

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



Université des frères Mentouri Constantine  
Faculté des sciences de la nature et de la vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 01  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie animale

قسم : بيولوجيا الحيوان

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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Génétique Moléculaire**

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Association du polymorphisme I/D de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) et la maladie d'Alzheimer dans une population Constantinoise**

**Présenté et soutenu par : REDJAIMA FATIMA**

**Le 15/10/2020**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** REZGOUN Mohamed Larbi (MC-A - Université Frères Mentouri, Constantine)

**Rapporteur :** Ouldjaoui Ahmed Prof. UNIVERSITE DE CONSTANTINE 3

**Examineur :** BOUDEKHANE Ibtissem (MA-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire 2019 – 2020**

## REMERCIEMENTS

*Je tiens à remercier très sincèrement Monsieur, le Professeur Ouldjaoui Ahmed, mon directeur de thèse. Par sa disponibilité, sa gentillesse et le degré d'humanisme dont il fait preuve, il s'est impliqué avec enthousiasme et esprit de responsabilité à tous les niveaux de conception des travaux de recherche qui ont abouti à la rédaction de cette thèse. Également, le Professeur Abadi Noureddine le directeur du laboratoire de Génétique et Biologie moléculaire au CHUC, pour m'avoir accueilli dans son équipe.*

*Pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'avoir acceptés d'être président et rapporteur de ce mémoire, je tiens à remercier les Professeurs Abadi Noureddine et Khodja Djamel. Je vous remercie pour tous les conseils forts utiles que vous m'avez prodigués pour la clarté du document final. Que vous ayez accepté de siéger dans le jury de cette thèse est pour moi un honneur. Trouvez ici le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.*

*Je remercie chaleureusement les Professeurs Sifi Karima service de biochimie et Sifi Yamina service de neurologie pour leurs disponibilités, leurs gentillesse malgré leurs multiples tâches pour m'avoir accompagné tout au long de ces travaux dans la conduite et l'analyse des données. Elles se sont impliquées dans la validation des résultats et des techniques. Qu'elle trouve ici, l'expression de ma gratitude et de ma reconnaissance.*

*J'adresse un remerciement tout particulier à tout le personnel du laboratoire de Génétique et Biologie moléculaire au CHUC, et en particulier à ceux qui travaillent sur l'extraction d'ADN et la technique de la PCR.*

## **Dédicace**

**A ma très chère mère [yamina]**

**Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit, ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles**

**A mon très cher père [ALI]**

**Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager que ce travail traduit ma gratitude et mon affection**

**A mes frères [Zidane et Noureddine]**

**A ma soeur [warda]**

**Pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études**

**A mes chère amies [keidia ABD HALIM et AYA]**

**Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles**

## **Résumé**

Le polymorphisme d'insertion/délétion (I/D ou indel) du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) a longtemps été lié à la maladie d'Alzheimer (MA), mais l'interprétation des données établies reste controversée. Le but de cette étude était de déterminer si l'enzyme de conversion de l'angiotensine est associée au risque de développer la maladie d'Alzheimer chez des sujets en Algérie.

## **Méthode**

Nous avons analysé le génotype et la distribution des fréquences allèles du polymorphisme du gène ACE I/D chez 20 patients atteints de MA et 40 cas témoins.

## **Résultat**

Notre étude a porté sur 40 cas témoins et 20 patients présentant la maladie d'Alzheimer.

Chez les témoins les fréquences génotypiques du polymorphisme I/D du gène de l'ACE étaient comme suit : 40% sont hétérozygotes ID, 50% sont homozygotes DD et 10% sont des homozygotes II.

Chez les sujets MA, Nous avons donc remarqué que le génotype dominant est le génotype hétérozygote ID avec un taux de 50% alors que le génotype homozygote DD présente une fréquence de 30% et une fréquence de 20% pour le génotype homozygote II.

## **Conclusion**

Le génotype D/D et l'allèle D du polymorphisme ACE I/D étaient associés à un risque accru de développer la MA dans une population Algérienne. De plus, au moment de l'évaluation des patients (âge moyen de 75 ans), les patients atteints de démence sévère étaient principalement retrouvés chez les porteurs D/D et, à l'inverse, le génotype D/D et l'allèle D étaient plus fréquemment retrouvés chez les patients atteints de MA. Ces résultats exploratoires préliminaires devraient être confirmés dans des études plus larges et des travaux supplémentaires sont nécessaires pour explorer et interpréter les résultats alternatifs possibles dans diverses populations.

**Mots clés :** Maladie d'Alzheimer, ACE, polymorphisme I/D du gène de l'ACE.

## **Abstract**

The angiotensin-converting enzyme gene (ACE) insertion/deletion (I/D or indel) polymorphism has long been linked to Alzheimer's disease (AD), but the interpretation of established data remains controversial. The aim of this study was to determine whether the angiotensin-converting enzyme is associated with the risk of Alzheimer's disease in Algerian patients.

## **Methods**

We analyzed the genotype and allele frequency distribution of the ACE I/D gene polymorphism in 20 Algerian AD patients and 40 healthy controls.

## **Results**

Our study involved 40 witnesses and 20 patients with Alzheimer's disease. In the controls the genotypic frequencies of the I/D polymorphism of the ACE gene were as follows: 40% are ID heterozygotes, 50% are DD homozygotes and 10% are II homozygotes.

In patients, we therefore noticed that the dominant genotype is the heterozygous genotype ID with a rate of 50% while the homozygous DD genotype is 30% and a frequency of 20% for genotype II.

## **Conclusions**

The D/D genotype and D allele of the ACE I/D polymorphism were associated with an increased risk in the development of AD in an Algerian population. Furthermore, at the time of patient evaluation (average age 75 years), patients suffering with severe dementia were found predominantly in D/D carriers and, conversely, the D/D genotype and D allele were more frequently found in AD patients with severe dementia. These preliminary exploratory results should be confirmed in larger studies and further work is required to explore and interpret possible alternative findings in diverse populations.

**Keywords :** Alzheimer's disease, ACE, Angiotensin-converting enzyme gene.

## ملخص

نظالما ارتبط إدخال / حذف جين الإنزيم المحول للأنجيوتنسين (I/D) (ACE) أو (indel) بمرض الزهايمر (AD) ، لكن تفسير البيانات المؤكدة لا يزال مثيراً للجدل. كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد ما إذا كان الإنزيم المحول للأنجيوتنسين مرتبطاً بخطر الإصابة بمرض الزهايمر لدى المرضى الجزائريين.

## الطريقة

قمنا بتحليل التركيب الجيني وتوزيع تردد الأليل لتعدد الأشكال الجيني ACE I/D في 20 مريضاً جزائرياً و 40 عنصر تحكم سليم.

## النتيجة

تضمنت دراستنا 40 شاهداً و 20 مريضاً يعانون من مرض الزهايمر. في عناصر التحكم ، كانت الترددات الوراثية لتعدد الأشكال I/D لجين ACE على النحو التالي: 40 ٪ هي زيغوت متغاير الزيغوت ، و 50 ٪ متماثلة الزيغوت DD و 10 ٪ متماثلة الزيغوت II. لذلك لاحظنا في المرضى أن النمط الجيني السائد هو معرف النمط الوراثي متغاير الزيغوت بمعدل 50٪ بينما يكون النمط الوراثي DD متماثل للواقع 30٪ وتكرار 20٪ للنمط الجيني الثاني.

## الخاتمة

ارتبط النمط الجيني D/D وأليل D لتعدد الأشكال ACE I/D بزيادة مخاطر الإصابة بمرض الزهايمر في السكان الجزائريين. علاوة على ذلك ، في وقت تقييم المريض (متوسط العمر 75 عاماً) ، تم العثور على المرضى الذين يعانون من الخرف الشديد في الغالب في ناقلات D/D ، وعلى العكس من ذلك ، تم العثور على النمط الجيني D/D وأليل D بشكل متكرر في مرضى الزهايمر المصابين بالخرف الشديد. يجب تأكيد هذه النتائج الاستكشافية الأولية في دراسات أكبر وهناك حاجة إلى مزيد من العمل لاستكشاف وتفسير النتائج البديلة المحتملة في مجموعات سكانية متنوعة.

## الكلمات الرئيسية

مرض الزهايمر ، الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ، جين الإنزيم المحول للأنجيوتنسين.

## Liste des abréviations

**A $\beta$**  : amyloid  $\beta$  peptid

**ACH** : acétylcholine

**ANG** : angiotensine II

**APOE** : Apolipoprotéine E

**APP** : amyloid protein precursor

**sAPP** : forme sécrétée de l'APP

**BBP** : Bleu de bromophénol

**BET** : Bromure d'ethidium

**Bp** : paire de base

**DNF** : dégénérescences neurofibrillaires

**DO** : Densité optique

**ECA** : Enzyme de conversion de l'angiotensine

**EDTA** : Ethylene diamine tetra-acetic acid

**EOAD** : Early onset Alzheimer diseases

**I/D** : Insertion/Déletion

**LOAD** : Late onset Alzheimer diseases

**MA** : Maladie d'Alzheimer

**MMSE** : Mini Mental state examination

**MTHFR** : La 5, 10-méthylène tétrahydrofolate réductase

**NCBI** : National centre for Biotechnologie information

**OR** : odds ratio

**PbA** : La protéine  $\beta$ -amyloïde

**PS** : plaques séniles

**SDS** : Sodium dodecyl sulfate

**Tau** : tubule associated unit

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Amorces utilisées pour l'amplification du gène ECA	46
<b>Tableau II</b> : Les quantités de chaque constituant du milieu réactionnel de la PCR	47
<b>Tableau III</b> : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio	49
<b>Tableau IV</b> : Répartition des sujets selon la pathologie et le sexe	52
<b>Tableau V</b> : Répartition des malades et témoins par tranche d'âge	53
<b>Tableau VI</b> : Moyennes d'âge dans les groupes malades et témoins	53
<b>Tableau VII</b> : Evaluation du statut cognitif et du stade de la démence	55
<b>Tableau VIII</b> : Représentant le nombre et le % des malades selon leur niveau d'étude	55
<b>Tableau IX</b> : Fréquence des traumatismes crâniens chez les malades et les témoins	56
<b>Tableau X</b> : Fréquence de la dépression chez les malades et les témoins	57
<b>Tableau XI</b> : Fréquence des fumeurs et alcooliques chez les malades et les témoins	59
<b>Tableau XII</b> : Fréquence du diabète chez les malades et les témoins	60
<b>Tableau XIII</b> : Fréquence de l'HTA chez les malades et les témoins	61
<b>Tableau XIV</b> : Fréquence de l'obésité chez les malades et les témoins	62
<b>Tableau XV</b> : Répartition des fréquences génotypiques du gène ECA dans les deux groupes	63
<b>Tableau XVI</b> : Fréquences alléliques de l'ECA dans les deux groupes	63
<b>Tableau XVII</b> : Fréquences génotypiques au locus ACE I/D dans les groupes MA et témoins	64
<b>Tableau XVIII</b> : Fréquences alléliques au locus ACE I/D dans les groupes MA et témoins	65
<b>Tableau XIX</b> : Activité moyenne de l'ECA plasmatique de différents génotypes d'ECA chez les patients atteints de MA	65



## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Structure de la protéine APP	<b>17</b>
<b>Figure 02</b> : Les plaques séniles avec coloration classique	<b>29</b>
<b>Figure 03</b> : les deux voies métaboliques principales de la protéine précurseur de l'amyloïde	<b>29</b>
<b>Figure 04</b> : les dégénérescences neurofibrillaires avec coloration classique	<b>30</b>
<b>Figure 05</b> : Schéma illustratif du double rôle de la neuroinflammation dans la MA	<b>31</b>
<b>Figure 06</b> : formation du complexe d'attaque membranaire d- Monoxyde d'azote	<b>33</b>
<b>Figure 07</b> : Le système Rénine Angiotensine	<b>34</b>
<b>Figure 08</b> : Synthèse de l'Angiotensine I par la rénine	<b>36</b>
<b>Figure 09</b> : Synthèse de L'Angiotensine II par l'ECA	<b>36</b>
<b>Figure 10</b> : Structure de l'ECA	<b>37</b>
<b>Figure 11</b> : Locus du gène de l'ECA	<b>39</b>
<b>Figure 12</b> : Polymorphisme génétique de l'ECA	<b>40</b>
<b>Figure 13</b> : Électrophorèse des produits amplifiés par PCR du polymorphisme du gène ACE (I/D) sur gel d'agarose 2%	<b>48</b>
<b>Figure14</b> : Le logiciel « statistiques médicale et épidémiologiques »	<b>50</b>

## Sommaire

<b>Remerciements</b>	<b>2</b>
<b>Dédicace</b>	<b>3</b>
<b>Résumé</b>	<b>4</b>
<b>Abstract</b>	<b>5</b>
<b>ملخص</b>	<b>6</b>
<b>Liste des abréviations</b>	<b>7</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>8</b>
<b>Liste des figures</b>	<b>9</b>
<b>Introduction générale</b>	<b>14</b>
<b>Chapitre I : Rappels bibliographiques</b>	<b>15</b>
<b>I. La maladie d'Alzheimer</b>	<b>16</b>
<b>I. 1. Introduction</b>	<b>16</b>
<b>I. 2. Causes et facteurs de risques</b>	<b>16</b>
<b>I. 2. 1. Prédisposition génétique à la MA</b>	<b>16</b>
<b>I. 2. 1. 1. Gènes impliqués dans la forme familiales de la MA</b>	<b>16</b>
<b>I. 2. 1. 2. Gènes impliqués dans la forme sporadique de la MA</b>	<b>19</b>
<b>I. 2. 2. Facteurs environnementaux</b>	<b>27</b>
<b>I. 2. 2. 1. Facteurs de risques</b>	<b>27</b>
<b>I. 2. 2. 2. Facteurs protecteurs</b>	<b>27</b>
<b>I. 2. 2. 3. Diagnostic de la MA</b>	<b>27</b>
<b>I. 2. 2. 3. 1. Les examens cliniques</b>	<b>28</b>
<b>I. 2. 2. 3. 2. Les examens biologiques</b>	<b>28</b>
<b>I. 2. 2. 4. Le traitement</b>	<b>28</b>
<b>I. 2. 2. 5. La physiopathologie de la maladie d'Alzheimer</b>	<b>28</b>
<b>I. 2. 2. 5. 1. Les plaques séniles</b>	<b>28</b>

<b>I. 2. 2. 5. 2. Les enchevêtrements neurofibrillaires</b>	<b>30</b>
<b>I. 2. 2. 5. 3. Atteinte du système des neurotransmetteurs</b>	<b>30</b>
<b>I. 2. 2. 5. 4. Le stress oxydatif</b>	<b>31</b>
<b>I. 2. 2. 5. 5. La neuroinflammation</b>	<b>31</b>
<b>I. 2. 2. 5. 5. 1. Les cellules impliquées dans la neuroinflammation</b>	<b>32</b>
<b>I. 2. 2. 5. 5. 2. Les médiateurs moléculaires de la neuroinflammation</b>	<b>32</b>
<b>I. 2. 2. 6. Enzyme de conversion de L'Angiotensine (ECA)</b>	<b>34</b>
<b>I. 2. 2. 6. 1. Le système Rénine Angiotensine (SRA)</b>	<b>34</b>
<b>I. 2. 2. 6. 2. La Rénine</b>	<b>35</b>
<b>I. 2. 2. 6. 3. L'Angiotensinogène</b>	<b>35</b>
<b>I. 2. 2. 7. Les Angiotensines</b>	<b>35</b>
<b>I. 2. 2. 7. 1. L'Angiotensine I</b>	<b>35</b>
<b>I. 2. 2. 7. 2. L'Angiotensine II</b>	<b>36</b>
<b>I. 2. 2. 8. L'enzyme de conversion de l'Angiotensine (ECA)</b>	<b>36</b>
<b>I. 2. 2. 8. 1. La protéine de l'ECA</b>	<b>36</b>
<b>I. 2. 2. 8. 2. Structure de l'ECA</b>	<b>37</b>
<b>I. 2. 2. 8. 3. La Fonction et le rôle de l'ECA</b>	<b>38</b>
<b>I. 2. 2. 8. 4. Gène de l'ECA</b>	<b>38</b>
<b>I. 2. 2. 9. Polymorphisme du gène ECA dans la maladie d'Alzheimer</b>	<b>39</b>
<b>I. 2. 2. 9. 1. Polymorphisme génétique de l'ECA</b>	<b>39</b>
<b>I. 2. 2. 9. 2. Corrélation phénotype-génotype</b>	<b>40</b>
<b>I. 2. 2. 9. 3. Association du polymorphisme I/D de l'ECA à la maladie d'Alzheimer</b>	<b>41</b>
<b>Chapitre II : Patients et méthodes</b>	<b>43</b>
<b>Patients et Méthodes</b>	<b>44</b>
<b>II. 1. Patients</b>	<b>44</b>

<b>II. 1. 1. Populations étudiées</b>	<b>44</b>
<b>II. 1. 2. Recrutement</b>	<b>44</b>
<b>II. 1. 3. Critères diagnostics clinico-biologiques</b>	<b>44</b>
<b>II. 1. 4. Critères d'inclusion et d'exclusion</b>	<b>44</b>
<b>II. 2. Méthodes</b>	<b>45</b>
<b>II. 2. 1. Questionnaire</b>	<b>45</b>
<b>II. 2. 2. Le prélèvement sanguin</b>	<b>45</b>
<b>II. 3. Etude Moléculaire</b>	<b>45</b>
<b>II. 3. 1. Extraction de l'ADN</b>	<b>45</b>
<b>II. 3. 2. Génotypage de l'ECA</b>	<b>46</b>
<b>II. 3. 2. 1. La PCR (Polymerase Chain Reaction)</b>	<b>46</b>
<b>II. 4. Analyses statistiques</b>	<b>49</b>
<b>Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	<b>51</b>
<b>II. 1.1. Répartition des témoins et de patient selon le sexe</b>	<b>52</b>
<b>II. 1. 2. Répartition de la population selon le génotype</b>	<b>53</b>
<b>II. 1. 3. MMSE, évaluation du statut cognitif et du stade de la démence</b>	<b>54</b>
<b>II. 1. 4. Etude des autres facteurs de risque</b>	<b>55</b>
<b>II. 1. 4. 1. Le niveau d'étude</b>	<b>55</b>
<b>II. 1. 4. 2. Les traumatismes crâniens</b>	<b>56</b>
<b>II. 1. 4. 3. Dépression</b>	<b>57</b>
<b>II. 1. 4. 4. Etude des autres facteurs de risque vasculaires dans la MA</b>	<b>57</b>
<b>II. 1. 4. 4. 1. Le tabagisme et l'alcool</b>	<b>59</b>
<b>II. 1. 4. 4. 1. 1. Le tabagisme</b>	<b>59</b>
<b>II. 1. 4. 4. 1. 2. Alcool</b>	<b>59</b>
<b>II. 1. 4. 4. 2. Le diabète</b>	<b>60</b>
<b>II. 1. 4. 4. 3. L'hypertension artérielle (HTA)</b>	<b>61</b>

<b>II. 1. 4. 4. 4. L'obésité</b>	<b>62</b>
<b>II. 2. Étude moléculaire de la population d'étude</b>	<b>63</b>
<b>II. 2. 1. Répartition des fréquences génotypiques du gène ECA</b>	<b>63</b>
<b>II. 3. Analyse génétique</b>	<b>64</b>
<b>Conclusion</b>	<b>66</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>67</b>
<b>Annexes</b>	<b>84</b>

## **INTRODUCTION**

La maladie d'Alzheimer (MA), la cause la plus fréquente de démence chez les personnes âgées, est une maladie dégénérative qui engendre un déclin progressif et irréversible des facultés cognitives et de la mémoire [Fischer et al., 2008].

En raison du vieillissement de la population et de l'allongement de l'espérance de vie, la MA est devenue un problème majeur de santé publique. Son coût global pour la société, déjà très élevé, ne devrait cesser de s'alourdir car sa prévalence croît d'une manière exponentielle avec l'âge [Brookmeyer et al., 2007].

Bien que la forme sporadique de la MA soit la plus répandue, avec un âge d'apparition tardif (65ans), il existe une forme familiale rare, caractérisée par un âge d'apparition précoce et une évolution rapide [Campion et al., 1999].

Etant une maladie multifactorielle très hétérogène, la physiopathologie de la MA est considérée comme étant très complexe, reliant des caractéristiques biochimiques et immunologiques. Cependant son élément déclencheur demeure inconnu à ce jour. Plusieurs hypothèses ont été émises, dans le but d'expliquer l'origine de la MA, parmi celles-ci : L'hypothèse amyloïdogénique et l'hypothèse inflammatoire. Cette dernière repose sur le fait que la neuroinflammation soit l'élément déclencheur des différents processus caractéristiques de la MA [Meraz-Rios et al., 2013 ; Cameron & Landreth, 2010].

L'Enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) est un composant important du Système Rénine Angiotensine, qui peut convertir l'angiotensine I (Ang I) en un peptide actif appelé l'angiotensine II (Ang II). Les actions d'Ang II au sein du système nerveux central sont également d'intérêt croissant dans le contexte de la maladie d'Alzheimer.

La découverte de polymorphisme I/D du gène *ECA* a été rapportée pour la première fois par [Rigat *et al.*, 1990]. Par conséquent, dans les explications de la pathogenèse, le polymorphisme ACE I/D devient une considération importante comme facteur de risque de la sensibilité à la MA.

A cause de ces diverses actions de l'ACE, les associations potentielles avec la MA ont été examinées dans un grand nombre d'études dans le monde mais ont généré des résultats équivoques [Lehmann DJ et al., 2005 ; Wang XB et al., 2014 ; Wang XB et al., 2015].

Dans cette étude nous avons assignés comme objectifs d'explorer la possibilité d'association entre le polymorphisme de l'ECA et la maladie d'Alzheimer.

Nous avons entrepris une étude cas/témoins, portant sur 60 sujets, dans le but de déterminer les différentes fréquences génotypiques et alléliques du polymorphisme I/D de L'ECA dans la maladie d'Alzheimer.

*CHAPITRE I*

***RAPPELS***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***

## **I. La maladie d'Alzheimer**

### **I.1. Introduction**

La maladie d'Alzheimer (MA), la cause la plus fréquente de démence chez les personnes âgées, est une maladie neurodégénérative caractérisée par la perte progressive et irréversible de la mémoire et des fonctions cognitives [Delacourte, 2006 ; Fischer et al., 2008]. Elle fut initialement décrite par le psychiatre Allemand Alois Alzheimer en 1906 [Berchtold et Cotman., 1998].

Le nombre de personnes atteintes de la MA, en 2006, était de 26,6 millions. Ce nombre pourrait quadrupler d'ici 2050 [Brookmeyer et al., 2007]. La prévalence peut varier de 5,8% chez les personnes âgées de 65 ans, elle double tous les quatre ans pour atteindre 25% à l'âge de 80 ans [Lobo et al., 2000]. La plus forte prévalence est féminine [Kawas et al., 2000].

La MA se présente sous deux formes :

1 - Une forme familiale qui représente moins de 5% des cas [Campion et al., 1999], causée par une mutation qui survient sur l'un des trois gènes suivants: le gène de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP), le gène de la Préséniline 1 (PSEN1), le gène de la Préséniline 2 (PSEN2). Dans ces formes, la maladie ségrège selon le mode autosomique dominant [Goate et al., 1991; Levy-Lahad et al., 1995 ].

2 - Une forme sporadique c'est la forme la plus courante. Elle représente 95% des cas de la MA [Campion et al., 1999]. De nombreux facteurs génétiques et environnementaux y sont impliqués dont l'âge, l'alimentation, le gène de l'ApoE [Hall et al., 2006].

### **I.2. Causes et facteurs de risque de la MA**

L'étiologie de la MA est complexe et hétérogène, toutefois il est clairement établi que l'âge constitue le premier facteur de risque de survenue de la maladie, mais il n'est cependant pas l'unique paramètre à considérer. En effet, l'âge auquel les premières manifestations cliniques de la MA apparaissent sont conditionnées par la présence conjointes de facteurs génétiques et environnementaux.

#### **I.2.1. Predisposition génétique à la maladie d'Alzheimer**

La génétique est considérée comme étant le second facteur de risque, après le vieillissement, de développer la MA [Gatz et al., 2006].

Deux catégories de facteurs génétiques sont toutefois à considérer. On distingue d'une part des mutations sur les gènes impliqués dans la forme familiale de MA et d'autre part des mutations sur les gènes de prédisposition à la forme sporadique de la MA.

##### **I.2.1.1. Gènes impliqués dans la forme familiale de la maladie d'Alzheimer**

Les gènes impliqués dans la genèse de la MA ont été identifiés grâce à des études d'analyse de liaison génétique et au clonage positionnel effectués au sein de familles contenant de multiples cas de MA. Des mutations majoritairement faux-sens ont été répertoriés sur le gène de la



Préséniline 1 (PSEN1), le gène de la Préséniline 2 (PSEN2), et le gène de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP).

Ces mutations sont causales de la MA et suivent un mode de transmission autosomique dominant à pénétrance complète [Govaerts et al., 2007].

### a- Le gène de l'APP

Le gène de l'APP fut le premier gène identifié intervenant dans les formes autosomiques dominantes de la MA familiale. Il se situe sur le bras long du chromosome 21 et comporte 19 exons qui codent pour une protéine transmembranaire, dont la forme la plus longue comporte 770 acides aminés contenant la séquence correspondant au peptide A $\beta$  (figure 05).

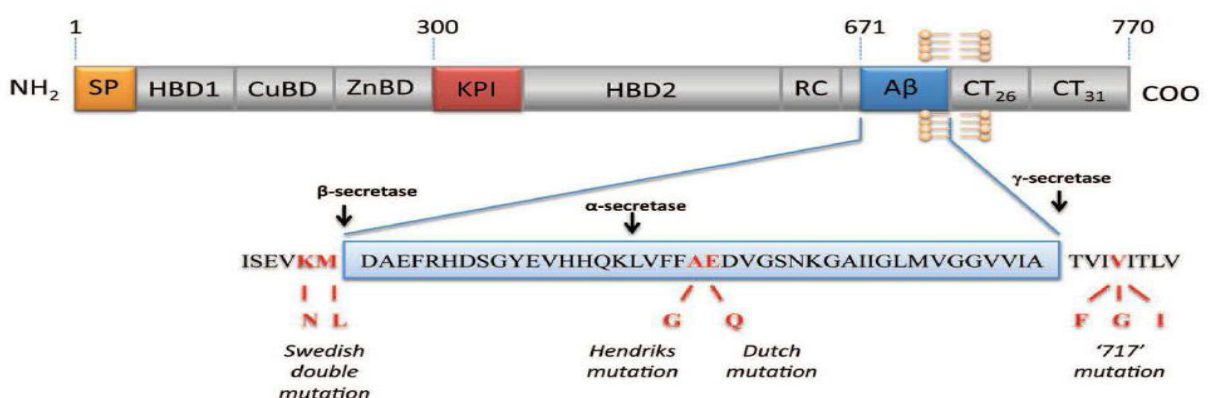
Les recherches se sont focalisés sur le chromosome 21 en raison de la forte prévalence de la MA chez les personnes atteintes du Syndrome de Down (SD), également appelé trisomie 21.

Plus de 30 mutations responsable de l'apparition d'une forme familiale de la MA ont été répertoriées dans le gène codant pour la protéine APP (à proximité des exons 16 et 17 qui codent pour le peptide A $\beta$ ). Il s'agit principalement de mutations faux-sens qui interviennent pour la plupart près du site de clivage des  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ -sécrétases [Bagyinszky et al., 2014].

Les mutations à proximité du site de clivage par la  $\alpha$ -sécrétase (Glu693Gly, Glu693del, Glu693Lys, Asp694Asn) pourraient changer le processing de l'APP, diminuer l'efficacité de l'activité  $\alpha$ -sécrétase, favorisant ainsi la voie amyloïdogénique ainsi qu'elles pourraient augmenter la capacité d'oligomérisation du peptide A $\beta$  [Nilsberth et al., 2001 ; Miravalle et al., 2000].

Les mutations situées à proximité du site de clivage par la  $\beta$ -sécrétase induisent plutôt une augmentation de la production totale du peptide A $\beta$  (figure 05) [Citron et al., 1992]. Les mutations à proximité du site de clivage de la  $\gamma$ -sécrétase, entre les résidus 714 à 717, conduisent à une augmentation du rapport A $\beta$ 42/A $\beta$ 40 soit en favorisant la production du peptide A $\beta$ 42, soit en diminuant celle du peptide A $\beta$ 40 [De Jonghe et al., 2001].

L'augmentation de ce rapport pourrait induire le processus de fibrillogénèse et la formation des plaques caractéristiques de la MA [Xia et al., 1997].



**Figure 01** : Structure de la protéine APP (Checler et al., 2002)

L'APP est une protéine transmembranaire ayant un domaine extracellulaire sphérique. Les segments extracellulaires sont illustrés en bleu. La partie transmembranaire est composée

essentiellement d'une séquence codant le peptide A $\beta$  (rouge). Les AA composant le peptide A $\beta$  et les régions de clivage de l'APP sont montrés en incluant la position et l'AA impliqué dans les différentes mutations de l'APP [Zhou *et al.*, 2011].

### **b- Gène de la Préséniline 1**

En 1995, un nouveau gène fut identifié et associé au développement d'une forme familiale de la MA, et en raison du caractère précoce des manifestations de la maladie au sein de 120 familles, ce gène a été appelé Préséniline 1 (PSEN1) [Sherrington *et al.*, 1995].

Le gène de la PSEN1 est composé de 12 exons dont 10 sont codants (exons 3-12). Le cadre de lecture code une protéine de 467 AA comportant 7 domaines transmembranaires [Lendon *et al.*, 1997 ; Kovacs *et al.*, 1996]. Cette protéine est transcrite dans le système nerveux central, essentiellement dans les neurones où elle se retrouve dans le corps cellulaire, les dendrites et les cellules gliales ; elle appartient à des complexes gamma-sécrétase, lesquels participent à la synthèse du peptide amyloïde par le clivage de l'APP [De Strooper, 2003].

A ce jour, 185 mutations de PSEN1 ont été identifiées chez plus de 400 familles, faisant de PSEN1 la cause principale des formes familiales de la MA (près de 80%). Les mutations retrouvées sur ce gène sont principalement des substitutions ou de petites insertions/délétions [Sherrington *et al.*, 1995 ; Rogaev *et al.*, 1995].

Il en résulte une perte d'activité plus ou moins sévère du complexe  $\gamma$ -sécrétase, favorisant la libération du peptide A $\beta$ 42 au détriment de l'A $\beta$ 40. [Chávez-Gutiérrez *et al.*, 2012]. Les formes familiales causées par certaines mutations du gène PSEN1 sont beaucoup plus agressives que celles causées par les mutations du gène de l'APP [Keller *et al.*, 2010 ; Lai *et al.*, 2003].

### **c- Gène de la Préséniline 2**

Le gène de la Préséniline 2 (PSEN2), situé en position 1q31-42, a été isolé à l'aide d'une sonde PSEN1. Il a été identifié grâce à sa forte homologie de séquence (67%) avec le gène de PSEN1 [Cruts *et al.*, 1996]. La protéine PSEN2 est composée de 475 acides aminés, avec 6 à 8 domaines transmembranaires, et présente des fonctions biologiques similaires à la PSEN1.

Les mutations du PSEN2 sont rares et à pénétrance incomplète. Trois mutations faux sens ont été décrites dans le gène de PSEN2 [Sleegers *et al.*, 2004]. Elles sont présentes essentiellement dans un isolat ethnique particulier, celui des «Allemands de la Volga» et sont associées à une forme familiale précoce de la MA avec un début de la maladie qui semble être plus tardif que dans les formes associées à une mutation de PSEN1 [Campion *et al.* 1999].

## **Hypothèse de la cascade amyloïde**

Bien que les mutations de ces trois gènes représentent des causes rares de la MA, leur découverte appuie grandement un rôle pivot du peptide A $\beta$  dans la pathogenèse de cette maladie. En effet, la découverte des mutations responsables de formes monogéniques de la MA, le lien de causalité entre mutations, fonctions des gènes mutés et développement de la maladie a donné lieu à l'émergence d'une hypothèse physiopathologique qui a permis d'orienter notre compréhension de la MA : l'hypothèse de la cascade amyloïde.

Cette hypothèse, s'appuyant sur le fait que les mutations pathogènes soient systématiquement associées à une modification du métabolisme de la protéine APP, et plus particulièrement à une surproduction relative de peptides neurotoxiques A $\beta$ <sub>42</sub>, a placé ce métabolisme au centre du processus pathologique. Selon cette hypothèse, ce serait la surproduction relative de ces peptides A $\beta$ <sub>42</sub> qui conduirait à la dégénérescence neurofibrillaire, puis à la mort neuronale (Hardy, 1997 ; Hardy & Selkoe, 2002).

Néanmoins, les processus neurodégénératifs pourraient également résulter d'un déséquilibre entre la production et la clairance de peptides A $\beta$ , ce qui suggère que d'autres gènes impliqués dans ces voies pourraient également s'avérer être des facteurs de risque.

### **1.2.1.2. Gènes impliqués dans la forme sporadique de la maladie d'Alzheimer**

A côté des gènes qui interviennent dans les formes autosomiques dominantes de MA, un quatrième gène a été identifié. Dans ces cas, le déterminisme n'est pas mendélien et le gène est considéré comme facteur de risque de la MA.

D'autres variant de gènes impliqué dans le métabolisme lipidique, la réponse inflammatoire, et l'endocytose ont été aussi identifiés à travers des études de cas-témoins ou GWAS (Genome-wide association studies) [Lambert et al., 2013].

#### **a- Le gène de l'Apolipoprotéine E**

Le gène de l'apolipoprotéine (Apo E) est situé sur le chromosome 19. Ce gène de 3,7 kb code un ARNm d'une longueur de 1163 Nucléotides [Marijke et al., 1988]. Il comporte 4 exons et 3 introns. Le premier exon est non codant, le deuxième exon code pour un peptide signal (18 acides aminés), le troisième exon pour les 61 premiers acides aminés et le quatrième pour l'essentiel de la protéine mature [Marijke et al., 1988].

La protéine Apo E est une glycoprotéine de 34 kDa (299 AA) qui agit comme transporteur de cholestérol [Mahlay, 1988]. Elle existe sous trois isoformes principales E2, E3, E4, produits des allèles  $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3,  $\epsilon$ 4 respectivement. La fréquence des allèles varie selon les populations, toutefois l'isoforme E3 reste la plus fréquente. Ces trois isoformes peuvent donner six génotypes: trois génotypes homozygotes (E2/E2, E3/E3, E4/E4) et trois génotypes hétérozygotes (E3/E2, E3/E4, E2/E4), le génotype le plus commun est E3/E3.

Des études immuno-histochimiques des cerveaux de patients atteints de la MA ont montré la présence d'Apo E dans les dépôts amyloïdes extracellulaires, ainsi que les dépôts vasculaires, dans les astrocytes et dans quelques neurones contenant ou non des DNF [Marques et al., 1996].

Les études génétiques ont montrés que l'Apo E4 est l'un des principaux facteurs de risque favorisant l'apparition de la forme sporadique de la MA, ceci en favorisant les dépôts amyloïdes [Hannequin et coll., 2001].

Une personne possédant un allèle APOE4 a 2 à 3 fois plus de chances de développer la MA tandis qu'avoir les 2 copies mène à une augmentation jusqu'à 5 fois [Kuusisto et al., 1994].

De plus, chaque allèle hérité diminue l'âge moyen de l'apparition de la maladie par environ 8 ans [Corder et al., 1993; Reitz and Mayeux, 2014].

Cependant il faut souligner que la présence de l'allèle E4 n'est ni indispensable (des individus non porteurs et l'allèle E4 peuvent être atteints) ni suffisante (des individus porteur de l'allèle E4 peuvent ne pas être atteints même à un âge très avancé) pour développer la MA [Corder et al., 1993].

L'ApoE4 est un facteur de risque génétique dont le déterminisme est différent de celui des mutations dominantes précédemment évoquées. En ce qui concerne l'allèle E3, il ne semble pas avoir un impact majeur tandis que l'allèle E2 serait protecteur vis-à-vis de la MA [Corder et al., 1994 ; Liu et al., 2013].

## **b- Gènes identifiés par les études GWAS**

L'utilisation des dernières technologies de pointe permettant l'étude d'association pangénomique (GWAS) a mené à l'identification de différentes variations génétiques associées à la MA. Bien que le risque relatif à ces mutations soit faible, la modification de ces gènes demeure pour autant pertinente et nous offre de meilleures pistes de compréhension des mécanismes sous-jacents à la maladie [Reitz and Mayeux., 2014].

Les principaux gènes ressortant des analyses GWAS peuvent être associés à une ou plusieurs des fonctions cellulaires : la réponse immunitaire, la régulation du processing de l'APP, la régulation de la protéine Tau, la migration cellulaire, le transport/métabolisme lipidique et l'endocytose [Hollingworth et al., 2011; Naj et al., 2011].

De nombreux gènes de l'immunité, identifiés par des études GWAS, ont été impliqués dans la forme sporadique de la MA, dont :

### **❖Le récepteur du complément 1**

Le récepteur du complément 1 (CR1), code pour la protéine CR1. Ce gène CR1 se situe au niveau du locus 1q32 et code pour 4 isoformes. Il est exprimé sur la majorité des cellules phagocytaires (monocytes, macrophages, polynucléaires neutrophiles et éosinophiles) [Liu et al., 2009].

Les études GWAS ont permis l'identification de différents SNPs au niveau du gène CR1 chez, des patients atteints de la forme sporadique de la MA [Lambert et al., 2009].

Le polymorphisme rs6656401 est fortement associé au risque de développer la MA tandis que le SNP rs3818361 a été associé au risque de développer une MA chez les porteur du gène ApoE4.

- **TLR 2**

Plusieurs polymorphismes, au niveau du gène codant pour le TLR2, ont été associés au risque du développement d'une MA sporadique, dont le polymorphisme dû à une mutation de type délétion en position -174 jusqu'à -196, au niveau du gène qui code pour le TLR2 chez la population Chinoise [Yu et al., 2011]. Une étude a montré que le peptide A $\beta$  se lie au TLR2 des cellules microgliales pour induire leur activation dans les cultures cellulaires murines [Jana et al., 2008]. En outre, il a été montré que le récepteur du peptide A $\beta$ , le Formyl Peptide Receptor 2 (FPR2), est régulé positivement par la coopération entre le récepteur TLR2 et NOD2 dans une lignée murine de cellules microgliales [Chen et al., 2006].

- **TLR 4**

Des polymorphismes au niveau du gène TLR4 sont associés à la MA : le polymorphisme Asp299Gly chez la population Italienne [Minoretti et al., 2006], et le polymorphisme TLR4/11367 chez la population chinoise [Wang et al., 2006], qui induisent une forte production de cytokines pro-inflammatoires.

Une autre étude in Vitro a montré que la liaison du peptide A $\beta$  aux cellules microgliales, est médiée par le TLR4, ce qui augmente la capacité phagocytaire de ces cellules [Tahara et al., 2006].

### **I.3. Gène Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein (*PICALM*)**

Le gène *PICALM* est situé sur le chromosome 11q14 et code une protéine d'assemblage de la clathrine. Cette protéine recrute la clathrine et un complexe de protéines adaptatrices (AP2) vers les membranes cellulaires, où elle joue un rôle important dans la détermination de la quantité de membranes à recycler, via la régulation de la taille de la cage de clathrine (Baig et al., 2010). *PICALM* est exprimé majoritairement au niveau des neurones (Xiao et al., 2012) où il joue un rôle essentiel dans la fusion des vésicules synaptiques à la membrane présynaptique, via le transport des protéines membranaires associées aux vésicules VAMP2 (vesicle-associated membrane protein) (Harel et al., 2008).

Les études d'association pangénomiques (GWAS) ont montré qu'il existait une association entre *PICALM* et MA à début tardif, notamment au niveau de 2 SNPs, rs3851179 et rs541458 (Harold et al., 2009 ; Lambert et al., 2009 ; Lambert et al., 2013), en l'occurrence les effets de ces 2 SNPs restent à déterminer. Néanmoins, certaines études suggèrent que *PICALM*, de par son rôle essentiel dans l'endocytose et dans la fonction synaptique, interviendrait dans le processus physiopathologique de la MA. D'une part, l'endocytose serait essentielle dans le processus normal de l'APP qui est au cœur de la pathogénèse de la MA (Karch & Goate, 2015). D'autre part, l'activité

synaptique et la libération des neurotransmetteurs seraient altérées dans la MA (Holtzman et *al.*, 2011).

Dans ce sens, Xiao et *al.* (2012) ont montré qu'une perturbation de l'expression de *PICALM* in vitro altérait le transport de l'APP, et qu'une surexpression de *PICALM* in vivo augmentait les dépôts de plaques amyloïdes chez la souris transgénique. Une autre étude suggère que *PICALM*, en se liant aux autophagosomes, jouerait également un rôle dans la clairance des peptides A $\beta$  médiée par l'autophagie (Tian et *al.*, 2013).

#### **I.4. Gène Bridging integrator (*BIN1*)**

Le gène de *BIN1* est situé sur le chromosome 2q14.3 et code plusieurs isoformes d'une protéine adaptatrice nucléocytoplasmique (Ren et *al.*, 2006). Les isoformes exprimés au niveau du système nerveux central seraient impliqués dans la régulation de l'endocytose (vésicules synaptiques), la réponse immunitaire et l'homéostasie calcique. En effet, *BIN1* interagit avec la clathrine et AP2/ $\beta$ -adaptine (complexe de protéines adaptatrices) et se lie aux membranes lipidiques, induisant une déformation membranaire (McMahon et *al.*, 1997 ; Ramjaun et *al.*, 1998 ; Tsutsui et *al.*, 1997).

Les études d'association pangénomiques ont également montré une association entre *BIN1* et le risque de MA (Biffi et *al.*, 2010 ; Harold et *al.*, 2009 ; Lambert et *al.*, 2009 ; Naj et *al.*, 2011). Mais bien que *BIN1* ait des fonctions pertinentes à plusieurs niveaux de la pathogénèse de la MA, le rôle exact de *BIN1* et de sa variante fonctionnelle associée à la MA n'est pas résolu. En effet, plusieurs hypothèses sont avancées : *BIN1* pourrait jouer un rôle dans le processus de tauopathie en interagissant avec d'autres protéines associées aux microtubules (CLIP-170) (Meunier et *al.*, 2009). D'autres études ont montré que *BIN157* serait impliqué dans l'endocytose médiée par la clathrine et le transport endocellulaire des endosomes pouvant ainsi modifier le trafic de l'APP (routage) (Pant et *al.*, 2009 ; Thinakaran & Koo, 2008). Enfin, *BIN1* serait impliqué dans la phagocytose par les macrophages et se lie aux  $\beta$ -intégrines, qui régulent la réponse immunitaire (Wixler et *al.*, 1999).

#### **I.5. Gène Sortilin-related receptor L (*SORL1*)**

Le gène *SORL1* (Sortilin-related receptor L) est situé sur le chromosome 11q23.2 et code une mosaïque de protéines qui appartiennent à au moins deux familles, VPS-10 (vacuolar protein sorting) et LDLR (Low Density lipoprotein receptor). Lambert et *al.* (2013) ont montré que le SNP rs11218343 situé à proximité de *SORL1* était associé au risque de MA.

Plusieurs hypothèses ont été formulées. D'une part, *SORL1* dirige l'APP vers les voies d'endocytose en vue d'un recyclage (Rogaeva et *al.*, 2007), et jouerait un rôle important dans la génération des peptides A $\beta$  (Offe et *al.*, 2006 ; Schmidt et *al.*, 2007 ; Spoelgen et *al.*, 2006). Dans ce sens, une étude réalisée chez des souris déficientes en *SORL1* retrouvait des concentrations élevées de peptides A $\beta$  (Dodson et *al.*, 2008), tandis que d'autres études montraient que l'expression de l'ARNm *SORL1* était diminuée dans le cerveau de sujets atteints de MA (Dodson et

*al.*, 2006 ; Sager et *al.*, 2007 ; Scherzer et *al.*, ). D'autre part, SORL1 étant aussi un récepteur liant les lipoprotéines dont APOE, il intervient dans son absorption par les voies d'endocytose (Rogaeva et *al.*, 2007). De ce fait, le rôle de SORL1 dans le contrôle du clivage de l'APP et de l'absorption d'APOE semble critique pour le maintien des fonctions de signalisation au niveau cérébral.

### **I.6. Gène ATP-binding cassette, sub-family A transporter A7 (ABCA7)**

Le gène *ABCA7* (ATP-binding cassette, sub-family A, transporter A7) est situé sur le chromosome 19q13.3, et peut subir un épissage alternatif pouvant générer deux produits de transcription qui sont tous les deux exprimés dans le cerveau (Ikeda et *al.*, 2003). Ce gène code une protéine faisant partie de la superfamille des transporteurs (ABC), jouant un rôle dans le transport des substrats à travers les membranes cellulaires (Kim et *al.*, 2008). Plusieurs SNPs situés à proximité du gène *ABCA7* ont été identifiés par les études d'association pangénomiques (GWAS) comme étant associés au risque de MA à début tardif (rs3764650, rs4147929) (Harold et *al.*, 2009 ; Hollingworth et *al.*, 2011 ; Lambert et *al.*, 2013 ; Liao et *al.*, 2014 ; Naj et *al.*, 2011). Cependant, l'impact de ces polymorphismes sur la fonction d'*ABCA7* demeure inconnu (Karch et *al.*, 2012 ; Vasquez et *al.*, 2013), bien que plusieurs hypothèses aient été formulées à partir d'études montrant que *ABCA7* était exprimé au niveau de l'hippocampe et à des niveaux d'expression dix fois plus élevés au niveau des cellules microgliales d'une part (Kim et *al.*, 2006), et que l'expression de l'ARNm d'*ABCA7* dans les autopsies de cerveaux de sujets atteints de MA était associée à un déclin cognitif avancé d'autre part (Kiddle et *al.*, 2014 ; Vasquez et *al.*, 2013). Par ailleurs, des études ont montré qu'*ABCA7* stimulait la mobilisation du cholestérol et inhibait la sécrétion de peptides A $\beta$  in vitro (Chan et *al.*, 2008) et que les souris déficientes en *ABCA7* présentaient des dépôts élevés de peptides A $\beta$  (Kim et *al.*, 2013).

D'autres études ont montré qu'*ABCA7* jouait un rôle dans la régulation de la phagocytose des cellules apoptotiques par les macrophages via le C1q de la voie du complément (Jehle et *al.*, 2006) et qu'une expression élevée d'*ABCA7* augmentait la phagocytose microgliale des cellules apoptotiques et des peptides A $\beta$  (Jehle et *al.*, 2006 ; Kim et *al.*, 2013 ; Tanaka et *al.*, 2011a,b).

De ce fait, *ABCA7* pourrait influencer le risque de MA via le transport du cholestérol (transfert du cholestérol à l'APOE) ou via la clairance des peptides A $\beta$  (Chan et *al.*, 2008 ; Kim et *al.*, 2013 ; Wildsmith et *al.*, 2013).

### **I.7. Gène récepteur de déclenchement exprimé sur les cellules myéloïdes 2 (TREM2)**

Le gène *TREM2* (Triggering Receptor Expressed on myeloid Cells 2) est situé sur le chromosome 6q21.1 et code une protéine membranaire qui forme un complexe de récepteurs de signalisation avec le TYROBP (Tyrosine Kinase binding Protein) (Colonna, 2003).

De rares mutations faux-sens dans le gène *TREM2* ont été rapportées comme augmentant le risque de MA à début tardif. La variante la plus commune décrite dans les populations d'origine européenne, R47H (rs75932628) augmenterait le risque de MA de deux fois (Benitez et *al.*, 2013 ; Bertram et *al.*, 2013 ; Giraldo et *al.*, 2013 ; Guerreiro et *al.*, 2013 ; Jonsson et *al.*, 2013).

Cependant, il persiste un débat sur le risque conféré chez les sujets *TREM2* R47H (risque allant de 1,7 à 3,4) (Guerreiro & Hardy, 2013 ; Pottier et al., 2013). Ces résultats impliquent fortement la variante *TREM2* dans la pathogénèse de la MA. Compte tenu du rôle anti-inflammatoire de *TREM2* dans le cerveau, la substitution R47H pourrait conduire à une prédisposition accrue à la MA par l'altération des processus inflammatoires. Bien que ce variant se produise moins fréquemment que l'allèle *ApoE4*, elle confère un risque de la MA similaire à celui de l'*ApoE4* (Jiang et al., 2013b). Par ailleurs, *TREM2* est fortement exprimé au niveau de la substance blanche, de l'hippocampe et du néocortex, ce qui est en partie compatible avec les caractéristiques neuropathologiques de la MA (Jiang et al., 2013b), indiquant l'implication possible de *TREM2* dans la pathogénèse de la MA. En effet, compte tenu de l'implication de *TREM2* dans le rôle phagocytaire des cellules microgliales sur les plaques amyloïdes, il est possible que la réduction de l'activité du *TREM2* causée par la substitution R47H, puisse conduire à la MA, par l'incapacité du cerveau à éliminer les produits toxiques (clairance). *TREM2* pourrait donc avoir un rôle dans l'inflammation chronique et pourrait stimuler la production de chimiokines et cytokines (Jiang et al., 2013b). Elle aurait également un rôle dans le déclenchement de l'activation de la réponse immunitaire dans les macrophages et les cellules dendritiques.

### **I.8. Gène Siglec 3 (*CD33*)**

Le gène Siglec 3 (*CD33*) est situé au niveau du chromosome 19q13.3 et code la protéine *CD33* qui fait partie de la famille de récepteurs appelés « member of the sialic acid-binding Ig-like lectin family of receptors », protéine exprimée au niveau des cellules myéloïdes et des cellules microgliales (Crocker et al., 1997 ; Griciuc et al., 2013 ; Malik et al., 2013).

Dans la MA à début tardif, les études d'association pangénomiques ont identifié un SNP à proximité de *CD33*, rs3865444, comme réduisant le risque de la maladie (Bertram et al., 2008 ; Hollingworth et al., 2011 ; Naj et al., 2011). Ce SNP était associé à une augmentation de délétion de l'exon 2 de *CD33* (Malik et al., 2013). Par ailleurs, Malik et al. (2013) ont montré que rs12459419 régula l'efficacité de l'épissage de l'exon 2 sur *CD33*, et que l'épissage de *CD33* influençait l'activation des cellules microgliales. Dans ce sens, *CD33* pourrait jouer un rôle dans la pathogénèse de la MA via la clairance des peptides A $\beta$ , ou les voies de la neuroinflammation médiée par les cellules microgliales.

En effet, il a été démontré que l'expression de l'ARNm de *CD33* était augmentée dans les cellules microgliales et dans le cerveau proportionnellement au déclin cognitif d'une part (Griciuc et al., 2013 ; Karch et al., 2012), et que l'allèle mineur de rs3865444 était associé à une diminution de l'expression de l'ARNm *CD33* et de la concentration d'A $\beta$ 42 insoluble dans le cerveau de sujets atteints de MA, d'autre part (Griciuc et al., 2013).



### **I.8. MS4A (Membrane-Spanning 4-domains sub family A)**

*MS4A* (Membrane spanning 4-domains subfamily A) est un locus contenant plusieurs gènes associés à la réponse inflammatoire : *MS4A4A* (Membrane-Spanning 4-domains sub family A, member 4A), *MS4A4E* (Membrane-Spanning 4-domains sub family A, member 4E), et *MS4A6E* (Membrane-Spanning 4-domains sub family A, member 4E), situés au niveau du chromosome 11. Ces gènes sont exprimés au niveau des cellules myéloïdes et des monocytes. Bien que cette famille de gènes reste mal caractérisée, *MS4A* est structurellement similaire à CD20 (Howie et al., 2009).

Les études d'association pangénomiques ont montré que rs983392 situé à proximité de *MS4A6E* était associé à un risque diminué de MA, alors que rs670139 situé à proximité de *MS4A4E* était associé à un risque élevé (Hollingworth et al., 2011 ; Lambert et al., 2013 ; Naj et al., 2011). Par ailleurs, une autre étude a montré que l'expression de l'ARNm *MS4A6E* et rs670139 était associée aux dépôts amyloïdes et à la dégénérescence neurofibrillaire (Karch et al., 2012). Cependant, la signification fonctionnelle de ces SNPs n'est à ce jour pas élucidée, bien que la similitude structurelle avec CD20 suggère que *MS4A* interviendrait dans la pathogénèse de la MA via la réponse immunitaire.

### **I.9. Gène Ephrin type-A receptor 1 (*EPHA1*)**

Le gène *EPHA1* (Ephrin Type-A receptor 1) est situé sur le chromosome 7q34 et fait partie de la sous-famille des récepteurs de l'ephrine et de la famille des récepteurs tyrosine kinase (Yamazaki et al., 2009). Les études d'association pangénomiques ont montré une association entre *EPHA1* et la MA notamment au niveau de deux SNPs : rs11767557 situé à proximité de *EPHA1* (Hollingworth et al., 2011 ; Naj et al., 2011) et rs11771145 (Lambert et al., 2013). En l'occurrence, bien qu'aucune signification fonctionnelle de ces SNPs n'ait été démontrée à ce jour (Karch et al., 2012), certains auteurs supposent que malgré le fait que le SNP le plus fortement associé à la MA soit proche de *EPHA1*, il existe plusieurs autres gènes en déséquilibre de liaison dans la région définie par ce SNP, et de ce fait, que le SNP fonctionnel pourrait être dans *EPHA1* ou affecter l'expression d'un de ces gènes voisins (Karch & Goate, 2015).<sup>61</sup> Néanmoins, certaines études suggèrent que *EPHA1* pourrait intervenir dans la pathogénèse de la MA notamment grâce à son rôle dans le guidage axonal et la plasticité synaptique (Lai & Ip, 2009 ; Martinez et al., 2005) et par le fait qu'il soit exprimé par les lymphocytes T CD4+ et monocytes (Sakamoto et al., 2011).

### **I.10. Gène CD2-Associated protein (*CD2AP*)**

Le gène *CD2AP* (CD2-Associated protein) est situé sur le chromosome 12p12.3 et code une protéine de structure impliquée dans la réorganisation du cytosquelette et le transport intracellulaire (Dustin et al., 1998). Trois SNPs, rs9296559, rs 9349407 et rs 10948363, été identifiés comme étant associés à la MA (Hollingworth et al., 2011 ; Naj et al., 2011). La signification fonctionnelle de ces SNPs n'est pas identifiée à ce jour, d'autant que l'expression de l'ARNm *CD2AP* n'est pas altérée dans le cerveau des sujets atteints de MA (Karch et al., 2012).

Cependant, certains auteurs supposent que CD2AP interviendrait dans la pathogénèse de la MA via l'endocytose (Karch & Goate, 2015). En effet, il a été démontré chez la souris transgénique déficiente en CD2AP que la fonction lysosomale était altérée, suggérant que CD2AP serait un régulateur essentiel du transport des vésicules au lysosome (Cormont et *al.*, 2003).

### **I.11. Gène Phospholipase D family, member 3 (*PLD3*)**

Le gène *PLD3* (Phospholipase D family, member 3) est situé sur le chromosome 19q13.2 et son épissage alternatif conduit à la production de 25 transcrits. Bien que le gène *PLD*, code des protéines (enzymes) qui catalysent l'hydrolyse des phospholipides membranaires, le gène *PLD3* reste mal caractérisé et « non classique », sans activité catalytique (Munck et *al.*, 2005). Cruchaga et *al.* (2014), ont identifié un variant rare (*PLD3* V232M) comme associé à la MA, mais le mécanisme par lequel *PLD3* interviendrait dans la MA reste inconnu (Cruchaga et *al.*, 2014), néanmoins, il est proposé que comme les protéines *PLD* classiques catalysent l'hydrolyse de la phosphatidylcholine pour produire l'acide phosphatidique, qui agit comme un effecteur dans l'endocytose (McDermott et *al.*, 2004), *PLD3* pourrait de ce fait être impliqué dans la pathogénèse de la MA (Cai et *al.*, 2006a,b ; Jin et *al.*, 2007 ; Oliveira et *al.*, 2010).

### **I.12. Gène ADAM Metallopeptidase domain 10 (*ADAM10*)**

Le gène *ADAM10* (A desintegrin and metallopeptidase domain 10) est situé sur le chromosome 15. Ce gène code une famille de protéines (ADAM) qui clivent de nombreuses protéines dont TNF- $\alpha$  et E-Catherine. Les membres de la famille ADAM sont des protéines de surface cellulaire, impliquées dans la régulation de fonctions cellulaires variées telles que l'adhérence, la migration, la fusion ou la prolifération cellulaire (Wolfsberg et *al.*, 1993). Elles sont également liées à des processus fonctionnels tels que la différenciation des cellules nerveuses et le guidage axonal. Kim et *al.* (2009b) ont rapporté que deux mutations rares, Q170H et R181G, étaient associées à un risque élevé de MA. Dans ce sens, Suh et *al.* (2013) ont montré que ces deux mutations atténuent l'activité des  $\gamma$ -sécrétases et transféraient le métabolisme de l'APP vers un clivage par les  $\beta$ -sécrétases, suggérant qu'*ADAM10* joue un rôle dans la pathogénèse de la MA, via une diminution de l'activité des  $\gamma$ -sécrétases, et donc une augmentation de la production des peptides amyloïdes.

### **I.13. Autres gènes (*CASS4*, *HLA-DRB5-DRB1*, *INPP5D*, *PTK2B*, *MEF2C*, *CELF1*, *NME8*, *EXOC3L2*, *DSG2*, *FERMT2*, *SLC24H4-RIN3*, *ZCWPW1*)**

De nombreux autres loci ont été identifiés comme étant associés à la MA dont *CASS4* (cas scaffolding protein family member 4), *HLA-DRB5-DRB1* (major histocompatibility complex class II bêta 5 and bêta 1), *INPP5D* (inositol polyphosphate-5-phosphatase), *PTK2B* (protein Tyrosine Kinase 2 beta), *MEF2C* (myocyte enhancer factor 2C) , *CELF1* (CUG triplet repeat, Elav-Like Family member 1), *NME8* (NME family, member 8), *EXOC3L2* (Exocyst Complex component 3-Like-2),

*DSG2* (Desmoglein 2), *FERMT2* (Fermitin family 2), *SLC24H4-RIN3* (solute carrier family 24-Ras and rab Interactor 3), et *ZCWPW1* (Zinc finger, CW type, with PWWP domain 1) (Lambert et al., 2013).

Cependant, le rôle de ces gènes dans la pathogénèse de la MA est moins bien connu car plusieurs de ces loci de susceptibilité se produisent dans des régions de gènes denses.

De ce fait, il est difficile d'établir lequel de ces gènes est responsable de cette association.

Toutefois, ces gènes pourraient être impliqués via des voies connues comme perturbées au cours de la MA. En effet, *CASS4* (cas scaffolding protein family member 4) aurait un rôle dans le métabolisme de l'APP et de la protéine tau, le transport axonal et la fonction synaptique (Lambert et al., 2013). *HLA-DRB5-DRB1* et *INPP5D* auraient un rôle dans la réponse immunitaire. *PTK2B* interviendrait dans la migration cellulaire et la63 fonction synaptique. *MEF2C* serait impliqué dans la réponse immunitaire et la fonction synaptique. *CELF1* et *NME8* seraient impliqués dans la fonction cytosquelettique et le transport axonal.

## **I. 2. 2. Facteurs environnementaux**

### **I. 2. 2. 1. Facteurs de risques**

La pénétrance incomplète des différents facteurs de risque génétiques mentionnés précédemment, met en évidence l'importance de l'histoire du patient et de son environnement dans les formes sporadiques de la MA.

Les études épidémiologiques et expérimentales ont permis d'identifier certains éléments favorisant l'apparition de cette pathologie. Les principaux facteurs impliqués sont : l'âge [Breggi et al., 1982], le sexe (les femmes sont plus touchées que les hommes) [Tang et al., 1996], des carences en vitamines B12 et B5 [Zandi et al., 2004], le diabète de type 2 [Fei et al., 2013], les traumatismes crâniens [Mayeux et al., 1993], l'hypertension artérielle [Li et al., 2010], les métaux lourds (Aluminium) [Martyn et al., 1989], et l'hypercholestérolémie [Shobab et al., 2005].

### **I. 2. 2. 2. Facteurs protecteurs**

L'alimentation : c'est une composante étiologique importante de la MA. Le risque de développer la maladie est fonction de la qualité nutritionnelle. Une alimentation riche en sucre/graisse est ainsi la cause de dyslipidémies et favorisent la MA.

A l'inverse, un régime de type méditerranéen (riche en fruits, légumes, céréales, huile d'olive et pauvre en viande et produits laitiers) est associé à un risque plus faible de développer la MA et à un déclin cognitif plus lent, ce qui peut être expliqué par la quantité importante des vitamines A, C et E ou encore des acides gras polyinsaturés retrouvés [Lourida et al., 2013].

### **I. 2. 2. 3. Diagnostic de la MA**

Le diagnostic de la MA ne peut être établi avec certitude qu'après la mort en procédant à une autopsie du cerveau [Carrette et al., 2003]. Cependant, il a été démontré que l'utilisation d'une combinaison d'outils rend le diagnostic de la MA probable [Ballard et al., 2011] et ceci en se basant sur :

### **I. 2. 2. 3. 1. Les examens cliniques**

Les examens cliniques permettent à l'aide de tests neuropsychologiques et neurologiques, d'évaluer les déficits cognitifs ainsi que l'amnésie chez les patients atteints de la MA:

- Mini Mental State Examination (MMSE) [Folstein et al., 1975]
- Le Physical Self-Maintenance Scale (PSMS) pour évaluer l'autonomie de la personne
- Le test de l'horloge (Clock Drawing Test) pour évaluer les capacités Visio-spatiales [Brodaty et al., 1997].

L'atrophie du cerveau est mise en évidence par des techniques d'imagerie, telle que l'imagerie par résonance magnétique (IRM) [Fortin et al, 2010].

### **I. 2. 2. 3. 2. Les examens biologiques**

Toutes les perturbations de l'état de santé, non liées directement à la maladie d'Alzheimer, peuvent favoriser la confusion mentale, la désorientation. Des tests sanguins sont recommandés dans le but de dépister toutes pathologies pouvant entraîner des troubles cognitifs : un hémogramme, un bilan thyroïdien et rénal, une glycémie, un dosage de la vitamine B12, de folates, ionogramme, et une sérologie syphilitique et VIH [Schenk et al., 2004].

Un dosage des marqueurs peut être effectué (A $\beta$ 42 et protéine Tau totale (t-Tau) et phosphorylée) dans le LCR [Ewers et al., 2008 ; Andreasen et al., 2001].

### **I. 2. 2. 4. Le traitement**

A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement curatif de la MA. En effet, il existe un traitement symptomatique basé sur l'utilisation des inhibiteurs de l'acétylcholine estérase (Domipezile/Aricept) : ces médicaments favorisent la transmission de l'influx nerveux dans les synapses en inhibant la dégradation de l'acétylcholine, qui est un neurotransmetteur, ou des antagonistes des récepteurs du glutamate (Mémantine) [Kavirajan et al., 2009].

### **I. 2. 2. 5. La physiopathologie de la maladie d'Alzheimer**

La MA est une maladie multifactorielle et très hétérogène, ce qui fait que sa physiopathologie est considérée comme étant complexe. Elle présente des caractéristiques anatomopathologiques, biochimiques et immunologiques.

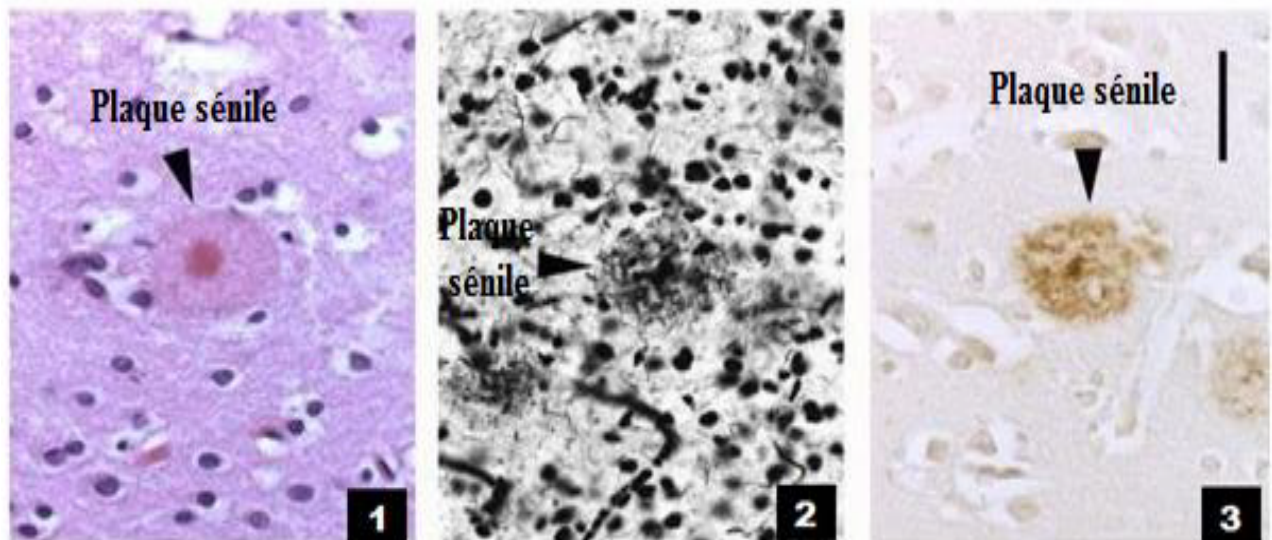
#### **I. 2. 2. 5. 1. Les plaques séniles**

Ce sont des dépôts extracellulaires et insolubles constitués d'un peptide composé de 39 à 42 acides aminés (AA), le peptide bêta amyloïde (A $\beta$ ), et qui se forment le plus souvent dans le néocortex (**figure 02**). Ce peptide provient d'un clivage anormal d'une glycoprotéine membranaire appelée «Amyloïd Precursor Protein» (APP).

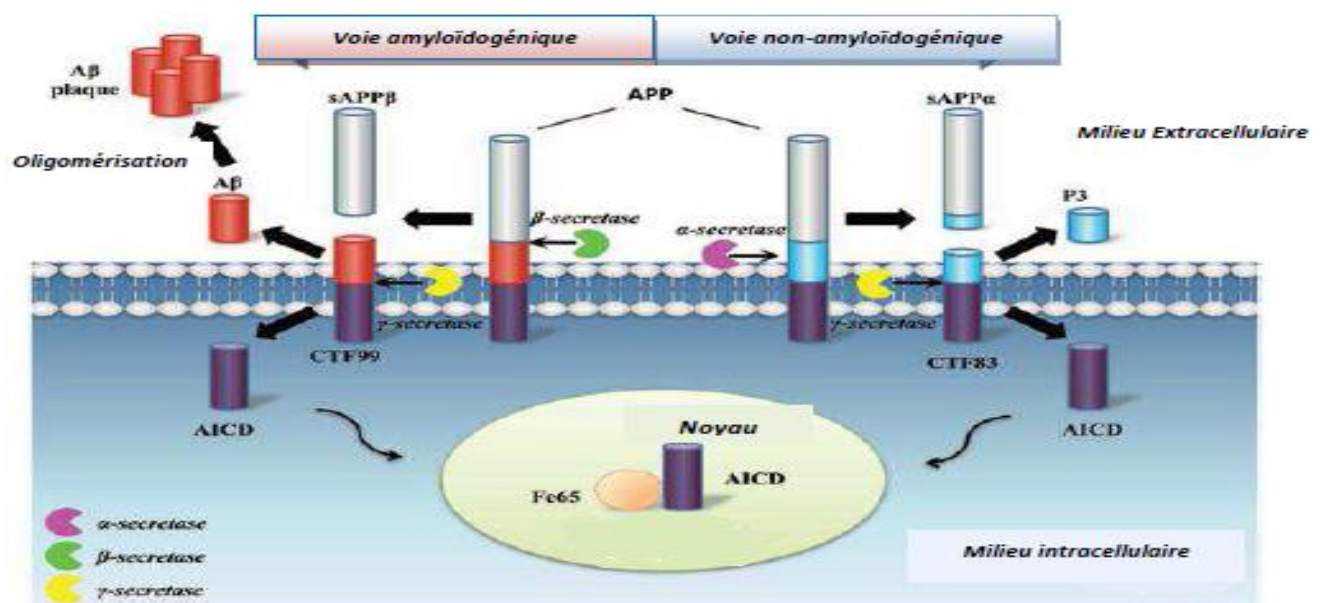
L'APP est une glycoprotéine transmembranaire très répandue dans l'organisme, jouant plusieurs rôles dans différents types cellulaires et dans le système nerveux central (SNC), en particulier. C'est une molécule d'interaction cellule-cellule [Govaerts et al., 2007].

L'A $\beta$  résulte d'un clivage protéolytique de l'APP, ce processus est catalysé par un complexe enzymatique, les sécrétases  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  et suit deux voies différentes (**figure 03**):

- Une voie amyloïdogénique faisant intervenir la  $\beta$  et  $\gamma$  sécrétase et conduit à la production du peptide A $\beta$  [Citron et al., 1996].
- Une voie dite non amyloïdogénique faisant intervenir la  $\alpha$  et la  $\gamma$  sécrétase conduisant à la formation d'un peptide différent du peptide A $\beta$  [Masters et al., 2006].



**Figure 02:** Les plaques séniles avec coloration classique (1 : Hématoxyline-éosine, 2 : Imprégnation argentine) et une méthode d'immunohistochimie (3 : Anti-amyloïde  $\beta$  avec l'anticorps 4G8) [Eniko et al., 2011].



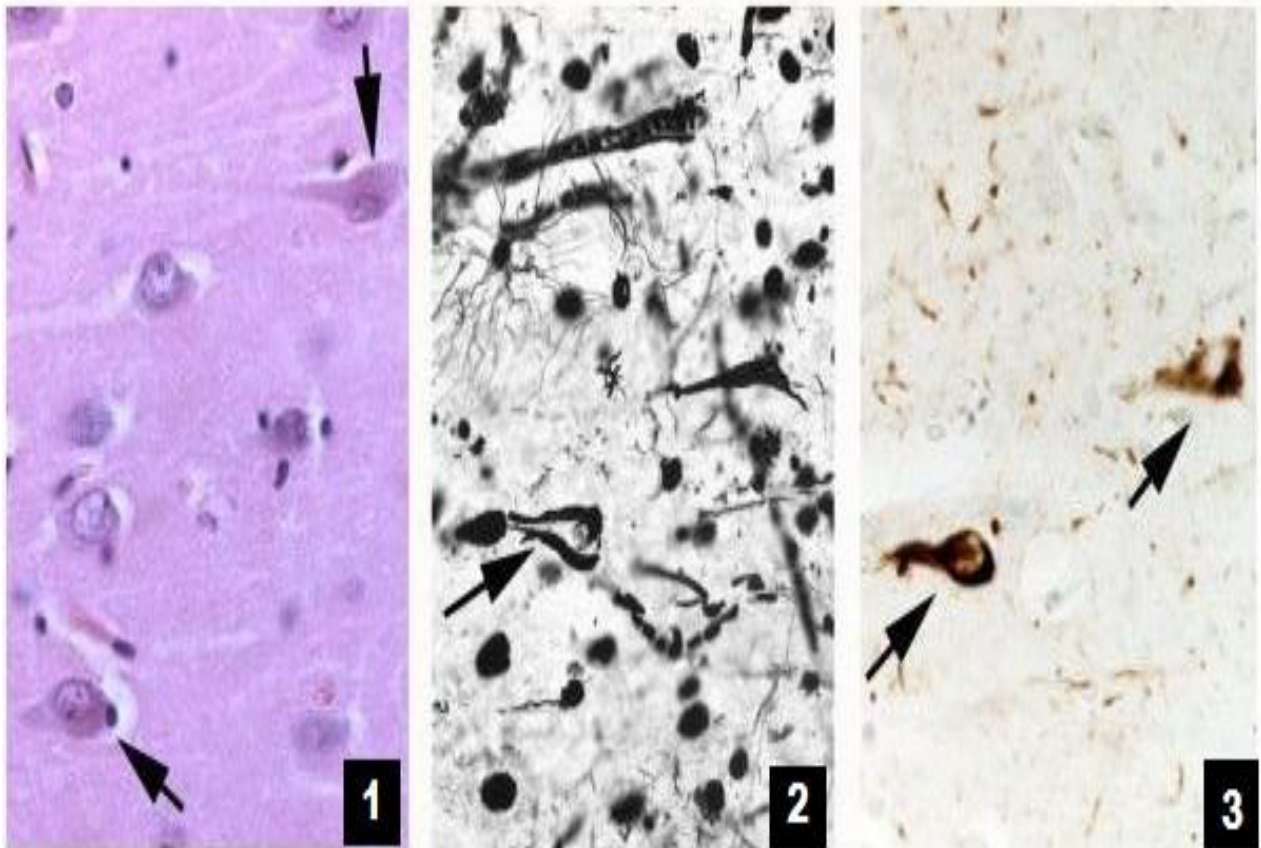
**Figure 03 :** les deux voies métaboliques principales de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) [Zhou et al., 2011].

### I. 2. 2. 5. 2. Les enchevêtrements neurofibrillaires

Les enchevêtrements neurofibrillaires correspondent à l'accumulation de la protéine Tau (Tubuline associated unit) hyperphosphorylée dans le cytosol des neurones sous forme de filaments appariés en hélice PHF (Pairs Helical Filaments) (**figure 04**) [Vermersch et al., 1992].

La protéine Tau s'associe aux microtubules, structures filamenteuses du cytosquelette, qui servent au transport intracellulaire des organites et à l'organisation spatiale de la cellule [Govaerts et al., 2007].

Au cours de la MA, la protéine Tau est anormalement phosphorylée ce qui provoque la dépolymérisation des microtubules. Les protéines Tau s'enroulent alors l'une autour de l'autre pour former des PHF. L'accumulation de ces PHF dans le corps neuronale perturbe la stabilité des microtubules, comprime le neurone, l'endommage et provoque éventuellement sa mort [Alonso et al., 2001].



**Figure 04** : les dégénérescences neurofibrillaires avec coloration classique (1 : Hématoxyline-éosine, 2 : Imprégnation argentine) ; et une méthode d'immunohistochimie (3 : Anti-Tau immunohistochimie avec l'anticorps AT-8) [Eniko et al., 2011].

### I. 2. 2. 5. 3. Atteinte du système des neurotransmetteurs

La MA est caractérisée par l'altération des systèmes de neurotransmetteurs principalement le système cholinergique et glutamatergique [Whitehouse et al., 1986 ; Snyder et al., 2005].

#### I. 2. 2. 5. 4. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'une cellule ou d'un organisme [Gella & Durany, 2009]. Au cours de la MA il pourrait être dû à des dysfonctionnements mitochondriaux et au peptide A $\beta$ , aussi capable de générer des radicaux libres, ce qui induit l'apoptose neuronale [Cetin, 2013].

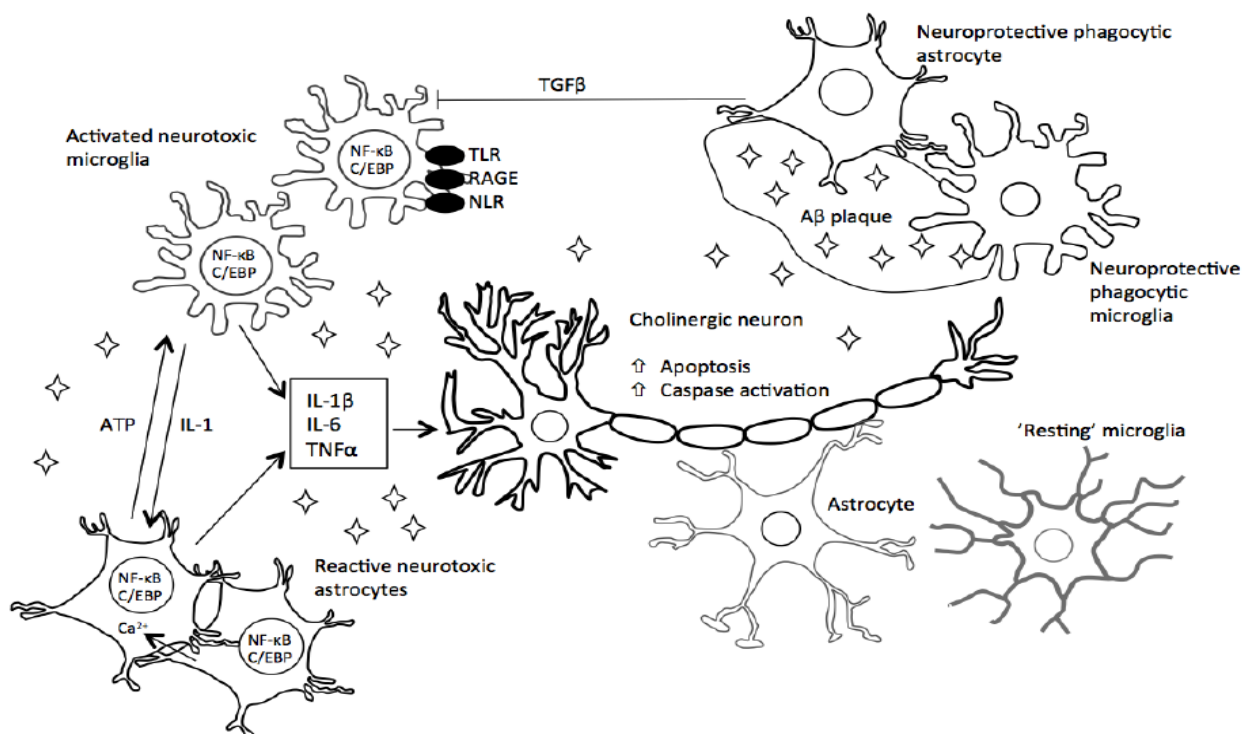
#### I. 2. 2. 5. 5. La neuroinflammation

Le système nerveux central (SNC) est considéré comme un site immunitaire privilégié [Blais et Rives., 2003], grâce à la présence de la barrière hémato-encéphalique (BHE).

Toutefois, le SNC possède son propre système de défense qui élimine tout agent pathogène menaçant son intégrité [Lacroix et al., 1998].

La neuroinflammation est une réponse immunitaire localisée au niveau du SNC caractérisée par l'activation des cellules gliales (microgliales et astrocytes) et une production de molécules inflammatoires [Gendelman et al., 1994].

La neuroinflammation dans la MA peut exercer à la fois un effet bénéfique à travers l'activité phagocytaire des cellules microgliales dans le but d'éliminer le peptide A $\beta$  [Renaud et al., 2015], et un effet néfaste à travers la production de médiateurs inflammatoires à l'origine de la neurodégénérescence (**figure 05**) [Meraz-Rios et al., 2013].



**Figure 05** : Schéma illustratif du double rôle de la neuroinflammation dans la MA [Figure inspirée de Perry et al., 2010; Glass et al., 2010].

## **I. 2. 2. 5 .5. 1. Les cellules impliquées dans la neuroinflammation**

### **a- Les cellules microgliales**

Les microglies sont les macrophages résidents du SNC [Beschoner et al., 2002]. La reconnaissance des pathogènes se fait via des récepteurs spécifiques induisant la production de cytokines pro- inflammatoires telles que l'interleukine 1 beta (IL-1 $\beta$ ), l'interleukine 6 (IL- 6), et le tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF-  $\alpha$ ), des chimiokines, des radicaux libres, du monoxyde d'azote (NO) et le transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) [Zhang et al., 2005 ; Elkabes et al., 1996 ; Doens et al, 2014]. L'activation des microglies contribue largement à la perte neuronale observée chez les personnes atteintes de la MA [Cagnin et al., 2001].

### **b- Astrocytes**

Les astrocytes sont des cellules gliales du SNC, décrites comme des cellules qui assurent plusieurs fonctions dont le métabolisme énergétique du système nerveux. Ils ont un rôle dans la production de neurotransmetteurs, participent à la transmission nerveuse, le maintien de la balance ionique du milieu extracellulaire et le maintien de l'intégrité du cerveau [Oberheim et al., 2012]. Dans la MA les astrocytes deviennent réactifs et adoptent un phénotype immunitaire caractérisé par la production de cytokines telles que le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$ . Ils sont aussi capables de sécréter des chimiokines et de produire du NO en surexprimant la NO synthase inducible (iNOS) et participent ainsi aux lésions cérébrales secondaires. [Dong et al., 2001].

### **c- Les neurones**

Les neurones assurent avec les cellules gliales l'homéostasie du cerveau ainsi que la transmission de l'influx nerveux [Chaput., 2012]. Ils sont également capables d'induire la production de médiateurs de l'inflammation conduisant à leurs mort : L'IL-1 $\beta$ , l'IL-6, TNF- $\alpha$  [Natarajan & Bright, 2002 ; Aloisi et al., 1992].

## **I. 2. 2. 5. 5. 2. Les médiateurs moléculaires de la neuroinflammation**

### **a- Les cytokines**

Après une infection cérébrale, les cellules immunitaires, les neurones et les autres cellules gliales produisent rapidement des cytokines. L'étude des variations de concentrations des différentes cytokines après une agression a permis de mettre en évidence deux grands groupes de cytokines sur différents modèles : l'IL-1 $\beta$  et le TNF- $\alpha$  aggravent les lésions cérébrales tandis que l'IL-10 et le transforming growth factor (TGF)- $\beta$  ont un potentiel Neuro-protecteur [Basu et al., 2005].



## b- Les chimiokines

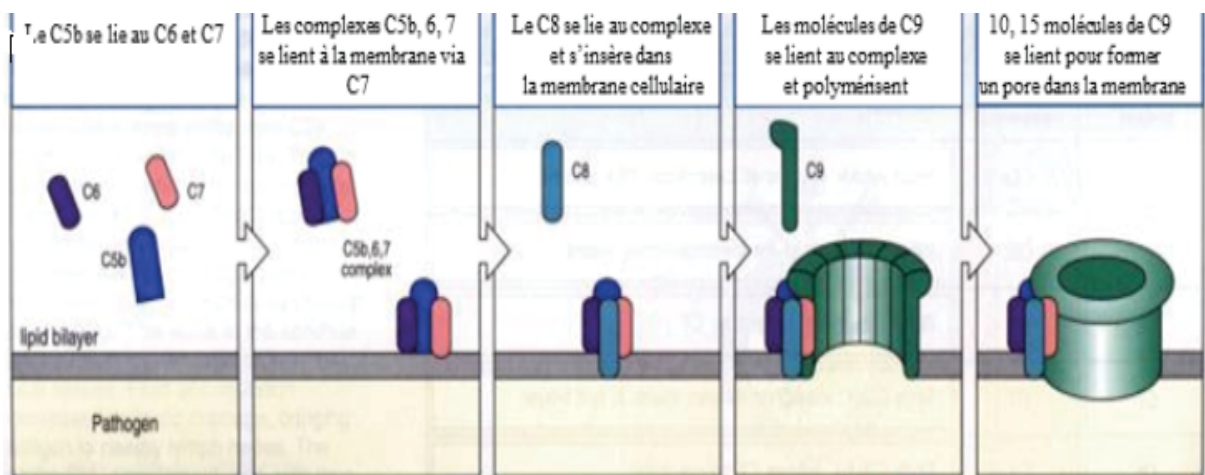
Ce sont des polypeptides jouant un rôle dans la communication intracellulaire et le recrutement des cellules de l'inflammation. Leur expression favorise l'infiltration leucocytaire suite à une neuroinflammation [Chen et al., 2003].

Par ailleurs, les chimiokines sont capables de modifier la perméabilité de la BHE en altérant les protéines des jonctions serrées [Stamatovic et al., 2005].

## c- Le complément

Le système du complément joue un rôle important dans la reconnaissance et l'élimination de pathogènes. Mais son activation à des degrés excessifs peut causer des dommages tissulaires sévères.

Il pourrait être impliqué dans l'évolution des désordres neurodégénératifs comme la MA où on retrouve le complexe d'attaque membranaire (CAM) autour des PS et les DNF [Sadallah et Schifferli., 2018]. L'activation du système du complément semble être impliquée dans l'apoptose neuronale [Van Muiswinkel *et al.*, 1996].



**Figure 06 :** formation du complexe d'attaque membranaire d- Monoxyde d'azote (NO)

Le NO est une molécule qui participe à la régulation du tonus vasculaire, la communication neuronale et la défense immunitaire. Celle-ci est synthétisée par les NO synthases : la NOS endothéliale (eNOS), la NOS neuronale (nNOS) et la NOS inducible (iNOS) [Levine et al., 2012].

Le monoxyde d'azote est produit par les cellules microgliales consécutivement à un traitement par le peptide A $\beta$  [Lue *et al.*, 2001] ou par des cytokines activatrices [Meda *et al.*, 1999]. Les cellules microgliales provenant d'individus atteints de MA produisent de grandes quantités de NO après stimulation comparativement aux cellules microgliales provenant de sujets âgés non déments [Lue *et al.*, 2001]. La synthèse du NO au cours du développement de la MA pourrait également contribuer à la formation des DNFs [Saez et al., 2004].

### I. 2. 2. 6. Enzyme de conversion de L'Angiotensine (ECA)

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) est une enzyme clé du SRA (Système Rénine-Angiotensine), qui peut convertir l'angiotensine I (Ang I) en un peptide actif appelé l'angiotensine II (Ang II). Plusieurs études ont été faites sur l'ECA et le risque de développer la maladie d'Alzheimer (Lehmann et al., 2005 ; Wang et al., 2014; Wang et al., 2015).

#### I. 2. 2. 6. 1. Le système Rénine Angiotensine (SRA)

Le système rénine-angiotensine joue un rôle prépondérant dans l'homéostasie sanguine et le contrôle des fonctions cardiovasculaires de l'organisme (Laragh et Sealey, 2010).

Il est composé d'enzymes protéolytiques telles que la rénine et l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), mais également de peptides ayant ou non un potentiel vasoactif (angiotensinogène, l'angiotensine I et l'angiotensine II), ainsi que de deux types de récepteurs à sept domaines transmembranaire (RAT1 et RAT2) jouant le rôle de protéines fonctionnelles de ce système (Abdull, 2010).

La mobilisation du SRA fait suite à une activation des cellules spécialisées de l'appareil juxta-glomérulaire au niveau rénal en réponse à une baisse de pression artérielle ou une diminution de l'osmolarité plasmatique. En effet, les cellules myoépithélioïdes de l'artériole afférente du glomérule, dans lesquelles est synthétisée et stockée la rénine qui va être ensuite sécréter sous sa forme active dans la circulation. La rénine ainsi diffuse dans les compartiments plasmatique, lymphatique et interstitiel où elle agira sur son substrat, l'angiotensinogène produite par le foie, en vue de sa transformation en angiotensine I (Ang I). À son tour, l'Ang I sera converti en angiotensine II (Ang II) par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) qui est généralement présente sur le lit vasculaire endothélial des vaisseaux sanguins. L'Ang II, en se fixant à ses récepteurs AT1 et AT2, régule la pression artérielle en induisant une vasoconstriction et en augmentant la volémie par l'intermédiaire de l'aldostérone (Abdull, 2010).

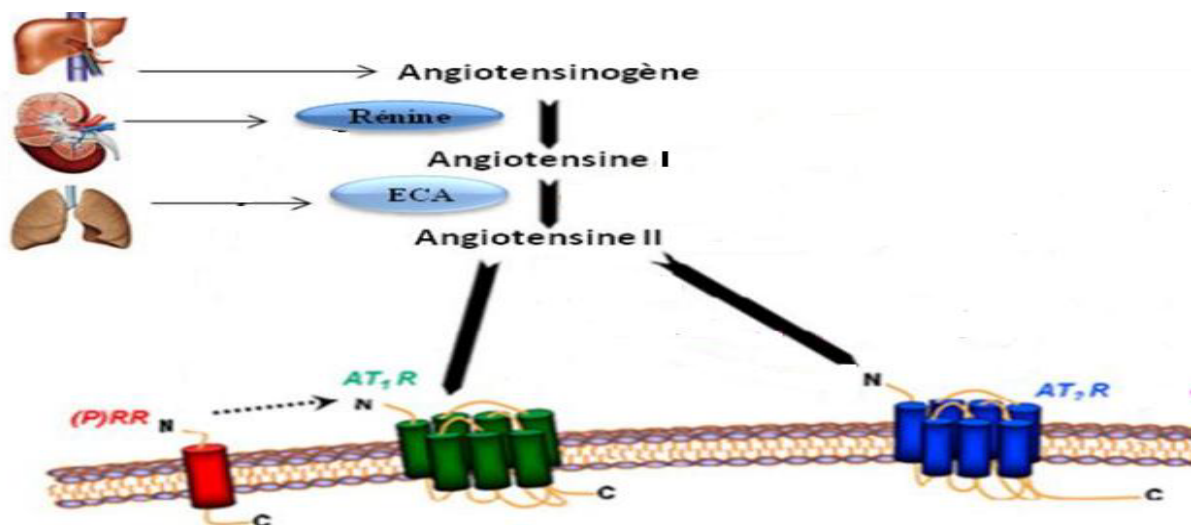


Figure 07 : Le système Rénine Angiotensine (Jones *et al.*, 2008).

### **I. 2. 2. 6. 2. La Rénine**

La rénine appartient à la famille très ancienne des aspartyl protéases sécrétée par les cellules juxta-glomérulaires rénales et est initialement synthétisée sous forme de prépro-rénine. Il s'agit d'une pro-enzyme de 406 résidus d'acides aminés dont le clivage d'une séquence de 23 acides aminés produit la pro-rénine (383 acides aminés). Cette dernière, à son tour, sera tronquée de 43 acides aminés pour former la rénine (Abdull, 2010).

La rénine a la particularité d'avoir un pH optimum (5 à 7,5 pour la rénine humaine) beaucoup plus alcalin que les autres aspartyl protéases qui agissent habituellement dans des conditions de pH comprises entre 2 et 4. Par ailleurs, la rénine possède un substrat spécifique (l'angiotensinogène), alors que les autres aspartyl protéases ne présentent pas cette spécificité d'action (Gould et Green, 1971).

### **I. 2. 2. 6. 3. L'Angiotensinogène**

L'angiotensinogène, est une glycoprotéine appartenant à la famille des inhibiteurs des sérine-protéases (serpines) qui sont des protéines hépatiques jouant un rôle dans l'inflammation, comme l' $\alpha$ 1-antitrypsine, l'antithrombine III et l'ovalbumine (Doolittle, 1983). L'angiotensinogène est toujours le seul substrat connu qui est soumis à l'activité enzymatique de la rénine et par conséquent, le précurseur direct de l'angiotensine I (Lefebvre, 2008).

L'angiotensinogène est principalement synthétisé et sécrété dans le foie. Il existe néanmoins d'autres lieux de synthèse d'angiotensinogène comme le cerveau, le rein, le cœur et la glande surrénale (Gardier, 2004).

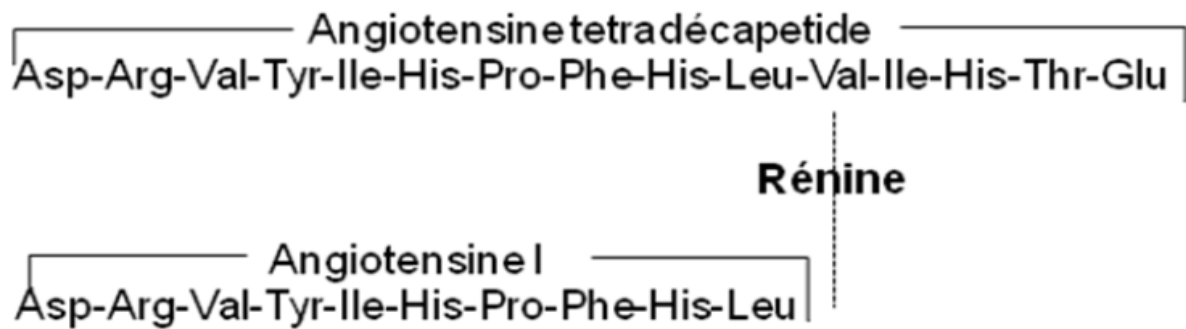
Le gène de l'angiotensinogène est situé sur le chromosome 1 locus q42-q43 et se compose de 5 exons et de 4 introns, totalisant près de 13000 bases (13 kb).

Il n'y a pas de processus de stockage de l'angiotensinogène et son taux de sécrétion est donc principalement régulé au niveau transcriptionnel. Les œstrogènes, les glucocorticoïdes, les hormones thyroïdiennes et l'angiotensine II augmentent la sécrétion d'angiotensinogène (Gardier, 2004).

### **I. 2. 2. 7. Les Angiotensines**

#### **I. 2. 2. 7. 1. L'Angiotensine I**

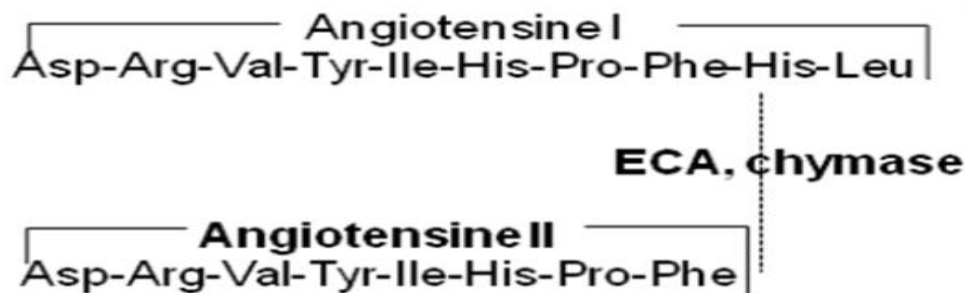
L'angiotensine I (Ang I) est le produit de la réaction de la rénine sur son substrat l'angiotensinogène. Elle clive son substrat entre l'acide aminé en position 10 (leucine) et celui en position 11 (leucine ou valine chez l'homme) pour libérer l'angiotensine I. Ce peptide, dont la séquence correspond aux 10 acides aminés NH<sub>2</sub> terminaux de l'angiotensinogène est une molécule inactive, qui peut être clivée par différentes enzymes pour produire des peptides biologiquement actifs, dont l'angiotensine II (Ang II), considérée comme l'effecteur majeur du SRA (Gardier, 2004).



**Figure 08** : Synthèse de l'Angiotensine I par la rénine (Wright et Harding, 2008).

### I. 2. 2. 7. 2. L'Angiotensine II

Une métallo-protéase à zinc, l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), transforme l'Angiotensine I en Angiotensine II (Ang II), qui est un octapeptide physiologiquement actif et un puissant vasoconstricteur. D'autres enzymes comme les chymases produites dans le cœur, constituent une voie parallèle de synthèse de l'Ang II, c'est l'hormone peptidique la plus puissante du SRA. Elle a de nombreuses fonctions telles que la régulation de la PA, le tonus vasculaire et le contrôle de la rétention d'eau (Kim *et al.*, 1995). Elle influence aussi les fonctions endothéliales et stimule l'inflammation, la prolifération et le processus de thrombose (Schrader *et al.*, 2007).



**Figure 09** : Synthèse de L'Angiotensine II par l'ECA (Wright et Harding, 2008).

### I. 2. 2. 8. L'enzyme de conversion de l'Angiotensine (ECA)

#### I. 2. 2. 8. 1. La protéine de l'ECA

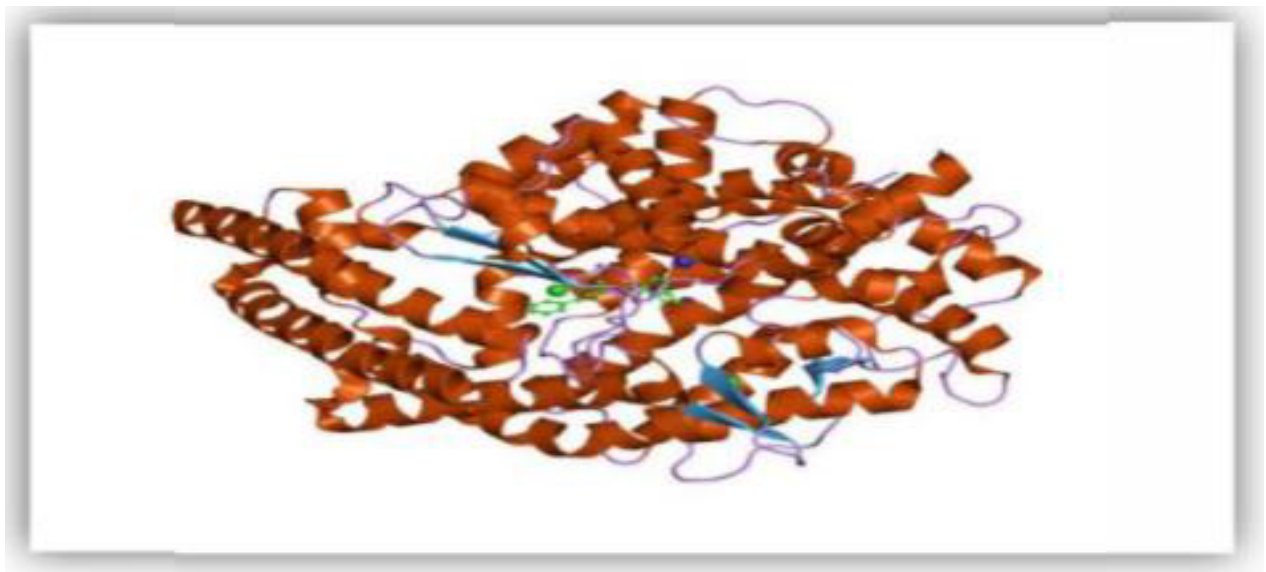
L'ECA est une enzyme ubiquitaire, à Zinc très répandue chez les Mammifères et très largement distribuée dans l'organisme puisqu'elle est présente dans presque tous les tissus (Laraqui, 2006 ; Gardier, 2004). Elle est connue sous différentes dénominations, comme la dipeptide carboxypeptidase ou la peptidyl peptide hydrolase ou Kininase II (EC 3.4.15.1) (Laraqui, 2006 ; Lefebvre, 2008). Elle a de nombreux substrats: angiotensine I, bradykinine, enképhaline. La

séquence complète en acides aminés de l'ECA a été déterminée. Elle existe sous trois formes, **une forme membranaire** pourvue de peptide d'ancrage, de poids moléculaire 160 kDa, **une forme circulante** soluble légèrement plus petite, qui résulte d'un clivage protéolytique au niveau de la partie ancrée à la membrane cellulaire, de PM 140 kDa, et **une forme testiculaire** de PM 90 kDa.

L'ECA est une protéine hautement glycosylée (les sucres représentent selon les formes 20 à 30% du poids moléculaire de l'enzyme). Elle est synthétisée sous forme d'un précurseur avec un peptide signal qui est clivé pour donner la molécule mature (Laraqui, 2006).

### I. 2. 2. 8. 2. Structure de l'ECA

L'étude de la séquence de l'ECA membranaire met en évidence une structure protéique comportant quatre domaines distincts: un court domaine intracellulaire carboxy-terminal de 24 acides aminés; un domaine transmembranaire hydrophobe de 20 acides aminés servant d'ancrage de la protéine dans la membrane cellulaire; deux domaines extracellulaires montés en séries, ayant entre eux une forte homologie (60%) et possédant chacun un site actif pouvant lier le zinc (**figure 09**) (Laraqui, 2006).



**Figure 10** : Structure de l'ECA (Protein Data Bank).

Il est probable qu'un seul des deux sites de la molécule d'ECA est réellement actif in vivo en raison que seulement une molécule unique d'inhibiteur soit suffisante (Laraqui, 2006).

La forme somatique de l'ECA contient 1306 acides aminés, parmi lesquels 14 résidus de cystéines et 17 sites de N-glycosylation. La séquence primaire de l'ECA montre deux régions hydrophobes : Une séquence de 29 acides aminés se situant à la région N-terminale qui est absente dans la forme mature de l'enzyme et une deuxième séquence hydrophobe de 17 acides aminés localisée pré de la région C-terminal de l'enzyme (Nigel, 1996).

Borah en 2011, suggère que la forme circulante provient de la forme liée à la membrane des cellules épithéliales. La structure de la forme germinale de l'ECA, exprimée dans les testicules

montre un seul domaine des deux domaines extracellulaires de la forme somatique (Borah *et al.*, 2011).

### **I. 2. 2. 8. 3. La Fonction et le rôle de l'ECA**

L'ECA est un composant important du SRA, impliqué dans le maintien de la pression artérielle et l'équilibre hydrominéral par différents mécanismes telles que la vasoconstriction, la libération de l'aldostérone suite à une rétention du sodium et de l'eau, la régulation de l'équilibre sanguin intra-rénal, la stimulation de la soif et la libération de la vasopressine et des catécholamines (Laraqui, 2006).

La fonction majeure de l'ECA est d'hydrolyser les deux derniers acides aminés de l'extrémité carboxy-terminale des peptides. L'activité de cette métallo-enzyme à zinc nécessite la présence d'anions en particulier l'atome de zinc et du chlore, qui modifiant la conformation allostérique du site actif, on lui donnant une spécificité pour les substrats di-peptidiques (Laraqui, 2006).

L'ECA joue un double rôle : Elle transforme l'angiotensine I en angiotensine II, par ailleurs elle dégrade la bradykinine en kinines inactives et les peptides neuronaux : Substance P, enképhalines, la LH-RH (Baudin, 2005). Un taux élevé d'ECA dans le plasma ainsi que dans les parois des vaisseaux favoriserait la formation d'angiotensine II et la dégradation de la bradykinine (Leclerc *et al.*, 2013).

### **I. 2. 2. 8. 4. Gène de l'ECA**

Le gène de l'ECA est localisé sur le bras long du chromosome 17q23, avec une taille d'environ 21 Kb et constitué de 26 exons et 25 introns (**figure 11**) (Crisan and Carr, 2000). Deux promoteurs donnent lieu : A une *ECA somatique* largement distribuée dans l'organisme, en utilisant les exons 1 à 26 sauf l'exon 13, et par épissage alternatif à une *ECA testiculaire*, utilisant les exons 13 à 26, qui est requise pour la fertilité masculine (Sayed-Tabatabaei *et al.*, 2006).

La longueur des exons varie de 88 pb (exon 16) à 481 pb (exon 26). La taille des introns varie de 150 pb (introns 17 et 25) à 2000 pb (intron 20). Son transcrit mature, ayant une taille de 4.3 Kb, est traduit en un peptide de 1340 acides aminés (Laraqui, 2006).

L'analyse par Southern-Blot de l'ADN génomique indique qu'un seul gène de L'ECA existe aussi bien chez l'homme que chez la souris (Soubrier *et al.*, 1988).

Selon le National Center for Biotechnology Information (NCBI), il a été répertorié plus de 160 polymorphismes génétiques de ce gène, dont la plupart sont des polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs : single nucléotide polymorphismes). Seulement 34 de ces polymorphismes sont situés dans les régions de codage ; 18 d'entre eux sont des mutations faux-sens (Sayed-Tabatabaei *et al.*, 2006).

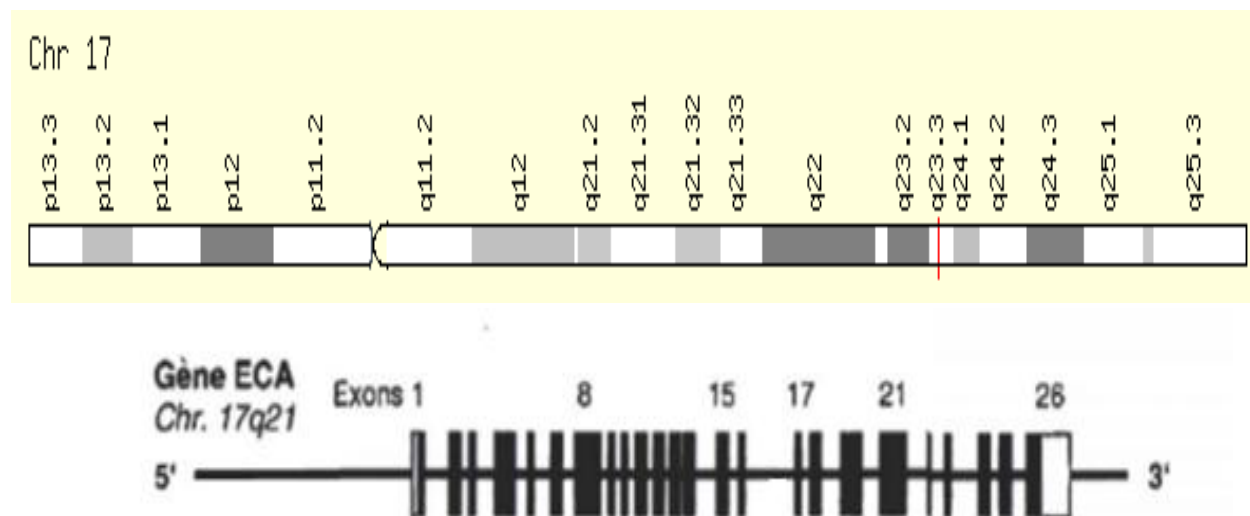


Figure 11 : Locus du gène de l'ECA (Lefebvre, 2008).

### I. 2. 2. 9. Polymorphisme du gène ECA dans la maladie d'Alzheimer

Plusieurs polymorphismes ont été rapportés dans des gènes du SRA et représentent des facteurs génétiques qui affectent à la fois le SRA de circulation et de tissu. Ils comprennent des polymorphismes dans les gènes d'Angiotensinogène, ECA et AGTR1.

#### I. 2. 2. 9. 1. Polymorphisme génétique de l'ECA

Le polymorphisme du gène *ECA* a d'abord été rapporté par Rigat et ces collaborateurs en 1990 par analyse du polymorphisme de longueur de fragment de restriction (RFLP) et hybridation de Southern dans une étude qui a abordé le rôle du gène *ECA* dans le contrôle génétique des niveaux plasmatiques d'ECA (Rigat *et al.*, 1990).

Le clonage de l'ADNc de l'ECA a permis d'identifier un polymorphisme d'Insertion (I)/Délétion (D) d'un fragment intronique de 287 pb, riche en séquence *Alu*, au sein de l'intron 16 (Soubrier *et al.*, 1988) (**figure 12**). La séquence *Alu* appartient à une famille d'ADN modérément répétitive possédant en général un site de restriction pour l'enzyme *Alu*. Elle comporte 300 000 copies de 300 pb, retrouvées tout au long du génome, même dans les introns des gènes comme pour l'ECA. La fonction de ces séquences *Alu* est actuellement inconnue et un rôle éventuel dans la réplication n'est pas encore prouvé (Laraqui, 2006).

La présence singulière de formes délétées ou insérées pour une séquence de 190 pb reflète l'existence de deux allèles: I (Insérée) de 490 pb et D (Délété) de 190 pb et définit le polymorphisme du gène ECA I/D (Laraqui, 2006).

Trois génotypes sont possibles, deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygotes (ID) (Laraqui, 2006), ce polymorphisme I/D affecte fortement le taux plasmatique de l'ECA, mais son

mécanisme d'action est probablement lié à un déséquilibre de liaison avec un autre polymorphisme plutôt qu'à un effet direct puisque le polymorphisme I/D est localisé dans un intron (Rigat *et al.*, 1990).

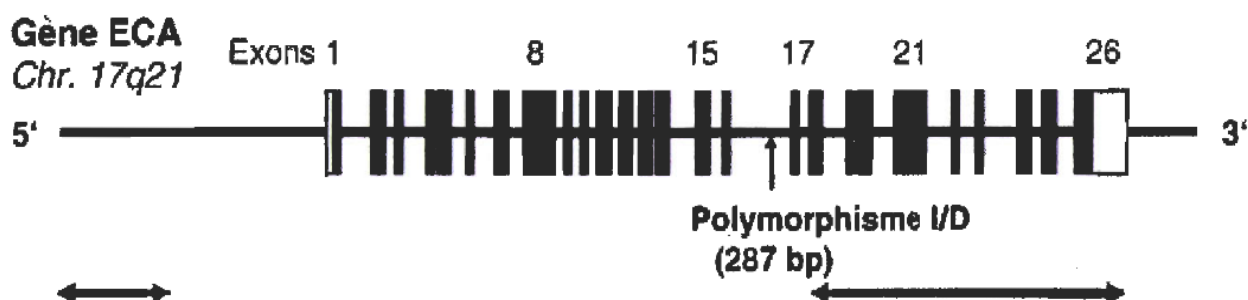


Figure 12 : Polymorphisme génétique de l'ECA (Lefebvre, 2008).

### I. 2. 2. 9. 2. Corrélation phénotype-génotype

Il existe une relation directe entre le génotype de l'ECA et son phénotype. Cette relation génotype-phénotype est transmissible, en application des lois de Mendel (Laraqui, 2006).

En effet, la fréquence des allèles varie considérablement entre les populations. La corrélation entre génotype et le niveau d'ECA plasmatique a montré une relation significative entre la dose d'allèle D et la concentration d'ECA. Normalement, les niveaux d'ECA plasmatique présentent une variation interindividuelle marquée mais semblent remarquablement stables lorsqu'ils sont mesurés à plusieurs reprises dans le même sujet expliquant près de 40 % de la variance de ces taux et par conséquent à la concentration plasmatique de l'angiotensine II (Shafiee *et al.*, 2010). La gamme normale d'ECA plasmatique et les unités de mesures dépend de la méthode de détection utilisée. En 1990 Rigat et ses collaborateurs ont utilisé la mesure directe du dosage radio-immunologique de l'enzyme ECA (en **g/l**). Par la suite, des tests fonctionnels utilisant une mesure spectrophotométrie (en **U/L**) ont été utilisés (Rigat *et al.*, 1990).

En effet, le niveau plasmatique de l'ECA est environ deux fois plus élevés chez les sujets DD comparativement au sujet II, alors que les sujets ID possèdent un niveau intermédiaire. Cette contribution génétique des niveaux de l'ECA est également observée chez les lymphocytes T humain, dans cette étude le niveau d'expression de l'ECA des cellules synthétisant l'enzyme est déterminé génétiquement. De même, Danser et collaborateurs en 1995, démontrent que l'activité de l'ECA dans le tissu cardiaque est plus élevée chez les sujets DD comparativement aux autres sujets. Il est donc possible de conclure que la concentration plasmatique, le niveau d'expression de même que l'activité de l'ECA sont fortement influencés par le polymorphisme I/D (Danser *et al.*, 1995).



Cependant, Plus récemment, d'autres polymorphismes ont été mis en évidence sur le gène de l'ECA situé sur des régions variables de ce dernier: (T-5491C, T-93C, a-240T, T237C, 4656CT2/3). Ces polymorphismes ne sont pas encore identifiés comme fonctionnels et leur relation à une éventuelle pathologie est en cours d'étude (Laraqui, 2006).

Deux d'entre eux se situent en position -201 et -152 en amont de l'exon 8. Il s'agit d'une substitution nucléotidique d'une adénine en guanine et d'une Insertion/Délétion d'une adénine au niveau de la position -152. L'haplo type guanine en position -201 et délétion dans l'intron 16 a pu être associée au développement d'une néphropathie diabétique (Doria *et al.*, 1994).

Il existe donc une relation directe entre le génotype de l'ECA et son phénotype, cette relation génotype/phénotype est transmissible, en application des lois de Mendel (Laraqui, 2006).

### **I. 2. 2. 9. 3. Association du polymorphisme I/D de l'ECA à la maladie d'Alzheimer**

La maladie d'Alzheimer (MA) est une cause fréquente de morbidité et de mortalité chez les personnes âgées et se caractérise par la perte de mémoire progressive et dysfonctionnement cognitif [Mucke., 2009].

Les cerveaux des patients atteints de MA sont essentiellement caractérisés par une perte neuronale et synaptique, des plaques extracellulaires composés de peptides amyloïdes- $\beta$  et intra-neuronaux enchevêtrements neurofibrillaires. Plaques séniles composées principalement d'amyloïde- $\beta$  ( $A\beta$ ) sont particulièrement importantes dans la pathologie de la MA [Selkoe., 2008]. Parmi les gènes liés à l' $A\beta$ , le gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) est étroitement lié à la production et à la dégradation d' $A\beta$  [Kehoe et al., 2009].

Cependant, L'ACE catalyse également la formation de l'angiotensine II (Ang II) vasoconstricteur à partir de l'angiotensine I.

les actions d'Ang II dans le système nerveux central sont également d'un intérêt croissant dans le contexte de la maladie d'Alzheimer (MA).

L'Ang II inhibe la libération d'acétylcholine (ACh) et a un effet pro-inflammatoire [Miners., 2010].

Le gène ACE est situé sur le chromosome 17q23. Le polymorphisme le plus courant du gène ACE est le variant d'insertion/suppression (I/D) de 287 paires de bases dans l'intron 16. Il a été suggéré que ce polymorphisme est associé aux taux des protéines sériques d'ACE [Biller et al., 2006], l'activité spécifique du domaine protéique ACE [Van Esch et al., 2008] et l'activité transcriptionnelle de la région promotrice du gène ACE [Wu et al., 2013].

En outre, l'ACE peut abaisser les niveaux d'amyloïde- $\beta$  en favorisant sa dégradation et, par conséquent, renforcent l'hypothèse du rôle de l'ECA dans la pathogenèse de la MA [Baughman et al., 2001].

Cependant, une hypothèse plus nuancée suppose des rôles divergents d'ACE dans la dégradation d' $A\beta$ . ACE peut d'abord médier une action neuroprotectrice à court terme mais la production de l'Ang II peut alors entraîner des conséquences délétères à plus long terme et de plus grande envergure (c.-à-d. lésion de la barrière hémato-encéphalique, réduction cérébrale débit sanguin, dépôt d' $A\beta$ , inflammation et réduction de l'activité cholinergique) [4].

Cependant, dans l'une ou l'autre explication de la pathogenèse, le polymorphisme ACE I/D devient une considération importante comme facteur de risque de sensibilité à la MA. Peut-être à cause de ces diverses actions d'ACE, les associations potentielles avec la MA ont été examinées dans un grand nombre d'études dans le monde mais ont généré des résultats équivoques [Lehmann et al., 2005 ; Wang et al., 2014 ; Wang et al., 2015].

*CHAPITRE II*

**PATIENTS ET METHODES**

## Patients et Méthodes

### II. 1. Patients

#### II. 1. 1. Populations étudiées

Notre volet pratique a été réalisé au sein du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire, faculté de médecine, université 3, et au CHU de Constantine.

Il s'agit d'une étude transversale de type cas-témoins. Elle a duré deux mois et a porté sur deux populations.

#### II. 1. 2. Recrutement

- Les malades:

Il s'agit d'un échantillon de la population nord Constantinoise présentant une maladie d'Alzheimer diagnostiquée, et intéresse les deux sexes.

Les recrutements de malades ont été effectués au niveau de :

- Service de neurologie CHU de Constantine.
- En consultation privée (Constantine).

- Les témoins:

Sujets sains des deux sexes recrutés au niveau de la maison de retraite de Constantine (Hamma Bouziane).

#### II. 1. 3. Critères diagnostics clinico-biologiques

Les critères diagnostics de recrutement des patients sont ceux du DSM IV (Diagnostic and statistical Manual of Mental Disorders Fourth Edition), ceux de la NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer Disease and Related Disorders Association), plus un examen MMSE modifié (Mini Mental Status Examination).

#### II. 1. 4. Critères d'inclusion et d'exclusion

Des critères d'inclusion et d'exclusion ont été établis pour les malades et pour les témoins.

- Malades

- Critères d'inclusion :

Les sujets présentant une MA probable ou possible retenues au niveau du service de Neurologie du CHU de Constantine ou en consultation privée (MMSE inférieur ou égal à 24)

- Critères d'exclusion :

Les patients présentant une démence vasculaire ou tumorale seront exclus de cette étude.

- Témoins :

- Critères d'inclusion :

Tous les sujets âgés de plus de 50 ans acceptant de participer à l'enquête et ne présentant pas de maladie d'Alzheimer.

- Critères d'exclusion

Tous les sujets présentant un MMSE supérieur à 24.

## **II. 2. Méthodes**

### **II. 2. 1. Questionnaire**

Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer probable ou possible est confirmé pour chacun de nos malades par le médecin neurologue. Tous les sujets de notre étude ont subi une évaluation cognitive via le test de l'MMSE (modifier) (**Annexe 1**), un score est attribué pour chaque malade.

Un interrogatoire du patient est mené par nous même ou par le médecin consultant. Un questionnaire à été établi en collaboration avec les médecins neurologues comportant l'état civil du patient, le niveau d'étude, les facteurs de risques mnésiques, les antécédents personnels etc.... (**Annexe 2**).

L'interrogatoire a apprécié la sédentarité et l'existence d'antécédents familiaux d'Alzheimer et de coronaropathies ou d'autres localisations cliniques d'athérome. Les antécédents personnels et familiaux ont porté sur les autres facteurs de risque en priorité, chez les sujets et leurs familles maternelles et paternelles.

### **II. 2. 2. Le prélèvement sanguin**

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans un tube à EDTA en quantité de 5 à 10 ml, après consentement du patient. Les prélèvements du sang ont été réalisés au niveau du pli du coude après la pose d'un garrot. Les tubes portent des étiquettes avec les noms et prénoms des sujets ainsi que la date du prélèvement.

## **II. 3. Etude Moléculaire**

### **II. 3. 1. Extraction de l'ADN**

Les études génétiques visent le génome humain pour avoir de l'ADN, origine de l'information génétique est contenue dans les leucocytes. Nous avons employé la méthode d'extraction utilisant du Na Cl.

#### **➤ Principe**

L'extraction de l'ADN consiste en l'isolement de leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges, ils sont ensuite traités par :

Un détergent Sodium dodécyle sulfate (SDS), qui possède une action lytique sur les membranes cellulaires, il inhibe les nucléases et dénature les protéines par destruction de leur structure tertiaire, ainsi qu'une protéinase K, qui dénature et dégrade les protéines.

L'ADN nucléaire sera libéré des différentes protéines ainsi digérées et éliminées par précipitation au Na Cl. Le surnageant récupéré est traité par de l'éthanol pur, une pelote d'ADN est

formée. L'ADN est solubilisé en phase aqueuse, sa pureté ainsi que sa concentration sont estimés par spectrophotomètre à UV (**Annexe 3**).

## II. 3. 2. Génotypage de l'ECA

### II. 3. 2. 1. La PCR (Polymerase Chain Reaction)

La PCR (*Polymerase Chain Reaction* ou réaction de polymérase en chaîne) est une technique de biologie moléculaire, mise au point en 1985 par Kary Mullis. Il s'agit d'une technique d'amplification d'ADN *in vitro*. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie.

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes : Une **dénaturation** de l'ADN suivie d'une **hybridation** des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, puis une **élongation** grâce à l'action d'une ADN polymérase, *Taq polymérase*. Ce cycle est répété de 30 à 40 fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible.

#### ➤ Préparation du milieu réactionnel (mix) de PCR:

Pour préparer le milieu réactionnel ou un mix de PCR, il faut multiplier la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu+un. Un milieu réactionnel de PCR d'un volume final de 25µl a été préparé.

Le mix comprend des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP 2mM), une enzyme d'amplification *in vitro* (*Taq polymérase*), un environnement réactionnel (Tampon, MgCl<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O) et deux amorces Oligonucléotidiques (**tableau 1**).

**Tableau I :** Amorces utilisées pour l'amplification du gène ECA

Sens des amorces	Séquence nucléotidique
ECA 1R (Sens)	5'- CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3'
ECA 1F (anti sens)	5'- GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGAT-3'

Après avoir préparé le mix de la PCR (**tableau 2**), selon le nombre d'échantillon, nous avons pris 24µl de ce mélange avec 1µl d'ADN dans chaque tube de PCR pour chaque sujet.

**Tableau II** : Les quantités de chaque constituant du milieu réactionnel de la PCR

<b>Mix de PCR</b>	<b>Quantité en <math>\mu</math>l</b>
Tampon de Taq 10X	<b>2.5</b>
MgCl <sub>2</sub> (50mM)	<b>2</b>
dNTP (2mM)	<b>2</b>
Taq polymérase (5U/ $\mu$ l) Biomatik	<b>0.4</b>
ECA 1F (20 pmol/l)	<b>0.5</b>
ECA 1R (20 pmol/l)	<b>0.5</b>
Eau distillée	<b>16.1</b>
ADN	<b>1</b>

### ➤ **Déroulement des cycles de la PCR**

Le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par un thermocycleur et les conditions d'amplification étaient comme suit :

Une dénaturation initiale à 94°C pendant 1 minute, suivie de 30 cycles de PCR, comprenant chacun une dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, une hybridation à 65.8°C, une élongation à 72°C pendant 1 minute et enfin une élongation finale à 72°C pendant 8 minutes.

### ➤ **Préparation du gel d'agarose 2%**

Le gel est préparé en mélangeant 2g d'agarose et 100 ml TBE (**Annexe 4**) additionné de 10 $\mu$ l du bromure d'éthidium qui est un agent intercalant servant à émettre une fluorescence par révélation sur une table à UV. Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale ou on a déposé un peigne. On laisse le gel se polymériser à l'air libre.

### ➤ **Contrôle des produits de la PCR**

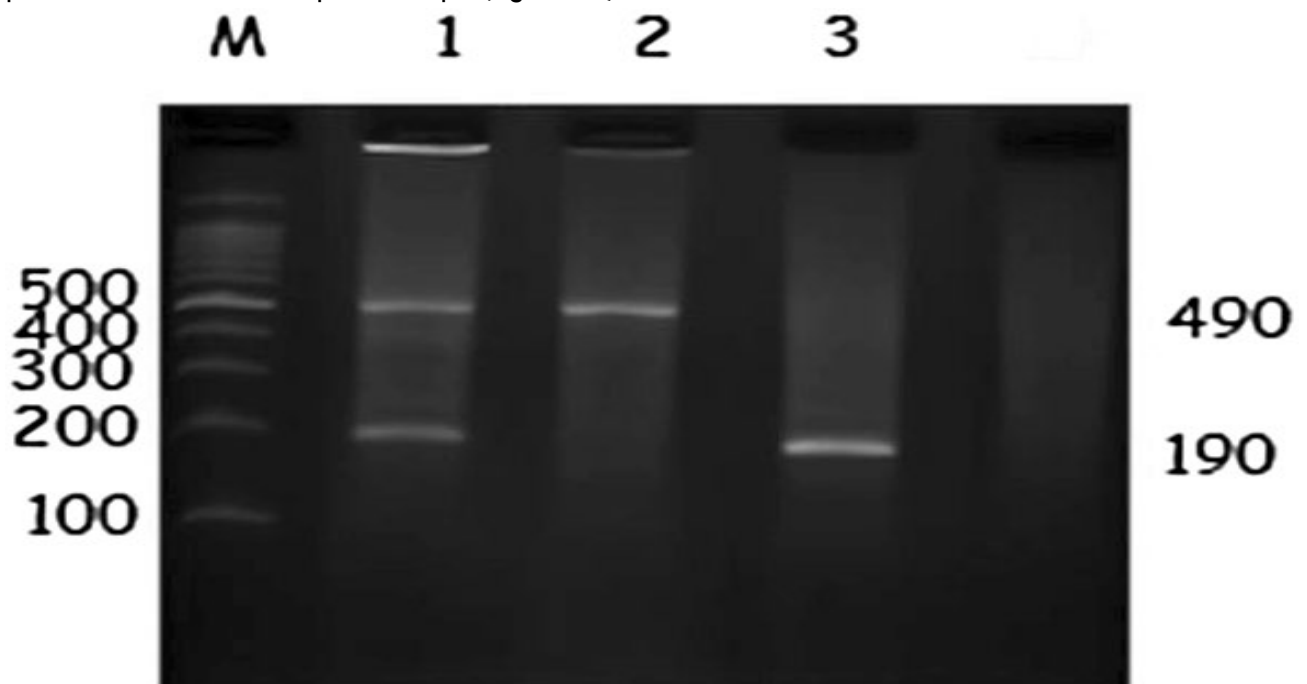
L'identification des géotypes DD, II, ID du gène ECA a été faite par migration électrophorétique des produits de PCR sur gel d'agarose à 2%, contenant de BET (Bromure d'éthidium). Donc pour cela, nous avons déposé dans chaque puits du gel le produit amplifié mélangé avec 2  $\mu$ l du tampon de charge (DNA Loading Buffer), ce dernier permet de suivre le front

de migration. Un échantillon sans ADN (blanc : témoin négatif), est inclus dans la série à amplifier et sert de control négatif. La migration se fait en parallèle avec un marqueur de taille (100 Pb LADDER). Le dépôt se fait du côté cathode (-) soumis sous un courant de 100 volts pendant 30 à 45 minutes.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV dans un Transilluminateur. Les molécules de bromure d'éthidium fixées à l'ADN émettent une lumière visible (fluorescence) et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes. Ce contrôle permet aussi de confirmer l'amplification de notre ADN et d'exclure toute contamination d'ADN survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le témoin blanc le blanc.

### ➤ Profil électrophorétique

Le profil électrophorétique montrant 3 bandes, une bande de 490pb, représente le phénotype homozygote inséré I/I, une bande de 190pb correspond au type homozygote délété D/D caractérisé par la délétion sur les deux allèles, le génotype hétérozygote I/D est représenté par deux bandes de 190pb et 490pb (**figure 13**).



**Figure 13** : Électrophorèse des produits amplifiés par PCR du polymorphisme du gène ACE (I/D) sur gel d'agarose 2%

**M** représente 100-bp DNA ladder; **piste 3** représente le génotype DD (190 pb); **piste 2**, représente le génotype II (490 pb) et **la piste 1**, représente le génotype ID (490 et 190 pb) du gène ACE.



## II. 4. Analyses statistiques

Nos résultats sont traités par des statistiques descriptives : Calcul de la moyenne arithmétique, de l'écart type et les pourcentages.

### • Calcul de l'odds ratio

Pour calculer l'odds ratio nous avons établi un tableau de contingence : Il est présenté sous forme de tableau croisé 2x2. Le statut malade/non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne (**Tableau III**)

**Tableau III** : Tableau de contingence pour le calcul de l'odds ratio

	Cas (malades)	Témoins (non-malades)	Total
Présence du facteur présumé de risque de maladie (exposés)	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>a + b</b>
Absence du facteur présumé de risque de maladie (non-exposés)	<b>c</b>	<b>d</b>	<b>c + d</b>
Total	<b>a + c</b>	<b>b + d</b>	<b>a + b + c + d</b>

- Le calcul de l'odds ratio se fait par la formule suivante :

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

L'odds ratio représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population (Prévalence < 5%).

Dans ce cas l'odds ratio peut être une bonne approximation du risque relatif que donnerait une enquête de cohorte pour la population.

### • Les intervalles de confiance

L'approche estimative de l'analyse statistique vise à quantifier l'effet étudié et le degré de certitude de cette estimation grâce à un intervalle de confiance, qui identifie généralement une fourchette de valeurs situées de part et d'autre de l'estimation. La fiabilité est de 95% par rapport à la valeur réelle.

La notion d'un intervalle de confiance repose sur l'idée suivante : Si la même étude était réalisée sur un échantillon différent de patients, les résultats ne seraient pas identiques, mais seraient proches du résultat véritable qui reste inconnu. L'intervalle de confiance estime cette variation due à l'échantillon.

Il a été calculé selon la méthode de Woolf (méthode des logits) pour la probabilité = 0.05 :  
 Intervalle de confiance Odds Ratio =  $(e)^{\ln(OR) \pm 1,96(1/A+1/B+1/C+1/D) / 2}$  (e) = 2.71828182845904.

• **P « value »**

Le seuil critique a priori est de 0.05 (risque  $\alpha$ ). Si la valeur de **p** calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative pour apparemment arbitraire est nécessaire pour l'homogénéité de la présentation des résultats.

L'usage a retenu de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001), qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision. Les résultats sont considérés comme significatifs à \*P < 0.05 et hautement significatifs à \*\*P < 0,01.

Dans notre étude, nous avons utilisé le logiciel «statistiques médicale et épidémiologiques» pour vérifier nos résultats (**figure 14**).

Statistiques médicales et épidémiologiques Outil de calcul médico-statistique permettant l'évaluation des indicateurs de risque et la liaison entre un facteur d'exposition et une maladie		
	Malades (Cas dans les enquêtes cas/témoins)	Non malades (Témoins dans les enquêtes cas/témoins)
Exposés	A <input type="text"/>	B <input type="text"/>
Non exposés	C <input type="text"/>	D <input type="text"/>

**X<sup>2</sup> (Khi carré ou chi carré)** : test de liaison permettant de vérifier s'il existe une relation entre le risque d'exposition et la maladie

**Ecart-réduit** (loi normale) : [interprétation](#)

**Coefficient Q de Yule** : [interprétation](#) (il mesure l'intensité de la liaison entre les deux variables (maladie/risque dû à l'exposition))

% **Taux de la maladie chez les individus exposés** =  $T(ex) = (A/A+B)$

% **Taux de la maladie chez les individus non exposés** =  $T(nex) = (C/C+D)$

% **Taux de la maladie chez l'ensemble des individus étudiés** =  $Tt = (A+C/A+B+C+D)$ . Selon l'enquête ce taux peut la prévalence ou l'incidence

% - **Intervalle de confiance à 95 % pour le taux de la maladie chez l'ensemble des individus étudiés** : borne inférieure

% - **Intervalle de confiance à 95 % pour le taux de la maladie chez l'ensemble des individus étudiés** : borne supérieure

% **Taux d'exposition au facteur de risque étudié chez les individus malades** =  $(A/A+C)$

% **Taux d'exposition au facteur de risque étudié chez les individus non malades** =  $(B/B+D)$

% **Risque attribuable (RA) ou (en excès)** : c'est la différence entre les taux de la maladie chez les individus exposés et non exposés =  $T(ex) - T(nex)$

**Risque relatif (RR)** = Le rapport des taux de la maladie chez les individus exposés et non exposés =  $T(ex)/T(nex) = (A/A+B)/(C/C+D)$

**Odds Ratio (Rapport des cotes)** =  $(A*D/B*C)$  : [interprétation](#)

- **Intervalle de confiance pour Odds Ratio (Méthode Woolf)** : [borne inférieure](#)

- **Intervalle de confiance pour Odds Ratio (Méthode Woolf)** : [borne supérieure](#)

**Figure14 : Le logiciel « statistiques médicale et épidémiologiques »**

## ***CHAPITRE III***

# **RESULTATS ET DISCUSSION**

## **II. 1. RESULTATS ET DISCUSSION**

### **II. 1.1. Répartition des sujets selon la pathologie et le sexe**

Cette étude cas témoin regroupe 60 sujets dont 40 témoins et 20 patients remplissant les critères du diagnostic de M.A probable. Répartis comme suit:

- 40 Témoins dont 20 Femmes et 20 Hommes.
- 20 M.A dont 08 Femmes et 12 Hommes

**Tableau IV:** Répartition des sujets selon la pathologie et le sexe

	<b>F</b>	<b>M</b>	<b>TOTAL</b>
<b>ALZ</b>	<b>8</b>	<b>12</b>	<b>20</b>
<b>témoin</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	<b>40</b>
<b>total</b>	<b>28</b>	<b>32</b>	<b>60</b>

Dans notre étude on ne retrouve pas de prédominance du sexe masculin par rapport au sexe féminin.

Selon plusieurs études, Les femmes ont un risque plus élevé de développer une maladie d'Alzheimer que les hommes [Sommer et al., 1998]. Cependant dans l'étude Paquid, l'incidence de la maladie d'Alzheimer était, avant 80 ans, plus élevée chez les hommes que chez les femmes, alors que c'est l'inverse après 80 ans [Letenneur et al., 1999].

Cette différence d'incidence en fonction du sexe pourrait être expliquée par des différences biologiques et hormonales, notamment un possible effet des œstrogènes. Plusieurs études ont montré que la prise de traitement hormono-substitutifs de la ménopause semblait être associée à une réduction de plus de 50% du risque de la maladie d'Alzheimer.

L'espérance de vie, plus élevée chez les femmes que chez les hommes, pourrait également expliquer les résultats observés.

Il faut noter que dans certains pays comme les États-Unis où cet écart d'espérance de vie entre hommes et femmes est moindre, l'incidence de la maladie d'Alzheimer ne varie pas selon le sexe [Edland et al., 2000].

### **II. 1. 2. Répartition par tranche d'âge**

Les malades et les témoins sont classés en tranche d'âge de 10 ans.

**Tableau V** : Répartition des malades et témoins par tranche d'âge

	<b>ALZ</b>		<b>Témoins</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>50-59</b>	<b>2</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>25</b>
<b>60-69</b>	<b>3</b>	<b>15</b>	<b>10</b>	<b>25</b>
<b>70-79</b>	<b>11</b>	<b>55</b>	<b>8</b>	<b>20</b>
<b>80-89</b>	<b>3</b>	<b>15</b>	<b>10</b>	<b>25</b>
<b>90-100</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>5</b>
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>100</b>	<b>40</b>	<b>100</b>

Notre étude montre une prévalence de la MA avoisinant les 10% dans la population âgée de moins de 60 ans ; elle augmente avec l'âge, la moitié environ (55%) de nos malades se trouve dans la tranche d'âge 70 -79 ans, suivi de la tranche d'âge 60-69 et 80-89 ans avec des taux de 15%.

L'âge moyen des sujets MA est de  $73,47 \pm 7,61$  légèrement supérieur à celui des témoins qui est de  $67,17 \pm 10,84$  (**Tableau VI**).

**Tableau VI** : Moyennes d'âge dans les groupes malades et témoins

	<b>F</b>	<b>M</b>	<b>Moyennes</b>
<b>ALZ</b>	<b><math>74,68 \pm 6,7</math></b>	<b><math>72,4 \pm 8,29</math></b>	<b><math>73,47 \pm 7,61</math></b>
<b>Témoins</b>	<b><math>68,26 \pm 12,2</math></b>	<b><math>66 \pm 9,27</math></b>	<b><math>67,17 \pm 10,84</math></b>

L'âge est sans conteste le principal facteur de risque de la MA.

Dans notre étude l'âge semble être lié à une augmentation exponentielle de la fréquence de la maladie, elle atteint un pic dans la tranche d'âge de 70-79 ans.

Cet augmentation est retrouvée dans toutes les études, dont la plupart montrent que l'incidence de la MA double pratiquement par tranche d'âge de 5 ans après 65 ans, alors que l'augmentation de la prévalence en fonction de l'âge est moins rapide après 90 ans. Certains travaux suggèrent qu'un plateau pourrait être atteint pour les classes d'âges les plus élevées.

Ces hypothèses ; suggérant que, passé un certain âge, cette croissance exponentielle se stabiliserait. Ceci reste à discuter dans la mesure où, au-delà de 85 ans, les effectifs des études sont faibles [Ritchie et Kildea., 1995].

Dans l'étude coopérative européenne le groupe de recherche EURODEM a rassemblé les résultats obtenus entre 1980 et 1990, sur 8 cohortes de sujets de plus de 65 ans [Letenneur et al., 1999] incluant des résultats obtenus sur la population française (étude PAQUID) [Stern et al., 1994]. La fréquence des démences augmente avec l'âge, passant de moins de 2% entre 65 et 69 ans à plus de 30% après 90 ans.

Plusieurs études sont menées pour expliquer, comment l'âge favorise-t-il la neurodégénérescence, une augmentation marquée dans la production des radicaux libres, peut prédisposer pour les désordres apparentés à l'âge [Cortopassi and Wong., 1999; Chun et al., 2008].

### **II. 1. 3. MMSE, évaluation du statut cognitif et du stade de la démence**

La démence comporte différents degrés de sévérité définie en fonction du score ou MMSE (mesure du déficit cognitif par le Mini-Mental State Examination), qui est une évaluation cognitive structurée et brève qui peut être appliquée au lit du malade ou en consultation par des cliniciens.

Ce test est sensible surtout aux troubles des fonctions cognitives rencontrés dans les démences et en particulier dans la maladie d'Alzheimer. Il évalue les fonctions cognitives suivantes: l'orientation spatio-temporelle, la mémoire immédiate, la concentration, le calcul mental, la mémoire de fixation (long terme), le langage et les habiletés visuocognitives [Ivanoiu., 2003].

Les auteurs du test (Folstein et al, 1975) ont proposé comme limite inférieure de la normalité le score de 24/30: un score < 24 signale la présence probable d'un syndrome démentiel.

Cette limite est abaissée pour les niveaux socioculturels bas [Ivanoiu., 2003].

En pratique, nous optons pour l'attitude suivante:

- MMSE > 27: la probabilité d'un syndrome démentiel est très faible (mais pas nulle).
- MMSE = 24-27: zone de doute.
- MMSE < 24: haute probabilité de la présence d'un syndrome démentiel.

Le score global reflète une performance dont l'interprétation nécessite de prendre en compte l'âge du sujet, l'état affectif mais surtout le niveau culturel [Derouesne et al., 1999].

Dans notre étude tous les témoins ont un score supérieur à 27, considérées comme cognitivement normaux ne présentant aucune forme de démence. Alors que tous nos malades ont un score inférieur à 24, et présentant des formes plus au moins avancées de démence. 60.3% sont touchés par une démence sévère; 22.2% par une démence modérée et 17.5% sont déments légers [Guelfi et col., 2000].

**Tableau VII** : Evaluation du statut cognitif et du stade de la démence

<b>Score</b>	<b>ALZ</b>	<b>Témoins</b>
<b>18-24</b>	<b>3</b>	<b>17.5</b>
<b>11-18</b>	<b>6</b>	<b>22.2</b>
<b>≤10</b>	<b>11</b>	<b>60.3</b>

## **II. 1. 4. Etude des autres facteurs de risque**

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

### **II. 1. 4. 1. Le niveau d'étude**

70% de nos malades sont des analphabètes suivi par 20% avec un niveau primaire, et seulement 10% avec des niveaux secondaires et supérieurs, ces résultats montrent que le niveau d'éducation semble jouer un rôle important dans le risque de survenue de la MA. Les personnes n'ayant pas poursuivi une longue scolarité (Analphabète, Primaire) sont plus exposés à la maladie.

**Tableau VIII** : Représentant le nombre et le % des malades selon leur niveau d'étude

	<b>MA</b>	<b>%</b>
<b>Aucun</b>	<b>14</b>	<b>70</b>
<b>Primaire</b>	<b>4</b>	<b>20</b>
<b>Secondaire</b>	<b>1</b>	<b>5</b>
<b>Supérieur</b>	<b>1</b>	<b>5</b>

La plupart des études trouvent qu'un niveau d'éducation élevé paraît un facteur protecteur tout comme certaines activités sociales et de loisirs. Ainsi, les activités qui nécessitent la planification des tâches et l'initiative (jardiner, voyager, bricoler, tricoter) paraissent associées à un risque moindre de démence alors qu'aucun lien n'a pu être mis en évidence pour les activités comme la lecture, les jeux de société ou la garde de jeunes enfants.

L'activité physique permettrait également de réduire les risques de développer la maladie d'Alzheimer.

Nos résultats concordent avec plusieurs études transversales et la plupart des études réalisées à partir de données d'incidence qui observent une association entre un niveau bas d'éducation ou catégorie socioprofessionnelle et un risque accru de maladie d'Alzheimer, même si certains auteurs ne retrouvent pas d'association. A lésions cérébrales égales, les symptômes cliniques de la maladie pourraient apparaître plus précocement chez les personnes ayant un bas niveau d'étude.

Dans l'étude Paquid, il a été montré que ce qui différenciait les sujets était l'obtention ou non du certificat d'études primaires, et les sujets n'ayant pas atteint ce niveau présentaient un risque accru de développer une démence (RR = 1,83) et/ou une maladie d'Alzheimer (RR = 1,81) [Stern et al., 1994].

Il est intéressant de noter que cet effet du niveau d'éducation n'explique pas le risque accru de maladie d'Alzheimer chez les femmes âgées de plus de 80 ans, puisque, dans cette génération, le niveau d'étude des femmes était beaucoup plus faible que celui des hommes.

Les sujets ayant atteint le certificat d'études pourraient avoir une capacité de réserve cérébrale leur permettant de mieux résister à la maladie, et d'en différer ainsi de 4 à 5 ans l'expression clinique.

Les occupations à l'âge adulte ne semblent pas jouer un rôle déterminant contrairement à celles effectuées durant l'enfance et l'adolescence.

## II. 1. 4. 2. Les traumatismes crâniens

Parmi nos malades, 04 sujets soit (20.6%) présentent des antécédents de traumatismes crâniens. Alors que 5.6% des témoins ont subi un traumatisme. Nous retrouvons une différence significative ( $p < 5\%$ ).

**Tableau IX** : Fréquence des traumatismes crâniens chez les malades et les témoins

	MA		Témoins		P
	n	%	n	%	
<b>TC</b>	<b>4</b>	<b>20.6</b>	<b>2</b>	<b>5.6</b>	<b>&lt;5.6%</b>

L'association entre démence et traumatisme crânien est largement controversée.

Plusieurs études ont mis en évidence un risque augmenté de maladie d'Alzheimer chez les sujets ayant des antécédents de traumatismes crâniens [Mayeux et al., 1993], d'autres n'ont pas retrouvé cette association [Li et al., 1992].

Selon l'analyse européenne, le risque de maladie d'Alzheimer est multiplié par 1,8 chez les sujets ayant un antécédent de traumatisme crânien avec perte de connaissance survenu au moins un an avant le début de la démence.

En 1995, [Mayeux et coll., 1995] ont montré qu'un antécédent de traumatisme crânien ne serait facteur que chez les porteurs de l'allèle E4, la superproduction de protéine B amyloïde et d'interleukine 1 après un traumatisme crânien pouvant être le mécanisme biologique de cette association.

En revanche, dans une étude publiée par [O'Meara et coll., 1997], le phénotype de l'Apo E ne modifie pas le risque de maladie d'Alzheimer associé aux antécédents de traumatisme crânien.



Les résultats obtenus à partir des données d'incidence en population des études Eurodem et de Rotterdam [Zekry et al., 2002], n'ont pas retrouvé d'association significative entre traumatisme crânien et risque de maladie d'Alzheimer ou de démence, ni d'interaction entre traumatisme crânien et apolipoprotéine E [Mayeux et al., 1993].

### II. 1. 4. 3. Dépression

Parmi nos 20 malades 39.6% présentent des antécédents de dépression. Résultats qui nous permet d'envisager que des antécédents de dépression peuvent augmenter le risque de la MA ( $p < 0.001$ ).

**Tableau X** : Fréquence de la dépression chez les malades et les témoins

	MA		Témoins		P
	n	%	n	%	
<b>Dépression</b>	<b>8</b>	<b>39.6</b>	<b>3</b>	<b>7.2</b>	<b>&lt; 0.001</b>

Cette association entre dépression et Alzheimer est confirmée par plusieurs études avec un risque de 1,16 à 3,50 pour les études cas-témoins et de 1,08 à 3,20 pour les études de cohorte [Jorm., 2000].

Mais Selon [Jorm., 2000] dans une revue de la littérature, sur l'association entre dépression et démence, l'auteur pose le problème de l'interprétation de cette association.

Selon lui, six hypothèses sont envisageables :

- (1) les traitements antidépresseurs sont des facteurs de risque de démence ;
- (2) la démence et la dépression ont des facteurs de risque communs ;
- (3) la dépression est un syndrome prodromique de la démence ;
- (4) la dépression est réactionnelle à des troubles cognitifs précoces ;
- (5) la dépression abaisse le niveau de détection de la démence (cognitif ou fonctionnel)
- (6) la dépression est un facteur causal de la démence.

Les quatre dernières hypothèses paraissent les plus crédibles selon Tony Jorm. Cette discussion est exemplaire et pourrait s'appliquer à beaucoup de facteurs de risque.

### II. 1. 4. 4. Etude des autres facteurs de risque vasculaires dans la MA

On connaît maintenant l'importance grandissante des facteurs vasculaires dans la MA Casserly et Topol ont mis en évidence que la maladie d'Alzheimer et l'athérosclérose ont en commun des origines génétiques et des facteurs de risques environnementaux, comme l'Apo E,

l'hyperhomocystéinémie, le diabète, l'hypertension, le tabagisme, l'inflammation, l'augmentation de la masse grasse et l'obésité [Casserly and Topol., 2004].

Des données récentes suggèrent l'existence d'un lien entre le métabolisme du cholestérol et une susceptibilité à développer une MA. Kivipelto M et al, dans une étude prospective, ont mis en évidence que les sujets présentant une pression artérielle systolique élevée ( $\geq 160$  mmHg) ou un taux sérique de cholestérol augmenté ( $\geq 6,5$  mmol/l) à l'âge mûr ont une probabilité significativement plus élevée de développer ultérieurement une MA, et ce même après ajustement de l'âge, de l'indice de masse corporelle, du niveau socioculturel, des événements cardio-vasculaires et de la consommation d'alcool ou de tabac, par rapport aux sujets ayant une pression systolique normale (OR 2,3 ; IC 95% 1,0-5,5) ou un taux de cholestérol normal (OR 2,1 ; IC 95% 1,0-4,4). Les patients présentant ces deux facteurs de risque au cours de l'âge mûr avaient un risque plus élevé de développer une MA que ceux ayant uniquement l'un des deux (OR 3,5 ; IC 95% 1,6-7,9) [Kivipelto et al., 2001]. Il y a quelques pistes épidémiologiques mais cependant peu de preuves cliniques sur le fait qu'un taux sanguin de cholestérol bas puisse retarder l'apparition d'une MA.

Deux études observationnelles ont rapporté un effet protecteur des statines sur l'incidence de la MA. L'une était une analyse transversale [Wolozin et al., 2000] et l'autre une étude de type cas-témoin nichée dans une cohorte [Jick et al., 2000].

Les statines modifient le métabolisme du cholestérol et diminuent également le taux d'Abéta (peptide bêta amyloïde) dans le liquide céphalo-rachidien (LCR). Une étude allemande randomisée, en double aveugle, contre placebo, a évalué l'effet d'une prise quotidienne de 80 mg de simvastatine sur 26 semaines chez des patients atteints de MA. Elle a mis en évidence une diminution significative du taux de A-béta 40 dans le LCR des patients atteints d'une MA à un stade modérée. Cette réduction de l'Abéta 40 était corrélée à la diminution de 24Shydroxycholestérol.

Ces modifications n'étaient pas retrouvées chez les patients aux stades plus sévères de la maladie [Simons et al., 2002].

Une étude longitudinale suivant 1138 sujets âgés initialement non déments a montré que les patients présentant des facteurs de risque cardiovasculaires comme le diabète, l'hypertension, les pathologies cardiaques et le tabagisme sur une période de plus de 5,5 ans étaient plus à risque de développer une maladie d'Alzheimer. Avec un seul facteur de risque vasculaire, le risque relatif était de 1,7 (IC 95%: 1,1-2,4) et ce résultat augmentait avec le nombre de facteurs de risques cardiovasculaires : 2,6 (IC 95%: 1,6-3,9) pour deux facteurs de risque et 3,4 (IC 95: 2,1-5,7) pour trois ou plus. Alagiakrishnan et al., dans leur revue de la littérature ont souligné le lien probable entre la prise en charge adaptée des facteurs de risque cardiovasculaires et la prévention ou le ralentissement de la progression de la démence [Alagiakrishnan et al., 2006].

#### II. 1. 4. 4. 1. Le tabagisme et l'alcool

Le tableau montre la fréquence des alcooliques et des fumeurs témoins et malades.

**Tableau XI** : Fréquence des fumeurs et alcooliques chez les malades et les témoins

	MA		Témoins		P
	n	%	n	%	
<b>Fumeurs</b>	<b>6</b>	<b>31.7</b>	<b>4</b>	<b>9.6</b>	<b>&lt; 1%</b>
<b>Alcool</b>	<b>1</b>	<b>6.3</b>	<b>2</b>	<b>4.8</b>	<b>ns</b>

##### II. 1. 4. 4. 1. 1. Le tabagisme

Dans notre groupe malade les fumeurs sont en nombre de 4 soit 20 % seulement contre 68.3% de non fumeurs. Ces résultats sont en désaccord avec différentes études épidémiologiques semblent attribuer au tabagisme un rôle protecteur vis-à-vis de la maladie d'Alzheimer. Plusieurs études cas témoins ont observées que le risque de maladie d'Alzheimer semble être réduit chez les fumeurs.

Une analyse européenne du rôle du tabac dans la maladie d'Alzheimer montre un risque de maladie inférieur de 20 % chez les fumeurs par rapport aux non-fumeurs.

Des hypothèses biologiques pourraient renforcer cette observation, des liens entre nicotine, récepteur nicotinique et maladie d'Alzheimer ayant été décrits. Cependant, de nombreuses difficultés méthodologiques imposent la prudence dans les conclusions.

Pour ce facteur, qui est prédictif de mortalité, l'emploi du terme " protecteur " doit rester très réservé [Riggs et al., 1993].

##### II. 1. 4. 4. 1. 2. Alcool

Dans cette étude, 1 malades (5%) seulement était des consommateurs d'alcool contre 93.7% qui n'ont jamais consommait. Nos résultats ne semblent pas concorder avec plusieurs études qui trouvent que des consommations modérées d'alcool sont reconnues comme protectrices contre la maladie d'Alzheimer.

Un tel effet été mis en évidence pour les démences et la maladie d'Alzheimer dans l'étude PAQUID. Une consommation modérée de vin (2 à 4 verres de vin par jour) est associée à un risque moindre [Oogogozzo et al., 1997].

Les données de l'étude Paquid ont été analysées une seconde fois par un épidémiologiste américain reconnu [Lemeshow et al., 1998] en tenant compte de tous les facteurs d'ajustement possibles inclus dans les données de la cohorte, en particulier les performances cognitives initiales, ainsi que de la technique d'échantillonnage : les résultats se sont révélés identiques.

Dans une autre population française de 60 à 70 ans (étude EVA), dont les sujets sont indemnes de toute démence, une consommation modérée d'alcool est associée à de meilleures performances cognitives, uniquement dans la population féminine [Dufouil et al., 1997].

Ces résultats ont été confirmés par la cohorte de Rotterdam, et il semble que ce soit non la consommation de vin mais plutôt celle d'alcool qui intervienne [Ruitenberget al., 2000].

Dans d'autres études comme celle des chercheurs du Mount Sinai Hôpital de Miami Beach (États-Unis) qui se sont penchés sur 938 personnes de plus de 60 ans chez qui venait d'être diagnostiquée une probable maladie d'Alzheimer. Ils ont ensuite interrogé la famille (conjoint, enfants) pour évaluer la consommation de tabac et d'alcool au cours de la vie. Ils ont ainsi pu observer que les buveurs réguliers (au moins trois verres par jour) souffraient d'une maladie d'Alzheimer en moyenne 4,8 ans plus tôt que ceux qui ne buvaient pas ou peu.

De même les gros fumeurs (plus d'un paquet de cigarettes par jour) étaient atteints de la maladie 2,3 ans plus tôt que les non-fumeurs. Pour ceux qui avaient l'allèle e4 apolipoprotéine E, la maladie commençait 3 ans avant les autres [Breteler., 2003].

Quant à ceux à la fois, fumeurs, buveurs, et porteurs de l'allèle e4, ils développaient la maladie 8,5 ans plus tôt que ceux qui échappaient à ces trois facteurs de risque. Les personnes qui étaient dans le premier cas de figure ont été atteintes d'Alzheimer à 68,5 ans, contre 77 ans pour les seconds [Breteler., 2003].

Selon plusieurs auteurs la consommation d'alcool, aiguë ou chronique, interfère avec le fonctionnement cérébral. En dehors des états confusionnels liés aux intoxications aiguës ou au sevrage, l'intoxication éthylique chronique est responsable de nombreux syndromes neuropsychiatriques : déficits cognitifs d'intensité variable pouvant réaliser un tableau démentiel, encéphalopathie de Wernicke, syndrome de Korsakoff, maladie de Marchiafava Bignami et atrophie cérébelleuse [Pierucci-Lagha and Derouesné., 2003].

Quoiqu'il en soit, ces études d'observation ne permettent pas de conclure formellement à un lien de causalité.

#### II. 1. 4. 4. 2. Le diabète

Notre étude révèle que 28.5 % des malades sont diabétiques.

**Tableau XII** : Fréquence du diabète chez les malades et les témoins

	MA		Témoins		P
	n	%	n	%	
<b>DNID</b>	<b>6</b>	<b>28.5</b>	<b>5</b>	<b>12</b>	<b>&lt; 1%</b>

Des études épidémiologiques et immunohistochimiques attirent l'attention sur la contribution des glucides à la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer. Ainsi Plusieurs études convergent pour démontrer que le diabète accroît le risque de développer une maladie d'Alzheimer.

Des produits terminaux de glycation ont été détectés dans les plaques séniles extracellulaires qui contiennent des agrégats de protéines amyloïdes et dans les enchevêtrements neurofibrillaires à l'intérieur du cytoplasme des neurones [Frey., 2001].

Dans la Rotterdam Study qui a porté sur plus de 6 000 personnes âgées de 55 à 99 ans, [Ruitenberg et al., 2000], Le DNID double pratiquement le risque de maladie d'Alzheimer.

La Honolulu-Asia Aging Study a également mis en évidence que le diabète était associé à la maladie d'Alzheimer et que cette association était particulièrement forte avec les patients porteurs de l'allèle e4 de l'apolipoprotéine E [Peila et al., 2002].

Jusqu'à présent, il n'a pas été mis clairement en évidence que les traitements du diabète puissent diminuer l'incidence de la maladie d'Alzheimer. Deux études d'intervention ont néanmoins suggéré qu'une prise en charge optimale de la glycémie pouvait améliorer les fonctions cognitives de patients diabétiques [Gradman et al., 1993].

Notre étude retrouve une différence significative indiquant une relation probable entre DNID et MA.

#### II. 1. 4. 4. 3. L'hypertension artérielle (HTA)

Parmi nos 20 malades (41.3 %) sont hypertendus.

**Tableau XIII** : Fréquence de l'HTA chez les malades et les témoins

	MA		Témoins		P
	n	%	n	%	
HTA+	8	41.3	12	31.5	ns

Cette relation entre l'efficacité cognitive et les valeurs de pression artérielle ont fait l'objet de nombreux travaux.

Notre étude montre que l'HTA est plus fréquente chez les malades, cependant il n'existe pas de différence significative.

Une étude récente menée chez 700 sujets âgés présentant déjà une maladie d'Alzheimer indique une aggravation plus importante des troubles cognitifs chez les hypertendus que chez les normo-tendus (Odds ratio = 1,6, IC 95 % = 1,0-2,7) [Elias et al., 1993].

Les études longitudinales sont les plus informatives puisqu'elles étudient le retentissement de l'hypertension chronique sur les fonctions cognitives. Leurs résultats sont concordants et la plupart d'entre elles indiquent un lien entre l'hypertension et l'altération cognitive. En particulier, l'hypertension à l'âge moyen de la vie est un paramètre fortement prédictif d'une détérioration cognitive ultérieure.

Ainsi, plus la pression artérielle initiale est élevée, moins bon est le fonctionnement cognitif ultérieur.

Dans l'étude de Framingham [Elias et al., 1993], les fonctions cognitives sont corrélées de façon négative aux valeurs initiales de pression artérielle systolique et diastolique mesurées 12 à 14 ans plus tôt.

La *Honolulu-Asia Aging Study* [Launer et al., 1995] retrouve une augmentation significative du déclin cognitif après 25 ans de suivi (RR = 2,45, IC 95 % = 1,42-4,25) chez les hypertendus en comparaison aux normo-tendus.

Des données similaires ont été notées dans la cohorte d'Uppsala [Kilander et al., 1998] : les fonctions cognitives évaluées à l'âge de 70 ans sont moins bonnes chez les patients dont les pressions artérielles sont élevées à l'âge de 50 ans.

En France, l'étude EVA [Tzourio et al., 1999] a montré un risque de déclin cognitif augmenté par 2,8 (IC 95 % = 1,6-5,0) chez des hypertendus âgés au terme d'un suivi de seulement 4 ans.

Un travail récent portant sur une analyse de 10963 sujets de la cohorte ARIC [Knopman et al., 2001] a retrouvé la même corrélation entre la présence d'une hypertension artérielle et la survenue d'une altération cognitive 6 ans plus tard.

L'hypertension expose non seulement au risque de déclin cognitif, mais aussi au risque de démence toutes causes confondues. Une relation est retrouvée entre la pression artérielle mesurée à l'âge de 70 ans et l'incidence de la démence (vasculaire ou Alzheimer) 9 à 15 ans plus tard [Skoog et al., 1996].

Ainsi, les valeurs de pression artérielle à l'âge de 70 ans sont plus élevées chez les patients qui vont développer une démence entre 79 et 85 ans, en comparaison à ceux qui ne développent pas de démence. Plusieurs autres travaux ont démontré une augmentation du risque de démence chez les hypertendus en comparaison aux normo-tendus.

Une récente étude franco australienne suivant 1241 sujets âgés hypertendus, a montré que le traitement antihypertenseur était associé à un risque plus faible de MA (OR- 0,58 ; IC 95% 0,42-0,81). Les inhibiteurs calciques notamment étaient associés à une diminution du risque d'apparition d'une MA [Breteler., 2003]. Dans notre étude (35%) de nos malades sont hypertendus, ce résultat nous permet de suggérer une corrélation entre HTA et la MA.

#### **II. 1. 4. 4. 4. L'obésité**

Notre étude ne montre pas de lien entre l'obésité et la maladie d'Alzheimer

**Tableau XIV** : Fréquence de l'obésité chez les malades et les témoins

	MA		Témoins		P
	n	%	n	%	
< 25	9	45	18	45	ns
<Surpoids	6	30	12	30	ns
Obésité	5	25	10	25	ns

Cependant, à l'occasion de la Conférence Internationale de l'Association Alzheimer sur la Maladie d'Alzheimer (AAICAD) qui s'est déroulée à Honolulu, des chercheurs de l'Institut Karolinska ont présenté leur recherche sur le gène FTO (Fat Mass and Obesity associated), associé à l'obésité simple et morbide, et son implication dans la contraction de la maladie d'Alzheimer et de la démence. Selon leurs études, le risque augmenterait avec la présence de ce premier gène et d'un second appelé APOE (Apolipoprotéine E) déjà connu pour son rôle dans la maladie.

Le gène FTO affecte l'indice de masse corporelle, le niveau de leptine, parfois appelée "hormone de la faim" ainsi que le taux de diabète. Ces facteurs de risque cardiovasculaire sont aussi associés à la maladie d'Alzheimer.

Les chercheurs ont suivi 1003 personnes âgées de plus de 75 ans pendant 9 ans en ayant pris soin de relever la présence ou non des deux gènes FTO et APOE et la corrélation est importante. Cependant, l'un des points encore non éclaircis repose sur l'indépendance des deux risques. Le mécanisme qui associe le gène FTO à la maladie d'Alzheimer et à la démence peut être différent de son implication dans l'obésité, rapporte Caroline Graff de l'Institut Karolinska.

Ces premiers résultats, qualifiés de "fascinants" par Maria Carrillo, directrice des relations scientifiques et médicales à l'Association Alzheimer, requièrent cependant la confirmation d'autres chercheurs pour être validés

## II. 2. Étude moléculaire de la population d'étude

### II. 2. 1. Répartition des fréquences génotypiques du gène ECA

**Tableau XV** : Répartition des fréquences génotypiques du gène ECA dans les deux groupes

	ALZ		Témoins		<i>P</i>
	n = 20	%	n = 40	%	
<b>II</b>	<b>2</b>	<b>10</b>	<b>8</b>	<b>20</b>	<b>0,021</b>
<b>DD</b>	<b>10</b>	<b>50</b>	<b>12</b>	<b>30</b>	<b>0,0025</b>
<b>ID</b>	<b>8</b>	<b>40</b>	<b>20</b>	<b>50</b>	<b>0,08</b>
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>100</b>	<b>40</b>	<b>100</b>	<b>0,103</b>

**Tableau XVI** : Fréquences alléliques de l'ECA dans les deux groupes

	ALZ		Témoins		<i>P</i>
	n	%	n	%	
<b>I</b>	<b>11</b>	<b>27,5</b>	<b>35</b>	<b>43,75</b>	<b>0,001</b>
<b>D</b>	<b>29</b>	<b>72,5</b>	<b>45</b>	<b>56,25</b>	<b>0,003</b>
<b>Total</b>	<b>40</b>	<b>100</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	<b>0,004</b>

### II. 3. Analyse génétique

La caractéristique principale de la population Algérienne est sa diversité ethnique. Cette population est subdivisée en Arabes, berbères, Turques, Juif et noirs sub-sahariens. La contribution des arabes et berbères dans la constitution du pool génétique Algérien est certes évidente. Néanmoins, peu d'études ont été menées sur les populations Algérienne. L'identification des origines génétiques spécifiques des individus joue un rôle essentiel dans la compréhension des variations génétiques au sein d'une population et dans la détermination de la susceptibilité à différentes maladies humaines. Récemment, de nombreuses études ont été consacrées aux polymorphismes du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine dans les maladies humaines. Cette enzyme joue un rôle important dans la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II et la dégradation de la bradykinine, qui intervient dans un large éventail de fonctions cellulaires dans différents tissus Il a été démontré que le niveau de production de l'enzyme de conversion de l'angiotensine est sous le contrôle de certains polymorphismes génétiques de son gène.

C'est ainsi que les génotypes D/I et I/I entraînent respectivement des concentrations plasmatiques intermédiaires et faibles d'ACE. Les fréquences des allèles D et I du gène de l'ACE et leurs distributions génotypiques dans différentes populations ont été rapportées dans plusieurs études.

**Chez les patients**, les fréquences génotypiques du polymorphisme I/D du gène de l'ACE étaient comme suit : 10% sont hétérozygotes ID, 50% sont homozygotes DD et 40% sont des homozygotes II.

**Chez les témoins**, Nous avons donc remarqué que le génotype dominant est le génotype homozygote DD avec un taux de 30%, alors que le génotype hétérozygote ID est le moins fréquent avec un taux 50% et une fréquence de 20% pour le génotype II.

Le génotype de l'ACE et la distribution des allèles sont indiqués dans **le tableau XV et tableau XVI**. Selon nos données, il y avait une différence significative dans la fréquence des allèles et des génotypes entre les patients atteints de MA et les témoins.

Une étude d'association entre le polymorphisme I/D du gène ACE et maladie d'Alzheimer dans une population Egyptienne [Omayma et al., 2014] montre que :

	<b>MA</b> <b>No. (%)</b>	<b>Témoins</b> <b>No. (%)</b>	<b>p-value</b>	<b>Odds ratios (95% CI)</b>
DD (%)	22 (26%)	73 (85%)	<0.05*	1.24 (1.10 - 3.56)
ID (%)	11 (13%)	9 (10%)	0.427	0.36 (0.20 - 0.64)
II (%)	51 (60%)	4 (5%)	<0.01*	3.18 (2.33 - 4.33)

**Tableau XVII** : Fréquences génotypiques au locus ACE I/D dans les groupes AD et témoins.

\*P < 0,05 est statistiquement significatif.



	MA	Témoins	<i>p</i>	Odds ratios (95% CI)
Allèle D (%)	33 (39%)	82 (95%)	<0.05*	1,765 (1,268 - 4,185)
Allèle I (%)	62 (74%)	13 (15%)	<0.01*	3,714 (1,311 - 10,523)

**Tableau XVIII** : Fréquences alléliques au locus ACE I/D dans les groupes AD et témoins.

\**p* < 0,05 est statistiquement significatif.

La fréquence du génotype DD était faible (26%) chez les patients AD par rapport aux témoins (85%) avec *p* < 0,05 alors qu'il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre le groupe AD et le groupe témoin dans la fréquence des hétérozygotes ID qui était de 10% chez les témoins et de 13% dans le groupe AD avec *p* = 0,427. En revanche, le génotype II avait une fréquence plus élevée dans le groupe AD (60%) par rapport aux témoins (5%) avec une différence statistiquement significative *p* < 0,01.

Les fréquences des allèles ACE dans les deux groupes indiqués dans **le tableau XVIII**, ont révélé que l'allèle D était prédominant chez les sujets normaux (95%) tandis que l'allèle I était prédominant dans le groupe AD (74%).

La distribution de l'allèle I dans les cas de MA et les témoins était de 74% contre 15% et la fréquence du génotype I/I était de 60% contre 5%, respectivement. Ils ont tous deux atteint une plage de signification statistique à *p* < 0,01.

Aucune relation significative n'a été observée entre le polymorphisme du gène ACE par rapport à l'âge et au sexe de la population étudiée (données non présentées).

De plus, le taux plasmatique d'ECA chez les patients avec le génotype I/I était inférieur à ceux avec les génotypes D/D ou D/I, mais n'était pas statistiquement significatif comme le montre **le tableau XIX**.

	DD	DI	II	$\chi^2$	P-value
<b>Activité plasmatique ACE (U/L)</b> <b>Moyenne ± ET</b>	56,6 ± 13,7	45,3 ± 10,5	34,4 ± 11,7	1,178	0.333*

**Tableau XIX** : Activité moyenne de l'ECA plasmatique de différents génotypes d'ECA chez les patients atteints de MA.

\**p* non significatif.

## **Conclusion**

En résumé, notre étude montre une association du polymorphisme I/D du gène ACE avec la maladie d'Alzheimer dans une population Constantinoise.

Le génotype D/D confère une association significative pour la MA et est associée à des scores MMSE inférieurs parmi Les patients atteints de MA par rapport aux autres génotypes dans une population Constantinoise.

Ces résultats exploratoires préliminaires devraient être confirmés dans une étude plus large et des travaux supplémentaires nécessaires afin de discerner parmi les possibles résultats différents dans diverses populations.

Les résultats obtenus sur les cas-témoins nous permettent de conclure que le génotype DD (ou l'allèle D) est prédisposant à l'IDM. Ces résultats nous permettent également de suspecter une susceptibilité à l'IDM chez le sexe masculin dans la population Constantinoise.

Toutefois, d'autres études seront nécessaires par exemple le dosage de l'activité de l'ECA afin de mieux comprendre les relations éventuelles entre les différents facteurs de risque et le gène de l'ECA et par conséquent celles de l'athérosclérose artérielle afin de conclure quant à la valeur morbide de ce polymorphisme.

## REFERENCES

Abdull, G. **Régulation de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et caractérisation du récepteur B1 des kinines au niveau des cellules vasculaires.** 2010; Université Laval Québec.

Aloisio F; Caré A, Borsellino G, Gallo P, Rosa S, Bossani A, Cabibbo A, Testa U, Levi G, Peschle C. **Production of hemolymphopoietic cytokine (IL-6, IL-8, colony - stimulating factors) by normal human astrocytes in response to IL-1 beta and tumor necrosis factor – alpha.** Immunol. 1992 Oct 1; 149 (7): 2358-66.

Alonso, C.R., Maxton-Kuechenmeister, J., Akam, M. **Evolution of Ftz protein function in insects.** Curr. Biol. 2001; 11(18): 1473-1478.

Alagiakrishnan K, McCracken P, Feldman H. **Treating vascular risk factors and maintaining vascular health: Is this the way towards successful cognitive ageing and preventing cognitive decline?** *Postgrad Med J.* 2006; **82** (964): 101- 5

Amira Pierucci-Lagha, Christian Derouesné. **Alcool et vieillissement. Psychologie & Neuropsychiatrie du vieillissement.** Décembre 2003; Volume 1, Numéro 4: 237-49.

Andreasen N, Minthon L, Davidsson P, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Winblad B, Blennow K. **Evaluation of CSF-tau and CSF-Aβ42 as diagnostic markers for Alzheimer's disease in clinical practice.** Arch Neurol. 2001; 58: 373-9.

Bagyinszky E, Youn YC, An SS, Kim S. **The genetics of Alzheimer's disease.** Clin Interv Aging. 2014 Apr 1; 9: 535-51. doi: 10.2147/CIA.S51571. eCollection 2014.

Ballard, C., Gauthier, S., Corbett, A., Brayne, C., Aarsland, D., and Jones, E. **Alzheimer's disease.** Lancet. 2011; 377: 1019-1031. doi: 10.1016/s0140-6736(10)61349-9.

Basu, S., Gerchman, Y., Collins, C.H., Arnold, F.H., Weiss, R. **A Synthetic Multicellular System for Programmed Pattern Formation.** Nature. 2005 Apr 28; 434(7037): 1130-4. doi: 10.1038/nature03461.

Baudin, B. **[Angiotensin I-converting enzyme (ACE) for sarcoidosis diagnosis].** Pathol. Biol. (Paris). 2005; 53, 183-188.

Baughman RP, Teirstein AS, Judson MA, Rossman MD, Yeager H Jr, Bresnitz EA, et al. **Clinical characteristics of patients in a case control study of sarcoidosis.** Am J Respir Crit Care Med. 2001;164(10 Pt 1):1885–9.

Berchtold NC et Cotman CW. **Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s.** *Neurobiol. Aging*, vol. 19, no 3, 1998, p. 173–189.

Beschorner, R., Nguyen, T.D., Gözalan, F., Pedal, I., Mattern, R., Schluesener, H.J., Meyermann, R., Schwab J.M. **CD14 Expression by Activated Parenchymal Microglia/Macrophages and Infiltrating Monocytes Following Human Traumatic Brain Injury.** *Acta Neuropathol.* 2002 Jun; 103(6): 541-9. doi: 10.1007/s00401-001-0503-7.

Biller H, Zissel G, Ruprecht B, Nauck M, Busse Grawitz A, Muller-Quernheim J. **Genotype-corrected reference values for serum angiotensin converting enzyme.** *Eur Respir J.* 2006;28(6):1085–90.

Blais, V et Rives, S. **Rôle de la réponse immunitaire innée dans le cerveau.** *Médecine/Sciences.* 2003; 19: 981-7.

Breteler M.M. **Vascular risk factors for Alzheimer's disease: an epidemiologic perspective.** *Neurobiol. Aging.* 2003; **21**: pp. 153–160.

Borah, P.K., Shankarishan, P., Ahmed, G., and Mahanta, J. **Polymorphism of angiotensin converting enzyme (insertion/deletion) and endothelial nitric oxide synthase (intron 4ab) genes in a population from northeast India.** *J. Genet.* 2011; 90: e105-109.

Breggi SR, Franceschi M, Bonini L, Zecca L, Smirne S. **Decreased CSF concentrations of homovanillic acid and gamma-aminobutyric acid in Alzheimer's disease. Age or disease related modifications?** *Arch Neurol.* 1982 Nov; 39 (11): 709-12.

Brodsky H, Moore CM, The Clock Drawing Test for dementia of the Alzheimer's type: A comparison of three scoring methods in a memory disorders clinic. *Geriatric Psychiatry.* 1997 Jun; 12 (6): 619-27.

Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, Arrighi HM. **Forecasting the global burden of Alzheimer's disease.** *Alzheimer's Dement.* 2007; 3: 186-191.

Cagnin, A., Brooks, D. J., Kennedy, A. M., Gunn, R. N., Myers, R., Turkheimer, F. E., Jones, T., and Banati, R. B. **In-vivo measurement of activated microglia in dementia.** *Lancet.* 2001; 358(9280): 461-7.

Cameron Brent and Landreth Gary E. **Inflammation, Microglia and Alzheimer's Disease.** *Neurobiol.* 2010 : 503–509.

Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, Thomas-Anterion C, Michon A, Martin C, Charbonnier F, Raux G, Camuzat A, Penet C, Mesnage V, Martinez M, Clerget-Darpoux F, Brice A, Frebourg T, **Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum.** *Am J Hum Genet.* 1999 (65): 664-70.

Casserly I and Topol E. **Convergence of atherosclerosis and Alzheimer's disease: inflammation, cholesterol and misfolded proteins.** *Lancet.* 2004; **363**: 1139- 1146

Carrette , O., demalte, I., Scherl, A., Yalkinoglu, O., Corthals, G., Burkhard, P., Hochstrasser, D.F and Sanchez, J.C. **A pannel of cerebral spinal fluid potential biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease.** *Proteomics.* 2003; 3: 1486-1494.

Cetin Ferihan. **Role of Oxidative Stress in A $\beta$  Animal Model of Alzheimer's Disease: Vicious Circle of Apoptosis, Nitric Oxide and Age.** *Neurodegenerative Diseases.* 2013 : 78-98.

Chaput, M.A., El Mountassir, F., Atanasova, B., Thomas-Danguin T., Le Bon, A.M., Perrut, A., Ferry, B., Duchamp-Viret, T. **Interactions of odorants with olfactory receptors and receptor neurons match the perceptual dynamics observed for woody and fruity odorant mixtures.** *Eur J Neurosci.* 2012 Feb; 35(4): 584-97. doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07976.x.

Chávez-Gutiérrez, L., Bammens, L., Benilova, I., Vandersteen, A., Benurwar, M., Borgers, M., Lismont, S., Zhou, L., Van Cleynebreugel, S., Esselmann, H., et al. **The mechanism of gamma-Secretase dysfunction in familial Alzheimer disease.** *EMBO J.* 2012; 31: 2261-2274.

Checler, F., Alves da Costa, C., Dumanchin-Njock, C., Lopez-Perez, E., Marambaud, P., Paitel, E., Petit, A., et Vincent, B. **Métabolisme du précurseur du peptide amyloïde et présénilines.** *Médecine/sciences.* 2002; 18; 717-24.

Chen, H., Zhang, S.M., hernan, M.A., Schwarzschild, M.A., Willett, W.C., Colditz, G.A., Spiezer, F.E., and Ascherio, A. **Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of parkinson disease.** *Arch. Neurol.* 2003; 60 : 1059.

Chen K, Iribarren P, Hu J, Chen J, Gong W, Cho EH, Lockett S, Dunlop NM, Wang JM. **Activation of Toll-Like receptor 2 on microglia promotes cell uptake of Alzheimer disease-associated amyloid  $\beta$  peptide.** *Biol Chem.* 2006, 281 (6): 3651-59.

Chun Shi a, b, Kaihua Guo a, David T. Yew b, Zhibing Yao a, E. Lucy Forster b, Huaqiao Wang a, Jie Xu a. **Effects of ageing and Alzheimer's disease on mitochondrial function of human platelets.** *Experimental Gerontology.* June 2008; Volume 43, Issue 6: Pages 589-594

Citron, M., Oltersdorf, T., Haass, C., Mcconlogue, L., Hung, A. Y., Seubert, P., Vigo-Pelfrey, C., Lieberburg, I. and Selkoe, D. J. **Mutation of the  $\beta$ -amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases  $\beta$ -protein production.** *Nature*. 1992. **360**, 672-374.

Citron, M., Diehl, T S., Capell, A., Haass, C., Teplow, D B., Selkoe D J. **Inhibition of Amyloid Beta-Protein Production in Neural Cells by the Serine Protease Inhibitor AEBSF.** *Neuron*. 1996 Jul; 17(1): 171-9. doi: 10.1016/s0896-6273(00)80290-1.

Corder E.H, Saunders A.M, Strittmatter W.J, Schmechel D.E, Gaskell Jr P.C, Small G.W, et al. **Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families.** *Science*. 1993; **261**: 921.

Corder E.H., Saunders A.M., Risch N.J., Strittmatter W.J., Schmechel D.E., Gaskell Jr P.C., Rimmler J.B., Locke P.A., Conneally P.M., Schmechel K.E., Small G.W., Roses A.D., Haines J.L. & Pericak-Vance M.A. **Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease.** *Nature Genetics*. 1994; **7**: 180-184. Doi: 10.1038/ng0694-180.

Cortopassi, G.A., Wong, A. **Mitochondria in organism ageing and degeneration.** *Biochimica et Biophysica Acta*. 1999; **1410**:183–193.

Crisan, D., and Carr, J. **Angiotensin I-Converting Enzyme.** *J. Mol. Diagn. JMD* 2, 2000; 105-115.

Cruts M, Hendriks L, Van Broeckhoven C. **The presenilin genes: a new gene family involved in Alzheimer disease pathology.** *Hum Mol Genet*. 1996; 5 Spec No: 1449-1455.

Danser, A.H., Schalekamp, M.A., Bax, W.A., van den Brink, A.M., Saxena, P.R., Riegger, G.A., and Schunkert, H. **Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism.** *Circulation*. 1995; 92: 1387-1388.

De Jonghe, B; Appere-De-Vechi, C; Fournier, M; Tran, B; Merrer, J; Melchior, J-C; Outin, H. **A prospective survey of nutritional support practices in intensive care unit patients: What is prescribed? What is delivered?** *Critical Care Medicine*: January 2001 - Volume 29 - Issue 1 - p 8-12.

De Strooper B. **Aph-1, Pen-2, and Nicastrin with Presenilin generate an active gamma-Secretase complex.** *Neuron*. 2003 Apr; 10: 38(1): 9-12.

Delacourte A, **The natural and molecular history of alzheimer's disease.** *J Alzheimer's dis*. 2006; 9 (3 suppl): 187-94.

Dong, Y.H., Wang, L.H., Xu, J.L., Zhang, H.B., Zhang, X.F., Zhang, L.H. **Quenching Quorum-Sensing-Dependent Bacterial Infection by an N-acyl Homoserine Lactonase.** *Nature.* 2001 Jun 14; 411(6839): 813-7. doi: 10.1038/35081101.

Doolittle, R.F. **Angiotensinogen is related to the antitrypsin-antithrombin-ovalbumin family.** *Science.* 1983; 222: 417-419.

Doria, A., Warram, J.H., and Krolewski, A.S. **Molecular characterization of a DDEI melting polymorphism at the angiotensin I-converting enzyme (ACE) locus.** *Hum. Mutat.* 1994; 4: 155-157.

Derouesne C., Poitreneau J., Hugonot L., Kalafat M., Dubois B., Laurent B. **Mini mental state examination (mmse). A practical tool for evaluating cognitive status.** 1999, vol. 28, no21, pp. 1141-1148.

Downs, L.M., Wallin-Håkansson, B., Bergström, T., Mellersh, C.S. **A Novel Mutation in TTC8 Is Associated With Progressive Retinal Atrophy in the Golden Retriever.** *Canine Genet Epidemiol.* 2014 Apr 16; 1: 4. doi: 10.1186/2052-6687-1-4. eCollection 2014.

Dufouil C, Ducimetière P, Alperovitch A for the EVA Study Group. **Sex differences for association between alcohol consumption and cognitive performance.** *Am J Epidemiol.* 1997; **146**: 405-412.

Edland SD, Rocca W, Petersen RC, Cha RH, Kokmen E. **The incidence of Alzheimer's disease does not vary by gender in Rochester, MN.** *Neurobiol Aging.* 2000; **21**: S203.

Elias M.F., Wolf P.A., d'Agostino R.B., Cobb J., White L.R. **"Untreated blood pressure level is inversely related to cognitive functioning: the Framingham Study".** *Am J Epidemiol.* 1993; **138**: 353-64.

Elkabes, S., DiCicco-Bloom, E.M., Black I.B. **Brain Microglia/Macrophages Express Neurotrophins That Selectively Regulate Microglial Proliferation and Function.** *J Neurosci.* 1996 Apr 15; 16(8): 2508-21. doi: 10.1523/JNEUROSCI.16-08-02508.1996.

Eniko K, Patrick R, Hof, constantin Bouras. **The Geneva brain collection.** *Ann N Y Acad Sci.* 2011 May; 1225 Suppl 1: E131-E146.

Ewers M, Zhong Z, Burger K, Wallin A, Blennow K, Telp SJ, et al. **Increased CSFB ACE 1 activity is associated with ApoE epsilon 4 genotype in subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease.** *Brain.* 2008; 131 (Pt 5): 1252-8.

Fei, Q., Xia, R., Meyers, B.C. **Phased, secondary, small interfering RNAs in posttranscriptional regulatory networks.** Plant Cell. 2013; 25: 2400- 2415. doi: 10.1105/tpc.113.114652.

Fischer P, Zehetmayer S, Jungwirth S, Weissgram S, Krampla W, Hinterberger M, Torma S, Rainer M, Huber K, Hoenigschnabl S, Gelpi E, Bauer K, Leitha T, Bauer P, Tragl KH, **Risk factors for Alzheimer dementia in a community-based birth cohort at the age of 75 years.** Dement Geriatr Cogn Disord. 2008; 25 (6): 501-7.

Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. **"Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician.** J Psychiatr Res. 1975 Nov; 12 (3):189-98.

Fortin M-P., Krolak-Salmon P. **Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées : vers un diagnostic plus précis et précoce Alzheimer's and related diseases: Toward earlier and more accurate diagnosis.** La Revue de Médecine Interne. December 2010 ; Volume 31, Issue 12: Pages 846-853.

Frey J. **Y a-t-il du sucre dans l'Alzheimer ?** Annales de Biologie Clinique. Volume 59, Numéro 3, Mai - Juin 2001, 253-7, Revues générales.

Gardier, S. **Gènes codant pour le Récepteur de Type 1 à l'Angiotensine II (AGTR1) et pour l'Aldosterone Synthase (CYP11B2) : Hypertension Artérielle et Variables de Retentissement Cardiovasculaire chez l'Homme.** 2004; Université Claude Bernard - Lyon 1.

Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, Johansson B, Mortimer JA, Berg S, Fiske A, Pedersen NL. **Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease.** Arch Gen Psychiatry. 2006; Feb; 63 (2): 168-74.

Gella Alejandro and Nuria Durany. **Oxidative stress in Alzheimer disease.** *Cell Adhesion & Migration.*2009 : 3:1, 88-93

Gendelman, H.E., Lipton, S.A., Tardieu, M., Bukrinsky, M.I., Nottet HSLM. **The neuropathogenesis of HIV-infection.** J Leukoc Biol. 1994; 56: 389-398.

Glass, C.K., Saijo, K., Winner, B., Marchetto, M.C., Gage F.H. **Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration.** Cell. 2010; 140: 918-934.

Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, et al. **Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease.** Nature. 1991: 704-706.

Gould, A.B., and Green, D. **Kinetics of the human renin and human substrate reaction.** Cardiovasc. Res. 1971; 5: 86-89.



Govaerts, L., schoenen, J., Bouhy D. **Pathogénie de la maladie d'Alzheimer: les mécanismes moléculaires et cellulaires.** Rev Med Liege. 2007; 62(4): 209-215.

Gradman TJ, Laws A, Thompson LW, Reaven GM. **Verbal learning and/or memory improves with glycemic control in older subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus.** *J Am Geriatr Soc.* 1993; **41**:1305-1312

Hall K, Murrell J, Ogunniyi A, Deeg M, Baiyewu O, Gao S, Gureje O, Dickens J, Evans R, Smith-Gamble V, Unverzagt FW, Shen J, Hendrie H, « **Cholesterol, APOE genotype, and Alzheimer disease: An epidemiologic study of Nigerian Yoruba** », *Neurology*, vol. 66, no 2, janvier 2006, p. 223-227.

Hannequin D, Campion D. **Dominant forms of Alzheimer's disease: from genotype to phenotype.** Rev Neurol (Paris) 2001; 157: 384-392.

Hollingsworth PM, Graham SW, Little DP. **Choosing and using a plant DNA barcode.** 2011; PLoS ONE **6**: e19254.

Ivanoiu A. **Sémiologie de la maladie d'Alzheimer et des démences non-Alzheimer évaluation des troubles démentiels.** 2003; **122**: S110-S131.

Jana, M., Palencia, C.A., Pahan, K. **Fibrillar amyloid-béta peptides activate microglia via TLR2 : implications for Alzheimer's disease.** *J.Immunol.*2008; 181: 7254-7262.

Jick H, Zornberg G. L, Jick S. S, Seshadri S, and Drachman D. A. **Statins and the risk of Dementia.** *Lancet.* 2000. **356**(9242): 1627-31.

Jones, E.S., Vinh, A., McCarthy, C.A., Gaspari, T.A., and Widdop, R.E. **AT2 receptors: functional relevance in cardiovascular disease.** *Pharmacol. Ther.* 2008; 120: 292-316.

Jorm AF. **Is depression a risk factor for dementia or cognitive decline: a review.** *Gerontology.* 2000; **46**: 219-27

Kavirajan H, **Memantine: a comprehensive review of safety and efficacy.** *Expert Opin Drug Saf.* 2009 Jan; 8 (1): 89-109.

Kawas C, Gray S, Brookmeyer R, Fozard I, Zonderman A. **Age specific incidence rates Alzheimer's disease: the Baltimore Longitudinal Study of Aging.** *Neurology.* 2000; 54: 2072-7.

Kehoe PG, Miners S, Love S. **Angiotensins in Alzheimer's disease-friend or foe?** Trends Neurosci. 2009;32(12):619–28.

Keller L., Welander H., Chiang H-H., Tjernberg L.O., Nennesmo I., Wallin Å.K & Graff C. **The PSEN1I143T mutation in a Swedish family with Alzheimer's disease: clinical report and quantification of A $\beta$  in different brain regions.** *European Journal of Human Genetics*. 2010; volume 18: pages 1202-1208.

Kilander L., Nyman H., Boberg M., Hansson L., Lithell H. **"Hypertension is related to cognitive impairment: a 20-year follow-up of 999 men"**. *Hypertension*. 1998; 31: 780-6.

Kim, S., Ohta, K., Hamaguchi, A., Omura, T., Yukimura, T., Miura, K., Inada, Y., Ishimura, Y., Chatani, F., and Iwao, H. **Angiotensin II type I receptor antagonist inhibits the gene expression of transforming growth factor-beta 1 and extracellular matrix in cardiac and vascular tissues of hypertensive rats.** *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1995; 273: 509-515.

Knopman D., Boland L.L., Mosley T., Howard G., Liao D., Szklo M., McGovern P., Folsom A.R. Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. **"Cardiovascular risk factors and cognitive decline in middle-aged adults"**. *Neurology*. 2001; 56: 42-8.

Kovács Ilona, Thomas V. Papathomas, Ming Yang, and Ákos Fehér. **When the brain changes its mind: Interocular grouping during binocular rivalry.** *PNAS* December 24, 1996; 93 (26): 15508-15511.

Kuusisto J, Mykkänen L, Pyörälä K, Laakso M. **NIDDM and its metabolic control predict coronary heart disease in elderly subjects.** *Diabetes*. 1994; 43: 960 -7.

Lacroix, S., Feinstein, D., rivest, S. **The bacterial endotoxin liposaccharide has the ability to target the brain in up regulating its membrane CD14 receptor within specific cellular populations.** *Brain Pathol.* 1998; 8: 635-640.

Lai M., Chen E., Crouthamel M., Dimuzio-mower J., Xu M., Huang Q., Price E., Register R.B., Shi X., Donoviel D.B., Bernstein A., Hazuda D., Gardell S.J., Li Y. **Presenilin-1 and Presenilin-2 exhibit distinct yet overlapping  $\gamma$ -secretase activities.** *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 22475-22481.

Lambert R., McCarthy C., O'Donnell M., et Wang C. **Measuring elementary teacher stress and coping in the classroom: Validity evidence for the classroom Appraisal of resources and Demands.** *Psychology in the Schools*. 2009; 46(10): 973-988. doi: 10.1002/pits.20438.

Lambert, J.C., Ibrahim-Verbaas, C.A., Harold, D., Naj, A.C., Sims, R., Bellenguez, C et al. **Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease.** Nat. Genet. 2013; 45, 1452e1458.

Laragh, J.H., and Sealey, J.E. **Renin - Angiotensin - Aldosterone System and the Renal Regulation of Sodium, Potassium, and Blood Pressure Homeostasis.** Handbook of Physiology. Renal Physiology. Bethesda, MD: American Physiological Society. 2010; 1992:1409-1541.

Laraqui, A. **Etude des Facteurs Métaboliques et Polymorphismes Génétiques Prédiposant à la Survenue de l'Athérosclérose Coronaire.** 2006; Mohammed V-Agdal.

Launer J., Masaki K., Petrovitch H., Foley D., Havlik R.J. **"The association between midlife blood pressure levels and late-life cognitive function. The Honolulu-Asia Aging Study"**. JAMA. 1995; 274: 1846-51.

Leclerc, A.-M., Cloutie, L., Longpré, S., and Michaud, S.G. **Traitement pharmacologique de l'HTA (partie 2).** Perspective infirmière. 2013; 10 (2): 37-43.

Lefebvre, J. **Polymorphismes génétiques et variations interindividuelles de la réponse aux agents antihypertenseurs.** 2008; Université Laval.

Lehmann DJ, Cortina-Borja M, Warden DR, Smith AD, Slegers K, Prince JA, et al. **Large meta-analysis establishes the ACE insertion-deletion polymorphism as a marker of Alzheimer's disease.** Am J Epidemiol. 2005;162 (4): 305-17.

Lemeshow S, Letenneur L, Dartigues JF, Lafont S, Orgogozo JM, and Commenges D. **Illustration of analysis taking into account complex survey considerations: the association between wine consumption and dementia in the Paquid study.** Am J Epidemiol. 1998; 148: 298-306.

Lendon, C.L., Ashall, F; Goate, A.M. **Exploring the Etiology of Alzheimer Disease Using Molecular Genetics.** JAMA.1997; Volume 277(10): pp 825-831.

Letenneur L, Gilleron V, Commenges D, Helmer C, Orgogozo JM, Dartigues JF. **Are sex and educational level independent predictors of dementia and Alzheimer's disease?** Incidence data from the PAQUID project. J Neurol Neurosurg Psychiatr. 1999; 66: 177-83

Levine, A.B., Punihaoale, D., Levine T.B. **Characterization of the role of nitric oxide and its clinical applications.** Cardiology. 2012; 122: 55-68. doi: 10.1159/000338150.

Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, Romano DM, Oshima J, Pettingell WH, Yu CE, Jondro PD, Schmidt SD, Wang K. **Candidate gene for the chromosome 1familial Alzheimer's disease locus.** Science 1995 Aug 18; 269 (5226): 973-7.

Li G, Shen Y, Li Y, Chen C, Zhau Y, Silverman J. **A case control study of Alzheimer's disease in China.** Neurology. 1992; **42**: 1481-8.

Li, X., Kuromi, H., Briggs, L., Green, D.B., Rocha, J.J., Sweeney, S.T., Bullock, S.L. **Bicaudal-D binds clathrin heavy chain to promote its transport and augments synaptic vesicle recycling.** EMBO J. 2010; 29(5): 992-1006.

Liu Y., Lou Z., Bartlam M., and Rao Z. **Structure-function of studies of the influenza virus RNA polymerase PA subunit.** Sci. China C Life Sci. 2009; 52: 450-458. doi: 10.1007/s11427.009.0060.1.

Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. **Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy.** Nat Rev Neurol. 2013; 9: 106-118.

Lobo A, Launer U, Fratiglioni L. **Prevalance of dementia and major subtypes in Europe : A collaborative study of populationbasedcohorts.** Neurology. 2000; 54-S9.

Lourida, I., Soni, M., Thompson-Coon, J., Purandare, N., Lang, I.A., Ukoumunne, O.C., Llewellyn, D.J. **Mediterranean Diet, Cognitive Function, and Dementia: A Systematic Review.** Epidemiology. 2013 Jul; 24(4): 479-89. doi:10.1097/EDE.0b013e3182944410.

Lue LF, Rydel R, Brigham EF, Yang LB, Hampel H, Murphy GM Jr, Brachove L, Yan SD, Walker DG, Shen Y, Rogers J. **Inflammatory repertoire of Alzheimer's disease and nondemented elderly microglia in vitro.** Glia. 2001 Jul; 35 (1): 72-9.

Mahley RW. **Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology** Science, 240, 1988, pp. 622-630.

Marijke Smit, Peter de Knijff, Maryvonne Rosseneu, Jo Bury, Eduard Klasen, Rune Frants & Louis Havekes. **Apolipoprotein E polymorphism in the Netherlands and its effect on plasma lipid and apolipoprotein levels.** Human Genetics.1988.volume 80, pages287-292.

Marques MA, Tolar M, Harmony JA, Crutcher KA. **A thrombin cleavage fragment of apolipoprotein E exhibits isoform-specific neurotoxicity.** Neuroreport. 1996 Nov 4; **7** (15-17): 2529-32.

Martyn, CN., Barker, DJ., Osmond, C., Harris, EC., Edwardson, JA., Lacey, RF. **Geographical Relation Between Alzheimer's Disease and Aluminum in Drinking Water.** Lancet. 1989 Jan 14; 1(8629): 59-62.

Masters CL, Cappai R, Barnham KJ, Vilmagagne VL. **Molecular mechanisms for Alzheimer's disease : implications for neuroimaging and therapeutics.** J Neurochem. 2006 Jun; 97 (6): 1700-25.

Mayeux R, Ottman R, Tang M, et al. **Genetic susceptibility and head injury as risk factors for Alzheimer's disease among community-dwelling elderly persons and their first degree relatives.** Ann Neurol. 1993; **33**: 494-501.

Mayeux R, Ottman R, Tang M, et al. **Genetic susceptibility and head injury as risk factors for Alzheimer's disease among community-dwelling elderly persons and their first degree relatives.** Ann Neurol. 1993; **33**: 494-501

Mayeux R, Ottman R, Maestre G et coll. **Synergistic effects of traumatic head injury and apolipoprotein-epsilon 4 in patients with Alzheimer's disease.** Neurology. 1995; **45**: 555-557.

Meda L, Baron P, Prat E, Scarpini E, Scarlato G, Cassatella MA, Rossi F, **Proinflammatory profile of cytokine production by human monocytes and murine microglia stimulated with beta-amyloide [25-35].** J Neuroimmunol. 1999 Jan 1; 93 (1-2): 45-52.

Meraz-Rios MA, I orai-Rios D, Franco-Bocanegra D, Villeda-Hernandez. J, Campos-Pena V. **Inflammatory processin Alzheimer's Disease.** Frontiers in Itergratue Neuroscience. 2013. 7 (59): 1-10.

Mila Kivipelto, Eeva-Liisa Helkala, Mikko P Laakso, Tuomo Hanninen, Merja Hallikainen, Kari Alhainen, Hilikka Soininen, Jaakko Tuomilehto and Aulikki Nissimen. **Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal population based study.** BMJ. 2001; **322**:1447-1451.

Miners JS, van Helmond Z, Raiker M, Love S, Kehoe PG. **ACE variants and association with brain Abeta levels in Alzheimer's disease.** Am J Transl Res. 2010;3(1):73-80.

Minoretti P, Gazzaruso C, Vito CD, Emanuel E, Bianchi M. **Effect of the functional toll like receptor 4 Asp299Gly polymorphism on susceptibility to late-onset Alzheimer's disease.** Neurosci Lett. 2006; 391: 147-149.

Miravalle, L., Tokuda, T., Chiarle, R., Giaccone, G., Bugiano, O., Tagliavini, F., Frangione, B. and Ghiso, J. **Substitutions at codon 22 of Alzheimer's A $\beta$  peptide induce diverse conformational changes and apoptotic effects in human cerebral endothelial cells.** J. Biol. Chem. 2000. **275**, 27110-27116.

Mucke L. Neuroscience: **Alzheimer's disease.** Nature. 2009 ; 461(7266) : 895-7.

Naj AC, Jun G, Beecham GW et al. **Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease.** Nat Genet. 2011; 43: 436-441.

Natarajan C, Bright JJ. **Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists inhibit experimental allergic encephalomyelitis by blocking IL-12 signaling and Th1 differentiation.** Genes Immun. 2002, 3. 59-70.

Nigel, M. 1996; **Protease in Biology and Disease.**

Nilsberth, C., Westlind-Danielsson, A., Eckman, C. B., Condron, M. M., Axelman, K., Forsell, C., Stenih, C., Luthman, J., Teplow, D. B., Younkin, S. G., Naslund, J. and Lannfelt, L. (2001). **The "arctic" APP mutation (E693) G causes Alzheimer's disease by enhanced A $\beta$  protofibril formation.** Nat. Neurosci. 2001. **4**, 887-893.

Oberheim, N.A., Goldman, S.A., Nedergaard, M. **Heterogeneity of Astrocytic Form and Function.** Methods Mol Biol. 2012; 814: 23-45. doi: 10.1007/978-1-61779-452-0-3.

O'Meara SE, Kukull WA, Sheppard L et coll. **Head injury and risk of Alzheimer's disease by apolipoprotein E genotype.** Am J Epidemiol. 1997; **146**: 373-384.

Omayma M. Hassanin, Maha Moustafa, Tarek M. El Masry. **Association of insertion-deletion polymorphism of ACE gene and Alzheimer's disease in Egyptian patients.** The Egyptian Journal of Medical Human Genetics. 2014 ; 15 : 355 – 360.

Oogogozzo JM, Dartigues JF, Lafont S et coll. **Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community based study in the Bordeaux area.** Rev Neurol. 1997; **153**: 185-192.

Perry, V.H., Nicoll, J.A., Holmes, C. **Microglia in neurodegenerative disease.** Nat. Rev. Neurol. 2010; 6: 193-201.

Peila R, Rodriguez BL, Launer LJ. **Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: The Honolulu-Asia Aging Study.** Diabetes. 2002; **51**: 1256-62.

Reitz, C., and Mayeux, R. **Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers.** *Biochem. Pharmacol.* 88, 2014, 640-651. doi: 10.1016/j.bcp.2013.12.024.

Renaud, J., Thérien, H-M., Plouffe, M and Martinoli, M-G. **La neuro-inflammation.** *Med Sci (Paris)*. 2015 November; 31(11): 979-988. doi: 10.1051/medsci/20153111012.

Rigat, B., Hubert, C., Alhenc-Gelas, F., Cambien, F., Corvol, P., and Soubrier, F. **An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels.** *J. Clin. Invest.* 1990. 86, 1343-1346.

Riggs JE. Smoking and Alzheimer's disease. **Protective effect or differential survival bias.** *Lancet.* 1993; **342**: 793-794.

Ritchie K, Kildea D. **Is senile dementia « age-related » or « ageing-related »? Evidence from meta-analysis of dementia prevalence in the oldest old.** *Lancet.* 1995; **346**: 931-4

Rogaev E. I., Sherrington R., Rogaeva E. A., Levesque G., Ikeda M., Liang Y., Chl H., Lin C., Holman K., Tsuda T., Mar L., Sorbi S., Nacmias B., Placentini S., Amaducci L., Chumakov I., Cohen D., Lannfelt L., Fraser P. E., Rommens J. M. & St George-Hyslop P. H. **Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene.** *Nature.* 31 August 1995; Vol 376:775-778.

Ruitenbergh A, Swieten JC, Hofman A, Breteler MMB. **Alcohol consumption and risk of dementia: results from the Rotterdam study.** *Neurobiol Aging.* 2000; **21**: 1129.

Sadallah, S et Schifferli, J.A. **Maladies et complément.** *Rev Med Suisse.* 2018; volume 14: 752-756.

Saez TE, Pehar M, Barbeito L, Maccioni RB. **Astrocytic nitric oxide triggers tau hyperphosphorylation in hippocampal neurons.** *In vivo.* 2004 May-Jun; 18 (3): 275-80.

Sayed-Tabatabaei, F.A., Oostra, B.A., Isaacs, A., van Duijn, C.M., and Witteman, J.C.M. **ACE polymorphisms.** *Circ. Res.* 2006; 98: 1123-1133.

Selkoe DJ. **Biochemistry and molecular biology of amyloid betaprotein and the mechanism of Alzheimer's disease.** *Handb Clin Neurol.* 2008;89:245–60.

Shafiee H., Sano, M.B., Henslee, E.A., Caldwell J.L and Davalos R.V. **Selective isolation of live/dead cells using contactless dielectrophoresis (cDEP).** *The Royal Society of Chemistry.* 2010; 10: 438-445.

Schrader, J., Kulschewski, A., and Dendorfer, A. **Inhibition of the renin-angiotensin system and the prevention of stroke.** Am. J. Cardiovasc. Drugs Drugs Devices Interv. 2007; 7: 25-37.

Schenck, A., Qurashi, A., Carrera, P., Bardoni, B., Diebold, C., Schejter, E., Mandel, J.L., Giangrande, A. **WAVE/SCAR, a multifunctional complex coordinating different aspects of neuronal connectivity.** Dev. Biol. 2004; 274(2): 260-270.

Sherrington R, Rogaeve EI, Liang Y, Rogaeve EA, Levesque G, Ikeda M, Chi H, Li G, Holma K, Tsuda T, Mar L, Foncin JF, Bruni AC, Montesi MP, Sorbi S, Rainero I. **Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease.** Nature. 1995 Jun 29; 375 (6534): 754-60.

Shobab, L., Hsing, G-Y and Feldman, H. **Cholesterol in Alzheimer's disease.** Lancet Neurology. 2005; 4 : 841-852.

Simons M, Schwarzler F, Lutjohann D, von Bergmann K, Beyreuther K, Dichgans J, Wormstall H, Hartmann T, Schulz JB. **Treatment with simvastatin in normocholesterolemic patients with Alzheimer's disease: A 26-week randomized, placebo-controlled, double-blind trial.** Ann Neurol. 2002 Sep; 52(3): 346-50.

Slegers K, Roks G, Theuns J, et al. **Familial clustering and genetic risk for dementia in agenetically isolated Dutch population.** Brain. 2004; 127 (7): 1641–1649.

Snyder EM, Nong Y, Almeida CG et al. **Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta.** Nat Neurosci 2005: 1051-8.

Soubrier, F., Alhenc-Gelas, F., Hubert, C., Allegrini, J., John, M., Tregear, G., and Corvol, P. **Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning.** Proc. Natl. Acad. Sci. 1988; 85: 9386-9390.

Sommer BR, Hoff AL, Costa M. **Folic acid supplementation in dementia: a preliminary report.** Proceedings of the 11th Annual Meeting of the American Association for Geriatric Psychiatry 1998; Mar 8-11, San Diego 1998.

Skoog I, Lernfeldt B, Landahl S et al. **15-year longitudinal study of blood pressure and dementia.** Lancet. 1996; 347: 1141-1145.

Stamatovic, S.M., Shaku, P., Keep, R.F., Moore, B.B., Kunkel, S.L., Van Rooijen, N., Andjelkovic A.V. **Monocyte chemoattractant protein-1 regulation of blood–brain barrier permeability.** Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2005; 25: 593-606.



Stern RG, Mohs RC, Davidson M, et al. **A longitudinal study of Alzheimer's disease: measurement, rate, and predictors of cognitive deterioration.** Am J Psychiatry. 1994; **151**: 390-6.

Tahara K, Kim HD, Jin JJ, Maxwell JA, Li L, Fukuchi K. **Role of toll-like receptor signaling in A $\beta$  uptake and clearance.** Brain. 2006; 129 (11); 3006-19.

Tang MX, Jacobs D, Stern Y, Marder K, Schofield P, Gurland B, Andrews H, Mayeux R. **Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease.** Lancet. 1996 Aug 17; 348 (9025): 429-32.

Traduction française par J.D. Guelfi et col. **American Psychiatric Association. Critères diagnostiques.** 2000, Masson, Paris

Tzourio C., Dufouil C., Ducimetiere P., Alperovitch A. **"Cognitive decline in individuals with high blood pressure: a longitudinal study in the elderly. EVA Study Group. Epidemiology of Vascular Aging"**. Neurology. 1999; **53**: 1948-52.

Van Esch JH, van Gool JM, de Bruin RJ, Payne JR, Montgomery HE, Hectors M, et al. **Different contributions of the angiotensin-converting enzyme C-domain and N-domain in subjects with the angiotensin-converting enzyme II and DD genotype.** J Hypertens. 2008;26(4):706–13.

Van Muiswinkel, F.L., Veerhuis, R., Eikelenboom P. **Amyloid beta protein primes cultured rat microglial cells for an enhanced phorbol 12-myristate 13-acetate-induced respiratory burst activity.** J Neurochem. 1996; 66 (6): pp. 2468-2476, 10.1046/j.1471-4159.1996.66062468.x.

Vermersch P., Frigard B & Delacourte A. **Mapping of neurofibrillary degeneration in Alzheimer's disease: evaluation of heterogeneity using the quantification of abnormal tau proteins.** Acta Neuropathologica . 1992; volume 85: pages 48-54.

Wang XB, Cui NH, Yang J, Qiu XP, Gao JJ, Yang N, et al. **Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is not a major determining factor in the development of sporadic Alzheimer disease: evidence from an updated meta-analysis.** PLoS ONE. 2014; 9 (10): e111406.

Wang XB, Cui NH, Gao JJ, Qiu XP, Yang N, Zheng F. **Angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms and risk for sporadic Alzheimer's disease: a meta-analysis.** J Neural Transm (Vienna). 2015; 122 (2): 211-24.

Wang, X.H., Aliyari, R., Li, W.X., Li, H.W., Kim, K., Carthew, R., Atkinson, P., Ding, S.W. **Supporting online material for RNA interference directs innate immunity against viruses in adult Drosophila.** Science. 2006; 312(5772): 452-454.

Whitehouse PJ, Martino AM, Antuono PG, Lowenstein PR, Coyle JT, Price DL, Kellar KJ. **Nicotinic acetylcholine binding sites in Alzheimer's disease.** Brain Res. 1986: 146-151.

Wright, J.W., and Harding, J.W. **The angiotensin AT4 receptor subtype as a target for the treatment of memory dysfunction associated with Alzheimer's disease.** J. Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst. JRAAS. 2008; 9: 226-237.

Wu SJ, Hsieh TJ, Kuo MC, Tsai ML, Tsai KL, Chen CH, et al. **Functional regulation of Alu element of human angiotensin-converting enzyme gene in neuron cells.** Neurobiol Aging. 2013;34(7):1921.

Wolozin B, Wellman W, Rousseau P, Celesia G.G and Siegel G. **Decreased prevalence of Alzheimer's disease associated with 3- hydroxy-3methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors.** Arch. Neurol. 2000; **57**(10):1439-43.

Xia, W., Zhang, J., Kholodenko, D., Citron, M., Podlisny, M. B., Teplow, D. B., Haass, C., Seubert, P., Koo, E. H. and Selkoe, D. J. **Enhanced production and oligomerization of the 42-residue amyloid  $\beta$ -protein by Chinese hamster ovary cells stably expressing mutant presenilins.** 1997. J. Biol. Chem. 272: 7977-7982.

Yu JT, Mou SM, Wang LZ, Mao CX, Tan L. **Toll-Like receptor 2 -196 to -174 del polymorphism influences the susceptibility of Han Chinese people to Alzheimer's disease.** J Neuroinflammation. 2011; 8: 136.

Zandi, P.P., Anthony, J.C., Khachaturian, A.S., Stone, S.V., Gustafson, D., Tschanz, J.T., Norton, M.C., Welsh-Bohmer, K.A., Breitner, J.C.S. Cache County Study Group. **Reduced Risk of Alzheimer Disease in Users of Antioxidant Vitamin Supplements**

Zhang F, Jiang L. **Neuroinflammation in Alzheimer's disease.** Neuropsychiatr Dis Treat. 2005 Jan 30; 11: 243-56.

Zhou, M.N., Kunttas-Tatli, E., Zimmerman, S., Zhouzheng, F., McCartney, B.M. **Cortical localization of APC2 plays a role in actin organization but not in Wnt signaling in Drosophila.** J. Cell Sci. 2011; 124(9): 1589-1600.

Zhou ZD, Chan CH, Ma QH, Xu XH, Xiao ZC, Tan EK. **The roles of amyloid precursor protein (APP) in neurogenesis: Implications to pathogenesis and therapy of Alzheimer disease.** *Cell Adh Migr.* 2011 Jul-Aug; 5(4): 280-92. Epub 2011 Jul 1.

Zekry D., Hauw J.J. and Gold G. **Mixed dementia: epidemiology, diagnosis, and treatment,** *J. Am. Geriatr. Soc.* 2002; vol 50, n°8: pp. 1431–1438.

# **ANNEXES**

## **Annexe 1: Mini mental state examination de FOLSTEIN Modifié** (Niveau de scolarisation élémentaire ou non scolarisé)

Nom :

Date :

Je vais vous poser quelques questions pour apprécier comment fonctionne votre mémoire. Les unes sont très simples, les autres un peu moins. Vous devez répondre du mieux que vous pouvez.

### **ORIENTATION :**

Quelle est la date d'aujourd'hui ?

Temporelle :

1. Quel jour sommes-nous ? noté 0 ou 1
2. En quelle saison ?
3. En quel mois ?
4. quelle était la fête récente ?
5. quel âge vous-avez ? (préciser l'année)

sous total : /5

Questions alternatives :

- Nom de l'actuel Président de la République ?

Spatiale :

6. A quel endroit sommes-nous ici ? noté 0 ou 1
- Hôpital (nom particulier)  
Cabinet médicale (nom du médecin – quartier)
7. dans quelle ville se trouve t-il ?
  8. Dans quel Pays ?
  9. dans quelle région de ce pays (Est, Centre, Ouest, Sud) ?
  10. A quel étage sommes-nous ?

sous total : /5

### **APPRENTISSAGE :**

Je vais vous dire 3 mots. Je voudrais que vous me les répétiez et que essayiez de les retenir. Je vous les demanderai tout à l'heure.

11. café- thé noté 0 ou 1
12. fleur
13. porte

sous total : / 3

### **ATTENTION ET CALCUL :**

Voulez-vous compter à partir de 20 en retirant 2 à chaque fois.

14. 20-2 (18) noté 0 ou 1
15. 18-2 (16)
16. 16-2 (14)
17. 14-2 (12)
18. 12-2 (10) sous total : / 5

**Question alternative :**

Comptez à rebours à partir de 10.

**Epreuve interférentielle**

- Compter à l'endroit jusqu'à 10
- Citer les prénoms de vos enfants
- Epeler ce mot à l'envers

**RAPPEL :**

Pouvez-vous me dire quels étaient les 3 mots que je vous ai demandé de répéter et de retenir tout à l'heure.

- 19. Café – thé noté 0 ou 1
- 20. fleur
- 21. Porte

sous total : / 3

**LANGAGE :**

- 22. Montrer un stylo. Quel est le nom de cet objet ? noté 0 ou 1
- 23. Montrer une montre. Quel est le nom de cet objet ?
- 24. Ecoutez bien et répétez après moi :  
" Ni Le Ken, koun, ouala belek "
- 25. Posez une feuille de papier sur le bureau, la montrez au sujet en lui disant " écoutez bien et faites ce que je vais vous dire :  
prenez cette feuille avec la main droite
- 26. Pliez-la en deux
- 27. Et jetez-la par terre
- 28. Donnez 5 noms d'animaux / fruits.
- 29. Empan chiffré à l'envers 4-2-7.

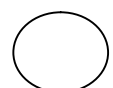
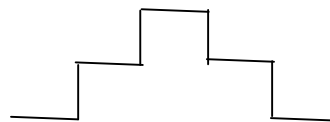
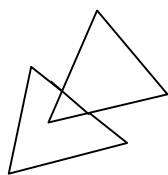
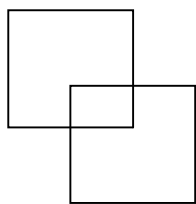
sous total : / 8

**Questions alternatives :**

- Récitez les jours de la semaine.
- Test de reconnaissance de visage sur photo.
- Mime 'utilisation d'objet (se peigner).
- Annaux entrelacés avec les deux pinces pouce-index.

**PRAXIES CONSTRUCTIVES :**

- 30. Tendre au sujet une feuille de papier e lui demander :  
" Voulez vous recopier se dessin "



**Epreuves alternatives :**

- Reproduire un certains nombres d formes (assemblage formé avec des allumettes)
- Dessin spontané : Maison – Fleurs – Horloge – Etoile

**SCORE TOTALE (0 - 30) :**

**/30**

## Annexe 2:

## le questionnaire

### Fiche synthétique TCND (troubles cognitifs neuro-dégénératifs) Neurologie

N°:

Service :

Diagnostic :

Score MMSE :

Génotype:

Alzheimer :

probable

possible

Nom :

prénom :

âge :

sexe :

Taille :

poids :

Niveau d'étude :

Aucun

Primaire

Secondaire

Supérieur

Profession : ouvrier

préciser : actif

Agent

retraité

Fonctionnaire

chômage

Cadre

Cadre supérieur

Libérale

Lieu de vie : domicile

Foyer pour personnes âgées

Autre

Situation familiale : seul

Avec conjoint

Avec enfant



**Lieu d'habitat** : milieu rural

Milieu urbain

**Les antécédents personnels :**

Tabagisme : nombre de cigarettes /jour

**Facteurs de risques mnésiques :**

Alcool prise de cannabis  
Prise de benzodiazépines traumatisme crânien  
Troubles respiratoires chroniques autres (méningo-encéphalite, boxe)

**Maladies générales :**

Pathologies thyroïdienne cancer AVC  
HTA diabète  
Maladies inflammatoires chroniques ulcère (gastrite)

**Antécédents psychiatriques :**

Syndrome dépressif épisode maniaque  
Syndrome confusionnel troub obsession compulsion  
Episode délirant autres

**Antécédents familiaux :**

Alzheimer : degré de parenté : 1<sup>er</sup> degré 2<sup>ème</sup> degré 3<sup>ème</sup> degré

**Motif de consultation :**

1-Troubles mnésiques : oui non  
Trouble de la mémoire des faits anciens  
Trouble de la mémoire des faits récents  
2-Apraxie aphasie agnosie désorientation temporo-spatiale  
3-troubles des fonctions exécutives  
4-trouble du comportement d'humeur sommeil

5-trouble de motricité

6-Trouble de comportement alimentaire

7-autres

**Mode de début :**

Age de début :

Année apparente du premier signe :

Mode de début :                   **brutale**                   **progressif**

**Evolution de la maladie :**    numéroté l'ordre

1-Troubles mnésiques :            oui                    non

Trouble de la mémoire des faits anciens :

Trouble de la mémoire des faits récents

2-Apraxie    aphasie    agnosie    désorientation temporo-spatiale

3-troubles des fonctions exécutives

4-trouble du comportement            d'humeur            sommeil

5-trouble de motricité

6-Trouble de comportement alimentaire

7-autres

## **Annexe 3**

### **Extraction de l'ADN**

#### **1. Préparation des leucocytes**

- Dans un tube Flacon de 50 ml ; mettre le sang total (7-10ml) et compléter à 45 ml avec du TE (TRIS + EDTA) 20 :5.
  - Laisser le mélange 10min dans la glace.
  - Centrifuger 15min à 3900g (3900 rpm).
  - Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond du tube.
  - Rajouter le TE 20:5 au culot jusqu'à 20-30 ml, agiter pour le remettre en suspension.
  - Laisser 10 min dans la glace
  - Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm)
  - Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.
  - Déverser le surnageant : obtention d'un culot de leucocytes.
- (Si on s'arrête à ce niveau, les mettre dans un tube nunc de 1.5ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20°C dans un congélateur).

#### **2. Extraction de l'ADN**

- Décongeler les leucocytes.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm)
- Dilacerer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (Na Cl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2).
- Ajouter 200 µl de SDS à 10% (100 g SDS+1000 ml H2O).
- Ajouter 100 µl de protéinase K à 10 mg/ ml.
- Dans l'étuve, agiter le tube sur une roue rotative à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain ; refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de Na Cl 4M et agiter rigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu (100%) préalablement refroidi et agiter en tournant le tube plusieurs fois : la formation de la méduse visible à l'œil nu. (Laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote d'ADN ne se forme pas).
- Récupérer la pelote d'ADN par une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% dans un tube nunc (Eppendorf) stérile.

### 3. Solubilisation de l'ADN

- L'ADN est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000  $\mu$ l de TE 10 : 1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- Laisser une nuit sur agitateur rotatif à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (de 1 jusqu'à 3 jour).

### 4. Détermination de la pureté de l'ADN

L'ADN est solubilisé en phase aqueuse par le rapport de la DO à 260nm (longueur d'onde de l'absorption de l'ADN), sur la DO à 280nm (longueur d'onde de l'absorption des protéines).

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

- L'ADN est contaminé par les protéines si :  $DO_{260} / DO_{280} < 1.6$

- L'ADN est contaminé par les ARN si :  $DO_{260} / DO_{280} > 2$

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

## Annexe 4

### Préparation du TBE 1X

On prépare le TBE 10X : Tris 108g + acide Borique 55g + EDTA 9.3g + H<sub>2</sub>O distillée 1L, puis on fait une dilution pour obtenir un TBE 1X, on prend 100 ml TBE et on complète le volume avec de l'H<sub>2</sub>O distillée jusqu'à 1000 ml.

## Association du polymorphisme I/D de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) et la maladie d'Alzheimer dans une population Constantinoise

### Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

#### Résumé

Le polymorphisme d'insertion/délétion (I/D ou indel) du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) a longtemps été lié à la maladie d'Alzheimer (MA), mais l'interprétation des données établies reste controversée. Le but de cette étude était de déterminer si l'enzyme de conversion de l'angiotensine est associée au risque de développer la maladie d'Alzheimer chez des sujets en Algérie.

#### Méthode

Nous avons analysé le génotype et la distribution des fréquences allèles du polymorphisme du gène I/D chez 20 patients atteints de MA et 40 cas témoins.

#### Résultat

Notre étude a porté sur 40 cas témoins et 20 patients présentant la maladie d'Alzheimer.

Chez les témoins les fréquences génotypiques du polymorphisme I/D du gène de l'ACE étaient composées : 40% sont hétérozygotes ID, 50% sont homozygotes DD et 10% sont des homozygotes II.

Chez les sujets MA, Nous avons donc remarqué que le génotype dominant est le génotype hétérozygote ID avec un taux de 50% alors que le génotype homozygote DD présente une fréquence de 30% et une fréquence de 20% pour le génotype homozygote II.

#### Conclusion

Le génotype D/D et l'allèle D du polymorphisme ACE I/D étaient associés à un risque accru de développer la MA dans une population Algérienne. De plus, au moment de l'évaluation des patients (âge moyen de 75 ans) les patients atteints de démence sévère étaient principalement retrouvés chez les porteurs D/D et, à l'inverse, le génotype D/D et l'allèle D étaient plus fréquemment retrouvés chez les patients atteints de MA. Ces résultats exploratoires préliminaires devraient être confirmés dans des études plus larges et des travaux supplémentaires sont nécessaires pour explorer et interpréter les résultats alternatifs possibles dans diverses populations.

**Mots-clefs :** Maladie d'Alzheimer , ACE, polymorphisme I/D du gène de l'ACE..,

**Laboratoires de recherche :**

Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire(Université des Frères Mentouri,Constantine 1).

**Président :** REZGOUN Mohamed Larbi(MC-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1)

**Encadreur :**OULDJAOUI Ahmed (MC-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur :** BOUDEKHANEIbtissem (MA-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).