



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Analyse Protéomique et Santé

Intitulé :

Etude de l'influence du polymorphisme de l'Apoprotéine E sur les paramètres lipidiques dans les accidents vasculaires cérébraux (AVC)

Présenté et soutenu par :

ATALLAH Hadjer

BENADISSA Meriem

Le : 1/07/2015

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. Pr. NECIB Y. (Professeur - UFM Constantine).

Rapporteur : Mr. KHODJA DJ. (Maitre de conférence – Université Constantine 3).

Examineur : Mr. Pr. ATTALAH S. (Professeur - UFM Constantine).

Année universitaire 2014-2015

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à manifester notre louange à Dieu par aisance et excellence de nous avoir donné la patience, la volonté et la santé pour pouvoir achever ce travail, veille-t-il nous guider toujours dans le droit chemin.

Nous tenons à remercier particulièrement et avec gratitude notre encadreur Mr KHODJA Djamel, Maître de conférence à l'université Constantine 3, pour sa disponibilité et ses conseils qu'il n'a pas cessé de nous prodiguer durant toute la période de ce travail.

Nos remerciements les plus respectueux sont adressés à Mr NECIB Youcef, pour avoir accepté de présider notre jury de soutenance.

Nos remerciements les plus sincères vont également à Mr ATTALAH Salah, pour l'honneur qu'il nous a accordé en examinant notre travail.

Nous exprimons notre gratitude au Pr ABADI. N, Directeur du laboratoire de biologie et de génétique moléculaire au CHUC qui nous a ouvert les portes de son labo en nous facilitant la réalisation de cette étude.

Un grand merci, à l'ensemble du personnel du laboratoire, en particulier Mr BOULAKROUN Zoheir pour leurs aides et conseils.

Nous remercions également tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de notre mémoire.



Dédicace

Je dédie mon travail, en premier lieu à mes très chers parents la principale cause de ma réussite. Que Dieu vous garde tout près de nous.

*A mon père *M.SALAH*, la base de toute ma carrière.*

*A ma mère *HOURIA*, la perle la plus chère.*

*A mes chères sœurs *Nabila et Aicha* et leurs maris*

*A mes chers frères *Samir, Mourad, Hicham et Madjid* et leurs épouses*

A mes nièces et neveux

**Nounou, Chafaf, Takwa, Chahd, Douaa, Mouhamed, Nesrin, Rama, Aya,*

*Chiheb, Adam, Chaima, Mimi**

Une pensée à ma chère feu **Loudjaine**

A tous mes amies pour leurs soutiens et leurs encouragements

**Imen, Hayet, Asma, Meriem * pour ne citer que celles la*

Hadjer



Dédicace

*J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parent **Miloud** et **Hayat** qui m'avez dirigé et suivi pondent toute mes années d'étude et surtout ma mère pour leurs sacrifices de tous les instants sa patience sans limite et l'éducation qu'elle m'a donnée, je lui dit merci mille fois.*

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude a

Ma cher grande mère

Ma sœur : Narimane, Amel, Donia et Sara

Mes chers oncles, tantes, leurs époux et épouses : Zohir, Rabeh, Saber, Mohamed El Cherif, Masoud, Malika, zohra, Samouna, Cherifa et Ghania.

À tous mes cousins et mes cousines : Yazid, Yacin, Badis, Ahmed, Mehmoud, Taha, Warda, Souad, Soumia, Soria, Ibtissam, Rokia, Chaima, Imen et Kawter.

Egalement je dédie ce travail à mes amies : Afef, Hadjer, Hayat, Asma et Romaissa.

Et a tous mes collègues

A tous ceux que j'aime ...

MERIEM



Liste des tableaux

Tableau 1: Propriétés des apolipoprotéines.....	21
Tableau 2 : Répartition de la population d'étude.....	29
Tableau 3 : Tailles des fragments de restriction en paire de base (Pb) correspondants aux six géotypes possibles (3 homozygotes et 3 hétérozygotes).....	44
Tableau 4: répartition des sujets témoins selon L'âges et le sexe.....	47
Tableau 5: répartition des sujets malades selon l'âge et le sexe.....	48
Tableau 6: Comparaison de Moyenne de cholestérol dans les AVC et les témoins selon le sexe.....	49
Tableau 7: Comparaison de Moyenne des TG dans les AVC et les témoins selon le sexe.....	50
Tableau 8: Comparaison de Moyenne de HDL dans les AVC et les témoins selon le sexe.....	51
Tableau 9: Comparaison de Moyenne de LDL dans les AVC et les témoins selon le sexe.....	51
Tableau 10 : Prévalence des facteurs de risque dans la population témoins et dans les AVC.....	52
Tableau 11 : Fréquences génotypiques de l'apoE dans la population générale.....	56
Tableau 12 : Fréquences alléliques de l'apoE dans la population générale.....	57
Tableau 13 : Fréquences alléliques de la population constantinoise comparées à d'autres groupes ethniques.....	58
Tableau 14 : Fréquences génotypiques de l'ApoE dans la population générale et dans les AVC.....	59
Tableau 15 : Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population générale et dans les AVC.....	61

Tableau 16 : impact du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez Les porteurs de ϵ_2/ϵ_3 , ϵ/ϵ_4 et ϵ_3/ϵ_362

Tableau 17 : Calcul des odds ratio des sujets malades (AVC) ayant un allèle ϵ_4 , par rapport aux témoins ayant un génotype ϵ_3/ϵ_363

Liste des figures

Figure 1 : structure d'une paroi artérielle saine.....	4
Figure 2 : naissances de la plaque.....	6
Figure 3 : structure du cholestérol	14
Figure 4 : Structure des triglycérides.....	15
Figure 5: Structure de l'apolipoprotéine humaine.....	16
Figure 6: Structure de l'apolipoprotéine E humaine	22
Figure 7: Polymorphisme génétique du gène de l'Apo E.....	24
Figure 8: Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% des fragments amplifiés (292pb) par PCR du gène Apo E.....	40
Figure 9: Digestion par Hha I des trois allèles.....	41
Figure 10: Profil d'électrophorèse sur gel d'acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI présentant différents génotypes d'Apo E.....	44
Figure 11: Répartition des sujets présentant AVC selon l'âge et le sexe.....	51
Figure12: Comparaison de la fréquence de l'HTA entre les témoins et AVC selon le sexe.....	53
Figure13: Comparaison de la fréquence de tabac entre les témoins et AVC selon le sexe....	54
Figure 14: Comparaison de la fréquence de DNID entre les témoins et AVC selon le sexe.....	55
Figure 15: Comparaison de la fréquence d'IMC entre les témoins et AVC selon le sexe...56	
Figure 16: Fréquences génotypiques de l'apoE dans la population générale.....	57
Figure 17: Fréquences alléliques de l'apoE dans la population générale.....	58
Figure 18: Fréquences génotypiques de l'ApoE dans la population générale et dans les AVC.....	60

Figure 19: Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population générale et dans les AVC.....61

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	----------

Partie bibliographique

I. Athérosclérose	4
1. Définition.....	4
2. Physiopathologie de l'athérosclérose.....	4
2.1. Structure de la paroi d'une l'artère saine	4
2.2. Mécanisme moléculaire athéromateux.....	5
II. L'accident vasculaire cérébral (AVC)	
1. La classification d'AVC.....	8
2.1. L'accident vasculaire cérébral ischémique.....	8
2.3. L'accident vasculaire cérébral hémorragique.....	9
2.3.1. Hémorragie intra-parenchymateuse.....	9
2.3.2. Hémorragie méningées	10
3. Facteurs de risque	10
3.1. Facteurs de risque modifiables ou potentiellement modifiables.....	10
3.2. Facteurs De risque non modifiable.....	13
III. les lipides et les lipoprotéines	
1. Lipides	14
1.1. Rôle des lipides.....	14
1.2. Paramètre à explorer.....	14
1.2.1. Cholestérol	14
1.2.2. Triglycérides	15
2. Les lipoprotéines.....	16
1.1 Classification et nomenclature des lipoprotéines	17
2.2.1. Classification selon leur mobilité électrophorétique.....	17
2.2.2. Classification selon leur densité.....	17
2.2.3. Classification selon la taille.....	18
2. 2.4. Classification selon le contenu en apolipoprotéine.....	18
3. Rôle physiologique ou pathologique des lipoprotéines.....	18
4. Les enzymes du métabolisme des lipoprotéines.....	19

5. les apoprotéines	20
5.1. L'apolipoprotéine E (apoE).....	22
5.1.1. Structure de la protéine	22
5.1.2. Rôle de l'apolipoprotéine E.....	23
5.1.3. Gène de l'apo E.....	23
5.1.4. Polymorphisme génétique de l'apo E.....	23
5.1.5. Distribution tissulaire.....	24
5.1.6. Régulation.....	24
5.1.7. Récepteurs de l'apo E.....	24
6. Influence du polymorphisme de l'apoE sur les métabolismes des lipides	25

Partie pratique

Moyens et méthodes

1. Moyens.....	29
1.1. Répartition de la population d'étude	29
1.2. Critères d'inclusion et d'exclusion.....	29
1.2.1. La population témoin.....	29
1.2.2. La population malade.....	30
2. Méthodes.....	30
2.1. Prélèvement et Enregistrement	30
2.2. Questionnaire	30
2.3. Méthodes de dosage des paramètres lipidiques	31
2.4. Extraction de l'ADN.....	33
2.4.1. Principe	33
2.4.2. Etape d'extraction d'ADN.....	34
2.4.3. Détermination de la pureté de l'ADN	35
2.4.4. Dosage des acides nucléiques (ADN).....	36
2.5. Génotypage de l'apo E.....	36
2.5.1 Amplification d'ADN par la PCR	37
2.5.1.1. Principe de la PCR.....	37
2.5.1.2. Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR	38
2.5.2. Contrôle de La taille des fragments amplifiés.....	39
2.5.3. La digestion du produit de PCR.....	40

2.5.3.1 Clivage des produits de PCR	41
2.5.3.2 Electrophorèse des fragments de restriction	41
2.6. Calcul de l'Odds ratio	44
2.7. Les intervalles de confiance.....	45
2.8. Choix de la "p value "	45

Résultats et discussion

1. Répartition des sujets témoins selon les groupes d'âges et le sexe.....	47
2. Répartition des sujets malades selon les groupes d'âges et le sexe.....	47
3. Etude des Variations lipidiques dans les malades d'AVC.....	49
4. Prévalence des différents facteurs de risque dans les témoins et dans les AVC.....	52
5. Fréquences génotypiques et alléliques de l'apo E.....	56
5.1. Fréquences génotypiques dans la population générale.....	56
5.2. Fréquences alléliques de l'apoE dans la population générale	57
5.3. Fréquences génotypiques de l'apoE dans la population générale et dans les AVC....	59
5.4. Fréquences allélique de l'apoE dans la population générale et dans les AVC.....	60
6. Influence du polymorphisme sur les paramètres lipidiques.....	61
6.1. Génotype et paramètres lipidiques.....	61
7. Prévalence de L'odds ratio dans les AVC.....	63

Conclusion

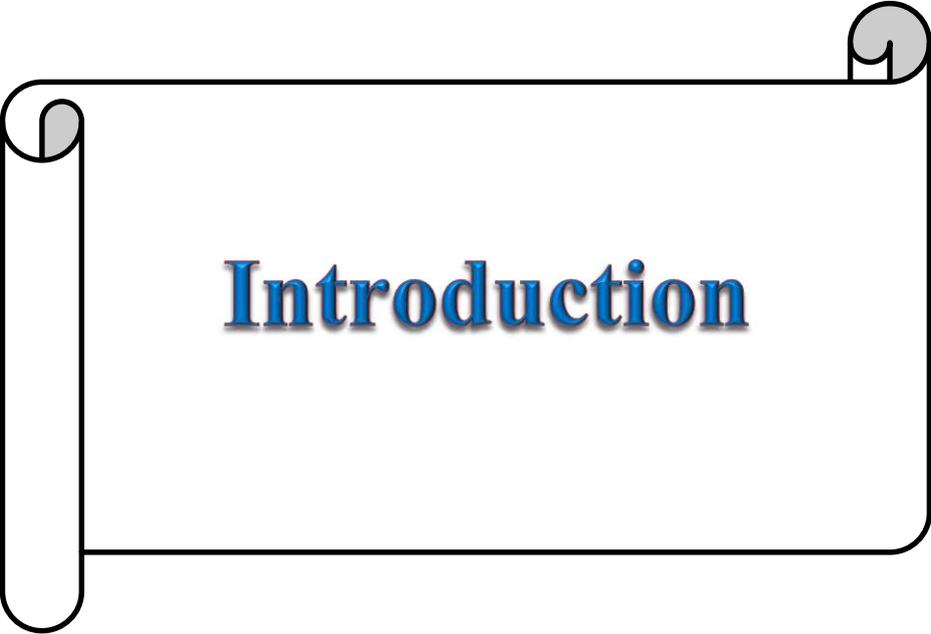
Référence

Annexe

Résumé en Français

Résumé en anglais

Résumé en arabe



Introduction

Introduction

Les maladies cardio-vasculaires constituent aujourd'hui la première cause de morbi-mortalité dans les pays développés. En Algérie, elle représente 28% de la mortalité (1). Les MCV sont le plus souvent la conséquence de l'athérosclérose. Cette dernière se caractérise par la formation d'une plaque d'athérome résultant de l'accumulation de lipides, glucides, tissus fibreux...etc. Cette lente métamorphose de l'intima provoque un épaissement local de la paroi artérielle qui réduit progressivement la lumière vasculaire (sténose). Une instabilité de la plaque ou sa rupture (thrombose) peut conduire à des accidents vasculaires graves, comme l'accident vasculaire cérébral (AVC) appelé aussi accident cérébrovasculaire.

Selon l'OMS : « Un AVC résulte de l'interruption de la circulation sanguine dans le cerveau suite à la rupture d'un vaisseau la présence d'un caillot. L'apport en oxygène et en nutriments est stoppé, ce qui endommage les tissus cérébraux». On distingue deux types d'AVC : les accidents ischémiques et hémorragiques (2). Les facteurs de risque les plus fréquents favorisant les AVC sont: l'hypertension artérielle, l'obésité, le diabète et le tabagisme.

L'apolipoprotéine E est une glycoprotéine, ayant un poids moléculaire de 34 kDa situé sur le chromosome 19. Elle est présente dans toutes les lipoprotéines. Elle est synthétisée majoritairement au niveau du foie. ApoE est multifonctionnelle jouant notamment un rôle clé dans le métabolisme des lipoprotéines (3).

Le locus du gène de structure de l'apo E plasmatique est polymorphe avec trois allèles communs, désignés comme ϵ_2 , ϵ_3 et ϵ_4 qui code pour E2, E3 et E4 protéines, respectivement. Les trois isoformes de l'apo E diffèrent l'une de l'autre au niveau des résidus d'acides aminés 112 et 158. E2 comporte les résidus de cystéine sur les deux sites 112 et 158 tandis que E4 a des résidus arginine sur les deux sites, E3 a une cystéine en position 112 et une arginine à la position 158. Ces trois isoformes donnent une possibilité à six phénotypes: trois homozygotes (E2/E2, E3/E3, E4/E4) et trois hétérozygotes (E3/E2, E4/E2 et E4/E3) se trouvent dans la population générale. Le polymorphisme des isoformes E2, E3 et E4 du gène de l'APO E joue un rôle au niveau du site d'interaction des récepteurs LDL. L'isoforme E2 serait moins compatible que les isoformes E3 et E4 pour ces récepteurs, l'isoforme E4 étant plus compatible que l'isoforme E3. Ainsi la présence de l'isoforme E4 se traduit par un

métabolisme accéléré des lipoprotéines riches en TG, ce qui explique que les sujets porteurs de l'allèle E4 auraient un risque cardiovasculaire plus élevé (4).

Notre étude a comme objectif :

- déterminer le polymorphisme de l'apo E chez les sujets ayant un AVC.
- comparer la fréquence des différents allèles dans la population d'étude et dans une population témoin.
- déterminer l'influence de polymorphisme de l'apo E sur les paramètres lipidiques dans les AVC.



Partie bibliographique

I. Athérosclérose

1. Définition

L'athérosclérose est définie selon l'OMS comme « une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibre, consistant en une accumulation locale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôt calcaires ; le tout s'accompagnant de modifications de la media » (5).

En fait, l'athérosclérose aboutit à la formation de plaques au niveau de la paroi des artères. Ces plaques sont composées de dépôts lipidiques riches en cholestérol (athérome) enveloppés dans une gangue fibreuse (sclérose) (6).

2. physiopathologie de l'athérosclérose

2.1. Structure de la paroi d'une l'artère saine

Les artères répondent toutes à un modèle commun d'organisation (7). Leur paroi est constituée de trois couches (tuniques) au entourant aux espace central rempli de sang (la lumière) nommées de l'intérieur vers l'extérieur, sont : l'intima (tunique interne), la media (tunique moyenne) et l'adventice (tunique externe) (Fig 1).

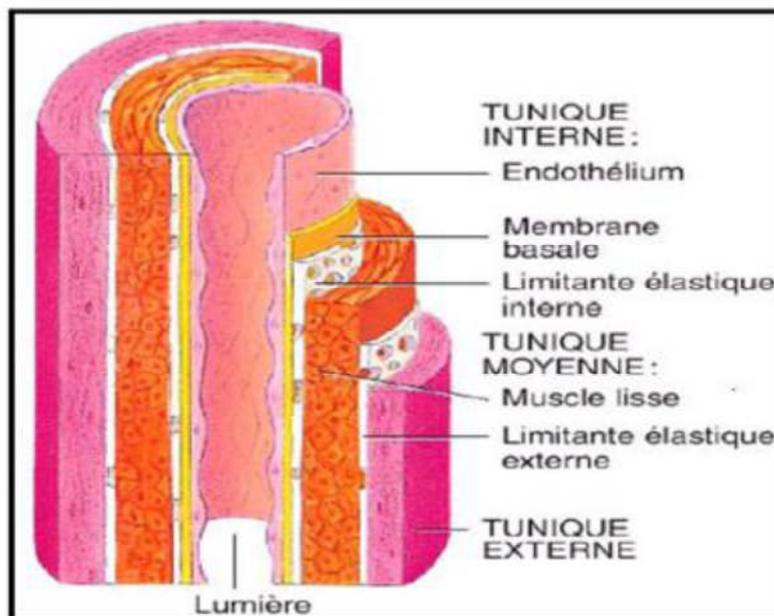


Figure 1: structure d'une paroi artérielle saine (8).

2.2. Mécanisme moléculaire athéromateux

Les facteurs qui jouent un rôle prépondérants dans la genèse de la plaque d'athérosclérose sont Les lipoprotéines essentiellement les LDL modifiés et 4 types cellulaires : les macrophages, les cellules endothéliales, les CML et les lymphocytes. Plusieurs mécanismes s'associent pour aboutir à la formation de la plaque (9) :

2.2.1. Pénétration et accumulation excessive de LDL dans l'intima

Très tôt dans la vie, un déséquilibre entre les entrées et les sorties est responsable de l'accumulation de lipoprotéines de basse densité (LDL-cholestérol) dans l'intima artérielle. Suite à cette infiltration, les LDL seront oxydés et engendreront une présence anormale de macrophages dans la paroi vasculaire (les zones ne comportant que des LDL-natives sont habituellement exemptes de macrophages) (10, 11, 12). La transformation des LDL natives en LDL pro-athérogènes (principalement en LDL oxydées) est une étape essentielle (9). Elle se produit majoritairement in situ, dans la paroi (13). Le mécanisme d'oxydation des LDL peut être provoqué chimiquement par la présence des radicaux libre dans le milieu.

2.2.2. Recrutement des monocytes circulants et leur transformation en macrophages puis en cellules spumeuses

La deuxième phase consiste en l'adhésion des monocytes circulants à la surface de l'endothélium et leur transformation en macrophages puis en cellules spumeuses.

Dans un cas normal, l'endothélium empêche l'adhésion des monocytes circulants. En revanche, en cas de présence anormale de LDL-oxydées dans l'intima, Les cellules de l'intima sécrètent des cytokines, activant ainsi des cellules endothéliales sus-jacentes qui produisent des molécules d'adhésion, ces molécules d'adhésion à la surface endothéliale (VCAM-1 ou ICAM-1) seront exprimées et ainsi provoquera l'adhésion de monocytes à la surface de l'endothélium. Les monocytes et les lymphocytes vont alors traverser l'endothélium et se transformer en macrophage sous l'influence de divers facteurs : le MCP-1 est nécessaire au passage des monocytes entre les cellules endothéliales ; le M-CSF est une cytokine impliquée dans la différenciation des monocytes en macrophages et à leur prolifération. (10, 11, 12) (fig. 2).

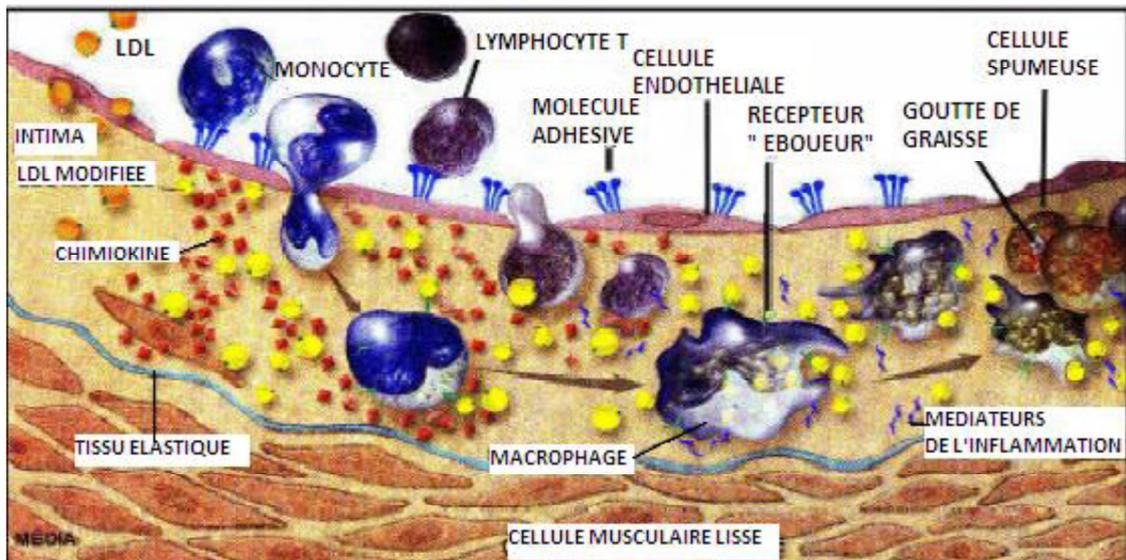


Figure 2: naissances de la plaque (14).

Les LDL sont normalement captées par les cellules qui les dégradent en énergie. Par contre, les LDL oxydées sont captées par les récepteur « scavenger » des macrophages. L'expression de ces récepteurs n'étant pas régulée, les LDL oxydées s'accumulent dans le macrophage, conduisant à la formation de cellules spumeuses (12).

2.2.3. Induction d'une réaction inflammatoire chronique

Dès l'infiltration de la paroi artérielle par les macrophages, une réaction inflammatoire chronique se produit et serait à l'origine d'un véritable phénomène d'auto amplification et de croissance de la plaque (15).

Les macrophages produisent de nombreuses cytokines pro-inflammatoires, Ces cytokines peuvent, d'une part, provoquer le recrutement des monocytes en stimulant la libération de la chimokine MCP-1 par les cellules de la plaque et, d'autre part, favoriser leur adhérence à l'endothélium en induisant l'expression par les cellules endothéliales les molécules d'adhérence VCAM-1 et ICAM-1. Les cytokines pro-inflammatoires (TNF-alpha, IL-1, etc.) Peuvent par ailleurs moduler l'activité des CML, L'IL1 et le TNF α induisent l'expression par les CML ainsi que par les macrophages de métalloprotéinases capables de dégrader les protéines de la matrice extracellulaire. Les cytokines pro-inflammatoires de la plaque peuvent aussi intervenir dans les complications thrombotiques associées à l'athérosclérose.

2.2.4. Migration et prolifération des CML

Les lésions athéroscléreuses ou plaques en évolution, font intervenir les CML, elles sont accumulées massivement par prolifération dans l'intima artérielle, entraînant une augmentation importante de la taille de la lésion (16).

Les CML provenant du média migrent à travers la limitante élastique interne vers l'intima où elles prolifèrent sous l'action du facteur mitogène PDGF secrété par les plaquettes et l'endothélium ou par les CML elles-mêmes. Au cours de ce passage, les CML acquièrent le phénotype sécrétoire et une forte activité synthétique de protéines conjonctives (collagène, élastine et protéoglycannes) à forte affinité pour les LDL oxydées.

2.2.5. Formation du centre athéromateux et de la chape fibreuse

A ce stade, les LDL oxydées accumulées au sein des cellules résidant dans le sous endothélium, ont une propriété cytotoxique, et pro-apoptotique responsable de la mort des cellules spumeuses, libérant ainsi les molécules LDL oxydées intracellulaire dans le milieu extracellulaire. Les LDL oxydées se regroupent pour former un amas appelé cœur lipidique ou centre athéromateux.

La plaque athéroscléreuse adulte se caractérise par la formation d'une chape fibreuse qui « isole » le centre lipidique de la lumière artérielle. La chape fibreuse est composée de cellules musculaires lisses (CML) et de protéines de matrice extracellulaire (collagène, élastine, protéoglycanes). La stabilité des plaques d'athérosclérose va dépendre de l'intégrité de la chape fibreuse (10, 11, 12).

2.2.6. Remodelage vasculaire

La plaque se développe longtemps sans altérer le calibre vasculaire. Ce processus d'adaptation des vaisseaux athéroscléreux a été dénommé remodelage vasculaire ou élargissement compensateur. Toutefois, lorsque la masse intimale excède 40% de la surface totale de la paroi, le remodelage excentrique de l'artère n'est plus suffisant pour contenir la plaque : son développement se fait alors aux dépens de la lumière artérielle et conduit à son obstruction progressive (17).

II. L'accident vasculaire cérébral

L'accident vasculaire cérébral (AVC) se définit comme un déficit neurologique aigu d'apparition soudaine accompagnée de symptômes et de signes correspondant à l'atteinte de régions focales du cerveau par un mécanisme vasculaire (18).

1. La classification d'AVC

On distingue deux types d'AVC : les accidents ischémiques cérébraux, ou AVC ischémiques (qui sont les plus fréquents) et les AVC hémorragiques (2). Les Mécanismes de chacun, les causes et les prises en charge sont différents.

Dans les AVC hémorragiques, on distingue les hémorragies intra parenchymateuses et les hémorragies méningées (19).

1.1. Accidents vasculaires cérébraux ischémiques

AVC Ischémiques représentent environ 80% des AVC sont causés par la survenue brutale de l'occlusion d'une artère cérébrale qui prive de son apport normal en oxygène et en glucose le territoire cérébral focal irrigué par cette artère. L'occlusion artérielle se traduit par la survenue brutale d'un déficit neurologique focal dont les caractéristiques dépendent du territoire parenchymateux cérébral touché.

Les accidents ischémiques d'origine artérielle qui peuvent être de deux types selon la durée des symptômes :

- L'accident ischémique transitoire (AIT) qui représentent 10 % des accidents ischémiques. Selon l'OMS, l'AIT est défini comme un déficit neurologique ou rétinien de survenue brutale, d'origine ischémique, correspondant à une systématisation vasculaire cérébrale ou oculaire et dont les symptômes régressent totalement en moins de 24 heures. Une nouvelle définition a été proposée par le « TIA working group » : Un AIT est un épisode bref de dysfonction neurologique dû à une ischémie focale cérébrale ou rétinienne, dont les symptômes cliniques durent typiquement moins d'1 heure, sans preuve d'infarctus aigu (20).
- L'accident vasculaire constitué (AIC) correspond à une destruction irréversible du tissu cérébral, le déficit persiste au-delà de 24 heures.

La Cause de l'occlusion artérielle responsable de l'infarctus cérébrale est variable. On Distingue quatre groupes étiologiques ou causes :

- ✓ Athérosclérose: 30 à 50% des cas, lié à la formation d'athérome au niveau de l'intima du vaisseau (21)
- ✓ Cardiopathies emboligènes : dans 15 à 20 % des cas, l'Infarctus cérébral résulte d'une occlusion artérielle cérébrale secondaire à la migration d'embolies formés initialement dans les cavités cardiaques. La fibrillation auriculaire représente cependant à elle seule 50% de ces causes cardiaques (22).
- ✓ Maladie des petites artères cérébrales: dans 20 % des cas, liées à l'occlusion des artérioles perforantes.
- ✓ Causes Plus rare: sont retrouvées dans moins de 5 % Des cas, dissection artérielle cervicale, Vasculite cérébrale, Thrombose due à une coagulopathie.

La survenue d'un infarctus cérébral peut résulter de causes et de mécanismes divers, dans ce cadre, deux mécanismes principaux sont à retenir :

- le plus souvent, il s'agit de l'occlusion d'une artère généralement par des phénomènes thrombotiques et/ou emboliques.
- Plus rarement, le mécanisme est hémodynamique lié à une hypoperfusion locale (en aval d'une sténose critique par exemple) ou à une hypoperfusion globale lors d'une perturbation de la circulation systémique.

1.2. L'accident vasculaire cérébral hémorragique

Elles sont consécutives à la rupture spontanée ou traumatique d'un vaisseau cérébral. Elles représentent 15 à 20 % des accidents vasculaires cérébraux. Elles surviennent surtout dans l'artère cérébrale moyenne, plus souvent à gauche qu'à droite et peuvent être regroupées en hémorragies intra parenchymateuses et en hémorragies méningées (23).

1.2.1. Hémorragies intra parenchymateux

Les hémorragies intra parenchymateux (HIP) représentent 15 % environ de l'ensemble des AVC (19). Elle est définie par la survenue d'un saignement au sein du parenchyme cérébral causé par la rupture d'un vaisseau intracrânien, qui peut être isolée ou associée à un saignement dans l'espace sous-arachnoïdien ou dans le système ventriculaire (24).

L'hypertension artérielle chronique est la première cause des hémorragies intra parenchymateuses spontanées. D'autres causes plus rares appelées causes secondaires, sont à l'origine d'hématomes intracérébraux: malformations artério veineuses (MAV), troubles de la crase sanguine, traitements anticoagulants, thrombose veineuse cérébrale, vascularites toxiques (crack, cocaïne, héroïne) ou inflammatoire (lupus, périartérite noueuse) (25).

1.2.2. Hémorragies méningées

Les Hémorragies méningées (HM) ou hémorragies sous-arachnoïdiennes représentent moins de 5% Des AVC (19). On définit l'hémorragie sous-arachnoïdienne par l'irruption de sang dans les espaces sous-arachnoïdiens du cerveau ou du cordon médullaire. Elle peut être post-traumatique ou spontanée.

Les anévrysmes artériels intracrâniens sont le principale cause d'hémorragie sous-arachnoïdienne dans près de 80% des cas (25). Ou plus rarement à une malformation artério veineux.

2. Facteurs de risque

Parmi les facteurs de risque des accidents vasculaires cérébraux, qu'ils soient hémorragiques ou ischémiques sont aujourd'hui bien connus, on distingue deux grandes catégories : les facteurs de risque non modifiables et les facteurs de risque modifiables ou potentiellement modifiables.

2.1. Facteurs de risque modifiables ou potentiellement modifiables

2.1.1. Pression artérielle ou Hypertension artérielle

L'hypertension artérielle (HTA) est le plus important des facteurs de risque modifiables d'AVC dans les deux sexes et quel que soit l'âge : elle multiplie le risque d'infarctus cérébral par 4 et d'hémorragie par 10 (26). Elle est présente chez 40 à 85% des patients atteints d'infarctus cérébral et chez 72 à 81% de ceux qui sont atteints d'hémorragie cérébrale (26). Ce risque augmente de façon linéaire avec le niveau de pression artérielle systolique et diastolique et sans valeur seuil (27).

Le contrôle combiné de la pression systolique et diastolique réduit l'incidence des accidents vasculaires cérébraux. La baisse de 5 à 6 mmHg de la pression diastolique diminue de 30 à 50 % le risque d'accidents vasculaires cérébraux (28).

2.1.2. Cholestérol

Les relations entre cholestérol et AVC sont complexes et pas encore bien documentées. Divers essais thérapeutiques menés dans différentes populations à risque d'événements vasculaires ont cependant clairement démontré qu'une réduction du taux de cholestérol LDL était associée à un amoindrissement du risque d'IC. Ainsi, Une diminution de 1 mmol/l du LDL-Cholestérol est associée à une réduction relative du risque d'IC de 19% (29). Une relation inverse a été suggérée avec le risque d'hémorragie cérébrale qui augmentait en cas de cholestérolémie basse (30).

2.1.3. Diabète

Le diabète est un facteur de risque majeur et indépendant d'infarctus cérébral dont il multiplie la fréquence par un facteur de 2 à 5 (31). Le risque d'AVC chez le diabétique est de 1 à 1,5% par an (32). Ce risque relatif est plus élevé chez la femme 2,2 contre 1,8 chez l'homme (33). Par ailleurs, l'hyperglycémie est un indice de gravité mais aussi un facteur pronostique péjoratif, dont le contrôle à la phase aiguë peut permettre de diminuer la sévérité des lésions (34).

2.1.4. Tabac

Il augmente le risque d'AVC, c'est un facteur de risque indépendant de l'AVC ischémique chez l'homme et chez la femme. Les sujets qui s'arrêtent de fumer réduisent leur risque d'AVC d'environ 50% (34). Toutes les études s'accordent pour faire de l'HM le type d'AVC au risque le plus accru (35).

In vitro L'oxydation des LDL, première condition de l'athérosclérose, peut être provoquée chimiquement par incubation de LDL natives en présence d'extraits de fumée de cigarette (36).

2.1.5. Alcool

La relation entre consommation d'alcool et risque d'AVC est complexe. Une forte consommation augmente le risque de toutes les variétés d'AVC : l'AVC hémorragique et infarctus cérébral, alors qu'une consommation faible serait protectrice vis-à-vis de l'infarctus cérébral. Une recherche effectuée par les auteurs finlandais a montré que, dans l'alcoolisme chronique, le risque de développer un AVC est deux fois plus élevé chez les hommes et cinq

fois plus élevé chez les femmes par rapport à la population générale. L'alcool réduit le débit cérébral régional par son effet toxique sur le métabolisme cérébral et induit donc un vasospasme et l'hémoconcentration (37).

2.1.6. Obésité

L'obésité Est évaluée par l'indice de Masse Corporelle (IMC) Obtenu par la formule: poids/taille². Elle Est définie par un indice de masse corporelle supérieur ou égal à 30Kg/m². L'ensemble des études montre une association entre obésité et IC Aussi bien chez l'homme que chez la femme (38). Dans tous les cas, l'obésité représente aujourd'hui un facteur de risque pour les maladies cardiaques et l'hypertension artérielle et il a été clairement démontré qu'une diminution du poids était associée à une réduction de la pression artérielle (39).

2.1.7. Alimentation

Il Est clairement établi aujourd'hui que le risque d'AVC est influencé par des facteurs alimentaires (40). Une Consommation importante de fruits et de légumes est associée à une diminution du risque d'IC avec une relation dose-effet. Ainsi, Un régime alimentaire riche en fruits et légumes et pauvre en graisses (graisses saturées) diminue la pression artérielle. Une Consommation régulière de poisson, plus d'une fois par mois, est associée à une réduction de 40 à 50 % Du risque d'IC chez les hommes et chez les femmes (41). Une Alimentation élevée en sodium et faible en potassium serait un facteur de risque d'AVC à cause des effets de ces derniers sur la pression artérielle.

2.1.8. Inactivité Physique

Le Manque d'activité physique régulière est associé à une augmentation du risque de mortalité cardiovasculaire dans la plupart des études épidémiologiques. Ainsi, l'activité physique régulière a des bénéfices, car permettrait de réduire la pression artérielle, le poids et de réguler la glycémie. L'activité Physique régulière est un facteur protecteur d'AVC. Elle réduit le risque d'IC de 0,78 et celui de HC de 0,74 (42).

2.2. Facteurs De risque non modifiables

2.2.1. Âge

L'âge est un facteur de risque primaire relié aux AVC. Le risque de faire un AVC augmente dramatiquement avec l'avancement en âge (43). On estime que le risque d'AVC double chaque décennie après 55 Ans (39). L'incidence des AVC est plus élevée à un âge plus avancé, même si aujourd'hui il existe des preuves que les jeunes peuvent développer la maladie (37).

2.2.2. Sexe

Le sexe est un facteur de risque variable avec l'âge. Les AVC sont deux à trois fois plus fréquents chez l'homme que chez la femme entre 55 et 64 ans. Après la ménopause, le niveau de risque chez cette dernière rejoint très progressivement celui de l'homme (44). Il a été prouvé que les personnes de sexe féminin dans la période précédant la ménopause sont moins sensibles au risque de l'athérosclérose et ses effets secondaires (les cardiopathies ischémiques et les AVC). Il est dû au fait que, dans cette période de vie des femmes ont une plus forte concentration de l'HDL, qui sont connus pour protéger les vaisseaux sanguins contre l'athérosclérose (37).

2.2.3. Antécédents Familiaux et facteurs génétiques

D'une Manière générale, les antécédents familiaux de maladie cardiovasculaire ayant touché un ou plusieurs parents du premier degré sont un facteur de risque. Ils sont d'autant plus importants que l'âge de survenue des événements a été précoce dans la famille. Ils reflètent cependant à la fois une susceptibilité génétique et les habitudes de vie familiale (alimentaire Par exemple). Un antécédent familial d'AVC constitue un facteur d'AVC rendant les personnes dans ce cas de figure, 4 fois plus susceptibles (IC a 95% : 2,6-6,0) de faire un AVC que les autres (45). Dans la mesure où des facteurs génétiques peuvent prédisposer à l'AVC, ils entretiennent des liens avec la survenue des AVC. Le rôle des facteurs génétiques reste encore difficile à établir aujourd'hui.

III. Lipides et lipoprotéines

1. Lipides

Les lipides sont de petites biomolécules organiques hydrophobes, solubles dans les solvants organiques apolaires tels que : benzène, chloroforme, éther... (46.47). Ils sont principalement constitués de carbone, d'hydrogène et d'oxygène et ayant une densité inférieure à celle de l'eau. Les lipides sont caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras à chaîne moyennes, longue ou très longues capable de se condenser avec des alcools ou des amines (48). Les lipides majeurs dans le corps sont les triglycérides (TG), le cholestérol libre (CL), le cholestérol estérifié (CE).

1.1. Rôle des lipides

- ❖ Les lipides représentent une source majeure d'énergie pour bon fonctionnement de notre organisme (48).
- ❖ Ça constitution membranaire (phospholipides et de cholestérol) permet les interactions avec les protéines membranaires à activité biologique telles que les enzymes, les transporteurs membranaires, les canaux ioniques et les récepteurs hormonaux (48).
- ❖ En plus ils servent de moyen de transport à certaines vitamines dites liposolubles (A.D.E.K) et facilitent leur absorption (49).

1.2. Paramètres lipidiques à explorer

Cholestérol

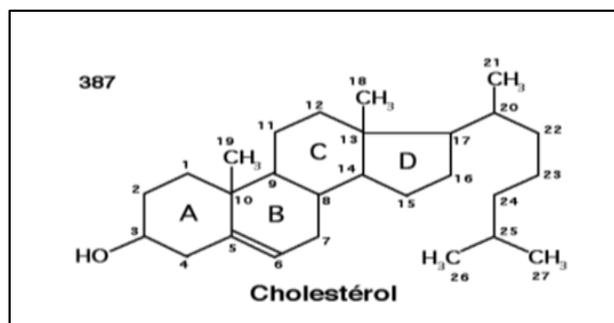


Figure 3: structure du cholestérol (50).

Le cholestérol est la substance lipidique la plus abondante du monde animal et la plus importante du point de vue métabolique et d'intérêt médical. Le cholestérol est un stérol qui a deux origines : une origine exogène (30% de l'alimentation) et une origine endogène (70%) synthétisé principalement dans le foie (48). Le cholestérol 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 (51). Les taux normaux du cholestérol total sont de 5 à 2,10 g/l, ils augmentent avec l'âge jusqu'à 2,5g/l. Cependant l'excès de cholestérol dans le sang conduit à la formation de plaque athéromateuse sur la paroi des artères (52).

✚ Triglycérides

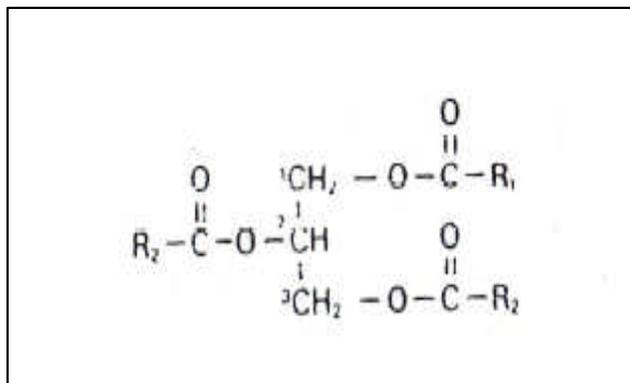


Figure 4: Structure des triglycérides (48).

Ce sont des glycérides composés d'une molécule de glycérol dont les trois fonctions alcool sont estérifiées par trois acides gras semblables ou différents. Les TG sont des graisses neutres de molécules volumineuses très légères et les moins mouillables, essentiellement portés par les VLDL et dépendent en grande partie du métabolisme des sucres (48). Les TG ont un rôle de stockage et constituent une réserve d'énergie très importante, cette réserve est stockée dans les cellules du tissu adipeux qui comporte 75% des TG (52). Les TG proviennent des lipides alimentaires ou synthétisés dans le corps à partir d'autres sources énergétiques telles que les carbohydrates (53). Le taux normal des TG est inférieur à 1,5 g/l alors que des niveaux élevés de TG représentent un facteur de risque indépendant pour les maladies cardiovasculaires (54).

1. Les lipoprotéines

Dans le sang, les lipides circulants, dont le cholestérol, ne sont pas solubles dans l'eau, ils sont portés par des protéines qui sont solubles. Ces protéines porteuses sont appelées lipoprotéines, ces dernières, sont des molécules sphériques de diamètres variables, leur structure est adaptée au transport des lipides et comportent :

- Un cœur lipidique (noyau) hydrophobe formé de TG provenant de l'absorption intestinale et des esters de cholestérol.
- Une enveloppe hydrophile formée de lipides polaires associée à des fractions protéiques appelées apolipoprotéines (55).

Les lipoprotéines ne sont pas de vraies hétéroprotéines, bien que molécules mixtes, puisque il n'y a pas de liaison covalente entre les lipides et les protéines. Il semble en effet que les lipides soient liés aux protéines en partie par des interactions de type Van der Waals entre les chaînes hydrophobes des lipides et celles de certains aminoacides, et en partie par des liaisons ioniques (56).

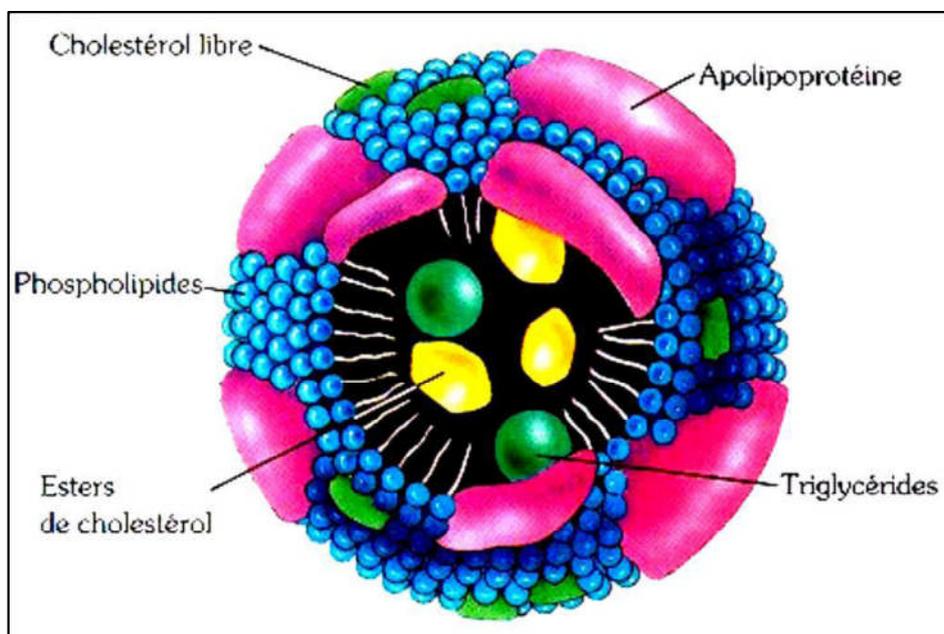


Figure 5: Structure de l'apolipoprotéine humaine (57).

2.1. Classification et nomenclature des lipoprotéines

La classification des lipoprotéines est basée sur 2 propriétés physiques: la charge électrique et leur densité.

2.1.1. Classification selon leur mobilité électrophorétique

Les lipides polaires et les apolipoprotéines de la couche périphérique confèrent aux lipoprotéines une charge électrique permettant leur séparation lorsqu'un échantillon de sérum est soumis à l'action d'un champ électrique (58). La première classification des lipoprotéines a été proposée par Blix et al en 1941 (59). L'électrophorèse de zone a été la première technique permettant une classification des lipoprotéines plasmatique en 4 fractions (60) :

- a. Chylomicrons, lipoprotéines ne migrant pas.
- b. Les α 1 lipoprotéines ayant une mobilité électrophorétique comparable à celle des α globulines.
- c. Les α 2 lipoprotéines ou pré- β lipoprotéines ayant une mobilité électrophorétique comparable à celle des α 2 globulines.
- d. Les β lipoprotéines ayant une mobilité électrophorétique comparable à celle des β globulines.

2.1.2. Classification selon leur densité

Les lipoprotéines qui ont une densité inférieure à celle des protéines, qui est variable selon les fractions, cette propriété permet de les séparer des protéines et entre elles par ultracentrifugation de flottation. Dans les années 50, Goffman et al. Utilisent le fait que les lipoprotéines se distinguent par des proportions différentes (une partie protéique et une partie lipidique) pour proposer une classification basée sur leur comportement dans un champ gravitationnel (61).

L'ultracentrifugation a donc permis d'isoler différentes classes de lipoprotéines :

- a. les chylomicrons, densité $< 0,94$.
- b. (VLDL), $0,94 < \text{densité} < 1,006$.
- c. Les lipoprotéines de basse densité (LDL), $1,006 < \text{densité} < 1,1063$.
- d. Les lipoprotéines de haute densité (HDL), densité $> 1,063$.

2.1.3. Classification selon la taille

Il existe une relation inverse entre la taille et la densité des lipoprotéines. L'électrophorèse dans un gel réticulé dont la taille des pores diminue depuis le point de dépôt, permet de séparer 4 classes des lipoprotéines en fonction de leur taille qui correspondent approximativement aux classes séparées par ultracentrifugation:

- a. Une fraction de très grande taille, 100 - 1000 nm correspondant aux chylomicrons
- b. Entre 30 et 70 nm sont trouvés les VLDL
- c. Entre 18 et 25 nm sont trouvés les LDL
- d. Les plus petites lipoprotéines, correspondant aux HDL, peuvent être séparées en 2 sous fractions de caractéristiques voisines : les HDL2 de diamètre 10 à 13 nm et les HDL3 de diamètre 7 à 10 nm.

2.1.4. Classification selon le contenu en apolipoprotéine

Plusieurs auteurs ont proposé l'utilisation des apolipoprotéines comme marqueur spécifique pour la définition et la classification des lipoprotéines plasmatiques. Les lipoprotéines sont nommées d'après leurs compositions en apolipoprotéines et peuvent être divisées en deux groupes (62).

2.3. Rôle physiologique ou pathologique des lipoprotéines

Les différentes espèces de lipoprotéines ne jouent pas le même rôle dans la circulation sanguine. Les LDL sont considérés à juste titre comme responsables des dépôts artériels générateurs d'athérome et d'athérosclérose, il existe cependant des nuances entre certaines LDL plus athérogènes que d'autres.

Les VLDL moins directement impliquées dans les dépôts artériels sont néanmoins considérées comme nocives lorsqu'elles sont trop abondantes, peut-être ne doivent-elles leur nocivité qu'à leur rôle de précurseur de LDL.

Les CM, ne sont pas athérogènes, leur accumulation donne lieu par ailleurs à des troubles pancréatiques. Les HDL, jouent au contraire un rôle anti-athérogène, peut-être faudrait-il limiter ce rôle à certaines HDL à apoA-I sans apoA-II (63).

2.4. Les enzymes et les protéines du métabolisme des lipoprotéines

De nombreuses enzymes et protéines sont impliquées dans le métabolisme des lipoprotéines. La plupart d'entre elles sont regroupées dans deux grandes catégories, les protéines de transfert des lipides (64) et les lipases (65).

✓ La lipoprotéine lipase

La lipoprotéine lipase (LPL) est une enzyme clé du métabolisme des lipoprotéines, de 475 acides aminés incluant un peptide signal de 27 résidus (66). La LPL est synthétisée par le cœur, le muscle squelettique, le tissu adipeux, les glandes mammaires, les macrophages, la rate, le poumon et le rein (67). Elle catalyse l'hydrolyse des triglycérides, des lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et des chylomicrons, et fournit des acides gras aux divers tissus, et affectant la maturation de l'ensemble des lipoprotéines (68). La LPL a besoin de l'apo C2 comme cofacteur pour être active. La LPL est en revanche inhibée par l'apo C3.

✓ Lécithine Cholestérol Acyltransférase

La Lécithine Cholestérol Acyltransférase (LCAT) convertit le cholestérol en ester de cholestérol dans le plasma, à la surface des lipoprotéines. LCAT est une protéine de 416 acides aminés et de 47 kDa (69). LCAT est essentiellement produite par le foie mais aussi par le cerveau et les testicules. Elle est activée par les Apo A1, A2, A4 et C1 (70).

✓ La Cholestérol Ester-Transfer Protein

La protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP) est une glycoprotéine plasmatique hydrophobe comprenant 476 acides aminés avec un poids théorique de 53 kDa et d'un poids réel avec les N-glycosylations de 74 kDa. Elle est produite par le tissu adipeux et les muscles. La CETP, comme son nom l'indique, assure le transfert des esters de cholestérol et des triglycérides entre lipoprotéines (71). Le rôle de CETP dans le métabolisme des lipoprotéines a été élucidé grâce à des mutations et des déficiences chez l'humain (72). Ces études ont montré qu'une diminution de l'activité CETP menait à une augmentation des HDL, une baisse des particules athérogéniques et une diminution des risques d'athérosclérose (73). Les Apo C1, C3, F peuvent inhiber la CETP (74), les Apo A1, A2, A4 l'activer (75).

2.5. Les apolipoprotéines

Les apolipoprotéines sont les constituants protéiques des lipoprotéines. Ces protéines permettent la formation et la stabilisation des particules lipoprotéiniques. Les apolipoprotéines jouent donc un rôle fondamental dans le transport sanguin des lipides. Elles ont aussi un grand nombre d'autres fonctions spécifiques. Les apolipoprotéines sont une grande famille protéique présentant des similarités de fonctions, de structures, de séquences (Tableau 1). Elles ont des origines communes et ont évolué différemment au cours du temps. Les apolipoprotéines majeures sont les apo A1 à A5, (a), B48 et B100, C1 à C4 et l'Apo E et ses différentes isoformes. Il existe d'autres apoprotéines humaines comme les Apo D ou A3, F, G, H, J. Toutes ces apolipoprotéines ont des caractéristiques propres qui méritent d'être étudiées (76).

Tableau 1: Propriétés des apolipoprotéines (77, 78).

Nom Apo	Locus génétique	Masse moléculaire (kDa)	Principaux tissus d'expression	Distribution lipoprotéique	Fonctions majeures
A1	11q23	28	Foie, intestin	HDL, chylo	+ LCAT, + CETP, + PLTP, structure, TRC
A2	1q21q23	17	Foie, intestin	HDL, chylo	- LCAT, +HL, + CETP, structure, TRC
A4	11q23	46	Foie, intestin	HDL, chylo	+ LCAT, + CETP, TRC, métabolisme des lipoprotéines riches en TG
(a)	6q26-27	280-800	Foie	Lp(a)	anti-fibrinolytique
B48	2q26-27	260	Intestin	chylo	structure, sécrétion, chylo, ligand B48R
B100	2q23-q24	550	Foie	VLDL, LDL, IDL	structure, sécrétion, VLDL, ligand LDLR
C1	19q12-Dq13.2	7.6	Foie, intestin	HDL, chylo, VLDL	+ LCAT, - CETP, - HL
C2	19q12-q13.2	8.9	Foie, intestin	HDL, chylo, VLDL	+ LPL
C3	11q23	8.7	Foie, intestin	HDL, chylo, VLDL	- LPL, +LCAT
D(A3)	3q26.2	29	Foie, intestin Rate, pancréas	HDL, LDL, VLDL	TRC
E	19q12-q13.2	34	Foie, cerveau, macrophage	HDL, VLDL, IDL, chylo	ligand LDLR et LRP
F	12q13.3	29	Foie	LDL, VLDL, HDL	- CETP
G		72	?	HDL	inconnue
H	17q23-24	54.2	Foie, placenta	HDL, VLDL	cible des autos anticorps du syndrome anti phospholipides
J	8p21	80	Foie, cerveau	HDL	anti-inflammatoire

chylo: chylomicrons, + : active, - : inhibe, TRC : Transport Reverse du Cholestérol, TG : triglycérides

5.1. L'apolipoprotéine E (apoE)

L'apolipoprotéine E est une protéine ubiquitaire, jouant un rôle dans le transport du cholestérol et des phospholipides. L'Apo E est un des composants des lipoprotéines. Elle est un des constituants des VLDL dont la fonction première est le transport des triglycérides, des HDL qui participent à la redistribution du cholestérol, et des chylomicrons (79).

5.1.1. Structure de la protéine

L'apo E comporte deux domaines structuraux correspondant à deux domaines fonctionnels, qui peuvent être individualisés par clivage à la thrombine (fig 6).

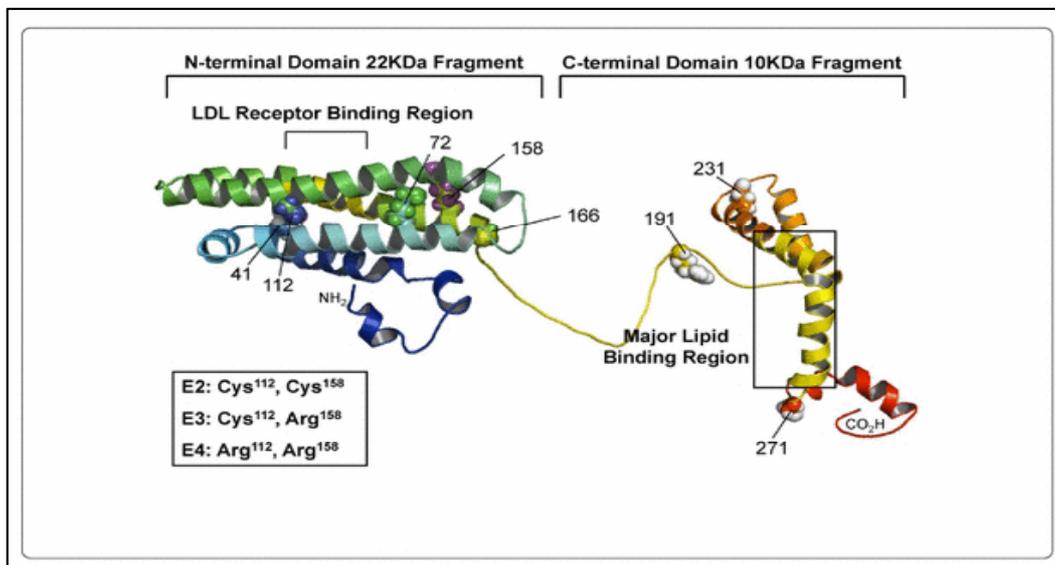


Figure 6 : Structure de l'apolipoprotéine E humaine (80).

La partie N-terminale (22 kDa) comporte un domaine riche en acides aminés basiques (lysine et arginine) qui représente un site de fixation à l'héparine et de liaison avec le récepteur LDL. Les résidus basiques forment un domaine de charges positives qui va interagir avec les charges négatives des récepteurs LDL.

La partie C-terminale (10 kDa) joue un rôle majeur dans le transport des lipides, grâce à un site de liaison aux lipides. La partie située entre ces deux domaines fonctionnels est une région de structure non ordonnée, sensible au clivage protéasique, et contenant un site potentiel d'attache glycanique. Bien que les deux domaines (N-terminal et C-terminal) soient indépendants, chacun peut avoir une influence sur les propriétés de l'autre.

5.1.2. Rôle de l'apolipoprotéine E

Son rôle principal est le transport du cholestérol, elle assure la liaison des lipoprotéines où elle se trouve aux récepteurs de haute-affinité (récepteurs de l'APO B/E) situés à la surface des cellules du foie et des autres tissus permettant ainsi l'internalisation de ces lipoprotéines et la libération de leur contenu en cholestérol à l'intérieur de la cellule. Elle permet aussi la liaison des résidus de chylomicrons et de VLDL à des récepteurs plus spécifiques (récepteurs de l'APOE) situés à la surface des cellules hépatiques afin d'éliminer ces résidus de la circulation plasmatique et les dégrader (81). Elle est aussi le ligand du LRP pour l'endocytose des TRL, facilitant la clairance hépatique des LDL, des TRL et leurs remnants. En effet, au niveau des intestins, les chylomicrons riches en triglycérides exogènes sont sécrétés par les entérocytes dans la circulation, sous l'action de la lipoprotéine lipase, ces triglycérides libèrent des acides gras libres récupérés entre autre par les adipocytes. Les chylomicrons remnants résultants de l'action de la lipoprotéine lipase et contenant de l'APOB-48 et de l'APOE sont alors internalisés par les hépatocytes pour être dégradés via le récepteur des chylomicrons.

5.1.3. Gène de l'apo E

Le gène de l'apo E est situé à l'extrémité centromérique de l'ensemble d'une famille de gènes codant pour le groupe apolipoprotéine E, CI, et CII, sur le chromosome 19, dans la région q13.2.

5.1.4. Polymorphisme génétique de l'apo E

Le polymorphisme génétique de l'apo E comporte 3 allèles (ϵ_2 , ϵ_3 , ϵ_4) codant pour 3 formes de l'apo E structurellement et fonctionnellement différentes (E2, E3, E4).

Les allèles de l'apo E se transmettent de façon codominante. Chaque individu possède 2 allèles, et les combinaisons possibles de ces allèles dans la population donnent 6 phénotypes différents : trois homozygotes (ϵ_2/ϵ_2 , ϵ_3/ϵ_3 , ϵ_4/ϵ_4) et trois hétérozygotes (ϵ_4/ϵ_2 , ϵ_3/ϵ_2 , ϵ_4/ϵ_3).

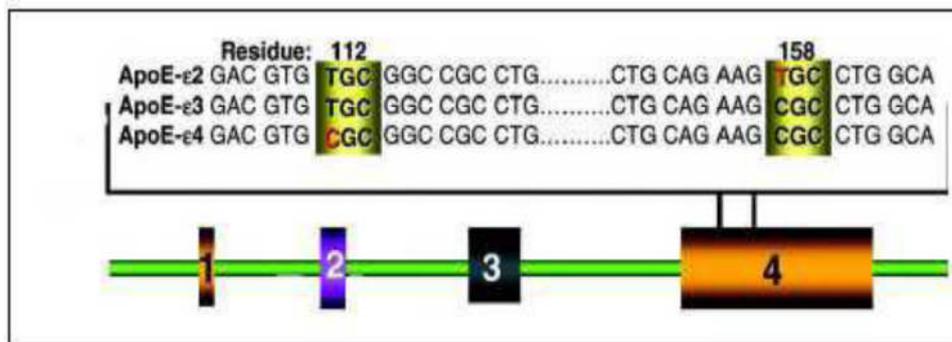


Figure 7 : Polymorphisme génétique du gène de l'apo E (82).

5.1.5. Distribution tissulaire

L'apo E est majoritairement synthétisé au niveau du foie (60-80% de la production totale). Elle est produite aussi dans les surrénales, le rein, les cellules du système réticuloendothélial et le cerveau. L'Apo E est un constituant des chylomicrons, des VLDL, des IDL et des HDL.

5.1.6. Régulation

La synthèse de l'apo E est régulée au cours du développement et par des facteurs hormonaux et nutritionnels. L'expression de l'apo E dans le cerveau est régulée par les oestrogènes. Le promoteur de l'apo E dans les astrocytes est régulé de manière positive par l'AMPc et l'acide rétinoïque, grâce à une séquence consensus nommée AP-2. L'expression du gène de l'apo E peut être régulée *in vitro* par l'induction de stress (79).

5.1.7. Récepteurs de l'apo E

Les complexes apo E/ lipides sont internalisés par les cellules grâce aux différents récepteurs. La majorité des récepteurs aux lipoprotéines contenant l'apo E font partie de la famille des récepteurs LDL (83). Possédant tous une homologie structurale. L'apo E possède 25 fois plus d'affinité pour le récepteur LDL que l'apo B (la principale apolipoprotéine des LDL), d'où le nom de récepteur Apo B/E.

5.1.7.1. Le récepteur LDL

Récepteur ubiquitaire, mais il est plus représenté dans les tissus fortement demandeurs en cholestérol et surtout dans le foie.

5.1.7.2. Le récepteur LRP, ou récepteur a-2 macroglobuline

Récepteur ubiquitaire, fortement exprimé dans le foie mais également dans le cerveau et les poumons.

5.1.7.3. Le récepteur VLDL

Exprimé dans les tissus qui ont une forte demande en AG, muscle cœur, tissus adipeux et neurone microglie cellule granulaires du gyrusdentelé et les macrophages.

5.1.7.4. Le récepteur mégaline ou gp330

Glycoprotéine initialement mise en évidence dans le rein, est aussi présent dans les neurones.

- Les récepteurs de l'apo E peuvent être classés selon leur structure ou leur spécificité pour les ligands. Les récepteurs LDL et VLDL sont spécifiques pour les lipoprotéines contenant l'Apo B ou l'ApoE. Les récepteurs LRP, "scavenger", gp330 et LR8 sont capables de fixer des ligands autres que des lipoprotéines contenant l'Apo E ou l'apo B.
- Le polymorphisme des isoformes E2, E3 et E4 interviennent au niveau du site d'interaction avec les récepteurs LDL et entraînent des changements de charges. Ces changements pourront modifier les interactions avec les récepteurs. L'isoforme E2 serait moins affine que les isoformes E3 et E4 pour ces récepteurs.

6. Influence du polymorphisme de l'apo E sur le métabolisme des lipides

L'apolipoprotéine E est incorporée au niveau de la structure des chylomicrons, des lipoprotéines de très faible densité (VLDL), et des lipoprotéines de haute densité (HDL). Elle sert de ligand aux récepteurs B/E situés au niveau des cellules, assurant ainsi le catabolisme de ces lipoprotéines (84). Le polymorphisme de l'apo E interfère sur le métabolisme lipidique, et, par conséquent, atténue ou augmente le risque de MCV (85). Chez les individus porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ ($\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$), les chylomicrons, les VLDL et les HDL sont caractérisés par une moins grande affinité aux récepteurs apo B/E, ainsi qu'une déficience dans l'habilité à réagir avec l'enzyme lipoprotéine lipase (86). La conversion des résidus de VLDL en LDL est également réduite chez les individus porteurs de l'allèle E2. Ces déficiences se traduisent par

une augmentation des chylomicrons et des résidus de VLDL dans le plasma, ce qui a pour effet d'induire une augmentation du nombre de récepteurs, d'où une diminution du cholestérol, ainsi que des lipoprotéines de basse densité (LDL), et une augmentation des triglycérides par rapport aux individus portant l'allèle $\epsilon 3$ ($\epsilon 3/\epsilon 3$). Si les individus sont porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ ($\epsilon 4/\epsilon 4$, $\epsilon 4/\epsilon 3$), les caractéristiques sont alors à l'inverse des individus porteurs de l'allèle $\epsilon 3$. Le nombre de récepteurs B/E se trouve ainsi diminué, d'où des niveaux plus élevés de cholestérol et LDL par rapport à ceux portant l'allèle $\epsilon 3$ ($\epsilon 3/\epsilon 3$) (85).

L'isoforme $\epsilon 3$ est considéré comme celui qui confère une fonction normale à la protéine résultante, avec une efficacité optimale. C'est l'isoforme le plus fréquent dans toutes les populations humaines (87).



Partie pratique



Moyens et méthodes

1. Moyens

1.1. Répartition de la population d'étude

Notre travail est rétrospectives, les échantillons que a nous avons utilisée appartiennent à la banque d'ADN de Mr. Khodja cette analyse a porté sur un échantillonnage total de 170 de type cas témoins. Les sujets admis dans notre étude étaient âge de 20 a plus (≥ 60), réalisée au CHU de Constantine.

L'échantillon est reparti comme suit :

- **La population témoin** : c'est la population générale. Ils sont au nombre de 121.
- **La population malade** : ce sont des sujets des deux sexes ayant présenté un AVC admis au service de neurologie et des urgences médicales. Ils sont au nombre de 49.

Tableau 2 : Répartition de la population d'étude.

	Femmes		Hommes		Total	
	n	%	n	%	n	%
témoins	50	41,3	71	58,7	121	71,2
AVC	25	51	24	49	49	28,8
Total	75	/	72	/	170	100

1.2. Critères d'inclusion et d'exclusion

1.2.1. La population témoin

Critères d'inclusion

- ✓ Sujets des deux sexes, résidant à Constantine, âgés de 20 ans et plus.

Critères d'exclusion

- ✓ Sujets ayant des antécédents personnels ou familiaux d'AVC.
- ✓ Sujets Sous traitement médical, femmes enceintes ou encore celles prenant des oestoprogostatifs au moment de l'enquête.
- ✓ Sujet Ayant une pathologie entraînant une augmentation des paramètres lipidiques (Hypertension artérielle, Obésité, Diabète....etc.).

1.2.2. La population malade

Critères d'inclusion

Des critères cliniques sont absolument nécessaires pour définir les ensembles pathologiques, pour cela:

- ✓ Tous les malades sont suivis par des médecins spécialistes.
- ✓ Tous les diagnostics sont portés par des neurologues.

Critères d'exclusion

- ✓ Sujets refusant de faire le prélèvement.

2. Méthodes

2.1. Prélèvement et Enregistrement

+ Prélèvement

Les prélèvements ont été effectués sur des sujets à jeun d'au moins dix heures, pour la réalisation d'un bilan lipidique.

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction d'ADN nécessite l'utilisation des tubes avec un anticoagulant EDTA qui est un chélateur ou un inhibiteur de l'action des enzymes DNase ou nucléase (88).

+ Enregistrement

Un numéro d'enregistrement est donné à chaque sujet : des chiffres commençant à partir du numéro 1 pour la population témoin précédé par une lettre N .Pour les malades cérébrovasculaires sont indiqués par un chiffre AVC (ex : AVC1.AVC2).

2.2. Questionnaire

Les caractéristiques biocliniques quantitatives et qualitatives de chaque sujet malade ou de référence sont rapportées sur un questionnaire qui comporte: (Annexe)

Données de l'état civil

- ✓ Comportant le nom, le prénom, l'âge, le sexe, la situation familiale etc...

Données biocliniques

Des données biocliniques concernant les sujets témoins et malades ont été recueillies:

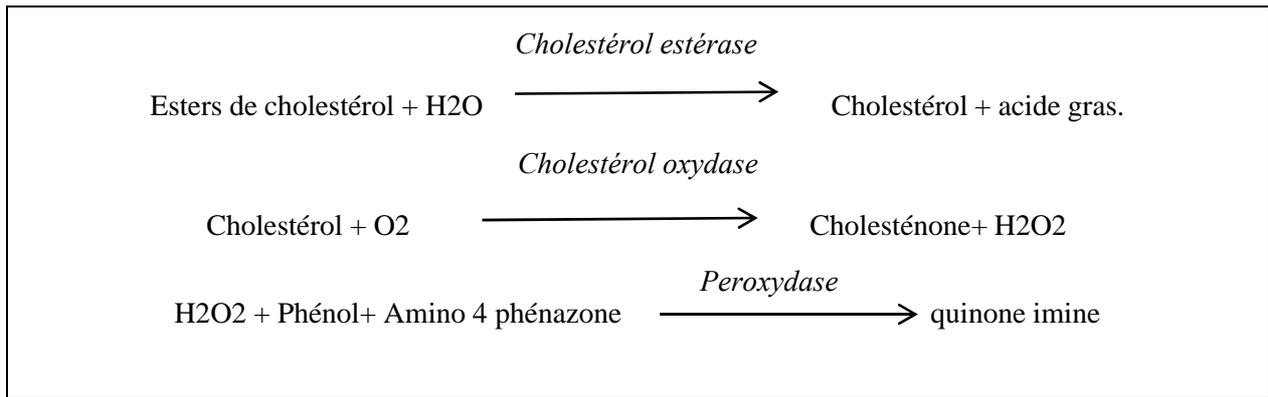
- ❖ Le Poids a été mesuré chez les sujets sans chaussures grâce à une balance portable.
- ❖ La taille a été prise sans chaussures, pour les malades chez lesquels il a été impossible de prendre ces mesures nous avons utilisé la carte d'identité nationale pour la taille ou à défaut posé des questions aux proche et fait des approximations pour le poids. Le poids et la taille sont exprimés selon l'IMC (kg/m²).
- ❖ La pression artérielle est mesurée chez les sujets assis depuis au moins 5 minutes grâce à un appareil ordinaire. La présence d'une HTA est retenue chez tous les sujets déjà connus et traités ainsi que chez les sujets ayant une diastolique égale ou supérieur à 95 mm Hg et ou une systolique supérieure ou égale à 16 mm Hg.
- ❖ La consommation du tabac par jour.
- ❖ L'existence d'antécédents personnels et familiaux de coronaropathies.
- ❖ Un bilan biologique complémentaire incluant une glycémie, TG, Cholestérol, HDL.....

2.3. Méthodes de dosage des paramètres lipidiques

Le cholestérol, les triglycérides et le cholestérol -HDL ont été dosés le jour même du prélèvement. Après centrifugation le surnageant est utilisé pour le dosage des différents paramètres (bilan lipidique).

Dosage du cholestérol

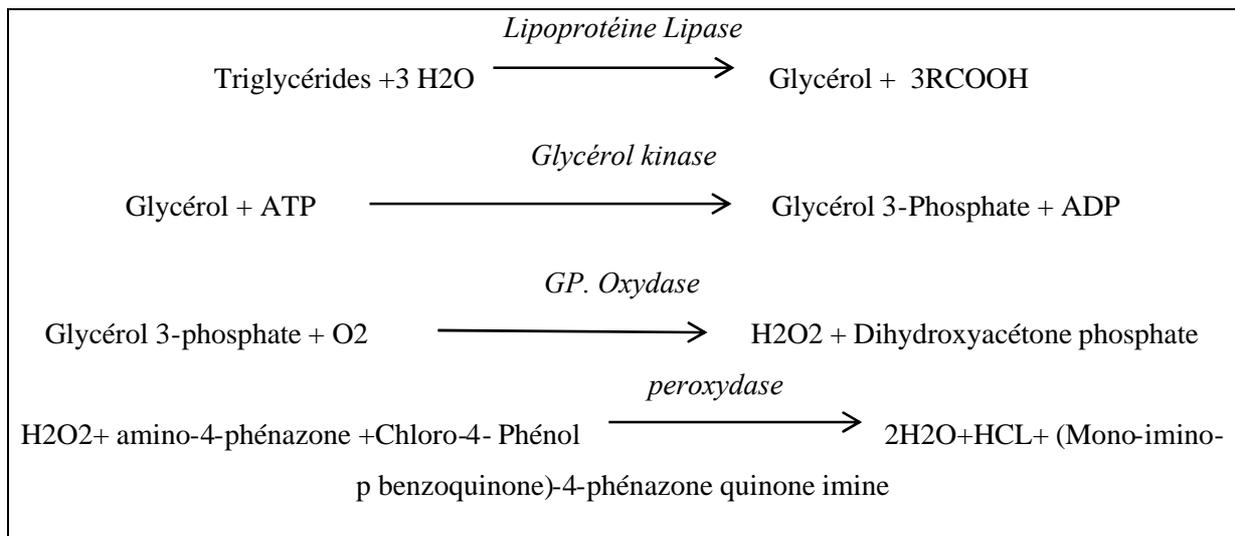
Le dosage du cholestérol est effectué par une auto analyseur de type ADVIA par une méthode colorimétrique-enzymatique (réaction de Trinder) en utilisant des coffrets Bayer.



L'intensité de la coloration de la quinone imine à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon du sérum.

✚ Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides a été effectué par le même un auto analyseur de type (ADVIA) suivant une méthode enzymatique en utilisant des coffrets Bayer.



L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité de triglycérides contenue dans l'échantillon du sérum.

✚ Dosage du cholestérol HDL

Elle est effectuée par précipitation sélective des autres lipoprotéines grâce au réactif phosphotungastate associé au chlorure de magnésiums, suivie d'une centrifugation du

précipité pendant 15 nm à 4000 tours /mn. Le HDL cholestérol (surnagent) est ensuite dosé par la même technique enzymatique que le cholestérol total (89).

Cholestérol LDL

Le cholestérol LDL est calculé grâce à la formule de Friedewald, à condition que les TG soient inférieurs à 3.5 g/l (4mmol/l).

$$\text{LDL -C} = \text{CT} - [(\text{TG} / 5) + \text{HDL -C}]$$

2.4. Extraction de l'ADN

2.4.1. Introduction

La plupart des études génétiques nécessitent la disposition d'échantillons d'acide nucléique, les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN. Les autres sources cellulaires peuvent être des biopsies (biopsie de villosités chorales..) ou des cultures de cellules (aminocytes, fibroblastes, lignées lymphoblastiques...) (88). Dans la grande majorité des cas, la technique d'extraction des acides nucléiques doit être adaptée à l'échantillon, à la nature du génome, au nombre de copies et des méthodes de biologie moléculaire utilisées ultérieurement (PCR)... (88). Les méthodes d'extraction des acides nucléiques sont diverses. Celle employée dans notre étude est une méthode utilisant un solvant inorganique, NaCl.

2.2.2. Principe

Les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN ; pour pouvoir isoler ces leucocytes, le sang doit être initialement mélangé à une solution hypotonique pour permettre la lyse des globules rouges. Après récupération des leucocytes, ces derniers vont être traités par un mélange représenté par un détergeant (SDS) et la protéinase K et ce, dans le but de dégrader tout ce qui est protéine. Le mélange agit sur les membranes des leucocytes et sépare les protéines de la membrane des acides nucléiques. Une précipitation au NaCl va éliminer les protéines associées à l'ADN nucléaire. Le surnageant ainsi récupéré est traité par l'éthanol dans lequel une pelote d'ADN se forme par précipitation.

L'ADN est solubilisé en phase aqueuse (Tris EDTA 10 : 1). Sa pureté ainsi que sa concentration sont estimées par spectrophotométrie à UV.

2.4.3. Etape d'extraction d'ADN

L'extraction d'ADN s'effectue en plusieurs étapes:

Préparation des leucocytes

- Dans un tube falcon de 50 ml, mettre le sang total (10 mL) et compléter à 25 ml avec du TE 20 :5. Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3800 rpm).
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
- Ajouter quelques ml de TE 20 :5 au culot et le remettre en suspension avec une passette stérile.
- Compléter à 25 ml du TE 20 :5 et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
- Aspirer le surnageant avec la trompe à vide : Obtention d'un culot des leucocytes (si on veut s'arrêter à ce niveau les mettre dans un tube nunc de 1,5 ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20° dans le frigo).

Extraction de l'ADN

Transverse le culot de leucocytes dans un tube falcon de 15 ml.

- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (Na Cl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, pH 8,2) en dilacérant le culot.
- Ajouter 200 ul de SDS à 10 %.
- Ajouter 100 ul de protéinase K à 10mg/ml.
- Agiter le tube sur une roue à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain refroidir dans la glace.
- Ajouter 1ml de NaCl 4M et agiter vigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace pour précipitation des protéines.
- Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube falcon de 15 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme.
- Laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote ne se forme pas.

- Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette Pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70%.
- Mettre la pelote dans un tube nunc.

Solubilisation

- Ajouter entre 300 et 1000ul de TE 10 : 1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- Laisser une nuit sur agitateur rotatif à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jours).

2.4.4. Détermination de la pureté de l'ADN

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisée par la suite. Dans le cas où l'ADN est contaminé, ce dernier ne laisserait pas aboutir à un bon résultat dans les étapes suivantes de son analyse par PCR. Il est donc indispensable de procéder par réextraction de la pelote de l'ADN afin d'obtenir la pureté souhaitée. Les ADN purs sont conservés à + 4°C jusqu'à utilisation.

Principe

- l'ADN absorbe à 260 nm alors que les protéines (témoins de contamination) absorbent à 280 nm.
- L'échantillon est dilué au 1/100 dans l'eau distillé (10 µl de l'ADN solubilisé dans 990 µl de l'eau stérile).
- Les DO sont lus à 260 (des acides nucléiques) et 280nm (longueur d'onde d'absorption et des protéines) dans le même type de cuve que celle ayant servi à faire le zéro (eau stérile).
- Par le moyen du rapport de DO 260nm/do280nm, la pureté de l'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN.

On considère que:

L'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = \text{ABS } 260 / \text{ABS } 280$ est compris entre 1.6 et 2 ($1.6 < R \leq 2$).

- Si : $R < 1.6$, il existe une contamination par des protéines d'où la nécessité d'une deuxième extraction.
- Si $R > 2$, il existe une contamination par les ARN.

2.4.5. Dosage des acides nucléiques (ADN)

La concentration de l'ADN est estimée par spectrophotométrie à 260 nm sachant que: 1 unité de ABS 260 nm = 50 µg/ ml d'ADN (250 µg / ml pour une solution d'ADN simple brin). On mesure donc à 260 nm et 280 nm la ABS d'une dilution au 1 /100ième de la solution à doser. On déduit la concentration de l'ADN grâce au calcul suivant:

$$[C] (\mu\text{g} / \text{ml}) = \text{Facteur de dilution} \times \text{ABS } 260 \text{ nm} \times 50\mu\text{g} / \text{ml}$$

$$\text{Facteur de dilution} = \text{vol total} / \text{vol d'ADN}$$

$$[C](\mu\text{g}/\mu\text{l}) = \frac{ABS}{\Sigma L} \cdot \frac{\text{vol tot}}{\text{vol d'ADN}}$$

Exemple de calcul de la concentration

Dilution d'ADN 1/100 (10 µl d'ADN + 990 µl H₂O)

$$\Sigma L = 20$$

$$\text{ABS } 260 = 0,09$$

$$\text{ABS } 280 = 0,053$$

$$[C] (\mu\text{g} / \text{ml}) = 0,09 \times 100 \times 50\mu\text{g} / \text{ml} = 450 \mu\text{g} / \text{ml}$$

$$[C](\mu\text{g}/\mu\text{l}) = \frac{0,09}{20} \cdot \frac{100}{10} = 0,45\mu\text{g} / \mu\text{l} = 450 \text{ ng} / \mu\text{l}$$

2.5. Génotypage de l'Apo E

Elle consiste à amplifier une partie de l'ADN contenant le gène ε. Puis de différencier les génotypes par digestion d'une enzyme de restriction spécifique.

La détermination du génotype a été effectuée en plusieurs étapes successives:

- la PCR (polymerase chaine reaction) et contrôle de PCR sur gel d'agarose
- la digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction Hha I.
- la séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur gel de polyacrylamide et distinction des différents génotypes par transillumination sous UV.

2.5.1. Amplification d'ADN par la PCR

2.5.1.1. Introduction

La Polymerase Chain Reaction (PCR) est une technique de biologie moléculaire. Cette réaction enzymatique conduit à l'amplification spécifique de plusieurs millions de fois d'une séquence nucléotidique précise que l'on désire étudier. Elle permet de repérer un fragment d'ADN ou de gènes précis même présents en quantité très faible dans un mélange puis de le multiplier rapidement. La PCR présente un intérêt majeur dans tous les domaines de la recherche fondamentale et médicale.

2.5.1.2. Principe de la PCR

La PCR permet l'amplification d'un segment d'ADN compris entre deux régions de séquences connues par un procédé d'extension d'amorce. Elle consiste à utiliser deux amorces oligonucléotidiques de synthèse de 20 à 25 nucléotides complémentaires des extrémités 3' des deux brins d'ADN encadrant la séquence à amplifier. Une de ces amorces est une copie du brin codant et l'autre, une copie du brin non codant. Sous l'action d'une enzyme (Taq polymérase), chaque amorce est allongée dans le sens 5'- 3' d'une séquence exactement complémentaire du brin recopié. A chaque étape de PCR.

Une réaction de PCR correspond à la succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes:

- Une étape de dénaturation des acides nucléiques.
- Une étape d'hybridation des amorces sur les séquences cibles.
- Une étape d'extension des amorces par l'ADN polymérase.

Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un tube qui sera soumis aux différentes températures correspondant à chaque étape. Ces cycles de température

sont réalisés automatiquement dans un thermocycleur. Ces trois étapes constituent un cycle d'amplification. L'amplification est exponentielle, après n cycles on doit obtenir 2^n copies.

2.5.1.3. Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR

Pour préparer le milieu réactionnel on multiplie la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu + un, c'est le tube témoin négatif dans lequel on met uniquement le mélange sans ADN.

L'ADN est amplifié par PCR avec deux amorces encadrant la région avec les deux codons polymorphes des acides aminés 112 et 158 de l'apoE. Les amorces utilisées pour l'étude du polymorphisme de l'apoE sont:

- OD 5'-ATG GCG CTG AGG CCG CGC TC-3' (20pb).
- OG 5'-AAC AAC TGA CCC CGG TGG CG-3' (20pb).

Condition d'amplification:

Pour un volume total de 75 μ l

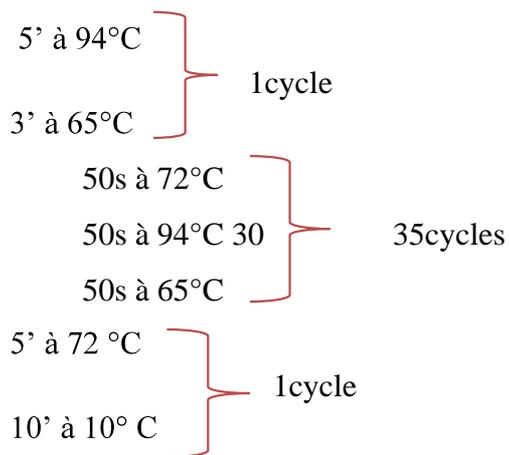
DNA.....2 μ L / à 250 μ g / μ L

REACTIF COMMUN (Mix) :

- Tampon de Taq 10X7 μ l
- DMSO7 μ l
- Mix d NTP 25mM (au 1/10)6 μ l (200uM)
- Taq polymérase 2,5 μ l.....0,5 μ l
- Mg CL2 50mM3 μ l
- OG sol. mère 0,93mM1,2 μ l (0,6uM)
- OD sol .mère 1,1mM1 μ l (0,6 μ M)
- H 20 q.s.p 65 μ l47,3 μ l

Tag polymérase doit être distribué très rapidement car elle doit rester le plus possible à 20°C.

Cycles PCR



2.5.2. Contrôle de La taille des fragments amplifiés

La taille des fragments amplifiés a été contrôlée par électrophorèse sur un d'agarose à 1,5% additionné de 30 µl de bromure d'éthidium (BET) ce dernier est un, réactif intercalant qui se fixe entre les bases nucléiques à l'intérieur de la double hélice et qui rendra les ADN fluorescents par exposition à (UV) (le gel est ensuite coulé sur plaque d'une cuve horizontale).

10 à 15 µl de la solution d'ADN amplifié + une goutte de bleu de bromophénol (BBP).ont été déposés dans chaque puits d'un gel d'agarose à 1,5% soumis à une migration sous un courant de 90 volts pendant 1 h. Cette analyse permet, d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN survenue au cours de la PCR.

Plus le fragment a une taille élevée, moins la migration électrophorétique par rapport au puits d'inclusion sera importante. A l'opposé, les fragments de petites tailles auront une distance de migration plus élevée.

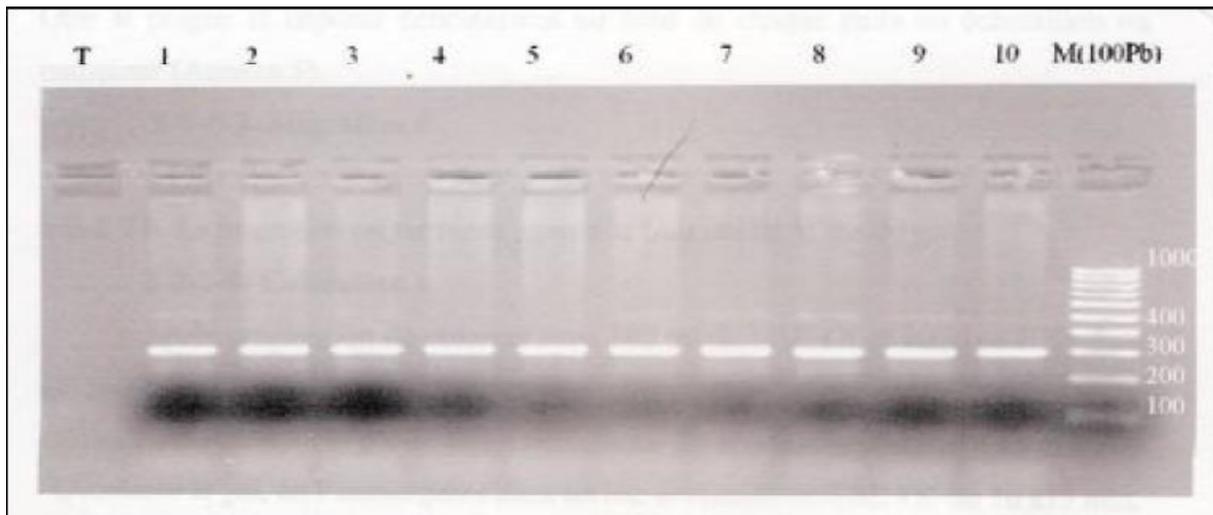


Figure 8: Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1,5% des fragments amplifiés (292pb) par PCR du gène Apo E

2.5.3. La digestion du produit de PCR

Les trois allèles communs de l'apolipoprotéine E diffèrent par la nature des acides aminés en position 112, et 158 : Les codons variables des locus 112 et 158 sont TGC quand ils codent pour une cystéine ou CGC quand il code pour une arginine. L'amplification par PCR du fragment de 292pb encadrant ces positions, suivie d'une digestion enzymatique par HhaI qui a pour site de coupure les séquences GCG/C. Son action n'est possible que lorsque des arginines figurent en 112 ou 158 parce que celles-ci sont ici codées par la séquence CGC et que ces deux locus sont précédés tous les deux d'un codon se termine par G.

Ils existent par ailleurs sept sites constants de clivages par HhaI dans le segment amplifié. La coupure par l'enzyme génère donc des fragments constants et des fragments de taille variable en paires de bases caractéristiques selon les allèles (fig 9).

Chacun des isoformes de l'Apo E se distingue par une combinaison unique de polymorphisme des longueurs de fragments de restriction (RFLP) issus du clivage par HhaI et Possédant différentes tailles (fig 9).

Chaque allèle a un site de coupure spécifique. L'allèle e2 (Cys112, Cys158) est caractérisé par l'absence de codon CGC de l'arginine 158, par conséquent la coupure donne un fragment de 83 pb spécifique de cet allèle et un fragment 91 pb encadrant le site 112.

L'allèle e4 (Arg112, Arg158), se distingue par la présence du codon CGC en position 158, par conséquent, l'enzyme agit à ce niveau et libère deux segments d'ADN 48 et 35 pb, un fragment 72 pb issu de clivage à la position 112.

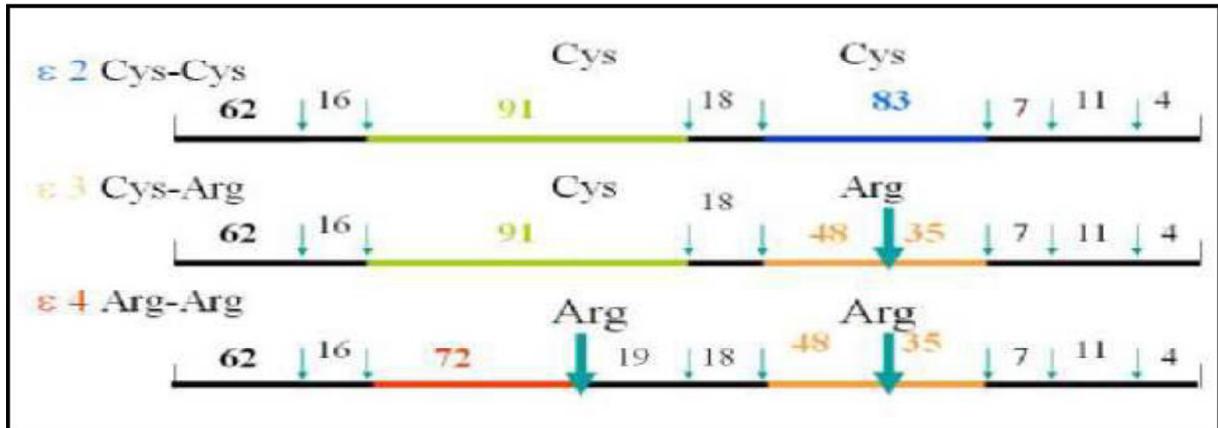


Figure 9 : Digestion par Hha I des trois allèles.

2.5.3.1. Clivage des produits de PCR

Les manipulations se font sur la glace :

- ✓ Pour un volume final de 25 µl on prépare le mixte pour (n+1) tubes:
 - Tampon2.5 µl
 - Hha I (10 unités) ...1 µl
 - H2O qsp10ul..... 6.5 µl
- } X (n+1)
- ✓ Répartition de 10 µl de mixte dans chaque tube.
 - ✓ Ajouter 15 µl de chaque produit de PCR.
 - ✓ Homogénéiser le contenu des tubes dans la centrifugeuse de paille.
 - ✓ Placer les tubes au bain marie à 37°C pendant une nuit.
 - ✓ Après Incubation à 37°C pendant une nuit le produit de digestion est concentré au speed-vac pendant 15 à 20 min.

2.5.3.2. Electrophorèse des fragments de restriction

Les produits de restriction sont soumis à une migration sur gel d'acrylamide à 10% dans un tampon TBE 1X à 250 Volts.

Préparation d'un gel d'acrylamide 10%

Pour un gel de 70 ml :

- Acryl 30%23,8 ml
- TBE 10X..... 7 ml
- H2O38,5 ml

Pendant que les réactifs se remettent à température ambiante

- . Préparer le persulfate d'ammonium à 10% (0,01g dans 100 µl H2O)
- . Monter le support de gel : maintenir deux plaques de verre bien serrées verticalement et séparées par un joint de 2 mm d'épaisseur et placer de chaque côté des pinces fixatrices.
- . Addition de persulfate d'ammonium et de temed (agents polymérisants), juste avant de couler le gel (risque de polymérisation dans le bécher).
 - ✓ 50 µl de persulfate/10ml (350 µl)
 - ✓ 10 µl de temed /10ml (70 µl)
- Homogénéiser, couler immédiatement en versant le contenu de bêche entre les plaques de verre en ayant soin de ne pas faire de bulle et placer le peigne afin de former les puits ,laisser polymériser à température ambiante 1h à 1h 30min.

Dépôts des échantillons

Quand le gel est polymérisé, on plonge le système (gel + électrodes) dans la cuve verticale contenant un volume (450 ml) du tampon Tris Borate EDTA (TBE 1X), on ôte le peigne et on dépose délicatement au fond de chaque puits un échantillon ou marqueur.

- 15 ml de produits de digestion + 2 à 3 ml de Bleu d'acrylamide.
- 2 ml de marqueur (PM 20pb LADDER ref.018206) + 2 à 3 ml de Bleu d'acrylamide

La taille des bandes a été identifiée par l'utilisation d'un marqueur de taille moléculaire 100pb (biolabs).

Migration

On met sous tension le générateur à un voltage élevé soit 250 volts durant 1h 30 min à 2 h. La migration est terminée, quand le bleu atteint le bas du gel.

Coloration

Après préparation du colorant avec 100 ml de TBE 1X et 10 ml de BET dans un bac.

- Glisser délicatement le gel de façon horizontale dans le bac pendant 10 à 15 min.
- Décolorer le gel, en l'immergeant dans un bac contenant du TBE 1X de 10 à 15 min.
- Visualiser le gel aux UV et prendre une photo.

Révélation du profil électrophorétique

Le BET fluorescent aux UV s'est fixé sur l'ADN (cette molécule s'intercale entre les bases de la molécule d'ADN) et va permettre de visualiser les fragments de restriction dans le gel placé sur la table à UV.

Les petits fragments de 35 pb sont très difficiles à visualiser sur le gel sous UV. Quant à ceux de 19, 18, 16, 11,7 et 4 pb, sont élués dans le tampon lors de la migration électrophorétique.

Résultats

Chaque fragment d'ADN est visible sous forme d'une bande dont la position sur le gel d'acrylamide dépend de sa taille, une combinaison de bandes étant caractéristique de chaque génotype (Tableau 3, fig 10).

Tableau 3 : Tailles des fragments de restriction en paire de base (Pb) correspondants aux six génotypes possibles (3 homozygotes et 3 hétérozygotes).

E3 /E3	E3/E2	E4/E2	E2/E2	E3/E4	E4/E4
91	91	91	91	91	91
-	83	83	83	-	-
-	-	72	-	72	72
62	62	62	62	62	62
48	48	48	-	48	48
35	35	35	-	35	35

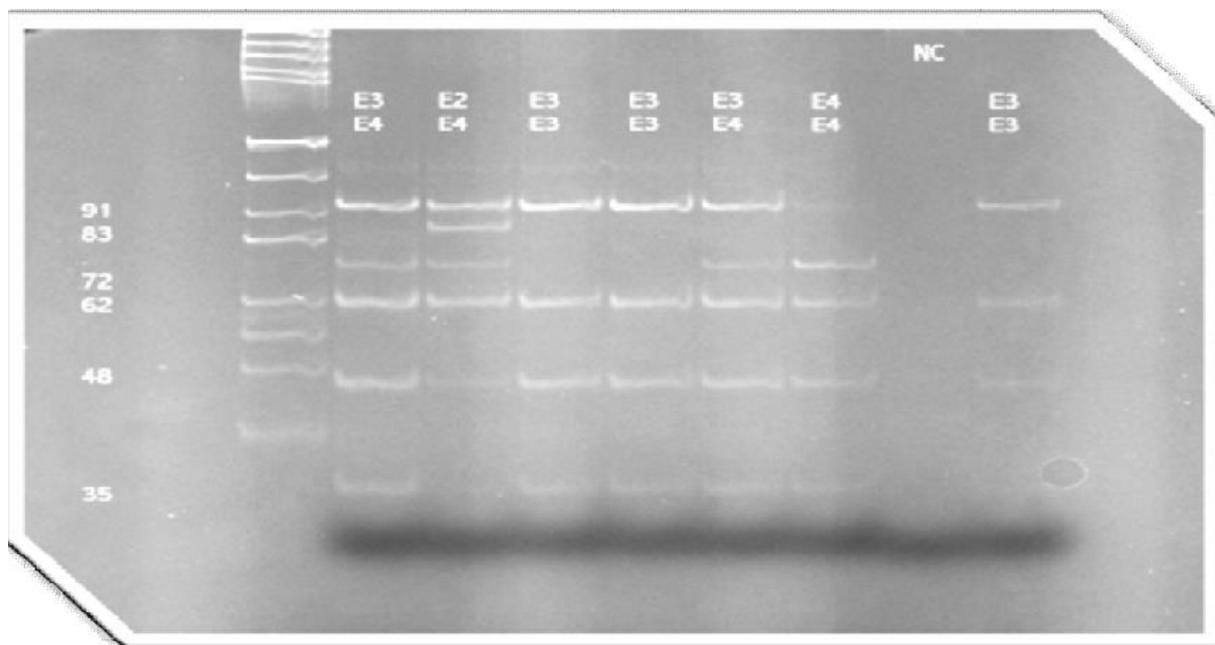


Figure 10: Profil d'électrophorèse sur gel d'acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI présentant différents génotypes d'Apo E.

2.6. Calcul de l'Odds ratio

Pour calculer l'odds ratio nous avons établi un tableau de contingence : Il est présenté sous forme de tableau croisé 2×2. Le statut malade/non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne.

	malades	témions	
Exposée (E+)	a	b	a + b
Non exposés (E-)	c	d	c + d
	a + c	b + d	total

$$\text{OR} = a * d / b * c$$

L'Odds ratio représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population (prévalence <5%). Dans ce cas l'Odds ratio peut être une bonne approximation du risque relatif que donnerait une enquête de cohorte pour la population.

2.7. Les intervalles de confiance

Les intervalles de confiance : ont été calculés par la méthode de Cornfield. L'approche estimative de l'analyse statistique vise à quantifier l'effet étudié et le degré de certitude de cette estimation grâce à un intervalle de confiance, qui identifie généralement une fourchette de valeurs situées de part et d'autre de l'estimation et l'on peut être sûr à 95% de trouver la valeur réelle. L'intervalle de confiance pour les Odds ratio ont été calculés à partir de l'approximation de Fleiss.

2.8. Choix de la "p value "

Le seuil critique a priori est de 0,05 (risque α). Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative pour apparemment arbitraire est nécessaire pour l'homogénéité de la présentation des résultats. L'usage a retenu de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001) qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision.



Résultats et discussion

1. Répartition des sujets témoins selon les groupes d'âges et le sexe

Les sujets témoins sont au nombre de 121 répartis entre : 50 du sexe féminin soit 41,3% et 71 du sexe masculin soit 58,7%.

Ils sont classés en tranches d'âge de 10 ans sauf pour les plus de 60 ans qui sont classés en une seule tranche.

Tableau 4 : répartition des sujets témoins selon les groupes d'âges et le sexe.

	Femmes		Hommes		Total	
	n	%	n	%	n	%
20-29	5	10	19	26,8	24	19,8
30-39	17	34	15	21,1	32	26,4
40-49	8	16	15	21,1	23	19
50-59	14	28	7	9,9	21	17,4
> 60	6	12	15	21,1	21	17,4
Total	50	100	71	100	121	100

2. Répartition des sujets malades selon les groupes d'âges et le sexe

Les sujets malades sont au nombre de 49 répartis entre : 25 du sexe féminin soit 51% et 24 du sexe masculin soit 49%. Ils sont classés aussi en tranches d'âge de 10 ans sauf pour les plus de 60 ans qui sont classés en une seule tranche.

La répartition des malades varie selon le sexe. Elle est légèrement élevée chez les femmes par rapport aux hommes (soit 51% contre 49 %). Est c'est ce que concorde avec les résultats du dr. ABADI réalisées à Constantine (90).

Néanmoins, Les données de la littérature montre qu'il s'agit d'une affection à prédominance masculine et que l'incidence est 2 fois plus élevée chez l'homme que chez la femme (91).

En ce qui concerne la répartition des patients selon les tranches d'âge, le figure 11 montre que la fréquence de l'AVC augment proportionnellement avec l'âge comme le montre les résultats de notre étude (4,1% - 4,1% -18,4% - 14,3 % - 59,2 %) respectivement pour les tranches d'âges (20-29 ans, 30-39 ans, 40-49 ans, 50-59 ans et plus de 60 ans).

L'augmentation a été plus marquée dans la population âgée de ≥ 60 ans avec une incidence plus élevée était observée chez les femmes que chez les hommes. Cette augmentation est retrouvée dans toutes les études, dont la plupart montrent que l'incidence de l'AVC double pratiquement par tranche d'âge de 10 ans après 55 ans (39).

Tableau 5 : répartition des sujets malades selon l'âge et le sexe.

	Femmes		Hommes		Total	
	n	%	n	%	n	%
20-29	2	8	/	/	2	4,1
30-39	1	4	1	4,2	2	4,1
40-49	3	12	4	16,7	7	14,3
50-59	3	12	6	25	9	18,4
> 60	16	64	13	54,2	29	59,2
Total	25	100	24	100	49	100

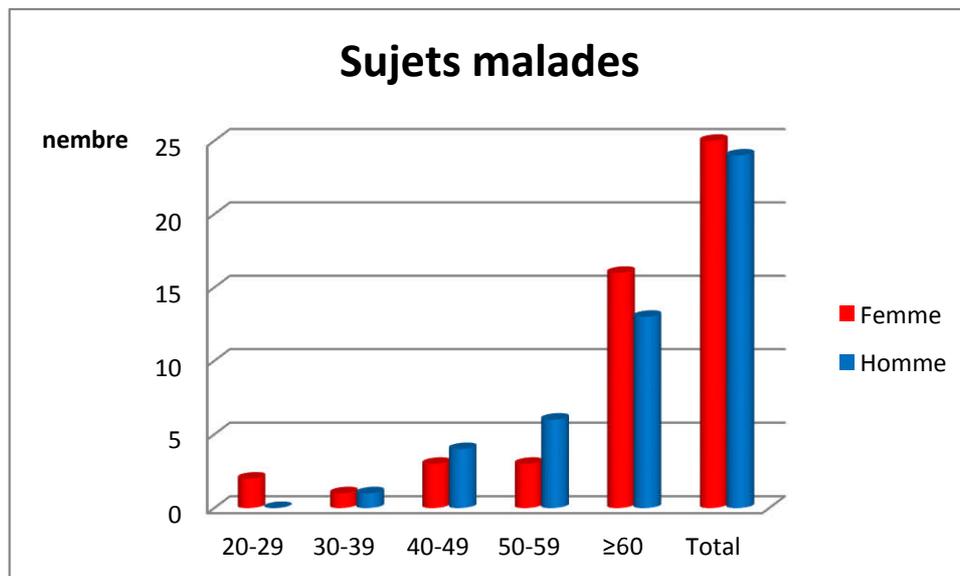


Figure 11 : Répartition des sujets présentant AVC selon l'âge et de sexe.

3. Etude des Variations lipidiques dans les malades d'AVC

➤ Le cholestérol

En comparant les moyennes de cholestérol, on remarque qu'il n'y a pas de différence significative entre le cholestérol des témoins et le cholestérol des malades dans les deux sexes.

Nos résultats s'accordent avec L'étude de EUROSTROKE rapporte que le taux du cholestérol total ne constitue pas un facteur de risque dans les AVC (92). L'analyse de Copenhagen Stroke Study a montré que la majorité des AVC sont observés chez les patients ayant présenté un taux bas de cholestérol (93). Ansell BJ en USA a conclu que le niveau du cholestérol total est un facteur prédictif faible des AVC (94).

La liaison entre le cholestérol et les accidents cérébrovasculaires était presque insignifiante dans Shibata Study (95).

Tableau 6 : Comparaison de Moyenne de cholestérol dans les AVC et les témoins selon le sexe.

	Témoins	AVC
Homme	1,67±0.37	1,86±0,47
Femme	1,82±0.42	1,89±0,36

Moyenne ±Ecart type

➤ Les triglycérides

Nos résultats montre une augmentation du taux de TG chez les femmes AVC par rapport aux témoins, on remarque qu'il y a une différence significative ($p < 0,01$) chez Les femmes alors qu'elle est absente chez les hommes.

Nombreuses études ont montré que les concentrations les plus basses des TG sont associées avec les AVC les plus sévères (96). Par ailleurs, une hypertriglycémie est retrouvée chez les patients souffrant d'AVC ischémique (97) et apparaît inversement associée (protectrice) à la survenue d'AVC hémorragique (98).

L'augmentation du risque d'AVC ischémique avec le taux des TG a été signalée par de nombreuses études, mais ce risque est modéré dans certaines études et pour d'autres présente seulement chez la femme et limité aux accidents liés à l'athérosclérose. Ce risque apparaît en analyse univariée, cependant son rôle disparaît souvent en analyse multivariée par introduction d'autres facteurs de risque de la maladie athéromateuse et en particulier les HDL-C et les LDL-C qui diminuent cette relation (99).

Tableau 7 : Comparaison de Moyenne des triglycérides dans les AVC et les témoins selon le sexe.

	Témoins	AVC
Homme	1,08± 0,46	1,25± 0,55
Femme	1,05± 0,56	1,67± 1,06 **

Moyennes ± Ecart type - ** p<0,01

➤ **HDL-Cholestérol**

On remarque, qu'il existe des différences significatives des moyennes de l'HDL dans les AVC par comparaison à la population témoin chez les deux sexes. Cette différence est plus prononcée chez la femme (p< 0,01) et Elle est moins significative chez l'homme (p< 0,05).

L'association négative entre le taux d'HDL-C et la survenue d'AVC établie dans notre étude, a été définie par plusieurs autres études. Pub Med littérature de recherche dans l'épidémiologie des AVC rapporte 18 études, 8 sur 10 études prospectives de cohorte (n=238739) et 3 sur 8 études cas-témoins (n=3604 cas, 8220 témoins) (100).

En effet, l'association inverse des AVC avec l'HDL-C et son rôle protecteur ont été signalés par plusieurs autres études (101).

Tableau 8 : Comparaison de Moyenne de HDL-C dans les AVC et les témoins selon le sexe.

	Témoins	AVC
Homme	0,40± 0,09	0,33± 0,12 *
Femme	0,45± 0,09	0,35± 0,16 **

Moyennes ± Ecart type - *p< 0,05, ** p<0,01

➤ **LDL-Cholestérol**

Le tableau montre que la différence des moyennes des LDL est significative entre la population malade et la population témoin chez les hommes (p<0,05), Par contre cette différence est non significative chez les femmes.

Plusieurs études ont rapporté que l’association des LDL-C avec les accidents cérébrovasculaires est non significative (102).

L’équipe de Welty (103) a montré que la diminution de la concentration du cholestérol LDL est associée à la diminution de la concentration des facteurs de risque hémostatiques ce qui pourrait protéger des complications thrombotiques de l’athérosclérose.

L’étude du rôle du profil lipidique dans le déterminisme du risque des AVC ischémiques dans une étude cas-témoins menée par Denti L et coll après l’ajustement de tous les facteurs de risque a révélé que les lipides contribuent que quelque peu dans la survenue des AVC avec un rôle plus dominant des HDL-C que les LDL-C (104).

Tableau 9 : Comparaison de Moyenne de LDL-C dans les AVC et les témoins selon le sexe

	Témoins	AVC
Homme	1,06± 0,32	1,28±0,39 *
Femme	1,13± 0,31	1,22± 0,28

Moyennes ± Ecart type - *p< 0,05

4. Prévalence des différents facteurs de risque dans les témoins et dans les AVC

Parmi les facteurs de risque, nous avons pris en considération les plus connus et les plus quantifiables à savoir l'HTA, le tabagisme, le diabète et l'obésité.

Le facteur le plus important est l'hypertension artérielle avec un pourcentage de 57,3% chez l'ensemble des malades et suivi par le DNID 38,5%, puis l'obésité avec 28,02% et en fin le tabac avec un pourcentage de 22,9%.

Tableau 10 : Prévalence des différents facteurs de risque dans la population témoins et dans l'AVC.

		Témoin			AVC		
		Hommes	Femmes	Total	Hommes	Femmes	Total
HTA	14/9	/	6,3%	2,5%	66,6%	48%	57,3%
DNID	$\geq 1,26$	/		/	25%	52%	38,5%
Tabac	$\geq 1g$	40,8%		24,4%	45,8%	/	22,9%
IMC	≥ 29	/		0,8%	33,3%	56%	28,2%

➤ L'hypertension artérielle

La prévalence de l'hypertension artérielle ($>14/9$) est de l'ordre de 2,5% dans la population témoin répartis en (6,3%) dans le sexe féminin et 0% dans le sexe masculin.

D'autre part l'analyse par sexe des sujets hypertendus dans la population malade montre que la variance est considérable chez les deux sexes, elle représente 57,3% répartis en 48% dans le sexe féminin et 66,6% dans le sexe masculin. Cependant, elle est plus prononcée chez l'homme que chez la femme.

Les résultats que nous avons obtenu s'accordent avec les données de la littérature, qui montre que l'HTA est le facteur de risque modifiable le plus représenté (105).

La prévalence de l'HTA est différente d'une étude à une autre, cependant toutes les études s'accordent pour faire de l'HTA, le facteur de risque le plus puissant des accidents vasculaires cérébraux dans les deux sexes et quelque soit l'âge (106,107).

L'HTA apparaît comme un facteur accélérant l'athérosclérose, et l'artériosclérose favorisant les occlusions, les embolies des grosses artères, et les infarctus lacunaires. Elle favorise aussi les microanévrismes artériolaires, à l'origine des hémorragies intracérébrales (108).

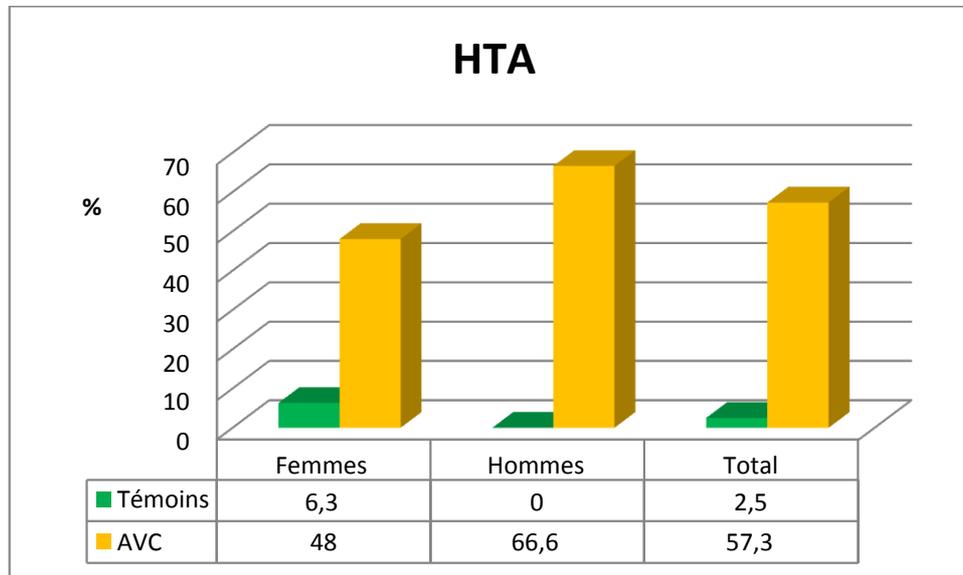


Figure 12 : Comparaison de la fréquence de l'HTA entre les témoins et AVC selon le sexe.

➤ Le tabagisme

Vu le nombre insignifiant des femmes qui fument la proportion des fumeurs de plus de 1 cigarette/jour parmi les hommes est de 40,8% de l'ensemble du sexe masculin dans la population générale.

Les malades fumant plus de 1 cigarettes/jour représentent 45,8% de l'ensemble de la population malade. Sachant qu'ils sont exclusivement de sexe masculin. Pourcentage supérieur à celui retrouvé dans la population générale et qui est de 40,8% (fig13).

Après une méta-analyse, l'équipe de Shinton (109) a conclu une relation entre la cigarette et les accidents vasculaires cérébraux.

Le rôle favorisant du tabac dans la survenue des AVC a été démontré également pour le tabagisme passif dans une méta-analyse très récente réalisée par Peter.N incluant 16 études (110).

En effet, le tabac agit sur tous les processus responsables de l'athérogénèse, des accidents thrombotiques et des troubles du rythme cardiaque (111).

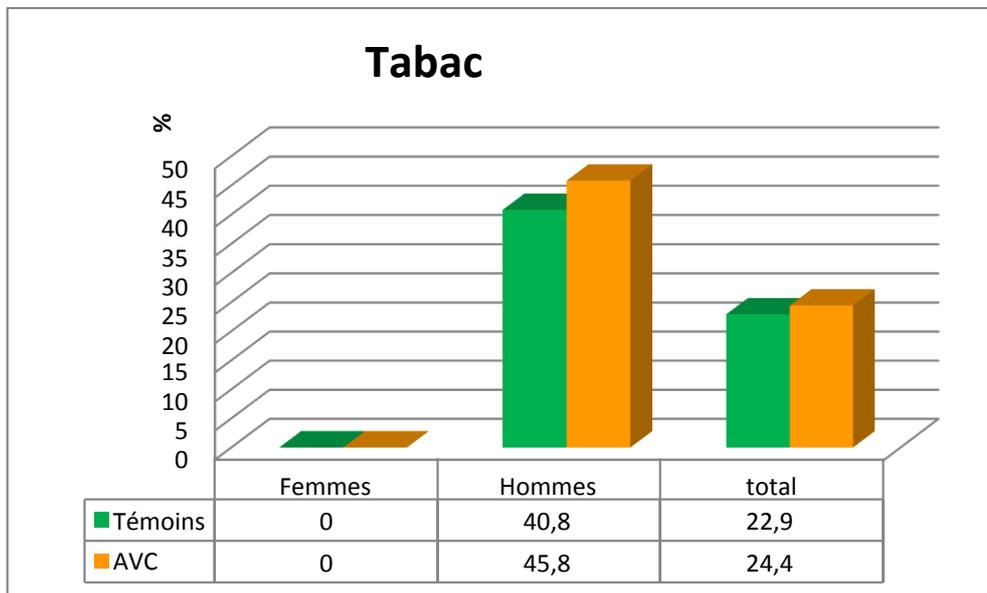


Figure 13 : Comparaison de la fréquence de tabac entre les témoins et AVC selon le sexe.

➤ **Le diabète**

La prévalence de diabète (DNID) est de 38.5%. Elle est plus élevée chez la femme que chez l'homme est représenté le double 52% pour la femme contre 25% pour l'homme.

Le diabète est un facteur de risque puissant (112) et un prédicteur important des accidents cérébrovasculaires (113).

L'étude de la prévalence des AVC au Taiwan chez les diabétiques dans une large étude (16 994 DNID) menée par Tseng C.H a permis de conclure que les patients diabétiques ont un risque d'AVC plus supérieur que celui de la population générale. La prévalence était de 7.5 % (114).

Au cours du diabète, les anomalies lipidiques sont fréquentes et prononcées et représentent un facteur important en cause de l'augmentation du risque d'accidents ischémiques (115).

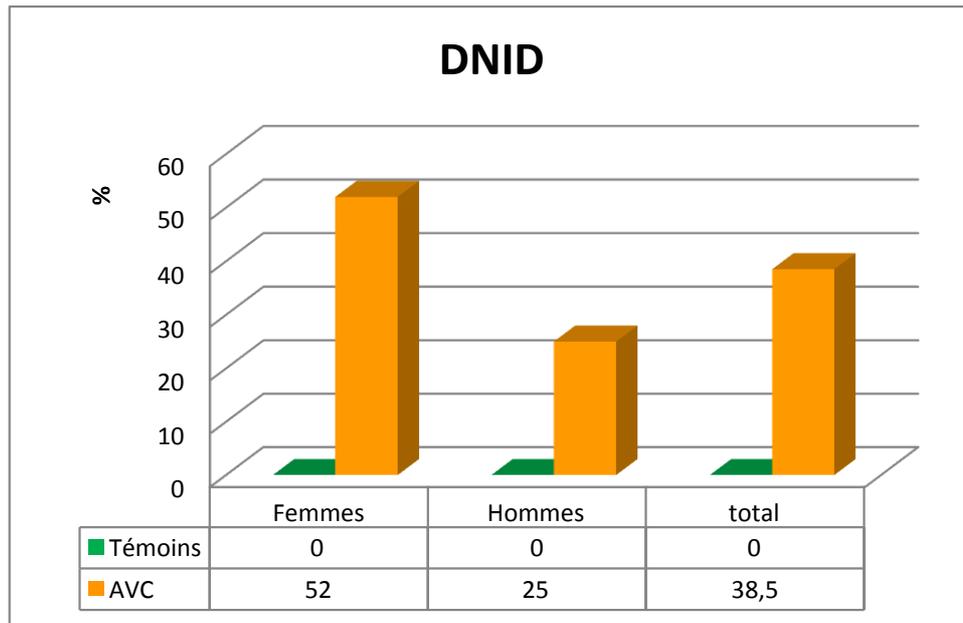


Figure 14 : Comparaison de la fréquence de DNID entre les témoins et AVC selon le sexe.

➤ **L'obésité**

La prévalence de l'obésité dans les AVC est de 28,2% pour l'ensemble des deux sexes contre 0,8% dans la population témoin, elle est surtout plus importante chez les femmes (56%) que chez les hommes (33,3%).

Les résultats que nous avons obtenus sont concordants avec certaines données bibliographiques et discordantes avec d'autres. En effet, l'association de ce paramètre bien que établie par diverses études, reste controversée en particulier sa relation avec le sexe féminin et les types d'AVC.

L'impact de l'obésité sur les AVC chez les femmes est moins clair, Women's Health Study a observé que l'IMC est un facteur de risque puissant pour l'ensemble des AVC et les AVC ischémiques mais pas pour les AVC hémorragiques, et que l'association est médiée par l'hypertension artérielle, le diabète, et l'élévation du cholestérol (116). Une telle conclusion a été également rapportée par Rexrode K.M dans son étude prospective de cohorte de femmes participant dans Nurses' Health Study (117).

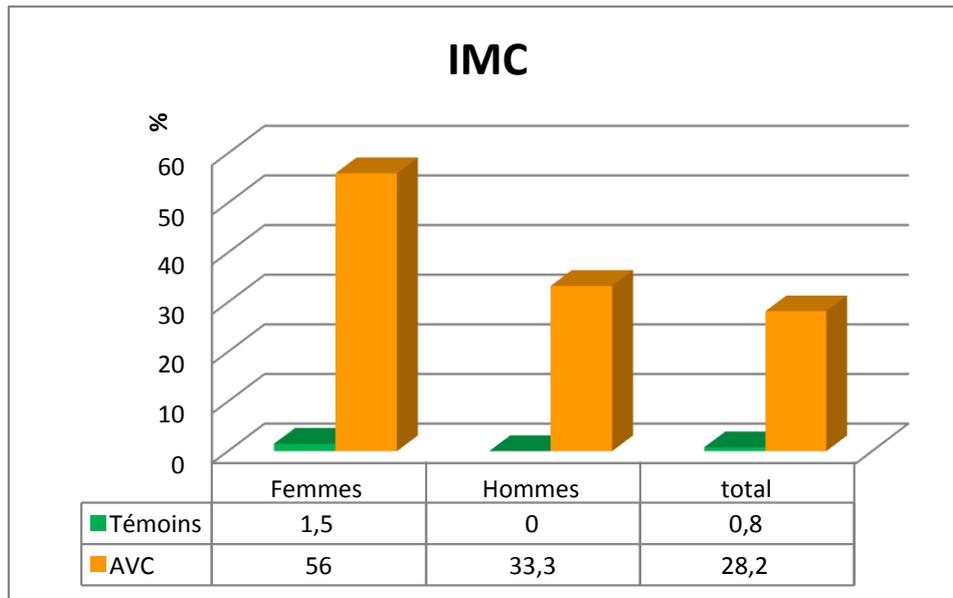


Figure 15 : Comparaison de la fréquence d’IMC entre les témoins et AVC selon le sexe.

5. Fréquences génotypiques et alléliques de l’apo E

5.1. Fréquences génotypiques dans la population générale

Le tableau 11 et figure 16. Montrent les fréquences génotypiques dans la population générale ; le génotype ($\epsilon 3/\epsilon 3$) est le plus fréquent il représente 76,4% suivie par $\epsilon 3/\epsilon 4$ (13,9%), $\epsilon 2/\epsilon 3$ (8,3%) respectivement. et moins fréquent pour les génotypes $\epsilon 2/\epsilon 2$ (1,4%). Le génotype ($\epsilon 4/\epsilon 4$) et ($\epsilon 2/\epsilon 4$) dans nos résultats ne sont pas représentés chez les populations générales par contre elles sont présents dans d’autres études constantinoises.

La prédominance de le génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$ retrouvée dans notre population, est très compatible avec toutes les études effectuées à travers le monde : exemple ; la prévalence du génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$ est de 71% en Arabie Saoudite (118), 69% au Liban (119), 65,2% en Hongrie (120), 69,84% au Portugal (121), 65,3% en Mongolie (122), 83,1% au Mexique (123), 71.2% en Tunisie (124), 58,7 % en Finlande (125), 72,1% au Japon (126), 88,2% en Grèce (127).

Tableau 11 : Fréquences génotypiques de l’apo E dans la population générale.

	$\epsilon 3/\epsilon 3$		$\epsilon 3/\epsilon 4$		$\epsilon 2/\epsilon 3$		$\epsilon 2/\epsilon 4$		$\epsilon 4/\epsilon 4$		$\epsilon 2/\epsilon 2$		total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Témoins	91	76,4	17	13,9	9	8,3	/	0	/	0	2	1,4	119	100

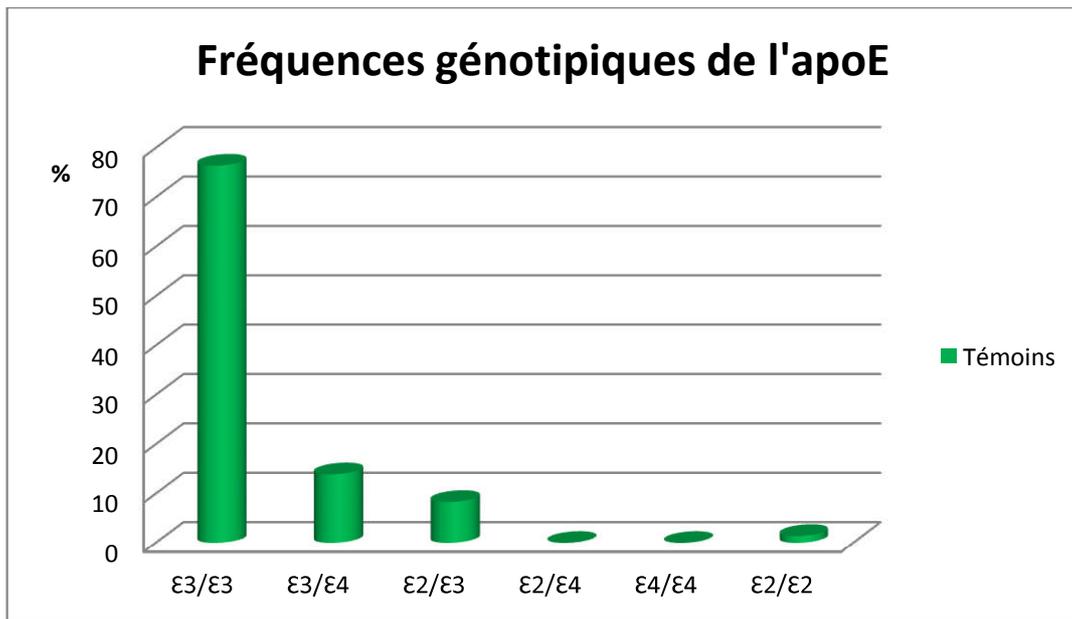


Figure 16 : Fréquences génotypiques de l'apoE dans la population générale.

5.2. Fréquences alléliques de l'apoE dans la population générale

L'étude génétique du polymorphisme du gène de l'apo E a montré que l'allèle ε3 est le plus fréquent dans notre population représentant ainsi 87,4%, suivi de loin par ε4 (7,1%) et ε2 (5%) (Tab 12, fig 17).

Ce résultat est compatible avec une étude sur la population constantinoise qui montre la prédominance de l'allèle ε3 réalisé par khodja et al (128).

Cette tendance comparée aux données de la littérature, montre qu'elle est semblable aux résultats présentés par des études, Afrique du Sud , Finlande , Suède , Danemark, Maroc, Italie , Kuwait, Taiwan, Iran (tabl 13).

Tableau 12 : Fréquences alléliques de l'apoE dans la population générale.

	ε2		ε3		ε4	
	n	%	n	%	n	%
Témoins	13	5,5	208	87,4	17	7,1

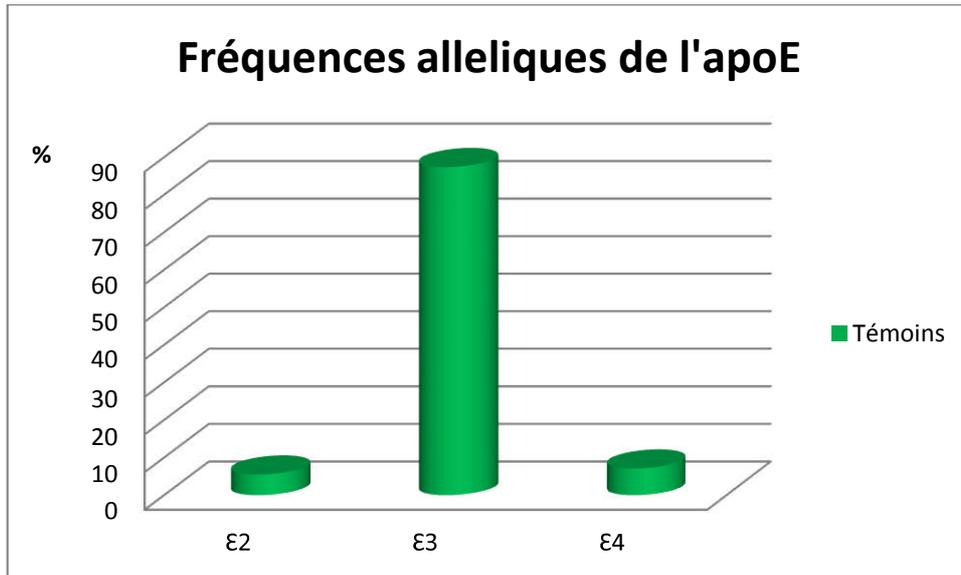


Figure 17 : Fréquences alléliques de l'apoE dans la population générale.

Tableau 13 : Fréquences alléliques de la population constantinoise comparées à d'autres groupes ethniques.

Population	ε2	ε3	ε4
Afrique du Sud (129)	19%	51.8%	29.3%
Finlande (130)	4.1%	73.3%	22.7%
Suède (131)	7.8%	71.9%	20.3%
Danemark (132)	5.8%	74.1%	17.4%
Maroc (133)	55%	84%	11%
Constantine	5.5%	87.4%	7.1%
Pologne (134)	7%	83.9%	10.6%
Italie (135)	5.1%	82.9%	10.1%
Kuwait (136)	8.4%	88.4%	6.5%
Taiwan (137)	6.3%	85.2%	6.4%
Iran (138)		88.6%	5.1%

5.3. Fréquences génotypiques de l'apoE dans la population générale et dans les AVC

La distribution des fréquences génotypiques de ce gène dans l'AVC présente le même ordre décroissant que celui des témoins, mais avec des fréquences différentes. Le génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$ le plus fréquent (61,2%), suivi des génotypes $\epsilon 3/\epsilon 4$ (34,7%) et $\epsilon 2/\epsilon 3$ (4,1%) (Tabl 14).

On constate que la prévalence des génotypes $\epsilon 3/\epsilon 3$ et $\epsilon 2/\epsilon 3$ était plus élevée dans les témoins que dans les cas (76,4% vs 61,2%) et (8,3% vs 4,1%) respectivement; Tandis que le génotype $\epsilon 3/\epsilon 4$ est plus fréquent chez les sujets AVC (34,7%) que dans la population générale, il est augmenté de 20,8 % par rapport à celui des témoins (13,9%) (fig 18).

Alors que dans les deux groupes on n'a pas trouvé des porteurs du génotype $\epsilon 2/\epsilon 4$ et $\epsilon 4/\epsilon 4$; cependant Les individus porteurs du génotype $\epsilon 2/\epsilon 2$ sont rares dans la population générale alors qu'ils sont absents dans les AVC.

L'association entre le polymorphisme de l'apo E et l'AVC était absente dans de nombreuses études. Le pourcentage des sujets porteurs de l'allèle $\epsilon 4$, ou du génotype $\epsilon 3/\epsilon 4$ ayant présenté des AVC était similaire avec celui des témoins dans certaines études, et significativement inférieur dans d'autres (139, 140).

Tableau 14 : Fréquences génotypiques de l'ApoE dans la population générale et dans les AVC

	$\epsilon 3/\epsilon 3$		$\epsilon 3/\epsilon 4$		$\epsilon 2/\epsilon 3$		$\epsilon 2/\epsilon 4$		$\epsilon 4/\epsilon 4$		$\epsilon 2/\epsilon 2$		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Témoins	91	76,4	17	13,9	9	8,3	/	/	/	/	2	1,4	119	100
AVC	30	61,2	17	34,7	2	4,1	/	/	/	/	/	/	49	100

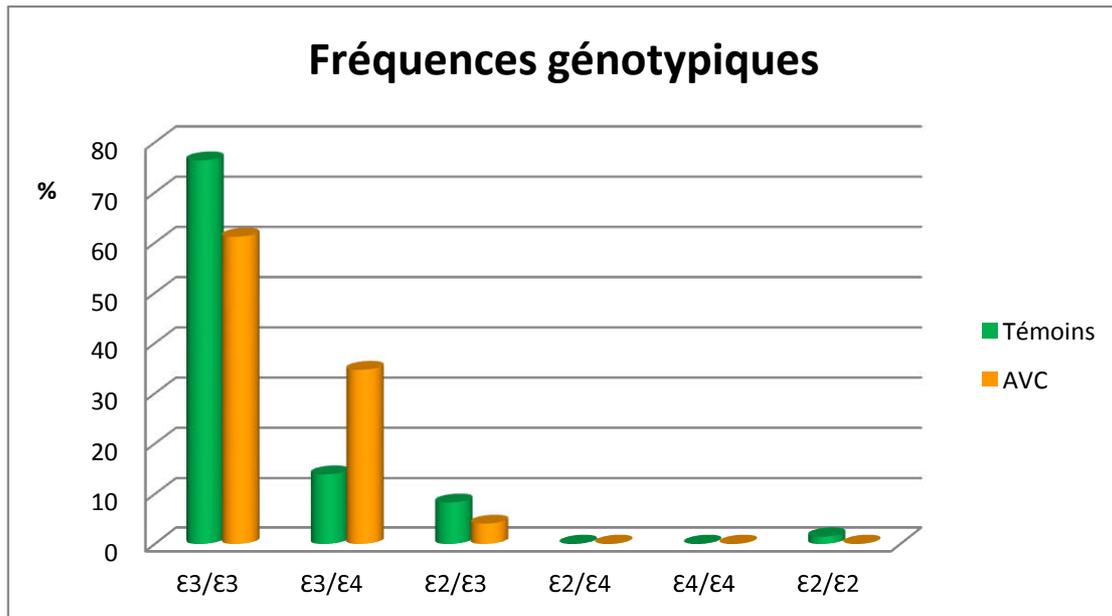


Figure 18 : Fréquences génotypiques de l'ApoE dans la population générale et dans les AVC.

5.4. Fréquences alléliques de l'apo E dans la population générale et dans les AVC

Le tableau 15 et la figure 19. montrent Les fréquences alléliques dans les AVC qui sont dans le même ordre décroissant que les témoins, avec une différence dans la diminution de l'allèle ε2 et l'allèle ε3 par rapport aux témoins (5,5 % vs 2,4% et 87,4% vs 80,6%) respectivement, la fréquence de l'allèle ε4 (17,7 %) est de deux fois plus élevé dans le groupe malade que dans le groupe témoins (7,1 %), présentant une variation de 10,7%. Son augmentation est le résultat d'une baisse de la fréquence alléliques ε2 et ε3 dans le groupe AVC.

Selon les résultats obtenus (fig 19), on peut observer que le génotype ε3/ε4 est plus fréquent chez les malades atteints d'AVC, son pourcentage est augmenté de 20,8%.

Les résultats que nous avons obtenus, nous laissent croire l'existence probablement d'une liaison entre la présence de l'allèle ε4 et les accidents cérébrovasculaires.

La contribution du polymorphisme du gène de l'apo E dans les accidents cérébrovasculaires était importante dans une étude Bengale. Le risque est 3 fois supérieur chez les individus porteurs de ε4, ou de génotype ε3/ε4 par comparaison au génotype ε3/ε3 (141).

Une étude finlandaise menée sur 1067 sujets suivis pendant 3 ans a montré que $\epsilon 4$ ne constitue pas un facteur de risque important dans la survenue des accidents cérébrovasculaires. Dans laquelle, l'incidence des AVC était de 3,8% chez les sujets non porteurs de l'allèle $\epsilon 4$, 2,7% chez les sujets avec un seul allèle $\epsilon 4$ et 0 % chez ceux porteurs de deux copies de $\epsilon 4$ (142).

No résultats laissent à penser que l'allèle $\epsilon 2$ exerce peut être un effet protecteur vis-à-vis de la survenue d'AVC.

Tableau 15 : Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population générale et dans les AVC

	$\epsilon 2$		$\epsilon 3$		$\epsilon 4$	
	n	%	n	%	n	%
Témoins	13	5,5	208	87,4	17	7,1
AVC	2	2,04	79	80,9	17	17,3

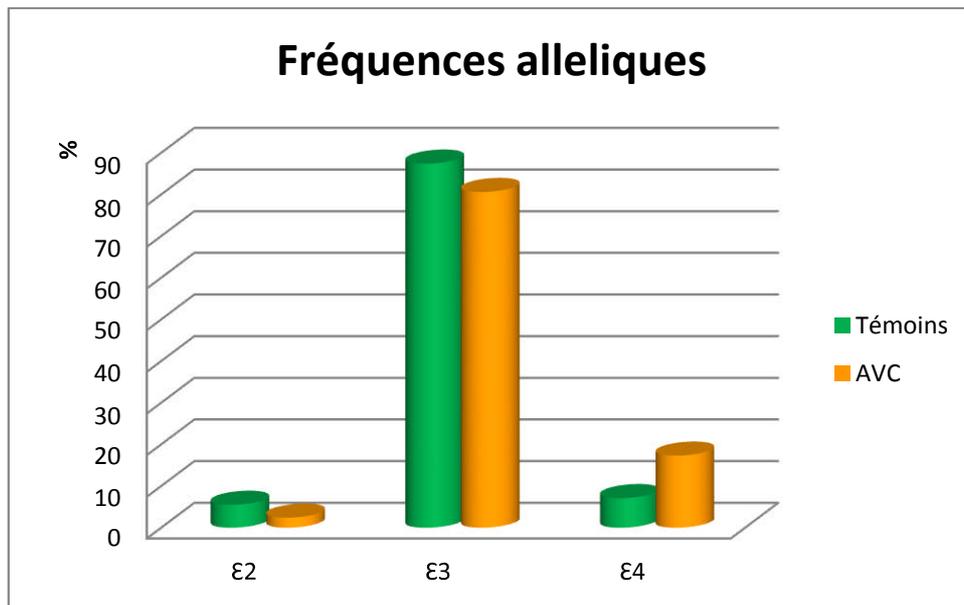


Figure 19 : Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population générale et dans les AVC.

6. Influence du polymorphisme sur les paramètres lipidiques

6.1. Génotype et paramètres lipidiques

Le tableau montre l'influence du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez les sujets porteurs de $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ et $\epsilon 3/\epsilon 3$.

Tableau 16 : impact du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez Les porteurs de $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon/\epsilon 4$ et $\epsilon 3/\epsilon 3$.

	$\epsilon 2 / \epsilon 3$	$\epsilon 3 / \epsilon 3$	$\epsilon 3 / \epsilon 4$	$\epsilon 2 / \epsilon 3$ vs $\epsilon 3 / \epsilon 3$	$\epsilon 3 / \epsilon 3$ vs $\epsilon 3 / \epsilon 4$
CHOL	1.60 ±0.3	1.8±0.4	1.85±0.41	< 1%	< 1%
TG	1.14±0.45	1.10±0.38	1.18±0.35	ns	ns
HDL	0.46±0.1	0.42± 0.1	0.39 ±0.1	ns	ns
LDL	0.90±0 .5	1.12±0.32	1.22± 0.35	< 1%	< 1%

➤ **Le cholestérol et C-LDL**

Notre étude montre que les taux de cholestérol et de cholestérol –LDL chez les sujets $\epsilon 3/\epsilon 4$ sont augmentés significativement alors que les taux de C-HDL ne sont pas significativement différents (Tabl 16).

Chez les sujets $\epsilon 3/\epsilon 3$ 50% des IDL (VLDL2) sont converties en LDL, alors que chez les $\epsilon 4/\epsilon 4$ 70% sont converties (85). Les sujets $\epsilon 2/\epsilon 3$ ont des taux de cholestérol et C-LDL significativement diminués par rapport à $\epsilon 3/\epsilon 3$, et les sujets $\epsilon 3/\epsilon 4$ ont des taux de cholestérol et C-LDL significativement augmentées par rapport à $\epsilon 3/\epsilon 3$. Ceci montre l'influence des allèles $\epsilon 2$ et $\epsilon 4$ sur les niveaux de cholestérol et de LDL cholestérol (Tabl 16).

Chez les sujets $\epsilon 4$, les chylomicrons et VLDL, sont hydrolysés rapidement, l'apport du cholestérol au niveau hépatique provoque une inhibition de la synthèse du récepteur des LDL et une diminution du captage des LDL ce qui entraîne une augmentation de la concentration plasmatique (143).

Il y a aussi des populations où il n'y a pas de différence entre les niveaux de LDL-C entre les phénotypes $\epsilon 4/3$ et $\epsilon 3/3$ comme au Soudan et en Malaisie (144).

Comparativement au phénotype $\epsilon 3/\epsilon 3$, les phénotypes $\epsilon 3/\epsilon 2$ et $\epsilon 2/\epsilon 2$ sont associés avec des concentrations diminuées du LDL–C, cholestérol total, et apo B et l'inverse pour les phénotypes $\epsilon 4/\epsilon 4$ et $\epsilon 4/\epsilon 3$ (85)

Utermann *et al.* avaient été les premiers à rapporter que les porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ avaient des taux plus bas de cholestérol et de LDL-C plasmatiques que les porteurs de l'allèle $\epsilon 3$ (phénotype $\epsilon 3/\epsilon 3$) (145).

➤ **Les triglycérides**

Notre étude ne retrouve pas de différence significative du TG entre les différents génotypes.

Une méta-analyse menée par Jean Dallongeville (145) dans notre laboratoire a confirmé que le phénotype d'apo E influençait aussi les TG de façon significative, l'allèle $\epsilon 4$ autant que l'allèle $\epsilon 2$ pouvant augmenter les taux de TG plasmatiques chez les sujets hyperlipidémiques.

➤ **Le Cholestérol-HDL**

Notre étude ne retrouve pas de différence significative du C-HDL entre les différents génotypes. Le C-HDL des sujets E3/E4 est diminué par rapport aux sujets E3/E3 mais non significative (Tableau 16).

7. Prévalence de L'odds ratio dans les AVC

L'évaluation de l'odds ratio d'AVC est représentée sur le tableau 17. Elle montre une association significative ($p < 0,01$) entre le polymorphisme de l'apo E $\epsilon 4$ et la survenue d'AVC avec un odds ratio de 3,03 (IC = 1,28 - 7,9) par rapport aux porteurs du génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$.

Le risque d'association entre la maladie et l'allèle $\epsilon 4$ est augmenté chez les individus porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ par rapport à ceux portant le génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$. Contrairement une autre étude, indique que l'allèle $\epsilon 4$ est relié à l'incidence d'AVC chez les sujets âgés (146).

Tableau 17 : Calcul des odds ratio des sujets malades (AVC) ayant un allèle $\epsilon 4$, par rapport aux témoins ayant un génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$.

	Odds ration	p
$\epsilon 4$ vs $\epsilon 3/\epsilon 3$	3,03 1.28 < OR < 7.9	<1%



Conclusion

Conclusion

L'étude que nous avons entreprise est une étude transversale de type cas témoin concernant 170 individus répartis en deux groupes, une population de malade présentant un AVC (n=49) et une population de témoin (n=121). Elle vise principalement à déterminer le polymorphisme de l'apo E chez les sujets atteints d'un AVC et d'étudier l'influence du polymorphisme de l'apoE sur les paramètres lipidique. Les résultats obtenus nous ont montré qu'au sein de cette population:

L'étude des différents facteurs de risque a montré que l'HTA est le premier facteur de risque en fréquence (57,3 %) suivie par le diabète (38,5 %), l'obésité (28,2%) le tabagisme (22,9 %), respectivement. Ces fréquences sont plus élevées chez les sujets malades que chez les témoins.

Nos résultats ont montré la prédominance de l'allèle $\epsilon 3$ dans la population étudiée (témoins) avec une fréquence de (87,4%), suivi de loin par $\epsilon 4$ (7,1%) et $\epsilon 2$ (5,5%). et la prédominance du génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$ (76,4%) suivi par $\epsilon 3/\epsilon 4$ (13,9), $\epsilon 2/\epsilon 3$ (8,3) et $\epsilon 2/\epsilon 2$ (1,4) cette tendance s'accorde avec toutes les études effectuées à travers le monde.

Le génotype $\epsilon 3/\epsilon 4$ et l'allèle $\epsilon 4$ sont plus fréquents dans le groupe des malades ayant un AVC que chez les témoins, avec des variations de 20,8 % et de 10,7 % respectivement, les fréquences sont deux fois plus élevées dans le groupe malade que dans le groupe témoins. Notre étude prouve l'existence d'une association entre l'allèle $\epsilon 4$ et les AVC.

En revanche la fréquence de l'allèle $\epsilon 2$ dans notre étude, est 2,04% dans le groupe malade et elle est de 5.5% dans le groupe témoins. Nos résultats laissent à penser que l'allèle $\epsilon 2$ exerce un effet protecteur vis-à-vis de la survenue d'AVC.

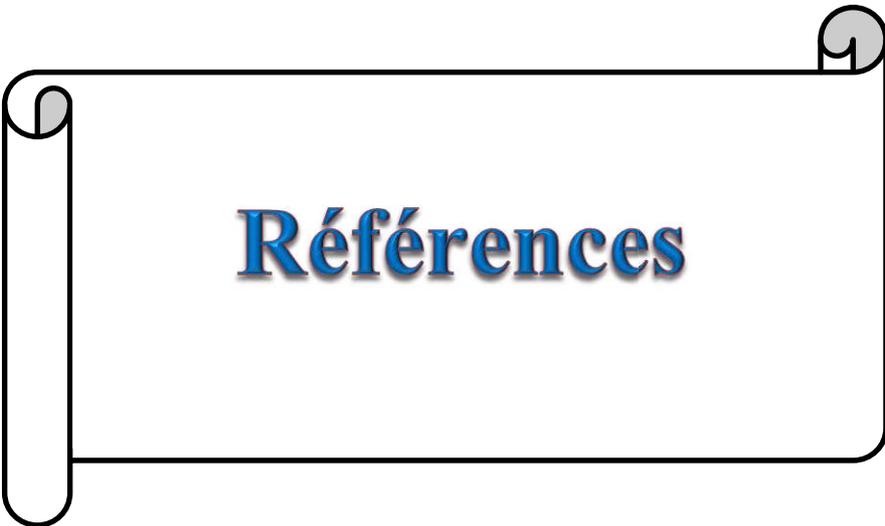
L'étude du profil lipidique chez les patients atteint d'AVC par comparaison aux témoins a montré une association significative des paramètres lipidiques (les LDL-C et les HDL-C et les TG) et cette affection.)

Les porteurs de génotype $\epsilon 3/\epsilon 4$ ont des concentrations significativement plus élevées de cholestérol total ($p < 1\%$) et de LDL-cholestérol ($p < 1\%$) que les porteurs de génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$. Alors que l'inverse pour les sujets ayant le génotype $\epsilon 2/\epsilon 3$.

Conclusion

Le calcul des Odds ratio montre que les porteurs de l'allèle e4 présentent une association significative ($p < 0,01$) vis-à-vis de la survenue de la maladie d'AVC par rapport aux porteurs du génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$.

Ce travail révèle que le polymorphisme du gène de l'Apo E avait un impact sur la variation du cholestérol et le cholestérol-LDL plasmatiques dans la population malade. L'allèle e4 est associé avec des concentrations plasmatiques en lipides élevées de $< 1\%$, tandis que l'allèle $\epsilon 2$ est associé à des concentrations plutôt basses.



Références

Références

- 1- OMS. (2011). MNT Profils de pays. OMS. Algérie 2011.
- 2- Jacquin, A. Hervieu-Begue, M. Daubail, B. Osseby, GV. Rouaud, O. Giroud, M. Bejot, Y. (2012). Epidemiologie des AVC du sujet âgé : the silver tsunami. *La revue du praticien*. 62 ; 1221-1223.
- 3- Dominiczak, M, H and Caslake, M, J. (2011). Apolipoproteins: metabolic role and clinical biochemistry applications. *Annals of clinical biochemistry* . 48 ; 498-515 (lien Pubmed).
- 4- Mueller, BA. Talbert, BL. Tegeler, CH. (1989). Comparative effects of omega-3 fatty acids in men and women. *Clin Pharm*. 8(5) ; 328-329.
- 5- Giral, P. (1998). Athérome : anatomie pathologique, physiopathologie, épidémiologie et facteurs de risque, prévention. *Rev Prat*. 48 ; 99-106.
- 6- Pau, J-L. Baudin, B. (2009). Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs précoces. *Revue Francophone Des Laboratoires*. 409 ; 41-50.
- 7- Luc, G. Lecerf, JM. And Bard, JM et al. (1991). Cholestérol et athérosclérose. Paris: Masson.
- 8- Jouan, M. (2004). MSc. Conception et réalisation d'une structure synthétique mécano compatible pour Le remplacement ou la régénération du tissu vasculaire. Génie des mines de la métallurgie et des matériaux. Université Laval Québec.
- 9- Tedgui, A. (2001). Pathogenèse de l'athérosclérose. *Encycl Méd Chir*. (Elsevier, Paris), Neurologie endocrinologie Nutrition. 10-368-I-10, 7p.
- 10- Bauters, C. (2001). In *Athérothrombose : Tome I*. Paris : Ed John Libbey. Physiopathologie de l'athérombose. p.1-24.
- 11- Moore, KJ. Tabas, I. (2011). Macrophages in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Cell* 145 ; p.341-355.

- 12- Léoni, J. (2001). Physiopathologie de l'athérosclérose - Mécanismes et prévention de l'athérombose. Thèse de doctorat, diplôme d'Etat de docteur en pharmacie. Université de Franche-Comté.
- 13- Steinberg, D. (1997). Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation*. 95 ; 1062-1071.
- 14- Libby, P. (2002). Les maladies cardiovasculaires. *Pour la science*. 296 ; 60-67.
- 15- Palinskiw, Hertualay, Rosenldm, E and al. (1990). Antisera and monoclonal antibodies specific for epitopes generated during oxidative modification of low density lipoprotein . *Arteriosclerosis*. 10 ; 325-335.
- 16- Moatti, N. (2004). Athérosclérose : concepts actuels. *Biochimie pathologique*. De Boeck.
- 17- Tedgui, A. Chapman, J. (2004). Pathogénèse de l'athérosclérose : théories et mécanismes.
- 18- Pellerin, C. Mauget, Y. Bouju, A. Rouanet, F. Petitjean, M,E . (2003). Dabadie, P. Département des urgences adultes, SAMU-SMUR, CHU de bordeaux, Groupe hospitalier Pellegrin- Tripode. *Medecine d'urgence*. P107-117.
- 19- Bourrillon, A. Cabanis, E, A. Chapuis, Y. Christoforov , B et al. (2003). LAROUSSE MEDICAL. Larousse/VUEF. ISBN-2-03-560265-3.
- 20- Anaes. (2004). *Recommandations Pour la pratique clinique*. Prise En charge diagnostique et traitement immédiat de l'accident ischémique transitoire de l'adulte.
- 21- Sacc, RL. (1997). Risk factor, Outcomes, and stroke subtypes for ischemic stroke. *Neurology*; 49 (supp 4): S₃₉-S₄₄.
- 22- Pett, GW. (2000). Ischemic stroke subtypes: a population-based study of functional outcome, survival and recurrence . *Stroke*. 31 ; 1062-68.
- 23- Fattorusso, V. Ritter, O. (2001). *Vadémécum clinique*, 16ième Edition, Masson, Paris.
- 24- Cambier, J. Masson, M. Dehen, H. (2001). *Pathologies vasculaires cérébrales Abrégés de Neurologie*, 9ème édition, Masson, Paris.

- 25- Seiller, N. Apostu , I V. Pavy-Lc-Traon , A et coll. (2002). Hémorragies méningées. Elsevier SAS.
- 26- Sacco, RL. Wolf, PA. Gorelick, PB. (1999). Risk factors and their management for stroke prevention: outlook for 1999 and beyond. *Neurology*. 53 (suppl 4) ; 515-524.
- 27- Contegal, F. Osseby, G-V. Menassa, M. (2005). La relation entre hypertension arterielle et accidents vasculaire cerebraux : une equation modifiable. La Lettre du cardiologue A. n° 381, pp. 26-29.
- 28- Collins, R. Peto, R. McMahon, S et al. (1990). Blood pressure, stroke and coronary heart disease. Part 2: short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. *Lancet*. 335 ; 827-38.
- 29- Touze, E. & Bejot, Y. (2009). Chapter 9: Epidemiologie analytique. In: *Accidents Vasculaires Cerebraux*. Traite De Neurologie, pp. 119–137.
- 30- Benfante, R et al. (1994). Elevated serum cholesterol is a risk factor for both coronary heart disease and thromboembolic stroke in Hawaiian Japanese men. Implications of shared risk. *Stroke* ; 25 Abbott, RD et al. (1986). Risk of stroke in male cigarette smokers. *NEJM*. 315 ; 717-20.
- 31- Wannamethee, SG. Perry, IJ. Shaper, AG. (1999). Non fasting serum glucose and insulin concentrations and the risk of stroke. *Stroke*. 30 ; 1780-1786.
- 32- Stegmayr, B. Asplund, K. (1995). Diabetes as a risk factor for stroke. *Diabetologia*. 38 ; 4061-1068
- 33- Qizilbash, N. Duffy, SW. Warlow, C. Mann, J. (1992). Lipids are risk factors for ischaemic stroke: overview and review. *Cerebrovasc Dis*. 2; 127- 36.
- 34- Pellerin, C. Mauget, Y. Bouju, A. Rouanet, F. Petitjea, ME. (2003). DabAadie, P. Departement des urgences adultes, SAMU-SMUR, CHU de bordeaux, Groupe hospitalier Pellegrin- Tripode Medecine d'urgence.P107-117.
- 35- Zuber, M. Mas, J L. (1993). Epidemiologie des accidents vasculaires cerebraux. EMC (Editions Scientifiques et Medicales Elsevier SAS), Neurologie. 17-046-A-10, 8p.

- 36- Akoudad, H. Benamer, H. (2004). Physiopathology of myocardial infarction. *EMCCardiologie Angéiologie*;1 : 49-67.
- 37- Petrović, G. (2000) Risk factors for development of cerebrovascular stroke. *Med Pregl.* 53(3-4) ; 207-14.
- 38- Hu, G. Tuomilehto, J. Silventoinen, K. Sarti, C. Mannisto, S. & Jousilahti, P. (2007). Body Mass index, waist circumference, and waist-hip ratio on the risk of total and type-specific stroke. *Archives Of internal medicine.* 167 (13). pp. 1420–1427.
- 39- Goldstein, L, B. Bushnell, C, D. Adams, R, J. Appel, L, J. Braun, L, T. Chaturvedi, S. Creager, M,A. Culebras, A. Eckel, R,H. Hart, R,G. Hinchey, J,A. Howard, V,J. Jauch, E,C. Levine, S,R. Meschia, J,F. Moore, W,S. Nixon, J,V,I. Pearson, T,A. (2011). American Heart Association Stroke Council, Council On Cardiovascular Nursing, Council On Epidemiology And Prevention, Council For High Blood Pressure Research, Council On Peripheral Vascular Disease, And Interdisciplinary Council On Quality Of Care And Outcomes Research. Guidelines For the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke.* 42 (2) ; 517–584.
- 40- Schneider, M. Norman, R. Parry, C. Bradshaw, D. & Pluddemann, (2007). Estimating The burden of disease attributable to alcohol use in South Africa In 2000. *South African Medical journal.* 97 (8 Pt 2) ; 664–672.
- 41- He, K. Rimm, E,B. Merchant, A. Rosner, B,A. Stampfer, M,J. Willett, W,C. & Ascherio, A .(2002). Fish Consumption and risk of stroke in men. *JAMA : The journal of the American Medical Association.* 288 (24) ; 3130–3136.
- 42- Wendel-Vos, G, C, W. Schuit, A,J., Feskens, E, J, M. Boshuizen, H,C. Verschuren, W ,M,M. Saris, W,H,M. & Kromhout, D. (2004). Physical Activity and stroke. A meta--analysis of observational data. *International Journal of epidemiology.* 33 (4) ; 787–798.
- 43- Bouchard et coll. (2002). Surveillance de la mortalité au Chébec : 1977-1998. Direction de la protection de la santé publique. Ministère de la santé et des services sociaux.
- 44- Nazha, Birouk. (2003).Epidemiologie et facteurs de risques des accidents ischémiques Cerebraux. *Esperance medicale.* tome 10. N° 98 ; 475-478.

- 45- Mvundura, M. McGruder, H. Khoury, M.J. Valdez, R. & Yoon, P.W. (2010). Family History As a Risk Factor For Early--Onset Stroke/Transient Ischemic Attack among Adults In the United States. *Public Health Genomics*. 13pp. 13–20.
- 46- Touitou. (2007). Biochimie : structure des glucides et lipides. CHU-PS. Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière.
- 47- Raisonier, A. (2003). Lipides et lipoprotéines. CHU-PS. Université PARIS-VI Pierre et Marie Curie. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière.
- 48- Moussard, C. (2004). Biochimie structurale et métabolique médecine, pharmacie, sciences. 2eme édition. De Boeck et Larcier p : 145-149,193-195.
- 49- Martin. (2000). Apports nutritionnels conseillés pour la population française, 3ème édition, coordonnateur Ambroise. Editions TEC & DOC.
- 50- Koohman, J. Rohm, KH. (2003). Atlas de poche de biochimie. Médecine. Science Flammarion 3eme édition. 46-49.
- 51- Weinmans, Methulp. (2004). Toute la biochimie . Dunod, Paris. P; 82-86.
- 52- Couet, C. Schmitz, J. Bresson, J,L. (1991). Les lipides. ; Lavoisier-Tec & Doc Ed, Paris. p 281.
- 53- Hoover, R. (2007). Triglycerides. Ame. Heart. Asso.
- 54- Alais, C. Linden, G. (1997). abrégé de biochimie alimentaire. Masson, Paris 4eme édition. p : 63,69- 72.
- 55- Hamesb, D. Hooper, N, M. Houghton, J,D. (2000). L'essentiel en biochimie. Port royal livres, Paris. p : 324-328.
- 56- Jacques-Henry Weil Biochimie générale. Cours et exercices corrigés. DUNOD. Paris. (2005). 280 p.
- 57- Rouffy , J. Chanu, B. Bakir,R. Goy-Loeper,J. and Miro,I. (1983). Lipids,lipoproteins apoproteinsand clinical arteriopathic manifestations. *pathol Biol (paris)*. 31 : 261-70.

- 58- Puchois, P. Alaupovic, P. Fruchart, J. C. (1985). Mise au point sur les classifications des lipoprotéines plasmatiques *Ann.Biol.Clin.* 43:831-840.
- 59- Blix, G. Tiselus, A. (1941). SVENSSON H. Lipids and polysaccharides in electrophoretically separated blood serum proteins. *J, Biol. Chem.* 137,485.
- 60- Cuvelier, I. Ulrich, G. (1992). Quel bilan lipidique en 1992 *Option. Bio* 88: I-VIII.
- 61- Alaupovic, P. The concepts, classification systems, and nomenclatures of human plasma lipoproteins In:Lewis, L. A. Oppl , J. J. (1980). *CRC Handbook of electrophoresis. Lipoprotéines: basic principles and concepts* CRC Press.
- 62- Barkia, A. (1990). Que savons-nous des lipoprotéines contenant l'apoA1 *Ann.Biol.Clin.* 48 ; 529-535
- 63- Ziegler O., Guerci B., Drouin P. Le "deuxième phénotype athérogène" ou le rôle de l'insulino-résistance dans le risque vasculaire. *Arch. Mal. Coeur Vaisseaux*, 1998; 91 (spécial V) : 33-9. La prise en charge thérapeutique du patient dyslipémique. *Recommandations.*
- 64- Stein, O. and Stein, Y. (2005). Lipid transfer proteins (LTP) and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 178; 217-230.
- 65- Wong, H., and Schotz, M. C. The lipase gene family. *J Lipid Res* (2002) 43, 993 999
- 66- Mead, J, R. Irvine, S, A. and Ramji, D, P. (2002) Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J Mol Med.* 80; 753-769.
- 67- Pulinilkunnil, T. and Rodrigues, B. (2006). Cardiac lipoprotein lipase: metabolic basis for diabetic heart disease. *Cardiovasc Res.* 69; 329-340.
- 68- Jelassi, A. (2012). Association entre des variations de la lipoprotéine lipase et la maladie coronarienne dans une population tunisienne. *Pathologie Biologie.* 60; 180–184.
- 69- Frohlich, J. McLeod, R. and Hon, K. (1982). Lecithin: cholesterol acyl transferase (LCAT). *Clin Biochem.* 15; 269-278.
- 70- Glomset, J, A. and Verdery, R, B. (1977). Role of LCAT in cholesterol metabolism. *Expos Annu Biochim Med.* 33; 137-142.

- 71- Grooth, G, J. Klerkx, A, H. Stroes, E, S. (2004). Stalenhoef, A. F., Kastelein, J. J., and Kuivenhoven, J. A. A review of CETP and its relation to atherosclerosis. *J Lipid Res.* 45; 1967-1974.
- 72- Boekholdt, S, M. Kuivenhoven, J, A. Hovingh, G, K. Jukema, J, W. Kastelein, J, J. and van Tol, A. (2004). CETP gene variation: relation to lipid parameters and cardiovascular risk. *Curr Opin Lipidol.* 15; 393-398.
- 73- Morton, R, E. (1999). Cholesteryl ester transfer protein and its plasma regulator: lipid transfer inhibitor protein. *Curr Opin Lipidol.* 10; 321-327.
- 74- Dumont, L. Gautier, T. de Barros, J, P. Laplanche, H. Blache, D. Ducoroy, P. Fruchart, J. Fruchart, J, C. Gambert, P. Masson, D. and Lagrost, L. (2005). Molecular mechanism of the blockade of plasma cholesteryl ester transfer protein by its physiological inhibitor apolipoprotein CI. *J Biol Chem.* 280; 38108-38116.
- 75- Lagrost, L. (1994). Regulation of cholesteryl ester transfer protein (CETP) activity: review of in vitro and in vivo studies. *Biochim Biophys Acta.* 1215; 209 -236.
- 76- Bolanos-Garcia, V, M and Miguel, R, N. (2003). On the structure and function of apolipoproteins: more than a family of lipid-binding proteins. *Prog Biophys Mol Biol.* 83; 47-68.
- 77- Murray, K, H. Granner, D, K. Mayes, P, A and Rodwell, V, W. (2000). Harper's Biochemistry.
- 78- Voet, D. and Voet, J, G. (2005). Biochemistry, John Wiley and Sons, Inc.
- 79- Soulié, C . (2004). Apolipoprotéine E. Thèse DEA DE Ferreira Stéphanie.
- 80- Hsieh, YH. Chou, CY. (2011). Structural and functional characterization of human apolipoprotein E 72-166 peptides in both aqueous and lipid environments. *Journal of biomedical science.* 18: 4.
- 81- Robitaille , N. (1994). Polymorphisme de l'apolipoprotéine E au sein de la population du lac St-Jean Chibougamau. Maitrise en Médecine Expérimentale Thesis, Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi.

- 82- Simon, M. Hone, E. Gandy, S. Martin, R. (2003). Expanding the association between the APO E gene and the risk of alzheimer's disease: possible roles for APO E promoter polymorphisms and alteration in APO E transcription. *Journal of neurochemistry*. 84; 1215-1236.
- 83- Guillaume, D. Bertrand, P. Dea, D. Davignon, J. Poirier, J. (1996). Apolipoprotein E and Low-Density Lipoprotein Binding and Internalization in Primary Cultures of Rat Astrocytes: Isoform-Specific Alterations. *Journal of Neurochemistry June*. 66(6); 2410-2418.
- 84- Mahley, RW. Innerarity, TL. (1983). Lipoprotein receptors and cholesterol homeostasis. *Biochim Biophys Acta*. 737 ; 197-222.
- 85- Davignon, J. Gregg, RE. Sing, CF. (1988). Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis*. 8 ; 1-21.
- 86- Weisgraber, KH. Innerarity, TL. Mahley, RW. (1982). Abnormal lipoprotein receptorbinding activity of the human E apolipoprotein due to cystein-arginine interchange at a single site. *J Biol Chem*. 257 ; 2518-2521.
- 87- Corbo, RM et R Scacchi. (1999). *Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is APOE*4 a 'thrifty' allele?* *Ann Hum Genet*. 63 (Pt 4) ; p.301-10.
- 88- Michelle, C. (1999). *Principes des techniques de biologie moléculaire*, édition Denis TAGU.
- 89-Masson, D. Mainard, F. Auget, J, L. Chivot L. (1992). Effect of precipitation and centrifugation conditions on high density lipoprotein cholesterol measured with.
- 90- Abadi, N. (1998). *Contribution à l'étude des lipides dans la population de référence de la ville de Constantine et les maladies cardio-vasculaires*. Thèse.
- 91- Di Carlo, A et al. (2000). Frequency of stroke in Europe : a collaborative study of population-based cohorts. *Neurology*. 54 (suppl 5) ; S 28-S 33.
- 92- Bots, M, L. (2002). Total and HDL cholesterol and risk of stroke. EUROSTROKE: a collaborative study among research centres in Europe.

- 93- Olsen, TS. Christensen, RH. Kammergaard, LP. Andersen, KK. (2007). Higher total serum cholesterol levels are associated with less severe strokes and lower all-cause mortality: ten-year follow-up of ischemic strokes in the Copenhagen Stroke Study. *Stroke*. 38(10); 2646-51.
- 94- Ansell, B,J. (2000). Cholesterol, stroke risk, and stroke prevention. *Curr Atheroscler Rep*.
- 95- Nakayama, T. Date, C. Yokoyama, T. Yoshiike, N and al. (1997). A 15.5-year follow-up study of stroke in a Japanese provincial city. The Shibata Study. *Stroke*. 28 (1) ; 45-52.
- 96- Dziedzic, T. Slowik, A. Gryz, E,A. Szczudlik, A. (2004). Lower serum triglyceride level is associated with increased stroke severity. *Stroke*.
- 97- Laloux, P. Galanti, L. Jamart J. (2004). Lipids in ischemic stroke subtypes. *Acta Neurol-Belg*.
- 98- Tokuda, Y. Stein, G,H. (2005). Serum lipids as protective factors for subarachnoid hemorrhage. *J Clin Neurosci*.
- 99- Labrousse, F. (2002). *Hypertriglycémie* .Elsevier SAS.
- 100- Amarenco, P. Labreuche, J. Touboul, P, J. (2007). High-density lipoprotein-cholesterol and risk of stroke and carotid atherosclerosis: A systematic review. *Atherosclerosis*.
- 101- Teng, W, Y. Wang, H,L. Shi, J,P and al. (2007). Study on the influencing factors to cerebral stroke in a region with high prevalence rate of hypertension. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*.
- 102- Bhatia, M. Howard, S, C. Clark, T,G and al. (2006). Apolipoproteins as predictors of ischaemic stroke in patients with a previous transient ischaemic attack. *Cerebrovasc Dis*.
- 103- Welty, F, K. Mittleman, M,A. Wilson, W, F. Sutherland, P. (1997). Hypobetalipoproteinemia is associated with low levels of hemostatic risk factors in the Framingham offspring population *Circulation*. 95; 825-830.
- 104- Denti, L. Cecchetti, A. Annoni, V and al. (2003). The role of lipid profile in determining the risk of ischemic stroke in the elderly: a casecontrol study. *Arch Gerontol Geriatr*.

105- Ghandehari, K. Izadi-Mood, Z. (2007). Khorasan stroke registry: analysis of 1392 stroke patients. Arch Iran Med.10(3); 327-34.

106- Yano, K. Popper, J, S. Kagan, A and al. (1994E). pidemiology of stroke among Japanese men in Hawaii during 24 years of follow-up: the Honolulu Heart Program. Health Rep. 6(1); 28-38.

107- Zia, E. Hedblad, B. Pessah-Rasmussen, H and al. (2007). Blood pressure in relation to the incidence of cerebral infarction and intracerebral hemorrhage. Hypertensive hemorrhage: debated nomenclature is still relevant. Stroke.38(10) ; 2681-5.

108- Groupe de travail OMS/MNH sur les AVC et autres affections cérébrales Rapport de l'organisation mondiale de la santé : AVC/STROKE Recommandations pour la prévention, le diagnostic et le traitement des accidents vasculaires cérébraux Expansion scientifique Françai.

109- Shinton, R. Beevers, G. (1989). Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke. Br.Med, J. 298; 789-794.

110- Peter, N. Lee, M, A And all. (2006). Environmental Tobacco Smoke Exposure and Risk of Stroke in Nonsmokers: A Review With Meta-analysis. Elsevier.

111- Lagrue, G. Maurel, A. (2003). Tabagisme et maladie vasculaires .Elsevier SAS.

112- Schlüter, M. Reimers, B. Castriota, F and al. (2007). Impact of diabetes, patient age, and gender on the 30-day incidence of stroke and death in patients undergoing carotid artery stenting with embolus protection: a post-hoc subanalysis of a prospective multicenter registry, J. Endovasc Ther.

113- Giorda, C, B. Avogaro, A. Maggini, M and al. (2007). Incidence and risk factors for stroke in type 2 diabetic patients: the DAI study. Stroke.

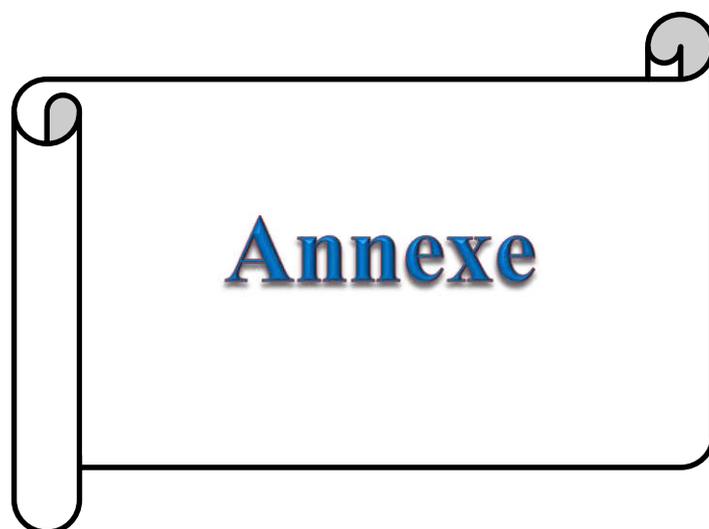
114- Tseng, C, H. Chong, C,K. Sheu, J,J and al. (2005). Prevalence and risk factors for stroke in Type 2 diabetic patients in Taiwan: a crosssectional survey of a national sample by telephone interview. Diabet Med.

115- Vergès, B. (2004). Hyperlipidémie des diabétiques. Elsevier SAS.

- 116- Kurth, T. Gaziano, J. M. Rexrode, K. M and al. (2005). Prospective study of body mass index and risk of stroke in apparently healthy women. *Circulation*.
- 117- Rexrode, KM. Hennekens, CH. Willett, WC and al. (1997). A prospective study of body mass index, weight change, and risk of stroke in women. *JAMA*.
- 118- Al-Khedhairi, A, A. (2004). Apolipoprotein E polymorphism in Saudis. *Mol Biol Rep*. 31(4) ; 257-60.
- 119- Mahfouz, R,A. Sabbagh, A, S. Zahed, L, F and al. (2006). Apolipoprotein E gene polymorphism and allele frequencies in the Lebanese population. *Mol Biol Rep*. 33(2); 145-9.
- 120- Nagy, B. Karádi, I. Fintor, L and al. (1999). Apolipoprotein E gene polymorphism frequencies in a sample of healthy Hungarians. *Clin Chim Acta*. 282(1-2) ; 147-50.
- 121- Bettencourt, C. Montiel, R. Santos, C and al. (2006). Polymorphism of the APOE locus in the Azores Islands (Portugal). *Hum Biol*. 78(4) ; 509-12.
- 122-Svobodová, H. Kucera, F. Stulc, T and al. (2007). Apolipoprotein E gene polymorphism in the Mongolian population. *Folia Biol (Praha)*. 53(4) ; 138-42.
- 123- Gamboa, R. Hernandez-Pacheco, G. Hesiquio, R and al. (2000). Apolipoprotein E polymorphism in the Indian and Mestizo populations of Mexico. *Hum Biol*.72(6) ; 975-81.
- 124- Jemaa, R. Elasmí, M. Naouali, C and al. (2006). Apolipoprotein E polymorphism in the Tunisian population: frequency and effect on lipid parameters. *Clin Biochem*. 39(8) ; 816-20.
- 125- Ehnholm, C. Lukka, M. Kuusi, T and al. (1986). Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations. *J Lipid Res*. 27(3) ; 227-35.
- 126- Hallman, DM. Boerwinkle, E. Saha, N and al. (1992). The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet*. 50(1) ; 236.
- 127- Sklavounou, E. Economou-Petersen, E. Karadima, G and al. (1997). Apolipoprotein E polymorphism in the Greek population. *Clin Genet*. 52(4) ; 216- 8.

- 128- Khodja, D. Ouldjaoui, A. abadi, A. C, Benlatreche. (2007). Etude du polymorphisme de l'apoprotéine E dans la population constantinoise et dans les maladies cardiovasculaires.
- 129- Masemola, M, L. Alberts, M. Urdal, P. (2007). Apolipoprotein E genotypes and their relation to lipid levels in a rural South African population. *Scand J Public Health Suppl.* 69 ; 60-5.
- 130- Gerdes, L,U. Klausen, I,C. Sihm, I. Faergeman, O. (1992). Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 other study populations around the world. *Genet Epidemiol.*9(3) ; 155-67.
- 131- Eggertsen, G. Tegelman, R. Ericsson, S and al. (1993). Apolipoprotein E polymorphism in a healthy Swedish population: variation of allele frequency with age and relation to serum lipid concentrations. *Clin Chem.* 39(10) ; 2125-9.
- 132- Ehnholm, C. Lukka, M. Kuusi, T and al. (1986). Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and Relation to lipoprotein concentrations. *J Lipid Res.* 27(3) ; 227-35.
- 133- Lahlali-Kacemi, N. Bamou, Y. Guedira, A and al. (2002). Apolipoprotein E polymorphism in a Moroccan population: allele frequency and relation to plasma lipid concentrations. *Ann Biol Clin (Paris).* 60(1) ; 73-8.
- 134- Kowalska, A. Wiechmann, I. Walter, H. (1998). Genetic variability of apolipoprotein E in a Polish population. *Hum Biol.* 70(6) ; 1093-9.
- 135- Ruiu, G. Cassader, M. Gambino, R and al. (1995). Apolipoprotein E allele frequencies in an Italian population: relation to age and lipid profile. *Aging (Milano).* 7(4) ; 185-9.
- 136- Al-Bustan, S, A. Alnaqeeb, M, A. Annice, B, G and al. (2005). Apolipoprotein E genotyping among the healthy Kuwaiti population. *Hum Biol.* 77(4) ; 487-98.
- 137- Lin, S, K. Kao, J, T. Tsai, S, M and al. (2004). Association of apolipoprotein E genotypes with serum lipid profiles in a healthy population of Taiwan. *Ann Clin Lab Sci.* 34(4) ; 443-8.

- 138- Bazrgar, M. Karimi, M. Fathzadeh, M and al. (2007). Apolipoprotein E polymorphism in Southern Iran: E4 allele in the lowest reported amounts. *Mol Biol Rep*. Epub ahead of print.
- 139-Duzenli, S. Pirim, I. Gepdiremen, A. Deniz, O. (2004). Apolipoprotein E polymorphism and stroke in a population from eastern Turkey. *J Neurogenet*. 18(1) ; 365-75.
- 140- Cerrato, P. Baima, C. Grasso, M. (2005). Lentini A Apolipoprotein E polymorphism and stroke subtypes in an Italian cohort. *Cerebrovasc Dis*. 20(4) ; 264-9. Epub 2005.
- 141- Chowdhury, AH. Yokoyama, T. Kokubo, Y and al. (2001). Apolipoprotein E genetic polymorphism and stroke subtypes in a Bangladeshi hospitalbased study. *J Epidemiol*. 11(3) ; 131-8.
- 142- Kuusisto, J. Mykkanen, L. Kervinen, K. Kesaniemi, Y, A. Laakso, M. (1995). Apolipoprotein E4 phenotype is not an important risk factor for coronary heart disease or stroke in elderly subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 15(9) ; 1280-6.
- 143- Couderc, R. Bailleul, S. (1998). L'apolipoprotéine E et ses allèles chez le sujet sain et au cours de l'athérosclérose *Ann. de Biol. Clin*. 6 ; 651-9.
- 144-Hallman, DM. Boerwinkle, E. Saha, N et al. (1991). The apolipoprotein E polymorphism: A comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am.J.Hum.Genet*. 49 ; 338-49.
- 145- Dallongeville, J. (1992). Lussier-Cacan S, Davignon J. Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: a meta-analysis. *J Lipid Res*. 33 ; 447-54.
- 146- Kuusisto, J. Mykkanen, L. Kerviinen, K. Kesaniemi, YA. Laakso, M. (1995). Apolipoprotein E4 phenotype is not an important risk factor for coronary heart disease or stroke in elderly subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 15 ; 1280-1286.



Annexe

Annexe

Questionnaire

Etude Influence de Polymorphisme de l'apo E sur les paramétré lipidique dans les AVC

Nom : Prénom : Sexe :

Age : Poids : Taille :

Situation familiale Marié (e) : Célibataire : Autre :

Niveau d'étude : Primaire : Secondaire : universitaire : Autre :

Fonction :

Origine ethnique : A C K M

Autres :

Fumeur : oui non Nbre/J :

Chique :

Tension artérielle : OUI NON Systolique : Diastolique :

Contraceptifs : OUI NON Types de contraceptifs :

Antécédents Personnels Antécédents Familiaux

	Antécédents Personnels	Antécédents Familiaux
Cardiopathies ischémiques		
AVC		
Artériopathies membres inf		
HTA		
Diabète		
Autres		

Diagnostic :

Examens complémentaires :

Traitements :

Chol : TG : Glycémie :

Autre :



Résumé

Résumé

L'apoprotéine E (apoE) joue un rôle important dans le métabolisme des lipoprotéines plasmatique comme ligand des récepteurs de la plupart des lipoprotéines. L'objectif de notre étude est de déterminer le polymorphisme de l'apo E dans la population générale (Constantine) et chez les porteurs d'AVC ainsi que la détermination de l'influence du polymorphisme de l'apo E sur les paramètres lipidiques dans les AVC.

Les fréquences alléliques de l'apo E dans notre population général sont ϵ_3 (87,4%), ϵ_4 (7,1%) et ϵ_2 (5,5%). Le génotype de référence ϵ_3/ϵ_3 est le plus fréquent (76,4%) suivi de loin par ϵ_3/ϵ_4 (13,9%), ϵ_2/ϵ_3 (8,3%), et moins fréquent pour les génotypes ϵ_2/ϵ_2 (1,4%) respectivement. Cependant les génotypes ϵ_2/ϵ_4 et ϵ_4/ϵ_4 ne sont pas représentés. La prévalence des génotypes ϵ_3/ϵ_3 et ϵ_2/ϵ_3 était plus élevé dans les témoins que dans les malades (76,4% vs 61,2%) et (8,3% vs 4,1%) respectivement; Tandis que le génotype ϵ_3/ϵ_4 est plus élevée chez les sujets AVC (34,7%) par rapport aux sujets de référence. Les porteurs de l'allèle ϵ_4 présentent une association significative vis-à-vis de la survenue de la maladie d'AVC comparativement aux sujet porteurs ϵ_3/ϵ_3 avec un odds ratio de 3,03 (IC =1.28 -7.9) $p < 0,01$.

L'étude du profil lipidique chez les patients ayant subi des AVC par comparaison aux témoins a montré une association significative des paramètres lipidiques (LDL-C, HDL-C et les TG) et cette affection.

Les porteurs de génotype ϵ_3/ϵ_4 ont des concentrations significativement plus élevées de cholestérol total et de LDL-cholestérol que les porteurs de génotype ϵ_3/ϵ_3 . Alors que l'inverse pour les sujets ayant le génotype ϵ_2/ϵ_3 .

Mots clés : ApoE, polymorphisme, AVC, Athérosclérose

Summary

The apolipoprotein E (apoE) plays an important role in the metabolism of plasma lipoproteins as ligand of receptors of the most of lipoproteins. The objective of this study is to determine the polymorphism of the Apo E in the general population of Constantine and in stroke (AVC), and determining the influence of polymorphism of apo E on lipid parameters in stroke.

The apoE allele frequencies in our population were ϵ_3 (87,4%), ϵ_4 (7,1%) et ϵ_2 (5,5%), the genotype ϵ_3/ϵ_3 are the most frequent (76,4%) followed by ϵ_3/ϵ_4 (13,9%), ϵ_2/ϵ_3 (8,3%), and the less frequent for genotypes ϵ_2/ϵ_2 (1,4%). However genotypes ϵ_2/ϵ_4 and ϵ_4/ϵ_4 are not represented. The prevalence of genotypes ϵ_3/ϵ_3 and ϵ_2/ϵ_3 was higher in controls than in patients (76,4% vs 61,2%) and (8,3% vs 4,1%) respectively. The genotype ϵ_3/ϵ_4 are expressed strongly at the CVD (34,7%) compared to control subjects. The carriers of allele ϵ_4 and ϵ_3/ϵ_4 subjects compared with ϵ_3/ϵ_3 are associated with an increased incidence of stroke (AVC) with odds ratio 3,03 (IC =1,28 - 7,9) $p < 0,01$.

The study of the lipid profile in patients who have suffered stroke compared to controls showed a significant association of lipid parameters (LDL-C, HDL-C and TG) and the condition.

Cholesterol and the LDL-C are increased at subjects having the genotype ϵ_3/ϵ_4 compared to the carriers of genotype ϵ_3/ϵ_3 , whereas the inverse for subjects having the genotype ϵ_2/ϵ_3 .

Mots clés : ApoE, Athérosclérose, AVC, , polymorphisme

ملخص

البروتين الشحمي (apo E) يلعب دورا هاما في استقلاب بروتينات المصل كمخلب لأغلب مستقبلات البروتينات الشحمية. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الأنماط الوراثية الناتجة عن التغيير الجيني للبروتين الشحمي (apo E) في عينة من سكان العامة لقسنطينة و في فئة من مرضى السكتة الدماغية و أيضا تحديد تأثير الأنماط الوراثية للبروتين الشحمي (apo E) على تركيز الدسم المصلية في السكتة الدماغية.

أوضحت نتائج الدراسة أن توزيع نسبة الأليلات في عينة من سكان العامة لقسنطينة و هي كالتالي: ϵ_3 (87,4 %), ϵ_4 (7,1 %) و ϵ_2 (5,5 %). النمط الوراثي ϵ_3/ϵ_3 يتواجد بكثافة في العينات المدروسة (76,4 %) متبوعا بـ $3\epsilon_4/\epsilon_3$ (13,9%), ϵ_2/ϵ_3 (8,3%) وبنسبة أقل في ϵ_2/ϵ_2 (1,4%) على التوالي. إلا أن المورثات ϵ_2/ϵ_4 و ϵ_4/ϵ_4 غير موجودة في هذه العينة. انتشار المورثات ϵ_3/ϵ_3 و ϵ_2/ϵ_3 يكون أعلى عند سكان العامة مما هو موجود عند مرضى السكتة الدماغية (76.4% vs 61.2%) و (8.3% vs 4.1%) على التوالي. إلا أن المورثة ϵ_3/ϵ_4 هي أعلى عند مرضى السكتة الدماغية. الحاملين للأليل ϵ_4 يعتبرون الأكثر إصابة بمرض السكتة الدماغية بالمقارنة مع حاملي النمط الوراثي ϵ_3/ϵ_3 و ذلك لارتفاع (odd ration) بنسبة 3,03.

أظهرت دراسة مستوى الدهون في الدم وجود دلالة عند مرضى السكتة الدماغية و ذلك بالمقارنة مع سكان العامة (TG و LDL-C, HDL-C).

الكلمات المفتاحية: التغيير الجيني، السكتة الدماغية، تصلب الشرايين. apo E

ATALLAH Hadjer BENADISSA Meriem	Date de soutenance : 01/07/2015
Thème : étude de l'influence de polymorphisme de l'apo E sur les paramètres lipidiques dans les accidents vasculaires cérébraux	
Nature de diplôme : master en biochimie / option Analyse Protéomique et santé	
<p>Résumé</p> <p>Le gène de l'APOE joue un rôle important dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines. L'objectif de notre étude est de déterminer le polymorphisme de l'apo E dans la population générale (Constantine) et chez les porteurs d'AVC ainsi que la détermination de l'influence du polymorphisme de l'apo E sur les paramètres lipidiques dans les AVC.</p> <p>Les fréquences alléliques de l'apo E dans notre population général sont ϵ_3 (87.4%), ϵ_4 (7.1%) et ϵ_2 (5.5%). Le génotype de référence ϵ_3/ϵ_3 est le plus fréquent (76.4%) suivi de loin par ϵ_3/ϵ_4 (13.9%), ϵ_2/ϵ_3 (8.3%), ϵ_2/ϵ_2 (1.4%) respectivement. Cependant les génotypes ϵ_2/ϵ_4 et ϵ_4/ϵ_4 ne sont pas représentés. La prévalence des génotypes ϵ_3/ϵ_3 et ϵ_2/ϵ_3 était plus élevé dans les témoins que dans les malades (76.4% vs 61.2%) et (8.3% vs 4.1%) respectivement; Tandis que le génotype ϵ_3/ϵ_4 est plus élevée chez les sujets AVC (34.7%) que dans la population générale. Les porteurs de l'allèle ϵ_4 présentent une association significative vis-à-vis de la survenue de la maladie d'AVC comparativement aux sujet porteurs ϵ_3/ϵ_3 avec un odds ratio de 3.03 (IC = 1.28 - 7.9) $p < 0.01$.</p> <p>L'étude du profil lipidique chez les patients ayant subi des AVC par comparaison aux témoins a montré une association significative des paramètres lipidiques (les LDL-C et les HDL-C et les TG) et cette affection.</p> <p>Les porteurs de génotype ϵ_3/ϵ_4 ont des concentrations significativement plus élevées de cholestérol total ($p < 0.01$) et de LDL-cholestérol ($p < 0.01$) que les porteurs de génotype ϵ_3/ϵ_3. Alors que l'inverse pour les sujets ayant le génotype ϵ_2/ϵ_3.</p>	
Mots clés : ApoE, polymorphisme, AVC, Athérosclérose	
Laboratoire de recherche : laboratoire de biologie et de génétique moléculaire au CHUC	
Encadreur : KHODJA Djamel (Maitre de conférence – Université Constantine 3)	
Année universitaire : 2014-2015	