

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



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

Etude rétrospective et exploration du protéome salivaire des patients atteints de l'athérosclérose par application de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle

Présenté par :

Le : 18 / 07 / 2019

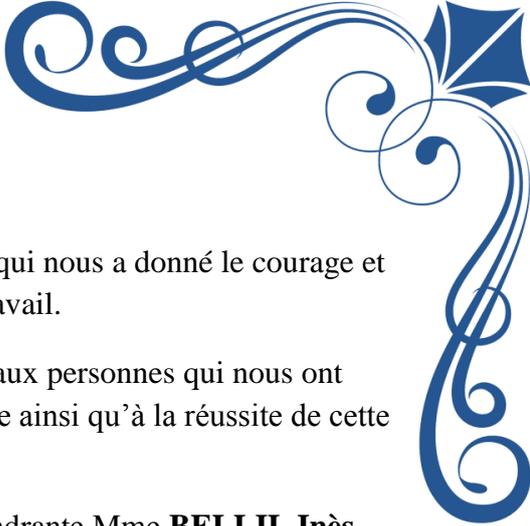
- BOUCHEMAL Saoussen
- DJENIBA Amani Soundous

Devant le jury :

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

Année universitaire

2018 - 2019



« Remerciements »

Nous exprimons notre gratitude avant tout à Dieu miséricordieux qui nous a donné le courage et la force pour mener à bout ce modeste travail.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

Nous tenons à témoigner toute notre reconnaissance à notre encadrante Mme **BELLIL Inès**, Maître de conférences, qui par ses paroles, ses écrits, ses conseils et ses critiques a guidé nos réflexions et a accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant nos recherches, tout en nous accordant sa confiance et une large indépendance dans l'exécution de ce modeste mémoire.

Notre profonde gratitude s'adresse à Mr : le Professeur **KHELIFI Douadi**, professeur à l'école nationale supérieure de biotechnologies, pour avoir fait preuve d'une bienveillance remarquable en nous ouvrant les portes de son laboratoire afin de nous faciliter d'effectuer ce travail. Vous nous faites également, monsieur, l'honneur de participer à ce jury et de le présider.

Nous adressons également nos sincères remerciements à Mr **Merghit Rachid**, maître de conférences de nous avoir fait l'honneur d'examiner et co-encadrer ce travail. Nous le remercions également de nous avoir accueilli au sein de son service pour effectuer notre stage, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous tenons également à remercier les personnels de l'hôpital militaire régional universitaire de Constantine (HMRUC/5°RM) en particulier le chef service de cardiologie : professeur **TRICHINE Aziz** pour avoir accepté de nous recevoir pour la collecte des échantillons et consultation des dossiers.

Nous remercions chaleureusement vont également à tous **les laborantins du (CTS), les médecins, les infirmiers** et tout **le personnel de service de cardiologie** de l'HMRUC pour toute l'aide qu'ils nous ont apportée tout au long de notre stage pratique.

Nos remerciements vont également aux **malades** accueillis par le service de cardiologie pour nous apporter leurs salives. Qu'Allah vous guérisse.

À très chère Hanane, nous vous remercions pour tous vos conseils, vos aides pour votre soutien continu... Nous sommes chanceuses de vous avoir à nos côtés... Que Dieu vous protège et vous prête bonne santé et longue vie.

En fin nos remerciements à tous ceux qui ont aidé à l'élaboration de ce mémoire du pré ou du loin.





Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail

*A la reine de ce monde, et l'héro de ma vie... (Mes chers parents).
être les plus chers à mon cœur ceux qui m'ont encouragé d'amour et
d'affection, qui m'ont protégé, qui m'ont donnés force, courage et
confiance.*

*A ma chère mère **Naïma** Sources de mes joies, la personne la plus
proche de mon cœur,
je veux te dire maman que tu es une mère exemplaire, par tes conseil,
ta tendresse, ta confiance et ton amour.*

*A mon cher père **Rachid** qui m'a toujours encouragé, ta confiance m'a
permis de surmonter les difficultés et m'a donné l'espoir pour les
projets d'avenir.*

Que Dieu vous bénisse et vous prête bonne santé et longue vie.

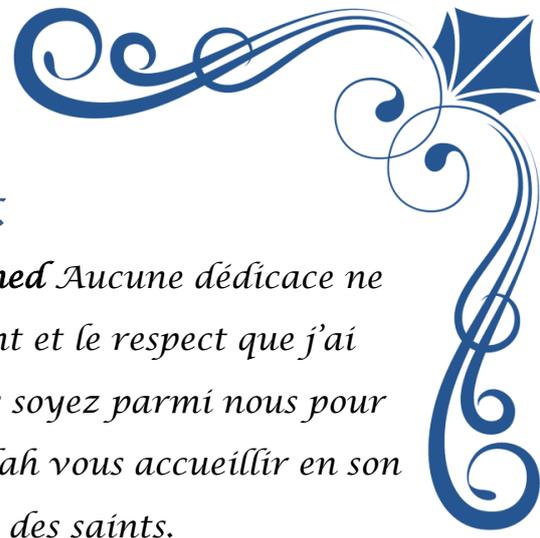
*A mes chères sœurs les bijoux de la famille **Fatima et Chaïma** merci
pour votre soutien quotidien sans faille, vos conseils, votre aide
précieuse tout le long de mes études, votre compréhension, vos
encouragement qui m'ont amené là où je suis aujourd'hui
Je vous souhaite du bonheur et du succès dans toute votre vie, Je vous
souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.*

*Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à mon
oncle **Naïm** et sa famille merci pour l'encouragement sans limites,
votre soutien dans les moments difficiles,
Que Dieu les récompense pour tous leurs bienfaits.*

*A mes chères amies **Soundous et kawter**, je ne peux trouver les mots
justes et sincères pour exprimer mon affection et mes pensées, vous
êtes pour moi deux sœurs sur qui je peux compter.*

SAOUSSEN





Je dédie ce modeste travail.

À la mémoire de mes grands-pères **Saad** et **Mohamed** Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. J'aurais bien aimé que vous soyez parmi nous pour qu'ensemble nous partagions ce bonheur. Puisse Allah vous accueillir en son vaste paradis auprès des prophètes et des saints.

À mes grands-mères **Aïcha** et **Hadriya** ce travail et le résultat de vos prières incessantes, de vos tendresses, et de vos amours, que Dieu vos procure santé et joie pour le restant de la vie, je vous aime très fort.

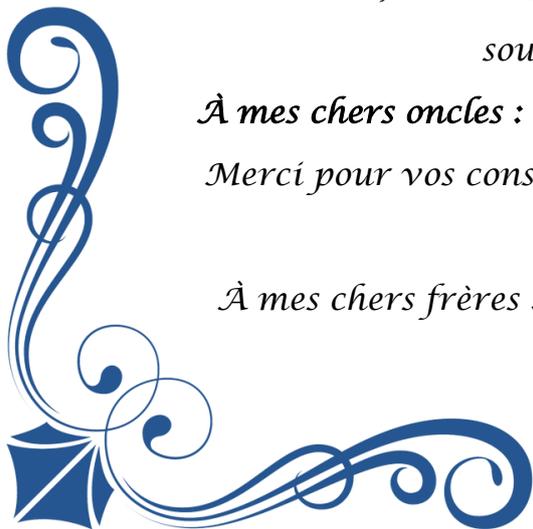
À mes chers parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que Dieu leur procure une bonne santé et une longue vie.

Une spéciale dédicace, à mes très chéries tantes (**Souad** et **Linda**) : je vous remercie de m'avoir accompagné durant tout ce chemin, merci pour votre présence dans tous les moments. Merci pour tout le soutien, l'amour, la tendresse, les prières des sacrifices et l'encouragement sans limites que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que Dieu tout-puissant vous protège et vous accorde une longue vie et vous garde toujours réuni pour le bonheur et la prospérité

À mes très chères tantes : **Samira** et **Fairouz**, vous étiez toujours là pour m'écouter, me soutenir et m'aider. Vous êtes ma confidente. Je vous souhaite tout le bonheur du monde.

À mes chers oncles : **Yacine**, **khalil**, **Hamid**, **Mourad**, **Ramzi** et **Khaled** Merci pour vos conseils, et vos encouragements, je vous en serai pour toujours reconnaissante.

À mes chers frères : **Seif Elislam**, **Seddham Zakaria** et **Adam Aymen** Je vous aime tellement fort.





À **Amína**, Tu étais toujours une sœur et une amie Merci pour tous les moments et les souvenirs qu'on a vécu ensemble. Merci pour ton amour, ton aide et ton soutien.

À mes belles princesses **Meïsem (a) Allea, meïssen(b)** et **Dalíya** vous êtes les fleurs de notre famille... Je vous souhaite une vie pleine de réussite, de santé et de bonheur.

À mes beaux rois **Ahmed Saad, Sary, Raouf, Mohamed, Djoud et Youcef**
Je vous souhaite une vie pleine de réussite, de santé et de bonheur.

À mon cher binôme : **Souassen** pour son respect et sa confiance. Qui n'ont cessé d'être pour moi source de réconfort, d'amour et de générosité. Merci pour tous ces bons moments passés avec toi.

À ma belle-sœur **Batoul**, tu es comme ma sœur...
J'apprécie votre soutien... Je te souhaite à vous tout le meilleur...

À TOUS MES ONCLES ET TANTES

À TOUS MES COUSINS ET COUSINES

Il me serait difficile de vous citer tous, vous êtes dans mon cœur...

À mes très chères copines : **Amína, Kawter, Ibtissem** pour toute l'affection qu'elles m'ont donnée et pour leurs précieux encouragements.

À mes amies d'enfance **Narimane, Nihed, Houda, Dounia et Romayssa**,
Je suis toujours fier de tes connaissances... Vous partagerez toujours une partie de ma vie et de mon cœur... Nous avons partagé ensemble beaucoup de moments de joie et de tristesse aussi lorsque nous avons perdu notre chère amie **HOSNA** qui nous manque encore jusqu'ici...
Puisse **ALLAH** vous aidez dans vos études. J'espère pour vous que vous réalisez tous vos rêves.

Et aussi beaucoup d'autres personnes que je n'ai pas l'occasion de les mentionner.

SOUNDIOUS



Liste des abréviations

AOMI : Artériopathie oblitérante des membres inférieurs.

ATCD : antécédent.

AVC : Accident vasculaire cérébral.

BNP: Brain natriuretic peptide.

ECG : électrocardiogramme.

FDR : Facteur de risque.

FDRCV: Facteurs de risque cardiovasculaire.

HDL: High Density Lipoproteins.

HMRUC: Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine.

HTA : hypertension artérielle.

IAS : Indice de Similarité Absolu.

iCAM-1: intercellular Adhesion Molecule-I.

IDM : Infarctus du myocarde.

IFN- α : Interféron- α .

Ig: Immunoglobulines.

IL: Interleukine.

IMC : Indice de masse corporelle.

IRS : Indice de similarité Relative.

LDL : Lipoprotéines de Basse Densité.

Lp- PLA2 : Lipoprotéine-associated Phospholipase A2.

MCP-1 : Monocyte Chemokine protéine.

MCV : Maladie Cardiovasculaire.

NGF: le nerve growth factor.

NO: Nitric Oxide.

NP: Natriuretic Peptide.

OMI : OEdème des membres inférieurs.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

RCV : Risque cardiovasculaire.

SCA : Syndrome coronarien aigu.

SDS : Sodium Dodecyl Sulfate.

SDS-PAGE: Sodium Dodecyl Sulfate-Poly Acrylamide Gel Electrophoresis.

TCA: Trichloroacetic Acid.

TEMED: N, N, N', N'-Tetra methyl ethylene diamid.

TNF- α : Tumour Necrosis Factor –alpha.

UFMC1 : Université des Frères Mentouri Constantine.

VCAM-1: Vascular Cell Adhesion Molecule-1.

WHO: World Health Organization.

Tables des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des figures

Introduction	1
I. Athérosclérose.....	3
I. 1. Définition de l'athérosclérose	3
I. 2. Structure de l'artère.....	4
I. 2.1. L'intima.....	4
I. 2.2. La média.....	4
I. 2.3. L'adventice.....	5
I. 3. Physiopathologie de l'athérosclérose	5
I. 3.1. Athérogénèse.....	5
I. 3.2. Evolution de la plaque d'athérome	6
I. 3.3. Rupture de la plaque.....	6
I. 4. Classification.....	7
I. 5. Etiologie et facteurs de risque	8
I. 5.1. Facteurs de risque constitutionnels (non modifiables).....	8
I. 5.1.1. Âge	8
I. 5.1.2. Sexe	9
I. 5.1.3. Hérité et antécédents familiaux	9
I. 5.2. Les facteurs de risque modifiables	9
I. 5.2.1. Surpoids et obésité	9
I. 5.2.2. Sédentarité.....	9
I. 5.2.3. Tabagisme	9
I. 5.2.4. Hypertension artérielle ou HTA.....	10
I. 5.2.5. Diabète	10
I. 5.2.6. Dyslipidémies.....	10
I. 5.2.7. Stress	11
I. 5.2.8. Régime alimentaire	11

I. 6. Maladies causées par l'athérosclérose	11
II. La salive.....	12
II. 1. Définition de la salive	12
II. 2. Glandes salivaires	12
II. 2.1. Glandes salivaires principales.....	12
II. 2.2. Les glandes salivaires accessoires	12
II. 3. Caractéristiques physicochimiques de la salive.....	13
II. 3.1. Le volume	13
II. 3.2. Le débit salivaire.....	13
II. 3.3. L'acidité.....	13
II. 3.4. Viscosité	13
II. 3.5. Potentiel d'oxydoréduction	13
II. 3.6. Température.....	13
II. 4. Composition de la salive.....	14
II. 4.1. Constituants inorganiques.....	14
II. 4.1.1. Gaz.....	14
II. 4.1.2. Eléments minéraux	14
II. 4.2. Constituants organiques.....	15
II. 4.2.1. Autres composants organiques	16
II. 5. Rôle de la salive.....	16
II. 5.1. Fonction protectrice	17
II. 5.2. Maintien de l'intégrité des tissus dentaires et du milieu.....	17
II. 5.3. Pouvoir tampon.....	17
II. 5.4. Rôle dans l'alimentation	17
II. 5.5. Rôle dans l'homéostasie hydrique	17
III. Les biomarqueurs	18
III. 1. Définition.....	18
III. 2. Facteurs de risque versus biomarqueurs.....	19
III. 2.1. Critères de sélection d'un biomarqueur en pratique clinique	19
III. 3. Biomarqueurs biologiques de l'athérosclérose	20
III. 3.1. Les biomarqueurs sériques	20
III. 3.1.1. Marqueurs de l'inflammation	20
III. 3.1.2. Marqueurs lipoprotéiques.....	21
III. 3.1.3. Marqueurs hémostatiques.....	21

III. 3.1.4. Marqueurs de l'oxydation.....	22
III. 3.1.5. Autres marqueurs.....	22
III. 3.2. Biomarqueurs salivaires	23
III. 4. Relation athérosclérose-salive-biomarqueur	24
I. Matériel biologique	23
1.1. Recrutement des patients.....	23
1.2. Recueil de la salive.....	23
2. Extraction des protéines totales et séparation électrophorétique.....	23
2.1. Extraction des protéines dans les conditions dénaturantes et réductrices.....	23
2.2. Electrophorèse monodimensionnelle en gel de polyacrylamide	24
3. Analyse des gels et étude statistique	24
3.1. Analyse des gels	24
3.2. Analyse statistique.....	24
I. Etude épidémiologique	26
I. 1. Population et lieu de l'enquête.....	26
I. 2. Analyse descriptive de l'échantillon	26
I. 2.1. Répartition de l'échantillon selon le sexe	26
I. 2.2. Répartition de l'échantillon selon les tranches d'âge.....	27
I. 2.3. Répartition de l'échantillon selon l'HTA.....	27
I. 2.4. Répartition de l'échantillon selon les dyslipidémies.....	28
I. 2.5. Répartition de l'échantillon selon le diabète	29
I. 2.6. Répartition de l'échantillon selon la sédentarité	29
I. 2.7. Répartition de l'échantillon selon la région	30
I. 2.8. Répartition de l'échantillon selon la consommation du tabac	30
I. 2.9. Répartition de l'échantillon selon l'IMC.....	31
I. 2.10. Répartition de l'échantillon selon l'estimation du risque cardiovasculaire globale	32
I. 2.11. Répartition de l'échantillon selon les antécédents familiaux	33
I. 2.12. Répartition de l'échantillon selon la consommation d'alcool.....	33
I. 2.13. Répartition de l'échantillon selon les complications associées.....	34
I. 2.14. Répartition de l'échantillon selon le stress.....	35
II. Fractionnement des protéines salivaires et recherche des biomarqueurs.....	35
1.1. Analyse des protéines salivaires dénaturantes et réduites fractionnées par SDS-PAGE.....	35
1.2. Étude des protéines salivaires cas d'IDM	36
1.3. Étude des protéines salivaires cas des multi-facteurs de risque	37

1.4 . Étude des protéines salivaires cas des différentes pathologies liées à l'athérosclérose	39
2. Etablissement des diagrammes types	41
3. Etude de la variabilité des protéines salivaires.....	44
3.1 Etude de la base de la variabilité protéique observée les deux bandes les plus fréquentes sont les bandes 11 et 12 de mobilités 16,5cm et 17,5 cm respectivement, présentes chez tous les échantillons avec une fréquence de 100% donc c'est les protéines salivaires dominantes, suivies par les bandes protéiques 10 et 4 de mobilités 15 cm et 9 cm ; avec des fréquences de 87% et 73% retrouvées chez 13 et 11 échantillons respectivement	
variabilité des protéines salivaires cas d'IDM.....	44
3.2 Etude de la variabilité des protéines salivaires cas de présence des multi-facteurs de risque ...	45
3.3 Etude de la variabilité des protéines salivaires cas de différentes complications de l'athérosclérose.....	47
4. Classification hiérarchique des protéines salivaires	48
4.1. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites (cas IDM).....	48
4.2. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites (cas de multi-facteurs).....	50
4.3. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites (cas différentes complications d'athérosclérose)	52
5. Indice de similarité des diagrammes protéiques des échantillons	53
5.1. Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites (cas d'IDM).....	54
5.2. Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites (cas de multi-facteurs de risque).....	55
5.3. Indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites (cas des différentes complications de l'athérosclérose)	57

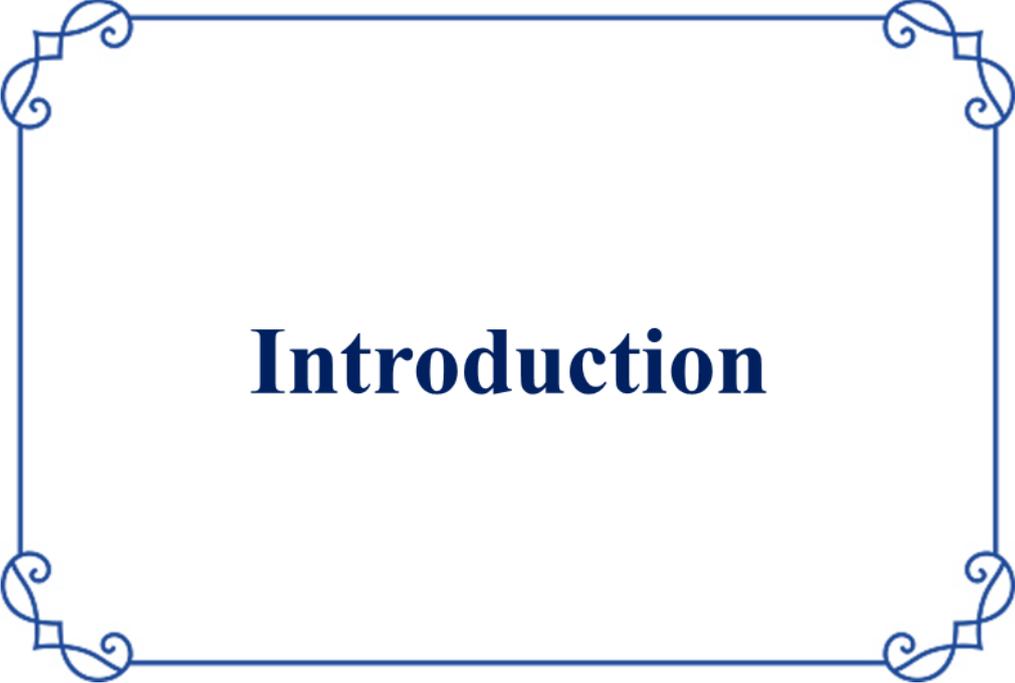
Liste des figures

Figure 1: coupe transversal dans une artère touché par l'athérosclérose	3
Figure 2: Structure de la paroi artérielle normale Artère de moyen calibre et ses trois tuniques : intima, média, adventice (D'après Sanofi-aventis France)	4
Figure 3: concept actuel de l'athérosclérose (Adapté de Peter Libby et al , Nature, 2001 473 – 325).....	6
Figure 4: les différents stades du processus d'athérosclérose	8
Figure 5: les différentes maladies cardiovasculaires liées à l'athérosclérose selon leur localisation.	12
Figure 6 : Diamant de fonctions de la salive (la salive 2018Aspects qualitatifs de la salive dans le cadre de la radiothérapie cervico-faciale: revue systématique)	18
Figure 7: répartition des patients selon le sexe.	26
Figure 8: répartition des patients selon les tranches d'âge.....	27
Figure 9: répartition des patients selon l'HTA.....	28
Figure 10: répartition des patients selon les dyslipidémies.....	28
Figure 11: répartition des patients selon la sédentarité	30
Figure 12 : répartition des patients selon la région	30
Figure 13 : répartition des patients selon l'IMC	32
Figure 14 : répartition de patients selon les antécédents familiaux	33
Figure 15 : répartition des patients selon la consommation d'alcool.....	34
Figure 16 : répartition des patients selon les complications associées.....	34
Figure 17 : répartition des patients selon le stress.....	35
Figure 18 : Profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS/PAGE. T(1): témoin, 2 à 15: patients malades.	37
Figure 19 : Profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS/PAGE. T(16): témoin, 17 à 30 : patients malades	39
Figure 20: Profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS/PAGE. T (1 et 16): témoins, 31 à 43 : patients malades.	41
Figure 21 : dendrogramme des 13 échantillons révèlent dans les conditions dénaturantes et réductrices (cas d'IDM)	50

Figure 22: dendrogramme des 13 échantillons révèlent dans les conditions dénaturantes et réductrices (cas de multi-facteurs)	51
Figure 23: dendrogramme des 13 échantillons révèlent dans les conditions dénaturantes et réductrices (cas des différentes complications d'athérosclérose).....	53

Liste des tableaux

Tableau 1: Concentration en électrolytes (en mmol/L) au niveau du plasma et de la salive mixte stimulée ou non [12].....	14
Tableau 2: Liste non exhaustive des protéines salivaires dans la salive entière et leur concentrations dans les glandes salivaires majeures (parotide, sous-maxillaire-sublinguale ou SMSL) ([19].).....	15
Tableau 3: Nouveaux facteurs de risque cardiovasculaire.....	23
Tableau 4: répartition des patients selon le diabète	29
Tableau 5 : répartition des patients selon la consommation du tabac pour les deux sexes.	31
Tableau 6: répartition des patients selon l'estimation du risque cardiovasculaire globale.....	32
Tableau 7: Matrice binaire des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrice (cas d'IDM).....	42
Tableau 8: Matrice binaire des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrices (cas des multi-facteurs de risques).....	43
Tableau 9: Matrice binaire des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrices (cas des différentes complications liées à l'athérosclérose)	43
Tableau 10: variabilité des protéines salivaires en conditions dénaturantes et réductrices (cas d'IDM)	44
Tableau 11 : variabilité des protéines salivaires en conditions dénaturantes et réductrices (cas de présence de multi-facteurs de risque)	46
Tableau 12 : variabilité des protéines salivaires en conditions dénaturantes et réductrices (cas de différentes complications de l'athérosclérose)	47
Tableau 13: indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites révélées par SDS-PAGE (cas d'IDM).	54
Tableau 14: indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites révélées par SDS-PAGE (cas de multi-facteurs de risque).	56
Tableau 15: indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites révélées par SDS-PAGE (cas des différentes complications de l'athérosclérose).....	57



Introduction

L'athérosclérose et ses complications cardiovasculaires posent un problème majeur de santé publique, ils sont à l'origine de taux de morbidité et de mortalité très élevés dans les pays développés, et d'un coût socio-économique particulièrement lourd [2].

L'athérosclérose est clairement définie comme une maladie inflammatoire chronique impliquant des cellules inflammatoires, dépôts et accumulation de lipides et de protéines matricielles. L'histoire naturelle des plaques d'athérosclérose se caractérise par des épisodes de rupture, ou d'érosion superficielle de l'endothélium, conduisant à la formation d'un thrombus, symptomatique ou non [1].

En effet, la détection d'une athérosclérose précoce est l'un des soucis majeurs de la médecine actuelle, en particulier pour mettre en place des mesures de prévention secondaire, médicamenteuses ou non [2].

La connaissance des processus physiopathologiques, aboutissant à l'installation de la plaque d'athérome ainsi que les mécanismes contribuant à sa fragilité ou sa rupture, et les différents facteurs moléculaires impliqués dans ces processus, ouvrirait la possibilité d'étudier des nouveaux marqueurs systémiques qui peuvent être des outils pertinents d'un diagnostic précoce [2].

La salive humaine est un ultra filtra de plasma et contient des protéines synthétisées *in situ* soit dans les glandes salivaires ou dérivées du sang et contient des marqueurs biologiques dérivés du sérum. Cette composition protéique donne à penser que des biomolécules de détection de la sensibilité clinique et la spécificité dans la salive devrait être possible et plus facile que dans le sang [3].

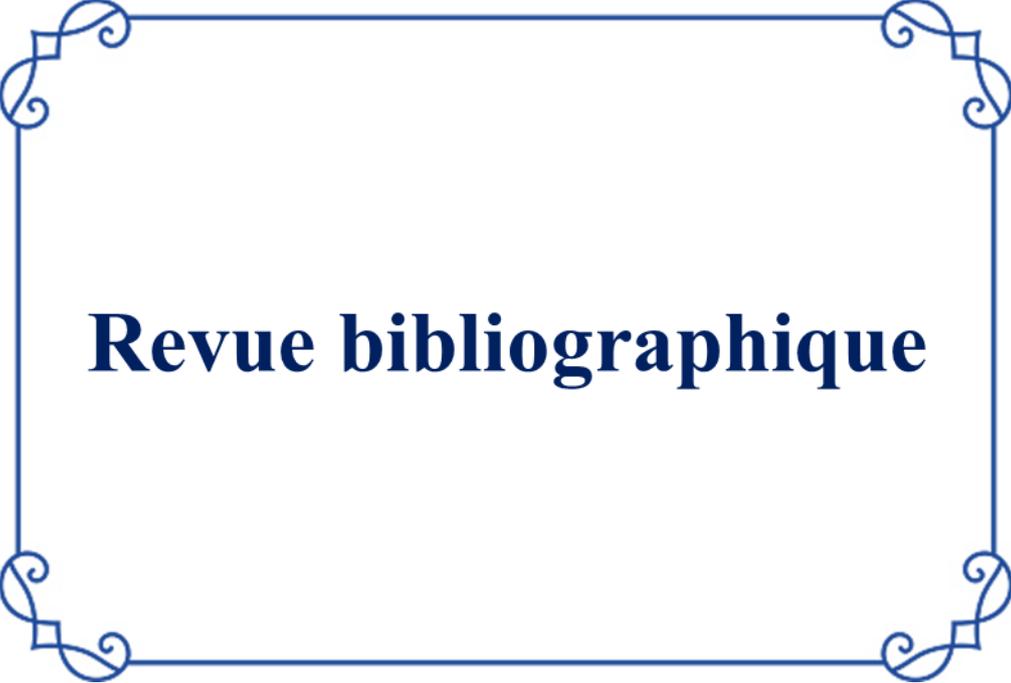
Plusieurs marqueurs biochimiques associés au risque cardiovasculaire ont été récemment décrits. Ils y en a, qui ont déjà prouvé leur intérêt depuis une décennie, d'autres sont plus récents et en cours d'étude [2].

En effet, l'utilisation à grande échelle de ces nouveaux biomarqueurs, des données récentes obtenues avec la CRP, la Lp-PLA2 ou le CD40-ligand, et les nouvelles perspectives offertes par la recherche en génomique et en protéomique suggèrent que les biomarqueurs joueront dans un proche avenir un rôle majeur dans la prise en charge du patient coronarien [4].

Dans ce contexte, nous initions notre travail qui a pour objectif principal d'explorer le protéome salivaire des patients atteints l'athérosclérose et de rechercher des biomarqueurs salivaires de cette pathologie, en comparant les profils protéiques des patients malades avec celui des sujets sains par application de la technique d'électrophorèse monodimensionnelle SDS-PAGE.

Ainsi, ce modeste travail est structuré en deux parties :

- ✓ La première partie est une revue bibliographique qui se rapporte aux notions générales sur l'athérosclérose, la salive et les biomarqueurs.
- ✓ La deuxième partie fera la lumière sur le matériel et les méthodes utilisées dans notre recherche suivie par les résultats obtenus et la discussion de ces résultats avec une conclusion générale.



Revue bibliographique

I. Athérosclérose

I.1. Définition de l'athérosclérose

L'athérosclérose se définit comme « l'association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et de moyen calibres consistant en une accumulation locale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissus fibreux et de dépôts calcaires, le tout s'accompagnant de modifications de la média ». Cette définition a été donnée par l'Organisation Mondiale de la Santé en 1958 (figure 1) [5].

La principale caractéristique physiopathologique de l'athérosclérose est son évolution silencieuse pendant de très nombreuses années, passant par différents stades dont chacun est l'évolution du précédent [6].

Il est important de bien différencier l'athérosclérose de l'artériosclérose qui est également une sclérose artérielle non liée à une accumulation lipidique et généralement causée par le vieillissement cellulaire [7].

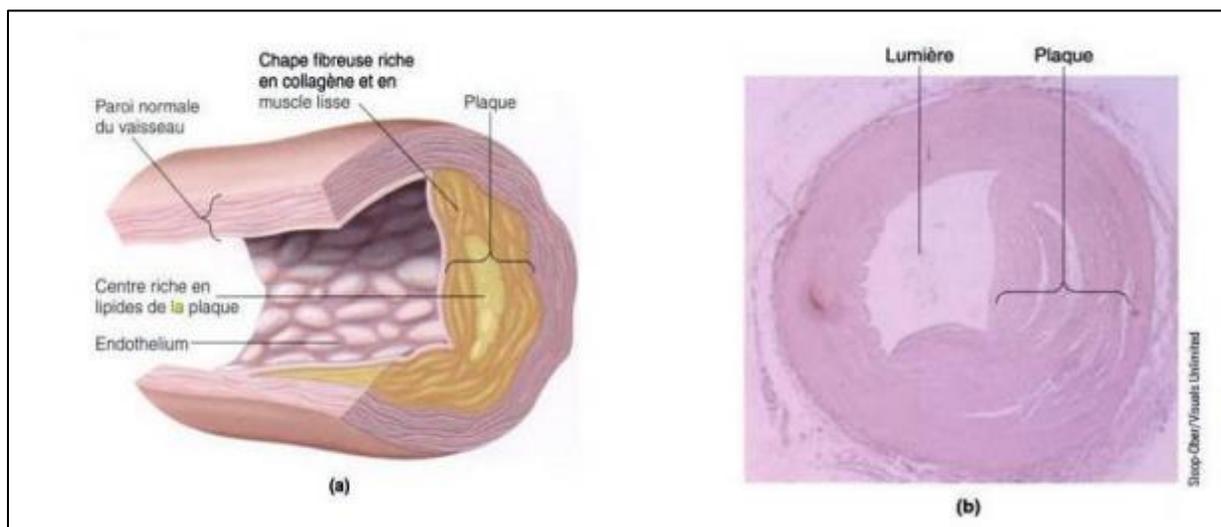


Figure 1 : Plaque d'athérome, a) représentation schématique des constituants de la plaque. b) Micrographie d'une plaque importante dans une artère coronaire [5].

Avant de rentrer dans les détails de formation de la plaque athérosclérose, des généralités concernant la paroi vasculaire seront données.

I.2. Structure de l'artère

L'athérosclérose touche les artères de moyen à gros calibre ($> 500 \mu\text{m}$). Elles répondent à un modèle commun d'organisation décrit ci-dessous [8].

L'artère est composée de trois tuniques, comme illustré dans la figure 2 :

I.2.1. L'intima

C'est la tunique la plus interne et la plus fine ; c'est à ce niveau que se développe l'athérosclérose. Elle est constituée :

- D'une couche unique de cellules endothéliales, imbriquées les unes dans les autres et formant une couverture étanche ; cet endothélium possède différentes propriétés telles que les activités métaboliques, thromborésistance, fonction immunitaire et assure une barrière entre le sang et les tissus [8].
- D'une couche de tissu conjonctif fibro-élastique.
- D'une lame de fibre élastique constituée d'élastine, la limitante élastique interne (absente dans de nombreux vaisseaux) [9].

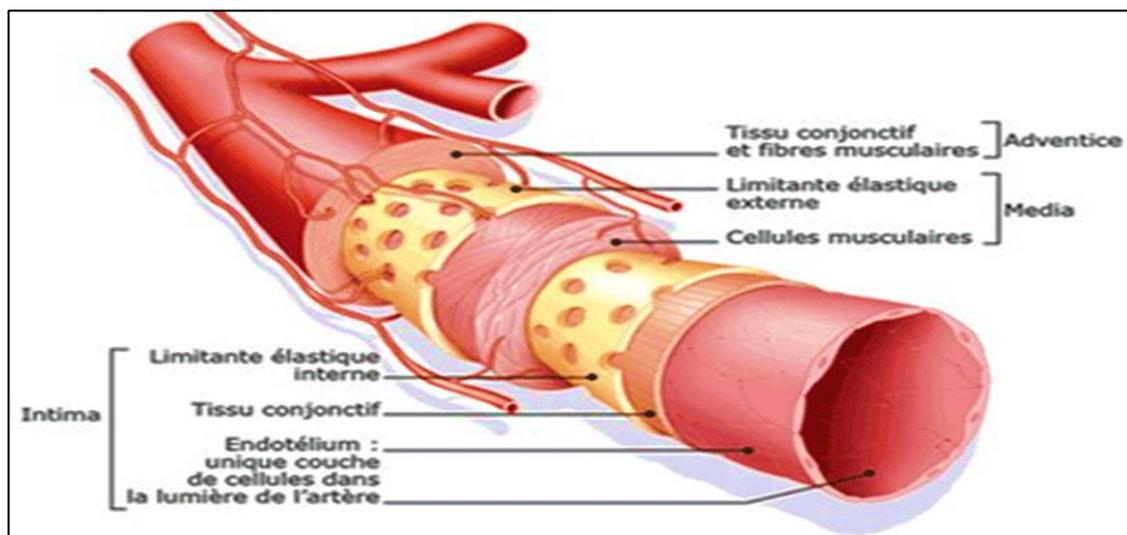


Figure 2: Structure de la paroi artérielle normale Artère de moyen calibre et ses trois tuniques [9].

I.2.2. La média

Tunique moyenne, elle contient la limitante élastique interne faisant suite au sous-endothélium externe, des cellules musculaires lisses (CML), des fibres élastiques en proportion variable selon le type de vaisseau, du collagène, des mucopolysaccharides, et une limitante élastique externe [8].

I.2.3. L'adventice

Tunique externe, c'est un tissu conjonctif constitué de collagène, de quelques fibres élastiques et de fibroblastes, vascularisé (vasovasorum) et innervé (nervovasorum) [8].

I.3. Physiopathologie de l'athérosclérose

I.3.1. Athérogénèse

La formation de la plaque d'athérome (accumulation lipidique à la face interne de la paroi des artères) débute dès l'enfance, et se développe tout au long de la vie. Il peut apparaître des sténoses artérielles (rétrécissement du diamètre artériel au-delà d'un certain épaissement de la paroi athéromateuse) vers l'âge de 30-40 ans, additionné de calcifications vers 50 ans [10].

Le point de départ de l'athérosclérose est représenté par un changement de perméabilité des cellules endothéliales (dysfonction endothéliale), ainsi qu'une augmentation des taux circulants de LDL riches en cholestérol [11], et par leur accumulation au niveau sous-endothélial [12] (figure 3).

Après leur pénétration, les LDL subissent une oxydation. Cette transformation est une étape majeure dans la formation et le développement de la plaque. L'accumulation des LDL modifiées active les cellules endothéliales et entraîne leur production de nombreuses molécules pro-inflammatoires. Il s'agit de molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM-1), de facteurs de croissance (M-CSF) et de chimiokines (MCP-1, CX3CL1=Fractalkine). Il en résulterait une augmentation de l'adhésion des monocytes circulants à la paroi endothéliale, qui migreraient ensuite au travers des jonctions cellulaires endothéliales par diapédèse jusqu'à l'espace sous-endothélial. Une fois dans le tissu artériel, les monocytes se différencient en macrophages [13].

La formation de la plaque d'athérosclérose implique également le recrutement de CML. Après avoir migré de la media vers l'intima, les cellules musculaires lisses prolifèrent, synthétisent et sécrètent en abondance les protéines de la matrice extracellulaire (collagène, élastine). Ces protéines de la MEC forment une chape fibreuse qui recouvre la plaque.

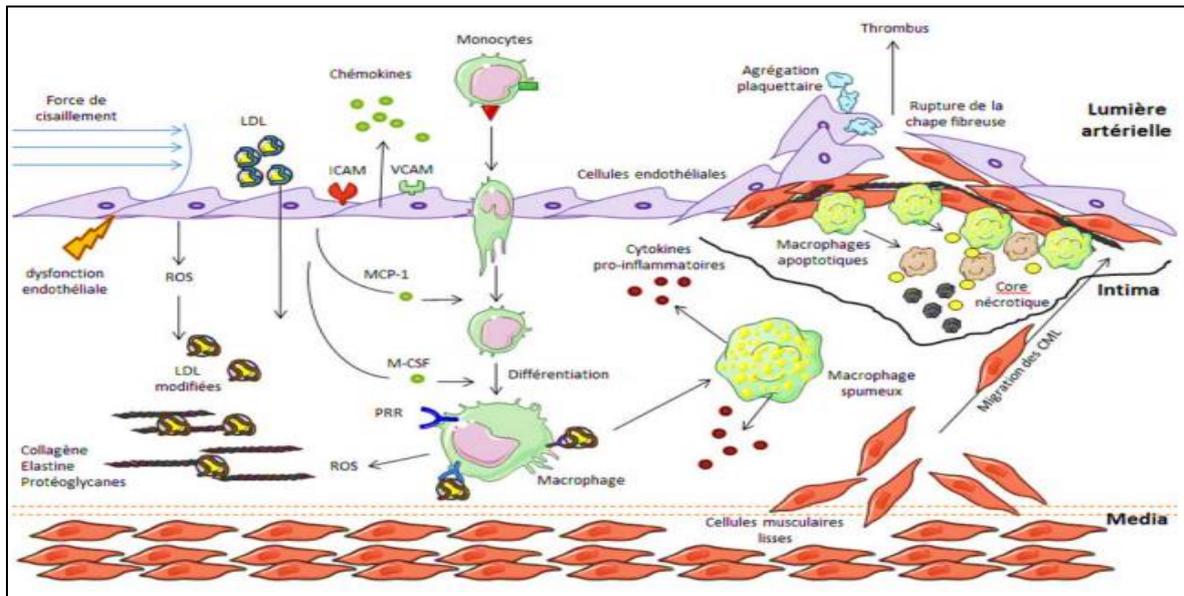


Figure 3: concept actuel de l'athérosclérose [14]

I.3.2. Evolution de la plaque d'athérome

L'évolution de la pré-plaque vers la plaque d'athérome mature se fait par l'intermédiaire d'espèces chimiques exerçant un chimiotactisme, ainsi que de divers facteurs de croissance. Cela conduit à la migration de cellules musculaires lisses (CML) du média et à leur prolifération. Elles vont entourer petit à petit un noyau lipidique, formé de lipides, de cellules en apoptose et de cellules nécrosées [10].

Le phénotype des CML change de contractile à sécrétoire, ce qui aboutit à la formation de la chape fibreuse (collagène I, III, glycoprotéines, glycoaminoglycanes...). La plaque va ensuite grossir progressivement. Ce processus va être compensé par un élargissement artériel jusqu'à ce que la plaque occupe 40% de la paroi artérielle, seuil à partir duquel l'élargissement ne suffit plus à compenser, et où la lumière artérielle rétrécit progressivement [10].

Enfin des facteurs extrinsèques tels que des poussées hypertensives ou un effort important peuvent conditionner la rupture de la plaque par l'intermédiaire des contraintes supplémentaires exercées sur l'appareil vasculaire à ces occasions [10].

I.3.3. Rupture de la plaque

Le déchirement de la plaque fibreuse aboutit au déclenchement de la cascade de coagulation. C'est le facteur tissulaire présent en abondance dans le noyau lipidique, libéré lors de l'apoptose des macrophages qui est directement à l'origine du phénomène. Le thrombus

formé peut soit se détacher de l'endothélium et aboutir à une embolie plus en aval, soit resté et boucher partiellement ou complètement la lumière artérielle, aboutissant dans ce cas à une ischémie aigüe du territoire d'aval. Il est fréquent que des épisodes aigus de thrombose de petite ampleur suivent une évolution spontanément résolutive. Une érosion progressive de l'endothélium peut également subvenir (dans 20 à 40 % des cas) pour aboutir au dénudement du noyau lipidique. Ce processus semble être accéléré par l'apoptose des cellules endothéliales et la présence des cellules pro-inflammatoires [10].

I.4. Classification

L'évolution de la plaque d'athérome peut être scindée en différents stades. Une classification évolutive des lésions d'athérosclérose à partir de l'étude histologique d'artères coronaires humaines a été proposée par [15] (figure 4).

- ❖ **Stade 1** : il se traduit par la présence dans l'intima de cellules spumeuses isolées. La présence de ces cellules provient d'un déséquilibre entre les entrées et les sorties des lipoprotéines.
- ❖ **Stade 2** : il y a présence de stries lipidiques constituées d'un plus grand nombre de cellules spumeuses, mais présence également de cellules musculaires lisses, contenant des lipides en quantité abondante. Il n'y a pour l'instant pas de lipides extra cellulaires.

Ces deux premiers stades peuvent apparaître avant l'âge de 10 ans et sont asymptomatiques.

- ❖ **Stade 3** : il est autrement appelé « pré-athérome ». Il correspond à la présence de lipides extracellulaires en faible quantité due à la mort de cellules spumeuses.
- ❖ **Stade 4** : Il consiste en le regroupement des lipides extra et intra cellulaires en amas lipidiques constituant l'athérome simple.
- ❖ **Stade 5** : L'athérome est pris dans une trame fibreuse qui l'isole de la lumière artérielle. Les fibres sont produites par les cellules musculaires lisses et contiennent du collagène, de la fibrine, de l'élastine et des mucopolysaccharides. C'est à cet ensemble que correspond la définition de l'OMS (organisation mondiale de la santé) [16].

L'évolution vers le stade 6 survient après 40 ans et reste longtemps asymptomatique.

- ❖ **Stade 6** : Il existe 3 types de stade 6 :
 - 6a : rupture de la chape fibreuse.
 - 6b : hémorragie intra-plaque.

- 6c : thrombose.

L'avancée vers ces stades contribue à l'évolution de la plaque par l'incorporation de matériel hématique.

- ❖ **Stade 7** : les plaques sont très calcifiées, survenant à un âge plus avancé.
- ❖ **Stade 8** : les plaques sont quasi exclusivement sclérosées.

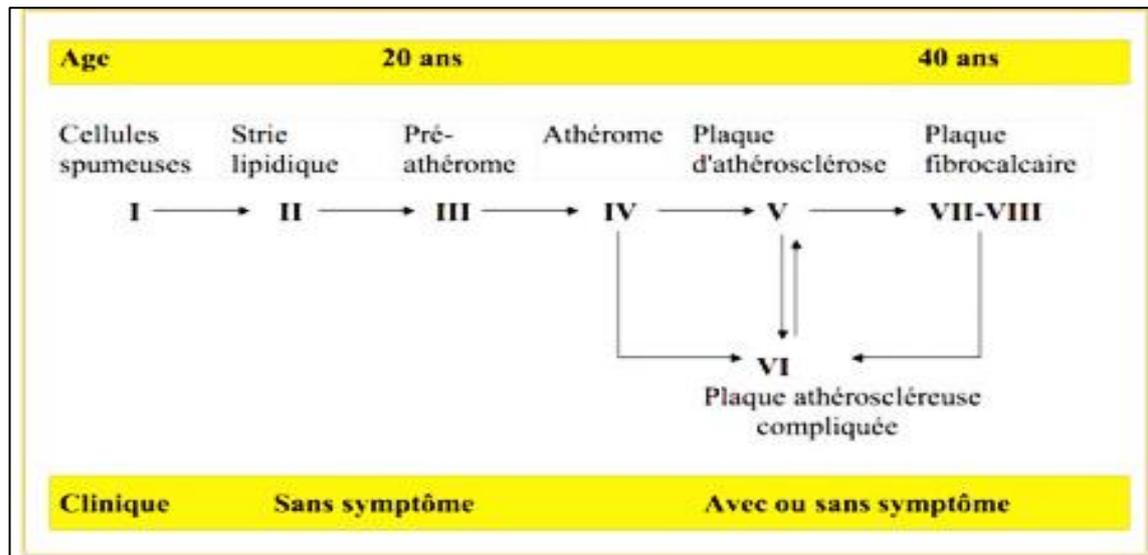


Figure 4: les différents stades du processus d'athérosclérose [17].

I.5. Etiologie et facteurs de risque

Les facteurs de risque sont classés en deux groupes : les facteurs de risque constitutionnels dont le déterminisme est génétique et les facteurs environnementaux, qu'ils soient liés à des habitudes de vie (facteurs comportementaux) ou à l'environnement (climat, pollution)

I.5.1. Facteurs de risque constitutionnels (non modifiables)

I.5.1.1. Âge

Les lésions d'athérosclérose apparaissent très précocement et s'aggravent avec l'âge, ce qui reflète la durée d'exposition d'un individu aux autres facteurs de risque [18]. Même si des cas d'athérosclérose ont été observés chez des sujets jeunes, la prévalence de cette pathologie reste fortement corrélée à l'âge [19].

1.5.1.2. Sexe

L'homme a un risque d'athérosclérose beaucoup plus élevé que la femme : sur 100 infarctus, 20 surviennent chez la femme. Cette protection est rattachée 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 et explique l'âge tardif de survenue des complications de l'athérosclérose chez la femme [20].

1.5.1.3. Hérité et antécédents familiaux

Les antécédents familiaux de maladie cardiovasculaire sont un facteur de risque d'autant plus important que l'âge de survenue des événements a été précoce dans la famille (père < 55 ans et mère < 65 ans). Dans le cas de maladies cardiovasculaires, la susceptibilité génétique est multifactorielle. Elle implique de nombreux gènes et de nombreuses interactions gène-gène et gène- environnement [21].

1.5.2. Les facteurs de risque modifiables

1.5.2.1. Surpoids et obésité

Le surpoids et l'obésité sont définis comme une accumulation anormale et excessive de graisses pouvant nuire à la santé. Cette affection touche même les jeunes enfants, cela va augmenter le risque de survenue d'incidents cardiovasculaires et de diabète [22].

1.5.2.2. 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 diminue le LDL-C, augmente le HDL cholestérol et modifie certains facteurs de risque (maintien d'un poids normal, la pression artérielle) [20].

Le risque serait autant élevé chez une personne sédentaire que chez une personne tabagique [23].

1.5.2.3. Tabagisme

Il s'agit d'un facteur de risque majeur quel que soit le type de tabagisme, actif ou passif. La consommation touche actuellement des populations jusque-là moins exposées (femmes, sujets jeunes). Les effets délétères du tabac sont liés à la quantité quotidienne de tabac consommée par jour, à l'âge de début de consommation et à la durée de l'exposition. Le risque augmente linéairement avec l'augmentation du nombre de paquets par année [24].

L'oxydation des LDL première condition de l'athérosclérose, peut être provoquée chimiquement in vitro par incubation de LDL natives en présence d'extraits de fumée de cigarette [25].

I.5.2.4. Hypertension artérielle ou HTA

Elle est définie par une élévation anormale de la pression du sang circulant dans les artères. Elle ne provoque souvent aucun symptôme. Elle favorise les maladies cardiovasculaires. L'hypertension artérielle crée des lésions sur la paroi des artères en augmentant le travail du cœur et en participant ou en augmentant la formation d'athérome (plaque de graisse) obstruant plus ou moins progressivement les artères [26].

I.5.2.5. Diabète

Il se caractérise par un taux de sucre trop élevé dans le sang (glycémie > 7.0mmol/dl). Un taux de sucre trop élevé dans le sang endommage la paroi des artères. Les risques de développer une maladie cardiovasculaire chez une personne diabétique sont augmentés de 2 à 4 fois [26].

Pour le diabète de type I, le risque cardiovasculaire apparaît dès l'âge de 30 ans et pour le diabète de type II ; l'intolérance au glucose associés à d'autres facteurs de risque (HTA, dyslipidémie, obésité) constituent un risque cardiovasculaire majeur [27].

I.5.2.6. Dyslipidémies

Les dyslipidémies et plus particulièrement les hypercholestérolémies constituent le facteur de risque le plus corrélé à l'apparition de l'athérosclérose. Les lipoprotéines athérogènes sont les LDL ainsi que la lipoprotéine A alors que les HDL constituent les lipoprotéines protectrices vis-à-vis de l'athérosclérose [22].

L'hypertriglycéridémie ne constitue pas un facteur de risque en elle-même car elle ne participe pas à la formation des lésions athéromateuses. Mais cette perturbation du bilan lipidique va contribuer à renforcer l'obésité, l'HTA et diminuer le taux de HDL, c'est-à-dire qu'elle va potentialiser les autres facteurs de risque [22].

I.5.2.7. Stress

Le stress représente la réponse de l'organisme aux pressions et contraintes de l'environnement. Lorsqu'il devient chronique et trop important, il peut mener à des problèmes de santé majeurs [26].

Des études épidémiologiques ont permis de montrer qu'ils sont très intriqués avec d'autres facteurs comportementaux (tabac, régime alimentaire...) [28].

I.5.2.8. Régime alimentaire

L'effet athérogène du régime alimentaire repose sur la modification de plusieurs facteurs de risque tel que la glycémie, l'HTA et est très intriqué avec des facteurs de risque comme l'obésité. C'est la consommation d'acides gras saturés qui est athérogène en augmentant le LDL-cholestérol [29].

I.6. Maladies causées par l'athérosclérose

Selon le type d'artère touché par l'athérosclérose, on retrouve différentes pathologies secondaires (figure 5).

- Si la localisation de l'athérome est au niveau des artères carotides sous-clavières et vertébrale, il peut en résulter un accident vasculaire cérébral (AVC).
- Au niveau des artères coronaires, on observera des cardiopathies ischémiques alors qu'au sein de l'aorte thoracique descendante, on retrouvera des anévrysmes.
- Au niveau de l'aorte abdominale, dont la présence de plaques d'athérome est fréquente, il y aura des anévrysmes de l'aorte abdominale, une insuffisance rénale (néphroangiosclérose), une ischémie mésentérique ou la maladie des emboles de cholestérols.
- Au niveau des artères des membres inférieurs, on retrouvera des artériopathies oblitérantes des membres inférieurs (AOMI) et un risque d'impuissance [12].

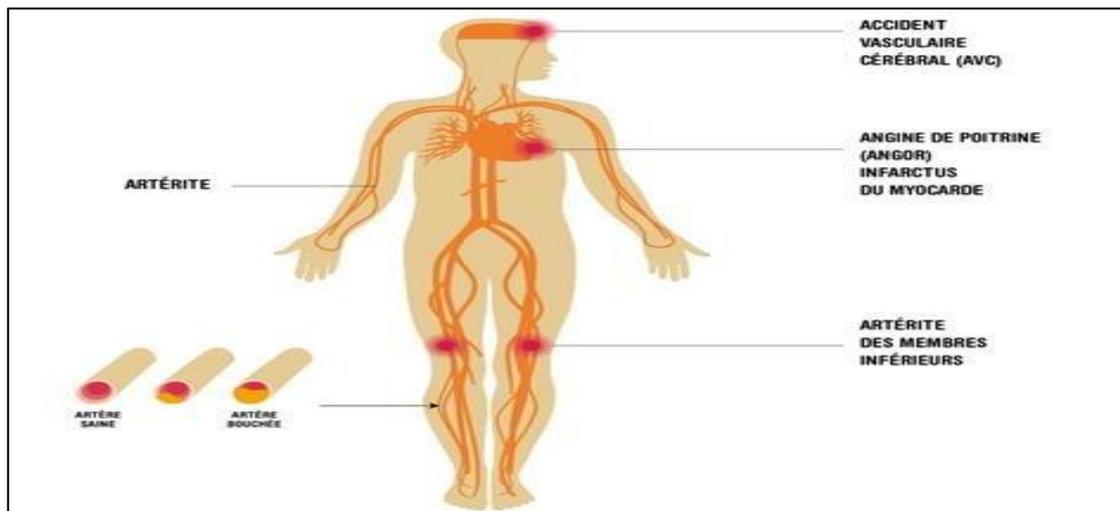


Figure 5: les différentes maladies cardiovasculaires liées à l'athérosclérose selon leur localisation [30].

II. La salive

II.1. Définition de la salive

La salive est un liquide présent dans la cavité orale et sécrété principalement par trois glandes majeures qui sont la glande parotide, la glande sous-maxillaire, et la glande sublinguale, mais aussi par plusieurs glandes mineures [31]. C'est un liquide biologique incolore, plus ou moins visqueux et d'odeur fade [32].

II.2. Glandes salivaires

Les glandes salivaires annexées à la cavité buccale, Elles produisent environ 1 litre de salive par jour, elles sont donc dites exocrines [33]. Il existe deux types :

II.2.1. Glandes salivaires principales

Dites majeures qui sont au nombre de six, trois paires symétriques de chaque côté : Les glandes parotides, les glandes sous-maxillaires et les glandes sublinguales. Ces glandes majeures sont bien délimitées et présentent une architecture interne complexe [34].

II.2.2. Les glandes salivaires accessoires

Dites mineures, à sécrétion continue pour assurer l'humidification de la cavité buccale elles sont disséminées sur toute l'étendue de la muqueuse buccale (lèvres, Palais langue) [35].

II.3. Caractéristiques physicochimiques de la salive

II.3.1. Le volume

D'une personne à une autre, la sécrétion peut varier de 500 à 1200 ml par jour. 70% d'origine parotidienne, 20% submandibulaire (la production des autres glandes étant relativement négligeable) [36].

II.3.2. Le débit salivaire

Le débit salivaire est extrêmement variable dans le temps, l'essentiel de la sécrétion étant réalisé pendant le repas, alors que ce flux répond à un rythme circadien avec une sécrétion minimale nocturne [37].

II. 3.3. L'acidité

Le pH salivaire varie entre 5,5 et 8,5 chez l'homme en fonction de l'âge et de la localisation. La salive parotidienne est plus acide avec un pH de 5,5 au niveau de l'ostium de Sténon, alors que le pH submandibulaire est de 6,4. Ce pH conditionne la formation de tartre au niveau des dents. Après une stimulation comme un repas, le pH augmente à 7,2 en même temps que le débit salivaire, alors que durant le sommeil, il descend en dessous de sa valeur moyenne, cette baisse accompagne la chute de débit [38].

II. 3.4. Viscosité

La viscosité de la salive est inversement proportionnelle au taux de cisaillement qui lui est appliqué. La viscosité de la salive totale non stimulée n'est pas homogène, car le mélange des salives parotidiennes (salive aqueuse), submandibulaires (salive filante) et sublinguales (salive très visqueuse) donne une salive mixte [38].

II. 3.5. Potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel d'oxydoréduction consiste à la capacité d'engendrer des réactions chimiques. Celui de la salive est intimement lié au pH et il est inversement proportionnel au pH [39].

II.3.6. Température

La localisation de la cavité buccale fait que le milieu salivaire est soumis à d'importantes variations de température. Suivant les périodes de la journée, la température varie entre 36,2 et 37,2 °C, avec le pic de la journée situé en fin d'après-midi aux alentours de 16 h 40 [39].

II.4. Composition de la salive

Les sécrétions salivaires proviennent d'un assemblage complexe des produits des glandes salivaires majeures et mineures, du fluide sulculaire, ainsi que les éléments exogènes tels que les bactéries, les débris alimentaires, et des cellules desquamées. Les différents composants peuvent provenir d'une filtration de la circulation sanguine, mais aussi être produits au sein des cellules des glandes ou encore, être partiellement réabsorbés, excrétés ou modifiés au niveau des canalicules excréteurs. Composée d'au moins 99% d'eau, il reste dans la salive des composants qui se distinguent en deux compartiments principaux : les éléments organiques et inorganiques [39].

II.4.1. Constituants inorganiques

II.4.1.1. Gaz

Se trouvant sous forme dissoute, l'élément retrouvé principalement est le dioxyde de carbone CO₂ représentant 20 ou 30% du volume salivaire basal. L'azote N₂ (0,9%) est présent à des niveaux moindres et le dioxygène O₂ en quantité infime (environ 0,2%) [39].

II.4.1.2. Éléments minéraux

Les constituants inorganiques de la salive sont l'ion hydrogène (H⁺), les ions sodium, potassium, calcium, chlorures, phosphates inorganiques, bicarbonates, thiocyanates, des halogènes (l'iode, le fluor) et des métaux (le cuivre et le fer) Leurs teneurs sont très sensibles aux stimuli. Ces composants proviennent d'un transport actif issu du plasma [39].

Le tableau 1 compare les concentrations des électrolytes en comparaison aux concentrations salivaires.

Tableau 1: Concentration en électrolytes (en mmol/L) au niveau du plasma et de la salive mixte stimulée ou non [39].

	Plasma	Salive mixte non stimulée	Salive mixte stimulée
Na⁺	143,3	1,5	20-80
K⁺	4,1	24	20
Ca²⁺	2,2	1-4	1-4
Cl⁻	100,9	22	30-100
HCO₃⁻	27,5	1	15-80
Phosphate	1,2	6	4

inorganiqu	<0,2	0,2	0,2
Mg²⁺	0,05	2 ,5	2
SCN-	2-7	6	3
NH₃⁺			

Na⁺ : ion sodium ; K⁺ : ion potassium; Ca²⁺ : ion calcium ; Cl⁻ : chlorure ; HCO₃⁻ : Bicarbonate ; Mg²⁺ : ion magnésium ; SCN⁻ : thiocyanate ; NH₃ + : ammoniacque

II.4.2. Constituants organiques

Selon [40], 0,30 à 0,34% de substances organiques composent la salive. Parmi les composés organiques, on compte essentiellement les protéines. Le « Consortium du Protéome Salivaire Humain» a rapporté 1166 protéines identifiées dans la salive [41]. Les protéines salivaires peuvent être divisées en plusieurs catégories : les protéines sécrétées par les glandes salivaires, les protéines sériques, et celles provenant de la flore buccale. Les protéines sécrétés par les glandes salivaires (Tableau 2) incluent entre autres des glycoprotéines, telles que les mucines ou les Immunoglobulines A(IgA), les enzymes, telles que l'amylase ou l'anhydrase carbonique VI, les kallikréines, les cystatines, les histatines, les PRPs et des facteurs de croissances principalement le nerve growth factor (NGF) et l'épithélial growth factor (EGF) [42]; [43].

Tableau 2: Liste non exhaustive des protéines salivaires dans la salive entière et leur concentrations dans les glandes salivaires majeures (parotide, sous-maxillaire-sublinguale ou SMSL) [44].

Component	Range of concentration in saliva			References
	(µg/ml)			
	Whole saliva	Parotid	SMSL	
Albumin	29 – 238	-	-	(Mandel 1980; Henskens et al. 1996)
Amylase	380 – 500	650 - 2,60	-	(Aguirre et al. 1987; Oppenheim et al. 2007
Cyctatin	240 – 280	1,6 – 4	92 – 280	(Aguirre et al. 1992; Oppenheim et al. 2007
Fibronectin	0,2 – 2	2 – 6	0,3 – 2,0	(Babu and Dabbous 1986; Tynelius - Bratthall 1988; Tynelius - Bratthall et al.1986)
Histatins	2 – 30	30 - 55	13 – 70	(MacKay et al. 1984)
IgG	0,4 – 14,4	-	-	(Cole et al. 1978; Mandel 1980 ; Brandtzae 2007)

Lactoferrin	194	12	13	(Mandel 1980; Rudney et al. 1991)
Lysozyme		7	21	(Mandel 1980; Rudney et al. 1991)
MG1	80 – 500	-	80 – 560	(Oppenheim et al. 2007)
MG2	10 – 200	-	5 – 243	(Aguirre et al. 1993)
β-2- Microglobulin	-	0,2 - 0,9	0,3 - 0,4	(Ericson et al. 1982)
Parotidagglutinin	-	10	-	(Ericson and Rundegren 1983)
Proline – richproteins	90 – 180	230 - 1,25	270 - 1,33	(Hay and Moreno 1989; Kousvelari et al. 1980; Aguirre et al.1993)
SIgA	19 – 439	20 – 230	41 – 56	(Aguirre et al. 1987; Cole et al.1978; Rudney et al. 1991; Stuchell and Mandel 1978 ; Henskens et al. 1996)
Statherin	2 – 12	16 – 147	20 – 150	(Hay et al. 1984; Oppenheim et al. 2007)

Les protéines sériques comprennent l'albumine sérique, la transferrine et certaines immunoglobulines (Ig), telles que les IgG et IgM [43].

La cavité orale est colonisée par un grand nombre de microorganismes tels que les Streptococci [45]. Ces microorganismes relarguent des protéines ou des peptides, tels que les adhésines [46] et les antibiotiques [45] dans la salive.

II.4.2.1. Autres composants organiques

La salive contient en faible concentration de l'urée (environ 2 mmol/l), cette molécule est utilisée comme substrat pour la synthèse d'ammoniac qu'il métabolisé permet d'augmenter le pH. D'autres composés salivaires ont été identifiés comme : le glucose (0,056 mmol/l), la créatinine, le cholestérol et plus de 3000 acides ribonucléiques (ARN). La salive contient aussi D'insuline et d'hormones thyroïdiennes [45]. Il existe également des cytokines au niveau glandulaire : Tumor Necrosis Factor (TNF), interleukine (IL)-2, 4, 6, 10, interféron (IFN)- γ et Transforming Growth Factor (TGF)- β [39].

II.5. Rôle de la salive

La salive remplit de multiples fonctions (figure 6): mécanique, d'humidification et lubrification, protectrice, digestive. Les variations quantitatives et qualitatives du fluide salivaire conditionnent les principaux rôles : digestif, protecteur, excréteur et endocrinien [39].

II.5.1. Fonction protectrice

La salive est la cause essentielle de la très grande résistance de la cavité buccale à l'infection. Son action physique, permet tout particulièrement :

- l'auto-nettoyage de la cavité buccale.
- l'humidification, la lubrification et l'hydratation des tissus buccaux.
- une protection antibactérienne.
- la cicatrisation des muqueuses buccales [39].

II.5.2. Maintien de l'intégrité des tissus dentaires et du milieu

Un des rôles prépondérants de la salive consiste à la protection des tissus dentaires des phénomènes d'abrasion, d'attrition, d'érosion et cariogène mais aussi de favoriser la reminéralisation de l'émail après une attaque acide [39].

II.5.3. Pouvoir tampon

La salive régule la concentration de pH suite à la prise d'aliments et/ou une hygiène déficiente qui peut être à l'origine de la déminéralisation des tissus dentaires [39].

II.5.4. Rôle dans l'alimentation

➤ Gustation, déglutition, digestion

La salive joue un rôle dans la gustation et permet la dissolution des arômes favorisant leur répartition dans la cavité orale et leur fixation sur les cellules neurosensorielles des récepteurs du goût. Elle facilite la formation du bol alimentaire, ainsi que la déglutition, grâce aux substances mucilagineuses qu'elle contient et permet de débiter la digestion. L' α -amylase salivaire dégrade en partie l'amidon et les polysides alimentaires tandis que la lipase décompose une fraction des triglycérides [39].

II.5.5. Rôle dans l'homéostasie hydrique

La sensation de bouche sèche déclenche la soif et permet de réguler l'apport hydrique indispensable à la vie [39].

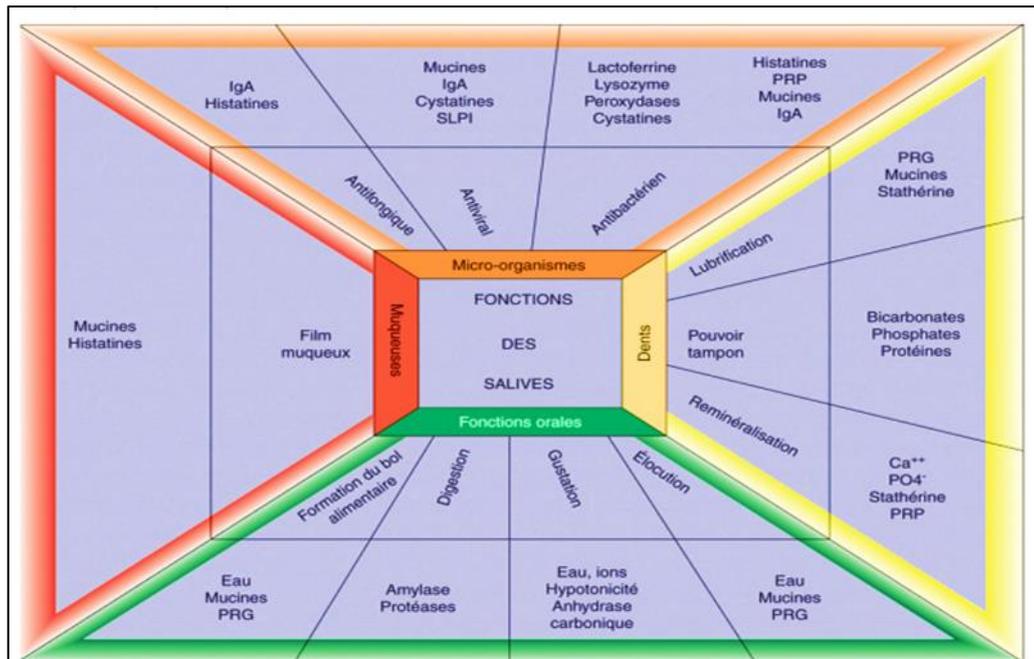


Figure 6 : Diamant de fonctions de la salive [47]

III. Les biomarqueurs

III. 1. Définition

Les National Institutes of Health (NIH, qu'on peut traduire par Instituts américains de la santé), a établi une définition générale d'un biomarqueur qui est actuellement répandue dans la communauté scientifique. Il s'agit d'une caractéristique mesurée qui constitue un indicateur de la réalisation des processus normaux, pathogènes ou de la présence de réponses à une exposition ou une intervention (y compris thérapeutique)[48].

Le terme « biomarqueur » est un néologisme récemment intégré dans le jargon médical. Ainsi, il est couramment accepté qu'un biomarqueur est une caractéristique biologique mesurable liée à un processus normal ou non. Ainsi, il est possible d'utiliser des biomarqueurs dans des domaines des sciences très différents. Par exemple, le terme biomarqueur est courant en écologie pour tracer les polluants de l'environnement. Dans le domaine médical, un biomarqueur peut être utilisé pour le dépistage médical (recherche d'une maladie dans une population), le diagnostic (caractérisation d'une maladie chez un individu), la réponse à un traitement médical, la rechute après un traitement, la toxicité d'une molécule. Le biomarqueur est alors le plus souvent d'une protéine (dosable dans le sang ou la présence d'une molécule dans l'urine [49].

III.2. Facteurs de risque versus biomarqueurs

Un facteur de risque d'une maladie (par exemple l'athérosclérose) a été défini comme une caractéristique biologique mesurable d'un individu qui précède une manifestation de la maladie (par exemple l'infarctus du myocarde) et est relié de manière causale à la survenue de la maladie et de la manifestation de la maladie. Le facteur de risque, parce qu'il précède la maladie et/ou sa manifestation, permet d'identifier des individus qui ont plus de risques de développer la maladie et / ou sa manifestation. Un biomarqueur est un « indicateur » biologique qui peut être causal ou non [50].

Si la relation entre le biomarqueur et la maladie et/ou sa manifestation est causale, le biomarqueur devient un facteur de risque. En l'absence d'une telle relation causale (très difficile à démontrer), le biomarqueur devient un facteur de stratification du risque, pronostique, de titration des thérapeutiques, etc...[51].

III.2.1. Critères de sélection d'un biomarqueur en pratique clinique

La longue liste de biomarqueurs ayant une valeur diagnostique ou pronostique impose d'établir des prérequis qui, lorsqu'ils sont satisfaits, permettent d'envisager un développement clinique. Des critères de sélection ont été proposés en 2004 par le Center of Disease Control (CDC) et l'American Heart Association (AHA)

Une première catégorie de critères concerne la technique de dosage du biomarqueur, qui doit être reproductible, simple, peu onéreuse et adaptée à des dosages réalisés dans des grandes populations. Par ailleurs, les valeurs normales du biomarqueur doivent être définies dans des populations contrôles de différentes origines ethniques.

Une seconde catégorie de critères évalue la pertinence des méthodes biostatistiques utilisées pour étudier la performance des biomarqueurs. En particulier, il est recommandé de tester tout nouveau biomarqueur dans de grandes cohortes prospectives, et de démontrer que l'information diagnostique ou pronostique apportée par le nouveau biomarqueur améliore la performance des mesures cliniques ou des modèles de risque les plus performants (de type Framingham).

Enfin, et surtout, une troisième catégorie de critères rappelle qu'à l'avenir, la performance d'un biomarqueur sera jugée sur le potentiel de ce biomarqueur de modifier la stratégie thérapeutique et sur les renseignements qu'il apporte sur l'efficacité des traitements proposés [52].

III.3. Biomarqueurs biologiques de l'athérosclérose

Les nouveaux marqueurs associés à un risque CV sont classifiés selon leur mécanisme présumé dans la pathogenèse de l'athérosclérose (tableau 3) [53].

III.3.1. Les biomarqueurs sériques

III.3.1.1. Marqueurs de l'inflammation

L'inflammation joue un rôle majeur dans la pathogenèse de l'athérosclérose, ce qui explique le grand intérêt porté à ses marqueurs. Parmi eux, ce sont avant tout la CRP et la Lp-PLA2 qui ont été les mieux étudiées

a. Protéine C-réactive ultrasensible (hsCRP)

L'inflammation joue un rôle majeur dans la pathogenèse de l'athérosclérose, ce qui explique le grand intérêt porté à ses marqueurs. Les grandes études prospectives ont démontré que la concentration sanguine de la CRP, mesurée à l'aide d'un test de haute sensibilité, est un facteur prédictif d'infarctus du myocarde (IDM), d'accident vasculaire cérébral (AVC) et d'artérite des membres inférieurs chez des sujets apparemment bien portants. Cette relation, retrouvée chez les hommes et chez les femmes, est indépendante des autres facteurs de risque d'athérosclérose, d'autres résultats expliquent que des concentrations faiblement élevées de hsCRP représentent un marqueur des risques CV significatif et indépendant. Ainsi, toute valeur de hsCRP au-delà de 1 mg/l est considérée comme associée à une augmentation modérée du risque, ce risque étant élevé au-delà de 3 mg/l. Par contre, sachant que toute infection élève la CRP, les valeurs supérieures à 10 mg/l ne peuvent pas être utilisées pour estimer le risque CV [53], [4].

b. Lipoprotein associated phospholipase A2 (Lp-PLA2)

La Lp-PLA2 est sécrétée par des cellules inflammatoires telles que les monocytes-macrophages, les cellules T et les mastocytes. Les valeurs élevées de Lp-PLA2 sont associées avec un risque accru d'événements coronariens et cérébrovasculaires [55]. Cette association est indépendante des facteurs de risque traditionnels et d'autres facteurs inflammatoires. La Lp-PLA2 est aussi un facteur de risque de récurrence d'accident coronarien. La détermination de ce paramètre est acceptée par la FDA pour la prédiction de la maladie coronaire et de l'attaque cérébrale. Des études d'intervention à l'aide d'un agent anti-Lp-PLA2 sont en cours. Au cas où ces études montreraient un effet bénéfique sur l'athérosclérose et ses complications, alors l'introduction de ce paramètre en routine clinique serait justifiée [53].

III.3.1.2. Marqueurs lipoprotéiques

Parmi les marqueurs lipoprotéiques la Lp (a), les petites particules denses de LDL (small dense LDL), les particules oxydées de LDL (oxLDL) et l'apolipoprotéine E méritent quelques commentaires.

a.Lipoprotéine (a)

La lipoprotéine (a) (Lp(a)) est constituée d'une particule LDL et d'une glycoprotéine, apo(a), qui est liée de façon covalente à l'apolipoprotéine B. Le taux sanguin de Lp(a) peut varier considérablement d'un individu à l'autre. Dans la plupart des cas, environ 6% seulement du cholestérol total est transporté sous forme de Lp(a). De multiples études se sont attachées à établir le lien entre le taux de Lp(a) et le risque coronarien. Il apparaît que pour les individus avec des taux de Lp (a) se situant dans le tertile supérieur, ce risque était accru de 70% en comparaison aux patients ayant un taux de Lp (a) dans le tertile inférieur.

Par convention, la plupart des laboratoires ont fixé à 300 mg/l le seuil du risque CV accru de ce paramètre. A noter qu'une élévation du taux de Lp(a) potentialise aussi le risque conféré par les autres FRCV [53].

b.Small dense LDL

Les particules small dense LDL sont toujours présentes lors d'une hypertriglycémie en particulier lors de diabète de type 2. Ces particules ne sont pas catabolisées par les récepteurs aux particules LDL, mais par les scavenger receptors non saturables des macrophages localisés dans les parois artérielles.

Après phagocytose des sdLDL, les macrophages sont transformés en cellules spumeuses, qui caractérisent la phase précoce de l'athérosclérose. Comparativement aux particules LDL normales, les sdLDL présentent donc un risque nettement accru de développement de l'athérosclérose. Par ailleurs, l'hypothèse du stress oxydatif de l'athérogenèse postule que le phénomène le plus important de ce processus est dû à l'oxydation des lipoprotéines LDL en donnant formation aux particules «oxLDL». Pour l'heure, ces deux biomarqueurs restent dans le domaine de la recherche et ne sont pas recommandés en routine clinique [53].

III.3.1.3. Marqueurs hémostatiques

La thrombose constitue l'événement final dans la pathogenèse de l'athérosclérose. C'est pourquoi, beaucoup d'attention a été mise sur l'étude des paramètres de la coagulation en tant que facteurs de risque CV. Parmi ceux-ci, c'est avant tout le fibrinogène qui a fait l'objet de nombreuses études prospectives [53].

a.Fibrinogène et d-dimères

Dans plusieurs études prospectives le fibrinogène a été identifié comme facteur de risque CV indépendant. Comme la CRP, le fibrinogène est une protéine de la phase aiguë. C'est pourquoi, il n'est pas utile pour l'estimation du risque CV en cours de maladie inflammatoire aiguë. A l'heure actuelle, il n'existe pas de consensus établissant la valeur seuil du fibrinogène.

Néanmoins, c'est à 3,5 g/l que la plupart des études ont fixé la limite à partir de laquelle le risque CV s'accroît. Aussi Une élévation des d-dimères a été associée à une augmentation du risque CV chez les patients coronariens [53].

III.3.1.4. Marqueurs de l'oxydation

Le stress oxydatif des lipides et des protéines est un processus important dans la pathogenèse de l'athérosclérose. Dès lors, les molécules associées à l'oxydation figurent sur la plupart des candidats visant à améliorer la prédiction du risque CV. Les marqueurs les mieux étudiés sont la Lp-PLA2, déjà discutée parmi les marqueurs inflammatoires, et la diméthylarginine asymétrique (ADMA) [53].

a.Asymmetric dimethylarginine(ADMA)

L'ADMA est un inhibiteur endogène de toutes les isoformes majeures de la synthase endothéliale de NO. Elle peut donc contribuer à l'apparition d'une dysfonction endothéliale.

Les valeurs d'ADMA plasmatiques sont augmentées en cas d'insuffisance rénale, d'hypercholestérolémie, d'hypertriglycéridémie, de résistance à l'insuline, de diabète sucré, d'hyperhomocystéinémie et d'hypertension artérielle.

L'ADMA a été identifiée comme un marqueur indépendant de la progression de l'athérosclérose, de la mortalité CV ainsi que de la mortalité totale, tant chez des patients porteurs de maladie coronarienne stable aussi bien qu'avec un syndrome coronaire aigu [53].

b.Homocystéine

L'homocystéine est un FRCV indépendant, mais de moindre valeur prédictive que les FR traditionnels, ou que la CRP, la Lp(a) ou le fibrinogène. L'homocystéine augmente le risque CV des sujets à haut risque global ainsi que chez les patients porteurs de maladie coronarienne préexistante. Les valeurs limitent recommandées pour l'homocystéine varient de 10 à 16 $\mu\text{mol/l}$ [53].

III.3.1.5. Autres marqueurs

D'autres biomarqueurs, tels que le marqueur d'activation plaquettaire CD40-ligand, la myéloper oxydase neutrophilaire et les marqueurs cardiomyocytaires H-FABP (Heart-type Fatty

Acid Binding Protein) et GDF15 (Growth- Differentiation Factor 15) concurrencent la troponine, mais leur place dans la stratégie de prise en charge des SCA reste à préciser [4].

a. Brain Natriuretic peptide (BNP et NT pro-BNP)

Ce peptide natriurétique est sécrété par les cellules du muscle cardiaque. Tous les deux, BNP et NT pro-BNP sont des marqueurs diagnostiques et pronostiques d'une insuffisance cardiaque. De plus, même de faibles élévations de BNP ou de NT pro-BNP indiquent un risque accru d'événements CV, tant chez les patients avec infarctus du myocarde préalable que dans la population générale. En combinaison avec la troponine et la CRP, le BNP prédit le risque de récurrence d'accidents coronariens et de mortalité en cas de syndrome coronaire aigu [53].

Tableau 3: Nouveaux facteurs de risque cardiovasculaire [53].

Marqueurs de l'inflammation	Marqueurs lipoprotéiques	Marqueurs de l'hémostase	Marqueurs de l'oxydation	Autres marqueurs
<ul style="list-style-type: none"> • Protéine C-réactive ultrasensible (hsCRP) • Sérum amyloïde A (SAA) • Cytokines (IL-6, IL-18) • Molécules d'adhésion cellulaire (VCAM-1, ICAM-1) • Lp-PLA2 (lipoprotein associated phospholipase A2) • Ligand CD40 soluble • Nombre de leucocytes • MCP-1 (Monocyte Chemo-attractant Protein-1) 	<ul style="list-style-type: none"> • Lp(a) • Lipoprotéines denses, de petite taille (Small dense LDL) • Lipoprotéines résiduelles (Remnants) • Particules LDL oxydées (OxLDL) • Génotypes de l'apolipoprotéine E 	<ul style="list-style-type: none"> • Fibrinogène • D-dimères • Fibrinopeptides • Inhibiteur 1 de l'activateur du plasminogène (PAI-1) • Activateur tissulaire du plasminogène (TPA) • Facteurs V, VII, VIII • Fragments de la prothrombine 1+2 • Activité et agrégation des thrombocytes 	<ul style="list-style-type: none"> • ADMA (diméthylarginine asymétrique) • Lp-PLA2 • Homocystéine 	<ul style="list-style-type: none"> • Microalbuminurie • Cystatin C • Peptides natriurétiques • Obésité abdominale • Adiponectine

III.3.2. Biomarqueurs salivaires

Les tests salivaires couplés à un électrocardiogramme (ECG) pourraient fournir une méthode de dépistage rapide pour les patients atteints des maladies cardiovasculaires. L'évaluation de certaines molécules salivaires permettrait de connaître le risque de développer des maladies cardiovasculaires (MCV). Les dernières sont liées à des troubles circulatoires et comprennent l'athérosclérose, l'infarctus du myocarde et les maladies coronariennes. Dans la littérature, les niveaux salivaires de cytokines inflammatoires, telles que IL-1 β , IL-6, TNF- α et prostaglandine E2 augmentent de manière significative dans l'athérosclérose au stade avant hospitalisation. De plus, la détection de niveaux salivaires élevés de créatine kinase -MB, myoglobine, TnI et T, protéines C-réactives (CRP), TNF- α , MMP-9 et myéloperoxydase chez les patients atteints d'IDM. En outre, d'autres marqueurs, comme la cystatine C, le facteur de croissance GDF15 et la pro hormone N-terminale du peptide cérébral natriurétique (NT-proBNP), sont détectables dans la salive. Concernant la protéine C-réactive (CRP) c'est le

biomarqueur le plus prédictif de maladies cardiovasculaires et plus spécifiquement l'infarctus aigu du myocarde [39].

L'infarctus aigu du myocarde qui est considérée comme la principale complication aiguë de l'athérosclérose coronaire a été prédit par une combinaison de l'ECG et du taux de CRP.

Ces données ont démontré que l'utilisation potentielle de biomarqueurs salivaires couplés à un ECG permettait de faire le diagnostic d'infarctus aigu du myocarde avec 80 % de sensibilité et 100% de spécificité [39].

III.4. Relation athérosclérose-salive-biomarqueur

La salive contient une variété de biomolécules, y compris l'ADN, l'ARNm, le microRNA, les protéines, les métabolites et le microbiota. Les changements de concentration de ces biomolécules dans la salive peuvent être utilisés pour développer des biomarqueurs afin d'aider à identifier certaines maladies, d'évaluer leur pronostic et leurs risques et de surveiller la réponse au traitement [56]. Bien que les biomarqueurs de la salive soient moins sensibles et spécifiques que ceux du sérum, la facilité évidente de l'acquisition de la salive et son pouvoir discriminatoire présenté plus haut pallient la faiblesse actuelle de la reproductibilité des mesures hospitalières individuelles. L'analyse de l'ensemble de ces données et la littérature accumulée suggèrent que la salive pourrait fournir des informations de diagnostic de dépistage importantes des MCV et essentiellement l'athérosclérose. Celles-ci, après validation par des études cliniques futures, pourraient être essentielles pour orienter les patients vers une intervention coronarienne percutanée de première intention, il a été prouvé que cette prise en charge améliore l'état des patients, ainsi que les décisions diagnostiques ultérieures [57].



Matériels et méthodes

1. Matériel biologique

1.1. Recrutement des patients

L'étude a porté sur un échantillon de 41 patients atteints de l'athérosclérose. Ces derniers ont été pris au hasard parmi les hospitalisés et les consultants externes du service de cardiologie médicale au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC). Les patients recrutés sont âgés entre 23 et 92 ans dont la pathologie est au stade initial ou avancé. Ces malades ont été comparés à deux sujets sains sans pathologies connues et possédant une bonne hygiène buccale.

Nous avons effectué une étude rétrospective étalée sur une période d'un (1) mois (du 5/03 au 5/04/2019) au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC).

1.2. Recueil de la salive

Pour le recueil de la salive, nous avons adopté la méthode décrite par [58]. 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 dépourvu 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 parafilm (environ 3 cm²), pendant quelques minutes. 2 ml de salive totale sont ainsi prélevés dans des tubes eppendorf stériles. Les échantillons salivaires sont ensuite centrifugés à 10000 x g 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.

2. Extraction des protéines totales et séparation électrophorétique

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.

2.1. Extraction des protéines dans les conditions dénaturantes et réductrices

100 µl de salive des patients malades et du sujet sain sont mélangés avec 50 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 bromophenol. 2.5% (V/V) de β- mercaptoethanol 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 10000 t/min pendant 1 minute. Les surnageants contenant les protéines salivaires dissociées et réduites sont récupérés.

2.2. Electrophorèse monodimensionnelle en gel de polyacrylamide

Après extraction, la composition protéique est caractérisée par migration électrophorétique sur gel de polyacrylamide de 1,5 mm d'épaisseur en condition dénaturante (présence de SDS) avec un système vertical. L'électrophorèse est réalisée suivant la méthode de [59] modifiée par [60]. Le gel de séparation contient 12,56% de polyacrylamide et le gel d'alignement 2,88%. Les échantillons sont déposés à raison de 50µl 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 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. Les gels sont colorés toute la nuit avec la solution de coloration. Ils sont enfin décolorés dans l'eau de robinet.

3. Analyse des gels et étude statistique

3.1. Analyse des gels

Il s'agit d'une lecture biochimique qui consiste à déterminer et révéler la mobilité de la bande considérée comme biomarqueur et de chaque bande décelable dans le gel.

3.2. Analyse statistique

Le traitement des données a fait appel à des méthodes statistiques. Les fréquences des protéines et les indices de similarité ont été calculées.

L'établissement des dendrogrammes est réalisé à l'aide du logiciel Statistica version 6.0.



Résultats et discussion

I. Etude épidémiologique

I.1. Population et lieu de l'enquête

Un ensemble de 322 patients atteints de l'athérosclérose ont été diagnostiqués à différents âges par des médecins cardiologues au niveau de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC), chez lesquels nous avons réalisé une étude rétrospective dans la période de janvier 2017 jusqu'au mars 2019. Pour la réalisation pratique de cette étude, il a d'abord fallu avoir une autorisation du chef de service de cardiologie, pour pouvoir accéder à la salle d'archive. Pour chaque malade les facteurs de risques ont été relevés : le sexe, l'âge, la région, les pathologies chroniques, les maladies associées et les antécédents familiaux.

Les analyses statistiques (La saisie et le traitement statistique des données) ont été réalisées à l'aide du logiciel Excel version 2010.

I.2. Analyse descriptive de l'échantillon

I.2.1. Répartition de l'échantillon selon le sexe

D'après la répartition établie en fonction du facteur sexe, nous avons constaté une prédominance du sexe masculin avec un pourcentage de 74% par rapport au pourcentage calculé pour le sexe féminin (figure 7).

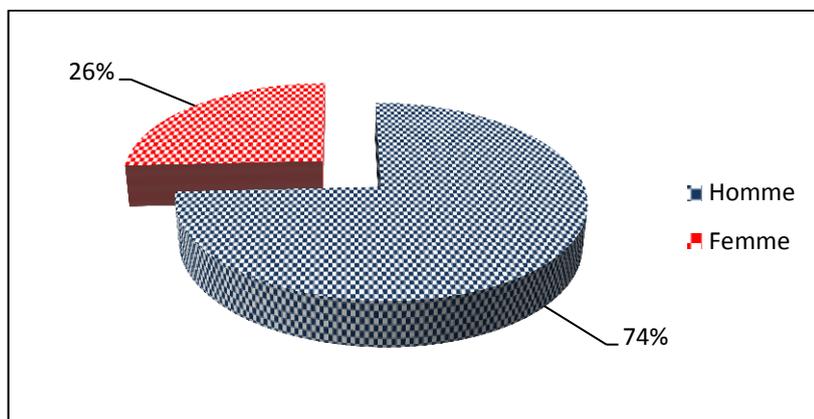


Figure 7: répartition des patients selon le sexe.

Le sexe est parfois un facteur déterminant des MCV tant par la génétique que par les comportements relatifs au sexe. Le risque est ainsi distribué inégalement entre hommes et femmes. Avant 70 ans, deux tiers des infarctus surviennent chez l'homme, qui a donc un risque plus élevé d'athérosclérose que la femme dont la protection disparaît après la ménopause [61].

De même, la prévalence des AVC est plus élevée chez l'homme que chez la femme. A contrario, l'AOMI en Afrique est plus fréquente chez la femme que chez l'homme [62].

La femme ménopausée montre une incidence des maladies coronaires semblable à celle de l'homme au même âge. Cet effet est principalement lié au déficit en œstrogènes [63].

Plusieurs études réalisées en Europe et aux Etats-Unis démontrent une augmentation du risque d'ischémie cardiovasculaire chez la femme ménopausée précocement [64].

I. 2.2. Répartition de l'échantillon selon les tranches d'âge

Nous avons pris un échantillon d'individus dont la tranche d'âge s'étale de 23 à 92 ans et cette répartition des patients par tranche d'âge indique une prédominance de cette pathologie dans la tranche d'âge [60-69] pour les deux sexes (figure 8).

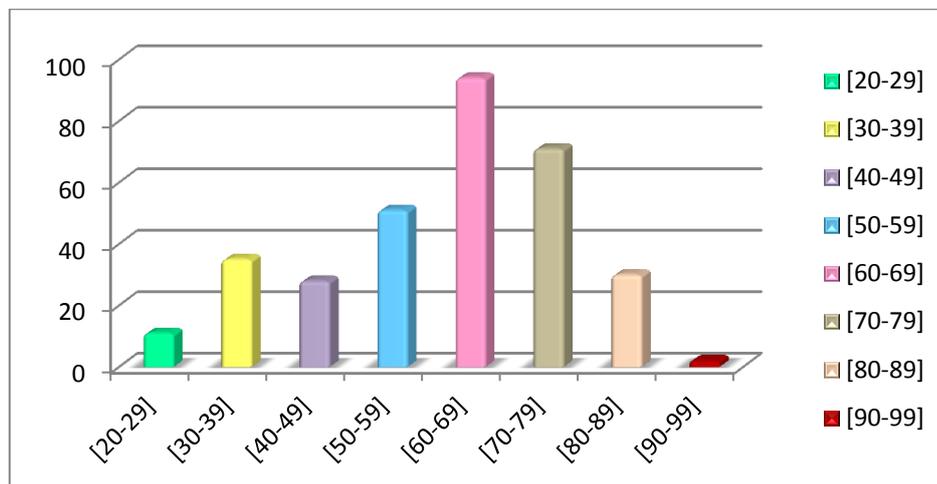


Figure 8: répartition des patients selon les tranches d'âge.

Des études ont montré que les lésions athéromateuses sont plus importantes chez les hommes que chez les femmes du même groupe d'âge, et que la gravité de ces lésions augmente également avec l'âge, peu importe le sexe. En général, les lésions retrouvées chez les hommes sont observées chez les femmes plus âgées de 10 ans [65].

I.2.3. Répartition de l'échantillon selon l'HTA

Notre enquête a confirmé que l'HTA reste un facteur de risque d'athérosclérose majeur puisque 58% des patients sont hypertendus (figure 9).

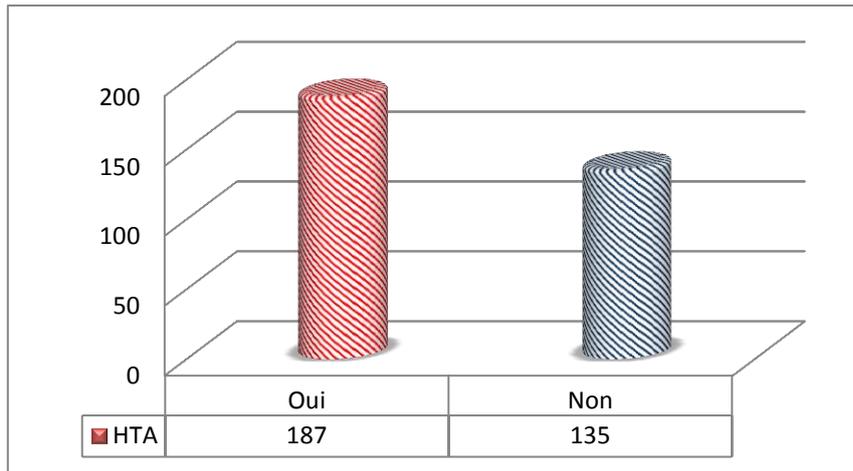


Figure 9: répartition des patients selon l'HTA

La relation étroite entre HTA et athérosclérose est attestée par le fait que l'association entre HTA et les autres facteurs de risque de l'athérosclérose est plus qu'additive, et qu'au moins au niveau des artères à destinée encéphalique l'HTA est un puissant facteur promoteur de l'athérosclérose [64].

I.2.4. Répartition de l'échantillon selon les dyslipidémies

Dans notre étude rétrospective nous avons trouvé que plus de 41% des patients atteints d'athérosclérose représentent une anomalie dans le bilan lipidique et 59% ne représentent aucune anomalie (figure 10).

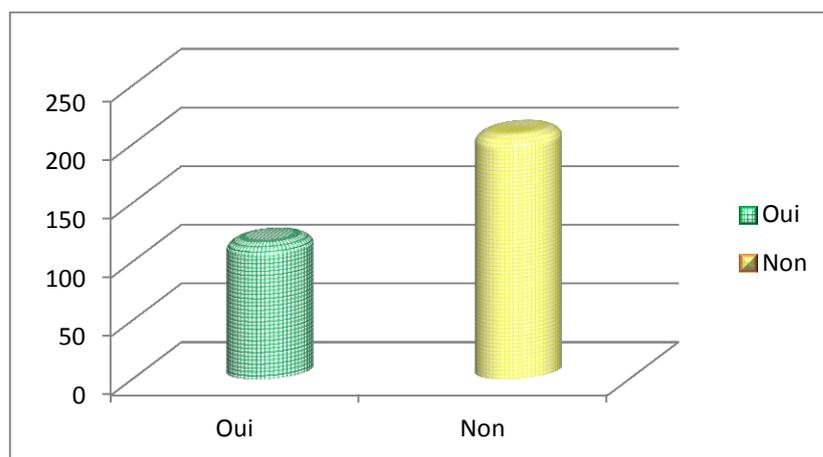


Figure 10: répartition des patients selon les dyslipidémies.

Le lien entre l'hypercholestérolémie et l'athérosclérose est particulièrement bien établi, essentiellement pour les pathologies coronariennes. Une étude a montré que les niveaux de

lipoprotéines de basse densité oxydées sont significativement plus élevés chez les patients qui ont eu un infarctus du myocarde ou un accident vasculaire cérébral que chez les patients du groupe témoin [64].

I.2.5. Répartition de l'échantillon selon le diabète

A l'instar du tableau de la répartition des patients selon le diabète (Tableau 4), chez les hommes, nous avons trouvé que 30% sont diabétiques et 48% non-diabétiques, contrairement à ce qui a été trouvé chez les femmes, seulement 15% qui ont été diabétiques et 12% non-diabétiques.

Tableau 4: répartition des patients selon le diabète

	Hommes	Femmes	Total
Diabétique	97	49	128
Non-diabétique	155	39	194

Le diabète majore fortement le risque de maladie coronarienne. Ce risque est globalement multiplié par un facteur 3 chez la femme, 2 chez l'homme. Ainsi le risque coronarien chez la femme diabétique rejoint celui de l'homme non diabétique. Dans l'étude prospective parisienne, l'existence d'un diabète non insulino-dépendant était associée à une incidence triple des maladies coronaires [64].

I.2.6. Répartition de l'échantillon selon la sédentarité

D'après les résultats sur la figure 11, nous avons noté que 43% des patients atteints d'athérosclérose sont sédentaires et c'est dû à leur âge avancé, en plus la plupart des patients sont des retraités.

La sédentarité paraît bien constituer un facteur de risque pour les maladies ischémiques. L'effet préventif d'un exercice physique régulier vis à vis de la survenue des accidents coronaires a été bien établi par plusieurs enquêtes épidémiologiques. Pour être efficace, l'activité physique doit se prolonger tout au long de la vie [64].

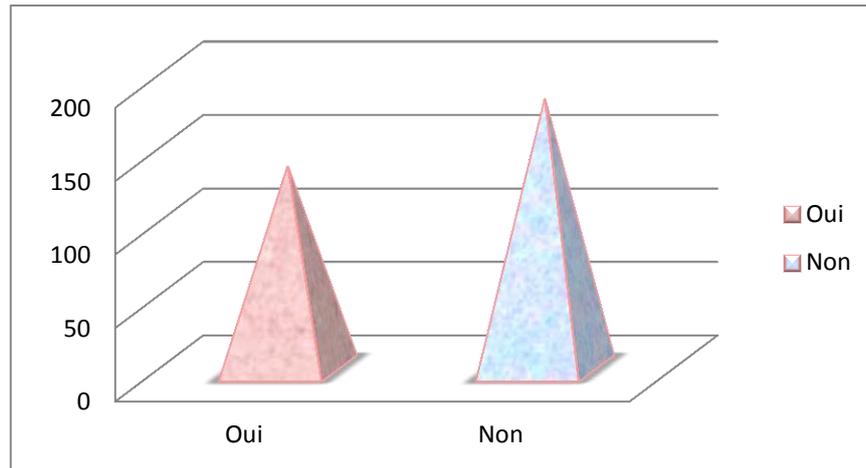


Figure 11: répartition des patients selon la sédentarité

I.2.7. Répartition de l'échantillon selon la région

Dans notre étude rétrospective, nous avons remarqué que les wilayas les plus touchées par l'athérosclérose sont : Constantine, Mila, OEB, Souk ahras, Batna, Tébessa et Skikda (Figure 12). Cela pourrait être expliqué aussi par le fait que la majorité des patients consultants ou hospitalisés, proviennent de ces régions

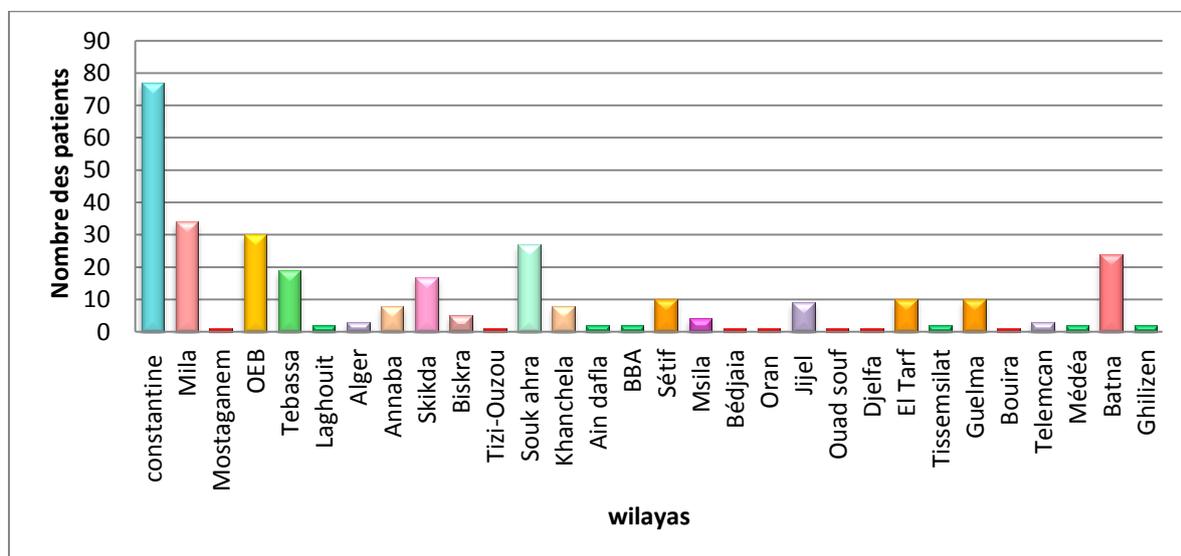


Figure 12 : répartition des patients selon la région

I.2.8. Répartition de l'échantillon selon la consommation du tabac

Le tabagisme représente un "véritable problème de santé publique" en Algérie et provoque plus de 15.000 morts par an, soit une moyenne de 45 décès chaque jour [65].

Dans notre échantillon: chez les hommes, nous avons trouvé que plus de 27% sont tabagiques, 3% sont des ex-fumeurs, et 69% non-fumeurs, ce qui signifie que presque le tiers (1/3) des patients avait des antécédents du tabagisme, contrairement à ce qui a été trouvé chez les femmes, seulement 1% qui ont été tabagiques (Tableau 5).

Tableau 5 : répartition des patients selon la consommation du tabac pour les deux sexes.

	Hommes	Femmes	Total (%)
Fumeurs (ses)	86	2	<27%
Ex-fumeurs (ses)	11	/	<3%
Non-fumeurs (ses)	142	81	<69%

L'enquête de Framingham 1948 a confirmé que le fait de fumer augmente significativement et indépendamment le risque d'infarctus de myocarde et de mort subite de cause coronaire. En outre, le tabagisme multiplie par 2 le risque, dû aux autres facteurs de risque. Sa prévention réduit le risque d'IDM aigu de 50 à 70 % après 5 ans d'arrêt du tabac et réduit le risque de mort subite de 50 % après 1 an d'arrêt du tabac [64].

1.2.9. Répartition de l'échantillon selon l'IMC

Dans notre étude, nous avons trouvé que plus de 33% des patients ont un IMC < 25 (kg/m²), ce qui les place dans la catégorie des patients "maigres et idéals " 39% des patients ont un IMC entre 25-30 (kg/m²), ce qui les place dans la catégorie des personnes en "surpoids" et 28% des patients ont un IMC > 30 (kg/m), c'est -à-dire les patients qui sont obèses (figure 13).

Le poids du corps peut contribuer à la progression de la maladie athéromateuse par l'intermédiaire d'un mécanisme inflammatoire: l'augmentation du nombre de cellules immunitaires circulantes au niveau de la paroi artérielle, entraîne l'épaississement de cette dernière, et par conséquent le développement de l'athérosclérose. Il est très bien établi que le risque cardiovasculaire augmente avec le poids du corps, les données de l'étude de Framingham 1948 ont montré que l'incidence des maladies cardiovasculaires augmentait avec le poids corporel, indépendamment de l'âge, du tabagisme et des autres facteurs de risque [64].

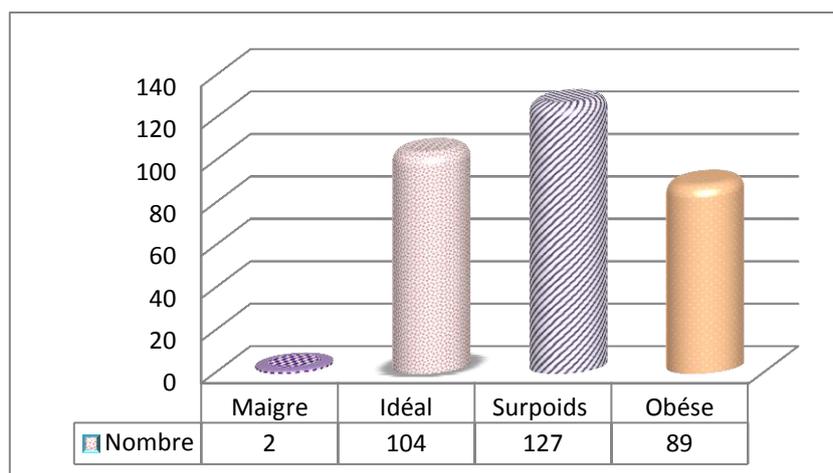


Figure 13 : répartition des patients selon l'IMC

1.2.10. Répartition de l'échantillon selon l'estimation du risque cardiovasculaire globale

Dans notre étude, les résultats sont en faveur d'une prédominance des patients présentant une association de plusieurs facteurs de risque cardiovasculaire, ainsi 15% présentent deux facteurs de risque, 24% présentent trois facteurs de risque et 61% ont plus de trois facteurs de risque.

Il est donc clair que plus que la moitié des patients (61%) sont à haut risque cardiovasculaire, présentant une association de trois facteurs de risque (Tableau 6).

Tableau 6: répartition des patients selon l'estimation du risque cardiovasculaire globale

Nombre de facteurs de risque cardiovasculaire	Pourcentage (%)
2 facteurs	15%
3 facteurs	24%
>3 facteurs	61%

Certains auteurs tirent la sonnette d'alarme à partir de trois facteurs de risque cardiovasculaire, et plusieurs campagnes de sensibilisation utilisent des slogans (trois facteurs de risque = danger cardiovasculaire) pour sensibiliser les patients dans le but de réduire la prévalence et l'incidence des maladies cardiovasculaires au sein des populations cibles [64].

I.2.11. Répartition de l'échantillon selon les antécédents familiaux

D'après la répartition établie en fonction d'antécédents familiaux, nous avons trouvé 47% des patients ont des antécédents familiaux de pathologies cardiovasculaires (figure 14).

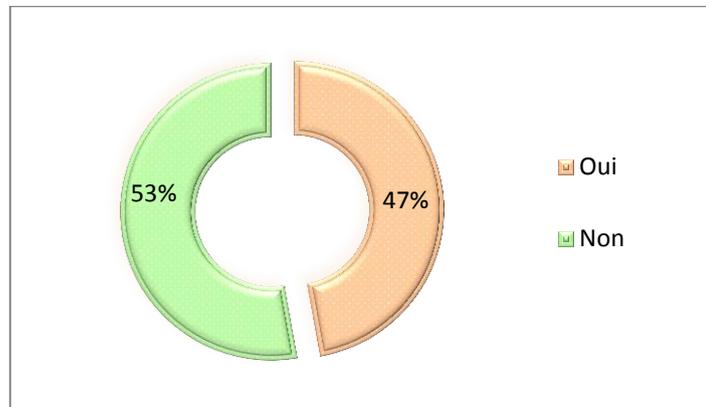


Figure 14 : répartition de patients selon les antécédents familiaux

L'antécédent familial de maladie cardiovasculaire précoce est connu comme facteur indépendant de risque cardiovasculaire [64].

Des preuves supportent le fait que les personnes ayant des antécédents familiaux de maladies coronariennes précoce auraient une incidence plus élevée d'athérosclérose sub-clinique [66].

I.2.12. Répartition de l'échantillon selon la consommation d'alcool

A l'instar de la figure de la répartition des patients selon la consommation d'alcool (figure 15), nous avons trouvé que 96% des patients athéromateux sont non-alcooliques et seulement 4% qui ont été alcooliques.

Dans la grande majorité des études, La consommation d'alcool légère à modérée réduirait le risque cardiovasculaire L'alcool en quantité modérée augmenterait le HDL-cholestérol protecteur et serait antiagrégant. La réponse de l'organisme face à l'alcool peut varier d'une population à une autre. L'effet délétère de la consommation importante d'alcool sur le système cardiovasculaire est indéniable. La consommation importante d'alcool est susceptible d'augmenter la pression artérielle, le poids et les triglycérides [67].

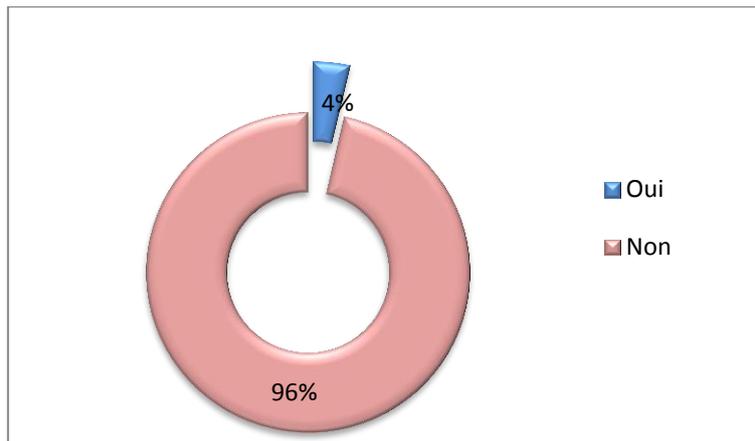


Figure 15 : répartition des patients selon la consommation d'alcool

I.2.13. Répartition de l'échantillon selon les complications associées

Conformément à la figure 16, nous avons remarqué chez les patients athéromateux 46% des patients ont un IDM ,18% des patients ont des Multi-FdRCV, 13% des patients ont une insuffisance cardiaque, 12% des patients ont un AVC, 6% des patients ont un Angor et 5% des patients ont un AOMI.

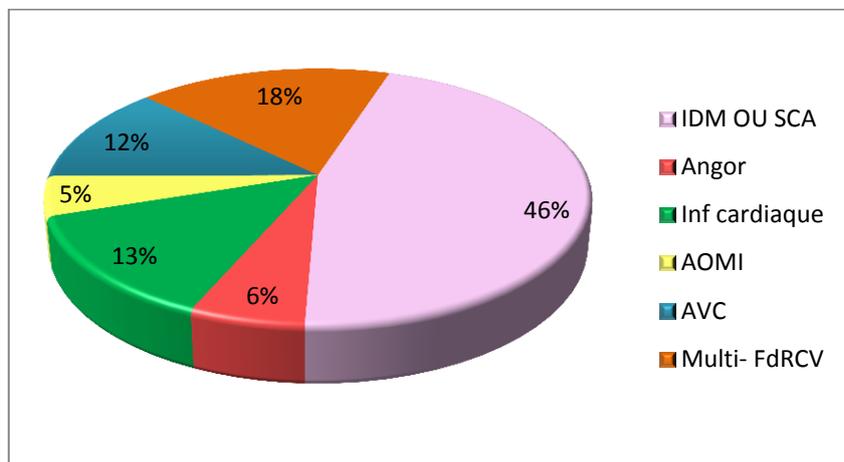


Figure 16 : répartition des patients selon les complications associées

Les complications de l'athérosclérose sont responsables des deux premières causes de mortalité dans le monde. Les cardiopathies ischémiques concernent environ 6 millions de décès par an, et les accidents vasculaires cérébraux (AVC) plus de quatre millions. Ces deux causes représentent à elles seules plus de 20 % des décès.

En outre, 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 [5].

I.2.14. Répartition de l'échantillon selon le stress

Dans notre étude rétrospective, nous avons trouvé 10% des patients athéromateux souffrant du stress (Figure 17).

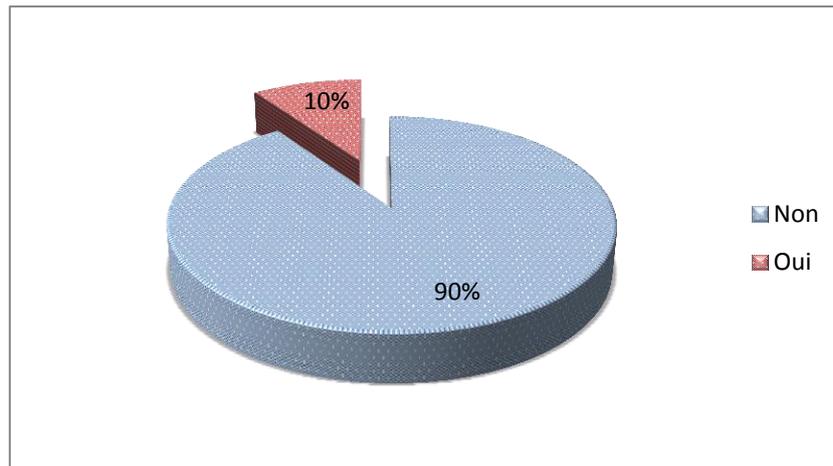


Figure 17 : répartition des patients selon le stress

Selon des travaux publiés récemment dans la revue scientifique *Nature Médecine*, le stress chronique "affecte le système immunitaire en augmentant le nombre des globules blancs et en aggravant l'inflammation de la plaque d'athérome dans les artères"[68].

II. Fractionnement des protéines salivaires et recherche des biomarqueurs

1.1. Analyse des protéines salivaires dénaturées et réduites fractionnées par SDS-PAGE

La technique adoptée pour l'analyse est celle décrite par [59] modifiée par [60] a été utilisée pour fractionner les protéines salivaires. Cette technique permet d'obtenir l'ensemble des protéines. En effet les bandes bien distinctes sont le résultat de l'étape de réduction des protéines par le β -mercaptoéthanol, cette réduction empêche les chaînes peptidiques de se relier par les ponts disulfures, et la dénaturation des protéines par le SDS qui masque la charge intrinsèque de la protéine et qui empêche de reformer la protéine native. La lecture des diagrammes consiste à révéler la mobilité de chacune des bandes, en mesurant la distance parcourue par chaque bande dans le gel de séparation.

1.2. Étude des protéines salivaires cas d'IDM

Le diagramme électrophorétique des 15 échantillons (14 malades et un témoin) analysés, renferment de 3 à 16 bandes décelables qui se répartissent dans la zone des protéines salivaires avec des mobilités variant entre 4 à 17.5 cm.

Nous dénombrons 17 bandes protéiques de mobilités différentes qui se répartissent différemment selon le poids moléculaire de 10 à 150 KDa.

La comparaison des profils électrophorétiques des malades et des sujets sains révèle des variations quantitatives et/ou qualitatives dans la composition protéique.

D'abord, la variation qualitative est présente chez les bandes (B1, B2, B6, B8, B9, B10, B11, B12 et B14) dont le poids moléculaire est d'environ 15 à 150 KDa respectivement et sont présentes chez quelques patients et les témoins et absentes chez quelques malades. Donc ces bandes peuvent être considérées comme étant un biomarqueur qualitatif.

À titre d'exemple la bande (B1) est présente que chez le témoin (T1) et chez deux patients (5, 13). Cette dernière peut être considérée comme étant un biomarqueur qualitatif.

Pour les variations quantitatives, l'exemple le plus important est celui de la bande protéique (B17) dont le poids moléculaire approximatif est de 10 KDa (figure 18), cette bande est présente chez tous les échantillons (témoin et malades), en effet, elle est fortement concentrée chez les patients (3, 4, 5, 8, 11, 12, 13 et 15), elle est moins concentrée chez les patients (2, 6, 7, 9, 14 et le témoin (T1)) ainsi elle est faiblement concentrée chez le patient(10) ce qui lui confère la propriété de biomarqueur quantitatif .

En outre, la bande protéique (B15) qui est fortement concentrée chez le patient (8), elle est moins concentrée chez les patients (3, 5, 9, 11, 13 et le témoin (T1)) ainsi elle est faiblement concentrée chez le patient(15) mais elle est absente chez les patients (2, 4, 6, 7, 10,12 et 14). Cette bande varie quantitativement et qualitativement, ce qui lui confère la propriété de biomarqueur quantitatif et qualitatif à la fois.

En fin, il faut signaler la présence d'un cas particulier, celui du patient 9 qui présente un profil électrophorétique complètement différent à celui du témoin (figure 18). En effet, ce profil est marqué par l'absence des bandes protéiques (B1, B3, B4, B5, B7, B8, B9, B10, B11, B12, B13 et B16) qu'on les retrouve dans le témoin (T1) et les autres échantillons. Sur le plan clinique, ce patient est un homme âgé de 69 ans, tabagique et hypertendu dont il est diagnostiqué depuis

12 ans.

Ces différences observées entre les profils électrophorétiques des malades atteints d'IDM sont probablement dues à des facteurs tels que : l'âge, le sexe, sédentarité, La durée de la découverte de la maladie, et les pathologies associées, ainsi que les habitudes toxiques telles que la consommation du tabac.

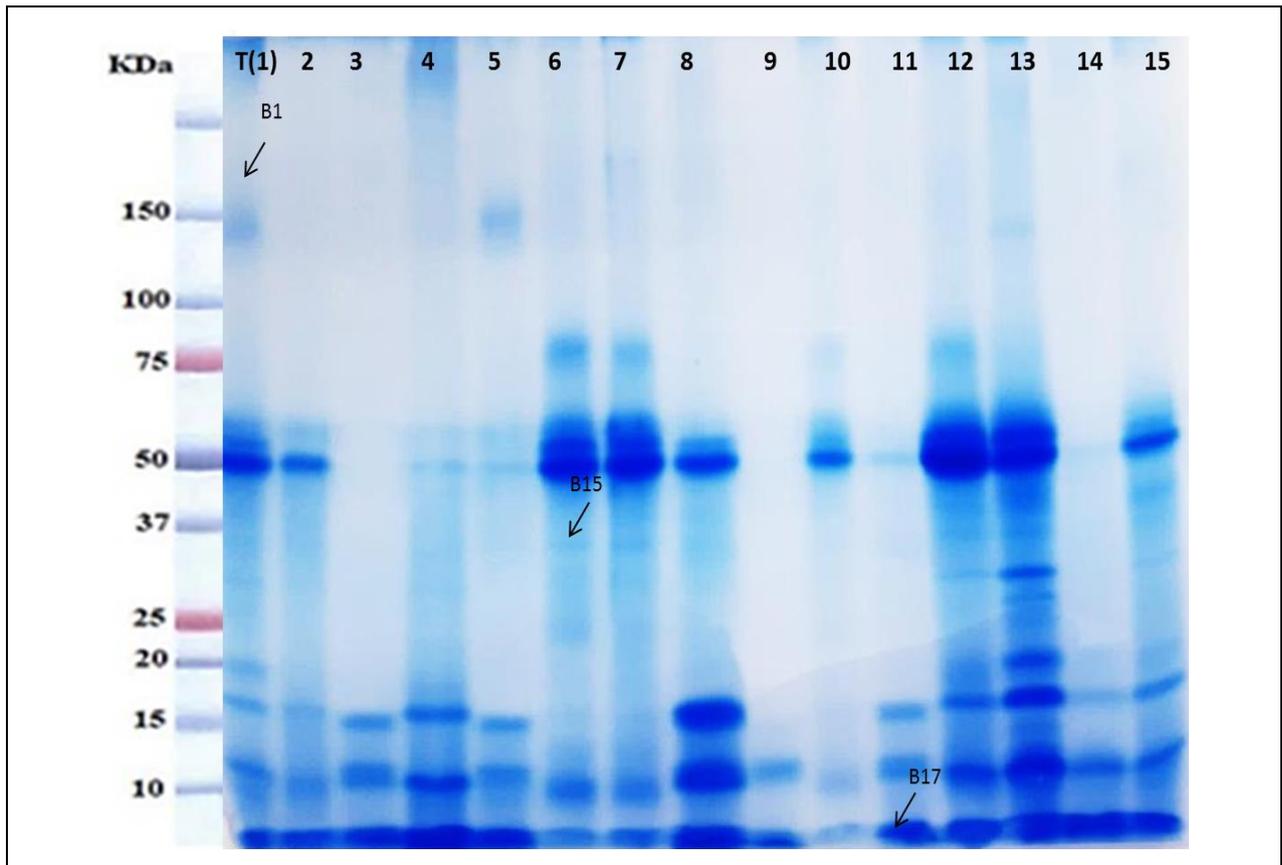


Figure 18 : Profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS/PAGE. T(1): témoin, 2 à 15: patients malades.

1.3. Étude des protéines salivaires cas des multi-facteurs de risque

Le diagramme électrophorétique des 15 échantillons (14 malades et un témoin) analysés, renferment de 2 à 11 bandes décelables qui se répartissent dans la zone des protéines salivaires avec des mobilités variant entre 4 à 17.5 cm.

Nous dénombrons 12 bandes protéiques de mobilités différentes qui se répartissent différemment selon le poids moléculaire de 10 à 150 KDa.

La comparaison entre les profils électrophorétiques de témoin et des sujets malades montre que certaines bandes protéiques présentent des variations quantitatives et/ou qualitatives.

Nous avons observé uniquement les bandes protéiques (B6 et B7) qui présentent les variations quantitatives et qualitatives à la fois.

À titre d'exemple : l'intensité de la bande (B6) est forte chez le patient (12), tandis que chez le témoin (T16) et les patients (17, 19, 21, 25, 27, 28, 29 et 30) leur intensité est faible, par contre elle est absente chez le reste des patients.

Et concernant la bande (B7), elle est fortement présente chez les patients (17, 21 et 26) et faiblement présente chez le témoin (T16) et les patients (19, 24, 27, 28, 29 et 30), cependant elle est absente chez le reste des patients. Donc les bandes (B6 et B7) renferment la propriété des biomarqueurs qualitatifs et quantitatifs à la fois.

La variation qualitative est présente chez les bandes (B1 et B2) dont le poids moléculaire est d'environ 75 à 150 KDa respectivement.

Nous avons observé des variations qualitatives au niveau des bandes (B1 et B2).

À titre d'exemple: L'intensité de la bande (B1) est forte chez le témoin (T16), tandis que chez les patients (19, 26 et 28) leur intensité est faible, par contre elle est absente chez le reste des patients.

Et concernant la bande (B2), elle est fortement présente chez le patient (21) et moyennement présente chez le patient (25), cependant elle est absente chez le reste des patients. Donc les bandes (B1 et B2) varient qualitativement ce qui leur confère la propriété des biomarqueurs qualitatifs.

Pour les variations quantitatives qui sont présentes chez les bandes (B3, B4, B9, B10, B11 et B12) dont le poids moléculaire est d'environ 10 à 75 KDa respectivement.

Par exemple les bandes (B11 et B12) sont présentes chez tous les patients et le témoin avec des intensités différentes et en ce qui concerne les bandes (B3, B4, B9 et B10) sont présentes chez la majorité des patients et le témoin (T16) avec des intensités différentes. Ces bandes peuvent être considérées comme étant des biomarqueurs quantitatifs.

Il faut signaler la présence d'un cas particulier, celui du patient (28) qui présente un profil électrophorétique complètement identique à celui du témoin (T16) (figure 19). En effet, ce profil est marqué par la différence de l'intensité des bandes protéiques (B1, B3, B9 et B12) qu'on les retrouve dans le témoin (T16). Sur le plan clinique, ce patient est un homme âgé de 51 ans,

tabagique et sédentaire qui présente des antécédents familiaux.

Ces différences observées entre les profils électrophorétique des malades sont probablement dues à des facteurs tels que : l'âge, le sexe, la sédentarité, les antécédents familiaux et les pathologies associées, l'obésité ainsi les habitudes toxiques tels que la consommation du tabac.

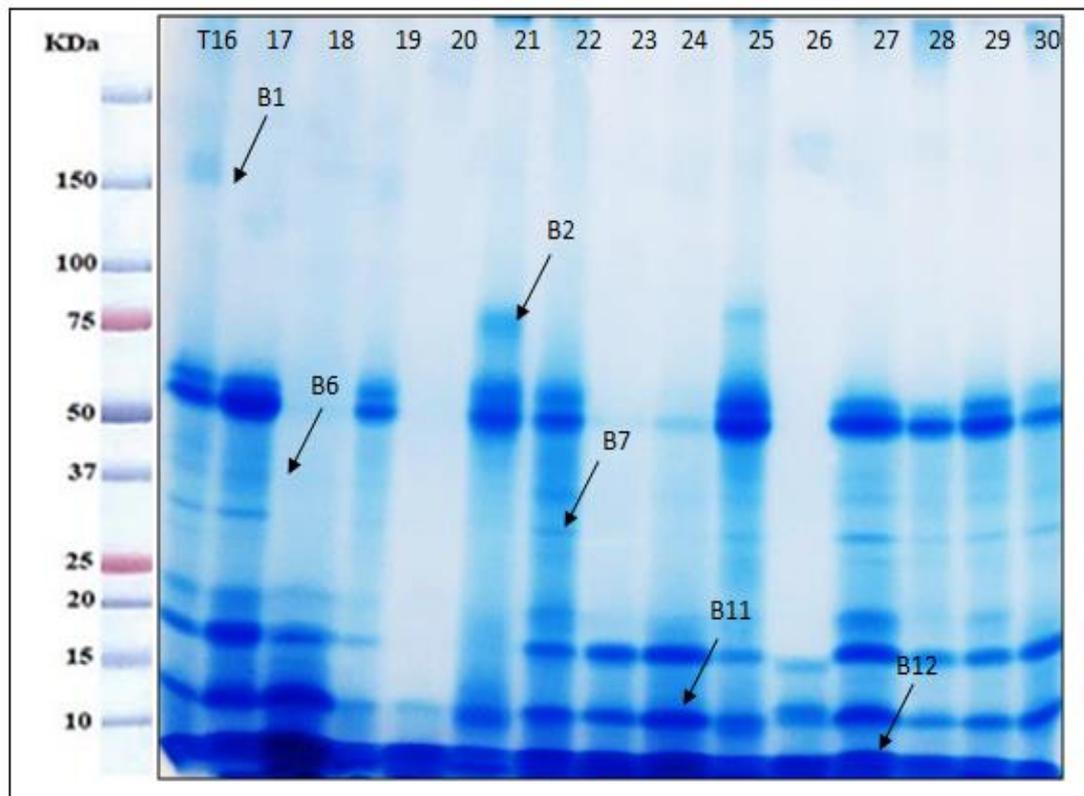


Figure 19 : Profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS/PAGE. T(16): témoin, 17 à 30 : patients malades

1.4. Étude des protéines salivaires cas des différentes pathologies liées à l'athérosclérose

Le diagramme électrophorétique des 15 échantillons (13 malades et deux témoins) analysés, renferment de 1 à 14 bandes décelables qui se répartissent dans la zone des protéines salivaires avec des mobilités variant entre 2,5 à 17.5 cm.

Nous dénombrons 16 bandes protéiques de mobilités différentes qui se répartissent différemment selon le poids moléculaire de 10 à 150 KDa.

La comparaison des profils électrophorétiques des malades et des sujets sains révèle des variations quantitatives et/ou qualitatives dans la composition protéique.

D'abord, la variation qualitative est présente chez les bandes (B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12 et B13) dont le poids moléculaire est d'environ 20 à 150 KDa respectivement et sont présentes chez quelques patients et les témoins et absentes chez quelques malades. Donc ces bandes peuvent être considérées comme étant un biomarqueur qualitatif.

À titre d'exemple la bande (B3) est présente uniquement chez le patient (38), ce dernier est un homme âgé de 27 ans, en surpoids et il est atteint d'un IDM.

De plus la bande (B1) est spécifique pour les trois patients (39, 40 et 42) qui sont tous atteints d'une AVC et aussi ils partagent entre eux quelques FdRCV tels que la présence des antécédents familiaux, l'hypertension, le manque d'activité physique, l'obésité ainsi ils souffrent du stress malgré les différences de l'âge, du sexe, des habitudes toxiques et la durée de la découverte de l'athérosclérose.

Pour les variations quantitatives, l'exemple le plus important est celui de la bande protéique (B15 et B16) dont le poids moléculaire approximatif est de 10 KDa (figure 20), ces bandes sont présentes chez tous les échantillons (témoins et malades), avec des intensités différentes. Ces bandes peuvent être considérées comme étant des biomarqueurs quantitatifs.

En outre, la bande protéique (B14) qui est fortement concentrée chez les deux témoins et les patients (32, 37 et 38), elle est faiblement concentrée chez les patients (33, 34, 35, 36 et 42) mais elle est absente chez le reste des patients. Cette bande varie quantitativement et qualitativement, ce qui lui confère la propriété de biomarqueur quantitatif et qualitatif à la fois.

En fin, il faut signaler la présence d'un cas particulier, celui du patiente (41) qui présente un profil électrophorétique complètement différent à celui des témoins (figure 23). En effet, ce profil est marqué par l'absence de toutes les bandes protéiques sauf la bande (B16) qu'on les retrouve dans les deux témoins (T1 et T16) et les autres échantillons. Sur le plan clinique, cette patiente est une femme ménopausée âgée de 49 ans, diabétique et hypertendue de plus elle présente des antécédents familiaux et des anomalies dans le bilan lipidique dont elle est diagnostiquée depuis 5 ans ainsi elle souffre d'un cancer du sang.

Ces différences observées entre les profils électrophorétiques des malades sont probablement dues à des facteurs tels que : l'âge, le sexe, la sédentarité, la durée de la découverte de la maladie, les antécédents familiaux et les pathologies associées, l'obésité ainsi les habitudes toxiques tels que la consommation du tabac et la consommation excessive d'alcool.

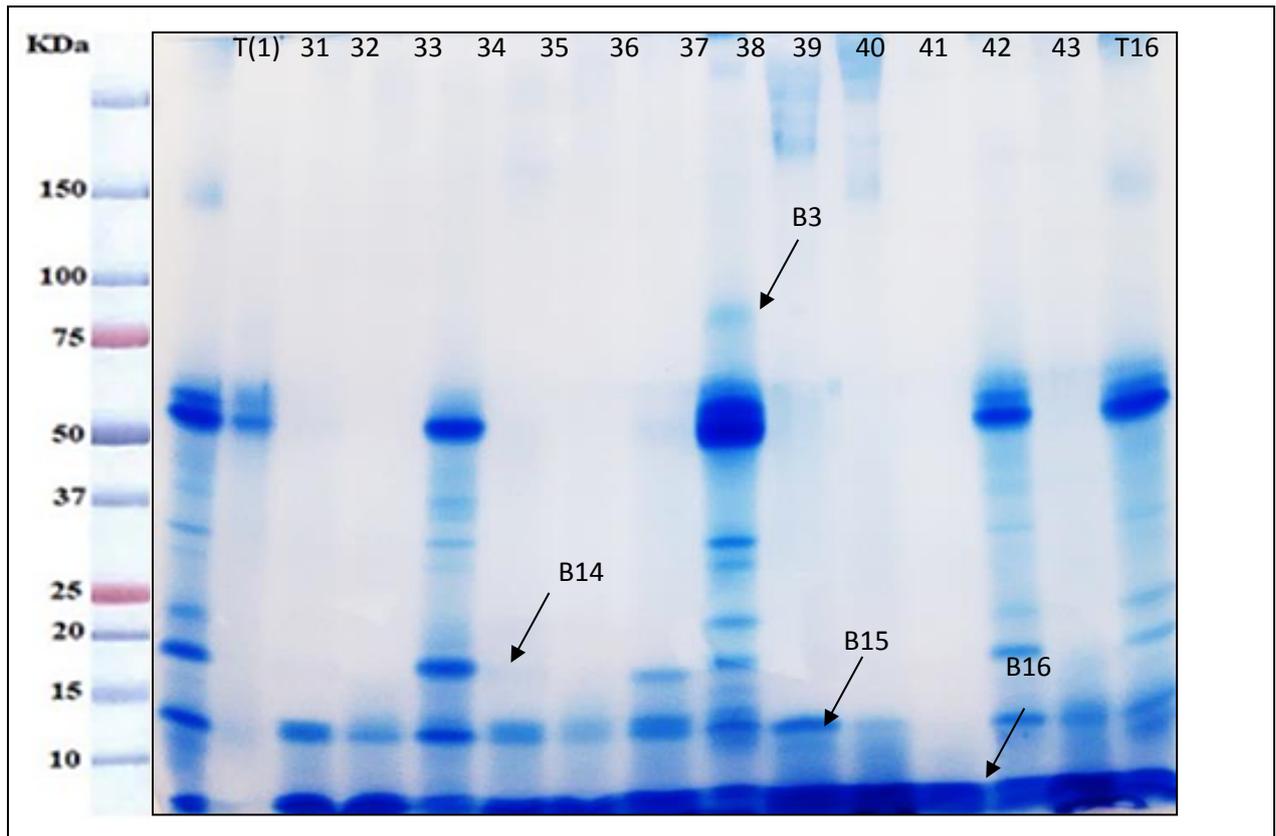


Figure 20: Profils électrophorétiques des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS/PAGE. T (1 et 16): témoins, 31 à 43 : patients malades.

Ces différences observées entre les profils électrophorétiques des malades sont probablement dues à des facteurs tels que : l'âge, le sexe, la sédentarité, la durée de la découverte de la maladie, les antécédents familiaux et les pathologies associées, l'obésité ainsi que les habitudes toxiques tels que la consommation du tabac et la consommation excessive d'alcool.

Dans le cas d'IDM nous avons trouvé plus d'expression protéique par rapport au cas des autres cas comme Multi- FdRCV et AVC, probablement dus à l'état physiopathologique des patients et le stade d'avancement d'athérosclérose.

2. Etablissement des diagrammes types

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

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

Résultats et discussion

comme base de données pour l'identification.

Nous rapportons dans les tableaux ci-dessous les diagrammes type des protéines salivaires des patients malades et de sujet sain dans des conditions dénaturantes et réductrices révélées par SDS-PAGE (1: Présence de la bande, 0: Absence de la bande, T : témoin).

Tableau 7: Matrice binaire des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrice (cas d'IDM)

Bandes	Mobilité (cm)	Echantillons														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	4	1+	0	0	0	1+	0	0	0	0	0	0	1+	0	0	
2	6	0	0	1-	1+	0	1-	0	0	1	1+	0	0	0	0	
3	8	1+	1-	0	-1	1-	1++	1++	1-	0	1-	0	1++	1++	0	1-
4	8,5	1+	0	0	0	0	1++	1++	1+	0	1+	0	1++	1++	0	1+
5	9	1++	1+	0	1-	1-	1++	1++	1++	0	1+	-1	1++	1++	0	1+
6	9,5	0	0	0	0	0	0	1-	1-	0	0	0	1-	1+	0	1-
7	10,5	1-	1-	0	0	0	1-	1-	1-	0	0	0	1+	1+	0	1-
8	11	1-	0	0	0	0	1-	1-	0	0	0	0	1+	1+	0	1-
9	12	1-	0	0	0	0	1-	1-	0	0	0	0	1+	1+	0	1-
10	12,5	1-	0	0	0	0	1-	1-	0	0	0	0	1-	1+	0	1-
11	13	1-	0	0	0	0	1-	1-	0	0	0	0	1-	1+	0	0
12	14	1-	0	0	1-	0	0	0	0	0	0	0	1+	1++	1-	1-
13	15	1+	1-	1+	1+	1+	1-	1-	1++	0	0	1+	1+	1++	1-	1+
14	15,5	0	0	0	0	0	1-	1-	0	0	0	0	1-	1+	0	1-
15	16	1+	0	1+	0	1+	0	0	1++	1+	0	1+	0	1+	0	1-
16	16,5	1-	1-	1+	1+	0	1-	1-	1++	0	1-	1+	1+	1++	1+	1+
17	17,5	1+	1+	1++	1++	1++	1+	1+	1++	1+	1-	1++	1++	1++	1+	1++

1 : présence 0 : absence (+ /-) : intensité forte /faible

Résultats et discussion

Tableau 8: Matrice binaire des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrices (cas des multi-facteurs de risques).

Bandes	Mobilité (cm)	Echantillons															
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	
1	4	1+	0	0	1-	0	0	0	0	0	0	1-	0	1-	0	0	
2	7	0	0	0	0	0	1++	0	0	0	1+	0	0	0	0	0	
3	8,5	1+	1++	0	1+	0	1++	1+	0	0	1++	0	1+	1-	1+	1-	
4	9	1++	1++	0	1+	0	1++	1++	0	1-	1++	0	1+	1++	1++	1+	
5	10	1-	1-	0	1-	0	0	1-	0	0	1-	0	1-	1-	1-	1-	
6	10,5	1-	1-	0	1-	0	1-	1+	0	0	1-	0	1-	1-	1-	1-	
7	12	1-	1+	0	1-	0	1+	0	0	1-	0	1+	1-	1-	1-	1-	
8	13	1-	1-	0	0	0	0	1-	0	0	1-	0	1-	1-	1-	1-	
9	14	1+	1++	1-	1-	0	0	1++	0	1-	1-	0	1++	1-	1+	0	
10	15	1+	1++	1+	1-	0	0	1+	1++	1++	1-	1-	1++	1+	1+	1+	
11	16,5	1+	1++	1++	1-	1-	1+	1+	1+	1++	1+	1+	1++	1+	1+	1+	
12	17,5	1++	1++	1++	1+	1++	1+	1++	1++	1++	1+	1+	1++	1+	1+	1+	

1 : présence 0 : absence (+/-) : intensité forte /faible

Tableau 9: Matrice binaire des protéines salivaires dans des conditions dénaturantes et réductrices (cas des différentes complications liées à l'athérosclérose).

Bandes	Mobilité (cm)	Echantillons															
		1	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	16	
1	2,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1+	1-	0	1-	0	0	
2	4	1+	0	0	0	0	1-	0	0	0	0	1+	0	0	0	1+	
3	6,5	0	0	0	0	0	0	0	0	1+	0	0	0	0	0	0	
4	7,5	1-	1-	0	0	1-	0	0	0	1+	0	0	0	1-	0	1-	
5	8,5	1+	1-	0	0	0	0	0	0	1++	0	0	0	1+	0	1+	
6	9	1++	1+	0	0	1++	0	0	0	1++	0	0	0	1++	0	1++	

Résultats et discussion

7	10	1-	0	0	0	1-	0	0	0	0	0	0	0	1-	0	1-
8	10,5	1-	0	0	0	1-	0	0	0	0	0	0	0	1-	0	1-
9	12	1-	0	0	0	1-	0	0	0	1+	0	0	0	1-	0	1-
10	12,5	1-	0	0	0	1-	0	0	0	1+	0	0	0	1-	0	1-
11	13,5	1+	0	0	0	1-	0	0	0	1+	0	0	0	1-	0	1+
12	14,5	1+	0	0	0	1++	1-	0	1-	1+	0	0	0	1+	0	1+
13	15	1-	0	0	0	1-	0	0	0	1-	0	0	0	1-	0	1-
14	16	1+	0	1+	1-	1-	1-	1-	1+	1+	0	0	0	1-	0	1+
15	16,5	1+	0	1+	1-	1++	1-	1-	1+	1+	1+	1-	0	1+	1+	1+
16	17,5	1++	1-	1++	1++	1+	1++	1++	1+	1++	1++	1++	1++	1++	1++	1++

1 : présence 0 : absence (+ /-) : intensité forte /faible

3. Etude de la variabilité des protéines salivaires

3.1 Etude de la variabilité des protéines salivaires cas d'IDM

L'étude est faite selon la mobilité des protéines séparées, L'analyse électrophorétique des 14 échantillons atteints d'IDM a permis de distinguer 17 types de protéines salivaires de mobilités différentes (tableau 10).

Tableau 10: variabilité des protéines salivaires en conditions dénaturantes et réductrices (cas d'IDM)

Bandes	Mobilité (cm)	Echantillons	Fréquences %
1	4	T(1), 5, 13	20
2	6	3, 4, 6, 9, 10	33
3	8	T(1), 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 15	73
4	8,5	T(1), 6, 7, 9, 10, 12, 13, 15	53
5	9	T(1), 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13,15	80
6	9,5	7, 8, 12, 13, 15	33
7	10,5	T(1), 2, 6, 7, 8, 12, 13, 15	53
8	11	T(1), 6, 7, 12, 13, 15	40
9	12	T(1), 6, 7, 12, 13, 15	40
10	12,5	T(1), 6, 7, 12, 13, 15	40

Résultats et discussion

11	13	T(1), 6, 7, 12, 13	33
12	14	T(1), 4, 12, 13, 14, 15	40
13	15	T(1), 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 15	87
14	15,5	6, 7, 12, 13, 15	33
15	16	T(1), 3, 5, 8, 9, 11	53
16	16,5	T(1), 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15	87
17	17,5	T(1), 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15	100

Sur la base de la variabilité protéique observée la bande la plus fréquente est la bande 17 de mobilités 17,5 cm présente chez tous les échantillons avec une fréquence de 100% donc c'est la protéine salivaire dominante, suivie par les bandes protéiques 13 et 16 de mobilités 15 et 16,5 cm respectivement, avec une fréquence de 87 % retrouvées chez 13 échantillons. Ensuite apparait la bande 5 avec une fréquence de 80 % présente dans 12 échantillons avec une mobilité de 9 cm. Par la suite vient la bande protéique 3 avec une fréquence de 73%, présente chez 11 échantillons. Des bandes protéiques moins fréquentes sont observées, telles que la bande 4, 7 et 15 de mobilités 8,5 cm, 10,5 cm et 16 cm respectivement, avec une même fréquence de 53 % retrouvées chez 8 échantillons. Puis les bandes 8, 9, 10 et 12, avec une mobilité de 11 cm, 12 cm, 12,5 cm et 14 cm respectivement, retrouvée chez 6 échantillons, avec une fréquence de 40 % . Par la suite les bandes 2, 6, 11 et 14 présentent chacune dans 5 échantillons avec une mobilité de 6 cm, 9,5 cm, 13 cm et 15,5 cm respectivement, avec une fréquence de 33%. La plus faible fréquence 20% observée dans cette condition est pour la bande 1, retrouvée chez 3 échantillons dont la mobilité est de 4 cm (Tableau10).

3.2 Etude de la variabilité des protéines salivaires cas de présence des multi-facteurs de risque

L'analyse électrophorétique des 14 échantillons a permis de distinguer 12 types de protéines salivaires de mobilités différentes (tableau 11).

Sur la base de la variabilité protéique observée les deux bandes les plus fréquentes sont les bandes 11 et 12 de mobilités 16,5cm et 17,5 cm respectivement, présentes chez tous les échantillons avec une fréquence de 100% donc c'est les protéines salivaires dominantes, suivies par les bandes protéiques 10 et 4 de mobilités 15 cm et 9 cm ; avec des fréquences de 87% et 73% retrouvées chez 13 et 11 échantillons respectivement

Tableau 11 : variabilité des protéines salivaires en conditions dénaturantes et réductrices (cas de présence de multi-facteurs de risque)

Bandes	Mobilité (cm)	Echantillons	Fréquences %
1	4	T(16), 19, 26 ,28	27
2	7	21, 25	13
3	8,5	T(16), 17, 19, 21,22, 25, 27, 28, 29, 30	67
4	9	T(16), 17,19, 21, 22, 24, 25, 27,28, 29 ,30	73
5	10	T(16), 17, 19, 22, 25, 27, 28, 29, 30	60
6	10,5	T(16), 17, 19, 21, 22, 25, 27, 28, 29, 30	67
7	12	T(16), 17, 19, 21, 24, 26, 27, 28, 29, 30	67
8	13	T(16), 17, 21, 24, 27, 28, 29, 30	53
9	14	T(16), 17, 18,19, 22, 24, 25, 27, 28, 29	67
10	15	T(16), 17, 18, 19, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30	87
11	16,5	T(16), 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30	100
12	17,5	T(16), 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30	100

Sur la base de la variabilité protéique observée les deux bandes les plus fréquentes sont les bandes 11 et 12 de mobilités 16,5cm et 17,5 cm respectivement, présentes chez tous les échantillons avec une fréquence de 100% donc c'est les protéines salivaires dominantes, suivies par les bandes protéiques 10 et 4 de mobilités 15 cm et 9 cm ; avec des fréquences de 87% et 73% retrouvées chez 13 et 11 échantillons respectivement. Ensuite apparaissent les bandes 3, 6, 7 et 9 avec une même fréquence de 67 % présentes dans 10 échantillons avec des différentes mobilités de 8,5 cm, 10,5 cm, 12 cm et 14 cm respectivement. Des bandes protéiques moins fréquentes sont observées, telles que la bande 5 et 8 de mobilités 10 cm et 13 cm respectivement, avec différentes fréquences de 60 % et 53 % retrouvées chez 9 et 8 échantillons respectivement. Les plus faibles fréquences sont 27% et 13% observées dans cette

condition pour les bandes 1 et 2 retrouvées chez 4 et 2 échantillons dont les mobilités sont de 4 cm et 7 cm respectivement (Tableau 11).

3.3 Etude de la variabilité des protéines salivaires cas de différentes complications de l'athérosclérose

L'analyse électrophorétique des 13 échantillons a permis de distinguer 16 types de protéines salivaires de mobilités différentes (tableau 12).

Tableau 12 : variabilité des protéines salivaires en conditions dénaturantes et réductrices (cas de différentes complications de l'athérosclérose)

Bandes	Mobilité (cm)	Echantillons	Fréquences %
1	2,5	39, 40, 42	20
2	4	T(1), 40, T(16)	20
3	6,5	38	7
4	7,5	T(1), 31, 34, 38, 42, T(16)	40
5	8,5	T(1), 32, 38, 42, T(16)	33
6	9	T(1), 31, 34, 38, 42, T(16)	40
7	10	T(1), 34, 42, T(16)	27
8	10,5	T(1), 34, 42, T(16)	27
9	12	T(1), 34, 38, 42, T(16)	33
10	12,5	T(1), 34, 38, 42, T(16)	33
11	13,5	T(1), 34, 38, 42, T(16)	33
12	14,5	T(1), 34, 37, 38, 42, T(16)	40
13	15	T(1), 34, 38, 42, T(16)	33
14	16	T(1), 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 42, T(16)	67
15	16,5	T(1), 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 43, T(16)	87
16	17,5	T(1), 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, T(16)	100

Sur la base de la variabilité protéique observée la bande la plus fréquente est la bande 16 de mobilité 17,5 cm, présente chez tous les échantillons avec une fréquence de 100% donc c'est la protéine salivaire dominante, suivie par la bande protéique 15 de mobilité 16,5 cm, avec

une fréquence de 87% retrouvée chez 13 échantillons et par la suite la bande 14 avec une fréquence de 67% présente dans 10 échantillons avec une mobilité de 16 cm. Des bandes protéiques moins fréquentes sont observées, telles que la bande 4, 6 et 12 de mobilités 7,5 cm, 9 cm et 14,5 cm ; avec une même fréquence de 40 % retrouvées chez 6 échantillons respectivement. Ensuite apparaît les bandes 5, 9, 10, 11 et 13 de mobilités 8,5 cm, 12cm, 12,5 cm , 13,5 cm et 15 cm respectivement, avec une même fréquence de 33 % retrouvées chez 5 échantillons .Par la suite les bande 7 et 8 avec une même fréquence de 27 % présentes dans 4 échantillons avec des mobilités différentes de 10 cm et 10,5 cm. Puis les bande 1 et 2 avec une même fréquence de 20 % présentes dans 3 échantillons avec des mobilités différentes de 2,5 cm et 4 cm respectivement. La plus faible fréquence 7% observée dans cette condition est pour la bande 3 retrouvée chez un seul patient (38) et dont la mobilité est de 6,5 cm (Tableau12).

4. Classification hiérarchique des protéines salivaires

Les relations entre les différents patients sont établies à partir de leurs ressemblances génétiques exprimées par les protéines salivaires. Pour cela, nous avons fait appel à une représentation sous forme d'arbre hiérarchique. Le dendrogramme 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.

4.1. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites (cas IDM)

Le dendrogramme obtenu à partir des distances d'agrégations révèle de nombreux groupes permettant d'estimer la ressemblance dans la composition protéique des échantillons (figure21).

Le dendrogramme est divisé en deux groupes à une distance d'agrégation de 2.3. L'ensemble des patients du premier groupe sont scindés en sept sous-groupes à distance d'agrégation 1.74. En effet, six patients constituent des groupes à part à la même distance d'agrégation, il s'agit des patients (2, 4, 5, 8,10 et 14). Par opposition le sixième sous-groupe contient trois patients (3, 9 et 11) à distance d'agrégation 1.41.

En ce qui concerne le deuxième groupe, il est partagé en cinq sous-groupes à distance

d'agrégation 1.41. En effet, quatre patients constituent des groupes à part entière, il s'agit des patients (1, 13, 6 et 15), contrairement au troisième sous-groupe qui renferme deux patients (7 et 12) à distance d'agrégation 1.

L'état physiologique et pathologique des patients et les résultats des analyses en cluster de la composition en protéines salivaires ne sont pas corrélés. C'est-à-dire certains patients appartiennent au même groupe malgré les différences qui subsistent entre eux.

Donc la classification des patients en fonction des profils protéiques n'a pas suivi l'état des patients.

À titre d'exemple : Les trois patients (3, 9 et 11) appartiennent au même groupe et forment un clade malgré les différences présentes dans leurs caractéristiques cliniques car Le patient (3) est un homme âgé de 31 ans, tabagique, obèse et sédentaire par contre le patient (9), il s'agit d'un homme âgé de 69 ans, hypertendu et avec un poids idéal à l'opposition de patient (11) est un homme âgé de 34 ans, présente une anomalie dans le bilan lipidique et il est diagnostiqué depuis 5 ans.

Même chose pour les deux patients (7 et 12) formant un clade (figure 21), malgré La patiente (7) est une femme ménopausée âgée de 52 ans, elle présente des anomalies dans le bilan lipidique de plus elle présente des antécédents familiaux dont elle est diagnostiquée depuis 5 ans alors que le patient (12) est un homme âgé de 84 ans, il est hypertendu, en surpoids dont il est diagnostiqué depuis 11 ans.

Concernant les patients qui constituent un sous-groupe à part, c'est le cas de témoin (patient 1) est une femme âgée de 24 ans, elle ne présente aucun facteur de risque, Le patient (15) est un homme tabagique âgé de 34 ans, il est en surpoids, il présente des anomalies dans le bilan lipidique de plus il présente des antécédents familiaux dont il est diagnostiqué depuis 1 an, La patiente (13) est une femme ménopausée âgée de 64 ans, hypertendue, sédentaire et elle est diagnostiquée depuis 10 ans même chose La patiente (6) est une femme obèse âgée de 63 ans, diabétique, sédentaire en outre elle présente des antécédents familiaux et des anomalies dans le bilan lipidique dont elle est diagnostiquée depuis quelques mois.

Il faut signaler aussi que d'autres patients n'appartiennent pas au même groupe malgré ils partagent entre eux quelque caractéristiques cliniques. C'est le cas des patients 9 et 14. Qui sont du sexe masculin, tabagique et hypertendu.

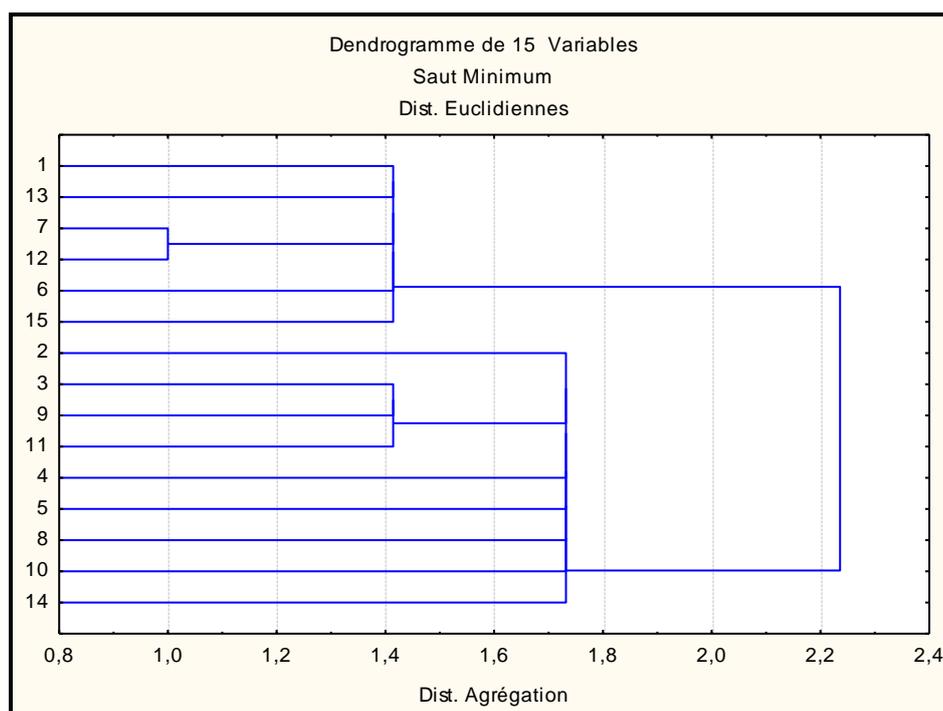


Figure 21 : dendrogramme des 13 échantillons révèlent dans les conditions dénaturantes et réductrices (cas d'IDM)

4.2. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites (cas de multi-facteurs)

Le dendrogramme obtenu à partir des distances d'agrégations révèle de nombreux groupes permettant d'estimer la ressemblance dans la composition protéique des échantillons (figure 22).

Le dendrogramme est divisé en trois groupes à une distance d'agrégation de 2. Le premier groupe contient uniquement le patient (6). L'ensemble des patients du deuxième groupe sont scindés en trois sous-groupes à distance d'agrégation 1.4 dont les deux premiers sous-groupes comprennent seulement un patient, c'est le cas du patient (9 et 11) ainsi que le troisième sous-groupe contient les patients (3, 8 et 5) à distance d'agrégation 1, tandis que le troisième groupe renferme le reste des échantillons analysés les patients (15, 10, 7, 4, 12, 2, 14, 1 et 13) à la même distance d'agrégation.

L'état physiologique et pathologique des patients et les résultats des analyses en cluster de la composition en protéines salivaires ne sont pas corrélés. C'est-à-dire certains patients appartiennent au même groupe malgré les différences qui subsistent entre eux. Donc la classification des patients en fonction des profils protéiques n'a pas suivi l'état des patients. Par exemple : les deux patients (9 et 11) appartiennent au même groupe et forment un clade

Résultats et discussion

malgré les différences présentes dans leurs caractéristiques cliniques. Car Le patient (9) est un homme âgé de 73 ans, hypertendu, diabétique, alcoolique, en surpoids de plus il présente des antécédents familiaux dont il est diagnostiqué depuis 17 ans alors que le patient (11) est un homme âgé de 43 ans, obèse, sédentaire et il présente une anomalie dans le bilan lipidique dont il est diagnostiqué depuis 10 ans .

Concernant les patients qui constituent un groupe à part, nous n'avons que le patient (6) qui est un homme âgé de 73 ans, hypertendu, diabétique et obèse de plus il présente des antécédents familiaux et une anomalie dans le bilan lipidique dont il est diagnostiqué depuis 20 ans.

Nous devons signaler deux cas particuliers, celui des patients (2, 14 et 12 ; 1 et 13) qui présentent des profils entièrement similaires malgré la différence d'âge (66, 25 et 55, 24 et 51 ans respectivement), du sexe (trois hommes, femme et homme respectivement) ainsi que les antécédents familiaux des patients (12, 13 et 14), aussi aux pathologies associées (l'hypertension , diabète...) et mode de vie(régime alimentaire , tabac...).

Il faut signaler aussi que d'autres patients n'appartiennent pas au même groupe malgré leur ressemblance dans quelque caractéristique clinique. C'est le cas des patients 11 et 12. Ses deux patients sont de sexe masculin, obèse et sédentaire.

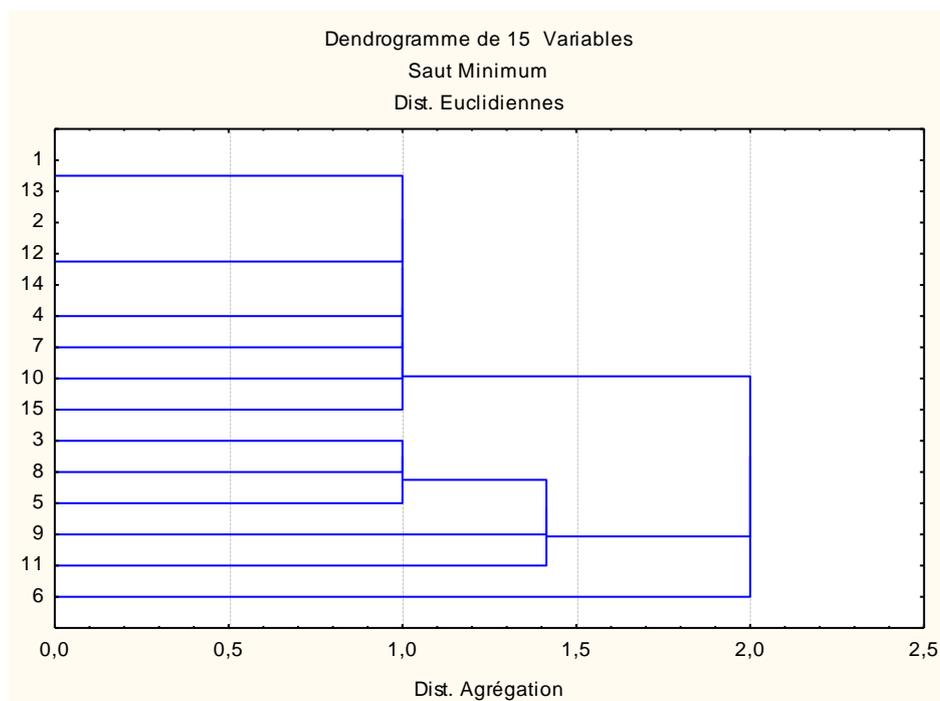


Figure 22: dendrogramme des 13 échantillons révèlent dans les conditions dénaturantes et réductrices (cas de multi-facteurs)

4.3. Dendrogramme des protéines salivaires dénaturées et réduites (cas différentes complications d'athérosclérose)

Le dendrogramme obtenu à partir des distances d'agrégations révèle de nombreux groupes permettant d'estimer la ressemblance dans la composition protéique des échantillons (figure 23).

L'ensemble des échantillons est divisé en deux principaux groupes à la distance d'agrégation 2.8. En effet, le premier groupe est divisé en deux sous-groupes à distance d'agrégation 2 dont le premier contient seulement le patient (2) et le deuxième comprend les patients (12,11,10,14,6,8,4,7 et 3) à distance d'agrégation 1, tandis que le deuxième groupe est divisé à son tour en deux sous-groupes dont le premier sous-groupe comprend uniquement le patient (9), alors que le deuxième sous-groupe inclut quatre patients (13,5,1 et 15) à distance d'agrégation de 1.4.

L'état physiologique et pathologique des patients et les résultats des analyses en cluster de la composition en protéines salivaires ne sont pas corrélés. C'est-à-dire certains patients appartiennent au même groupe malgré les différences qui subsistent entre eux. Donc la classification des patients en fonction des profils protéiques n'a pas suivi l'état des patients.

À titre d'exemple : les deux patients (5 et 13) appartiennent au même groupe et forment un clade malgré les différences présentes dans leurs caractéristiques cliniques. Comme la patiente (5) est une femme ménopausée âgée de 54 ans, elle est hypertendue, en surpoids de plus elle présente des antécédents familiaux et une anomalie dans le bilan lipidique dont elle est diagnostiquée depuis 19 ans alors que la patiente (13) est une femme ménopausée âgée de 63 ans, elle est obèse, diabétique, sédentaire en plus elle présente des antécédents familiaux dont elle est diagnostiquée depuis 15 ans .

Concernant les patients qui constituent un groupe à part, nous avons les patients (9 et 2), dont le patient (2) est un homme âgé de 37 ans, il est hypertendu, obèse, il présente des antécédents familiaux et des anomalies dans le bilan lipidique dont il est atteint d'un AVC depuis 2 ans alors que le patient (9) est un homme âgé de 27 ans, en surpoids dont il est atteint d'IDM depuis 15 jours.

Nous devons signaler deux cas particuliers, celui des patients (4, 7 et 3, 1 et 15 (les deux témoins)) qui présentent des profils entièrement similaires malgré la différence d'âge (32, 54

et 50 respectivement) et de sexe (homme, homme, femme) ainsi que les antécédents familiaux des patients (3, 7 et 15), qui s'ajoutent aux pathologies associées et mode de vie, c'est le cas des patients (3 et 4) qui sont tabagiques et il sont atteints d'un IDM même chose pour la patiente (7), elle est hypertendue ,diabétique et obèse de plus elle est atteinte d'un AVC .

Il faut signaler aussi que d'autres patients n'appartiennent pas au même groupe malgré leur ressemblance dans leurs caractéristiques cliniques. C'est le cas des patientes 12 et 13. Qui sont de sexe féminin, ménopausées, diabétiques et hypertendues de plus elles présentent des antécédents familiaux et des anomalies dans le bilan lipidique ainsi elles sont atteintes d'AVC et d'AOMI.

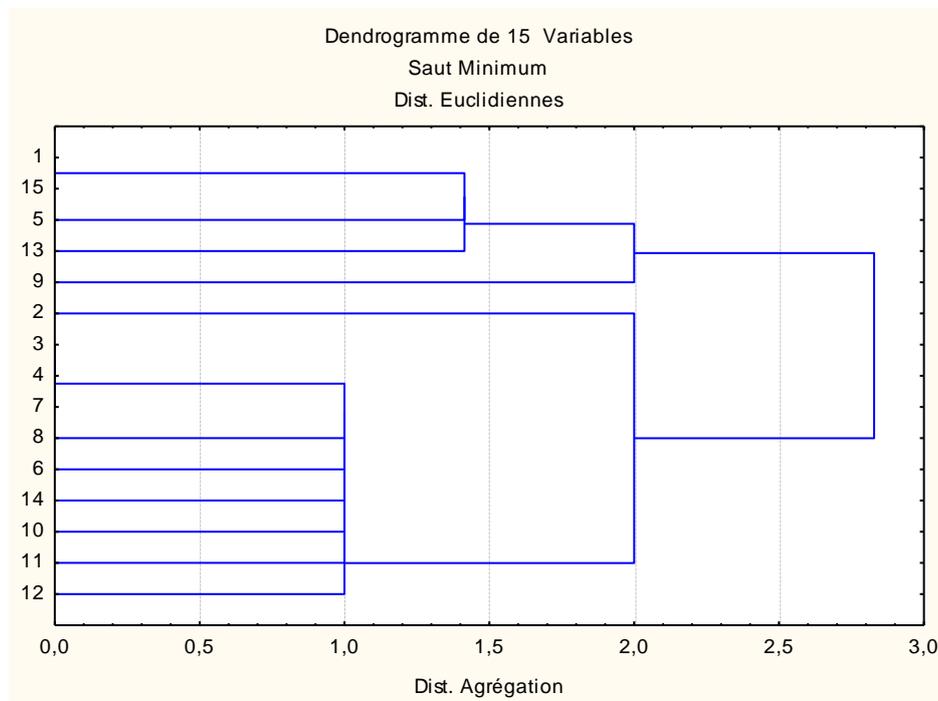


Figure 23: dendrogramme des 13 échantillons révèle dans les conditions dénaturantes et réductrices (cas des différentes complications d'athérosclérose)

5. Indice de similarité des diagrammes protéiques des échantillons

L'indice de similarité ou indice de ressemblance (IRS) a été calculé, en rapportant l'indice de similarité absolu (IAS) au nombre total (N) des bandes présentes dans l'un, au moins, des diagrammes des échantillons comparés. L'IAS présente l'ensemble des bandes qui ne sont pas significativement différentes d'une autre c'est-à-dire qu'ils ont la même mobilité.

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

Résultats et discussion

Les valeurs de l'IRS sont rassemblées dans les (tableaux). Des fortes valeurs d'IRS indiquent que les diagrammes apparaissent très voisins et contrairement, lorsque les diagrammes présentent de nombreuses dissemblance. La majorité des échantillons restent différenciable car leurs diagrammes présentent au moins une différence significative.

5.1. Indice de similarité des protéines salivaires dénaturantes et réduites (cas d'IDM)

Les indices de similarité ont été calculés pour les 15 échantillons (14 patients atteints de l'athérosclérose et un témoin), ils sont représentés sous forme d'une matrice dans le tableau 13. Il en ressort que l'indice de similarité varie entre 6 et 100 %.

Tableau 13: indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites révélées par SDS-PAGE (cas d'IDM).

1(T)	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
100	43	27	43	43	69	69	53	13	33	36	80	89	29	75	1 (T)
	100	38	63	50	46	46	67	13	50	57	43	38	43	43	2
		100	50	38	29	20	40	60	38	67	19	24	50	27	3
			100	44	43	35	45	25	63	50	40	35	57	40	4
				100	27	27	50	29	33	57	25	38	25	33	5
					100	86	47	14	46	29	80	71	21	69	6
						100	57	7	36	29	93	81	21	80	7
							100	20	50	56	53	56	30	64	8
								100	29	33	6	11	17	13	9
									100	38	33	29	25	33	10
										100	27	31	50	36	11
											100	88	29	87	12
												100	25	87	13
													100	28	14
														100	15

D'après l'observation du tableau ci-dessus, nous constatons d'abord des valeurs d'IRS moins élevées qui se diffèrent d'un patient à un autre dans l'intervalle de 6 à 49%.

À titre d'exemple :

- IRS à 7 % entre le patient 9 et le patient 7.
- IRS à 13 % entre le patient 9 et 2, les patients 9 et 15.
- IRS à 25% entre les patients 4 et 9, 10 et 14, 5 et 14.

- IRS à 33% entre les patients 9 et 11, 10 et 15, 10 et 12, 10 et 5, 10 et le témoin (1), 15 et 10 .
- IRS à 40% entre les patients 3 et 8, 4 et 12, 4 et 15. Ces différents patients présentent des diagrammes, avec de dissemblances plus que de ressemblances. Ce qui implique une faible similarité dans la composition protéique.
- Une valeur moyenne de 50% est observée entre les patients 11 et 4, 8 et 10, 12 et 6, 12 et 7, 12 et 10, T(1) et 8. Ces différents patients présentent des diagrammes voisins, avec autant de ressemblances que de dissemblances, ce qui fait penser que la composition protéique est presque la même.

Ensuite, nous distinguons des valeurs d'IRS plus élevées qui fluctuent entre 50 et 89%.

Par exemple :

- IRS à 60% entre les patients 9 et 3.
- IRS à 75% entre les patients T(1) et 15.
- IRS à 80% entre les patients T(1) et 12, 12 et T(1), 7 et 15.
- IRS à 93% entre les patients 7 et 12.

Ainsi, ces différents patients présentent une légère dissemblance, ce qui implique une forte similarité dans la composition protéique.

5.2 Indice de similarité des protéines salivaires dénaturantes et réduites (cas de multi-facteurs de risque)

Les indices de similarité ont été calculés pour les 15 échantillons (14 patients atteints de l'athérosclérose et un témoin), ils sont représentés sous forme d'une matrice dans le tableau 14. Il en ressort que l'indice de similarité varie entre 18 et 100.

D'après l'observation de tableau ci-dessus, nous constatons d'abord des valeurs d'IRS moins élevées qui se diffèrent d'un patient à un autre dans l'intervalle de 18 à 49%.

À titre d'exemple :

- IRS à 18 % entre le patient 20 et le témoin 1.
- IRS à 22% entre les patients 18 et 21, 20 et 22.
- IRS à 30% entre les patients 23 et 17, 23 et 25, 23 et 19, 23 et 27, 23 et 29, 18 et 30.
- IRS à 45% entre les patients 21 et 22, 24 et 25, 26 et 28.

Tableau 14: indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites révélées par SDS-PAGE (cas de multi-facteurs de risque).

16(T)	17	18	18	19	20	21	22	23	24	25	27	28	29	30	
100	91	36	91	18	50	82	27	55	75	45	91	100	91	82	T(16)
	100	40	82	20	55	90	30	60	82	36	100	91	100	90	17
		100	40	50	22	44	75	67	40	50	40	36	40	30	18
			100	20	55	73	30	60	67	50	82	91	82	73	19
				100	29	22	67	33	20	40	20	18	20	22	20
					100	45	38	44	55	33	55	50	55	60	21
						100	33	50	90	27	90	82	90	80	22
							100	50	30	60	30	27	30	33	23
								100	45	57	60	55	60	50	24
									100	25	82	75	82	73	25
										100	36	45	36	40	26
											100	91	100	90	27
												100	91	82	28
													100	90	29
														100	30

Ces différents patients présentent des diagrammes, avec de dissemblances plus que de ressemblances. Ce qui implique une faible similarité dans la composition protéique.

- Une valeur moyenne de 50% est observée entre les patients , 22 et 24 , 21 et T(16), 19 et 26,20 et 18, 18 et 26, 21 et 28. Ces différents patients présentent des diagrammes voisins, avec autant de ressemblances que de dissemblances, ce qui fait penser que la composition protéique est presque la même.

Ensuite, nous distinguons des valeurs d'IRS plus élevées qui fluctuent entre 50 et 89%.

Par exemple :

- IRS à 67% entre les patients 18 et 24, 19 et 25, 20 et 23.
- IRS à 73% entre les patients 19 et 22, 30 et 25, 30 et 19.
- IRS à 80% entre les patients 22 et 30.
- IRS à 90% entre les patients 30 et 17, 30 et 29, 22 et 25, 22 et 27, 22 et 29 ,22 et 17.

Ainsi, ces différents patients présentent une légère dissemblance, ce qui implique une forte similarité dans la composition protéique.

Résultats et discussion

- Finalement, des valeurs maximales d'IRS égale à 100% sont observées entre les patients T(16) et 28, 17 et 27, 17 et 29, 27 et 29. Ce qui signifie que ces deux patients présentent des diagrammes identiques avec la même composition protéique.

5.3 Indice de similarité des protéines salivaires dénaturantes et réduites (cas des différentes complications de l'athérosclérose)

Les indices de similarité ont été calculés pour les 15 échantillons (13 patients atteints de l'athérosclérose et deux témoins), ils sont représentés sous forme d'une matrice dans le tableau 15. Il en ressort que l'indice de similarité varie entre 0 et 100 %.

Tableau 15: indice de similarité des protéines salivaires dénaturées et réduites révélées par SDS-PAGE (cas des différentes complications de l'athérosclérose)

T(1)	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	16(T)	
100	21	21	21	86	36	21	29	73	13	20	7	87	14	100	T(1)
	100	0	0	15	0	0	0	25	0	0	0	21	0	21	31
		100	100	25	60	100	75	25	50	40	33	21	67	21	32
			100	25	60	100	75	25	50	40	33	21	67	21	33
				100	31	25	33	71	15	14	8	86	16	86	34
					100	60	80	31	33	33	20	27	40	36	35
						100	75	25	50	40	33	21	67	21	36
							100	33	40	33	25	29	50	28	37
								100	15	14	8	73	16	73	38
									100	75	33	21	66	13	39
										100	25	20	50	20	40
											100	7	50	7	41
												100	14	87	42
													100	14	43
														100	16(T)

D'après l'observation des tableaux ci-dessus, nous constatons d'abord des valeurs d'IRS moins élevées qui se diffèrent d'un patient à un autre dans l'intervalle de 0 à 49%.

À titre d'exemple :

- IRS à 0 % entre le patient 31 et les patients 32,33,35,36,37,39,40,41,43.
- IRS à 13 % entre le patient 39 et les témoins(T(1) et T(16)).
- IRS à 20% entre les patients 16 et 40, 40 et 42, 37 et 41.
- IRS à 31% entre les patients 34 et 35, 35 et 38.
- IRS à 40%entre les patients 40 et 32, 33 et 40, 40 et 36, 37 et 39,35 et 43.

Ces différents patients présentent des diagrammes, avec de dissemblances plus que de ressemblances. Ce qui implique une faible similarité dans la composition protéique.

- Une valeur moyenne de 50% est observée entre les patients 32 et 39, 36 et 39, 37 et 43, 41 et 43, 33 et 39, 40 et 43. Ces différents patients présentent des diagrammes voisins, avec autant de ressemblances que de dissemblances, ce qui fait penser que la composition protéique est presque la même.

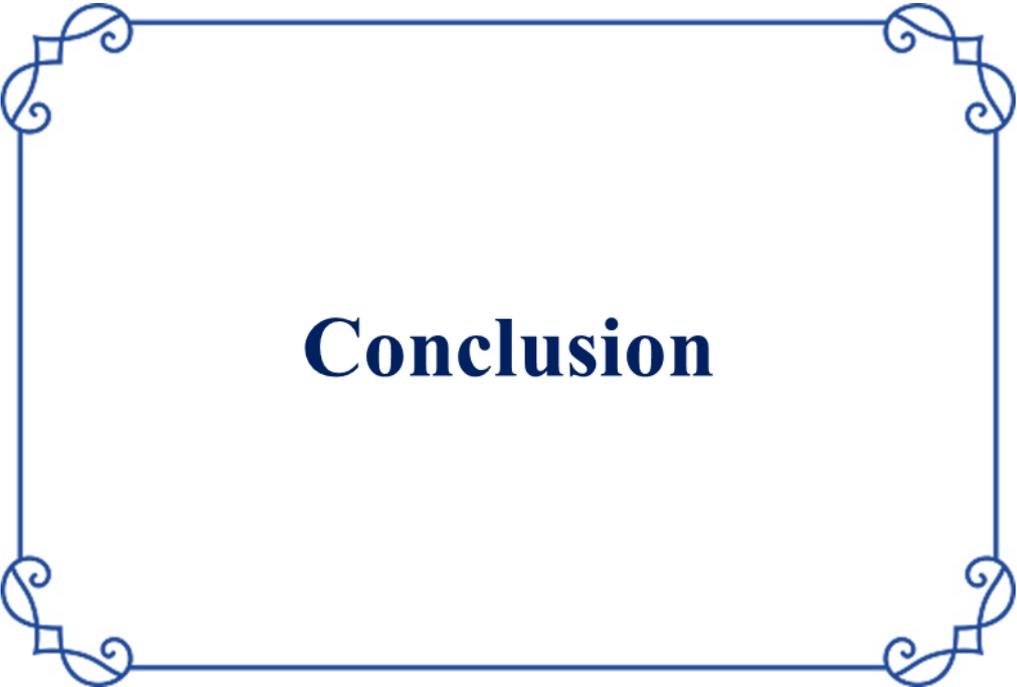
Ensuite, nous distinguons des valeurs d'IRS plus élevées qui fluctuent entre 50 et 89%.

Par exemple :

- IRS à 60% entre les patients 35 et 36, 33 et 35, 32 et 35.
- IRS à 75% entre les patients 33 et 37, 32 et 37, 32 et 37.
- IRS à 87% entre les témoins (1) et (16) et le patient 42.

Ainsi, ces différents patients présentent une légère dissemblance, ce qui implique une forte similarité dans la composition protéique.

- Finalement, des valeurs maximales d'IRS égale à 100% sont observées entre les patients 33 et 36, 32 et 36, T(1) et T(16), 32 et 33. Ce qui signifie que ces deux patients présentent des diagrammes identiques avec la même composition protéique.



Conclusion

Conclusion

Les complications associées à l'athérosclérose et la diversité des étiologies physiopathologiques et des facteurs de risque cardiovasculaires font l'utilisation de plusieurs biomarqueurs pour l'amélioration de la performance des modèles classiques de prédiction du risque coronarien, et aussi l'optimisation des stratégies diagnostiques et la prise en charge du patient athéromateux. Notre travail de recherche visait à explorer le protéome salivaire des patients atteints de l'athérosclérose, le comparer avec celui des sujets sains par application de technique d'électrophorèse Monodimensionnelle SDS-PAGE, et à rechercher les biomarqueurs de l'athérosclérose dans la salive.

Une étude rétrospective à été réalisée dans le service de cardiologie au niveau de l'HMRUC, sur une période d'un mois, du Mars 2019 au Avril 2019. Cette étude inclut 322 dossiers des patients atteints de l'athérosclérose entre l'année 2017 – 2019.

Concernant l'étude épidémiologique, nos résultats confirment

- les hommes sont plus davantage atteints que les femmes avec un sexe ratio de 2,86 presque 74% des patients sont athéromateux.
- Une fréquence plus élevée de l'athérosclérose dans la tranche d'âge [60-69].
- 58% sont hypertendus et 41% souffrent de la dyslipidémie.
- 43% des patients sont diabétiques et sont sédentaires
- 30% tabagiques surtout les hommes et 4% sont alcoolique.
- 28% sont obèses et 39% en surpoids.
- 15% des participants ont deux facteurs de risque cardio-vasculaires, 24% ont 3 facteurs et 61% ont plus de 3 facteurs de risque.
- 47% des patients présentent des antécédents familiaux.
- 10% des patients souffrant du stress.

La méthode d'électrophorèse utilisée pour la séparation des protéines 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 humaines. Pour cela, la technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide a été réalisée dans les conditions dénaturantes et réductrices. Cette méthode nous a fourni des diagrammes satisfaisant et nous a permis de:

- Comparer les profils électrophorétiques des sujets malades avec celui du témoin et

Conclusion

de remarquer que chacun des échantillons possède un profil protéique qui lui est propre et qui peut rassembler ou pas à celui d'un autre échantillon ou celui des témoins par l'absence ou la présence d'une ou plusieurs protéines,

- Révéler les mobilités de chacune des bandes protéiques,
- Dénombrer des bandes protéiques communes entre les différents échantillons,
- Distinguer les différences dans la composition protéique des patients malades et des témoins.
- Et enfin identifier quelques protéines susceptibles d'être des biomarqueurs salivaires de la maladie.

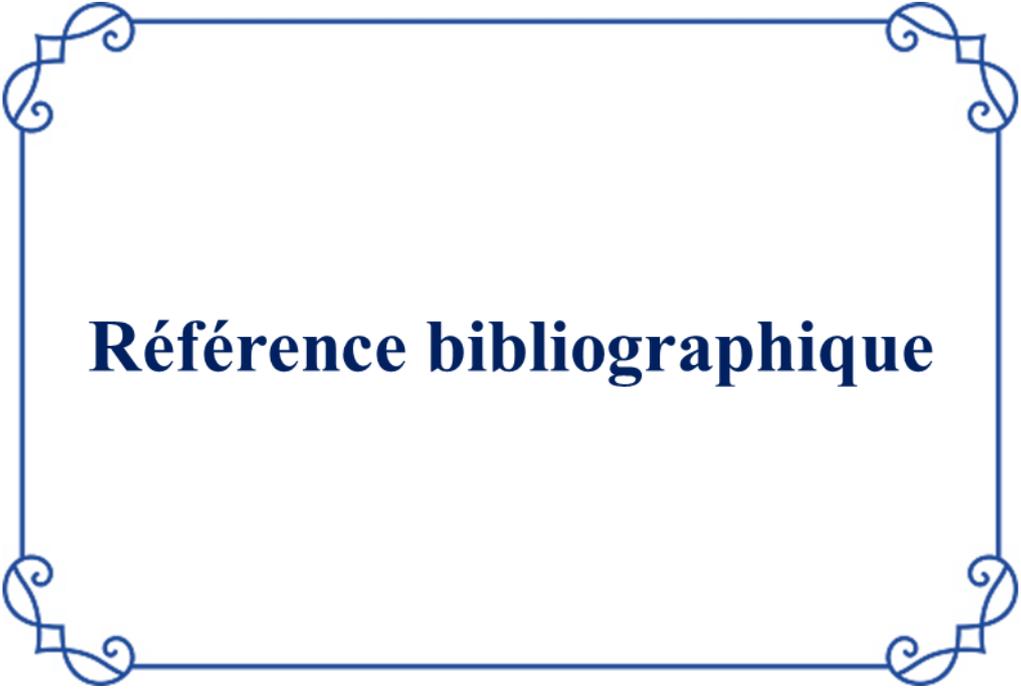
En outre, l'analyse statistique effectuée en calculant les fréquences, l'indice de similarité, la classification hiérarchique des patients en se basant sur leurs diagrammes types a permis d'apprécier numériquement la diversité des protéines salivaires dans les conditions dénaturantes et réductrices, mais cette analyse statistique n'était pas corrélée avec l'état physiopathologique des patients.

L'analyse des gels a permis de dénombrier 17 bandes protéiques de mobilités différentes cas d'IDM, 12 bandes protéiques de mobilités différentes cas des multi-facteurs de risque et 16 bandes protéiques de mobilités différentes cas des différentes complications cliniques.

. Une nette différence est observée entre le profil des témoins et des patients atteints de l'athérosclérose. Pour les protéines salivaires, 12 bandes protéiques (B1, B2, B3, B6, B7, B11, B12, B14, B15, B16 et B17) de masses moléculaires approximatives de (150, 100, 75, 50, 40, 15, 7, 18, 20 et 10KDa respectivement) communes entre les différents échantillons, sont les plus variables qualitativement et quantitativement et sont soit absentes ou présentes d'intensité égale ou différente par rapport à celles obtenues sur les profils des témoins et/ou des malades.

L'application des techniques d'électrophorèse monodimensionnelle nous a fourni des résultats satisfaisants mais elle reste insuffisante pour le diagnostic et la surveillance de l'athérosclérose.

En perspectives, nous envisageons à améliorer l'étude sur les protéines salivaires par l'utilisation de la techniques d'électrophorèse bidimensionnelle afin d'identifier et d'accroître encore nos possibilités de trouver un ou plusieurs protéines susceptibles d'être considérées comme des biomarqueurs de l'athérosclérose et de l'identifier en second lieu par spectrométrie de masse.



Référence bibliographique

Références bibliographique

- [1]. INGRET, M. Place d'une unité de douleur thoracique dans la filière d'urgences cardiologiques au CHU de Nancy. [En ligne] thèse de doctorat en médecine. Nancy: université de Lorraine, 2013, 190 p. Format PDF. Disponible sur « <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732575/document> » (Consulté le 28/06/2019).
- [2]. DJESSAS, H., TALBI, Y. Exploration du protéome salivaire et urinaire des patients atteints d'une maladie rénale par application des techniques d'électrophorèse. Mémoire de Master en sciences biologiques. Constantine : université des frères Mentouri, 2015, 61p.
- [3]. ABADLI, D., ELDJOU, S., ELGUECHI, A. Etude rétrospective et recherche préliminaire de biomarqueurs salivaires de la maladie cœliaque chez les enfants par application de la technique d'électrophorèse SDS-PAGE. Mémoire de Master en sciences biologiques. Constantine : université des frères Mentouri, 2018.
- [4]. EMMANUEL, S., LAURENT, D., et *al.* Biomarkers of coronary atherothrombosis: update and prospects. *La Lettre du Cardiologue* [en ligne]. 2009, p. 8-14, n° 427,9. Disponible sur « <https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/15502.pdf> » (Consulté le 23 /02/ 2019).
- [5]. CHOUIT, K., RACHED, S. L'obésité et l'athérosclérose. [En ligne] Mémoire de Master en sciences biologiques. Constantine : université des frères Mentouri, 2017, 15 p. Format PDF. Disponible sur : « <http://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/biblio/mmf/2017/L%E2%80%99ob%C3%A9sit%C3%A9%20et%20l%E2%80%99ath%C3%A9roscl%C3%A9rose.pdf> ».
- [6]. EMMERICH J, BRUNEVALL P. L'athérosclérose. Paris : John Libbey Eurotext ; 2000. 1p.
- [7]. CLEMENT, S. Athérosclérose : pathologies associées, prévention et traitements. [En Ligne] thèse de doctorat en pharmacie. Bordeaux : Université de Bordeaux U.F.R. des sciences pharmaceutiques, 2017, 12p. Format PDF. Disponible sur : «<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01626419/document> ».
- [8]. AMUYEL, P., BAUTERS, C., et *al.* Athérombose : physiopathologie, facteurs de risque, épidémiologie, données économiques. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2001, vol 94, p 697-738.

Références bibliographique

- [9]. MELLAK, S. Trafic monocytaire dans l'anévrisme de l'aorte abdominale. [En ligne] thèse de doctorat en médecine. Paris : université Paris des cardes, 2014, 16p. Format PDF. Disponible sur : « <https://docplayer.fr/39279192-Universite-paris-descartes.html> ».
- [10]. BAUDIN , B., PAUL, J.L. Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs précoces. Revue Francophone des Laboratoires, 2009 ; 409: 41-50.
- [11]. Sion Rédigé par : M. Bonvin, N. Dussex, I. Praz LES FACTEURS DE RISQUE CARDIOVASCULAIRES Hôpital du Valais (RSV) Hôpital de Sion Service de cardiologie et chirurgie cardiaque Av. du Grand-Champsec 80 1951
- [12]. Febbraio, M., Podrez, EA. Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. J Clin Invest, 2000 ;105, 1049-1056.
- [13]. Tabas, I. (Consequences and therapeutic implications of macrophage apoptosis in atherosclerosis: the importance of lesion stage and phagocytic efficiency. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005 ; vol 25, 2255-2264.
- [14]. Steinberg, D ., Witztum, JL. Is the oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis? Do the antioxidant trials conducted to date refute the hypothesis? Circulation, 2002 ;105, 2107-2111.
- [15]. Stary, HC., Chandler, AB. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Circulation, 1994 ; vol 89 ; 2462-2478.
- [16]. DOUEK, P., LAISSY, J-P., *et al.* Angiographie par résonance magnétique. Masson, Paris. 4. 2002.
- [17]. Duriez P. Mécanismes de formation de la plaque d'athérome. Rev *Med Inter* 2004 ; vol 25 Suppl1:S3-6
- [18]. BAUTERS.C. Physiopathologie de l'athérosclérose. Hôpital Cardiologique.Lille. (2000)
- [19]. Fondation pour la Recherche Médicale • numéro 94 • 2e trimestre - avril 2003 page 23.
- [20]. MENU P. Physiopathologie cardiaque.Faculté de pharmacie .université paris Sud XI (2002).
- [21]. Wilson, P.W.F., D'Agostino, R.B., Sullivan, L., Parise, H. & Kannel, W.B. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. Arch. Intern. 2002. Med 162, 1867-1872

Références bibliographique

- [23]. Biswas, A. et al. Sedentary time and its association with risk for disease incidence, mortality, and hospitalization in adults: a systematic review and meta-analysis. *Annals of Internal Medicine*, 2015 ; 162(2), p.123-132.
- [24]. FARMER JA, GOTTO AM JR. Dyslipidemia and other risks factors for coronary artery disease In Braunwald E. *Heart Disease*. Philadelphia. WB Sanders Company, (1997) : 1126-60.
- [25]. LAGROST J. F., TOUSSAINT M., CHAPMAN J., and al Pathogénèse de l'athérosclérose : théories et mécanismes L'athérosclérose physiologie,diagnostics,thérapeutique.société Française d'Athérosclérose.Masson.Paris. (2004)
- [26]. Simon, A., Megnien, J.-L. & Chironi, G., 2010. The value of carotid intima-media thickness for predicting cardiovascular risk. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 30(2), p.182-185.
- [27]. Ludwig, D.S., Peterson, K.E. & Gortmaker, S.L. Relation between consumption of sugarsweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. *Lancet* ; 2001 ; 357, 505-508.
- [28]. Fondation pour la recherche médicale dossiers, maladie cardiovasculaire <http://www.frn.org/dossiers-93.html>
- [29]. Sebastian Carballo et al, « Spécificités du diabète dans le syndrome coronarien aigu », *Rev Med Suisse* 2011;7:1200-1206
- [30]. Besse, B., Lellouche, N., Attias D. *Cardiologie & Maladies Vasculaires*. VernazobresGrego; 2005.
- [31]. Mese, H., Matsuo, R. Salivary secretion, taste and hyposalivation. *Journal of Oral Rehabilitation*. 2007. 34, p 711-723.
- [32]. AOULLAY, M., ABDELLAOUI. La plaque dentaire : élément perturbateur de l'équilibre de l'écosystème buccal in *biologie infectiologie*, 2000, pp. 61-67.
- [33]. COULYG. Anatomie topographique maxillo-faciale. *Encycl. Med. Chir.* (Paris - France), Stomatologie 1, 22001 CIO, 4.3.06, 12p.
- [34]. MAMBRINI A., Cou. *Nouveaux dossiers d'anatomie* Ed. Heures de France, 2ème éd., pp.170 – 175.
- [35]. GREGOIRE OBERLIN *Précis d'anatomie*. Tome1. 11e ed. Paris : EM Inter / Lavoisier, 2004.

Références bibliographique

- [36]. Bouacida, k ., Sahli, S .Recherche des biomarqueurs dans la salive et le sérum des patients atteints de la sclérose en plaques .mémoire.2015.constantine : université des frères Mentouri Constantine.
- [37]. Maladière, E. Vacher, C. Lezy J.-P. Débitimétrie salivaire globale. Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale 1999 ; vol. 100, n° 5, p. 226.
- [38]. ROKI CHAOUI , I . les sous mandibulectomies (apropos de 12 cas). Thèse de doctorat en médecine .2017. p42-10.
- [39]. TRIGUI, Y. Biomarqueurs de la salive et santé générale. Thèse de doctorat en chirurgie dentaire (2018). France : Université de lorraine faculté d'odontologie.
- [40]. Pellat B. Salives et milieu buccal. EMC - Médecine buccale. 2010 ; 5(4) : 1-10. [Article 28-080-A-10].
- [41]. Denny, P., Hagen, F.K ., *et al.* The proteomes of human parotid and submandibular/-sublingual gland salivas collected as the ductal secretions. Journal of Proteome Research.2008 ; 7, 1994-2006.
- [42]. Schenkels, L.C.P.M., Veerman, E.C.I. and Amerongen, A.V.N., 1995. Biochemical composition of human saliva in relation to other mucosal fluids. Critical Reviews in Oral Biology and Medicine. 6, 161-175.
- [43]. Young, J.A. and Schneyer, C.A., 1981. Composition of saliva in mammalia. Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science. 59, 1-53.
- [44]. Huq, N.L., Cross, K.J., Ung, M., Myroforidis, H., Veith, P.D., Chen, D., Stanton, D., He, H., Ward, B.R. and Reynolds, E.C., 2007. A review of the salivary proteome and peptidome and saliva-derived peptide therapeutics. International Journal of Peptide Research and Therapeutics. 13, 547-564
- [45]. Amerongen, A.V.N., Veerman, E.C.I. Saliva - the defender of the oral cavity. Oral Diseases.2002 ; vol 8 ; pp12-22.
- [46]. Scannapieco, F.A. Saliva bacterium interactions in oral microbial ecology. Critical Reviews in Oral Biology and Medicine.1994, 5, 203-248.
- [47]. Azerad J. Salivation, Physiologie de la manducation. Paris : Masson ;1992, p.69-100.
- [48]. BIOMARKERS DEFINITION WORK GROUP. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* [en ligne]. 2001, vol.69, n°3, p.89-95. Disponible sur :
« <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/m/pubmed/11240971> » (consulté le 15/ 04/2019).

Références bibliographique

[49]. CHENEVIER-GOBEAUXA, C., BILLEMONT, M., et *al.* Claessens. New biomarkers in emergency patients with sepsis and cardiovascular conditions. *Réanimation*. 2010; vol 19(7):648—654. Disponiblesur :

«<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1624069310002100?via%3Dihub>»

(consulté le 10/04/2019).

[50]. BALAGOPAL, P-B., DE FERRANTI, S-D., et *al.* Nontraditional risk factors and biomarkers for cardiovascular disease: mechanistic, research, and clinical considerations for youth: a scientific statement from the American Heart Association. 2011;123:2749-69. Disponible sur : «<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21555711>» (consulté le 02/05/2019).

[51]. LONGROIS, D., GUGLIELMINOTTI, J. Les biomarqueurs : pourquoi la « quête du Graal » est difficile?: Département d'Anesthésie-Réanimation. Assistance Publique-Hôpitaux de Paris. 2013. Disponible sur :

«[http://www.mapar.org/article/1/Communication%20MAPAR/nfm3m4lp/Les%20biomarqueurs%20:%20pourquoi%20la%20"quête%20du%20Graal"%20est%20difficile%20%3F.pdf](http://www.mapar.org/article/1/Communication%20MAPAR/nfm3m4lp/Les%20biomarqueurs%20:%20pourquoi%20la%20)»

(Consulté le 16/04/2019).

[52]. PEARSON, T-A., MENSAH, G-A., et *al.* Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Lettre en cardio*. 2003;107:499- 511.

[53]. Walte, F. Riesen. Quels marqueurs biologiques de l'athérosclérose et du risque cardiovasculaire conseiller ?. *Revue Médicale Suisse*, 2008 ; 4 : 636-43. www.revmed.ch

[54]. ROSS, R. Atherosclerosis : An inflammatory disease. *N Engl J Med*; 1999;340:115-26. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9887164>

[55]. RIDKER, PM. Evaluating novel cardiovascular risk factors : Can we better predict heart attacks ?. *Ann Int Med* ;1999;130: 933-7.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10375342>

[56]. Zhang, Y., Sun, J., Lin C-C, Abemayor E, Wang MB, Wong DTW. The emerging landscape of salivary diagnostics. *Oral Health Dent Manag*. 2014;13(2):200-10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24984623>

Références bibliographique

[57]. Eitel I., Desch, S., et al. Prognostic significance and determinants of myocardial salvage assessed by cardiovascular magnetic resonance in acute reperfused myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(22):2470–9.

<https://ccme.osu.edu/RSSeriesBrochure/19406%20-%20.pdf>

[58]. HIRTZ, C., CHEVALIER, F., RAINGEARD, I., Et al. Recherche préliminaire de marqueurs salivaires du diabète de type 1 chez l'homme. Les cahiers de l'ADF [En ligne], 2005, N°18-19-1 er trimestre. Format PDF. Disponible sur : < <http://docplayer.fr/67560553-Recherche-preliminaire-de-marqueurs-salivaires-du-diabete-type-1-chez-l-homme.html> >

[59]. LAEMMLI, U.K. Clivage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* [en ligne]. 1970, 277, p.680-685. Format PDF. Disponible sur: « <https://www.nature.com/articles/227680a0> »

[60]. SINGH, N.K., SHEPHERD, K.W., CORNISH, G.B. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science* [en ligne]. 1991, 14, p.203-208. Format PDF. Disponible sur : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521009800398>

[61]. Amouyel, P. (2005). [Cardiovascular risk factors: an update]. *La Revue du praticien*, 55(16), 1755-1763.

[62]. Moran, A., Forouzanfar, M., Sampson, U., Chugh, S., Feigin, V., & Mensah, G. (2013). The Epidemiology of Cardiovascular Diseases in Sub-Saharan Africa: The Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors 2010 Study. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 56(3), 234-239. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0033062013001722>

[63]. BÂ, A. Les cardiopathies ischémiques : étude prospective à propos de 69 cas colligés à la clinique cardiologique du CHU-Dakar. Thèse Méd. Dakar. 2002 ;11.

[64]. BERGHALOUT, L. les facteurs de risque cardiovasculaire associés à l'hypertension artérielle« A propos de 150 cas ». [En ligne] thèse de doctorat en médecine . MARRAKECH : université Cadi Ayyad faculté de médecine et de pharmacie Marrakch .2010 .

[65]. Algérie presse service [en ligne] Publié le : Mardi, 29 Mai 2018 17:10 disponible sur « <http://www.aps.dz/sante-science-technologie/74638-le-tabagisme-en-algerie-represente-un-veritable-probleme-de-sante-publique> »(consulter le 8 /5 /2019).

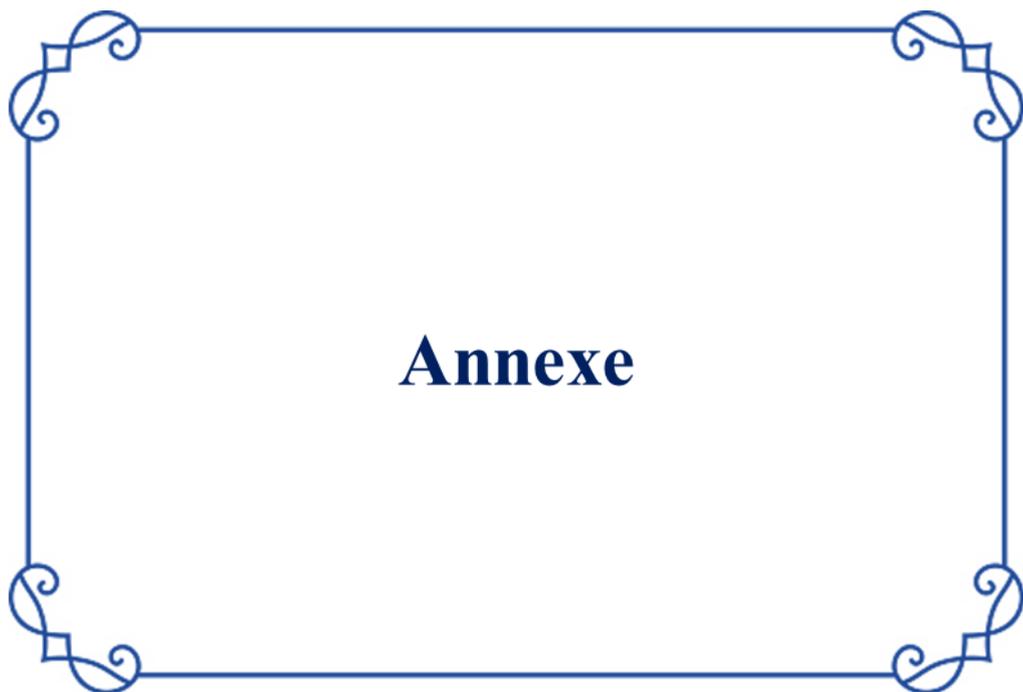
Références bibliographique

[66]. Sadeghi R, Adnani N, Erfanifar A, Gachkar L, Maghsoomi Z. Premature Coronary Heart Disease and Traditional Risk Factors-Can We Do Better? *Int Cardiovasc Res J.* juin 2013;7(2):46- 50.

[67]. HOUEHANOU SONOU, Y. Épidémiologie des facteurs de risque cardiovasculaire en population tropicale - cas du Bénin. Médecine humaine et pathologie. Thèse de doctorat en médecine. Bénin: Université de Limoges, 2015.

[68]. HEIDT, T., HENDRIK, B. Chronic variable stress activates hematopoietic stem cells, *Nature Medicine.* 2014 ; **vol** **20.** p754–758.

https://www.nature.com/articles/nm.3589?fbclid=IwAR1P9BPGs8XkrD70tzCQ521kqk2Xky_a12IUWxpkWP7JmKyKWqQXsY9iyIjI



Annexe

Annexe

Fiche clinique d'enquête sur l'état de la santé des patients atteints d'athérosclérose à l'Hôpital
Militaire Régional Universitaire de Constantine

(HMRUC)

N° de dossier de patient (e) :

Région (Wilaya) :

Nom :

Sexe : F H

Prénom :

Age :ans

-Pathologies chroniques : Diabète HTA Dyslipidémie

Autres :

-Habitude de vie et mode alimentaire :

a) Tabac : oui non

b) Alcool : oui non

c) Grignotage : oui non

d) Sédentarité : oui non

-Poids :(Kg)

- Taille : (m)

- IMC : (Kg·m⁻²)

-Taille : Maigre

Idéale

Sur poids

Obèse

- Est-ce qu'il y a des antécédents familiaux ? Oui

Non

- Devez-vous prendre des médicaments ? Oui

Non

- Avez-vous d'autres maladies ? Oui

Non

Si oui, lesquelles ?

-La durée de la découverte de la maladie :

Annexe

Listes des patients (sexe, âge, région, maladie)

Liste du gel numéro (1)

Patient	Sexe	Age (ans)	Région	Maladie
1	H	58	Sétif	IDM
2	H	31	Ain defla	IDM
3	H	37	El Tarf	IDM
4	H	34	Ain defla	IDM
5	F	63	Oum el bouaghi	IDM
6	H	52	Constantine	IDM
7	H	63	Jijel	IDM
8	H	69	Constantine	IDM
9	H	64	Mila	IDM
10	H	36	Batna	IDM
11	F	64	Collo	IDM
12	H	84	Skikda	IDM
13	H	51	Tébessa	IDM
14	H	35	Souk ahras	IDM

Liste du gel numéro (2)

Patient	Sexe	Age (ans)	Région	Maladie
1	H	66	Khenchela	FdRCV
2	F	55	Ain beida	FdRCV
3	F	47	Constantine	FdRCV
4	H	60	Bordj bou arreridj	FdRCV
5	H	73	Annaba	FdRCV
6	H	72	El Tarf	FdRCV
7	H	60	Batna	FdRCV
8	H	73	Guelma	FdRCV
9	F	54	Constantine	FdRCV
10	H	43	Guelma	FdRCV
11	H	55	Mila	FdRCV
12	H	51	Oum el bouaghi	FdRCV
13	H	25	Mostaganem	FdRCV
14	F	46	Constantine	FdRCV

Annexe

Liste du gel numéro (3)

Patient	Sexe	Age (ans)	Région	Maladie
1	H	37	El Taraf	SCA
2	H	54	Mila	AOMI
3	H	32	Guelma	« Souffle »SCA
4	H	34	El Taraf	IDM
5	H	37	Souk ahras	SCA
6	H	63	Constantine	Angor
7	H	68	Constantine	AVC
8	H	37	Batna	SCA
9	H	32	Oued souf	AVC
10	H	27	Alger	AVC
11	F	49	Médéa	AVC+AOMI
12	F	73	Tizi-Ouzou	AVC+ AOMI
13	F	23	Souk ahras	AVC

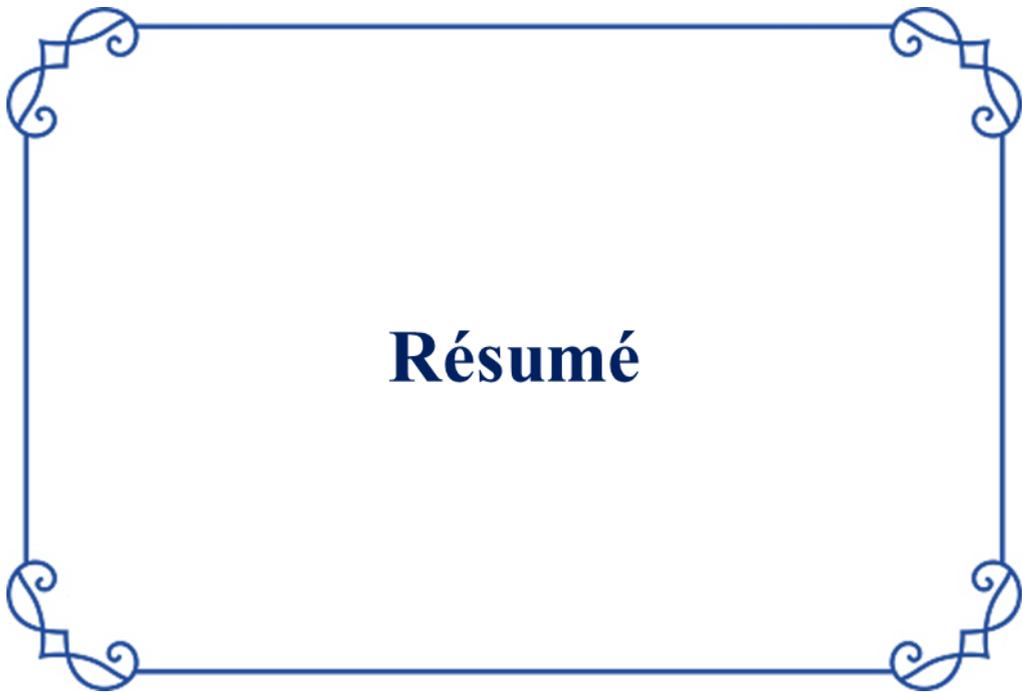
Composition des gels d'électrophorèse

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 6,8 1,7 ml
- ❖ SDS 10% 0,14 ml
- ❖ APS 1% 0,70 ml
- ❖ TEMED 0,014 ml



Résumé

Résumé

Les maladies cardiovasculaires et l'athérosclérose sont les premières causes de mortalité dans le monde et ceci débute souvent dès l'enfance, pour que les signes cliniques commencent à apparaître à un âge avancé. L'utilisation des biomarqueurs protéiques apparaît prometteuse comme outil biologique permettant de distinguer un état médical normal d'un état pathologique et notamment dans le diagnostic précoce.

L'objectif de cette étude est d'investiguer et explorer le protéome salivaire des patients atteints de l'athérosclérose par l'utilisation de la technique d'électrophorèse SDS-PAGE pour la recherche des biomarqueurs salivaires potentiels de la pathologie. Une étude statistique rétrospective sur 322 dossiers a été réalisée au service de cardiologie au niveau de HMRUC. Il a été confirmé que les facteurs de risque traditionnels de maladie cardiovasculaires, comme le sexe, l'âge, l'obésité et surpoids, la dyslipidémie, HTA, le tabagisme, les antécédents familiaux, la sédentarité, ainsi que le diabète peuvent expliquer une partie de la cause.

Pour la suite de l'étude 41 patients atteints d'athérosclérose âgés de 23 ans à 84 ans ont été recrutés pour un prélèvement salivaire. Nous avons comparé les profils électrophorétiques obtenus des protéines salivaires des sujets sains et les malades. Les protéines salivaires sont extraites dans les conditions dénaturantes et réductrices. L'analyse des gels a permis de dénombrer 17 bandes protéiques de mobilités différentes cas d'IDM, 12 bandes protéiques de mobilités différentes cas des multi-facteurs de risque et 16 bandes protéiques de mobilités différentes cas des différentes complications cliniques.

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.

Mots clés : athérosclérose, facteurs de risques cardiovasculaire, biomarqueurs, salive, électrophorèse

Summary

Cardiovascular disease and atherosclerosis are the leading causes of death in the world and this often begins in childhood, so that clinical signs begin to appear in old age. The use of protein biomarkers appears promising as a biological tool for distinguishing a normal medical state from a pathological state and especially in early diagnosis. The objective of this study is to investigate and explore the salivary proteome of patients with atherosclerosis by using the SDS-PAGE electrophoresis technique for the investigation of potential salivary biomarkers of the pathology.

A retrospective statistical study on 322 files was carried out in the cardiology department at HMRUC. It has been confirmed that traditional risk factors for cardiovascular disease, such as sex, age, obesity and overweight, dyslipidemia, high blood pressure, smoking, family history, sedentary lifestyle, as well as diabetes can explain part of the cause.

For the rest of the study 41 patients with atherosclerosis aged 23 to 84 years were recruited for salivary sampling. We compared electrophoretic profiles obtained from salivary proteins of healthy subjects and patients. Salivary proteins are extracted under denaturing and reducing conditions. The analysis of the gels allowed to count 17 protein bands of mobilities different cases of IDM, 12 protein bands of different mobilities cases of multi-risk factors and 16 protein bands of different mobilities cases of different clinical complications of atherosclerosis.

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 individuals 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 both in the field of diagnosis and in the follow-up of the disease.

Key words: atherosclerosis, cardiovascular risk factors, biomarkers, saliva, electrophoresis.

أمراض القلب والأوعية الدموية وتصلب الشرايين هي الأسباب الرئيسية للوفاة في العالم ، وهذا غالبا ما يبدأ في مرحلة الطفولة ، بحيث تبدأ العلامات السريرية في الظهور في سن الشيخوخة. يبدو استخدام العلامات الحيوية للبروتين واعداد كأداة بيولوجية للتمييز بين الحالة الطبيعية الطبيعية والحالة المرضية وخاصة في التشخيص المبكر. الهدف من هذه الدراسة هو استكشاف البروتينات اللعابية للمرضى الذين يعانون من تصلب الشرايين باستخدام تقنية الرحلان الكهربائي أحادي البعد للتحقيق في المؤشرات الحيوية اللعابية المحتملة لعلم الأمراض.

أجريت دراسة إحصائية بأثر رجعي على 322 ملف في قسم أمراض القلب على مستوى المستشفى العسكري الإقليمي قسنطينة. لقد تم التأكيد على أن عوامل الخطر التقليدية لأمراض القلب والأوعية الدموية، مثل الجنس والعمر والسمنة وزيادة الوزن، اضطراب شحوم الدم، ارتفاع ضغط الدم، التدخين، تاريخ الأسرة، نمط الحياة المستقرة، وكذلك مرض السكري يمكن أن يفسر جزء من السبب.

بالنسبة لبقية الدراسة، تم تجنيد 41 مريضاً مصابين بتصلب الشرايين تتراوح أعمارهم بين 23 و 84 عامًا لأخذ عينات من اللعاب. قارنا نتائج الهجرة الكهربائية للبروتينات التي تم الحصول عليها من البروتينات اللعابية من الموضوعات الصحية والمرضى. يتم استخراج البروتينات اللعابية في شروط مرجعة، مغيرة للحالة الطبيعية. جعل تحليل المواد الهلامية من الممكن حساب 17 شريط بروتيني من الهجرات الكهربائية المختلفة في حالة احتشاء عضلة القلب ، 12 شريط بروتيني من الهجرات الكهربائية المختلفة في حالة تعدد عوامل الخط و 16 شريط بروتيني من الهجرات الكهربائية المختلفة في حالة المضاعفات المختلفة لتصلب الشرايين. من أجل تقدير تنوع هذه البروتينات اللعابية عدديًا، تم إجراء دراسة إحصائية عن طريق حساب الترددات، مؤشر التشابه، أيضا عن طريق إنشاء مخططات قياسية من أجل تقدير عدد هذه البروتينات اللعابية عدديًا ، أجريت دراسة إحصائية عن طريق حساب الترددات ، ومؤشر التشابه ، وأيضًا من خلال إنشاء مخططات قياسية وتصنيف هرمي للأفراد وفقًا لتكوين البروتينات اللعابية.

وضحت هذه النتائج التركيبية البروتينات اللعابية الأولية بروتينات لعابية خاصة و/ أو متغيرة التي يمكن اعتبارها مؤشر لدراسة المرض، تفتح مجالات جديدة في كل من التشخيص ومتابعة المرض.

الكلمات المفتاحية: تصلب الشرايين ، عوامل الخطر القلبية الوعائية ، المؤشرات الحيوية ، اللعاب ، الرحلان الكهربائي.

Année universitaire : 2018/2019

Présenté par : BOUCHEMAL Saoussen

DJENIBA Soundous Amani

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

Thème : Etude rétrospective et recherche préliminaire de biomarqueurs de l'athérosclérose dans la salive humaine par SDS-PAGE

Résumé

Les maladies cardiovasculaires et l'athérosclérose sont les premières causes de mortalité dans le monde et ceci débute souvent dès l'enfance, pour que les signes cliniques commencent à apparaître à un âge avancé. L'utilisation des biomarqueurs protéiques apparaît prometteuse comme outil biologique permettant de distinguer un état médical normal d'un état pathologique et notamment dans le diagnostic précoce.

L'objectif de cette étude est d'investiguer et explorer le protéome salivaire des patients atteints de l'athérosclérose par l'utilisation de la technique d'électrophorèse SDS-PAGE pour la recherche des biomarqueurs salivaires potentiels de la pathologie.

Une étude statistique rétrospective sur 322 dossiers a été réalisée au service de cardiologie au niveau de HMRUC. Il a été confirmé que les facteurs de risque traditionnels de maladie cardiovasculaires, comme le sexe, l'âge, l'obésité et surpoids, la dyslipidémie, HTA, le tabagisme, les antécédents familiaux, la sédentarité, ainsi que le diabète peuvent expliquer une partie de la cause. Pour la suite de l'étude 41 patients atteints d'athérosclérose âgés de 23 ans à 84 ans ont été recrutés pour un prélèvement salivaire. Nous avons comparé les profils électrophorétiques obtenus des protéines salivaires des sujets sains et les malades. Les protéines salivaires sont extraites dans les conditions dénaturantes et réductrices. L'analyse des gels a permis de dénombrer 17 bandes protéiques de mobilités différentes cas d'IDM, 12 bandes protéiques de mobilités différentes cas des multi-facteurs de risque et 16 bandes protéiques de mobilités différentes cas des différentes complications cliniques.

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.

Mots clés : athérosclérose, facteurs de risques cardiovasculaire, biomarqueurs, salive, électrophorèse

Jury d'évaluation :

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

Encadreur : Dr. BELIL.Ines (UFMC1)

Examineur : Dr. MERGHIT Rachid (HMRUC)

