

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Frères Mentouri Constantine



جامعة الأخوة منتوري قسنطينة

UNIVERSITÉ DES FRÈRES
MENTOURI CONSTANTINE

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire et Cellulaire

N° d'ordre.....

N° de série.....

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Option : Biochimie appliquée

**Recherche préliminaire des biomarqueurs de
l'Infarctus du Myocarde dans la salive humaine
par application de la technique d'électrophorèse
SDS-PAGE**

Présenté par :

- Meraghni Zohra
- Messili Horiya

Devant le jury :

- Président du jury: Prof. KHELIFI Douadi. (UFMC1)
- Examineur: Dr. MERGHIT Rachid. (HMRUC)
- Encadreur: Dr BELLIL Inès. (UFMC1)

Année universitaire 2017/2018

Dédicace

A ma chère mère : Laouid Messaouda

Je ne trouve pas les mots pour traduire ce que je ressens envers une mère exceptionnelle dont j'ai la fierté d'être la fille. Que ce travail soit un hommage aux énormes sacrifices que tu t'es imposées afin d'assurer mon bien être.

Puisse ce jour être la récompense de tous tes efforts et l'exaucement de tes prières tant formulés

A Mon Très Cher Père : Meraghni Abdelhakim

Aucune dédicace ne saurait traduire la profondeur des sentiments d'affection, d'estime et de respect envers un être cher. Puisse ton existence, pleine de droiture, de franchise et de sagesse me servir d'exemple dans l'exercice de ma profession. Ce modeste travail paraît bien dérisoire pour traduire mon amour envers un père merveilleux

A mon très cher mari Meftah abd elrazak:

Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel m'ont permis de réussir mes études. Ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

A mes chers frères : Walid et wanis

A ma chère sœur : lina

Je ne saurais exprimer ma reconnaissance et ma gratitude envers vous pour votre soutien et votre patience. J'espère avoir été à la hauteur de votre estime et que ce travail soit un témoignage de mes sentiments les plus chers que j'ai pour vous.

A Mon Très Chers Petits : Mohammed et Aridj

Je t'aime beaucoup .Que dieu vous protège et vous procure bonheur, santé et prospérité

A mes chers beaux-parents.

A mes chère belle sœurs, mes chers beaux-frères.

A mes très chère amis : Amina, Assia, Meriem, Zakia, Romayssa, Samiha

*A monsieur el hadj Hama : Cette humble dédicace ne saurait exprimer
nom grand respect et ma profond estime, que dieu vous procure bonne
santé et long
vie.*

Zohra

Dédicace

Je dédie ce modeste travail particulièrement à mes chers parents, qui ont consacré leur existence à bâtir la mienne, pour leur soutien, patience et soucis de tendresse et d'affection pour tout ce qu'ils ont fait pour que je puisse arriver à ce stade.

A ma chère mère, qui m'a encouragé durant toutes mes études et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu. Qu'elle trouve ici mon amour et mon affection.

A mon cher père, qui est toujours disponible pour nous, et prêt à nous aider, je lui confirme mon attachement et mon profond respect .Vous êtes pour moi un sujet de fierté.

A mes chers frères : Fouad, Sofiane, Noufel et Belkessam, à ma chère sœur Lamya, son mari et son fils Abd el mohaimen, ceux qui m'ont soutenu avec leur amour, Dieu vous accorde une longue vie pleine de bonheur.

A mes chères amies : Cherifa, Ahlem, Amina, Hiba, Meryem, Wasila et maïssa, je vous porte dans mon esprit, dans mon âme et dans mon cœur, merci pour les plus beaux moments qu'on a vécu ensemble, je vous aime très fort.

HOURIA

Remerciements

Au terme de ce travail, Nous remercions Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné le courage et la patience pour accomplir ce modeste travail.

Nous voudrions présenter nos remerciements et notre gratitude en premier lieu au directeur de l'hôpital militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC), le médecin chef, le chef de service du laboratoire d'immunologie ainsi que le Directeur du service de cardiologie pour son acceptation afin de réaliser ce travail et pour la collecte des échantillons.

*Nous tenons particulièrement à remercier notre encadreur Dr. **BELLIL INES**, Maître de conférences, pour avoir accepté d'encadrer ce mémoire, nous la remercions pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'elle a consenti durant la réalisation de ce mémoire. Ce travail témoigne de sa confiance et de son soutien dans les moments les plus difficiles.*

*Que Prof. **HKELIFI DOUADI**, trouve ici l'expression de nos respectueuses gratitude et le témoignage de nos profonds remerciements pour avoir accepté de présider ce jury et avant tout pour avoir accepté de nous accueillir dans son laboratoire pour effectuer ce travail.*

*Nous remercions le membre de jury Dr. **MERGHIT RACHID**, Maître de conférences, d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail. Nous vous en sommes très reconnaissantes et en espérant être à la hauteur de votre confiance.*

Enfin merci A ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du cœur. Merci à vous tous

Table des matières

Table des figures	
Table des tableaux	
Abréviations	
Introduction	01
Chapitre 1: revue bibliographique	
I. Généralité sur le cœur et la pathologie.....	02
1. Le cœur.....	02
1.1 Rappel anatomique.....	02
1.2. Vascularisation du cœur.....	02
1.2.1. Les artères.....	02
a. Intima.....	03
b. Media.....	03
c. Adventice.....	03
1.2.2. Les veines.....	03
1.2.3. Les capillaires.....	03
2. Définition de l'IDM.....	04
2.1. Définition universelle de l'infarctus du myocarde.....	04
2.2. Nomenclature de l'IDM.....	04
3. facteur de risque d'IDM.....	05
3.1. Facteurs non modifiables.....	05
3.1.1. L'âge.....	05
3.1.2. Le sexe.....	05
3.2. Les facteurs non modifiables.....	07
3.2.1. Tabac.....	06
3.2.2. Hypertension artériel.....	06
3.2.3. Dyslipidémies.....	06
3.2.4. Obésité.....	07
3.2.5. Diabète.....	07

3.2.6. Sédentarité.....	07
Autres facteurs modifiables.....	07
Facteurs nutritionnels.....	07
Les facteurs génétiques.....	08
Les facteur psychiques.....	08
L'activité physique.....	08
Les facteurs thrombogénique.....	09
4. Epidémiologie.....	09
4.1. Dans le monde.....	09
4.2. En Algérie.....	09
5. Étiologie.....	09
5.1. Athérosclérose coronaire.....	09
5.2. Autres causes.....	10
6. Physiopathologie de l IDM.....	11
6.1. Constituants d'une plaque athéromateuse.....	11
6.2. Evolution de la plaque d'athérome.....	12
6.3. Rupture de la plaque d'athérome.....	13
II. la salive.....	15
1. Définition.....	15
2. Composition de la salive.....	15
2.1. L'eau.....	15
2.2. Constituants inorganiques.....	15
2.3. Les constituants organiques.....	16
1. Les protéines extrinsèques.....	16
2. Les protéines intrinsèques.....	17
3. Facteurs modulant la composition salivaire.....	17
4. Rôle de la salive.....	18
III. LES BIOMARQUEURS.....	19
1. Définition.....	19
2. Historique.....	19
3. Qualités du marqueur cardiaque idéal.....	19

4. Les marqueurs utilisés dans le diagnostic et le suivi des maladies cardiovasculaires	19
5. La relation biomarqueurs –salive- IDM.....	19
Chapitre 2 : matériel et méthodes	
I. Matériel biologique.....	21
1. Recrutement des patients.....	21
II. Techniques d'électrophorèse	21
1. Extraction des protéines salivaires.....	21
2. Electrophorèse mono dimensionnelle SDS-PAGE.....	22
III. Analyse des gels et étude statistique.....	22
1. Analyse des gels	22
2. Analyse statistiques.....	22
Chapitre3: résultats et discussion.....	23
I. Etude épidémiologique.....	23
1-Répartition des patients selon le sexe.....	23
2. Répartition des malades selon l'âge.....	23
3. La répartition des sujets selon HTA	24
4. La répartition des sujets selon le diabète.....	25
5. La répartition des sujets selon le tabagisme.....	25
6. La répartition des sujets selon la sédentarité.....	26
7. La répartition des sujets selon la dyslipidémie.....	27
I I. Fractionnement des protéines et recherche de biomarqueurs.....	28
1. Analyse des profils électrophorétiques.....	28
2. Etude de la variabilité des protéines salivaires.....	30
3. Classification hiérarchique des protéines.....	31
3.1. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites	31
4. Etablissement des diagrammes types.....	33
5. Indice de similarité des diagrammes protéiques.....	34
Conclusion et perspectives.....	36
Références bibliographiques.....	38
Annexe.....

Résumé en Français
Résumé en Anglais
Résumé en Arabe

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 1 : les types d'infarctus de myocarde (10).....	04
Tableau(2) : Étiologies de l'infarctus du myocarde en dehors de l'athérosclérose coronaire (29).....	10
Tableau 3 : concentrations ioniques dans la salive (mmol/l sauf pour I et F) (47)	16
Tableau 4: composition organique de la salive (Concentrations en mg/l sauf où indiquées) (56).....	17
Tableau 5 : Biomarqueurs des maladies cardiovasculaires.....	19

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 6 : variation des bandes protéiques U1, U2, U3, U4, U5, U6	29
Tableau 7: variabilité des protéines salivaires.....	30
Tableau 8 : Diagrammes types des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et non réductrices.....	33
Tableau 9 : Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et non réduites.....	35

TABLE DES FIGURES

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Figure 1 : Représentation schématique de l'anatomie du cœur(6)	02
Figure 2:Les 3 tuniques des artères(8)	03
Figure 3 : les différents types de syndromes coronaires aigus(11)	05
Figure 4 : la plaque d'athérome(32)	12
Figure 5 : Evolution de la plaque d'athérome(35).....	13
Figure 6 : La rupture de la plaque d'athérome(35)	14
Figure 7 : Risque cardiovasculaire. SCA : syndrome coronarien aigu ; AIT : accident ischémique transitoire ; AVC : accident vasculaire cérébral(37)	14
Figure 8 : Rôles de la salive (62)	18
Figure 9 : la relation biomarqueurs -salive- IDM (4)	20
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION.....	
Figure 10 : répartition des sujets selon le sexe.....	23
Figure11 : Répartition des sujets selon l'âge.....	24
Figure12 : fréquence d'HTA chez les IDM.....	24
Figure 13 : fréquence de diabète chez les IDM.....	25
Figure 14 : fréquence de tabagisme chez les IDM.....	26
Figure 15 : fréquence de sédentarité chez les IDM.....	26
Figure 16 : fréquence de dyslipidémie chez les IDM.....	27
Figure17: profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par PAGE.....	28
Figure 18 : dendrogramme des 15échantillonsrévèles dans les conditions dénaturantes et réductrices.....	29

Liste des abréviations

AC:	Anticorps
AG:	Anti gène
AGL:	Ligand des Acides Gras Libres
AGS:	Acide gras saturé
ANP:	Atrial Natriuretic Peptide
APS:	Ammonium Persulfate
ARN:	Acides Ribonucléiques
ASAT :	Aspartate Aminotransférase
CgA:	Chromogranin A
CK-MB :	Isoenzyme MB de la créatine kinase
CPK :	Créatine phosphokinase totale
CV :	Cardiovasculaires
ECG:	Electrocardiogramme
EDTA:	Ethylene diamine tetra-acetic acid
EGF:	Epithelialgrowth factor
ELISA:	Enzyme-Linked immunno assay
GGT	Gamma-Glutamyltransferae,,
GOT:	Oxaloacétique-transférase
GOT:	Glutamo-Oxaloacétique transaminase
GPT:	Glutamate pyruvate transaminase
HDL:	High Density Lipoproteins
HF:	Insuffisance cardiaque
H-FABP:	Heart fatty acid binding protein
HMRUC:	Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine
HTA:	Hypertension artérielle
IAS :	Indice de Similarité Absolu
IDM :	Infarctus du myocarde
IFN-γ:	Interféron-γ
Ig:	Immunoglobulines
IL-1:	Interleukine 1
IMC :	Indice de masse corporelle
IRS :	Indice de similarité Relative
LDH :	Lactate déshydrogénase
LDL :	Lipoprotéines de Basse Densité
Lp- PLA2	Lipoproteine-associated Phospholipase A2
MCP-1 :	Monocyte Chemokine protéine
MCV:	Maladies cardiovasculaires
MMP:	Matrix Metalloproteine
MPO:	Myeloperoxidase
MR-pro adm:	Midregional- proadrenomedullin
NGF:	le nerve growth factor
NP:	Natriuretic Peptide
OFNASET:	Test nanosensor oral fluid
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
RC :	Réadaptation cardiaque
SAA :	Salivary Alpha-Amylase
SCA non ST+ :	Syndrome Coronarien Aigu sans élévation du segment ST
SCA ST+ :	Syndrome Coronarien Aigu avec élévation du segment ST

SCA :	Syndrome Coronarien Aigu
SDS :	le Sodium Dodecyl Sulfate
SDS-PAGE:	Sodium Dodecyl Sulfate-Poly Acrylamide Gel Electrophoresis
siCAM-1:	soluble intercellular Adhesion Molecule-I
Slox-I:	Soluble Lectin-like Oxidized low-density lipoproteine receptor-I
TCA:	Trichloroasetic Acid
TCP:	Tube Contournè Proximal
TEMED:	N, N, N', N'-Tetra methyl ethylene diamid
Tn:	Troponine
TNF-a	Tumour Nerosis Factor –alpha
UFMC1 :	Université des Frères Mentouri Constantine
VCAM-1:	Vascular Cell Adhesion Molecule-1
WHO:	World Health Organization



Introduction

Les maladies coronariennes, principalement l'infarctus du myocarde (IDM), comptent parmi les principales causes de mortalité, d'invalidité et de morbidité au monde, elles imposent un lourd fardeau à l'individu, à la collectivité et au système de santé **(1)**.

L'IDM trouve son origine dans une réduction primaire d'apport d'oxygène au myocarde provoquée par la rupture d'une plaque d'athérosclérose qui représente sa cause principale dans la grande majorité des cas **(2)**.

En effet, l'athérosclérose est une maladie multifactorielle dont la genèse fait intervenir plusieurs facteurs de risque (FDR) cardiovasculaires bien identifiés tels que les dyslipidémies, l'hypertension artérielle, le diabète l'obésité et le tabac ; cependant, de nouveaux FDR sont en cours de validation **(3)**.

Les marqueurs cardiaques sont des produits libérés dans le sang lorsque le cœur est endommagé. La mesure de ces marqueurs est utilisée pour aider au diagnostic, et à la surveillance des maladies cardiovasculaires. Des recherches approfondies sur les biomarqueurs des maladies cardiovasculaires ont permis d'élucider diverses protéines associées à cette maladie. Comme environ 27% des protéines salivaires entières ressemblent à celles trouvées dans le plasma, des protéines similaires présentes dans la salive et le plasma seront très utiles pour faciliter la surveillance de la progression de la maladie et des traitements thérapeutiques chez ses patients **(4)**.

Dans ce contexte, nous initions notre travail qui a pour objectif d'investiguer et explorer le protéome salivaire des patients atteints de l'infarctus de myocarde par application de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle pour la recherche de biomarqueurs salivaires.

La première partie de ce travail comprend une synthèse bibliographique, la deuxième partie présente les patients, le matériel et les méthodes utilisées et enfin les résultats et leur interprétation sont présentés dans la troisième partie.



*Revue
bibliographique*

I. Généralité sur le cœur et la pathologie

1. Le cœur

1.1 Rappel anatomique

Le cœur est un muscle creux (poids 270 g chez l'adulte), à contraction rythmique dont la fonction est d'assurer la progression du sang à l'intérieur des vaisseaux. Le cœur est situé dans le thorax entre les deux poumons, il repose sur le diaphragme dans le médiastin antérieur, derrière le sternum et en avant de la colonne vertébrale. Le cœur est de forme pyramidale triangulaire avec un grand axe oblique en avant, à gauche et en bas, une base en arrière et à droite (5).

Le cœur est divisé en une moitié droite et une moitié gauche qui ne communiquent pas entre elles. Chacune de ces parties comporte une cavité d'admission ou oreillette et une cavité d'éjection ou ventricule. Le cœur droit et le cœur gauche sont séparés par une cloison : le septum (6) (figure 1).

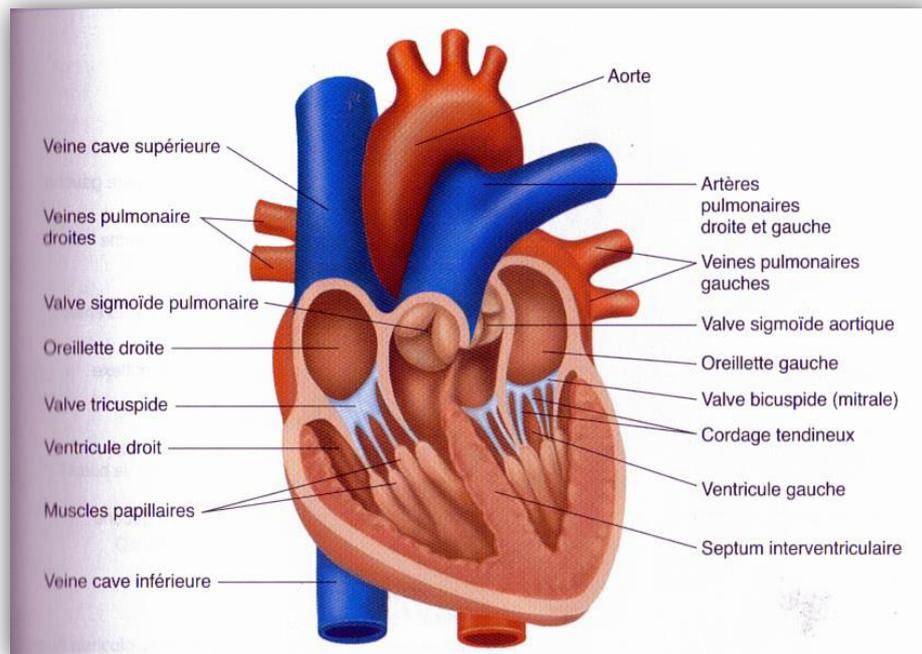


Figure 1 : représentation schématique de l'anatomie du cœur (6).

1.2. Vascularisation du cœur

L'appareil cardiovasculaire comprend le cœur et l'ensemble des vaisseaux sanguins : artères, veines, capillaires et vaisseaux lymphatiques (7).

1.2.1. Les artères

La paroi artérielle normale est constituée de trois tuniques qui sont de l'intérieur vers l'extérieur : l'intima, la media et l'adventice (figure2)

a. Intima

C'est la tunique la plus interne au contact de la lumière du vaisseau. Elle consiste en une couche unique des cellules endothéliales et elle joue un rôle majeur d'interface entre le sang et la paroi artérielle.

b. Media

C'est la tunique centrale, la plus épaisse de la paroi artérielle formée essentiellement de cellules musculaires lisses.

c. Adventice

C'est la tunique externe (périphérique) des artères (8).

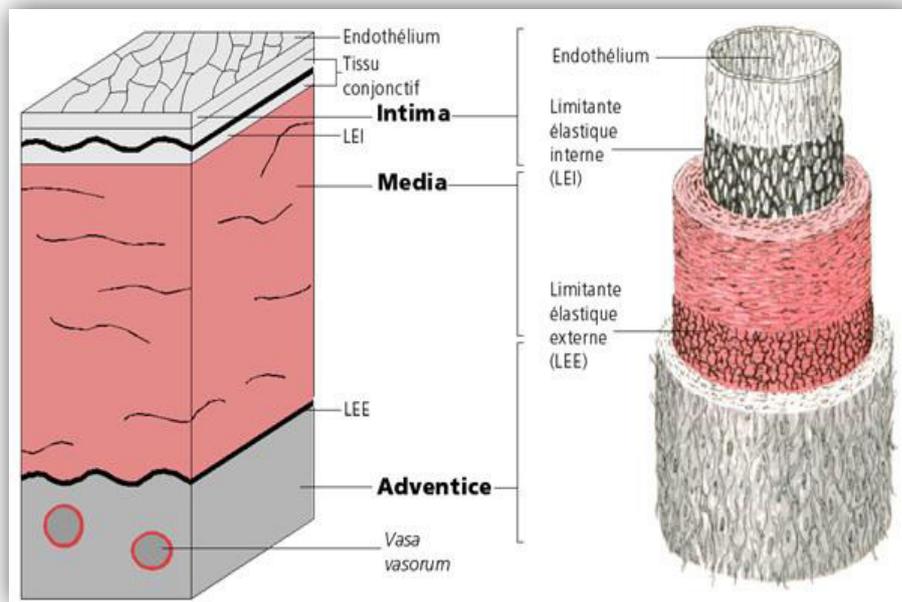


Figure 2 : les 3 tuniques des artères (8).

1.2.2. Les veines

Leur structure se rapproche de celle des artères. L'intima veineux des membres inférieurs, comportent des valvules en forme de replis de pigeons, permettant le retour veineux (5).

1.2.3. Les capillaires

Les capillaires sont des vaisseaux microscopiques (les plus petits vaisseaux sanguins), intermédiaires entre les artères et les veines reliant ces deux systèmes, et grâce auxquels le sang parvient au contact direct de toutes les cellules de l'organisme, de faible diamètre formés d'une seule couche endothéliale, perméables aux globules blancs et aux substances de faible poids moléculaire. Les capillaires sont largement anastomosés entre eux, c'est-à-dire qu'ils communiquent entre eux et le sang circule très lentement dans les capillaires (9).

2. Définition de l'IDM

2.1. Définition universelle de l'infarctus du myocarde

Récemment une nouvelle définition de l'IDM a été proposée. Le terme infarctus aigu du myocarde (IDM) doit être utilisé lorsqu'il existe des preuves de nécrose myocardique dans un contexte clinique d'une ischémie myocardique aiguë. Egalement une nouvelle classification en cinq type de l'IDM a été proposée (tableau1) (10).

Tableau 1 : les types d'infarctus de myocarde (10).

type 1	IDM spontané en rapport avec une ischémie liée à une lésion coronaire telles une érosion ou une rupture de plaque, une dissection ou une fissure ;
type 2	IDM secondaire à une ischémie liée à un déséquilibre entre les apports et les besoins en oxygène (spasme coronaire, anémie, hypotension par exemple) ;
type 3	mort subite cardiaque avec des signes cliniques et électriques d'ischémie ou la constatation d'un thrombus à la coronarographie ou à l'autopsie, mais survenant avant que les dosages enzymatiques ne soient réalisés ;
type 4	4a : IDM associé à un geste d'angioplastie ; 4b : IDM associé à une thrombose de stent documenté par angioplastie ou à l'autopsie
type 5	IDM postpontage aortocoronaire.

2.2. Nomenclature de l'IDM

L'IDM est défini par la World Health Organization (WHO) comme l'association d'au moins deux des trois critères suivants : une histoire clinique de douleur thoracique d'allure angineuse de plus de vingt minutes, des modifications sur l'ECG et l'élévation puis la diminution des marqueurs cardiaques (critères de WHO). Puis le concept de SCA est apparu, plus adapté à la médecine d'urgence, avec une dichotomie entre SCA sans élévation du segment ST (SCA non ST+) et

avec élévation du segment ST (SCA ST+). Son diagnostic repose essentiellement sur l'identification de modifications de l'ECG (figure 3) (11).

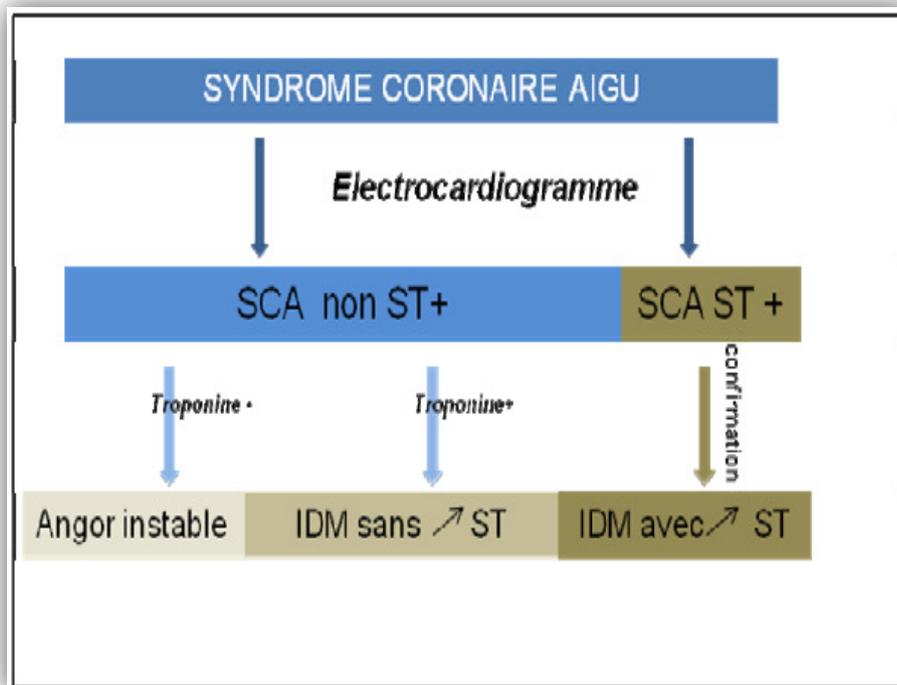


Figure3 : les différents types de syndromes coronaires aigus (11).

3. facteur de risque d'IDM

3.1. Facteurs non modifiables

3.1.1. L'âge

Les patients les plus âgés ont de plus nombreux facteurs de risque, et plus fréquemment des antécédents cardiovasculaires et des pathologies associées. De façon prévisible, les patients âgés représentent une population très spécifique, caractérisée par la présence plus fréquente d'antécédents cardiovasculaires et de comorbidités. Il s'agit pourtant d'une population numériquement importante, la douleur typique reste le symptôme essentiel, mais celle-ci est moins intense que chez les patients plus jeunes (12).

3.1.2. Le sexe

L'homme à un risque d'infarctus beaucoup plus élevé que la femme. Sur 100 infarctus, seulement 20 surviennent chez la femme. Cette protection est rattachée

à l'influence bénéfique des œstrogènes mais elle disparaît 10 à 15 ans après la ménopause. A la présence des facteurs de risque, concerne le diabète, l'hypertension artérielle et le profil lipidique (13).

3.2. Les facteurs modifiables

3.2.1. Tabac

Le tabagisme semble en être le principal facteur de risque modifiable responsable, de la mort. L'épidémie de tabagisme tue près de 6 millions de personnes chaque année dans le monde (données OMS). Plus de 5 millions sont des consommateurs ou d'anciens consommateurs et 600 000 des non-fumeurs, exposés à la fumée de tabac. De l'ordre de 12 % de l'ensemble des décès des adultes de plus de 30 ans sont attribuables au tabagisme. La moitié des consommateurs réguliers actuels mourront d'une maladie liée au tabagisme. En l'absence de modification de prévalence, le tabagisme, qui a fait 100 millions de morts au XX^e siècle, pourrait en faire 1 milliard au XXI^e siècle (14).

3.2.2. Hypertension artérielle

L'hypertension artérielle représente le premier facteur de risque de mortalité dans le monde. Elle augmente le risque d'accident vasculaire cérébral, de maladie coronaire, d'insuffisance cardiaque, d'insuffisance rénale, de troubles cognitifs. Elle a été à l'origine de 7 à 8 millions de décès dans le monde en 2011.

la principale complication de l'hypertension est l'accident vasculaire cérébral. La deuxième complication la plus fréquente est l'insuffisance cardiaque. La troisième complication, en fréquence, est l'infarctus du myocarde IDM qui est aussi souvent mortel que non mortel. Une méta-analyse portant sur un million d'individus a montré qu'à tout âge, l'HTA est un facteur de risque important de mortalité cardiovasculaire (15).

3.2.3. Dyslipidémies

Les dyslipidémies sont un des paramètres majeurs du risque cardiovasculaire. Afin d'apprécier l'importance populationnelle des dyslipidémies, il est impératif d'en connaître la prévalence et la distribution chez les sujets sains et chez les patients vasculaires.

Le risque cardiovasculaire lié aux dyslipidémies est clairement identifié. Il est basé sur le risque conjoint d'un LDL-cholestérol élevé, d'un HDL-cholestérol bas et de triglycérides anormalement élevés (16).

3.2.4. Obésité

L'obésité est associée aux infarctus de myocarde et l'insuffisance cardiaque (HF). Il a des effets indésirables sur les composants métaboliques associés à la maladie cardiovasculaire, y compris la pression artérielle, la glycémie, la tolérance au glucose, et les lipides sanguins (17). L'augmentation de la masse grasse intra-abdominale, qui augmente plus le risque cardiovasculaire. La perte de poids et surtout la diminution de l'obésité abdominale est corrélée avec une diminution des complications cardiovasculaires (18).

3.2.5. Diabète

La Maladie coronarienne, et particulièrement l'infarctus, est une cause majeure de morbidité et de mortalité parmi les patients diabétiques. Par rapport aux non-diabétiques ayant une maladie coronarienne, Selon Le National Cholesterol Education Program, Le diabète de type 2 doit être considéré comme un équivalent de maladie coronarienne, l'élevant ainsi à la catégorie de risque la plus élevée (19).

3.2.6. Sédentarité

Le manque d'activité physique régulière est associé à une augmentation du risque de mortalité cardiovasculaire dans la plupart des études épidémiologiques. L'activité physique régulière modifie certains facteurs de risque par exemple le maintien d'un poids normal, la diminution de la consommation de tabac, la diminution du LDL-cholestérol, l'augmentation du HDL-cholestérol, et la diminution de la pression artérielle (20).

Autres facteurs modifiables

Facteurs nutritionnels

Des études nutritionnelles ont ensuite souligné l'importance des liens entre certains profils nutritionnels la consommation d'AG insaturés, d'AGPI n-3, de fruits et légumes, de légumineuses, de fibres, tandis que les AGS et les AG trans ont un impact délétère (dietary patterns) et le risque de survenue de maladies CV Dans la Nurses' Health Study , avoir une alimentation dans le quintile le plus favorable réduit (en analyse multi variée) de 45 % le risque coronarienne par rapport au quintile le plus défavorable. Si on ajoute les autres caractéristiques d'une vie

saine (pas de tabac, exercice régulier, indice de masse corporelle [IMC] < 25), le risque est cette fois réduit de 66 % (21).

La lutte contre les facteurs de risque est fondamentale tant en prévention primaire qu'en prévention secondaire. Elle est importante tant dans le cadre des maladies cardiovasculaires que dans celui des maladies pulmonaires ou de l'oncologie.

Les facteurs génétiques

Des progrès considérables ont été réalisés récemment dans la compréhension des aspects génétiques de la maladie coronaire et de l'IDM. La prise en charge et la prévention de l'IDM pourraient être radicalement transformée par ces informations génétiques. En effet, on pourrait imaginer dans un futur proche une médecine « personnalisée » selon les prédispositions génétiques. De nombreux travaux ont incriminé à travers cette forte prévalence familiale une prédisposition génétique favorisant l'apparition précoce de l'athérome coronaire et de ses complications thrombotiques (22).

Les facteur psychiques

Le stress psychosocial est à la fois un facteur de risque indépendant et un facteur pronostique majeur en cardiologie. Il Comporte des facteurs psychologiques, sociologiques et socioéconomiques. La Maladie cardiaque est elle-même une importante source de stress psychosocial. La Connaissance de l'organisation cérébrale qui résulte de l'évolution des espèces permet de mieux comprendre la relation entre le stress psychosocial et le risque cardiovasculaire. Le Stress psychosocial agit sur la pathologie cardiaque en provoquant ou en aggravant les autres facteurs de risque biologiques ou comportementaux, en déclenchant une dysfonction endothéliale, des phénomènes inflammatoires et pro coagulants et en favorisant des modifications épigénétiques (23).

L'activité physique

La Pratique régulière d'une activité physique permet d'améliorer la morbi-mortalité du patient coronarien, en améliorant ses capacités fonctionnelles certes, mais également en l'aidant à corriger ses facteurs de risque. L'activité Physique doit donc faire partie de l'ordonnance du, coronarien ; Les centres de rééducation cardiaque ont un rôle fondamental à jouer dans cette reprise d'activité physique adaptée à l'événement coronarien et à ses complications éventuelles. L'éducation

Thérapeutique et le suivi multidisciplinaire participent aussi largement à la prévention secondaire (24).

Les facteurs thrombogénique

Fibrinogène Facteur VII et .Il est aujourd'hui clairement démontré que le fibrinogène comme le cholestérol sont de puissants prédateurs du risque cardiovasculaire, les auteurs montrent, sur un suivi de 18 ans, que chaque augmentation d'une déviation standard de fibrinogène s'accompagne d'une majoration du risque coronarien de 30 % chez l'homme et de 40 % chez la femme(25).

4. Epidémiologie

4.1. Dans le monde

Les Maladies cardiovasculaires (MCV) sont la première cause de mortalité dans le monde. On estime à 17,3 Millions le nombre de décès annuels liés à ces pathologies, soit 30 % de la mortalité à l'échelle planétaire (26).

4.2. En Algérie

En Algérie l'IDM est responsable de plus de 25000 morts en 2013, deux fois plus que le cancer. Les chiffres avancés par les spécialistes sont implacables : plus de 2000 morts chaque mois à cause de l'IDM seulement, dont 25% des malades meurent avant même d'arriver à l'hôpital (27).

5.Étiologies

5.1 Athérosclérose coronaire

La principale étiologie (95 %) de l'IDM c'est l'athérosclérose est une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibre. Elle consiste en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang, de produits sanguins, de tissus fibreux et de dépôts calcaires, le tout accompagné de modifications de la média » (définition de l'OMS). Les plaques d'athéroscléroses peuvent être stables ou instables. La stabilité de la plaque dépend de multiples facteurs comme : sa composition, la tension exercée sur la paroi, la taille et la topographie de son noyau. Les plaques stables

régressent, se stabilisent ou évoluent lentement sur plusieurs décennies. Une obstruction de la lumière de 70% est habituellement nécessaire pour amener des symptômes. Si la plaque est instable, lorsqu'elle se rompt, son contenu est exposé au sang circulant, ce qui entraîne la thrombose. La rupture expose le matériel thrombogénique, ce qui active les plaquettes et la cascade de la coagulation entraînant une thrombose aiguë et une ischémie. (28).

5.2. Autres causes

Elles sont rares et sont très succinctement représenté dans le tableau suivant (tableau 2).

Tableau 2 : étiologies de l'infarctus du myocarde en dehors de l'athérosclérose coronaire (29).

❖ Coronaropathie non athérosclérose

- Artérites : syphilis, maladie de Takayasu, maladie de Kawasaki, périartérite noueuse, lupus, polyarthrite rhumatoïde, spondylarthrite ankylosante
- Spasme coronaire
- Atteinte coronaire lors d'une dissection aortique
- Épaississement pariétal des coronaires : mucopolysaccharidoses, amylose, maladie de Fabry, fibrose coronaire liée à la radiothérapie

❖ Embolies coronaires

- Endocardite infectieuse
- Endocardite marastique thrombosante
- Prolapsus de la valve mitrale
- Thrombose de l'oreillette gauche ou du ventricule gauche
- Prothèse valvulaire
- Myxome de l'oreillette gauche
- Iatrogènes : chirurgie cardiaque, cathétérisme coronaire

❖ Anomalies congénitales des artères coronaires

- Anomalie de naissance aortique des coronaires
- Naissance anormale d'une coronaire à partir de l'artère pulmonaire
- Fistule coronaire
- Anévrisme coronaire

❖ Déséquilibre majeur de la balance apport/consommation myocardique

en O2

- Pathologie valvulaire aortique : sténose aortique, insuffisance aortique
- Hyperthyroïdie
- Hypotension prolongée
- Intoxication au CO

❖ **Causes hématologiques**

- Thrombocytose
- Polyglobulie
- États d'hypercoagulabilité
- Coagulation intravasculaire disséminée divers.
- Contusions myocardiques
- Complications du cathétérisme coronaire
- - Drogue : cocaïne

6. Physiopathologie de l'IDM

L'IDM est lié à l'occlusion d'un vaisseau coronaire responsable d'une ischémie myocardique sévère puis d'une nécrose. La rupture d'une plaque d'athérome suivie de la formation d'un thrombus occlusif est le principal phénomène physiopathologique (28).

6.1. Constituants d'une plaque athéromateuse

La plaque d'athérome (figure 4) est un épaississement localisé au niveau de l'intima artérielle et se compose de 2 parties :

- ❖ Le corps lipidique au centre de la plaque « athérome » (c'est le centre graisseux, qui est constitué de lipides jusqu'au 60% de la plaque et de cellules spumeuses qui sont souvent des macrophages ou des cellules musculaires lisses) (29). Les lipides sont localisés à l'intérieur de monocytes et de macrophages spumeux (30).
- ❖ Une chape fibreuse entourant le corps lipidique « sclérose » : (la couche située entre le centre graisseux et la lumière artérielle est appelée chape fibreuse (31), faite de cellules musculaires lisses et de collagène) (30).

La sclérose qui entoure le centre graisseux détermine la rigidité de la plaque athéromateuse et on distingue :

- ❖ La plaque "dure" très riche en collagène et pauvre en lipides.

- ❖ La plaque "molle" riche en lipides et recouverte d'une mince chape fibreuse (figure4) (32).

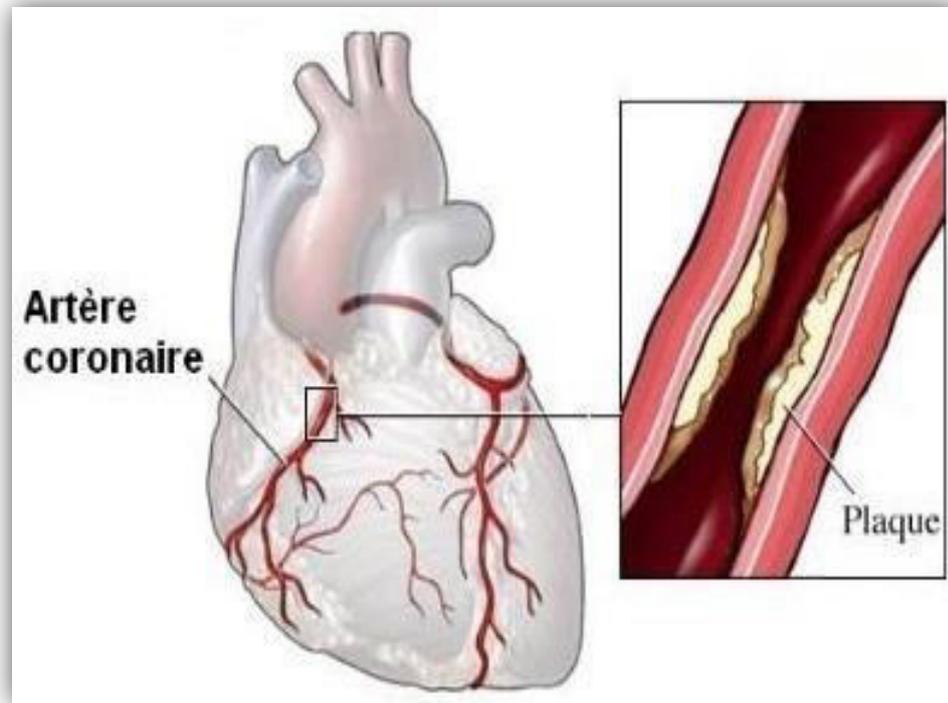


Figure 4 : la plaque d'athérome (32).

6.2. Evolution de la plaque d'athérome

L'infiltration et la rétention des LDL (low density lipoprotein) puis leur oxydation dans l'espace sous-endothélial active les cellules endothéliales. Ainsi, les facteurs chimiques et les facteurs physiques agissent de concert pour activer l'endothélium et initier la formation de la plaque. Les cellules endothéliales, une fois activées, expriment plusieurs types de molécules d'adhérence leucocytaire et de chimiokines qui permettent aux cellules sanguines de rouler puis d'adhérer à la surface vasculaire. P-sélectine, VCAM-1 et l'interleukine (IL) 8 (33, 34) sont les plus importantes à ce stade. Ensuite des chimiokines comme monocyte chemokine protéine (MCP-1), produites par les cellules endothéliales et les cellules musculaires, stimulent la migration des cellules inflammatoires vers le sous-endothélium.

Le rôle fondamental des monocytes/macrophages dans le développement de la plaque d'athérosclérose est évoqué depuis longtemps car les lésions athérosclérotiques sont très riches en macrophages, surtout aux stades précoces. la

prolifération et/ou la maturation des monocytes circulants en macrophages, sont résistantes au développement de l'athérosclérose, malgré des taux de cholestérol circulant très élevés, ce qui suggère le rôle majeur des macrophages dans le développement des lésions. Les macrophages, via certains récepteurs «éboueurs » (SR-AI, SR-AII, CD36...), phagocytent des LDLox, des phospholipides, des débris cellulaires et se transforment en cellules spumeuses. Ils entretiennent le processus inflammatoire en produisant des cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-12 (qui active les lymphocytes T CD4 + pathogènes) et déstabilisent la plaque en sécrétant, notamment, des radicaux libres oxygénés et des métalloprotéases. Ces cellules inflammatoires jouent aussi un rôle central dans la vulnérabilité des plaques d'athérosclérose (figure 5) (35).

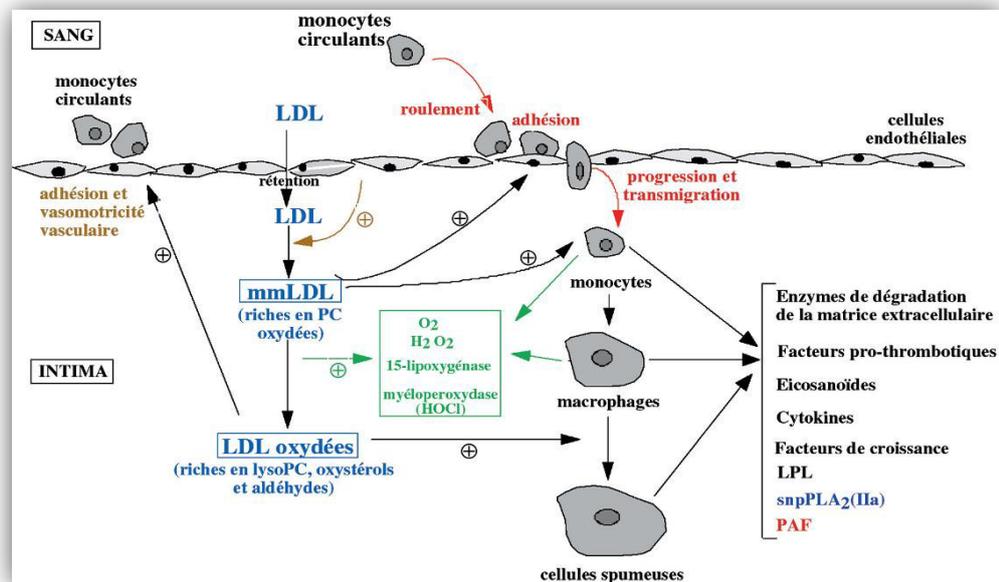


Figure 5 : évolution de la plaque d'athérome (35).

6.3. Rupture de la plaque d'athérome

L'accident aigu de rupture de la plaque d'athérome est pratiquement toujours un phénomène mécanique qui se situe au niveau de la chape fibreuse, cette rupture de plaque est secondaire à des causes extrinsèques tels qu'une poussée d'hypertension artérielle et/ou un stress important et des causes intrinsèques, appelées «vulnérabilité de la plaque » qui résultent grossièrement de deux types de facteurs : plaque avec un important cœur lipidique (taux élevé des LDL-Cholestérol), ou plaque avec une chape fibreuse fragilisée (36).

La rupture de la plaque d'athérome expose les constituants sous-endothéliaux (collagène, fibronectine, vitronectine..) aux plaquettes circulantes, ce qui met en

jeu des mécanismes d'adhésion puis d'agrégation plaquettaire qui aboutissent à la formation du thrombus plaquettaire intra coronaire occlusif (figure 6). Ce thrombus, dépendamment de son importance, peut entraîner un syndrome clinique aigu (figure 7). L'occlusion brutale d'une artère coronaire ce qui entraîne un déséquilibre entre les besoins tissulaires en oxygène et l'apport de sang artériel, il en résulte une ischémie myocardique. Si cette dernière dépasse les 30 minutes, le processus de nécrose myocardique irréversible débute : il s'agit de l'infarctus du myocarde (37).

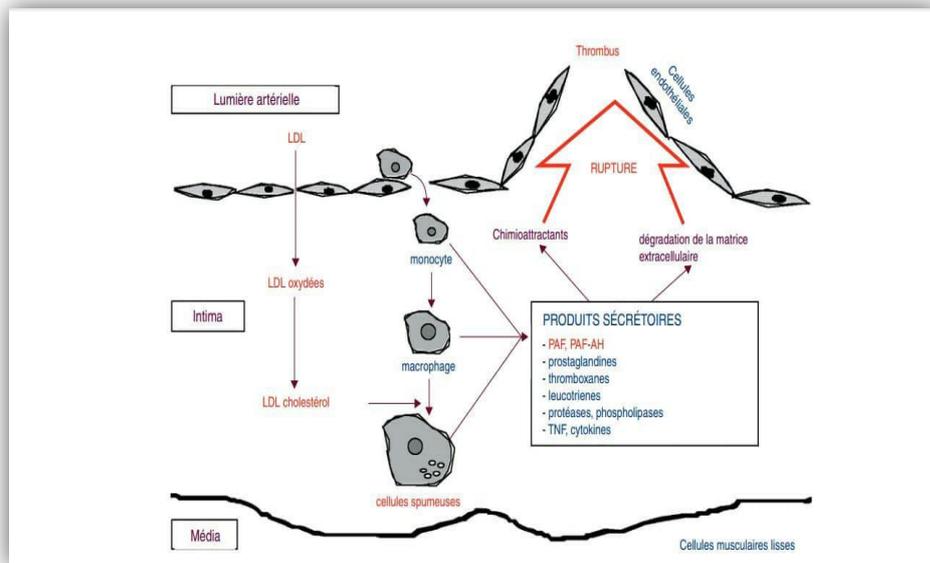


Figure 06 : la rupture de la plaque d'athérome (35).

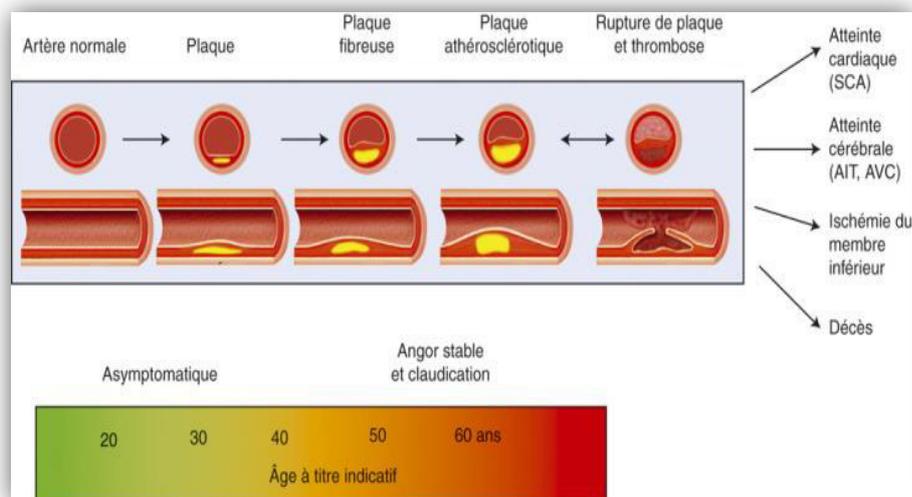


Figure 7 : risque cardiovasculaire. SCA : syndrome coronarien aigu ; AIT : accident ischémique transitoire ; AVC : accident vasculaire cérébral (37).

II. la salive

1. Définition

La salive est la première sécrétion digestive ; est un liquide biologique incolore transparent insipide très aqueux. Légèrement filant d'une densité 1002 à 1006 (38.39); produite par les glandes salivaires majeurs (parotide ; submandibulaire ; sublinguale) ou mineurs qui tapissent la cavité buccale (40) .la quantité de salive secrète est environ 1500 ml par jour(41) ; et le flux salivaire varie généralement entre 0.3et 0.5 ml/min pour la salive au repos et entre 1 et 1.5 ml/min pour la salive stimulée(42).

2. Composition de la salive

La salive est un mélange complexe de sécrétions produites par les glandes salivaires, de résidus alimentaires, de fluide gingival, de cellules épithéliales desquamées, de bactéries orales non adhérentes, de transsudat de la muqueuse orale, de nombreux électrolytes d'origine plasmatique, etc. Elle est composée à 99% d'eau, le 1% restant est représenté par des constituants organiques et inorganiques. Son PH varie entre 5,3 et 7,8 chez l'homme(43).

2.1. L'eau

Constitue 99%de la salive dont le rôle est l'humidification du bol, la solubilisation des substances, ce qui permet de détecter le goût (44).

2.2. Constituants inorganiques

La composition inorganique dépend entièrement du stimulus et du débit salivaire ce dernier est stimulé pendant la période postprandiale. Chez l'homme, la sécrétion salivaire est toujours hypotonique(45). Les constituants inorganiques regroupent différents minéraux présents sous forme de sel (tableau3). Le cuivre, le fer et les fluorures sont à l'état de traces. La concentration de tous ces ions et électrolytes est toutefois sous la dépendance de nombreux facteurs comme le type de glande, le débit salivaire, la durée et la nature de la stimulation ou la rythmicité biologique (46).

Tableau 3 : concentrations ioniques dans la salive (mmol/l sauf pour I et F) (47).

	Salive entière (fluide buccal)				Salive parotide		Salive sous-max	
	Non-stimulée		stimulée		Non-stimulé	stimulé	Non-stimulé	stimulé
	Moyen	Marge	moyen	Marge				
pH	6.0	5.7-6.2	2.3	→8	5.5	7.4	6.4	7.4
Na ⁺	8	6-26	32	13-80	1.3	36	3	45
K ⁺	21	13-40	22	13-38	24	21	14	17
Ca ⁺⁺	1.35	05-2.8	1.7	0.2-4.7	1.05	1.6	1.6	2.4
Mg ⁺⁺	0.3	0.1-0.6	0.4	0.2-0.6	0.15	0.12	0.07	0.4
Cl ⁻	24	8-40	25	10-56	22	28	12	25
HCO ₃ ⁻	2.9	0.1-8	20	4-40	1	30	4	18
HPO ₄ ⁻	5.5	2-22	10	2-25	9	4	6	5
I ⁻ (μmol/l)			14	2-30	0.5-2.3	0.2-1.2	1	0.5
F ⁻ (μmol/l)	1.5	0.2-2.8	5	0.8-6.3	1.5	1.0		

2.3. Les constituants organique

Parmi les composés organiques, on compte essentiellement les protéines telles que des facteurs de croissance, principalement le nerve Growth factor (NGF) et l'Epithelialgrowth factor (EGF). L'urée, l'acide urique en plus de 3 000 acides ribonucléiques (ARN) messagers ont été identifiés(48). Concernant les hormones, elles se trouvent en très petite quantité : les androgènes, l'insuline et les hormones thyroïdiennes ; le cortisol. On trouve aussi les lipides en quantité plus importants que dans le plasma, 20 à 30 mg ainsi que les glucides(49) (tableau4). L'essentiel des composants organiques de la salive est représenté par deux catégories de protéines : les protéines extrinsèques issues du sérum, et les protéines intrinsèques, synthétisées par les glandes salivaires. Et selon Le « Consortium du Protéome Salivaire Humain » il y a 1166 protéines identifiées dans la salive (50). La nature et le rôle précis de nombre d'entre elles sont encore inconnus. Il y a environ 2,5 grammes de protéines dans 1 litre de salive émise à faible débit. La concentration en protéines augmente en général avec le débit salivaire (51)

- **Les protéines extrinsèques**

Elles sont représentées par des albumines sériques 5 à 10%des protéines totales, des immunoglobulines de type IgA, IgG, IgM et des alpha et bêta-globuline, des calprotectine...etc. (52). Leur concentration qui passait dans la salive est assez élevée

(20 % des protéines totales) décroît lorsque le débit salivaire augmente(51) (tableau 2).

- **Les protéines intrinsèques**

Elles sont synthétisées par les glandes salivaires elles-mêmes. Le protéome salivaire comprend plus de 700 protéines qui sont classées en plusieurs familles et leur dénomination ne répond pas à des critères bien définis, mais repose selon leurs caractéristiques fonctionnelles (ex : enzyme), leur composition en acides aminés (proline, cystatine) ou autres (tableau4) (38, 53,54).

Tableau 4: composition organique de la salive (Concentrations en mg/l sauf où indiquées) (55).

	Salive totale		Salive parotidienne		Salive sous-maxillaire	
	Moyenne	Ecart	Moyenne	Ecart	Moyenne	Ecart
Protéines	1750		2300		1100	
-Albumine	25		2		11	
-γ-globulines	50		80		60	
-Mucoprotéines	450		800		800	
-Amylase	420		1000		300	
-Lysozyme	140		200			
-Sialoperoxidase		5-6				
-Lactoferrine		1-2		1-2		
-PRP			2000			
-Histatines			100			
-Fibronectine		2-6		2-6		2-6
Hydrates de carbone		270-400	450		300	
Glucose(mmol/l)		0.02-0.17	0.03		0.03	
Lipides	20		20		20	
Cortisol(mmol/l)		2-20				
Acides aminés	40		10		20	
Urée(mmol/l)		2.0-4.2		2.0-4.2		0.7-1.7
Ammonium (mmol/l)		0.6-7.0		0.6-7.0		0.2-7.0

3. Rôle de la salive

La salive, du fait de composition, assume plusieurs rôles au sein de la cavité orale (figure8). Elle lubrifie et protège les muqueuses orales, pharyngéale et œsophagienne. La salive est également responsable de la protection de l'émail dentaire et de la régulation du pH. Elle exerce une activité antimicrobienne et intervient dans les premières phases de la digestion.

Enfin, la salive joue un rôle dans la perception gustative, en intervenant, entre autres, dans la maturation des bourgeons gustatifs ou le transport de molécules sapides(50).

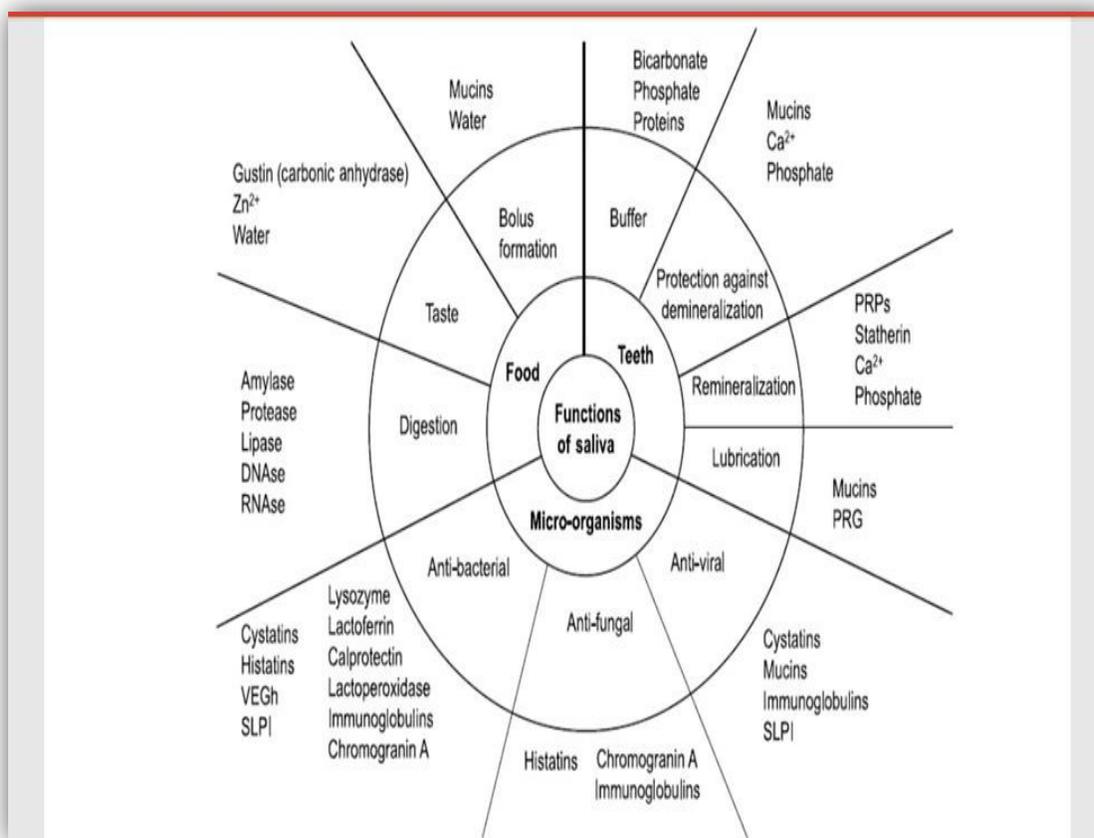


Figure 8 : rôles de la salive (56).

III. LES BIOMARQUEURS

1. Définition

Un biomarqueur est défini comme un paramètre mesuré objectivement et qui sert à évaluer un processus physiologique ou physiopathologique, à diagnostiquer ou à prédire une maladie(57).

2. Historique

Les biomarqueurs sanguins de la nécrose myocardique ont connu une évolution transformative au cours des 60 dernières années. L'histoire des biomarqueurs cardiaques a commencé avec des tests insensibles et non spécifiques dans les années 1950 et 1960 sont : (aspartate aminotransférase [AST], anciennement appelé sérum glutamique oxaloacétique transaminase [SGOT] et créatine phosphokinase totale [CPK]. Les améliorations progressives de la découverte et de la commercialisation des essais ont historiquement conduit à la mise au point de tests de troponine I et T sensibles et cardiospécifiques à haute sensibilité. Le rôle des biomarqueurs cardiaques dans le diagnostic clinique a également changé avec le temps. Les résultats des tests de biomarqueurs cardiaques peuvent maintenant être mis à disposition dans un délai de 20 minutes à compter du moment du prélèvement sanguin à l'aide de dispositifs d'analyse. Les améliorations de la sensibilité et de la spécificité des biomarqueurs cardiaques, ainsi que la capacité à fournir des délais rapides, ont rendu ces nouveaux marchés d'une importance primordiale dans le diagnostic immédiat et la gestion clinique, des patients atteints de syndromes coronaires aigus(58).

3. Qualités du marqueur cardiaque idéal

Un marqueur cardiaque doit avoir idéalement les caractéristiques suivantes :

- être cardiospécifique et sensible ; il ne doit être synthétisé et libéré que par le cœur et absent (ou en faible concentration) dans le sang des sujets sains;
- apparaître très tôt dans la circulation, permettant ainsi la reconnaissance précoce des infarctus ou des patients à risque de développer un infarctus ;
- avoir une demi-vie suffisamment longue pour permettre les diagnostics tardifs,
- présenter des augmentations corrélées au pronostic ;

- pouvoir être dosé à l'aide d'une méthode adaptée à l'urgence, rapide, facilement praticable et standardisable, et possédant une bonne sensibilité et précision analytiques (59).

4. Les marqueurs utilisés dans le diagnostic et le suivi des maladies cardiovasculaires

Les marqueurs biologiques sériques utilisés dans le diagnostic, le pronostic et même le suivi des maladies cardiovasculaires sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 5 : Biomarqueurs des maladies cardiovasculaires

Types	Marqueurs
Les marqueurs enzymatiques non spécifiques	ASAT (aspartateaminotransférase)
	Créatine phosphokinase (CPK ou CK)
	Iso enzyme MB de la créatine kinase (CK–MB)
	Lactate déshydrogénase(LDH)
Les marqueurs non enzymatiques	Myoglobine
	Le complexe de troponines <ul style="list-style-type: none"> • La troponine I (TnI) • La troponine C • La troponine T
	La Protéine C-Réactive
	Heart Fatty Acid Binding Protein (h-FABP):

5. La relation biomarqueurs –salive- IDM

Les protéomes salivaires ont une relation avec l'IDM, la perspective d'utiliser des échantillons de salive dans le diagnostic de l'IDM est intéressante pour un grand nombre de scientifiques en raison de sa nature non invasive et économique. Des recherches approfondies sur les biomarqueurs sur les maladies cardiovasculaires ont permis d'élucider diverses protéines associées à cette maladie. Comme environ 27% des protéines salivaires entières ressemblent à celles trouvées dans le plasma, des protéines similaires présentes dans la salive et le plasma seront très utiles pour

faciliter la surveillance de la progression de la maladie et des traitements thérapeutiques chez ses patients. En association avec l'IDM, certaines études sur les protéines plasmatiques a révélé la présence de biomarqueurs de lésion myocardique, stress myocardique, inflammation, activation neuroendocrinienne, processus athérosclérotique, activation plaquettaire, instabilité de la plaque, dysfonction endothéliale, et étirement myocardique. Parmi toutes ces protéines, les peptides natriurétiques, la protéine C-réactive (CRP), la créatine kinase (CK) et la troponine cardiaque ont été inclus comme biomarqueurs cardiaques couramment utilisés dans les soins cardiaques aigus (figure15) (4).

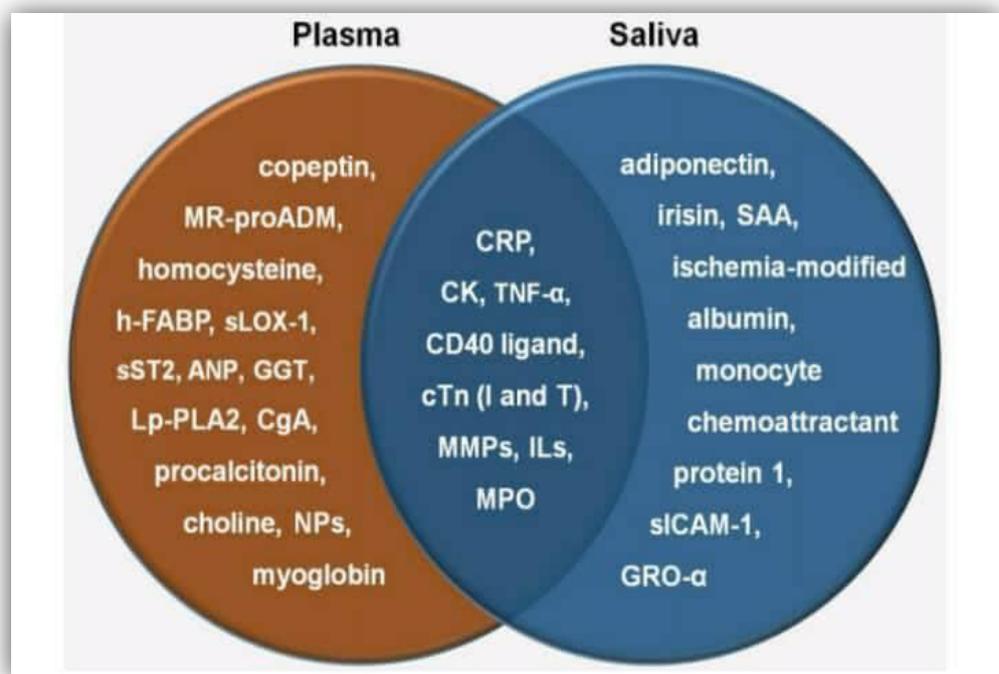


Figure 9 : la relation biomarqueurs-salive- IDM (4).

Matériel
et
Méthodes

I. Matériel biologique

1. Recrutement des patients

Notre étude a porté sur 14 patients ayant un infarctus du myocarde provenant du service de cardiologies Médicale au niveau de l'hôpital militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). Les patients recrutés sont âgés entre 34 et 84 ans dont la pathologie est au stade initial modéré ou avancé. Cette population a été comparée à un sujet sain, sans pathologies connues et possédant une bonne hygiène buccale.

2. Recueil de la salive

Pour le recueil de la salive, nous avons adopté la méthode décrite par (60) avec quelques modifications. La salive totale est prélevée le matin, 2 heures après le petit déjeuner (environ 10 heures du matin) après que le patient se soit brossé les dents avec une brosse à dent dépourvue de dentifrice. Afin de favoriser la salivation, le patient doit boire un verre d'eau 15 minutes avant le prélèvement, et mâcher un petit bout de para film (environ 3 cm²), pendant quelques minutes. Trois ml de salive totale est ainsi prélevés dans des tubes stériles. Les échantillons salivaires sont ensuite centrifugés à 10000 t/min pendant 15 minutes afin de supprimer les mucines et les débris cellulaires et alimentaires encore présents dans la salive. Une fois prélevé, le surnageant est immédiatement congelé (-20°C) jusqu'aux analyses.

II. Techniques d'électrophorèse

1. Extraction des protéines salivaires

L'extraction des protéines a été réalisée à partir de la salive des patients malades et du sujet sain obtenue après centrifugation de la salive totale. L'extraction a été réalisée dans des conditions dénaturantes et réductrices.

100 µl de salive des patients malades et du sujet sain sont mélangés avec 100 µl de solution d'extraction contenant 35% (V/V) de glycérol, 22% (V/V) de tri/HCL 1M pH 6.8, 43% (V/V) d'eau distillée, 7%(P/V) de SDS et quelques grains de bleu de bromophénol

2.5% (V/V) de β - Mercaptoéthanol sont rajoutés au mélange pour réduire les protéines salivaires. Après agitation pendant 1h à température ambiante, les mélanges sont incubés à 65°C pendant 30 minutes puis centrifugés à 10000t/min pendant 1 minute. Les surnageants contenant les protéines salivaires dissociées et réduites sont récupérés.

2. Electrophorèse mono dimensionnelle SDS-PAGE

Aux différentes étapes d'extraction, la composition protéique dans des conditions dénaturantes (présence de SDS) et réductrices est caractérisée par migration électrophorétique en gel de polyacrylamide de 1,5 mm d'épaisseur avec un système vertical.

L'électrophorèse est réalisée suivant la méthode de Laemmli (61) modifiée par Singh (62). Le gel de séparation contient 12,56% de polyacrylamide et le gel d'alignement 2,88%.

Les échantillons sont déposés à raison de 50 μ l par puits. La migration est effectuée à 40 mA par gel dans un tampon Tris 25 mM pH 8,3 contenant 1,4 % (p/v) de glycine et 0,1% (p/v) de SDS. Une fois la migration électrophorétique achevée, le gel est révélé au moyen d'une coloration au Bleu de Coomassie à 12% (p/v) de TCA et 5 % (v/v) de solution mère de Bleu de Coomassie R250 à 1 % dans l'éthanol pendant toute la nuit. Ils sont enfin décolorés dans l'eau de robinet.

III. Analyse des gels et étude statistique

1. Analyse des gels

Il s'agit d'une lecture biochimique qui consiste à déterminer et à révéler la mobilité de la bande considérée comme biomarqueur et à de chaque bande décelable dans le gel. Le traitement des données d'électrophorèse fait appel au calcul des indices de similarité.

2. Analyse statistiques

Le traitement des données a fait appel à des méthodes statistiques. Les fréquences et les indices de similarité ont été effectués à l'aide d'Excel 2010. L'établissement des dendrogrammes est réalisé à l'aide du logiciel Statistica version 6.0.

Résultats
et
Discussion

I- Etude épidémiologique

1-Répartition des patients selon le sexe

La répartition des patients dans la population étudiée montre une nette prédominance masculine où sur les 59 patients nous retrouvons, 54 du sexe masculin, ce qui représente un taux de 91,53% par rapport aux femmes qui sont au nombre de 5 avec un taux de 8,47%(figure 10).

Cela peut s'expliquer par le fait que l'homme a un risque d'athérosclérose beaucoup plus élevé que la femme qui sont dus à l'influence bénéfique des œstrogènes naturels sur le profil lipidique, la sensibilité à l'insuline et sur la pression artérielle. Cette protection disparaît 10 à 15 ans après la ménopause (19).

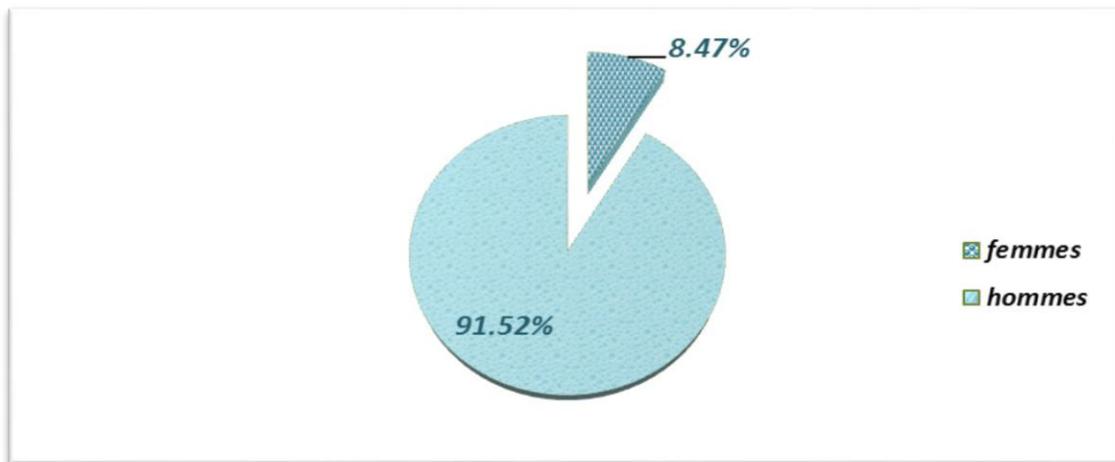


Figure 10 : répartition des sujets selon le sexe.

2. Répartition des malades selon l'âge

Notre échantillon a un âge minimal de 33 ans et un âge maximal de 82 ans (figure 11). Nous constatons que la tranche d'âge la plus touchée est allée de 60 ans à 69 ans avec un taux de 38%.

Il y a une augmentation de l'atteinte de la maladie avec l'âge. En effet, l'âge constitue à lui seul un facteur de risque majeur et indépendant de tous les autres facteurs.

L'âge moyen de survenue d'un infarctus du myocarde est voisin de 65 ans selon plusieurs études (63). La mortalité augmente avec le vieillissement. Il existe des différences relatives de prévalence des facteurs de risque cardio-vasculaire chez le sujet âgé par rapport au jeune: plus d'hypertension artérielle et de diabète et moins de dyslipidémies et de tabagisme (64).

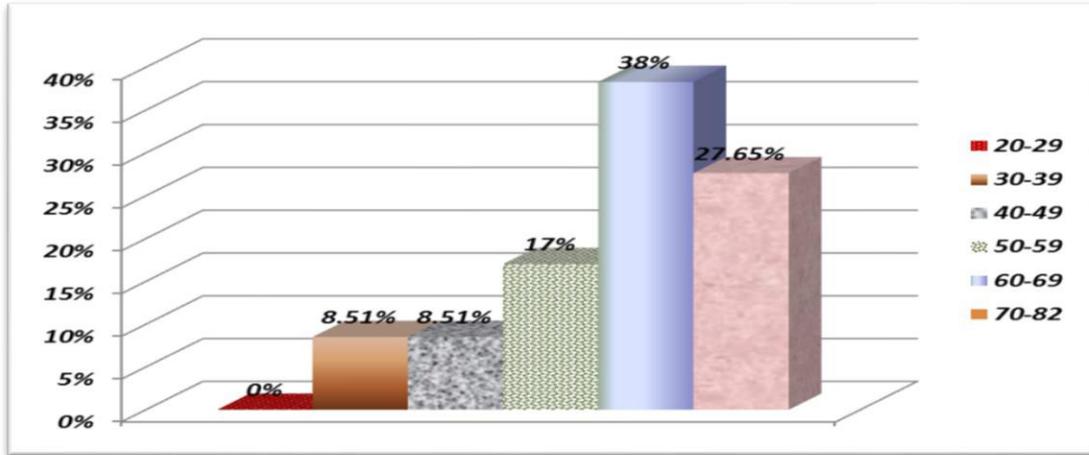


Figure11 : Répartition des sujets selon l'âge.

3. La répartition des sujets selon HTA

La fréquence des malades hypertendus est de 44,06% dans notre population (figure 12). Toutes les études montrent que l'hypertension artérielle (HTA) reste le facteur de risque le plus commun pour la morbidité et la mortalité cardio-vasculaire par accident vasculaire cérébral et infarctus du myocarde (65).

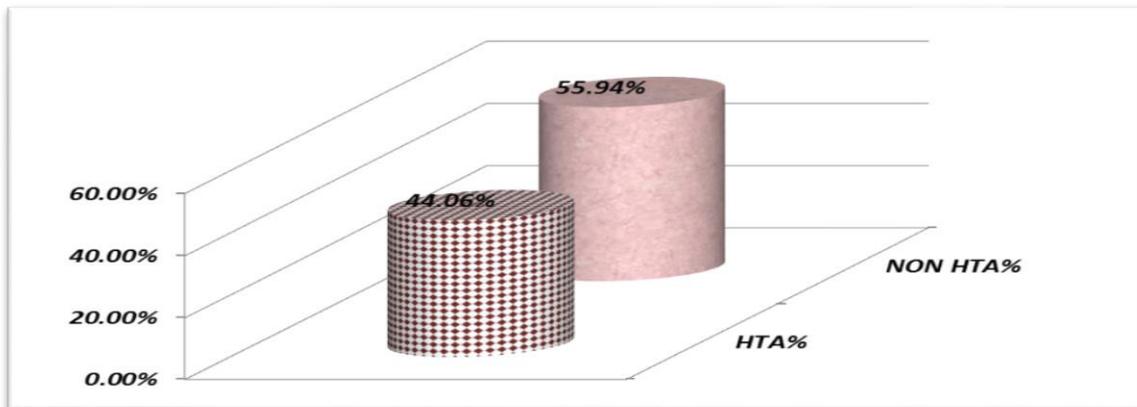


Figure12 : fréquence d'HTA chez les IDM.

4. La répartition des sujets selon le diabète

Le diabète est un facteur de risque coronarien, car parmi les 59 patients présentant un IDM, 25 sont des diabétiques, ce qui représente un taux de 42,37% (figure 13).

Le risque d'IDM est nettement augmenté chez les diabétiques par rapport aux non diabétiques, ou il est responsable 40 % de décès dans une population. Nos résultats concordent avec les travaux d'autres (66).

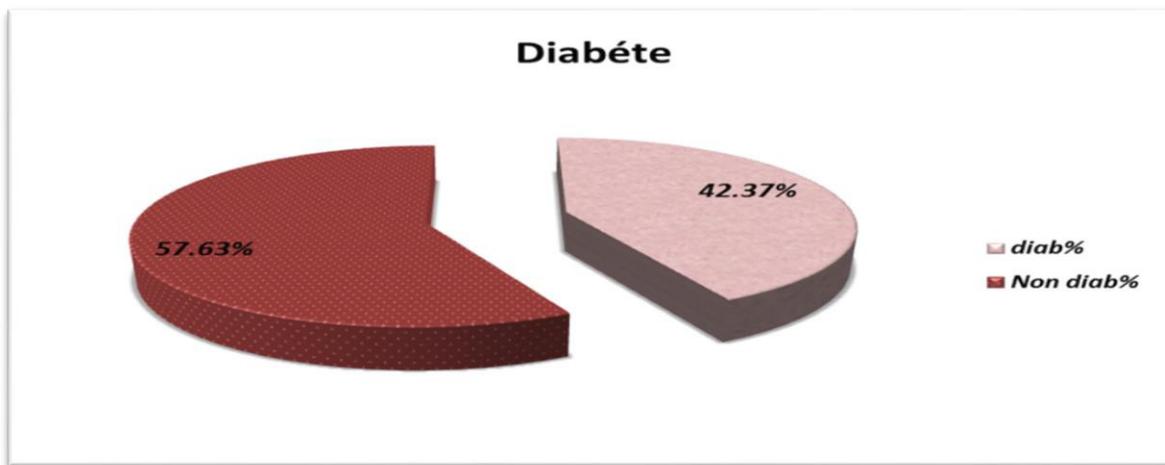


Figure 13 : fréquence de diabète chez les IDM.

5. La répartition des sujets selon le tabagisme

Parmi les 59 patients, nous avons trouvé 33 fumeurs soit 55.93 % .On note que les malades fumeurs sont exclusivement de sexe masculin (figure14).

Les effets délétères du tabac sont liés à la quantité quotidienne. De tabac consommé par jour, à l'âge de consommation et à la durée de l'exposition (67).

L'oxyde de carbone (CO) qui se trouve dans la fumée du tabac, remplace l'oxygène transporté dans le sang ce qui fait qu'il y a une diminution d'oxygène dans les organes. Les parois des artères deviennent plus rigides à cause de la nicotine, ce dernier favorise la formation de caillots qui peuvent obstruer les artères et augmentent la tension artérielle.

Nos résultats concordent avec ceux trouvés dans le Sahel Tunisien (67).

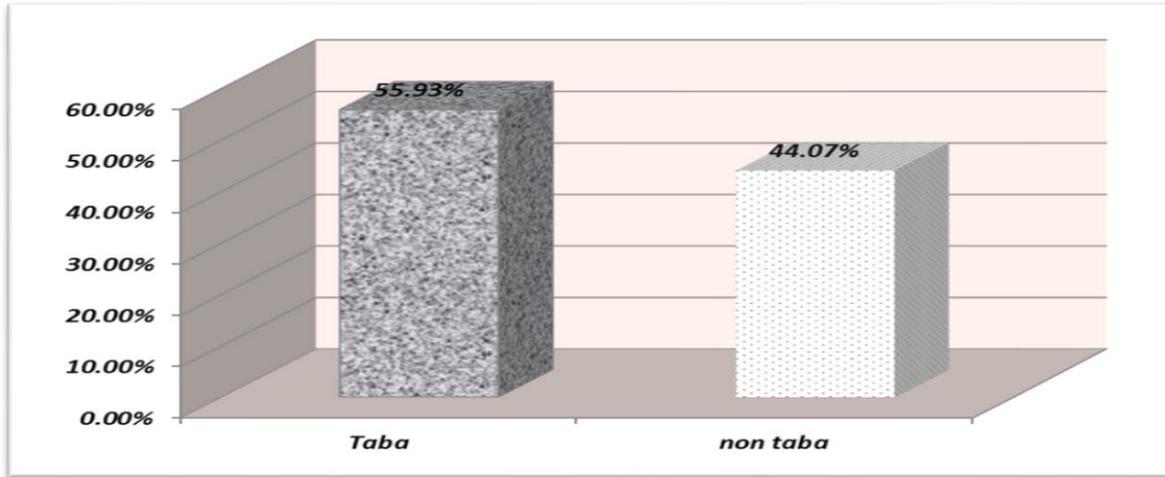


Figure 14 : fréquence de tabagisme chez les IDM.

6. La répartition des sujets selon la sédentarité

Parmi les 59 patients, 27 ont la sédentarité soit 45.76 % .et 32 patients n'ont pas la sédentarité sont un pourcentage de 54,24%(figure15).

La sédentarité reste un facteur de risque cardio-vasculaire majeur. Les bénéfices de l'activité physique (AP) sont largement admis en prévention primaire et secondaire, et font l'objet de recommandations régulièrement remises à jour par les sociétés savantes internationales. Notre résultat est proche de l'étude de (68).

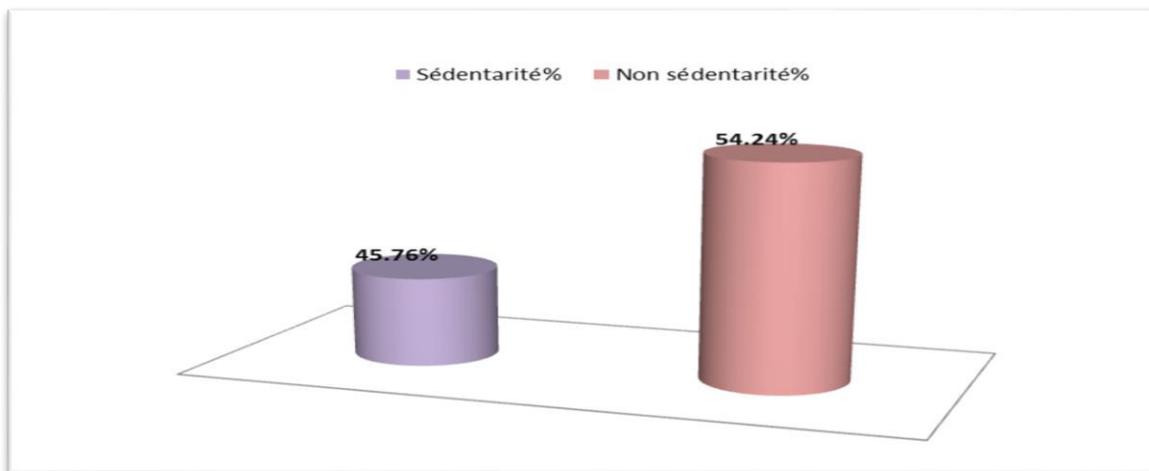


Figure 15 : fréquence de sédentarité chez les IDM.

7. La répartition des sujets selon la dyslipidémie

La dyslipidémie est un facteur de risque coronarien, car parmi les 59 patients présentant un IDM, 28 ont la dyslipidémie, ce qui représente un taux de 50,85 % (figure16).

Le risque cardio-vasculaire lié aux dyslipidémies est clairement identifié. Il est fondé sur le risque conjoint d'un LDL-cholestérol élevé, d'un HDL-cholestérol bas et de triglycérides anormalement élevés.



Figure16 : fréquence de dyslipidémie chez les IDM.

II. Fractionnement des protéines et recherche de biomarqueurs

L'électrophorèse est une technique qui consiste à séparer les différentes classes de protéines.

Elle permet d'observer une diminution ou une augmentation relative ou absolue de chacune de ces classes. Comme le dosage des protéines totales, elle est utilisée pour évaluer l'état général ou pour étudier différents états pathologiques. Les variations des différentes fractions de protéines permettent de mettre en évidence divers syndromes (69).

1. Analyse des profils électrophorétiques

La technique adoptée pour l'analyse est celle décrite par (61) et modifiée par (62) qui a été utilisée pour fractionner les protéines salivaires. Cette technique permet d'obtenir l'ensemble des protéines. La lecture des diagrammes consiste à révéler la mobilité de chacune des bandes protéiques réparties dans la zone de séparation, en mesurant la distance parcourue par chaque bande dans le gel.

Les diagrammes électrophorétiques des 15 échantillons (14 malades et 1 témoin) analysés renferment 12 bandes décelables qui se répartissent dans une zone des protéines salivaires avec des mobilités allant de 15 à 83 mm (figure17).

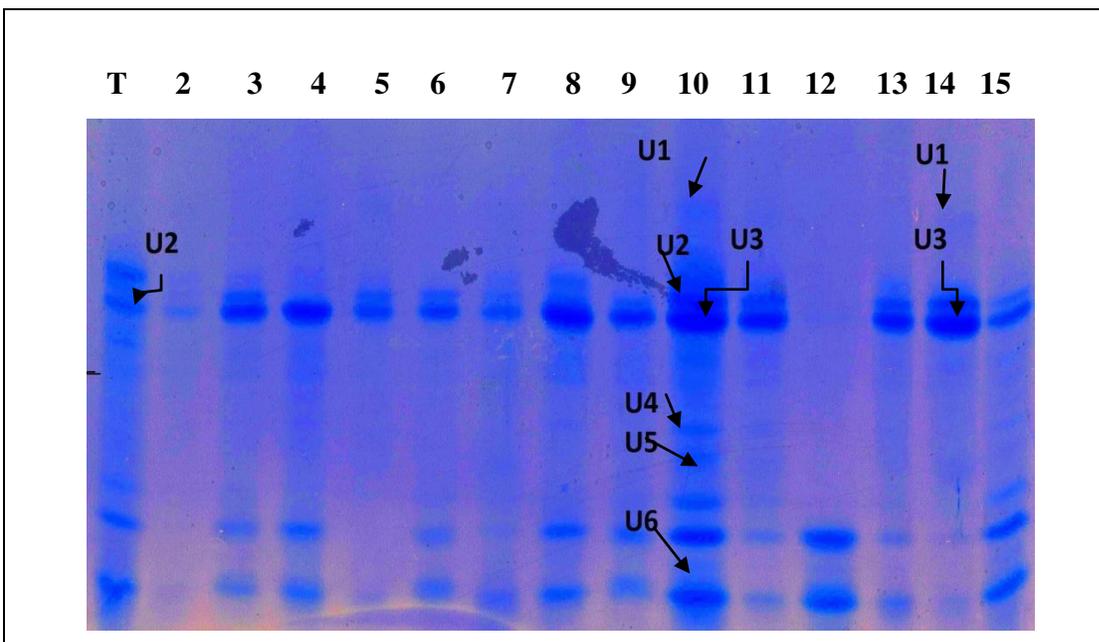


Figure17: profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par PAGE.

D’abord, la comparaison entre les profils protéiques du témoin et des sujets malades montre que six bandes protéiques nommées (U1.U2.U3.U4.U5.U6) est les plus variables qualitativement et quantitativement. La variation de ces derniers est représentée dans le tableau (6).

Nous constatons clairement des différences entre le sujet sain et les sujets malades dans la composition protéique où les bandes U1, U4, U5, U6 varient qualitativement et sont présentes uniquement chez certains sujets malades d’une manière différentielle alors qu’elles sont totalement absentes chez le sujet sain. D’après(66), les caractéristiques biologiques identifiées uniquement dans l’échantillon du patient par mesures répétées ou différentiellement par rapport à un témoin peuvent alors être considérées comme des biomarqueurs de l’état physiologique correspondant. Alors que la bande U2 est variable quantitativement, et est présente également dans le profil du sujet sain avec une faible intensité par rapport au sujets malades 14et 10 selon un ordre d’intensité croissant. Cette bande n’est pas exprimée chez les patients2et 12.

la bande protéique U3 variable quantitativement est présente également dans le profil du sujet sain avec une intensité plus élevée par rapport au sujet malade 2 ,et avec une faible intensité par rapport aux sujets malades 3,4,8,10,11,13 et 14,ainsi que le sujet sain et les trois Patients 5,6 et 7 ont une même intensité .

Ces différences observées entre les malades peuvent être probablement dues à des facteurs tels : l’âge, le stade de la maladie et la physiologie des patients.

Tableau 6 : variation des bandes protéiques U1, U2, U3, U4, U5, U6.

	U1/Intensité	U2/Intensité	U3/Intensité	U4/Intensité	U5/Intensité	U6/Intensité
E1	P (trace)	P (trace)	P(trace)	A(0)	A(0)	A(0)
E2	A(0)	A(0)	P(trace)	A(0)	A(0)	A(0)
E4	A(0)	A(0)	P (++)	A(0)	A(0)	A(0)
E8	A(0)	P (trace)	P(+++)	A(0)	A(0)	A(0)
E10	P (trace)	P (++++)	P(+++)	P(+)	P(+)	P (trace)
E11	A(0)	P(+)	P (++)	P (trace)	A(0)	A(0)
E12	A(0)	A(0)	A(0)	A(0)	A(0)	P (trace)
E14	P (trace)	P (++)	P (++++)	A(0)	A(0)	A(0)

P : présence A : absence E : échantillon

Étant donné, que la bande protéique U2 n'existe presque que chez les témoins, nous pouvons la suggérer comme un biomarqueur de la maladie cardiaque et dans ce cas, elle peut être un biomarqueur de L'IDM. D'après (70), une protéine qui existe chez un sujet sain et absente chez les sujets malades, peut être considérée comme un biomarqueur de la pathologie.

Nous avons observé également des différences dans la composition protéique salivaire entre les malades. Ainsi, la bande U3 présente chez les patients 8,10 et 14 avec une même intensité et chez le patient 4 et 11 avec une intensité moins faible. et présente sous une forme de trace chez le patient 2, et absente chez le patient 12. Alors que la bande U1 qui existe chez les patients 10 et 14 et absente chez le patient 2, 4, 8,11 et 12. La bande U4 existe chez les patients 10 et 11 et elle est absente chez les patients 2, 4, 8,12 et 14. Finalement les deux bandes U5 et U6 présentent chez les patients 10 et 12 respectivement et absentes chez les autres patients.

2. Etude de la variabilité des protéines salivaires

Tableau 7: variabilité des protéines salivaires

Bands	Mobilité	N° D'échantillon	%fréquences
B1	15	E10, E14	13.33
B2	28	E1, E3, E8, E10, E13.	33.33
B3	32	E1, E2, E3, E5, E6, E7, E9, E10, E11, E13, E14, E15.	80
B4	35	E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E13, E14, E15	93.33
B5	43	E1, E3, E4, E8, E9, E10, E13, E14, E15.	60
B6	46	E3, E4, E8, E10, E11, E15.	40
B7	55	E10, E11, E15.	20
B8	60	E10, E15.	13.33
B9	68	E1, E3, E6, E8, E9, E10, E11, E15.	53.33
B10	74	E1, E3, E4, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E13, E14, E15.	86.66
B11	78	E10, E12.	13.33
B12	83	E1, E3, E4, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E13, E15.	80

D'après, le Tableau (7) ; la bande protéique 4 dont la mobilité est de 35 mm présente chez les 15 échantillons avec une fréquence de 93.33%, est la protéine salivaire la plus dominante, suivie de la bande protéique 10 de mobilité 74 mm retrouvés chez 13 échantillons avec une fréquence de 86.66%. Les bandes protéiques 3 et 12 de mobilité 32 et 83 mm, respectivement, sont moins fréquentes avec 80%. Des bandes protéiques moins fréquentes sont observées, telles que les bandes 6, 9, 6,2 et 7 dont les fréquences respectives sont 60%, 53.33 %, 40%,33.33 %, 20 % (tableau 6). Les bandes protéiques 1 et 8 de mobilité 15 et 60 mm, respectivement, présentent la plus faible fréquence (13.33%).

3. Classification hiérarchique des protéines

Le dendrogramme ou représentation sous forme d'arbre hiérarchique est réalisé à partir des comparaisons de la composition protéique des différents échantillons.

Les regroupements effectués à chaque pas de l'algorithme de classification hiérarchique rassemble des éléments qui sont plus ou moins proche entre eux, plus nous avançons dans le regroupement plus nous nous rapprochons du sommet de l'arbre. Cette représentation matérialise bien le fait que les classes formées au cours du processus de classification constituent une hiérarchie indiquée de classe partiellement emboîtées les unes dans les autres.

3.1. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites

Le dendrogramme obtenu à partir des distances d'agrégation nous montre de nombreux groupes permettant d'estimer la ressemblance dans la composition protéique des échantillons (figure18).

L'ensemble des échantillons est scindé en quatre principaux groupes à la distance d'agrégation 1.75. En effet, trois patients constituent des groupes à part à la distance 1,75, il s'agit des patients 14, 12,10. Contrairement au quatrième groupe qui est divisé à son tour en cinq sous-groupes où les patients 15 et 11 forment des groupes à part et le troisième sous-groupe comprend les deux sujets malades 5 et 2.

Le quatrième sous-groupe lui-même fractionné en trois et chaque sous-groupe contient un seul patient (le patient 9, 7 et 6) (figure18).

Pour le cinquième sous-groupe, il est divisé en cinq, de sorte que les cinq sous-groupes sont similaires en termes de distance d'agrégation, qui est égale à 1,0 et chaque sous-groupe contient un patient.

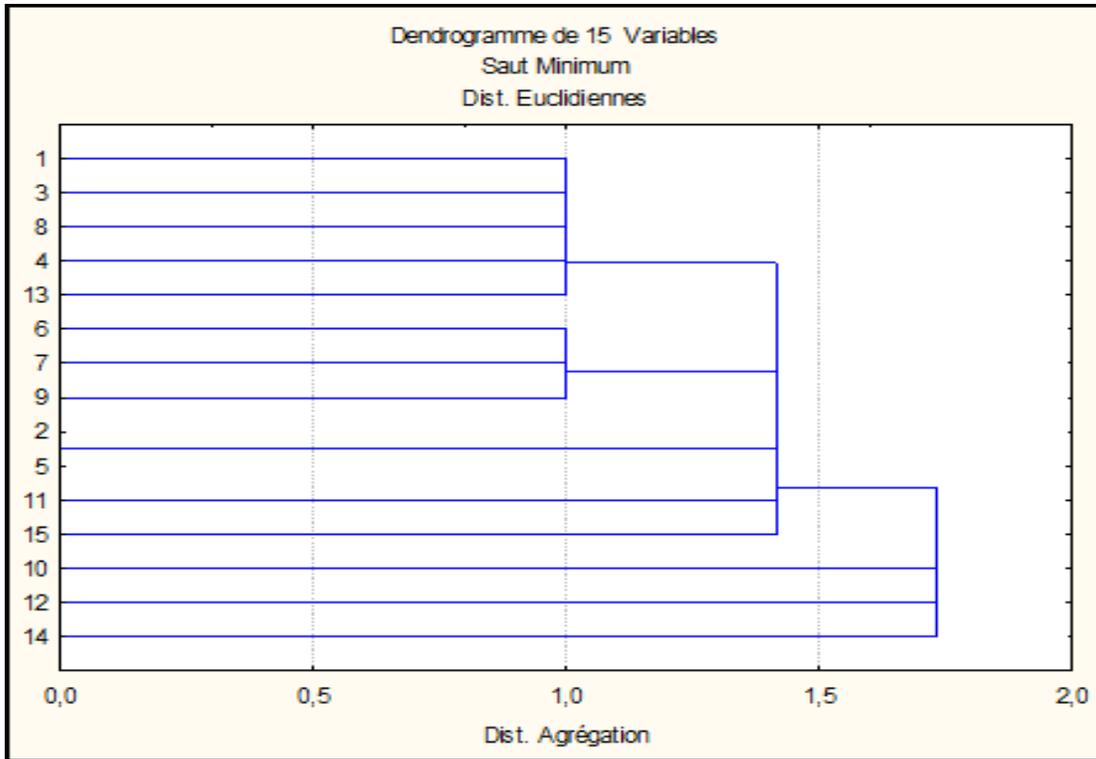


Figure 18 : dendrogramme des 15 échantillons révéles dans les conditions dénaturantes et réductrices.

Les résultats des analyses en clusters de la composition en protéines salivaires et l'état physiologique et pathologique des patients ne sont pas corrélés, autrement dit certains patients appartiennent au même groupe malgré les différences qui subsistent entre eux. À titre d'exemple : à la distance d'agrégation 1.0 les patients 9 et 7 appartiennent au même groupe et forment un clade malgré la divergence qui existe entre eux. Le patient 9 est un homme âgé de 65 ans dont la maladie est récent alors que la patiente 7 une femme hypertendus de 60 ans avec un infarctus du myocarde ancien.

Concernant le cas où le patient 3 et le témoin 1 formant un clade ensemble, cela pourrait être expliqué par la progression lente de la maladie du patiente 3, un homme âgé de 42 ans avec un IDM ancien qui est traduit par des petits changements dans la composition protéique salivaire qui est proche de la composition protéique salivaire du témoin. Un autre exemple avec les patients 7

et 8. La patiente 7 est une femme âgée de 60 ans avec un infarctus du myocarde ancien contrairement au patiente 8 qui est une femme hypertendue de 34 ans qui a un IDM récent et

4. Etablissement des diagrammes types

L'analyse des diagrammes électrophorétiques montre que ces derniers présentent de nettes différences en composition protéique à la fois qualitatives pour les différents patients de L'IDM.

Un tel ensemble de résultats peut être alors exploité en estimant le degré de différence (ou d'analogie) entre les diagrammes des individus considérés deux à deux.

Cette représentation nous permet donc de conserver une image réelle des gels pouvant servir comme base de données pour l'identification.

Nous rapportons dans les tableaux ci-dessous les diagrammes types des protéines salivaires des patients et des sujets sains. (1 : Présence de la bande, 0 : Absence de la bande, M : Mobilités (mm), B : bandes protéiques, E : échantillons).

Tableau 8: Diagrammes types des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et non réductrices.

B	E M (mm)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
		1	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
2	28	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0
3	32	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1
4	35	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
5	43	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1
6	46	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	1
7	55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
8	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
9	68	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1
10	74	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
11	78	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
12	83	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1

5. Indice de similarité des diagrammes protéiques

Pour quantifier l'analogie ou la dissemblance des diagrammes, on calcule un indice de similarité ou de dissimilarité inspiré de (71). L'indice de similarité (IRS) est calculé en rapportant l'IAS (indice de similarité absolue) au nombre total (N) des composants présents dans l'un au moins des diagrammes des échantillons comparés. L'IAS présente l'ensemble des bandes qui ne sont pas significativement différentes entre les deux diagrammes. On considère qu'une bande n'est pas significativement différente d'une autre lorsqu'elles sont de même mobilité et/ou qu'elles ne se distinguent pas par au moins deux classes de concentration.

$$\text{IRS} = \text{IAS} / \text{N} \times 100$$

Les valeurs de l'IRS sont rassemblées dans le tableau 9.

Des valeurs faibles signifient que les diagrammes présentent de nombreuses dissemblances et inversement, lorsque les diagrammes apparaissent très voisins.

La plupart des échantillons restent différenciable car leurs diagrammes présentent au moins une différence significative.

Les indices de similarités ont été effectués pour les 15 échantillons (14 patients et 1 témoin) ayant une maladie cardiaque, ils sont représentés sous forme de matrice dans le tableau 5. Il en ressort que l'indice se situe entre 0 et 100 %. La valeur d'IRS, la plus élevée est 100% reflétant la similarité qui existe entre le sujet sain, aussi bien entre le patient 2 et 5. En outre, la valeur d'IRS, la plus élevée pour cette condition est de 88%. Cette dernière est présente entre le témoin 1 et les patients 3 et 8. Une valeur moyenne de 50% sont aussi observées entre certains patients, comme les patients 2 et 7, 3 et 6, 3 et 14, 4 et 10, 4 et 13, 5 et 7, 6 et 8, 7 et 14, 9 et 10, 13 et 15, et présente entre le témoin 1 et le patient 7. Cela signifie que les diagrammes présentent de nombreuses dissemblances, donc ces sujets présentent une composition en protéines salivaires très dissemblables.

Des valeurs moins élevées sont aussi présentes et concernent les patients 2 et 5 avec le patient 8 avec une valeur d'IRS=13 %. Ainsi que les mêmes patients 2 et 5 avec le patient 12 avec une valeur d'IRS=0%.

Tableau 9 : Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	11	13	14	15	
100%	25%	88%	75%	25%	63%	50%	88%	75%	67%	67%	22%	75%	44%	70%	1
	100%	29%	14%	100%	40%	50%	13%	33%	17%	29%	00%	33%	40%	22%	2
		100%	63%	29%	50%	57%	75%	63%	58%	56%	25%	86%	50%	60%	3
			100%	14%	57%	43%	86%	71%	50%	63%	29%	50%	38%	67%	4
				100%	40%	50%	13%	33%	17%	29%	00%	33%	40%	22%	5
					100%	80%	50%	83%	42%	71%	33%	57%	43%	56%	6
						100%	38%	67%	33%	57%	40%	67%	50%	44%	7
							100%	56%	58%	40%	38%	56%	33%	60%	8
								100%	50%	63%	29%	71%	57%	67%	9
									100%	58%	27%	55%	42%	75%	10
										100%	29%	44%	33%	78%	11
											100%	29%	14%	20%	12
												100%	57%	50%	13
													100%	40%	14
														100%	15

*Conclusion
et
Perspectives*

Ce travail a été effectué pour explorer le protéome salivaire des patients atteints d'IDM et le comparer avec celui du sujet sain par application de la technique 'électrophorèse monodimensionnelle 'SDS-PAGE', pour la recherche de protéines spécifiques pouvant avoir la propriété de biomarqueur pour le diagnostic et le suivi de la maladie.

La méthode de séparation des protéines utilisée est celle de Laemeli (1970) modifiée par Singh (1991). Le choix de cette méthode était dans le but d'avoir une meilleure expression des protéines salivaires. L'extraction des protéines salivaires a été réalisée dans la condition dénaturante réductrice.

L'utilisation de ces critères pour le fractionnement des protéines salivaires (en condition dénaturée et réduite) nous a fourni des diagrammes satisfaisant et nous a permis de :

- Comparer les profils électrophorétiques des sujets malades avec ceux des témoins et de remarquer que chacun des échantillons possède un profil protéique qui lui est propre et qui peut ressembler ou pas à celui d'un autre échantillon ou celui du témoin par l'absence ou la présence d'une ou plusieurs protéines.
- Révéler les mobilités relatives de chacune des bandes protéiques de haut et de faible poids moléculaire.
- Dénombrer des bandes protéiques communes entre les différents échantillons.
- Distinguer les différences dans la composition protéique des malades et des témoins.
- Identifier quelques protéines susceptibles d'être des biomarqueurs salivaires de la maladie.

En outre, l'analyse statistique effectuée en calculant les fréquences, l'indice de similarité et la classification hiérarchique, a permis d'apprécier numériquement la diversité des protéines salivaires dans la condition dénaturante et réduite.

L'analyse de ce gel a permis de déceler 12 bandes protéiques de mobilités différentes pour les protéines dénaturantes et réduites. Une nette différence est observée entre le profil du sujet sain et des patients atteints de l'IDM. 4 bandes protéiques communes entre les

différents échantillons (**B1, B7, B8 et B11**) sont révélées chez les patients cardiaques et absents chez le sujet sain. Un autre exemple, des protéines exprimées chez le témoin et les patients malades (bande 2 et 3), montrent des variations d'expression quantitatives avec des intensités égales ou différentes par rapport à celles du témoin. Certaines protéines sont surexprimées, d'autres sont à l'état de trace.

Ces bandes sont les plus variables qualitativement et quantitativement et sont soit absentes ou présentes d'intensité égale ou différentes par rapport à celles obtenues sur le profil du témoin.

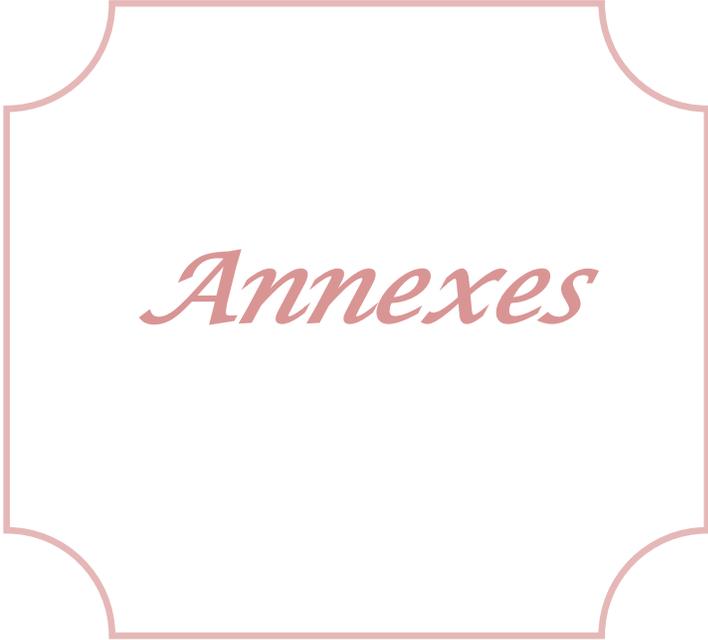
L'application de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle nous a fourni des résultats satisfaisants mais elle reste insuffisante pour diagnostiquer les maladies cardiaques. Pour cela, nous envisageons l'emploi de l'électrophorèse bidimensionnelle pour une meilleure séparation des protéines d'intérêt suivie d'une analyse par spectrométrie de masse afin d'identifier les protéines susceptibles d'être considérées comme des biomarqueurs de l'infarctus du myocarde.

- (1). **Meusnier Nicolas. (2011).** Biomécanique de la croissance de la plaque d'athérosclérose: contribution à l'étude des contraintes résiduelles. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Grenoble.
- (2). **Gimbert Véronique Nedelec. (2012).** Prise en charge de l'IDM. Study lib.
- (3). **De Lorenzi Caroline, Lehmann Alyssa, Tognon Mikael, Cominetti Fabrizio.** Infarctus du myocarde.
[Http : www.medecine.unige.ch/enseignement/apprentissage/module4/.../10_r_infarctus.pdf](http://www.medecine.unige.ch/enseignement/apprentissage/module4/.../10_r_infarctus.pdf).
- (4). **Mohd Aizat Abdul Rahim, Zubaidah Haji Abdul Rahim, Wan Azman Wan Ahmad and Onn Haji Hashim. (2015).** Can Saliva Proteins Be Used to Predict the Onset of Acute Myocardial Infarction among High-Risk Patients? *International Journal of Medical Sciences*; 12(4): 329-335
- (5). **Dassier. (2004).** Anatomie du cœur et des vaisseaux. Paris 75015.
- (6). **Jean Sende. (2009).** Guide pratique de l'ECG. 2e édition, chapitre 2 (analyse de L'ECG). Infarctus du myocarde : définitions-applications ; 59.
- (7). **Ramé Alain, Terond Sylvie. (2009).** Anatomie et physiologie de cœur.
- (8). **Jerome L. (2001).** Physiopathologie de L'athérosclérose – Mécanismes et prévention de l'athéromatose. Thèse pour l'obtention du diplôme docteur d'état en pharmacie. *123 bionet biologie et recherche*
- (9). **Jan Vojacek, Petr Jansky, Tomas Janota. (2013).** Third universal definition of myocardial infarction. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/crvasa
- (10). **Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, et al. (2000).** ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* ; 36(3) : 970-1062.
- (11). **Etienne Pumirat. (2013).** L'infarctus du sujet âgé : données du registre FAST-MI2010. *La presse médicale* ; 42: 1432-1441.
- (12). **S. Manzo-Silberman. (2016).** ST segment élévation myocardial infarction in women. *Annales de cardiologie et d'angéiologie* ; 65(6) : 385-389.
- (13). **J. Levy. et al. (2010).** Acute myocardial infarction in young smokers treated by coronary angioplasty. In-hospital prognosis and long-term outcome in a consecutive series of 93 patients. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* ; 59 : 119-124.
- (14). **O. Hanon. (2016).** Hypertension artérielle ; *Gérontologie préventive* ; 25 : 370-378.
- (15). **Ferrières, J. (2010).** Dyslipidémies et risque cardiovasculaire : données épidémiologiques. *Endocrinologie – Nutrition*; 7, Issue 4: 1-8.
- (16). **Mørkedal. et al. (2014).** Infarction and Heart Failure Risk in Metabolically Healthy But Obese Individuals, *JACC Vol. 63, No.*
- (17). **Bongard Vanina, Ferrieres Jean. (2009).** item129 : facteur de risque cardiovasculaire et prévention.
- (18). **Payot L, Le Feuvre C. (2015).** Cardiopathie Ischémique et infarctus chez le diabétique. *EMC –Cardiologie* ; 10(4) : 1-13. [Article 11-030-R-30].
- (19). **Valmi. (2007).** E01. Facteur de risque d'athérosclérose : évaluation et prévention.
- (20). **Herpin D, Paillard F. (2003).** Facteur de risque cardio-vasculaire et prévention. Thème N°129. <http://www.hbroussais.fr/Scientific/fram.html>.
- (21). **Thomas, D. (2016).** Epidemiology of smoking: An update; *Arch Mal Cœur Vaiss Prat*; Issue 245: 4-9.
- (22). **Houpe, Jean-Pierre. (2013).** Effets du stress psychosocial en cardiologie ; *Vol 42, Issue 6, Part 1* : 1042-1049.

- (23). **André, Patrick et al. , (2012)**. Intérêt d'une activité physique adaptée pour la correction des facteurs de risque cardiovasculaire chez le sujet coronarien ; Publié March 1 ; Vol 13, Issue 135 : 23-28.
- (24). **Benamer, H.; Boudjelal et al., (2011)**. Physiopathologie et étiopathogénie de l'infarctus du myocarde ; Vol 6, Issue 3 : 1-14.
- (25). **Elise Foulon, Tristan Livain, Marianne Noirclerc. (2015)**. Cardiac Rehabilitation after a heart attack: A Comparative study between continuous and interval trainin Kinesither; Rev;15(163): 30- 37.
- (26). **Hadjadj Nagy et al., (2015)**. Journal de liberté, infarctus de myocarde : plus de 25000 morts par an en algerie.
- (27). **Dagher. (2005)**. L'angor ft l'infarctus du myocarde. Soins Infirmiers aux personnes d'affections cardio-vasculaires.
- (28). **Beliveau Patrick, Cote Grilles. (2005)**.M.D. la maladie coronarienne : définition diagnostic et traitement interventionnel.
- (29). **Quilici J, Gallo R. (1999)**. Physiologie des syndromes coronariens aigus. *Ann Cardio Angio* ; 48, 611-23.
- (30). **Machecourt Jacques. (2002)** .L'infarctus du myocarde.
- (31). **Halitim Leil. (2015)** .cour de biochimie/les lipides.
- (32). **Hamma S.A. (2010)**. Métabolisme des lipoproteines.Faculté de medecine .laboratoire de biochimie.
- (33). **Pfizer U. E. (2014)** .Santé cardiovasculaire: l'Athérosclérose. L'Athérosclérose. Fondation des maladies du cœur.
- (34). **Menu P. (2002)**. Physiopathologie cardiaque. Faculté de pharmacie. Université paris sud XI.
- (35). **Katy P, Gilles M et Jean P. B. (2005)**. Infarctus du myocarde.
- (36). **Broisat A, RiouL et Fagret D. (2005)** .physiopathologie de la plaque d'athérome vunerable. Inserm 0340 RADIOPHARMACEUTIQUES BIOCHIMIQUES-Faculté de Médecine de grenoble.
- (37). **Beaufils. (2000)**. Philippe.Evaluation therapeutique:nouveaux traitements dans l'angor instable. 21- 3.
- (38). **VIDAILHET B., ROBIN O., POLO A., BRAVETTI P., MAHLER P. (2008)**. Salivation [en ligne]. In : EMC (Elsevier Masson SAS) Médecine buccale ; 28-150-M-10.
- (39). **FREDERICQ L. (1885)**. Eléments De Physiologie Humaine. Print Book Paris ; 369.
- (40). **Mireille Folia. (2012)**.Xéno-hormones et homéostasie buccale : impact sur les perceptions gustatives et les glandes salivaires .thèse de doctorat. Université de Bourgogne. France.
- (41). **FRANCIS W. G. (2006)**. Physiologie médicale. 2 éd. Bruxelles : de Boeck ; 848.
- (43). **L. Devoize, R. Dallel. (2010)**. salivation articesalivation EMC
- (44). **Bouacida k, Sahli S. (2015)**.Recherche des bio marqueurs dans la salive et le sérum des patients des atteints de la sclérose en plaque. Mémoire de master .Université des frères mentouri de Constantine .ALGÉRIE .
- (45). **Berne and Levy Physiology. (2018)**. the Cephalic, Oral, and Esophageal Phases of the Integrated Response to a Meal; 28: 520-528
- (46). **POLLOCK J. J., GOODMAN BICKER G., KATONA L., CHO M. I., LACONO V. J. (1979)**. Lysozyme bacteriolysis. In: Kleinberg I, Ellison S. A., Mandel I. D. editors. Saliva and dental caries. Washington, DC: Information Retrieval; 429-47.

- (47). **MANDEL I. D. (1980)**. Sialochemistry in diseases and clinical situations affecting salivary glands. *Crit Rev Clin Lab Sci*; 12: 21- 66.
- (48). **ARELLANO M., JIANG J., ZHOU X., ZHANG L., YE H., WONG D. T et al. ;(2009)**. Current advances in identification of cancer biomarkers in saliva. *Front Biosci*, 1, Pge296, 303.
- (49). **BRADLEY R. M. (1991)**. Salivary secretion. In: Getchell TV ed. *Smell and taste in health and disease*. Raven Press.
- (50). **Denny P., Hagen F.K., Hardt M., Liao L.J., Yan W.H. (2008)**. The proteomes of human parotid and submandibular/sublingual gland salivas collected as the ductal secretions. *Journal of Proteome Research*; 7: 1994-200.
- (51). **HUQ N.L., CROSS K.J., UNG M., MYROFORIDIS H., VEITH P.D., CHEN D et al.; (2007)**. A review of the salivary proteome and peptidome and saliva-derived peptide therapeutics. *Int J Pept Res Ther* ; 13 : 547-4.
- (52). **Georges, DANY. (2012)**. "Pathologies générales et salive. Université de Lorraine. http://docnum.univ-lorraine.fr/public/BUPHA_TD_2012_GEORGES_DANY.pdf
- (53). **LAUDENBACH P. (1987)**. Glandes salivaires: notion fondamentales et exploration des glandes salivaires. *Encycl Méd Chir (Paris). Odontologie* ; 22057 : 10-7.
- (54). **DADOUNE J. P., HADJIISKY P., SIFFROI J. P. (2000)**. *Histologie*. 2e ed. Paris: Médecine -science Flammarion ; 191- 193.
- (55). **ODMAN M. L. (2005)**. Influence de l'alimentation dans l'émergence de la lithiase salivaire. Université de Genève.
- (56). **Amerongen AV, Veerman EC. (2002)**. Saliva the defender of the oral cavity. *Oral Dis*; 8:12-22.
- (57). **Dan Longrois, Sophie Provenchère. (2017)**. Utilisation des biomarqueurs dans le contexte périopératoire ; *Anesthésie & Réanimation* ; Volume 3, Issue 4: 376-385.
- (58). **Kent B, Lewandrowski. (2014)**. Cardiac Markers of Myocardial Necrosis A History and Discussion of Milestones and Emerging New Trends, *Clinics in Laboratory Medicine* ; Vol 34: 31-41.
- (59). **Beaudeau JL, Durand G. (2014)**. Marqueurs de dysfonctionnement cardiaque. *Biochimie médicale, marqueurs actuels et perspectives*, 2e édition ; 2006:194-206.
- (60). **Hirtz C., Chevalier F., Cristophe E.J., Bringer J et al., (2005)**. Preliminary research for human salivary makers in type 1 diabetes. *Les cahiers de l'ADF N°18*; 19: 4-9
- (61). **LAEMMLI U. K. (1970)**. Clivage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*; 277:680-685.
- (62). **SINGH N. K., SHEPHERD K. W., CORNISH G. B. (1991)**. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of cereal science*; 14: 203-208.
- (63). **Geriatr J, Am, Aronow Ws. (1998)**. Management of older persons after myocardial infarction; 46:1459-68.
- (64) **Friocourt P, LemarcicL, PoitrineauO. (2002)**. infarctus du myocarde du sujet âgé .*Revue Gériatrie* ; 4- 27.
- (65) **Dujardin J, Cambou J. (2005)**.Épidémiologie de l'infarctus du myocarde. *Revue EMC cardiologie –Angéiologie* ; 2(4) :375-387.
- (66) **Sabry M, Benyass A, Lakhali Z, Raissouni M, Kendoussi M, Moustaghfir A, Zbir M, Hda A, Boukili A, Hamani A. (2006)**. Infarctus du myocarde chez le diabétique Présentation d'une série de 85 patients diabétiques comparée à 106 patients non diabétiques. *Presse Med*; 35: 207-11.

- (67) **Labrunee, M, Guiraud T. (2014).** Éducation thérapeutique; Annals of Physical and Rehabilitation Medicine; Vol 57: 61-62.
- (68). **A.Yahia-Berrouigu, M.Benyoucef. (2011).** Enquête sur la prévalence des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires à Tlemcen (Algérie); Médecine des Maladies Métabolique; 42-48.
- (69). **PIGNEL R., BEDOUET A. (2008).** BILAN BIOLOGIQUE ET BIOCHIMIQUE (examens de laboratoire).
- (70). **ROAMANETTO J. (2011).** Intérêts des marqueurs biologiques dans les essais cliniques. Thèse de docteur en pharmacie. Nancy : Université de Nancy; 121.
- (71). **Dedio *et al.*, (1969).** Indice de similarité des diagrammes protéiques.



Annexes

Questionnaires

Nom : Sexe : F H Région :

Prénom : Age : ans

1. Etes-vous fumeur ? Oui Non

2. Etes-vous diabétique ? Oui Non

3. Etes-vous hypertendu(e) ? Oui Non

4. Avez-vous une élévation du cholestérol ? Oui Non

5. Dois---tu prendre des médicaments ? Oui Non

6. Si oui, à quelle fréquence journalière dois---tu prendre tes médicaments ?

1 fois par jour 2 fois par jours 3 fois par jours Plus de 3 fois par jour

8. Avez-vous d'autres maladies ? Oui Non

Si oui, lesquelles ?

Liste des patients (sexe, âge, wilaya, la maladie)

Patient	Sexe	Age	Origine	Le stade de la maladie
2	H	84	Oum el bouaghi	IDM ancien
3	H	42	Tbessa	IDM ancien
4	H	70	Constantine	IDM recent
5	H	59	Annaba	IDM semi recent
6	H	58	Mila	IDM ancien
7	F	60	Batna	IDM ancien
8	F	34	Constantine	IDM recent
9	H	65	Constantine	IDM recent
10	F	52	Annaba	IDM ancien
11	F	52	Annaba	IDM ancien
12	F	52	Constantine	IDM recent
13	H	86	Alger	IDM recent
14	H	43	Tbessa	IDM ancien

Composition des gels d'électrophorèse

Gel de séparation : T : 12,52% C : 0,97%

- Acrylamide 40% 12,4ml
- Bis acrylamide 2% 2,4 ml
- Eau permutée 8,6 ml
- Tampon Tris-HCL pH 8,8 15,2ml
- SDS 10% 0,40 ml
- APS 1% 1 ml
- TEMED 0,020 ml

Gel de concentration : T : 2,88% C : 1,42%

- Acrylamide 40% 1ml
- Bis acrylamide 2% 0,3 ml
- Eau permutée 10,2 ml
- Tampon Tris-HCL pH 8,8 1,7 ml
- SDS 10% 0,14 ml
- APS 1% 0,70 ml
- TEMED 0,014 ml

Summary:

Myocardial infarction is the death (necrosis) of more or less extensive area of the heart muscle (myocardium). The cardiac muscle cells of this territory are no longer able to contract for lack of oxygen supply and die in a few hours. The objective of this study is to investigate and explore the salivary proteome of patients.

IDM using the one-dimensional electrophoresis technique for salivary biomarker research. For this purpose the total saliva of a population consisting of 14 patients was collected from patients with IDM. Recruited patients are between 34 and 86 years old; this population has been compared to 1 healthy subject. The salivary proteins are solubilized and separated by one-dimensional SDS-PAGE electrophoresis under the conditions; denaturing and reducing.

In order to numerically appreciate the diversity of these salivary proteins, a statistical study was carried out by calculating the frequencies, the similarity index, also by establishing standard diagrams and a hierarchical classification of individual's according to the composition of the salivary proteins.

These preliminary results showed specific salivary proteins and / or variants that could be considered as markers of the disease studied. This opens up new fields of investigation and exploration of salivary protein variation can be used as an early diagnosis tool for IDM.

Key words: saliva, biomarker, electrophoresis, MI, myocardial infarction

المخلص

احتشاء عضلة القلب هو الموت (نخر) في منطقة واسعة او اكثر من عضلة القلب بحيث خلايا عضلة القلب في هذه المنطقة لم تعد قادرة على الانقباض بسبب نقص الاوكسجين و بالتالي الموت في غضون ساعات قليلة.

الهدف من هذه الدراسة هو دراسة واستكشاف بروتيوم اللعاب للمرضى الذين يعانون من احتشاء عضلة القلب عن طريق استخدام تقنية الهجرة الكهربائية للبحث عن المؤشرات الحيوية اللعابية للمرضى لذلك قمنا بجمع لعاب 14 مريض يعانون من احتشاء عضلة القلب, المرضى المسجلين في هذه الفئة تتراوح اعمارهم بين 34 و 86 عام حيث تم مقارنة مع شخص البروتينات اللعابية تم فصلها باستخدام تقنيات الهجرة ذات بعد كهربائي واحد تحت الظروف التالية واحد من الاصحاء تغيير طبيعة وتقليص.

من أجل تقدير تنوع هذه البروتينات اللعابية عددياً ، تم إجراء دراسة إحصائية عن طريق حساب الترددات ، مؤشر التشابه ، أيضاً عن طريق إنشاء مخططات قياسية وتصنيف هرمي للأفراد وفقاً لتركيب البروتينات اللعابية. وأظهرت هذه النتائج الأولية بروتينات اللعاب محددة و / أو المتغيرات التي يمكن اعتبارها علامات للمرض قد يكون ذلك مؤشرا على الإصابة بمرض احتشاء عضلة القلب و التباين الذي ظهر في البروتينات اللعابية يمكن استخدامه كادت للتشخيص المبكر لهذا المرض .

الكلمات المفتاحية

اللعاب, احتشاء عضلة القلب, تقنية الهجرة الكهربائية, مؤشرات حيوية.

Année universitaire : **2017/2018**

Présenté par : Meraghni Zohra
Messili horiya

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en biochimie
Option : Biochimie appliquée

Thème : Recherche préliminaire des biomarqueurs de l'Infarctus du Myocarde dans la salive humaine par application de la technique d'électrophorèse SDS-PAGE

Résumé

L'infarctus du myocarde est la mort (nécrose) d'une zone plus ou moins étendue du muscle cardiaque (myocarde). Les cellules musculaires cardiaques de ce territoire ne parviennent plus à se contracter par manque d'apport en oxygène et meurent en quelques heures.

L'objectif de cette étude est d'investiguer et explorer le protéome salivaire des patients atteints d'IDM par l'utilisation de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE pour la recherche de biomarqueurs salivaires. Pour cela la salive totale d'une population composée de 14 patients a été recueillie à partir des patients présentant l'IDM. Les patients recrutés sont âgés entre 34 et 86 ans, cette population a été comparée à 1 sujet sain.

Les protéines salivaires sont extraites dans les conditions dénaturantes et réductrices. L'analyse des gels a permis de dénombrer 12 bandes protéiques de mobilités différentes.

Afin d'apprécier numériquement la diversité de ces protéines salivaires, une étude statistique a été effectuée en calculant les fréquences, l'indice de similarité, également en établissant des diagrammes types et une classification hiérarchique des individus selon la composition des protéines salivaires.

Ces résultats préliminaires ont montré des protéines salivaires spécifiques et/ou variantes susceptible d'être considérées comme des marqueurs de la maladie étudiée. Ceci ouvre des champs d'investigation nouveaux tant dans le domaine du diagnostic que dans le suivi de la maladie.

Laboratoire de Génétique biochimie et Biotechnologies Végétales, Département de Biochimie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Université des frères Mentouri Constantine 1

Mots clés : IDM, salive, biomarqueurs, électrophorèse, diagnostique

Jury d'évaluation :

Président du jury : Prof. KHELIFI.Douadi (UFMC1)

Encadreur : Dr. BELIL.Ines (UFMC1)

Examineur : Dr. MERGHIT Rachid (HMRUC)