableau II).

Tableau I : Répartition des enfants en fonction de l'anémie.

Statut anémique	Fréquence	Pourcentage (%)
Anémie sévère	8	2,6
Anémie modérée	147	47,1
Pas d'anémie	143	45,8
Non déterminé	14	4,5
Total	312	100,0

Les enfants étaient classés en fonction de leurs taux d'hémoglobine (Hb).

Absence d'anémie : taux d'Hb ≥ 10 g/dL;

Anémie modérée : taux d'Hb < 10 g/dL et ≤ 8 g/dL;

Anémie sévère : taux d'Hb < 8 g/dL

Tableau II : Répartition des enfants en fonction des signes cliniques

Signe clinique	Fréquence	Pourcentage (%)
Coma	23	7,4
Convulsion	39	12,5
Obnubilation	9	2,9
Prostration	12	3,8
Hyperparasitémie	52	16,7
Anémie	9	2,9
Hypoglycémie	2	0,6
Ictère	7	2,2
Choc	1	0,3
Incapacité d'alimentation	15	4,8
Antécédent de fièvre	200	64,1
Vomissement	106	34
Vomissement répété	9	2,9
Douleur abdominale	47	15,1
Prurit	14	4,5
Hématurie	5	1,6
Maux de tête	91	29,2
Diarrhée	55	17,6
Léthargie	21	6,7
Détresse respiratoire	96	30,8
Autres signes	9	2,9
Dysurie	6	1,9
Fièvre	150	48,1

La répartition des polymorphismes GOF et LOF de PCSK9 dans la population d'étude a révélé que Les polymorphismes E670G, I474V, A443T et C679X étaient présents dans la population d'enfants étudiés à Bandiagara à des fréquences variables (Tableau III). Le polymorphisme E670G était le plus fréquent (56,4% notamment 49,84% de mutation hétérozygote et 6,51 de mutation homozygote) suivi de I474V (41,7%), A443T (27,7%) et C679X (8%).

Tableau III : Répartition des enfants en fonction des polymorphismes de PCSK9.

Type de polymorphisme	Pas de mutation n (%)	Mutation n (%)	P
I474V	179 (58,31)	128 (41,69)	0,003
A443T	222 (72,31)	85 (27,69)	$< 0,0001$
C679X	282 (91,86)	25 (8,14)	$< 0,0001$
E670G	134 (43,65)	173 (56,37)	0,02

Paramètres lipidiques en fonction des polymorphismes du gène PCSK9.

Des 307 participants dont les sera ont été analysés, 41,69 % étaient porteurs du SNP I474V, 27,69 % du A443T, 8,14 % du C679X et 56,36 % du E670G. Nous avons mesuré les taux médians des TG, du TC, du LDL-C et du HDL-C selon les groupes de non porteurs ou de porteurs de l'un ou l'autre SNP (Tableau III). Aucune différence dans ces taux n'a été observée entre les non-porteurs et les porteurs du SNP A443T, C679X ou E670G. Par rapport aux non-porteurs, les porteurs du SNP I474V avaient un taux de TC ou de LDL-C équivalent ($p > 0,05$), mais, significativement, leur taux de TG était plus bas ($p = 0,04$) et celui de HDL-C plus élevé ($p = 0,001$), donnant un rapport TC/HDL plus bas ($p = 0,001$).

Comparaisons des niveaux des paramètres lipidiques entre les groupes PG, PS et BS.

Dans l'ensemble les paramètres lipidiques variaient selon les différents groupes BS, PS, et PG. Cependant, nous avons observé que le rapport TC/HDL-C était significativement plus élevé dans le groupe PG comparé aux autres groupes BS et PS quel que soit le SNP porté par les enfants, suggérant ainsi son utilisation comme bio marqueur de gravité du paludisme (Figure 1). En outre, le ratio LDL/HDL était significativement plus élevé dans le groupe PG. Cette élévation est très prononcée chez ceux qui présentaient à la fois des SNPs GOF et LOF (SNP mixte), (figure 2).

Comparaisons des paramètres lipidiques, portage de SNPs GOF ou LOF, l'état de santé et l'âge des enfants.

La présence de SNP GOF est significativement associée à une diminution des paramètres lipidiques comme les triglycérides (OR=0,67 ; 95% IC [0,47 – 0,94], $p < 0,5$) et le HDL (OR=0,79 ; 95% IC [0,68 – 0,91], $p < 0,5$). 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 HDL (Tableau V). Pour les SNPs LOF, les mêmes tendances ont été observées pour les triglycérides (OR=0,67 ; 95% IC [0,48 – 0,93], $p < 0,001$) et pour le taux de HDL (OR=0,78 ; 95% IC [0,68 – 0,90], $p < 0,0001$).

Les paludismes grave et simple sont significativement associés à une augmentation du taux de triglycérides (OR=1,37 ; [1,20 – 1,56], $p < 0,0001$ et OR=1,15 ; [1,01 – 1,31], $p < 0,05$).

0,5 respectivement). Les paludismes grave et simple sont aussi associés à une diminution du taux de cholestérol, du HDL et du LDL.

L'influence de l'âge sur les paramètres lipidiques a révélé que la tranche d'âge de 2 à 4 ans est significativement associée à une diminution des taux de Triglycérides, du Cholestérol et du LDL (Tableau V). Les Odds Ratios avec les intervalles de confiance à 95% étaient 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], $p < 0,05$.

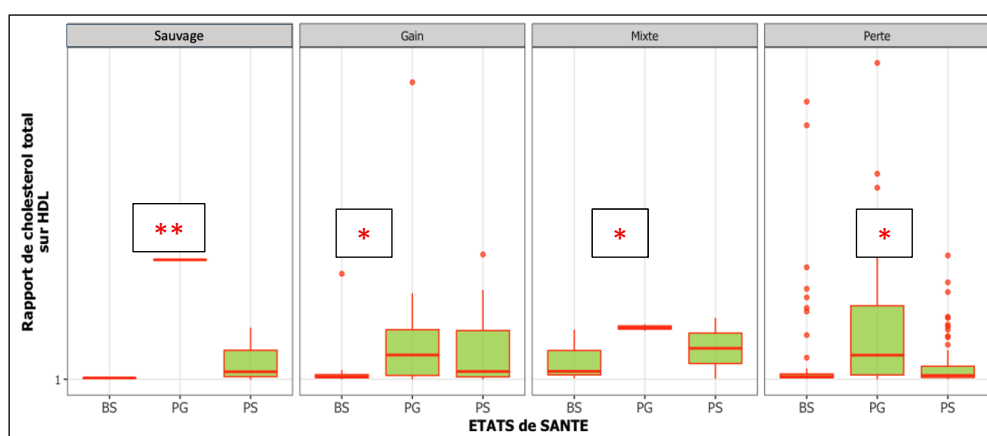


Figure 1 : Rapport de cholestérol total sur le HDL en fonction du polymorphisme et de l'état de santé. Cette figure indique le rapport de cholestérol total sur le HDL en fonction du polymorphisme de PCK9 et de l'état de santé. BS= bonne santé ; PS= paludisme simple ; PG= paludisme grave. Le rapport= taux de cholestérol total/taux de HDL. HDL= lipoprotéines de haute densité. *** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$

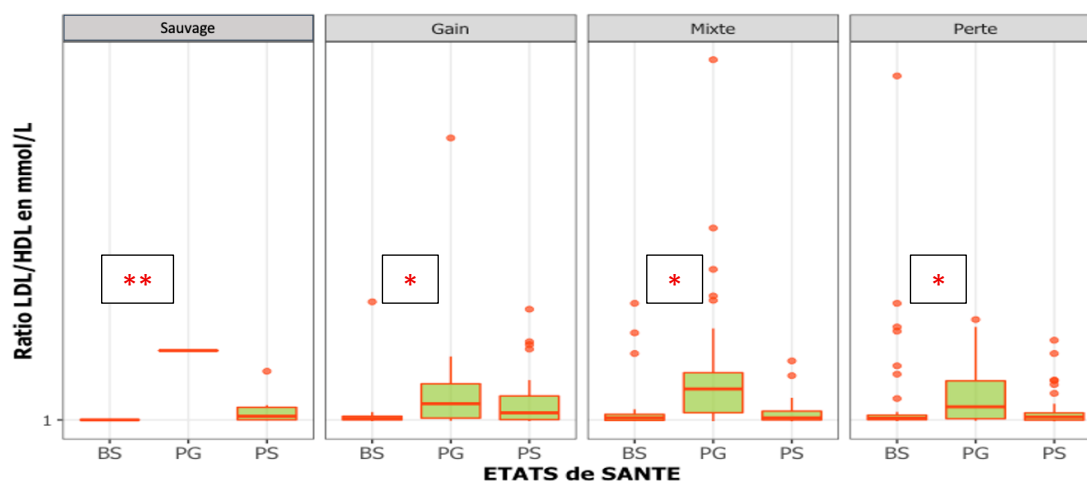


Figure 2 : Ratio LDL/HDL en fonction du polymorphisme et de l'état de santé.

La figure 2 indique rapport de LDL sur le HDL en fonction du polymorphisme de PCK9 et de l'état de santé.

BS= bonne santé ; PS= paludisme simple ; PG= paludisme grave. Le rapport= taux de LDL / taux de HDL. LDL= lipoprotéines de petite densité. *** $p \leq 0,01$; * $p \leq 0,05$

Tableau IV : comparaison des paramètres lipidiques en fonction des polymorphismes.

	Non-Porteurs Médiane (Q1 - Q3)	Porteurs Médiane (Q1 - Q3)	p
I474V	N = 179	N = 128	
Triglycérides	0,36 (0,19 – 0,63)	0,27 (0,16 – 0,48)	0,04
Cholestérol	0,685 (0,480 – 0,940)	0,810 (0,575 – 1,115)	0,11
HDL	0,11 (0,010 – 0,260)	0,19 (0,055 – 0,325)	0,001
Rapport cholestérol/HDL	7,825 (3,1775 – 43,25)	4,080 (2,5200 – 12,94)	0,001
LDL	0,355 (0,21 – 0,570)	0,420 (0,22 – 0,725)	0,15
A443T	N = 222	N = 85	
Triglycérides	0,310 (0,1700 – 0,54)	0,315 (0,1775 – 0,61)	0,85
Cholestérol	0,750 (0,5200 – 1,070)	0,695 (0,4575 – 0,915)	0,63
HDL	0,170 (0,01 – 0,315)	0,115 (0,01 – 0,260)	0,07
Rapport cholestérol/HDL	4,770 (2,815 – 33,000)	7,015 (2,860 – 37,875)	0,18
LDL	0,380 (0,2250 – 0,6250)	0,365 (0,1975 – 0,6075)	0,68
C679X	N = 282	N = 25	
Triglycérides	0,310 (0,1700 – 0,5600)	0,235 (0,1525 – 0,5725)	0,44
Cholestérol	0,75 (0,5100 – 1,0650)	0,58 (0,4675 – 0,8125)	0,09
HDL	0,160 (0,01 – 0,2950)	0,105 (0,01 – 0,2125)	0,30
Rapport cholestérol/HDL	5,070 (2,7700 – 33,0000)	8,085 (2,9725 – 48,1675)	0,65
LDL	0,38 (0,2200 – 0,63)	0,31 (0,1975 – 0,46)	0,22
E670G	N = 134	N = 173	
Triglycérides	0,300 (0,15 – 0,55)	0,335 (0,18 – 0,57)	0,57
Cholestérol	0,770 (0,51 – 0,980)	0,695 (0,51 – 1,085)	0,07
HDL	0,17 (0,03 – 0,30)	0,13 (0,01 – 0,28)	0,17
Rapport cholestérol/HDL	4,340 (2,5600 – 22,67)	6,495 (3,0175 – 41,50)	0,32
LDL	0,40 (0,2300 – 0,57)	0,36 (0,2025 – 0,64)	0,33

Le tableau IV montre les taux médians des paramètres biologiques en fonction du polymorphisme du gène *PCSK9*.

Polymorphisme gain de fonction (GOF)= **I474V**.

Polymorphisme perte de fonction (LOF)= **A443T**, **C679X** et **E670G**.

Tableau V : Association entre paramètres lipidiques, 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 : '***' $p \leq 0,001$; '**' $p \leq 0,01$; '*' $p \leq 0,05$

Les OR ont été ajustés selon l'âge et le sexe.

DISCUSSION

Le but de ce travail était d'étudier l'impact des variations génétiques de la PCSK9 et de l'infection palustre sur les variations lipidiques chez des enfants maliens. Ainsi, nous avons analysé les sérums de l'étude cas-témoins qui s'est déroulée de 1999 à 2003 à Bandiagara. Notre population d'étude était composée de 312 enfants âgés de 3 mois à 14 ans.

Dans cette étude cas témoin, nous avons sélectionné de 104 cas de paludisme grave associés à 104 cas témoin de paludisme simple et 104 enfants en bonne santé comme témoin sains. Dans cette étude 64,1% des enfants avaient des antécédents de fièvre ; 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 simple ou grave. La majorité des enfants avait une anémie modérée (47,1 %).

Dans notre cohorte de 312 participants, le SNP GOF E670G était le plus fréquent (56,4 %), suivi des SNPs LOF I474V (41,7 %), A443T (27,7 %) et C679X (8,1, %). Les participants ne portant aucun de ces SNPs représentent 4,2 % de la cohorte. Précédemment, Le SNP E650G a été associé à un risque plus élevé de paludisme grave (12) et le SNP I474V à un moindre risque de mortalité à la suite du paludisme grave (13).

Contrairement aux autres SNPs où les variations lipidiques n'étaient pas significatives, le SNP I474V était associé à une diminution significative du taux médian des TG chez les enfants qui portaient cette mutation. Cependant le taux médian de HDL-C était significativement plus élevé chez les enfants qui portaient cette mutation. De même, le rapport TC/HDL-C étaient significativement plus élevé chez les enfants ayant le SNP I474V.

L'analyse des niveaux des paramètres lipidiques en fonction de l'état de santé a révélé que les taux médians du cholestérol total, du HDL-C, et du LDL-C restaient bas cours de l'accès palustre. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'au cours de l'accès palustre le parasite utilise ces lipides pour assurer sa croissance. Nos résultats confirment les travaux menés au Nigéria en 2011, qui ont démontré une modification des taux lipidiques pendant la phase aigüe de l'infection palustre était associée à la parasitémie (14).

Contrairement aux autres lipides nous avons remarqué que le taux médian de triglycéride restait plus élevé chez les enfants présentant des

cas graves quel que soit le type de mutation. Une méta-analyse sur 42 études effectuées sur les lipides et les lipoprotéines sériques au cours du paludisme a montré que dans 23 des 42 études, une hypertriglycémie et / ou une concentration plasmatique moyenne en triglycérides significativement plus élevée chez les patients atteints de paludisme que chez les témoins (15). Par ailleurs, l'hypertriglycémie a été retrouvée dans 36,6% des cas de paludisme d'importation au Maroc (16).

Nous avons observé une association entre les paramètres lipidiques et l'état de santé. Ainsi les cas graves et simples sont significativement associés à une diminution du taux de cholestérol, de HDL et de LDL par rapport aux témoins. Une autre étude menée en 2016 a montré que la composition lipidique des globules rouges infectés par le parasite se modifiait de manière significative au cours du développement sexuel de *P. falciparum*, état qui se traduit par une mobilisation des quantités importantes de cholestérol et d'autres lipides dans la cellule hôte et / ou le sérum pour assurer la croissance des gamétocytes (17).

En outre, nous avons également analysé les ratios LDL-C/HDL-C entre les 3 groupes et en fonction du portage de SNP (GOF ou LOF). Ainsi nous avons observé un ratio LDL-C/HDL-C élevé au cours du paludisme, avec une nette élévation dans le groupe des cas graves. Cette élévation est très prononcée chez ceux qui portaient des SNPs mixtes GOF/LOF. Nos résultats corroborent les études antérieures qui ont démontré que le rapport LDL/HDL était le meilleur paramètre pour discriminer les enfants avec une mutation de ceux sans mutation au sein des familles dont des membres souffrent d'hypercholestérolémie familiale (18). En outre dans étude réalisée au Gabon, les modifications du profil lipidique ont démontré une bonne précision pour distinguer le paludisme des autres maladies fébriles (19). Il ressort de cette étude que le paludisme grave et simple sont significativement associés à une diminution du taux de TC, de HDL-C et de LDL-C et à une augmentation du taux de TG. Les polymorphismes E670G, I474V, A443T et C679X étaient présents dans la population d'enfants étudiés à Bandiagara à des fréquences variables. Les mutations de gain et perte de fonctions étaient associées à une diminution des taux de TC, HDL-C et LDL-C et à une

augmentation du taux de TG en cas de paludisme.

De nouvelles données épidémiologiques et expérimentales suggèrent que la PCSK9 soit un modulateur important, mais non essentiel, du métabolisme du cholestérol et de l'immunité et que sa pathogénicité résulte de sa surexpression chronique (20). Ces dernières années, de nombreux aspects du rôle physiologique de la PCSK9 ont été élucidés, notamment en ce qui concerne son rôle dans le métabolisme des lipides, le risque cardiovasculaire, mais aussi son rôle dans l'immunité innée. De plus, l'implication de la PCSK9 dans la pathogenèse des infections virales, ainsi que dans la régulation de la réponse de l'hôte aux infections bactériennes, principalement la septicémie et le choc septique (21).

La compréhension des SNP GOF et LOF et leur influence sur les paramètres lipidiques pourraient conduire au développement de nouveaux médicaments interagissant avec la PCSK9 et d'améliorer la prise en charge des cas graves de paludisme. Cependant, une des limites de notre étude réside dans le fait que nous n'avons pas mesuré le taux de la protéine PCSK9 à cause du manque de sérums qui ont été tous utilisés pour le dosage des paramètres biochimiques de nos patients inclus dans cette étude. Cette mesure de la PCSK9 plasmatique permettrait de faire une bonne comparaison entre ces niveaux de paramètres lipidiques et le taux de PCSK9 circulant dans le sang. En outre l'absence d'une analyse longitudinale des paramètres lipidiques chez ces enfants n'a pas permis de comprendre la dynamique de ces paramètres lipidiques en fonction de l'évolution de l'infection.

Conclusion

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. Les polymorphismes E670G, I474V, A443T et C679X étaient présents dans la population d'enfants étudiés à Bandiagara à des fréquences variables. L'analyse des paramètres lipidiques (cholestérol total, LDL-cholestérol, HDL-cholestérol, triglycérides), combinée à la recherche de mutations génétiques (SNPs, y compris les variants GOF/LOF), et à l'évaluation de l'état de santé et de l'âge des enfants, permet une compréhension plus approfondie des facteurs de risque cardiovasculaire et des maladies métaboliques.

Déclaration de conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt sur la conduite de cette étude.

Contribution

Conception du protocole : CA, BK, et MM.

Récolte et analyse des données : CA, HD, ID, MD.

Rédaction du manuscrit : CA, HD, BK, MD, ID, MM, MC.

Financement

Ce travail a bénéficié du l'appui financier de l'Institut Mérieux de Lyon et du fond de recherche Postdoctorale de DELGEME (Bourse de Recherche Post-doctorale Charles Arama, N° 004/2017 DELGEME_Post-doc_Fellowship).

RÉFÉRENCES

1. Seidah NG, Benjannet S, Wickham L, Marcinkiewicz J, Bélanger Jasmin S, Stifani S, et al. The secretory proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase 1 (NARC-1): Liver regeneration and neuronal differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003.
2. Chrétien M, Mbikay M. From the prohormone theory to pro-opiomelanocortin and to proprotein convertases (PCSK1 to PCSK9). *Journal of Molecular Endocrinology*. 2016.
3. Costet P, Krempf M, Cariou B. PCSK9 and LDL cholesterol: unravelling the target to design the bullet. *Trends in Biochemical Sciences*. 2008.
4. Cariou B. PCSK9: la nouvelle arme anti-cholestérol. *CORDIAM*. 2015.
5. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet*. 2003.
6. Bansal D, Bhatti HS, Sehgal R. Role of cholesterol in parasitic infections. 2005; 7:1–7.
7. Boivin Y. A free response approach to the measurement of brand perceptions. *International Journal of Research in Marketing*. 1986.
8. Mbikay M, Mayne J, Seidah NG, Chrétien M. Of PCSK9, cholesterol homeostasis and parasitic infections: Possible survival benefits of loss-of-function PCSK9 genetic polymorphisms. *Med Hypotheses*. 2007.
9. Chukwuocha UM, Eke KN. Malaria parasite status and cholesterol level of malaria patients in parts of the IMO River Basin of Nigeria. *Asian Pac J Trop Med*. 2011.
10. Sein KK, Aikawa M. The prime role of plasma membrane cholesterol in the

pathogenesis of immune evasion and clinical manifestations of falciparum malaria. *Biochem Pharmacol.* 1998;105–10.

11. Al-Omar IA, Eligail AM, Al-Ashban RM, Shah AH. Effect of falciparum malaria infection on blood cholesterol and platelets. *Journal of Saudi Chemical Society.* 2010.

12. Arama C, Diarra I, Kouriba B, Sirois F, Fedoryak O, Thera MA, et al. Malaria severity: Possible influence of the E670G PCSK9 polymorphism: A preliminary case-control study in Malian children. *PLoS One.* 2018;13(2).

13. Fedoryak O, Arama C, Diarra I, Kouriba B, Chrétien M, Mbikay M. Association of the rs562556 PCSK9 Gene Polymorphism with Reduced Mortality in Severe Malaria among Malian Children. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology.* 2020;2020.

14. Chukwuocha UM, Eke KN. Malaria parasite status and cholesterol level of malaria patients in parts of the IMO River Basin of Nigeria. *Asian Pac J Trop Med.* 2011.

15. Visser BJ, Wieten RW, Nagel IM, Grobusch MP. Serum lipids and lipoproteins in malaria--a systematic review and meta-analysis. *Malaria journal.* 2013.

16. Khermach A, Khalki H, Louzi L, Zinebi A, Moudden K, Elbaaj M. Biological disturbances affecting people with malaria: About thirty cases. *Pan African Medical Journal.* 2017.

17. Tran PN, Brown SHJ, Rug M, Ridgway MC, Mitchell TW, Maier AG. Changes in lipid composition during sexual development of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Malar J.* 2016.

18. 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.

19. Visser BJ, De Vries SG, Vingerling R, Gritter M, Kroon D, Aguilar LC, et al. Serum lipids and lipoproteins during uncomplicated malaria: A cohort study in Iambaréné, Gabon. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 2017.

20. Mbikay M, Chrétien M. The biological relevance of PCSK9: when less is better *Biochemistry and Cell Biology.* 2022;100(3):189–98.

21. Magnasco L, Sepulcri C, Antonello RM, Di Bella S, Labate L, Luzzati R, et al. The Role of PCSK9 in Infectious Diseases. *Curr Med Chem [Internet].* 2021 Jul 16 [cited 2025 Jul 27];29(6):1000–15.