



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  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

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

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Analyse Protéomique et Santé

Intitulé :

---

# Etude de l'influence du polymorphisme de l'apoprotéine E sur les paramètres lipidiques dans les infarctus du myocarde (IDM)

---

Présenté et soutenu par :

*KEDDACHE Rahima*

*LADJEL Amina*

Le : 30/06/2015

Jury d'évaluation :

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

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

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

*Année universitaire  
2014 - 2015*

# Dédicace

*J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :*

## *A ma très chère mère*

*Merci pour l'amour que j'ai reçu et qui m'a porté tout au long de ma vie. Je ne serais pas arrivé jusqu'ici sans toi.*

*Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

## *A la mémoire de mon Père*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour vous.*

*Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

## *A mes sœurs et mon frère*

*Avec tout mon amour et toute ma tendresse.*

## *A ma famille*

## *A mes chères amies*

*Puisse ce travail vous assurer l'expression de ma sincère amitié avec mes souhaits de succès et de bonheur.*

*A tous ceux qui par leur sourire, leur gentillesse et espoir m'ont encouragés à poursuivre mes études.*

**RAHIMA**



# Dédicace

*Que ce travail témoigne de mes respects :*

## *A mes parents*

*Qui me sont très chers au monde, Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.*

*Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.*

## *A mon très cher mari*

*Ton soutien moral et matériel, ta gentillesse, m'ont permis de réussir mes études.*

## *A ma petite fille Miral*

*Ce modeste travail doit vous servir d'exemple pour réussir et faire mieux que votre maman ;  
Je t'aime.*

## *A tous les membres de ma famille, petits et grands*

*Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection*

## *A toutes mes amies*

*Ils vont trouver ici le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.*

*AMINA*



# Remerciements

*Nous adressons nos vifs remerciements :*

*En premier lieu à notre Dieu de nous avoir donnée le courage et la volonté de mener à terme le présent travail.*

***A notre encadreur Le Dr. Jamel KHODJA***

*Maitre de conférence à l'université de Constantine 3, merci de nous avoir accepté d'encadrer ce travail.*

*Vous nous avez guidés tout au long de notre travail. Votre amabilité, votre Simplicité, votre disponibilité et votre rigueur dans le travail, nous ont marqué. Votre expérience nous a aidés d'un grand apport dans la réalisation de ce travail. Soyez assuré de notre profonde reconnaissance.*

***A Mr. le président du jury le Pr. Youssef NASSIB***

*Professeur à l'Université de Constantine.*

*Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce travail. Soyez assuré de notre profonde gratitude.*

***A Mr. Le Professeur Salah ATALLAH***

*Professeur à l'Université de Constantine ; d'avoir accepté avec amabilité d'être membre de ce jury pour examiner ce travail. Soyez assuré de nos profondes reconnaissances et de notre considération respectueuse.*

*Nos sincères remerciements s'adressent aussi au:*

***Pr. Nouredine ABADI***

*Directeur de laboratoire de biologie moléculaire au CHUC.*

***Mr. Zouheir BOULAKROUNE***

*De nous avoir guidé et encouragé au cours de notre travail, et également pour sa gentillesse, disponibilité et sa patience. Qu'il trouve ici le témoignage de nos hautes considérations et de nos profonds respects.*

*Nous remercions tous ceux qui par leurs encouragements, leur aide, leurs conseils ou leurs critiques, ont contribué à la réalisation de ce travail.*



*A toutes et tous, un grand merci . . .*



# *Sommaire*

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

## **Partie 1 : Etude bibliographique**

### **Chapitre I : Les maladies cardiovasculaires**

<b>I.1 Définition</b> .....	3
<b>I.2 Epidémiologies</b> .....	3
<b>I.3 Définition de l'infarctus du myocarde</b> .....	4
<b>I.4 Diagnostic</b> .....	5
<b>I.5 Facteurs de risque de l'IDM</b> .....	6
I.5.1 Facteurs non modifiables .....	6
I.5.1.1 Age .....	6
I.5.1.2 Sexe .....	6
I.5.1.3 Antécédents familiaux et hérédité .....	6
I.5.2 Facteurs modifiables .....	7
I.5.2.1 Hypertension artérielle (HTA) .....	7
I.5.2.2 Diabète .....	7
I.5.2.3 Dyslipidémies .....	7
I.5.2.4 Obésité .....	7
I.5.2.5 Sédentarité.....	8
I.5.2.6 Tabac .....	8

### **Chapitre II : L'athérosclérose**

<b>II.1 Découverte et historique</b> .....	9
<b>II.2 Définition</b> .....	9
<b>II.3 Physiologie de la paroi vasculaire saine</b> .....	9
II.3.1 L'intima .....	10
II.3.2 La Media .....	10
II.3.3 L'adventice .....	11
<b>II.4 Les cellules impliquées dans la formation de la plaque d'athérome</b> .....	11
<b>II.5 Evolution de la plaque d'athérome</b> .....	11
II.5.1 La dysfonction endothéliale : déclencheur de l'athérosclérose .....	11

II.5.2 Formation de la plaque d'athérome mature : un centre athéromateux et une chape fibreuse .....	12
II 5.3. Plaque d'athérome compliquée.....	13
<b>II .6 Classification .....</b>	<b>15</b>

### **Chapitre III: Les lipoprotéines**

<b>III.1 Structure générale des lipoprotéines .....</b>	<b>17</b>
<b>III .2 Classification des lipoprotéines.....</b>	<b>17</b>
<b>III .3 Métabolisme des lipoprotéines .....</b>	<b>18</b>
<b>III.4 Les apolipoprotéines .....</b>	<b>20</b>
III.4.1 Définition .....	20
III .4.2 Rôles des apolipoprotéines .....	21
III .4.3 Structure et propriétés des apolipoprotéines .....	21

### **Chapitre IV : L'apolipoprotéine E**

<b>IV.1 Caractéristiques.....</b>	<b>23</b>
<b>IV.2 Génétique de l'apoE .....</b>	<b>23</b>
IV.2.1 Gène de l'apoE .....	23
IV.2.2 Modifications post-traductionnelles de l'Apo E .....	24
<b>IV.3 Protéine Apo E .....</b>	<b>24</b>
IV.3.1 Structure de l'ApoE.....	24
IV.3.2 Isoformes de l'Apo E .....	25
IV.3.3 Rôle de l'Apo E .....	26
IV.3.4 Biosynthèse et distribution tissulaire de l'Apo E .....	27
IV.3.5 Récepteurs de l'Apo E .....	27
<b>IV.4 Polymorphisme de l'Apo E et athérosclérose.....</b>	<b>28</b>
IV.4.1 Impact du polymorphisme de l'Apo E sur le métabolisme lipidique.....	29
IV.4.2 Relation polymorphisme de l'Apo E et facteurs de risques.....	29

## **Partie 2: Partie pratique**

### **Chapitre I: Moyens et méthodes**

<b>I.1 Recrutement des individus.....</b>	<b>31</b>
I.1.1 Population malade .....	31
I.1.2 Population témoin .....	32
<b>I.2 Fréquence de la population témoin et malades .....</b>	<b>32</b>
I.2.1 Les sujets témoins .....	32

I.2.2 Maladies ischémiques cardiaques .....	33
I.2.2.1 Diagnostic .....	33
I.2.2.2 Répartition des IDM selon le sexe et l'âge .....	33

## **Chapitre II : Méthodes**

<b>II.1 Questionnaire</b> .....	35
II.1.1 L'enregistrement .....	35
II.1.2. Données de l'état civil .....	35
II.1.3 Données biocliniques .....	35
<b>II.2 Prélèvement sanguin</b> .....	36
<b>II.3 Méthodes de dosage des paramètres lipidiques</b> .....	36
II.3.1 Séparation du sérum .....	36
II.3.2 Manipulation sur le sérum .....	36
II.3.2.1 Dosage du cholestérol total .....	36
II.3.2.2 Dosage des triglycérides .....	37
II.3.2.3 Dosage du cholestérol HDL .....	38
II.3.2.4 Cholestérol LDL .....	38
<b>II.4 Manipulation sur le sang total</b> .....	39
II.4.1 Extraction de l'ADN .....	39
II.4.1.1 Préparation des leucocytes.....	39
II.4.1.2 Extraction de l'ADN .....	40
II.4.1.3 Solubilisation .....	40
II.4.1.4 Dosage des acides nucléiques .....	40
<b>II.5 Amplification d'ADN par réaction de polymérisation (PCR)</b> .....	42
II.5.1 Génotypage de l'Apo E .....	42
II.5.1.1 Amplification par PCR (Polymérase Chaîne Réaction).....	42
II.5.1.1.1 Le contrôle de la PCR .....	44
II.5.1.1.2 Digestion des produits de PCR .....	44
II.5.1.1.3 La visualisation des produits de la digestion .....	45
II.5.2 Révélation du profil électrophorétique .....	46
<b>II.6 Calcul de l'odds ratio</b> .....	47
<b>II.7 Les intervalles de confiance</b> .....	48

## **Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>III.1 Etude des Variations lipidiques dans L'IDM</b> .....	50
---	----

III.1.1 Comparaison des Moyennes du cholestérol .....	50
III.1.2 Comparaison des Moyennes des triglycérides .....	51
III.1.3 Comparaison des Moyennes du C-HDL .....	52
III.1.4 Comparaison des Moyennes du cholestérol-LDL .....	53
<b>III.2 LES FACTEURS DE RISQUES .....</b>	<b>54</b>
III.2.1 Etudes des facteurs de risque dans la population générale .....	54
III.2.1.1 Prévalence des différents facteurs de risque dans la population générale...54	
III.2.2 Les facteurs de risque dans les cardiopathies ischémiques .....	55
III.2.3 Comparaison des facteurs de risque entre population témoins et malades.....	57
<b>III.3 Fréquences génotypiques et alléliques de l'Apo E.....</b>	<b>60</b>
III.3.1 Fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population générale de Constantine .....	60
III.3.2 Fréquences alléliques de l'apoE dans la population générale de Constantine .....	62
III.3.3 Fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population de Constantine et IDM .....	64
III.3.4 Fréquences alléliques de l'Apo E dans les IDM .....	65
<b>III.4 Influence du polymorphisme sur les paramètres lipidiques .....</b>	<b>66</b>
III.4.1 Génotype et paramètres lipidiques .....	66
<b>III.5 Polymorphisme et risque cardio-vasculaire .....</b>	<b>69</b>
III.5.1 Prévalence de L'odds ratio dans l'IDM .....	69
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>71</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>73</b>
<b>ANNEXE.....</b>	<b>84</b>



## **ABREVIATIONS**

**Apo** : Apoprotéine

**Arg** : Arginine

**ARNm** : ARN messenger

**CETP** : Protéine de transfert des esters de cholestérol

**Chol**: Cholesterol

**CKMB**: Créatine Kinase Myocardial Band

**Cys**: Cystéine

**Da**: Dalton

**DMSO**: Dimethyl sulfoxide

**DO** : Densité optique

**EC** : Esters de cholestérol

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

**FDR**: Facteur de risque

**Glu**: Glutamate

**Gp**: Glycérol phosphate

**HAS**: Haute autorité de santé.

**HDL**: High density lipoprotein

**HDL-C**: Cholestérol véhiculé par les HDL

**IC**: insuffisance cardiaque

**IDL**: Intermediate density lipoprotein

**IDM** : Infarctus du myocarde

**i.e.** : C'est-à-dire (id est, locution latine)

**IFN $\gamma$**  : Interféron  $\gamma$

**IL-1** : Interleukine 1

**IMC** : Indice de masse corporelle

**LCAT**: Lécithine: cholestérol acyltransférase

**LDL**: Low density lipoprotein

**Lp (a)**: Lipoprotéine (a)

**LRP**: LDL receptor-related protein

**MCP-1**: Monocyte chemotactic Protein-1

**MCV**: Maladies cardiovasculaires

**NCEP**: National Cholesterol Education Program

**NO:** Nitric oxide

**OMS:** Organisation Mondiale de Santé

**OR:** Odds ratio (rapport de cote)

**Pb :** Paire de base

**PGI<sub>2</sub>:** Prostaglandine I<sub>2</sub>

**RC:** Rapport de cote (odds ratio)

**R-LDL :** Récepteur des LDL

**SDS:** Sodium dodecyl sulfate

**SFBC:** Société française de biologie clinique.

**SOX9:** SRY-box containing gene 9

**TBE:** Tris borate EDTA

**TE:** Tris EDTA

**TGF $\beta$ :** Transforming growth factor  $\beta$

**TNF:** Tumor Necrosing Factor

**VLDL:** Very low density lipoprotein

## Liste des figures :

- Figure 1:** Complications majeures de l'athérosclérose des artères coronaires (IDM).
- Figure 2:** Structure des vaisseaux, Structure des artères et des veines de capillaire.
- Figure 3:** Représentation de la paroi vasculaire saine et de la «strie lipidique».
- Figure 4:** Représentation de plaque d'athérome mature. Représentée par une chape fibreuse composée principalement de CML et un centre lipidique contenant des cellules spumeuses, des lipides et des macrophages.
- Figure 5:** Genèse de la plaque d'athérome et ses complications majeures.
- Figure 6:** Genèse de la plaque athérosclérose, séquence proposée par H.C. Stary.
- Figure 7:** Structure générale d'une lipoprotéine.
- Figure 8:** Trois Grandes Voies de Régulation.
- Figure 9:** Localisation cytogénétique du gène de l'Apo E sur le chromosome 19.
- Figure 10:** Positions exons –introns dans le gène d'Apo E.
- Figure 11:** Structure des différents domaines de l'ApoE.
- Figure 12 :** Répartition de la population d'étude.
- Figure 13:** Répartition des sujets témoins selon l'âge et le sexe.
- Figure 14:** Répartition des sujets présentant un IDM selon l'âge et le sexe.
- Figure 15:** Répartition et évolution des IDM selon l'âge et le sexe.
- Figure 16:** Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% des fragments amplifiés (292pb) par PCR du gène Apo E.
- Figure 17:** Site de restriction par l'enzyme HhaI.
- Figure 18:** Profil d'électrophorèse sur gel d'acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI présentant différents génotypes d'Apo E.
- Figure 19:** Comparaison des Moyennes du cholestérol dans l'IDM et chez les témoins selon le sexe.
- Figure 20:** Comparaison des Moyennes des TG dans l'IDM et chez les témoins selon le sexe.
- Figure 21:** Comparaison des Moyennes des C-HDL dans l'IDM et chez les témoins selon le sexe.
- Figure 22:** Comparaison des Moyennes des C-LDL dans l'IDM et chez les témoins selon le sexe.
- Figure 23:** Prévalence des facteurs de risque dans la population témoin.
- Figure 24 :** Prévalence des facteurs de risque dans les IDM.

**Figure 25:** Comparaison de la fréquence de l'HTA entre les témoins et maladies cardiovasculaires.

**Figure 26:** Comparaison de la fréquence de diabète entre les témoins et maladies cardiovasculaires.

**Figure 27:** Comparaison de la fréquence du tabagisme chez les hommes entre les témoins et maladies cardiovasculaires.

**Figure 28:** Comparaison de la fréquence de l'obésité entre les témoins et maladies cardiovasculaires.

**Figure 29:** Fréquences génotypiques de l'apoE dans la population générale.

**Figure 30:** Fréquence de l'allèle 4 dans différentes populations.

**Figure 31:** Répartition des fréquences génotypiques dans la population de Constantine et dans les IDM.

**Figure 32:** Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population de Constantine et dans les IDM.

**Figure 33:** Impact du génotype de l'Apo E sur le cholestérol et C<sub>LDL</sub> chez Les porteurs de : e<sub>2</sub>/e<sub>3</sub>, e<sub>3</sub>/e<sub>4</sub> et e<sub>3</sub>/e<sub>3</sub>.

**Figure 34:** Impact du génotype de l'Apo E sur les triglycérides chez Les porteurs de : e<sub>2</sub>/e<sub>3</sub>, e<sub>3</sub>/e<sub>4</sub> et e<sub>3</sub>/e<sub>3</sub>.

**Figure 35:** Impact du génotype de l'Apo E sur les triglycérides chez Les porteurs de : e<sub>2</sub>/e<sub>3</sub>, e<sub>3</sub>/e<sub>4</sub> et e<sub>3</sub>/e<sub>3</sub>.

## Liste des tableaux :

**Tableau 1:** Concentration et répartition relative des marqueurs cardiaques.

**Tableau 2:** Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines.

**Tableau 3:** Classification selon le contenu en apolipoprotéines.

**Tableau 4:** Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonction des principales apolipoprotéines.

**Tableau 5:** Les principaux récepteurs de l'apoE dans les différents tissus.

**Tableau 6:** Associations des différents génotypes aux MCV.

**Tableau 7 :** Répartition de la population d'étude.

**Tableau 8:** Répartition des sujets témoins selon l'âge et le sexe.

**Tableau 9:** Répartition des sujets présentant un IDM selon l'âge et le sexe.

**Tableau 10:** Tailles des fragments de restriction en paire de base (Pb) correspondants aux six génotypes possibles (3 homozygotes et 3 hétérozygotes).

**Tableau 11:** Comparaison des Moyennes du cholestérol, des triglycérides, du C-HDL et du C-LDL dans l'IDM et chez les témoins selon le sexe.

**Tableau 12 :** Prévalence des facteurs de risque dans la population témoin.

**Tableau 13:** Prévalence des facteurs de risque dans les IDM.

**Tableau 14:** Fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population générale.

**Tableau 15:** Fréquence génotypique de la population Constantinoise comparée à d'autres groupes ethnique.

**Tableau 16:** Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population de Constantine.

**Tableau 17:** Fréquences alléliques de l'Apo E dans différentes populations.

**Tableau 18:** Fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population de Constantine et dans les IDM.

**Tableau 19:** Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population de Constantine et dans les IDM.

**Tableau 20:** Impact du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez Les porteurs d'e2/e3, e3/e4 et e3/e3.

**Tableau 21:** Calcul des odds ratio des sujets malades (IDM) ayant un allèle ε4 par rapport aux témoins ayant un génotype e3/e3.



# ***Introduction***

## Introduction:

➤ Les maladies cardiovasculaires (MCV) sont, avec le cancer, les maladies qui touchent le plus les populations des pays industrialisés. Elles sont la cause principale des décès et de morbidité.

L'athérosclérose restant sans traitement étiologique spécifique, la correction de ses facteurs de risque est actuellement le meilleur moyen de lutter contre cette maladie (1).

Dans le sang, Les lipides (cholestérol et triglycérides...) circulent grâce à des transporteurs appelés lipoprotéines.

Les études épidémiologiques ont permis d'identifier certains facteurs de risques de MCV qui sont les plus importants comme :

- l'hypercholestérolémie
- le tabac
- l'hypertension
- l'obésité
- le diabète
- l'hérédité

Les concentrations des lipoprotéines plasmatiques sont en relation étroite avec le risque cardiovasculaire. Elles sont contrôlées par des mécanismes homéostatiques impliquant la régulation du métabolisme des lipoprotéines (2).

➤ Les apolipoprotéines E (Apo E ou *arginine-rich proteins*) sont des apolipoprotéines structurales mineures qui participent à la régulation du catabolisme et de la captation des lipoprotéines riches en triglycérides ou en cholestérol. Leur synthèse a lieu au niveau de très nombreux organes : foie, cerveau, rein, mais pas au niveau intestinal (contrairement à d'autres apolipoprotéines). Principalement localisées au niveau des VLDL.

➤ Parmi les facteurs génétiques, les gènes codant pour les apoprotéines sont responsables d'une part de cet effet génétique. Il existe différentes apoprotéines dont les mieux connues sont les Apo A, B, C et essentiellement l'Apo E.

Il a été constaté pour la première fois une variation phénotypique au niveau de L'Apo E à travers les études d'Utermann et al en 1977 démontrant ainsi que le phénotype E2/E2 était toujours associé à la dysbêtalipoprotéïnémie de type III (2).

L'expression phénotypique de l'Apo E est le résultat d'un polymorphisme génétique sous le contrôle de trois allèles principaux 2, 3 et 4 situés à un locus sur le bras long du chromosome 19. Ce polymorphisme est dû à des mutations ponctuelles en deux sites précis du gène. Il en résulte trois isoformes principales (E2, E3 et E4). L'Apo E3 comporte une cystéine au résidu 112 et une arginine au résidu 158; la cystéine est présente à ces deux résidus pour l'isoforme E2, et l'arginine à ces deux mêmes positions pour l'Apo E4 (3). Les différentes combinaisons génotypiques donnent six phénotypes: trois homozygotes (E2/E2 ; E3/E3 ; E4/E4) et trois hétérozygotes (E2/E3 ; E3/E4 ; E2/E4).

La détermination du polymorphisme de l'Apo E a été menée par plusieurs études qui ont révélé la relation existant entre ce polymorphisme et le risque de maladies cardiovasculaires. Et que l'allèle  $\epsilon 4$  est probablement lié à l'hypercholestérolémie (4).

Au niveau du pourtour méditerranéen, les études ont intéressé le Sud de l'Europe (Italie, Grèce, Espagne). Les résultats montrent une sous expression de l'allèle Apo E4 et une mortalité par maladie cardiovasculaire nettement plus basse que le reste du monde. Ce résultat serait-il dû seulement à une différence ethnique ou à des facteurs environnementaux qui modèleraient le gène de l'Apo E.

La connaissance de ce polymorphisme devient un élément à prendre en considération pour le suivi de patients dyslipidémiques, d'une meilleure adaptation thérapeutique et diététique, ainsi que pour la connaissance des variations interindividuelles dans l'initiation et la progression d'athérosclérose.

### **Notre étude a pour objectifs :**

- La détermination de ce polymorphisme dans la population Algérienne en prenant comme cible les habitants de Constantine.
- De comparer les fréquences des différents allèles dans la population d'étude (les sujets atteints par infarctus du myocarde) et dans la population témoin (habitants de Constantine).
- De voir s'il existe une relation entre ce polymorphisme et les taux des fractions lipidiques (cholestérol, triglycérides, HDL et LDL).
- Et enfin d'entrevoir la liaison entre les différents génotypes et le risque de maladies cardio-vasculaires.



# **Partie 1 :**



## ***Etude Bibliographique***

# **Chapitre I :**



## ***Les maladies cardiovasculaires***

## **I.1 Définition :**

Les maladies cardio-vasculaires constituent un ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins. Elles comprennent (5) :

- Les cardiopathies coronariennes (touchant les vaisseaux sanguins qui alimentent le muscle cardiaque).
- Les maladies cérébro-vasculaires (touchant les vaisseaux sanguins alimentent le cerveau).
- Les artériopathies périphériques (touchant les vaisseaux sanguins qui alimentent les bras et les jambes).
- Les cardiopathies rhumatismales, affectant le muscle et les valves cardiaques et résultantes d'un rhumatisme articulaire aigu, causé par une bactérie, le streptocoque.
- Les malformations cardiaques congénitales (malformations de la structure du cœur déjà présentes à la naissance).
- Les thromboses veineuses profondes et les embolies pulmonaires (obstruction des veines des jambes par un caillot sanguin, susceptible de se libérer et de migrer vers le cœur ou les poumons).

Les infarctus et les accidents vasculaires cérébraux sont généralement des événements aigus et sont principalement dus au blocage d'une artère empêchant le sang de parvenir au cœur ou au cerveau. Leur cause la plus courante est la constitution d'un dépôt gras sur les parois internes des vaisseaux sanguins alimentant ces organes. Les accidents vasculaires cérébraux peuvent aussi résulter du saignement d'un vaisseau sanguin cérébral ou de caillots.

## **I.2 Epidémiologies :**

On estime à 17,1 millions le nombre de décès imputables aux maladies cardiovasculaires, soit 29% de la mortalité mondiale totale. Parmi ces décès, on estime que 7,2 millions sont dus à une cardiopathie coronarienne et 5,7 millions à un accident vasculaire cérébral (dernières statistiques 2004).

Plus de 82% des décès interviennent dans des pays à revenu moyen ou faible et touchent presque également hommes et femmes.

D'ici 2030, près de 23,6 millions de personnes mourront d'une maladie cardiovasculaire (Cardiopathie ou accident vasculaire cérébral principalement). D'après les projections, ces maladies devraient rester les premières causes de décès, le taux de progression le plus important devrait toucher la région de la méditerranée orientale.

L'Asie du Sud-est devrait compter le plus grand nombre de décès. Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité en Algérie, avec de 20 000 à 25 000 décès chaque année. En 2002, 26,1% des décès ont été causés par ces maladies.

En 2010 plus de 1 million de personnes présentent des affections cardiovasculaires dans notre pays (6).

### **I.3 Définition de l'infarctus du myocarde :**

La définition des dommages myocardiques a évolué au cours du temps notamment depuis l'apparition des marqueurs biologiques cardiospécifiques tels que les troponines.

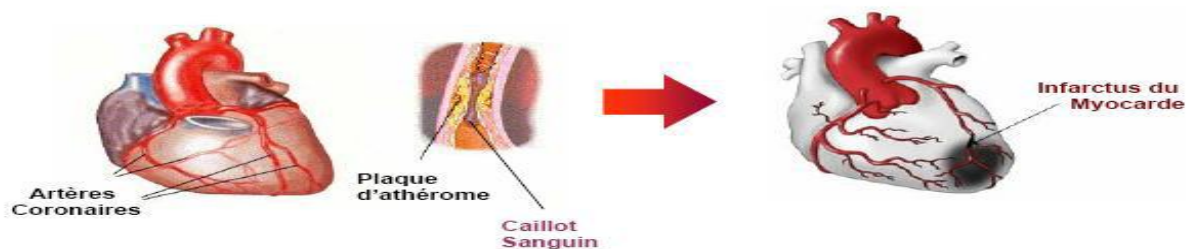
En 2007, un groupe de travail international, regroupant l'European Society of Cardiology (**ESC**), l'American College of Cardiology (**ACC**), l'American Heart Association (**AHA**) et la World Heart Federation (**WHF**), a standardisé une définition de l'infarctus du myocarde.

L'infarctus aigu est alors défini par une augmentation ou une baisse de biomarqueurs cardiaques, de préférence la troponine, avec au moins une valeur supérieure au 99ème percentile, associée à des signes d'ischémie myocardique, avec au moins un des éléments suivants : une symptomatologie d'ischémie, une modification électrique significative indiquant une nouvelle ischémie, une onde Q nouvellement apparue ou une preuve par imagerie, preuve d'une nouvelle perte de myocarde viable ou d'une anomalie de la contractilité régionale de la paroi myocardique vue à l'examen d'imagerie. (Figure1)

Ce rapport propose une classification clinique des différents types d'infarctus du myocarde, reconnaissant 5 catégories distinctes de dommage myocardique sur la base de la physiopathologie :

- Type I : spontanément lié à une ischémie par évènement coronarien due à une érosion et/ou à une rupture, une fissuration ou une dissection de plaque.

- Type II : secondaire à une ischémie liée soit à une augmentation de la demande en oxygène, soit à une diminution de l'apport en oxygène.
- Type III : mort subite.
- Type IV : (a) sur angioplastie, (b) sur thrombose de stent.
- Type V : après pontage coronarien chirurgical.



**Figure 1 :** complications majeures de l'athérosclérose des artères coronaires (IDM). (7)

#### I.4 Diagnostic :

Le diagnostic des syndromes coronaires aigus, parmi eux IDM repose sur les critères cliniques et électriques (électrocardiogramme) et biologiques. Le tableau 1 résume les principaux marqueurs de nécrose cardiaque.

**Tableau 1 :** Concentration et répartition relative des marqueurs cardiaques. (8)

	Cytoplasme	Appareil contractile	Concentration intracardiaque
<b>Troponine Ic</b>	3-4%	96-97%	5mg/g
<b>Troponine Tc</b>	6-8%	92-94%	11mg/g
<b>CKMB</b>	100%	0%	1mg/g
<b>Myoglobine</b>	100%	0%	24mg/g

## **I.5 Facteurs de risque de l'IDM :**

Les maladies cardiovasculaires ne préviennent pas toujours, mais elles ne frappent pas non plus au hasard. Le risque de développer un IDM étant plus rapide lorsqu'il y a plus de facteurs aggravants associés.

Certains facteurs de risques sont aujourd'hui bien connus et peuvent être classés en facteurs modifiables et facteurs non modifiables, en plus d'autres facteurs qui sont en cours de validation :

### **I.5.1 Facteurs non modifiables :**

#### **I.5.1.1 Age :**

Le risque cardiovasculaire augmente avec l'âge, même si des cas d'athérosclérose sont observés chez des sujets jeunes, la prévalence de cette pathologie reste fortement corrélée à l'âge (9,10). L'impact de tous les facteurs de risque est substantiellement plus grand chez les personnes d'âge moyen ou âgées que chez les jeunes adultes (11,9).

#### **I.5.1.2 Sexe :**

Le risque de développer un IDM est en effet plus élevé dans le sexe masculin (9). La maladie coronarienne est rare chez la femme en pré-ménopause, en l'absence de diabète ou d'hyperlipidémie génétique sévère telle que l'hypercholestérolémie familiale. Après la ménopause, le niveau de risque chez cette dernière rejoint très progressivement celui de l'homme (12,13). Cette différence de sexe peut être expliquée par l'effet protecteur des hormones chez la femme en période d'activité génitale (9).

#### **I.5.1.3 Antécédents familiaux et hérédité :**

Des antécédents familiaux de maladie coronarienne sont hautement instructifs en ce qui concerne le degré du risque. Seuls les accidents cardiovasculaires précoces sont à prendre en compte, c'est à dire avant 55 ans chez un homme et avant 65 ans chez une femme ; et ne seront considérés comme significatifs que les accidents survenus chez le père, la mère ou un parent du premier degré. En fait, la génétique ne serait responsable que du tiers du risque, le reste dépend du mode de vie du sujet (9,10).

## **I.5.2 Facteurs modifiables :**

### **I.5.2.1 Hypertension artérielle (HTA) :**

L'hypertension artérielle (HTA) est un FDR cardiovasculaire indiscutable. Le lien entre niveau tensionnel et risque d'IDM est continu, ce qui signifie qu'il n'y a pas de seuil individualisé en dessous duquel le risque peut être considéré comme nul (9,14).

### **I.5.2.2 Diabète :**

Le diabète majore fortement le risque de maladie coronarienne. Ce risque est globalement multiplié par un facteur 3 chez la femme et 2 chez l'homme (15). Les diabètes de type I et II sont associés à une augmentation du risque d'IDM.

### **I.5.2.3 Dyslipidémies :**

La relation entre les dyslipidémies et la cardiopathie ischémique est connue depuis Longtemps (16,9).

La morbidité-mortalité coronarienne est associée à :

- une augmentation du LDL cholestérol
- une diminution du HDL cholestérol
- une augmentation des triglycérides (TG)
- une augmentation de la Lp (a)

### **I.5.2.4 Obésité :**

L'obésité est évaluée par l'indice de masse corporelle (IMC) (poids/taillé<sup>2</sup>). Il y a surpoids lorsque l'IMC est supérieur à 25 et obésité au-delà de 30 (9). Au-delà de la corpulence totale, la répartition de l'adiposité a un impact important sur le risque cardiovasculaire. En effet l'obésité abdominale (répartition de type centrale) majore le risque de façon plus significative (16,10).

L'obésité serait un FDR indirect des maladies cardiovasculaires passant par le développement d'une insulino-résistance et d'une HTA. Ces trois FDR s'additionnent et expliquent la forte augmentation du risque de syndrome métabolique. (17).

**I.5.2.5 Sédentarité:**

Un manque d'exercice augmente le risque de maladie coronarienne, indépendamment des autres facteurs de risque (9,10). Une méta-analyse a montré, à partir de plusieurs études de cohorte, que la sédentarité multipliait par 1.9 le risque de décès d'origine coronarienne, par rapport à une population active (18). Alors que l'activité physique régulière permet de réduire le poids, de réguler les taux de cholestérol et de lipides sanguins, la tension artérielle et le diabète, et d'atténuer ainsi le risque cardiovasculaire global (19). Il a été démontré qu'à la suite d'un infarctus du myocarde ; l'absence d'activité physique chez ces patients est associée à une plus forte mortalité, par rapport à ceux qui bénéficient d'une réadaptation cardiovasculaire (19).

**I.5.2.6 Tabac :**

Il s'agit d'un facteur de risque majeur quel que soit le type de tabagisme, actif ou passif (9,10).

Le tabac peut même être un facteur de risque plus important dans les régions avec une incidence de maladie cardiovasculaire en augmentation telles que l'Asie et l'Europe de l'Est et Centrale, par rapport à l'Europe de l'Ouest et à l'Amérique du Nord (20).

In vitro L'oxydation des LDL, première condition de l'athérosclérose, peut être provoquée chimiquement par incubation de LDL natives en présence d'extraits de fumée de cigarette (21).

En résumé, les FDR peuvent être associés, les risques sont alors multipliés et non additionnés.



## **Chapitre II :**



# ***L'athérosclérose***

## II.1 Découverte et historique :

L'athérosclérose n'est pas une pathologie des temps modernes, en effet les plaques d'athérome authentiques sur le plan histologique ont été identifiées au sein des corps momifiés égyptiens par Sir Marc Armand RUFFER qui publia ses observations en 1911 (22). En 1740, le médecin allemand Krell décrit pour la première fois des concrétions calciques au niveau de la paroi artérielle, qu'il appelle plaques osseuses. C'est près de deux cent ans plus tard, en 1933, qu'apparaîtra le terme d'athérosclérose, nom donné à ce durcissement de la paroi artérielle par un médecin strasbourgeois Lobstein (23).

## II.2 Définition:

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

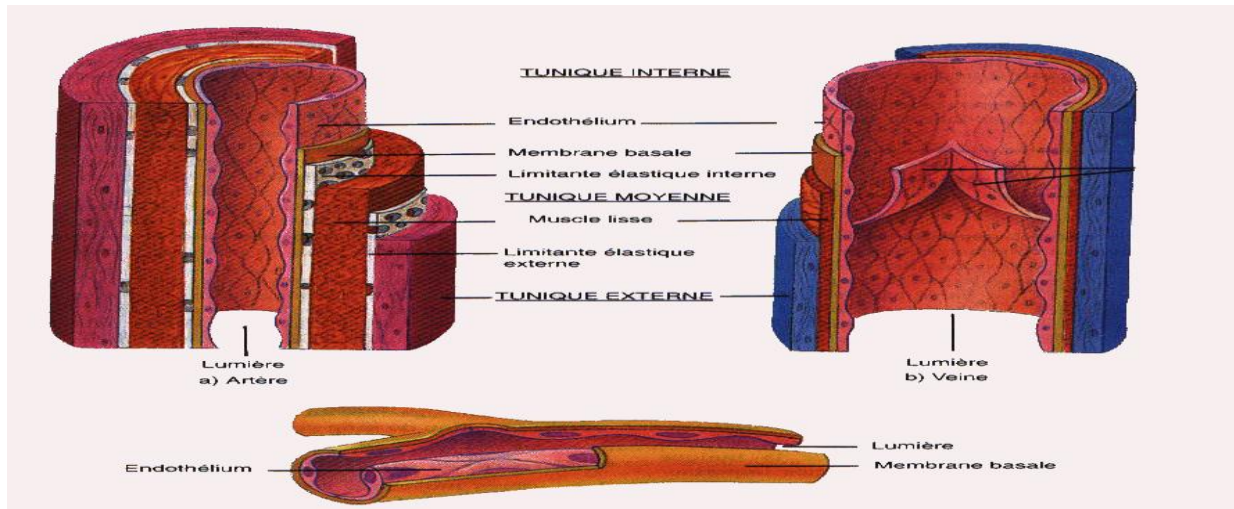
En fait, l'athérosclérose aboutit à la formation de plaques au niveau de la paroi des artères. Ces plaques sont composées de dépôts lipidiques riches en cholestérol (athérome) enveloppés dans une gangue fibreuse (sclérose) (24).

- **Artériosclérose** : Terme générique désignant l'épaississement de l'intima artérielle avec amincissement fibreux de la media (25). Alors que l'athérosclérose ne touche que la media. De plus, l'artériosclérose touche aussi les artères de petit calibre et les artérioles (26).
- **Athérome** : Portion lipidique des plaques athéroscléroses (25).

## II.3 Physiologie de la paroi vasculaire saine :

Seules les artères de moyen et gros calibre (0.5 à 3cm de diamètre externe) sont sensibles au développement des lésions athéroscléroses. Cependant il existe parmi ces artères de la variation de structure, de propriété mécanique et de susceptibilité à développer de l'athérome. Elles répondent à un modèle commun d'organisation, composé de trois tuniques

superposées dénommées de la lumière vers la périphérie de l'artère : l'intima, la média et l'adventice. (Figure 2)



**Figure 2** : Structure des vaisseaux (27). Structure des artères et des veines de capillaire.

Tunique interne = intima ; tunique moyenne = média ; tunique externe = adventice

### II.3.1 L'intima :

Elle constitue la première couche et le lieu de formation de la plaque d'athérome. Elle est constituée d'une couche unique et continue de cellules endothéliales directement en contact avec le sang circulant.

La sous endothéliale ou membrane basale sur la quelle reposent les cellules endothéliales, d'épaisseur variable et de nature conjonctive, est composée de fibre de collagène, de quelques fibres élastiques et des fibroblastes qui produisent des protéoglycanes, de glycoène et de élastine. Elle est caractérisée par une importante activité enzymatique et par la présence d'abondantes cellules immunitaires. Enfin l'imitant élastique interne permet de séparer l'intima de la media.

### II.3.2 La Media :

Elle est composée principalement de cellules musculaires lisses (CML) entourées de fibres élastiques et de fibres de collagène, qu'elles synthétisent. La média est séparée de l'adventice par la limitante élastique externe.

### **II.3.3 L'adventice :**

Cette tunique ancre le vaisseau dans les tissus voisins. C'est un tissu lâche, composé de fibres de collagène, de fibres élastiques, de CML et de fibroblastes, dans lequel vont cheminer les vasa vasorum irrigant la partie externe de la média (présents uniquement sur les grosses artères). Elle est parfois parcourue par des fibres musculaires longitudinales.

## **II .4 Les cellules impliquées dans la formation de la plaque d'athérome :**

Les acteurs qui jouent un rôle prépondérant dans la genèse de la plaque d'athérosclérose sont Les lipoprotéines essentiellement les LDL modifiés et 4 types cellulaires :

- les cellules endothéliales.
- les cellules musculaires lisses, et les lymphocytes.
- Les monocytes et macrophages.
- Les plaquettes.

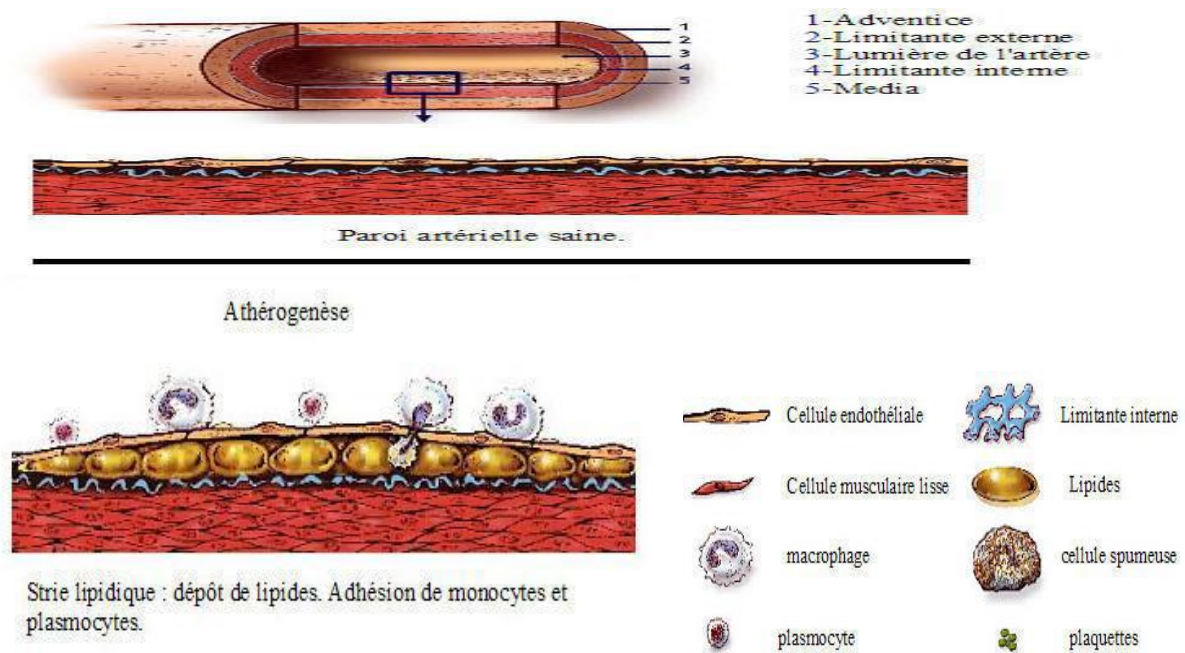
## **II .5 Evolution de la plaque d'athérome :**

### **II .5.1 La dysfonction endothéliale : déclencheur de l'athérosclérose :**

L'étape initiale se caractérise par un dysfonctionnement (ou activation) endothélial dont les causes sont partiellement comprises. Les bifurcations et les courbes des troncs artériels sont des régions prédisposées à développer des plaques d'athérome. Ce sont des régions où les flux sanguins sont perturbés et où l'endothélium est soumis d'une part à des fluctuations spatiales et d'autre part à des contraintes de cisaillements (« shear stress ») d'amplitudes variables. En effet la perte du flux laminaire, responsable d'une diminution locale des forces de cisaillement va entraîner l'induction de l'expression d'un certain nombre de gènes tels que les molécules d'adhésion, les cytokines ou l'inhibition de l'expression de l'élément protecteur comme le NO et PGI<sub>2</sub>. Ces modifications transcriptionnelles vont alors permettre la formation d'un état inflammatoire initiant l'athérosclérose.

Il existe plusieurs récepteurs tels que les récepteurs de la famille des LDLr, les récepteurs «éboueurs» des macrophages qui permettent aux particules lipidiques oxydées de pénétrer à l'intérieur des cellules et de former des cellules spumeuses. (28)

Ces processus concourent d'une part au recrutement et à l'adhérence de monocytes et de lymphocytes au niveau de l'endothélium et d'autre part à leur multiplication. Les monocytes ayant pénétré dans la couche intimale vont se transformer en macrophages qui vont se gorger de LDL oxydées présentes dans l'espace sous-endothélial et devenir des cellules spumeuses. On est à présent au stade précoce de la pathologie avec la formation de «stries lipidiques» (Figure 3). (29)



**Figure 3 :** Représentation de la paroi vasculaire saine et de la «strie lipidique» (30).

## II .5.2 Formation de la plaque d'athérome mature : un centre athéromateux et une chape fibreuse :

Le phénomène va s'amplifier car les macrophages et les lymphocytes vont entretenir le phénomène inflammatoire en sécrétant des cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IFN-g, TNF-a) ou en stimulant la production de cytokines ou de MCP-1 par les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses (CML) de la media.

Les CML vont progressivement subir un phénomène de dédifférenciation afin de migrer vers l'endothélium et construire une «chape fibreuse» entourant les cellules spumeuses. Le tissu fibreux est constitué de collagène, d'élastine, de fibrine, de protéoglycanes et de CML et permet de stabiliser la plaque d'athérome. Ces CML vont continuer à proliférer sous l'influence des facteurs de croissance produits au sein de la plaque et à produire

des métallo protéinases qui ont pour rôle de dégrader la matrice extracellulaire et de fragiliser la plaque.

Cette chape fibreuse entoure le centre lipidique qui est formé essentiellement de lipides libérés après dégénérescence des cellules spumeuses (Figure 4) (31).

La formation de cette plaque d'athérome entraîne d'autres modifications de la paroi artérielle notamment par la formation de nouveaux vaisseaux provenant de ramification des vasa vasorum de l'adventice irrigant ainsi la paroi vasculaire.



**Figure 4:** Représentation de plaque d'athérome mature. (30).

### II 5.3. Plaque d'athérome compliquée:

L'évolution de la plaque se déroule de façon lente, sur plusieurs années en général. Progressivement, la plaque d'athérome se développe et la lumière artérielle se réduit, entraînant une sténose artérielle. Au début de la maladie, l'artère est capable de réagir et compenser cette sténose en se dilatant (remodelage vasculaire). Petit à petit, les efforts de compensation sont trop importants à mettre en place et la sténose artérielle se développe et peut obstruer la majeure partie de la lumière artérielle. Plusieurs complications peuvent survenir (Figure 5).

- **La rupture de la chape fibreuse** encore appelée ulcération ou fissure met en contact le contenu de la plaque et le sang circulant entraînant deux complications. D'une part le sang sous forte pression peut s'engouffrer dans la brèche pour former un hématome, parfois volumineux, à l'intérieur de la plaque. D'autre part le contenu de la plaque est exposé à la circulation sanguine, les processus de coagulation s'installent, les plaquettes adhèrent et les risques de thromboses sont élevés (32).

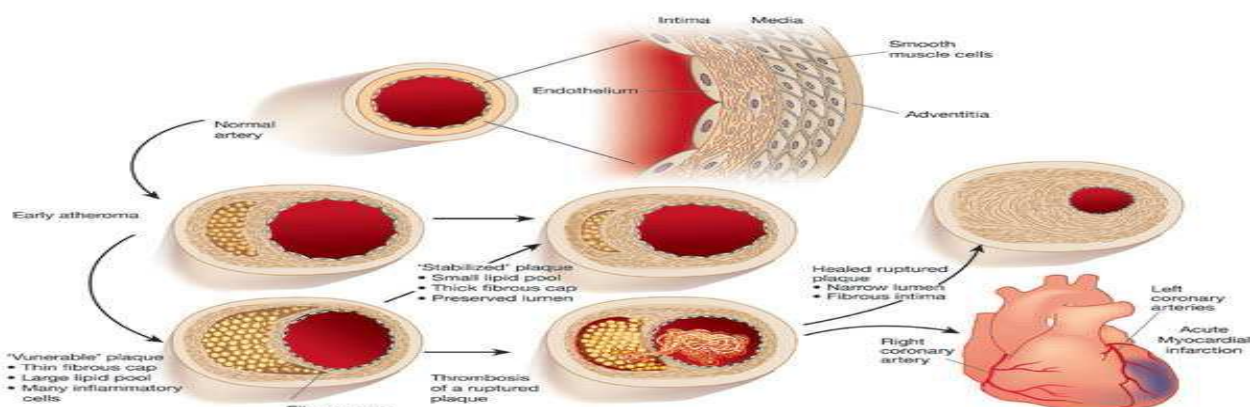
Ceci pouvant entraîner dans le pire des cas une occlusion de la lumière artérielle et un syndrome coronarien aigu de type angor ou infarctus du myocarde. Dans d'autres cas le thrombus et l'hématome se stabilisent sans provoquer d'occlusion.

Cependant, certaines plaques dites stables, très fibreuses dures, n'entraînent pas de complications majeures. Les facteurs de rupture de la plaque sont généralement liés à leur composition en lipides et en tissus fibreux, un centre lipidique important et une chape fibreuse très fine (33), ainsi qu'à leur contenu en métalloprotéinases. De plus, cette chape fibreuse fine doit être relativement peu solide, ce qui implique qu'elle contienne peu d'élastine et de collagène. D'autres facteurs sont également impliqués dans l'instabilité de la plaque : l'apoptose des cellules de la plaque, les CML, les macrophages (34) et la rupture de néo-vaisseaux intra-plaque.

- **L'Anévrisme** est une conséquence de l'athérosclérose et se traduit par un amincissement accentué de la paroi artérielle dû à une exagération du processus de remodelage artériel utilisé pour compenser l'athérome.

- **La calcification** est un processus tardif dans la progression de l'athérosclérose et est mal connue. Il s'agit d'un mécanisme contrôlé qui nécessite la présence de protéines impliquées dans les régulations osseuses telles que le TGF $\beta$ , l'ostéocalcine et le collagène.

Elle se caractérise par une accumulation dans la paroi vasculaire de cellules semblables aux cellules du cartilage (les chondrocytes) et de l'os (35). En effet dans ce processus les cellules vasculaires perdent leurs caractéristiques de cellules musculaires lisses pour se différencier en chondrocytes et exprimer des marqueurs de la différenciation chondrocytaire comme les gènes Sox9 et Cart1, principaux régulateurs de la chondrogenèse.



**Figure 5 :** Genèse de la plaque d'athérome et ses complications majeures. (36)

## II .6 Classification :

L'évolution de la plaque d'athérome peut être scindée en différents stades. Une classification évolutive des lésions d'athérosclérose à partir de l'étude histologique d'artères coronaires humaines a été proposée par Stary et al. (37).

- **Stade 1** : il se traduit par la présence dans l'intima de cellules spumeuses isolées, c'est-à-dire « gorgées » de lipides. La présence de ces cellules provient d'un déséquilibre entre les entrées et les sorties des lipoprotéines.
- **Stade 2** : il y a présence de stries lipidiques constituées d'un plus grand nombre de cellules spumeuses, mais présence également de cellules musculaires lisses, contenant des lipides en quantité abondante. Il n'y a pour l'instant pas de lipides extra cellulaires. Ces deux premiers stades peuvent apparaître avant l'âge de 10 ans et sont asymptomatiques. Les stries lipidiques peuvent régresser ou évoluer vers les stades suivants.
- **Stade 3** : il est autrement appelé « pré-athérome ». Il correspond à la présence de lipides extracellulaires en faible quantité due à la mort de cellules spumeuses.
- **Stade 4** : Il consiste en le regroupement des lipides extra et intra cellulaires en amas lipidiques constituant l'athérome simple.
- **Stade 5** : L'athérome est pris dans une trame fibreuse qui l'isole de la lumière artérielle. Les fibres sont produites par les cellules musculaires lisses et contiennent du collagène, de la fibrine, de l'élastine et des mucopolysaccharides.

C'est à cet ensemble que correspond la définition de l'OMS (organisation mondiale de la santé) (38). L'évolution vers le stade 6 survient après 40 ans et reste longtemps asymptomatique.

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

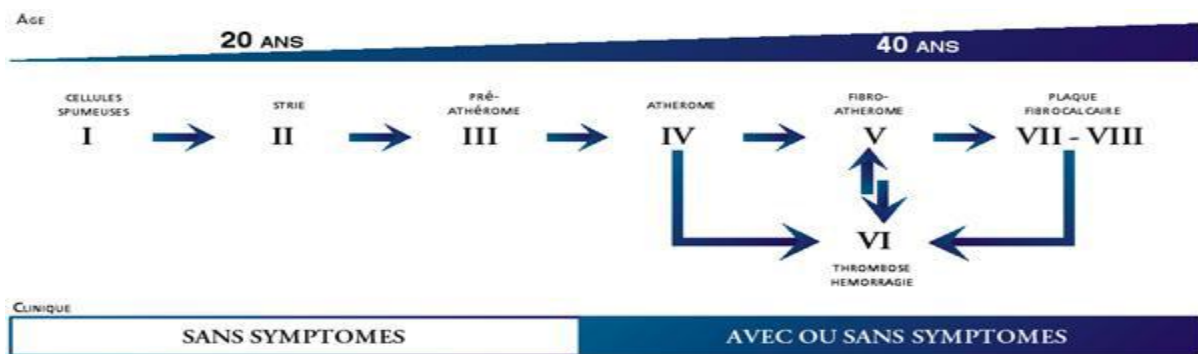
L'avancée vers ces stades contribue à l'évolution de la plaque par l'incorporation de matériel hématique.

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



Les différents mécanismes impliqués dans l'athérogenèse sont en lien avec les facteurs de risques identifiés par la HAS (dyslipidémie, l'HTA, le diabète) ou des facteurs de risques émergents (comme l'oxydation lipidique ou l'inflammation).

Les différents acteurs de ce processus qui s'échelonnent sur toute une vie sont décrits ci-après. (24) (Figure 6)



**Figure 6 :** Genèse de la plaque athérosclérose, séquence proposée par H.C. Stary (39)

## **Chapitre III:**

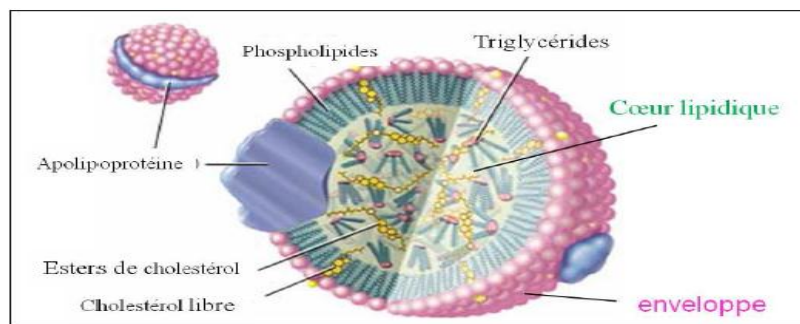


# ***Les lipoprotéines***

### III.1 Structure générale des lipoprotéines :

Les lipoprotéines circulantes sont des microémulsions, elles ont une structure généralement identique composée d'une enveloppe sphérique de molécules hydrophiles (cholestérol libre, phospholipides et apolipoprotéines) et d'un noyau central constitué de molécules strictement insolubles dans l'eau ou hydrophobes (cholestérol estérifié et triglycérides) (Figure 7).

Parmi les propriétés des lipoprotéines qui méritent d'être soulignées car elles ont des implications physiologiques importantes il y a : Les apolipoprotéines peuvent être séparées en deux catégories, les apolipoprotéines structurales intégrées dans la couche périphérique et ne pouvant la quitter, et les apolipoprotéines libres faiblement liées qui font l'objet d'échanges entre lipoprotéines, le type d'apolipoprotéines, la quantité de cholestérol estérifié et de triglycérides varient d'une lipoprotéine à l'autre. On en distingue ainsi différentes classes selon leur densité, leur taille et leur composition chimique et propriétés physiques.



**Figure 7 :** Structure générale d'une lipoprotéine. (40).

### III .2 Classification des lipoprotéines :

Leur classement repose sur :

- **Leur mobilité électrophorétique:** par analogie aux globulines  $\alpha$  et  $\beta$ , deux principales classes sont distinguées, lipoprotéines  $\alpha$  et lipoprotéines  $\beta$  respectivement (41) dont la migration des quatre fractions met les  $\alpha$  lipoprotéines au niveau des  $\alpha$  1-globulines, les pré  $\beta$ -lipoprotéines au niveau des  $\alpha$  2-globulines et les  $\beta$ -lipoprotéines au niveau des  $\beta$ -globulines et les chylomicrons ne migrent pas (42).

- **Leur fraction protéique** : dont le classement dépend de la nature de l'apolipoprotéine présente dans leur structure lipoprotéique : Lp A (AI et AII), Lp B (B48, B100), Lp C (CI, CII, CIII), LpD et LpE (42). (Tableau 2)

- **Leur comportement moléculaire à l'ultracentrifugation de flottation** permettant une classification plus fine des lipoprotéines dont six populations plasmatiques sont distinctes par leur densité, taille et composition lipidique. Cette subdivision a pris toute son importance dès lors que les études cliniques ont démontré la corrélation étroite entre l'incidence des maladies cardiovasculaires et le taux du cholestérol des lipoprotéines. (HDL et LDL) (41).

**Tableau 2:** Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines (43).

Lipoprotéine	Mobilité électrophorétique	Densité	Taille (nm)	Proportion EC/TG	Principale apolipoprotéines
<b>chylomicrons</b>	Pas de migration	0.93	75-1200	1/19	B48, E, C
<b>VLDL</b>	pré-β	0.93-1.008	30-80	1/ 3.3	B100, E, C
<b>IDL</b>	pré-β lent	1.008-1.019	27- 35	1/ 3.5	B100, E
<b>LDL</b>	β	1.019-1.063	18- 27	1/ 0.23	B100
<b>HDL2</b>	α	1.063-1.125	9- 12	1/ 0.22	A1, AII, C
<b>HDL3</b>	α	1.125-1.210	7- 9	1/ 0.19	A1, AII, C
<b>pré-βHDL</b>	pré-β	1.210-1.250	< 7(disque)	nd	A1
<b>Lp (a)</b>		1.040-1.115	25		B100- (a)

### III .3 Métabolisme des lipoprotéines :

Les lipoprotéines constituent un moyen de transport et de distribution des lipides au sein de l'organisme. En effet le cholestérol est essentiel à la formation des membranes cellulaires et à la synthèse de certaines hormones et des sels biliaires. Les triglycérides quant à eux sont une source

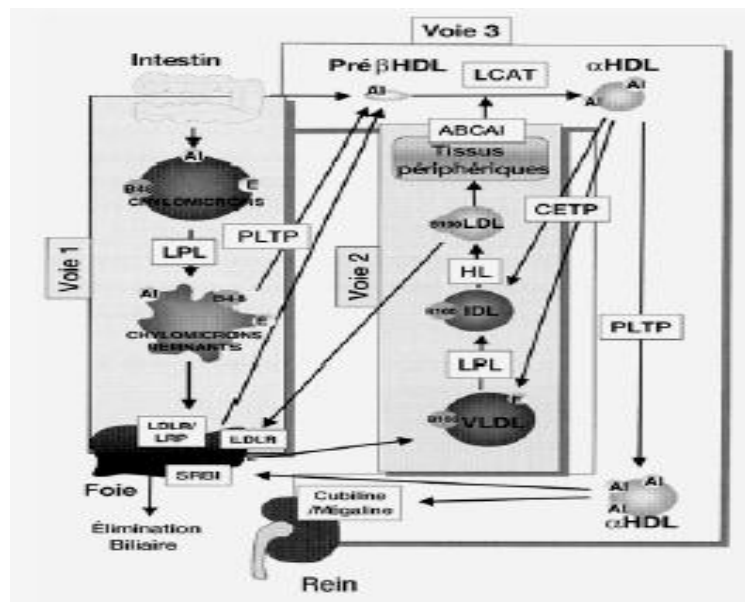
d'acide gras libre. Ils constituent ainsi une réserve d'énergie au niveau du tissu adipeux et peuvent être utilisés directement par les muscles comme source d'énergie (44)

Au niveau de chaque organe irrigué les lipoprotéines subissent des modifications qui affectent leur composition, leur structure et leur fonction. Trois types de tissus sont impliqués dans le métabolisme lipidique: l'intestin, le foie et les tissus périphériques.

L'intestin permet l'absorption des lipides alimentaires et leur intégration dans des lipoprotéines de grande taille riches en triglycérides : les chylomicrons. Ces chylomicrons vont contribuer au transport entéro-hépatique des lipides, voie métabolique au cours de laquelle leurs triglycérides seront hydrolysés par la LPL (lipoprotéine lipase) et les acides gras libres, captés par les tissus périphériques pour y être stockés (tissu adipeux), ou dégradés à des fins énergétiques (muscle strié). Finalement, les particules résiduelles non captées, ayant perdu une large part de leurs triglycérides et de leurs apoprotéines, sont catabolisées dans les hépatocytes par l'intermédiaire d'une endocytose récepteur dépendante (LDLr, LRP1, les récepteurs de l'apoE) (44).

Le foie constitue l'organe central de gestion du métabolisme et du transport des lipides dans l'organisme. Il prend en charge les lipides résiduels d'origine intestinale et les intègre dans de nouvelles lipoprotéines (VLDL) afin de les redistribuer aux tissus périphériques, c'est la voie endogène d'apport. De plus, le foie possède la capacité de dégrader les lipoprotéines grâce à la lipase hépatique (HL) et aide par la LPL à générer des particules plus petites et plus denses, les IDL et des LDL (44).

Enfin, les tissus périphériques captent des lipides (principalement cholestérol et acides gras libres non estérifiés) par le biais de l'endocytose et de l'hydrolyse des lipoprotéines d'origine hépatique ou intestinale. Ces lipides sont alors utilisés par la cellule pour produire de l'énergie, pour le stockage de composés énergétiques, pour la production et le maintien de la membrane cellulaire et la synthèse de différentes substances endogènes telles que les hormones stéroïdiennes et les acides biliaires. Le cholestérol a recours, via les HDL, à une voie de transport centripète vers le foie, seul organe capable de l'éliminer par voie biliaire (44). (Figure 8)



**Figure 8:** Trois Grandes Voies de Régulation (45).

Voie 1 : Voie entéro-hépatique.

Voie 2 : Voie endogène d'apport aux tissus périphériques.

Voie 3 : Voie de retour (reverse transport).

### III.4 Les apolipoprotéines :

#### III.4.1 Définition :

L'apolipoprotéine représente la partie intelligente de la lipoprotéine. Elle est dénommée par une lettre de l'alphabet (A, B, C, D, E, etc..) selon la nomenclature d'Alaupovic (46).

Les apolipoprotéines sont composées de 4 principales classes : les apoA, les apoB, les apoC, et les apoE. Ces apolipoprotéines ont des fonctions de structure, de liaison, de cofacteur et d'activation. Plus d'une dizaine d'apolipoprotéines ont été identifiées. Elles possèdent généralement une structure commune une hélice alpha-amphipathique cette hélice a des faces polaires et non polaires qui interagissent avec les solvants et le milieu hydrophobe à la surface de la lipoprotéine (47).

### III .4.2 Rôles des apolipoprotéines :

Les lipoprotéines sont caractérisées par la présence de protéines spécifiques de poids moléculaire variable à leur surface appelées les apolipoprotéines .Elles ont une double fonction de structure et de régulation métabolique : elles assurent la cohésion du complexe lipidique et sa solubilisation ; elles agissent comme cofacteur et / ou activateur de nombreuses enzymes plasmatiques et elles servent de ligands pour les interactions avec les protéoglycanes endothéliaux et des récepteurs cellulaires des lipoprotéines.

**Tableau 3 :** Classification selon le contenu en apolipoprotéines.

Lipoprotéines simples	Lipoprotéines complexes
Lp-AI	Lp-AI : AII
Lp-AII	Lp-AI : E
Lp-B	Lp-AI : CIII : CII : CI
Lp-CIII	Lp-B : E
Lp-E	Lp-B : CIII : CII : CI
	Lp-B: CIII : E : CII : CI
	Lp-B : (a)

### III .4.3 Structure et propriétés des apolipoprotéines :

**Tableau 4:** Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonction des principales apolipoprotéines. (48)

Nom	Poids moléculaire	Tissu	Distribution	Fonction
ApoA1	28000	Foie, intestin	Chylo, HDL	Structurelle : activateur physiologique de la LCAT; efflux de cholestérol
ApoAII	17000	Foie, (intestin)	HDL	Structurelle : activateur inhibiteur de la HL ; efflux de cholestérol
ApoAIV	46000	Foie, intestin	Chylo. HDL	Transport reverse du cholestérol : activateur de la LCAT : métabolisme des lipoprotéines riche en TG
ApoAV		foie		métabolisme des lipoprotéines riche en TG
ApoB100	55000	foie	VLDL, IDL,	Structurelle: synthèse et

			LDL	sécrétion des VLDL ; ligand du récepteur LDLR
<b>ApoB48</b>	275000	intestin	chylomicrons	Structurelle: synthèse et sécrétion des chylomicrons; ligand du récepteur B48R
<b>apoCI</b>	63000	foie	Chylomicrons, VLDL, HDL	Inhibiteur de la CETP activateur de la LCAT, inhibiteur de la liaison aux LDLR, LRP, et VLDLR
<b>apoCII</b>	88000	Foie(intestin)	Chylomicrons, VLDL, HDL	Activateur de la LPL
<b>apoCIII</b>	88000	Foie (intestin)	Chylomicrons, VLDL, HDL	Inhibiteur de la LPL inhibiteur de la captation hépatique des lipoprotéines riches en TG
<b>apoD</b>	33000	Foie, intestin, rate, pancréas, cerveau, surrénale, rein	HDL, LDL, VLDL	Transport reverse du cholestérol
<b>ApoE</b>	38000	Foie, macrophage, cerveau	Chylo, VLDL, IDL, HDL	Ligand des récepteurs LDLR et LRP
<b>Apo( a)</b>	300000 à 800000	Foie	Lp (a)	



## **Chapitre IV :**



***L'apolipoprotéine E***

## IV.1 Caractéristiques:

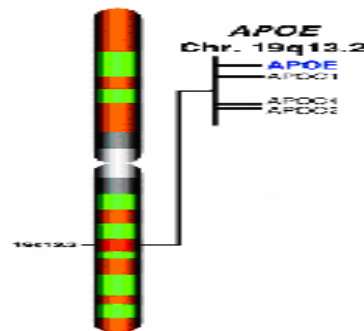
L'apolipoprotéine E, ou Apo E est une lipoprotéine, i.e. une protéine possédant une surface hydrophile lui permettant de circuler dans le sang et un cœur hydrophobe afin de pouvoir jouer son rôle dans le transport des lipides et autres molécules hydrophobes, tels que les chylomicrons, triglycérides, ou le cholestérol dans et en dehors des cellules (3). Il existe ainsi chez l'homme diverses formes d'apolipoprotéines (A, B, C, D et J) et trois isoformes d'apoE, dont les allèles, notés  $\epsilon$ , sont codés sur le chromosome 19. L'ApoE est une protéine composée de 299 acides aminés, dont la différence entre ses trois isoformes se situe en positions 112 et 158. L'ApoE2 retrouvée chez environ 5-10% de la population (Cys en positions 112 et 158), l'ApoE3 la plus fréquente retrouvée chez environ 75-80% de la population (Cys en position 112 et Arg en position 158), et enfin l'ApoE4 retrouvée chez environ 15-20% de la population (Arg en position 112 et 158) (49).

## IV.2 Génétique de l'apoE :

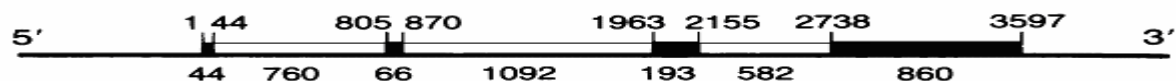
### IV.2.1 Gène de l'apoE :

Le gène (Apo E) humain est un membre de la famille multi génique codant les apoprotéines. Il est situé sur le bras long du chromosome 19 en (19q13.2) étroitement lié au complexe génique Apo C I/C-II (50) (Figure 9), et comprend quatre exons séparés par trois introns .Il s'étend sur 3597 nucléotides et code pour un ARNm de 1163 nucléotides. Les tailles des quatre exons de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' sont respectivement 44, 66, 193, et 860 nucléotides, celles des introns est de 760, 1092 et 582 nucléotides. (Figure10) (50)

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. Les séquences similaires d'exons et d'introns entre les différents gènes des apoprotéines ainsi que les éléments répétitifs de séquences similaires suggèrent une origine commune des diverses apoprotéines. (51)



**Figure 9 :** Localisation cytogénétique du gène de l'apo E sur le chromosome 19. (52)



**Figure 10 :** Positions exons –introns dans le gène d'Apo E. (50)

■ Exons      □ Introns

#### IV.2.2 Modifications post-traductionnelles de l'Apo E :

La protéine Apo E précurseur synthétisée à partir de la traduction d'ARNm qui l'encode, subit des modifications post-traductionnelles: Les 18 acides aminés composant le peptide signal de l'Apo E sont clivés par une peptidase pendant sa translocation à travers la membrane du réticulum endoplasmique (53); ensuite le reste de la protéine intracellulaire subit des O-glycosylations accompagnée de sialylation ayant lieu à un seul site correspondant à la Thr en position 194 de la chaîne protéique (54). La protéine plasmatique mature (299 acides aminés, PM : 34200Da) est sécrétée au milieu extracellulaire où 90% de la protéine est désialylé. (55)

### IV.3 Protéine Apo E :

#### IV.3.1 Structure de l'ApoE:

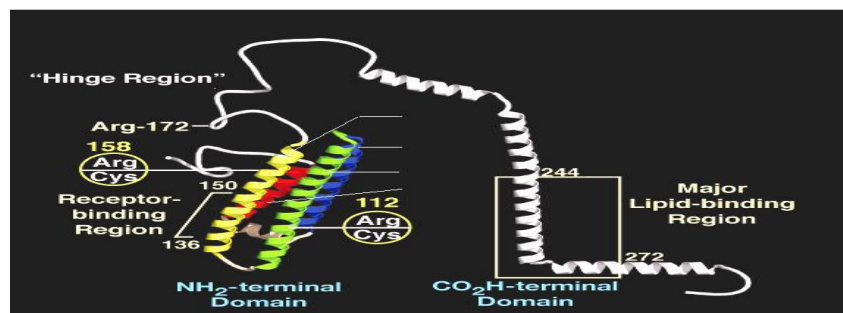
Les études structure-fonction de l'ApoE ont montré qu'elle comporte deux domaines structuraux correspondant à deux domaines fonctionnels indépendants, qui peuvent être individualisés par clivage à la thrombine (figure11):

**La partie N-terminale:** "receptor binding domain" (1-191) (22kDa), (56) déterminée par Wilson et al en 1991(57). Elle comporte quatre hélices  $\alpha$ -amphiphiles de 22 acides aminés (caractéristiques d'apolipoprotéines) arrangées de façon antiparallèle et un domaine riche

en acides aminés basiques (lysine et arginine) qui représente un site de fixation à l'héparine (142-147) et de liaison avec le récepteur LDL (141-155). Les résidus basiques forment un domaine de charges positives qui va interagir avec les charges négatives des récepteurs LDL.

**La partie C-terminale :** (216-299) (10kDa) "lipid binding domain", comporte trois hélices, joue un rôle majeur dans le transport des lipides, grâce à un site de liaison aux lipides (244-272). Bien que les deux domaines (N-terminal et C-terminal) soient indépendants, ils peuvent avoir une influence sur les propriétés de l'une et l'autre.

**La partie située entre ces deux domaines fonctionnels:** Linker est une région de structure non ordonnée, sensible au clivage protéasique, et contenant un site potentiel d'attache glycanique. (47)



**Figure11:** Structure des différents domaines de l'ApoE. (58)

#### IV.3.2 Isoformes de l'Apo E :

De part leur composition en acides aminés, les isoformes de l'Apo E présentent des substitutions aux positions 112 et 158 qui induisent des changements de point isoélectrique (Apo E2 pI=5,5; Apo E3 pI=5,4; Apo E4 pI=5,3) (59) ; ce qui rend possible leur détection par électrophorèse.

Il existe dans l'isoforme E4, une liaison Arg 112- Glu 109 qui induit une structure favorisant également la liaison de l'Arg 61 du domaine N-terminal en tant que charge positive interagissant avec le Glu 255 de charge négative du segment C-terminal. Cette liaison a un rôle primordial dans la formation d'une hélice de structure tridimensionnelle de l'Apo E4. Cette propriété particulière lui confère la préférence pour former des complexes VLDL (60).

Le changement de l'Arg 112 dans l'Apo E4, pour une Cys dans l'Apo E3 entraîne une variation de la liaison intramoléculaire avec l'acide aminé Glu situé en position 109 ; la liaison 112-109 Glu ne s'effectuera pas, par conséquent l'Arg 61 sera positionné différemment sans interagir avec le résidu Glu 255. Ce mécanisme semble unique à l'homme (59) car toutes les autres espèces excepte le lapin et le bœuf (Cys112) ont une Arg en position 112 et 158 de l'Apo E, comparable à l'Apo E4 humaine, mais n'ont pas d'Arg en position 61 (60). Ces exceptions structurales dans les isoformes humaines leur confèrent des propriétés particulières.

La présence des cystéines en position 112 et 158 dans l'Apo E2 permet la formation de dimères et de multimères. La seule cystéine 112 de l'Apo E3 autorise la formation de dimères. L'absence de cystéine aux positions, 112 et 158 remplacées par des arginines dans l'Apo E4 impose la présence de cette isoforme sous forme monomérique (59). Ces modifications fines intramoléculaires faisant différer les trois isoformes d'Apo E pourraient être à l'origine d'interactions spécifiques au sein des lipoprotéines (61).

En effet, il a été montré par ultracentrifugation que L'Apo E3 a une préférence pour former des complexes de type HDL, de même que l'Apo E2; tandis que l'Apo E4 forme plutôt des VLDL (61) et elle est principalement retrouvée au niveau des lipoprotéines riches en Apo B.

Il a été également prouvé que la modification de l'acide aminé en 112, qui est extérieur à la zone de liaison aux récepteurs, doit influencer la conformation de cette région de façon à entraîner des changements de charges intervenant effectivement dans l'interaction avec les récepteurs LDL ; en effet les VLDL porteuses d'Apo E4 ont une affinité accrue pour les récepteurs-LDL sur les cellules hépatiques (62), cependant, l'Apo E2 est moins affine pour ce récepteur que E3 ou E4 ce qui influence leur métabolisme faisant que les VLDL et les remnants porteurs d'Apo E4 sont métabolisés chez l'humain plus rapidement que les porteurs d'Apo E2, par rapport aux lipoprotéines associées à l'Apo E3 . (63)

#### **IV.3.3 Rôle de l'Apo E :**

Le rôle principal de l'apoE est le transport du cholestérol. Elle intervient activement dans le phénomène de transport inverse du cholestérol, en plus de jouer un rôle non négligeable en ce qui a trait au catabolisme des triglycérides (64). L'apoE prend donc part au processus général d'homéostasie du cholestérol puisqu'elle est un ligand pour tous

les récepteurs de la famille des récepteurs LDL. Elle serait aussi un ligand pour les récepteurs des résidus de chylomicrons et le LDL receptor-related protein (LRP).

#### IV.3.4 Biosynthèse et distribution tissulaire de l'Apo E :

L'apoE est majoritairement synthétisée au niveau du foie (60-80% de la production totale) (65). Le second site de sa synthèse est le cerveau (environ 1/3 de l'Apo E du foie) (66). Sa synthèse a été démontrée dans les astrocytes (67), et peut être effectuée dans les oligodendrocytes, la microglie, elle est aussi présente dans le liquide céphalorachidien (59). Elle est produite par les surrénales, le rein, et les cellules du système réticuloendothélial (68). L'apoE est un constituant des chylomicrons, des VLDL, des IDL et des HDL.

#### IV.3.5 Récepteurs de l'Apo E :

Grâce aux différents récepteurs, les complexes Apo E / lipides sont internalisés par les cellules. L'Apo E est un ligand pour tous les récepteurs de la famille du récepteur LDL, possédant tous une homologie structurale. L'Apo E possède 25 fois plus d'affinité pour le récepteur LDL que l'Apo B (la principale apolipoprotéine des LDL), d'où le nom de récepteur Apo B/E. (tableau 5)

L'isoforme E2 serait moins affine que les isoformes E3 et E4 pour ces récepteurs, l'isoforme E4 étant elle plus affine qu'E3 (69).

**Tableau 5 :** les principaux récepteurs de l'apoE dans les différents tissus. (41)

Nom	Famille	Principaux Tissu (Localisation)
<b>LDLR</b>	Récepteurs des LDL	foie, muscle, cerveau, cellules endothéliales.
<b>LRP</b>	Récepteurs des LDL	foie, cerveau et poumon.
<b>VLDLR</b>	Récepteurs des LDL	muscle, cœur, tissu adipeux Neurones et microglie.
<b>ER-2 apoE receptor maintenant renommé LRP8</b>	Récepteurs des LDL	cerveau, placenta.
<b>Isoformes d'ER-2 LRP8</b>	Récepteurs des LDL	Plaquettes et endothélium.

<b>Le gp330/Mégaline</b>		Rein et neurones
<b>récepteur scavenger</b>	Récepteurs Scavenger	Cellules microgliales
<b>Mégaline</b>	Récepteurs des LDL	Rein, intestin et placenta
<b>LRP9</b>	Récepteurs des LDL	Foie, rein et poumon

#### IV.4 Polymorphisme de l'Apo E et athérosclérose:

Le gène Apo  $\epsilon$  est polymorphique possédant des allèles qui existent sous 3 formes : les allèles epsilon2 ( $\epsilon 2$ ),  $\epsilon 3$  et  $\epsilon 4$  fabriquant respectivement 3 formes différentes d'apoE : apoE2, apoE3 (la forme la plus courante présente chez les trois quarts de la population) et apoE4. Cette dernière est la forme déficiente de l'apoE, présente chez 10 à 20% de la population. (70) Puisqu'un gène a deux allèles, le polymorphisme de l'apoE a 6 combinaisons possibles de génotypes : homozygotes:  $\epsilon 2/\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4/\epsilon 4$ . Hétérozygotes:  $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 2/\epsilon 4$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$ .

Le séquençage direct de l'Apo E par Rall et al en 1982 a permis de découvrir les différences existant entre les isoformes. (71). Les trois allèles résultent d'une transition d'une cytosine (C) en une thymine (T) aux positions correspondantes aux acides aminés 112 et 158 de la protéine, modifiant ainsi les sites de restriction par l'enzyme HhaI (72).

L'allèle  $\epsilon 4$  codant E4 (Arg112-Arg158) est considéré comme l'allèle ancestral, l'allèle  $\epsilon 3$  codant E3 (Cys112 -Arg158), le plus fréquent, et l'allèle  $\epsilon 2$  codant E2 (Cys112- Cys158), habituellement le plus rare, en sont dérivés au cours de l'évolution (73).

Le polymorphisme génétique de l'apoE déterminerait 10% de la variance des taux de cholestérol dans les populations. Ce polymorphisme intervient ainsi dans la variation de la prévalence des maladies cardiovasculaires (69), en participant à la clairance du cholestérol médiée par des récepteurs (74) et en influençant la clairance des lipoprotéines riches en triglycérides (75). Chez les sujets porteurs de l'allèle epsilon 4, le risque de maladies cardiovasculaires est plus élevé (76). Par ailleurs, l'allèle epsilon4 est associé à la forme précoce de la maladie d'Alzheimer (77).

En plus des trois isoformes d'apo E, divers variants génétiques ont été mis à jour avec ou sans modification de la charge électrique comme l'Apo E5 ayant subi l'insertion de 24 pb résultant de la duplication en tandem de résidus 135-142 (78), l'Apo E1 et E7 (79) présentant les mutations qui se situent fréquemment dans la région des sites 140 à 160

de la molécule, ou encore l'Apo E3 Leiden, le plus souvent s'associant à des troubles lipidiques et l'Apo E3 Montréal, une nouvelle variante associée à l'hyperlipidémie (80).

#### **IV.4.1 Impact du polymorphisme de l'Apo E sur le métabolisme lipidique :**

En tant que lipoprotéine, l'apoE a été d'abord massivement étudiée pour son rôle dans le métabolisme et le transport lipidique (notamment du cholestérol), et son impact dans les maladies cardiovasculaires telles que l'hypercholestérolémie ou l'athérosclérose (81). En effet, la différence de configuration entraînée par ces changements sur seulement deux acides aminés entraîne des modifications d'affinité avec leur substrat (ApoE3 et ApoE2 ayant une meilleure affinité pour les HDL\_High Density lipoprotein alors que l'ApoE4 en possède une meilleure pour les LDL\_Low Dnsity Lipoprotein) et peut ainsi favoriser des dépôts lipidiques artériels pathologiques chez les porteurs de l'ApoE4.

La conversion des résidus de VLDL en LDL est réduite chez les individus porteurs de l'allèle  $\epsilon 2$ . Les déficiences se traduisent par une augmentation des chylomicrons et des résidus de VLDL dans le plasma, ce qui a pour effet d'induire une augmentation du nombre de récepteurs, d'où un taux plus bas de cholestérol et de LDL-C plasmatiques, et un taux plus élevé des TG que chez les individus (E3/E3) (82). Si les individus sont porteurs de l'allèle  $\epsilon 4$  (E4/E4, E4/E3), les caractéristiques sont alors à l'inverse des individus porteurs de l'allèle  $\epsilon 2$ . Le nombre de récepteurs B/E se trouve ainsi diminué, d'où des niveaux plus élevés de cholestérol et LDL par rapport à ceux portant l'allèle  $\epsilon 3$  (E3/E3). (83).

#### **IV.4.2 Relation polymorphisme de l'Apo E et facteurs de risques:**

Plusieurs études ont démontré l'effet du polymorphisme de l'Apo E sur l'interaction entre les différents facteurs de risque ainsi que sur l'interaction existant entre les facteurs génétiques et environnementaux (84).

L'isoforme e4 de l'apoE est un marqueur de risque de maladies cardiovasculaires. Des études récentes ont montré que les porteurs de l'allèle e2 ont moins de cholestérol sanguin mais une hyper TG, alors que ceux qui ont l'allèle e4 présentent une hypercholestérolémie (85). Dans l'étude MRFIT, l'association entre l'insulinémie à jeun et la mortalité cardiovasculaire a été démontrée pour les patients présentant le phénotype de l'apo e3/e2 (86). En 1996, une méta-analyse comptant 14 études rapportait que les porteurs de l'allèle e4 comparativement au génotype e3/e3 avaient un risque 26% plus élevé de maladie cardiaque



(RC, 1,26 [IC, 1,13-1,41]) alors que les porteurs de l'allèle e2 n'étaient pas associés à un risque accru de maladie cardiaque (OR, 0,98 [IC, 0,85-1,14]) (87).

La méta-analyse de Song en 2004 a confirmé les résultats de la première méta-analyse. Elle estimait que les porteurs de l'allèle e4 comparativement aux non-porteurs avaient 42% plus de risque de maladie cardiaque, soit un rapport de cote de 1,42 (95% IC, 1,26-1,61) et que les porteurs de l'allèle e2 n'avaient pas d'association significative avec le risque de maladie cardiaque (RC, 0,98 [IC, 0,66-1,46]) (88).

**Tableau 6:** Associations des différents génotypes aux MCV (89).

Génotype	Caractéristiques
<b>Apo e2/e2</b>	Homozygote: grande association à l'hyperlipoprotéinémie de Type III.
<b>Apo e3/e3</b>	Homozygote: le génotype le plus commun (normal).
<b>Apo e4/e4</b>	homozygote: associé à une élévation du taux de cholestérol plasmatique.
<b>Apo e2/e3</b>	Hétérozygote, quelques associations aux hyperlipoprotéinémies de type III.
<b>Apo e2/e4</b>	Hétérozygote, quelques associations aux hyperlipoprotéinémies de type III.
<b>Apo e3/e4</b>	Hétérozygote, quelques associations à une élévation du taux de cholestérol plasmatique.

## **Partie 2:**



***Partie pratique***

# **Chapitre I:**



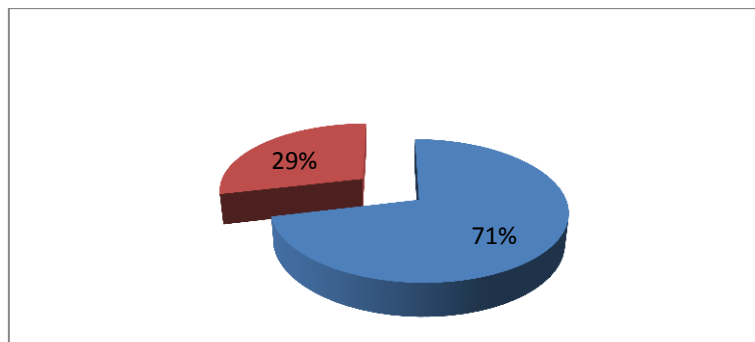
***Moyens et méthodes***

## I.1 Recrutement des individus:

Notre étude est rétrospective, les échantillons que nous avons utilisés appartiennent à la banque d'ADN de monsieur khoja DJ. Le recrutement a concerné 167 individus répartis en deux groupes, une population de malade présentant un IDM (n=48) et une population de référence (témoins, n=119).

**Tableau 7 :** Répartition de la population d'étude :

	Femmes		Hommes		Total	
	n	%	n	%	N	%
Témoins	48	59.7	71	40.3	119	71.3
IDM	11	22.9	37	77.1	48	28.7
Total	82	/	85	/	167	100



**Figure12 :** Répartition de la population d'étude.

### I.1.1 Population malade :

L'étude que nous avons entreprise regroupe 48 sujets ayant une cardiopathie ischémique à type d'angine de poitrine ou d'infarctus du myocarde (IDM) sélectionnés parmi les patients admis au sein du service de cardiologie et de la réanimation médicale au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHUC).

✓ **Critère d'inclusion :**

- 48 malades ayant un infarctus du myocarde diagnostiqué par des médecins cardiologues.
- Sujets âgés de 20 à plus de 60 ans.
- Visant les deux sexes.

### **I.1.2 Population témoin :**

Les sujets témoins sont en nombre de 119(48 de sexe féminin et 71 de sexe masculin).

✓ **Critère d'inclusion:**

- 119 sujets sains des deux sexes.
- Sujets âgés de 20 à plus de 60 ans, résidants dans la wilaya de Constantine.

✓ **Critère d'exclusion :**

Les sujets qui sont exclus de l'étude sont :

- Sujets présentant des antécédents personnels ou familiaux de maladies cardiovasculaires (IDM, angine de poitrine).
- Sujets présentant des pathologies entraînant une augmentation des taux des paramètres lipidiques (Diabète, HTA, maladies inflammatoires, dyslipidémies, Obésité ...).
- Sujets sous traitement médical.
- Femmes enceintes.
- Sujets prenant des oestrogènes au moment de l'enquête.

## **I.2 Fréquence de la population témoin et malades :**

### **I.2.1 Les sujets témoins :**

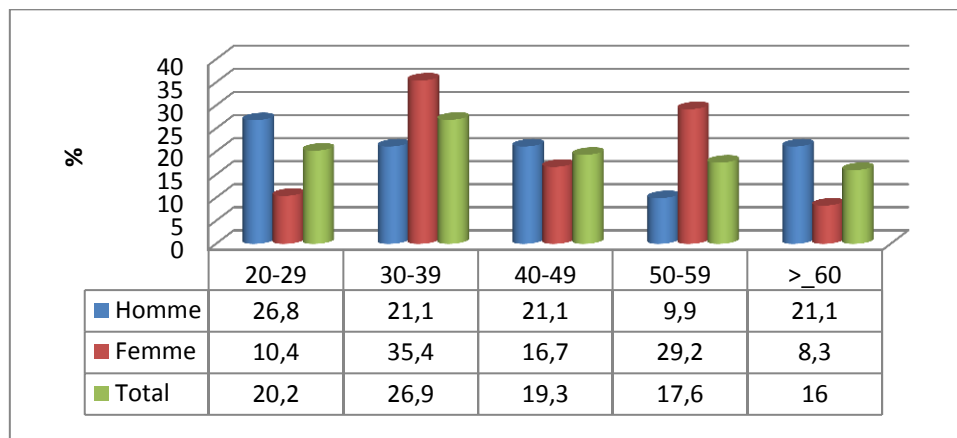
Les sujets témoins sont au nombre de 119 répartis entre:

- 71 du sexe masculin soit 59.7%.
- 48 du sexe féminin soit 40.3%.

Ils sont classés en tranches d'âge de 10 ans sauf pour les plus de 60 ans qui sont classés en une seule tranche. (Tableau 8, Figure13).

**Tableau 8:** Répartition des sujets témoins selon l'âge et le sexe.

	Hommes		Femmes		Total	
	n	%	n	%	n	%
20-29	19	26.8	5	10.4	24	20.2
30-39	15	21.1	17	35.4	32	26.9
40-49	15	21.1	8	16.7	23	19.3
50-59	7	9.9	14	29.2	21	17.6
≥60	15	21.1	6	8.3	19	16
Total	71	100	48	100	119	100

**Figure 13:** Répartition des sujets témoins selon l'âge et le sexe.

## I.2.2 Maladies ischémiques cardiaques :

### I.2.2.1 Diagnostic :

Le diagnostic des maladies ischémiques repose sur les critères cliniques et électriques (électrocardiogramme) qui ont été confirmés par des spécialistes de cardiologie, les critères biologiques (Créatine phosphokinase et myoglobine dans quelque cas) ont été confirmé par le laboratoire de biochimie.

### I.2.2.2 Répartition des IDM selon le sexe et l'âge :

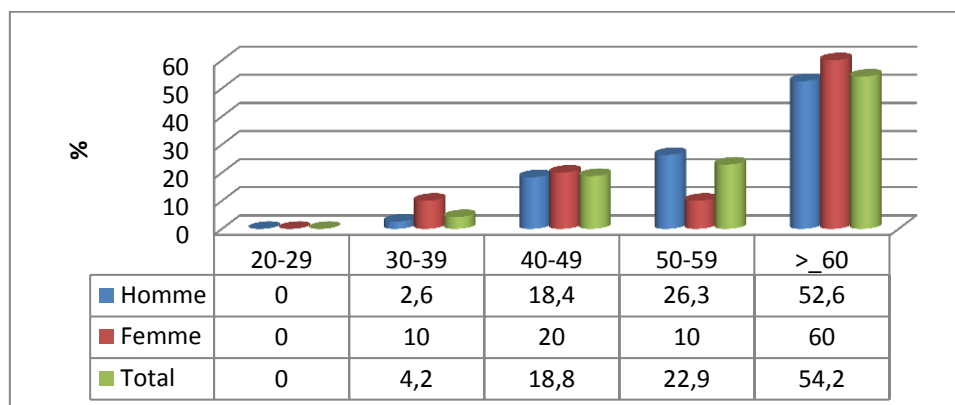
Les sujets présentant un IDM sont au nombre de 48 répartis entre :

- 38 de sexe masculin soit 79.16%.
- 10 de sexe féminin soit 20.83%.

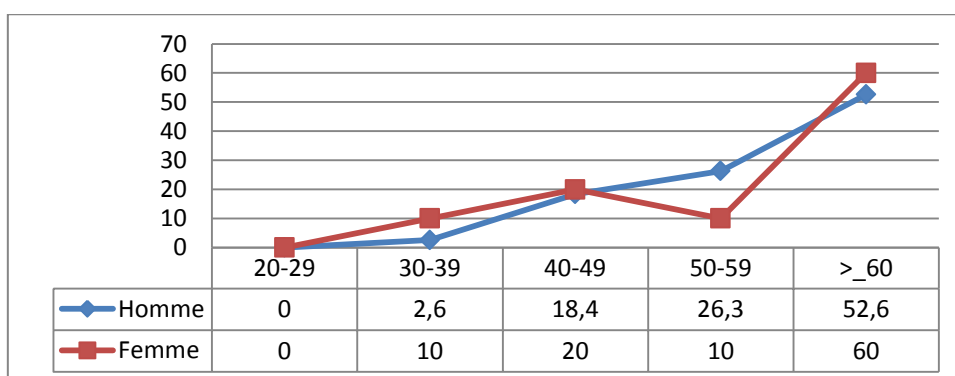
La répartition des malades présentant un IDM est représentée sur le tableau 9 et figures 14 et 15.

**Tableau 9:** Répartition des sujets présentant un IDM selon l'âge et le sexe.

	Hommes		Femmes		Total	
	n	%	n	%	N	%
20-29	/	/	/	/	/	/
30-39	1	2.6	1	10	2	4.2
40-49	7	18.4	2	20	9	18.8
50-59	10	26.3	1	10	11	22.9
≥60	20	52.6	6	60	26	54.2
Total	38	100	10	100	48	100



**Figure 14:** Répartition des sujets présentant un IDM selon l'âge et le sexe.



**Figure 15:** Répartition et évolution des IDM selon l'âge et le sexe.

## **Chapitre II :**



# ***Méthodes***



## **II.1 Questionnaire :**

Un questionnaire clinique comprenant toutes les données nécessaires est établi pour la population d'étude. Tous les renseignements nécessaires sont enregistrés dans ce questionnaire après une consultation du dossier médicale du malade et un interrogatoire du cas témoins (Annexe). Ce questionnaire comporte :

### **II.1.1 L'enregistrement :**

Un numéro d'enregistrement est donné à chaque sujet : des chiffres commençant à partir du numéro 1 pour la population témoin précédé par une lettre N. Pour les maladies ischémiques cardiaques sont indiqués par un chiffre et le nom de la pathologie (Ex : IDM1, IDM2, IDM3....).

### **II.1.2. Données de l'état civil :**

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

### **II.1.3 Données biocliniques :**

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

- Le Poids a été mesuré chez les sujets sans chaussures grâce à une balance portable.
- La taille a été prise sans chaussures, pour les malades chez lesquels il a été impossible de prendre ces mesures nous avons utilisé la carte d'identité nationale pour la taille ou à défaut posé des questions aux proche et fait des approximations pour le poids. Le poids et la taille sont exprimés selon l'IMC (kg/m<sup>2</sup>).
- La pression artérielle est mesurée chez les sujets assis depuis au moins 5 minutes grâce à un appareil ordinaire. La présence d'une HTA est retenue chez tous les sujets déjà connus et traités ainsi que chez les sujets ayant une diastolique égale ou supérieur à 95 mm Hg et ou une systolique supérieure ou égale à 16 mm Hg.
- La consommation du tabac par jour.
- L'existence d'antécédents personnels et familiaux de coronaropathies.
- Un bilan biologique complémentaire incluant une glycémie, TG, Chol, HDL...

## **II.2 Prélèvement sanguin :**

Le prélèvement sanguin s'effectue selon certains critères :

- Le prélèvement se fait systématiquement à chaque hospitalisation d'un patient IDM.
- Les sujets doivent être à jeun (jeun de 12 heures).
- Tous les prélèvements s'effectuent avec pose de garrot.
- Les prélèvements sont réalisés dans un tube stérile contenant un anticoagulant : EDTA en quantité de 5 à 10 ml.
- Le tube EDTA est conservé dans le congélateur pour l'extraction de L'ADN pour l'étude moléculaire.

## **II.3 Méthodes de dosage des paramètres lipidiques :**

Le dosage des différents paramètres lipidiques a été réalisé de la manière suivante:

### **II.3.1 Séparation du sérum :**

Les prélèvements sanguins sont centrifugés pendant 15 min à 4000 rpm afin d'obtenir du sérum utilisé par la suite dans le dosage de cholestérol total, triglycéride et le cholestérol des HDL.

### **II.3.2 Manipulation sur le sérum :**

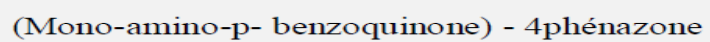
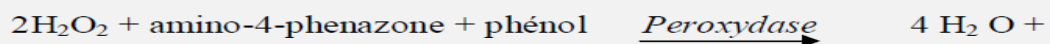
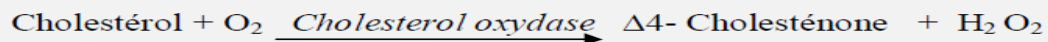
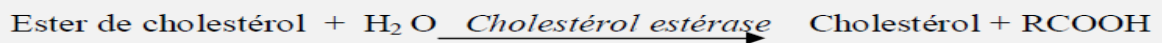
#### **II.3.2.1 Dosage du cholestérol total :**

Le cholestérol peut être dosé par de très nombreuses méthodes, dont les plus anciennes sont colorimétrique alors que celles pratiquées actuellement sont enzymatiques (90).

Parmi lesquelles la réaction utilisant une estérase et une oxydase est la plus employée. Elles utilisent des enzymes assurant l'hydrolyse des esters de cholestérol par le cholestérol estérase, puis l'oxydation du cholestérol non estérifié par le cholestérol oxydase pour aboutir à la formation de peroxyde d'hydrogène. La quantification du peroxyde d'hydrogène est le plus souvent effectuée en présence de la peroxydase et d'un chromogène phénolique (méthode sélectionnée par la SFBC).

Dans notre étude, le cholestérol a été déterminé suivant une méthode enzymatique (réaction de Trinder) par un auto-analyseur de type (ADVIA) en utilisant des coffrets Bayé.

### Réaction :



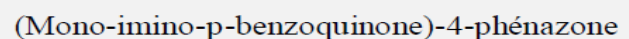
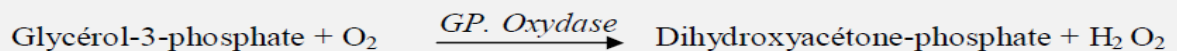
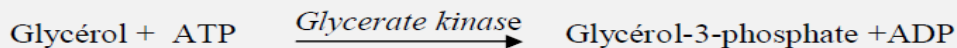
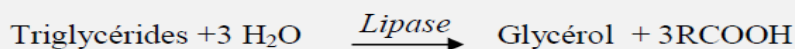
L'intensité de la coloration de la quinone imine mesurée à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon du sérum.

### II.3.2.2 Dosage des triglycérides :

Le dosage des triglycérides a été effectué par le même auto-analyseur (ADVIA) suivant une méthode enzymatique (91) en utilisant des coffrets Bayé.

### Principe :

Repose sur le dosage en colorimétrie du glycérol libéré (à 500 nm) par hydrolyse enzymatique des Triglycérides selon les réactions suivantes :



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

### II.3.2.3 Dosage du cholestérol HDL :

Le dosage du HDL cholestérol s'est effectué grâce au réactif phosphotungstate associé au chlorure de magnésium.

#### Principe :

Les chylomicrons, les VLDL et les LDL sont précipités par addition d'acide phosphotungstique et d'ions  $Mg^{++}$  à l'échantillon. On détermine par voie enzymatique la concentration en cholestérol des HDL qui restent dans le surnageant après centrifugation. Le dosage du C-HDL s'est effectué selon les recommandations de la société française de biologie clinique (SFBC) (92)

#### Technique :

Pour précipiter les lipoprotéines de haute densité, on a utilisé la micro méthode avec 200ul de sérum et 500ul de réactif précipitant dilué (4 volumes de réactif +1 volume d'eau distillé). Agitation 30s au vortex puis centrifugation pendant 10mn à 5000g minimum (93).

La décantation est faite dans les 15 mn qui suivent en évitant la remise en suspension. (Le surnageant doit avoir une D.O  $\leq 03$  à 600nm). Pour le surnageant troubles ou bien lorsque le taux de triglycérides est augmenté ou lorsque la D.O du surnageant est  $\geq 03$ , l'échantillon est dilué avec une solution physiologique de Na Cl dans le rapport (1:1).

### II.3.2.4 Cholestérol LDL :

#### ✓ Méthode par calcul :

1. Le cholestérol LDL est calculé grâce à la formule de Friedewald (94,95).

$$\text{Cholesterol LDL} = \text{Cholesterol total} - \text{Cholesterol HDL} - \text{Cholesterol}$$

2. Le cholestérol VLDL est estimé à partir des triglycérides plasmatiques totaux :

**TG/5** si les résultats sont exprimés en g/l.

**TG/ 2,2** si les résultats sont exprimés en mmol /l.

Cette formule n'est valable que si la détermination des HDL-cholesterol est correcte

(Absence des chylomicrons et les TG  $\leq$  à 4mmol/L (3.5g/l).

## **II.4 Manipulation sur le sang total :**

### **II.4.1 Extraction de l'ADN :**

Toutes les études génétiques nécessitent la disposition d'échantillons d'acide nucléique, les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN. Dans la grande majorité des cas la technique d'extraction des acides nucléiques doit être adaptée à l'échantillon, à la nature du génome, au nombre de copies et de méthode de biologie moléculaire utilisée ultérieurement (PCR).

Les méthodes d'extraction des acides nucléiques sont diverses(96). Celle employée dans notre étude est une méthode utilisant un solvant inorganique, Na Cl.

La technique d'extraction d'ADN par le Na Cl (97) a été choisie en raison de sa rapidité, sa facilité ainsi que l'absence du risque d'intoxication par des produits dangereux tels que le phénol. Cette technique comporte les étapes suivantes :

#### **II.4.1.1 Préparation des leucocytes:**

1. Dans un tube Falcon de 50 ml, mettre le sang et compléter à 25 ml avec du TE 20 :5 , Laisser 10 min dans la glace (pour faire éclater les globules rouges).
2. Centrifuger 10 min à 3900 g (3800 rpm).
3. Aspirer le surnageant avec la trompe à vide.
4. Ajouter quelques ml de TE 20 :5 au culot et le remettre en suspension avec une passette stérile.
5. Compléter à 25 ml avec du TE 20 :5 et laisser 10 min dans la glace.
6. Centrifuger dans les mêmes conditions que la première fois.
7. aspirer le surnageant avec la trompe à vide : Obtention d'un culot des leucocytes (si on veut s'arrêter à ce niveau les mettre dans un tube nunc de 1.5 ml avec du TE 20 : 1 et les conserver à -20° dans le frigo).

**II.4.1.2 Extraction de l'ADN :**

1. Transverse le culot de leucocytes dans un tube Falcon de 15 ml.
2. Ajouter 3ml de tampon de lyse (Na Cl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, pH 8.2) en dilacérant le culot avec une passette stérile.
3. Ajouter 200 ul de SDS à 10 %.
4. Ajouter 100 ul de protéinase K à 10mg/ml.
5. Agiter le tube sur une roue à 37°C pendant une nuit.
6. Le lendemain refroidir dans la glace.
7. Ajouter 1ml de Na CL 4M et agiter vigoureusement à la main.
8. Remettre 5 min dans la glace pour précipitation des protéines.
9. Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
10. Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 15 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme.
11. Laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote ne se forme pas.
12. Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette Pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70%.
13. Mettre la pelote dans un tube nunc.

**II.4.1.3 Solubilisation :**

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

**II.4.1.4 Dosage des acides nucléiques :**

Le dosage de l'ADN est effectué par la mesure de la densité optique par spectrophotométrie.

- Une première lecture à une longueur d'onde de 260nm nous permet d'estimer la densité optique des acides nucléiques.

- Une seconde lecture est effectuée à une longueur d'onde de 280nm afin de déterminer une éventuelle contamination par les protéines.

Pour avoir un critère de pureté indicatif, le rapport de DO 260nm/280nm est établi. Il doit être compris entre 1.7 et 2.

- Une valeur inférieure à 1.7 témoigne d'une contamination par les protéines, d'où la nécessité d'une deuxième extraction.
- et une valeur supérieure à 2 témoigne d'une contamination par les ARN.

Une unité de DO à 260 nm correspond à une concentration d'ADN double brin à 50µg/ml d'ADN.

On mesure donc à 260 nm et 280 nm la DO d'une dilution au 1/50ième ou au 1 /100ième de la solution à doser. On déduit la concentration de l'ADN grâce au calcul suivant :

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

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

$$[C] (\mu\text{g} / \mu\text{l}) = \frac{\text{DO}}{\Sigma L} \cdot \frac{\text{Vol. total}}{\text{vol. D'ADN}}$$

#### ✓ Exemple de calcul de la concentration

Dilution d'ADN 1/100 (10 µl d'ADN + 990 µl H<sub>2</sub>O)

$$\Sigma L = 20$$

$$\text{DO}_{260} = 0.09$$

$$\text{DO}_{280} = 0.053$$

$$[C] (\mu\text{g} / \text{ml}) = 0.09 \times 100 \times 50\mu\text{g} / \text{ml} = 450\mu\text{g} / \text{ml}$$

$$[C] (\mu\text{g} / \text{ml}) = \frac{0.09}{20} \times \frac{1000}{10} = 0.45 \mu\text{g} / \mu\text{l} = 450 \text{ ng} / \mu\text{l}$$

## II.5 Amplification d'ADN par réaction de polymérisation (PCR) :

### II.5.1 Génotypage de l'Apo E :

Trois étapes successives sont effectuées pour la détermination du génotype de l'Apo E :

- Amplification par PCR (Polymérase Chaîne Réaction).
- Digestion du produit de « PCR » par l'enzyme de restriction Hha1.
- Une migration électrophorétique sur gel d'acrylamide pour la séparation des produits de digestion.

#### II.5.1.1 Amplification par PCR (Polymérase Chaîne Réaction) :

La PCR est une méthode de biologie moléculaire mise au point en 1985 par K.Mullis de l'équipe Erlich. Permettant d'amplifier in vitro des séquences d'ADN cibles et définies (l'Amplicon) en plusieurs millions d'exemplaires. La PCR est une réaction en chaîne qui consiste à effectuer n cycles successifs d'amplification, au cours desquels deux amorces dirigent l'amplification du fragment d'ADN double brin qu'elles encadrent.

Une réaction de PCR correspond à une succession d'une trentaine de cycle comportant chacun trois étapes: dénaturation, hybridation et élongation.

Avant de procéder à notre PCR, nous avons préparés un mix de PCR (ou milieu réactionnel) comprenant:

Pour un volume total de 75 ul :

- DNA 2  $\mu$ L / à 250 ng /  $\mu$ L.
- REACTIF COMMUN (Mix) :
  1. Tampon de Taq 10X 7 ul.
  2. DMSO 7 ul.
  3. Mix d NTP 25mM (au 1/10) 6 ul (200uM).
  4. Taq polymérase 2,5 u 0,5 ul.



5. Mg CL2 50mM	3 ul.
6. OG sol. Mère 0,93mM	1,2 ul (0,6uM).
7. OD sol .mère 1,11mM	1 ul (0,6 uM).
8. H2O q.s.p 75 ul	47,3 ul.

Pour le tube témoin on met uniquement le mix sans ADN.

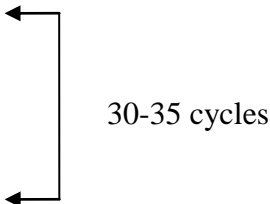
La quantité des différents réactifs du milieu réactionnel est multipliée par le nombre de tubes voulu+un, c'est le tube témoin négatif dans le quel on met uniquement le mélange sans ADN.

✓ **Les amorces utilisées sont:**

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

Ces amorces encadrant la région avec les deux codons polymorphes des acides aminés 112 et 158 (98).

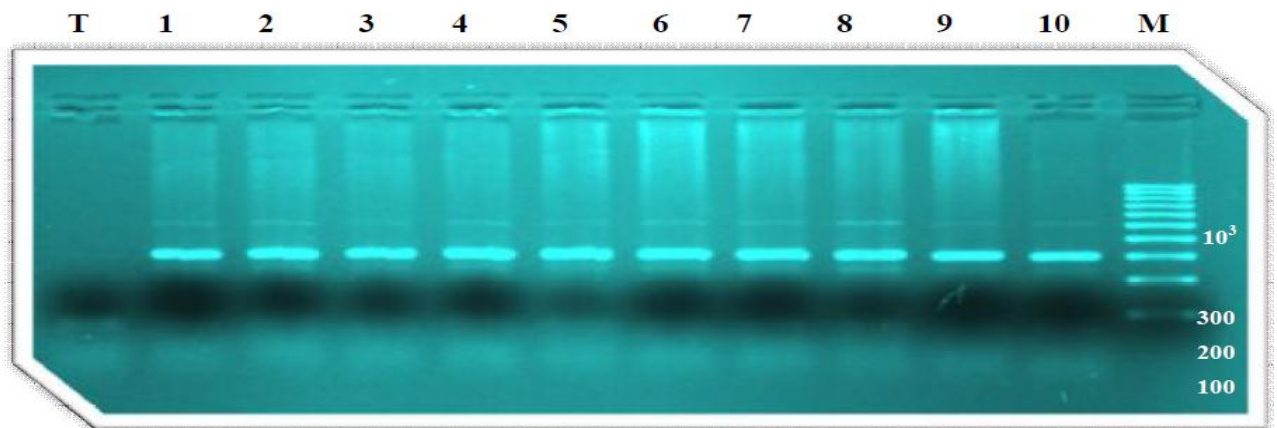
Après avoir préparé le mix de la PCR, nous avons pris (49µl) de ce mélange avec (2 µl) d'ADN pour chaque tube. Ensuite le déroulement des cycles de la PCR a été assuré par le thermocycleur.

- 5' à 94°C
  - 3' à 65°C
- 
- 50s à 72°C
  - 50s à 94°C
  - 50s à 65°C
- 5' à 72 °C
  - 10' à 10° C

### II.5.1.1.1 Le contrôle de la PCR :

S'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose 1.5 % (1.5g d'agarose et 100 ml du TBE 1X) additionné de (10 µl) du BET (Bromure d'éthidium). Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale. Dans chaque puit du gel, nous déposons 10 à 15 µl d'amplificat en présence de 3µl du colorant Bleu de Bromophénol (BBP) qui permet de suivre le front de migration. Parallèlement un échantillon sans ADN (blanc), est inclus dans la série à amplifier et sert de control négatif. Le dépôt se fait du coté cathode et le système est soumis à une migration sous un courant de 90 volts pendant 1 h.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescentes de même taille (figure : 16). Ce control permet aussi de vérifier si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR grâce au puit contenant le blanc.



**Figure 16:** Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% des fragments amplifiés (292pb) par PCR du gène Apo E.

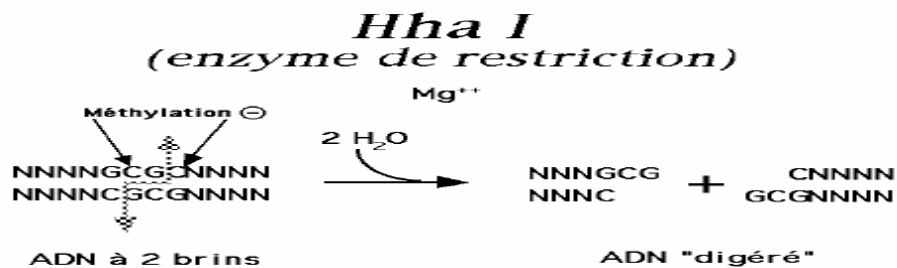
### II.5.1.2 Digestion des produits de PCR :

Les manipulations se font sur la glace :

- Pour un volume final de 25 µl on prépare le mixte pour (n+1) tubes :
    - Tampon 2.5 µl
    - Hha I (10 unités) 1 µl
    - H<sub>2</sub>O qsp 10 µl 6.5 µl
- } X (n + 1)

- Répartition de 10 ul de mixte dans chaque tube.
- Ajouter 15 ul de chaque produit de PCR.
- Homogénéiser le contenu des tubes dans la centrifugeuse de paillasse.
- Placer les tubes au bain marie à 37°C pendant une nuit.
- Après Incubation à 37°C pendant une nuit le produit de digestion est concentré au speed-vac pendant 15 à 20 min.

L'Hha I est une enzyme de restriction produite par *Haemophilus haemolyticus*. Elle reconnaît et clive la séquence GCG C codant pour les arginines en position 112 et 158 (isoformes E3et E4) alors que les séquences GTGC codant pour les cystéines en position 112 (isoformes E3et E2) ne sont pas reconnues par l'enzyme ni coupées à ce niveau (figure17).



**Figure 17** : site de restriction par l'enzyme HhaI.

### II.5.1.3 La visualisation des produits de la digestion :

La visualisation des produits de la digestion se fait par migration électrophorétique sur gel d'acrylamide 10%. Elle comprend les étapes suivantes :

Préparation d'un gel d'acrylamide 10% :

Pour un gel de 70 ml

- Acryl 30%                      23.8 ml
- TBE 10X                        7 ml
- H2O                                38.5 ml

Pendant que les réactifs se remettent à température ambiante :

- Préparer le persulfate d'ammonium à 10% (0.01g dans 100 ul H2O).

- Monter le support de gel.
- Addition de persulfate d'ammonium et de temed juste avant de couler le gel.  
50 ul de persulfate/10ml (350 ul).  
10 ul de temed /10ml (70 ul).
- Homogénéiser, couler immédiatement en versant le contenu de bûcher entre les plaques de verre en ayant soin de ne pas faire de bulle et placer le peigne afin de former les puits, laisser polymériser à température ambiante 1h. à 1h 30min.

✓ **Dépôts des échantillons :**

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

✓ **Migration :**

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

✓ **Coloration :**

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

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

## **II.5.2 Révélation du profil électrophorétique :**

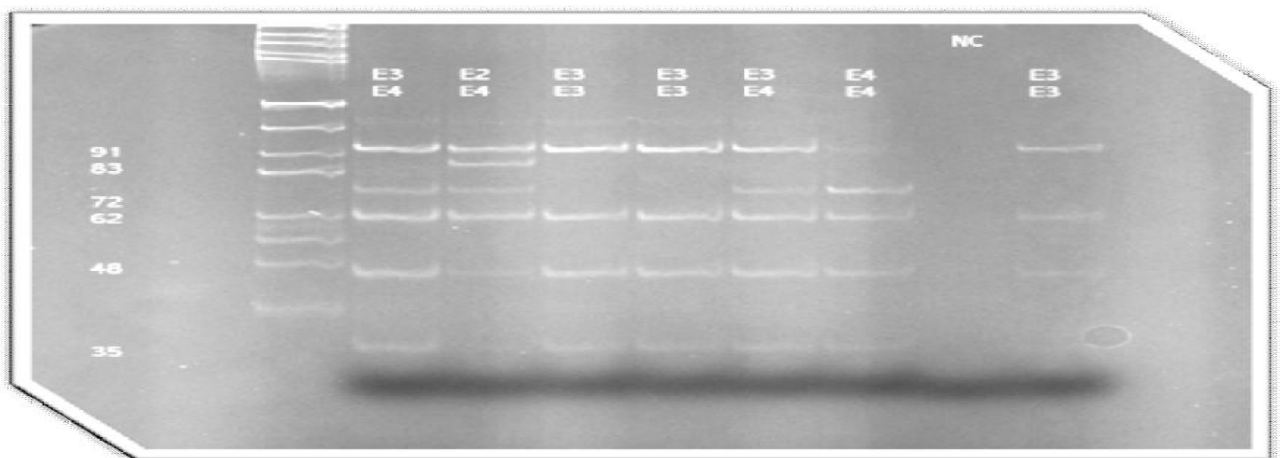
Le BET fluorescent aux UV s'est fixé sur l'ADN (cette molécule s'intercale entre les bases de la molécule d'ADN) et va permettre de visualiser les fragments de restriction dans le gel placé sur la table à UV. Les petits fragments de 35 Pb sont très difficiles à visualiser sur le gel sous UV. Quant à ceux de 19,18, 16, 11,7 et 4 Pb, ils sont élués dans le tampon lors de la migration électrophorétique.

**Résultats :**

Chaque fragment d'ADN est visible sous forme d'une bande dont la position sur le gel d'acrylamide dépend de sa taille, une combinaison de bandes étant caractéristique de chaque génotype. (Tab 10 et fig. 18)

**Tableau 10 :** Tailles des fragments de restriction en paire de base (Pb) correspondants aux six génotypes possibles (3 homozygotes et 3 hétérozygotes).

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



**Figure 18:** Profil d'électrophorèse sur gel d'acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI présentant différents génotypes d'Apo E.

**II.6 Calcul de l'odds ratio :**

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

	Malades	Témoins	
Exposée (E+)	a	b	a + b
Non exposés (E-)	c	d	c + d
	a + c	b + d	Total

✓ **Mesure de la cote :**

La mesure de la cote d'un événement est un concept différent du taux ou de survenue de cet événement. La cote est le rapport entre la probabilité de survenue d'un événement et celle de la survenue d'un autre événement en général opposé au premier. (99).

Dans notre enquête on ne peut pas calculer directement le taux de maladie, pas plus que la cote correspondante, puisque les nombres de la maladie sont fixés arbitrairement. Cependant on peut calculer :

- La cote d'être exposé (Exposure Odds ; EO) pour les cas :

$$\text{EO malades} = a / c$$

$$\text{Pour les témoins EO témoins} = b / d$$

- Le rapport des cotes d'exposition qui est l'Odds ratio (Exposure Odds ratio)

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

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.

## II.7 Les intervalles de confiance:

Les intervalles de confiance : ont été calculés par la méthode de Cornfield. L'approche estimative de l'analyse statistique vise à quantifier l'effet étudié et le degré de certitude de

cette estimation grâce à un intervalle de confiance, qui identifie généralement une fourchette de valeurs situées de part et d'autre de l'estimation et l'on peut être sûr à 95% de trouver la valeur réelle.

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 (100). L'intervalle de confiance pour les Odds ratio a été calculé à partir de l'approximation de Fleiss.

✓ **Choix de la "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.

Le seuil 0.01 doit d'être choisi lorsqu'en complément d'une étude épidémiologique descriptive; on teste le lien entre deux variables sans que l'on puisse a priori argumenter quand il existe une relation logique entre ces variables.

## **Chapitre III :**



# ***RESULTATS ET DISCUSSION***

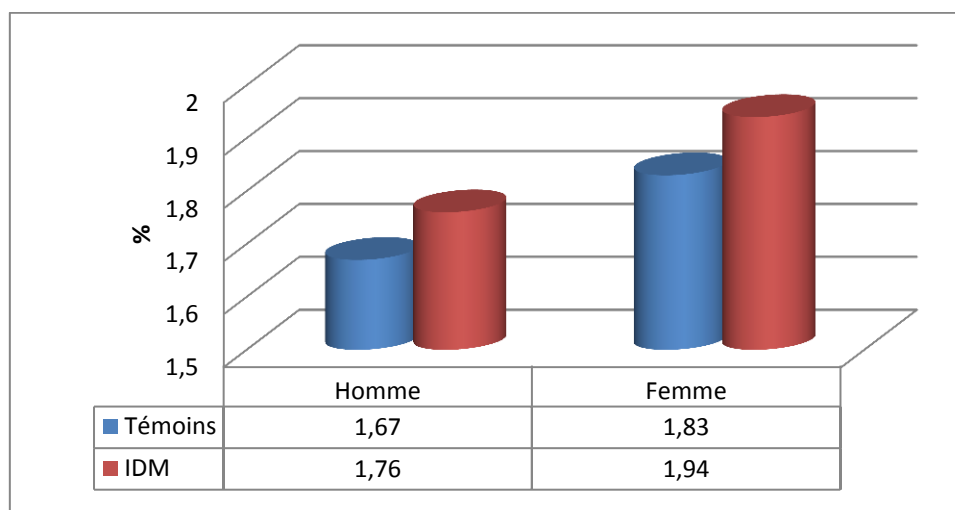


### III.1 Etude des Variations lipidiques dans L'IDM :

**Tableau 11:** Comparaison des Moyennes du cholestérol, des triglycérides, du C-HDL et du C-LDL dans l'IDM et chez les témoins selon le sexe.

IDM						
	Hommes			Femmes		
	IDM	Témoins	P	IDM	Témoins	P
Cholestérol	1.76±0.47	1.67±0.38	ns	1.94±0.58	1.83±0.42	ns
Triglycérides	1.62±0.79	1.08±0.46	0.01	1.98±0.79	1.06±0.56	<0.001
HDL	0.37±0.22	0.40±0.10	0.01	0.31±0.08	0.46±0.10	<0.001
LDL	1.09±0.38	1.06±0.32	ns	1.23±0.38	1.13±0.31	ns

#### III.1.1 Comparaison des Moyennes du cholestérol :



**Figure 19:** Comparaison des Moyennes du cholestérol dans l'IDM et chez les témoins selon le sexe.

On remarque, qu'il n'existe pas de différence significative (NS) des moyennes de la cholestérolémie dans les deux populations malades et témoins, chez les deux sexes.

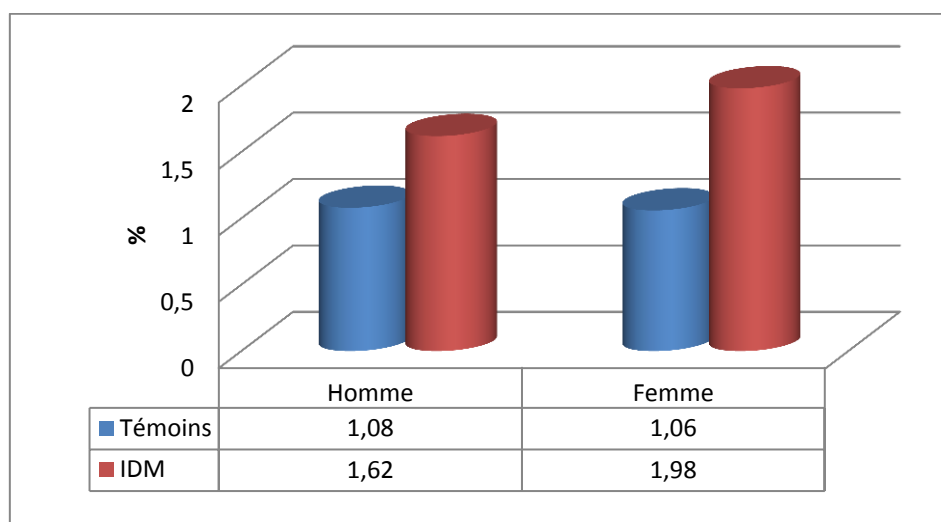
Ceci ne concorde pas avec les études épidémiologiques effectuées, cela revient au nombre de nos échantillons qui est insuffisant.

Une relation positive et continue entre cholestérolémie totale et mortalité par maladie coronaire est bien établie dans de nombreuses études (101). Ainsi pour des valeurs de cholestérol de 2.10 g/l, le risque de mortalité coronarienne est de 4 à 5% au japon et au sud de l'Europe et est à 15% au nord de l'Europe (102).

Une étude menée en Algérie a démontré que des concentrations élevées du cholestérol sont associées à un risque élevé d'IDM. Cette même étude a trouvé que les valeurs des lipides en Algérie sont plus basses que celles trouvées dans deux autres études similaires, L'une menée en France et l'autre en Irlande. (103).

Encore, depuis la parution de l'essai LRC-CPPT (Lipid research clinics-coronary primary prevention trial) il est démontré que la diminution de 1% de la cholestérolémie totale réduit 2 à 3% l'incidence des événements coronaires (104,105).

### III.1.2 Comparaison des Moyennes des triglycérides :



**Figure 20:** Comparaison des Moyennes des TG dans l'IDM et chez les témoins selon le sexe.

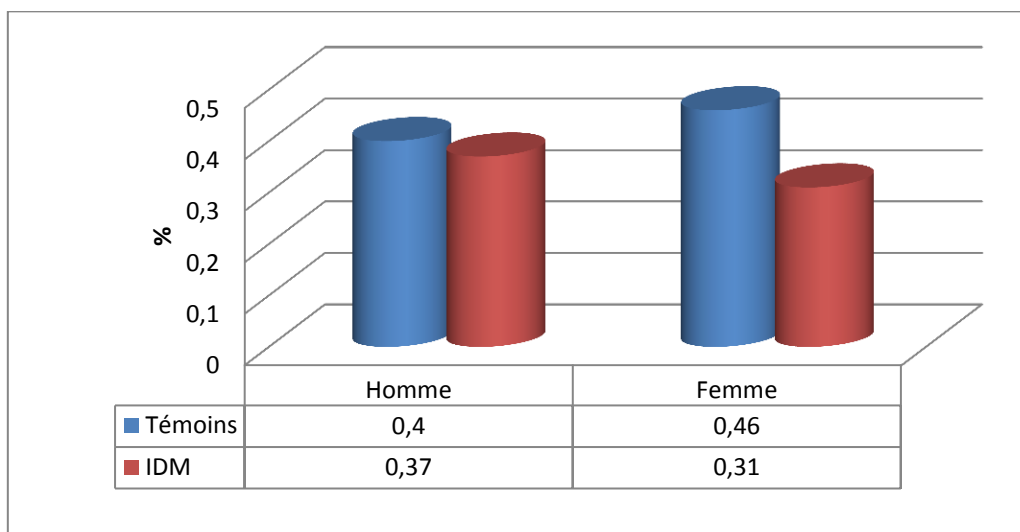
La moyenne de la TG chez les hommes présentant un IDM était de  $1.62 \pm 0.79$  supérieure à celle des témoins avec une moyenne de  $1.08 \pm 0.46$  on note une différence significative ( $p < 0.01$ ). Et pour les femmes la moyenne de TG dans le cas de l'IDM était de  $1.98 \pm 0.79$  supérieure à celle des témoins d'une moyenne de  $1.06 \pm 0.56$  cette différence est plus significative ( $p < 0.001$ ).

Aberg et coll. (106) retrouvent une association des triglycérides avec l'infarctus du myocarde. La plupart des études retrouvent une augmentation significative des taux de TG chez les coronariens même si on ne retrouve pas des triglycérides dans la plaque d'athérosclérose, l'augmentation des triglycérides peut jouer un rôle indirect dans sa

constitution. Des preuves d'une relation indépendante entre triglycérides et maladie coronariennes sont apparues dans de récentes études épidémiologiques (107).

La relation entre TG et risque coronarien est largement dépendante de l'effet d'autres FDR qui s'accompagne souvent d'une élévation de la triglycéridémie tel que l'obésité, le diabète, l'hypercholestérolémie, la baisse du HDL et l'HTA (108).

### III.1.3 Comparaison des Moyennes du C-HDL :



**Figure 21:** Comparaison des Moyennes des C-HDL dans l'IDM et chez les témoins selon le sexe.

Le tableau (11) montre des différences significatives ( $p < 0.01$ ) dans les moyennes totales chez les hommes et plus significative chez les femmes ( $p < 0.001$ ) entre les malades et les témoins.

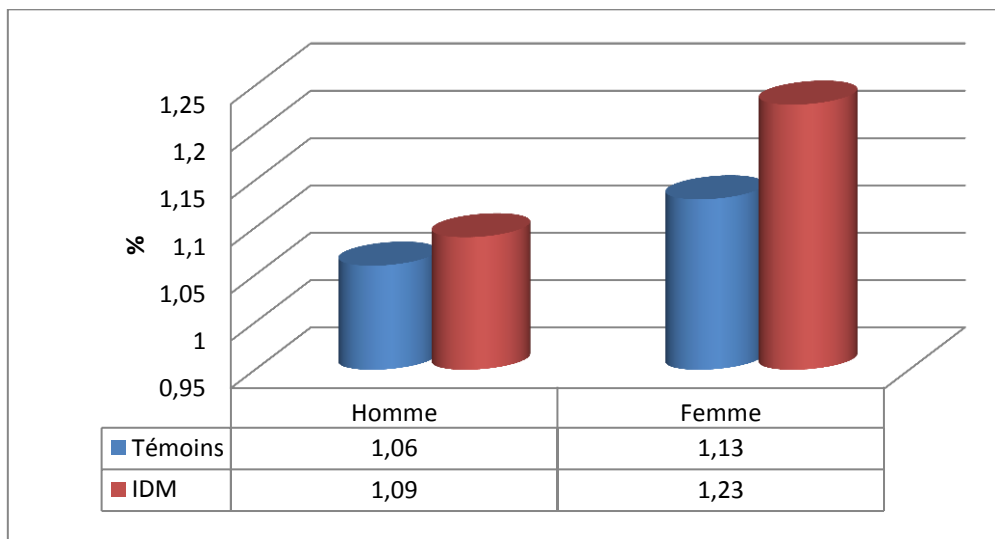
La moyenne totale du chol-HDL pour la population malade est plus basse que celle de la population témoin. Différentes études confirment qu'une telle diminution des valeurs du chol-HDL est un facteur de risque indépendant des maladies coronariennes pour les sujets d'âge moyen et cela pour les deux sexes (109), alors que l'association inverse des taux de HDL et le risque des maladies coronariennes chez les sujets âgés n'est pas retrouvée dans certaines études (110).

Encore les résultats de la Honolulu Heart program indiquent que le HDL est un important facteur de risque des maladies coronariennes chez les sujets âgés ( $> 70$ ans), et que

le risque relatif de maladies coronariennes pour les sujets avec des valeurs de HDL supérieure à 0.60g/l comparé aux sujets avec des valeurs inférieure à 0.40 g/l est de 0.6 (111).

Les résultats de 4 grandes études d'observation indiquent qu'une augmentation de 0.01g/l de HDL s'accompagne d'une diminution du risque coronarien de 2% chez l'homme et de 3% chez la femme (112).

### III.1.4 Comparaison des Moyennes du cholestérol-LDL :



**Figure 22:** Comparaison des Moyennes des C-LDL dans l'IDM et chez les témoins selon le sexe.

On remarque, qu'il n'existe pas de différence significative (NS) des moyennes de la C-LDL dans les deux populations malades et témoins, chez les deux sexes.

Ceci ne concorde pas avec les études épidémiologiques effectuées, cela revient au nombre de nos échantillons qui est insuffisant.

Il existe deux types de particules LDL, celle ayant une petite taille et celle ayant une grande taille. La fréquence d'une forte proportion de LDL de petite taille, riches en protéines est nettement augmentée chez les malades coronariens et chez les survivants d'IDM (113).

Des études cliniques ont montré que les individus présentant un taux élevé de LDL petites et denses ont une prévalence accrue de maladies cardiovasculaires, augmente 3 fois le risque d'IDM (114). La présence des LDL petites et denses est corrélée à des valeurs élevées

de TG, de chol-T et d'Apo B, alors que leur présence est liée à une diminution des valeurs du HDL (115).

La NCEP a désigné les LDL comme étant la lipoprotéine majeure responsable du risque et la première qui doit être diminuée lors d'un traitement (116).

### III.2 LES FACTEURS DE RISQUES :

#### III.2.1 Etudes des facteurs de risque dans la population générale :

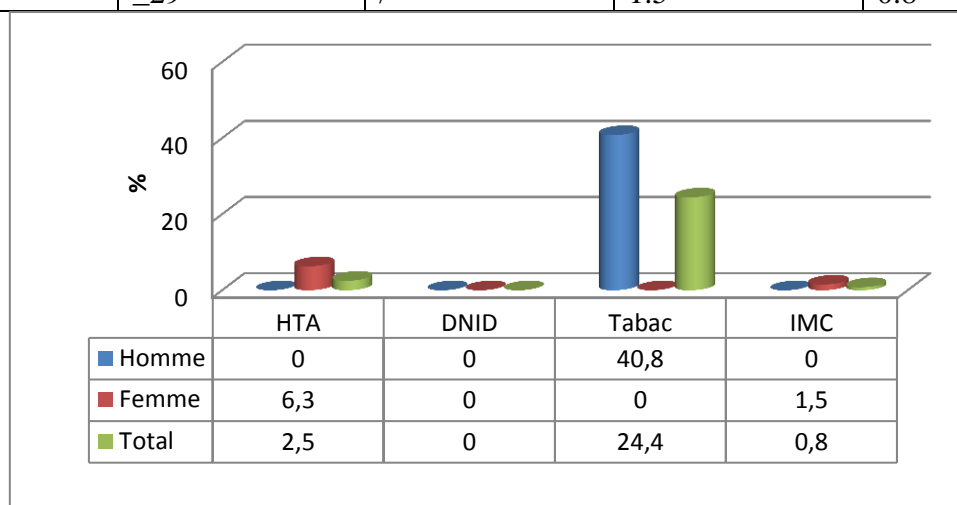
Parmi les facteurs de risque, nous avons pris en considération les plus connus et les plus quantifiables à savoir l'HTA, le tabagisme, le diabète et l'obésité

##### III.2.1.1 Prévalence des différents facteurs de risque dans la population générale :

Le tableau 12 représente la prévalence des différents facteurs de risque dans la population témoins et dans les deux sexes séparément.

**Tableau 12:** Prévalence des facteurs de risque dans la population témoin.

	Témoins			
		Hommes	Femmes	Total
HTA	14/9	/	6.3%	2.5
DNID	≥1.26	/	/	/
Tabac	≥1	40.8	/	24.4
IMC	≥29	/	1.5	0.8



**Figure 23:** Prévalence des facteurs de risque dans la population témoin.

➤ **L'hypertension artérielle :**

La prévalence de l'hypertension artérielle ( $\geq 14/9$ ) est de l'ordre de 2.5% dans la population témoin répartis en 6.3% dans le sexe féminin, et dans le sexe masculin le nombre est insignifiant.

➤ **Le diabète :**

La prévalence du diabète (DNID) est n'existe pas chez les deux populations de témoin.

➤ **Le tabagisme :**

La prévalence de fumeurs est de 24.4 % dans la population témoin. Le nombre des femmes qui fument est insignifiant par contre la proportion des fumeurs de plus de 1 cigarette/jour parmi les hommes est de 40.8% de l'ensemble du sexe masculin. Le pourcentage des fumeurs dans notre étude est plus élevé que ce de Constantine (117) concernant le tabagisme chez les hommes.

➤ **L'obésité :**

La prévalence de l'obésité ( $\geq 29$ ) est de 0.8 % dans la population témoin. Le nombre des hommes ayant une obésité est insignifiant par contre la proportion est de 1.5% de l'ensemble du sexe féminin.

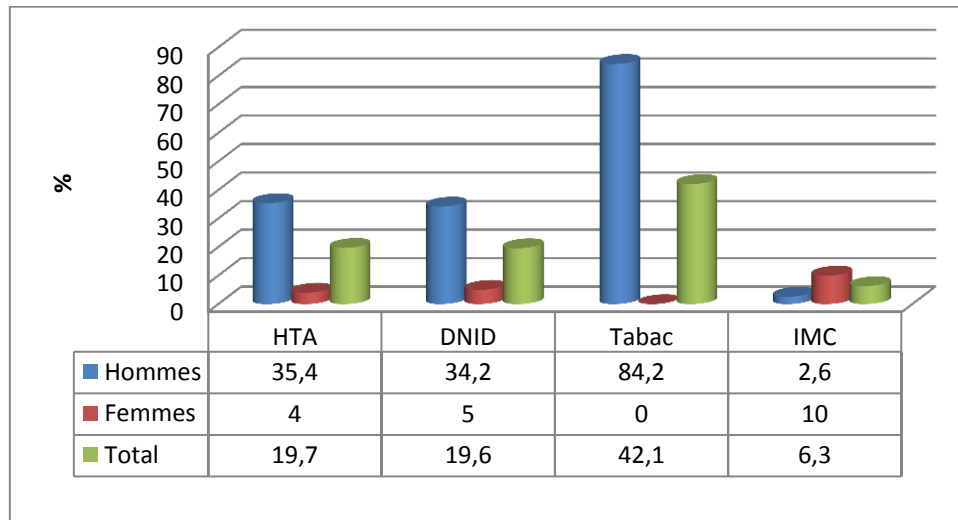
On remarque que la prévalence de l'obésité est augmentée 2.6% durant 10 ans au sein de la population constantinoise (7.55 %) (117). Elle est inférieure à celle d'autres pays, elle varie de 18% à 32.7% entre deux régions de France (118), de même que chez les européens de 25.7 à 26.3 % (119), elle atteint les 33 % au USA (120).

### **III.2.2 Les facteurs de risque dans les cardiopathies ischémiques :**

Parmi tous les facteurs de risque nous avons tenu compte des facteurs les plus communs et les plus quantifiables tel que: l'HTA, la prise de cigarettes, le diabète, l'obésité. (Tableau: 13)

**Tableau (13) : Prévalence des facteurs de risque dans les IDM.**

	IDM			
		Hommes	Femmes	Total
HTA	14/9	35.4	4	19.7
DNID	≥1.26	34.2	5	19.6
Tabac	≥1	84.2	/	42.1
IMC	≥29	2.6	10	6.3



**Figure 24: Prévalence des facteurs de risque dans les IDM.**

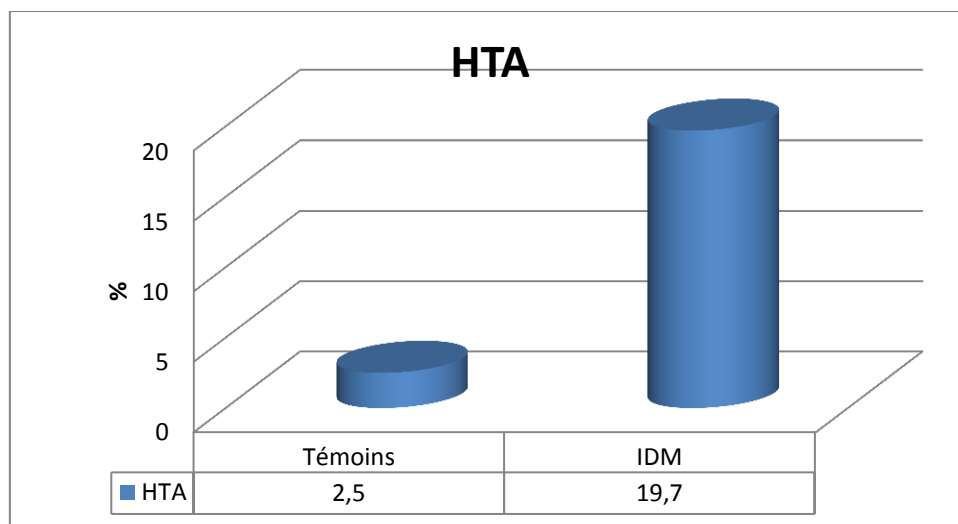
Parmi les 48 malades, nous avons rencontré Tableau 13, figure 24 :

- soit 19.7% de l'ensemble des malades qui ont une hypertension artérielle (14/9). En comparant Les malades par sexes on constate que les femmes présentent un pourcentage (4%) plus inférieur que les hommes (35.4%).
- Soit 19.6% ont un diabète (DNID). Le pourcentage de diabète chez les hommes est légèrement élevé (34.2%) que chez les femmes (5%).
- Soit 42.1% les malades fumant plus d'une cigarette étant surtout des hommes. Si nous tenons compte uniquement du sexe masculin, nous trouvons un pourcentage de 84.2% de fumeurs parmi les hommes.
- soit 6.3% des malades sont obèses avec un IMC  $\geq 29$  et que l'obésité est plus élevé dans le sexe féminin 10% contre 2.6% dans le sexe masculin.

### III.2.3 Comparaison des facteurs de risque entre population témoins et malades:

Dans cette étude montre donc quatre facteurs de risque important qui sont : le diabète la cigarette et l'hypertension artérielle et l'obésité. Plusieurs études présentent des résultats contradictoires lorsqu'il s'agit de la signification statistique de l'un ou de l'autre des facteurs de risque. En étudiant les facteurs de risque trouvés dans la population témoin que nous comparons avec le niveau des facteurs dans les maladies cardiovasculaires et avec les études internationales on déduit que :

#### ➤ L'hypertension artérielle :



**Figure 25:** Comparaison de la fréquence de l'HTA entre les témoins et les IDM.

La fréquence de l'hypertension est de 2.5% dans la population témoin, et dans les maladies coronariennes est de 19.7% plus élevée que le témoin. (Figure 25)

L'hypertension artérielle occupe le deuxième rang (19.7%) est elle augmente de façon significative que les risques de la maladie, elle a montré un impact très significatif sur le risque de la maladie coronarienne.

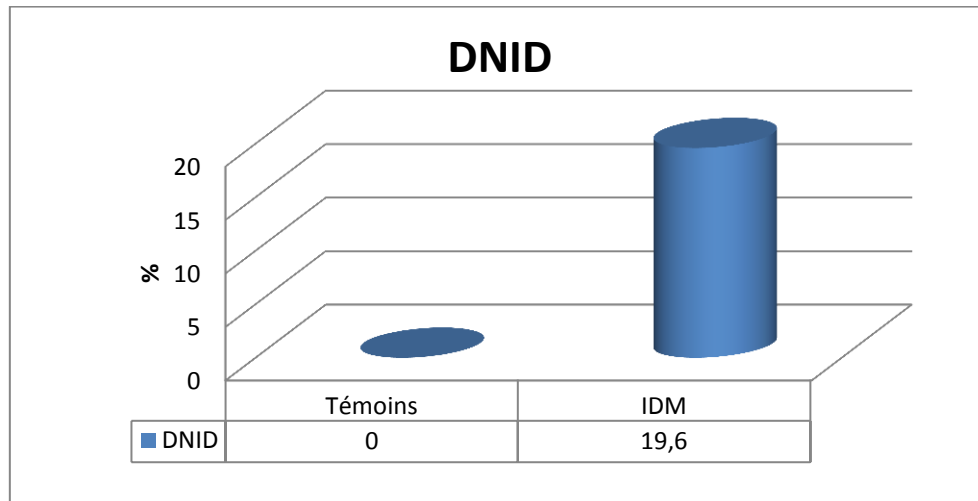
On note que l'HTA est un facteur de risque indépendant de la maladie coronarienne qui peut doubler ou tripler le risque.

Toutes les études d'estimation du risque cardiovasculaire montrent l'importance de cette dernière. L'HTA prend le premier rang des facteurs de risque dans plusieurs pays



comme le Japon, la Chine, l'Europe, au Canada et aux Etats unis d'Amérique. (121). Notre résultat concorde avec celui de Charleroi concernant la dominance de l' HTA chez les hommes par rapport aux femmes (18).

➤ **Le diabète:**



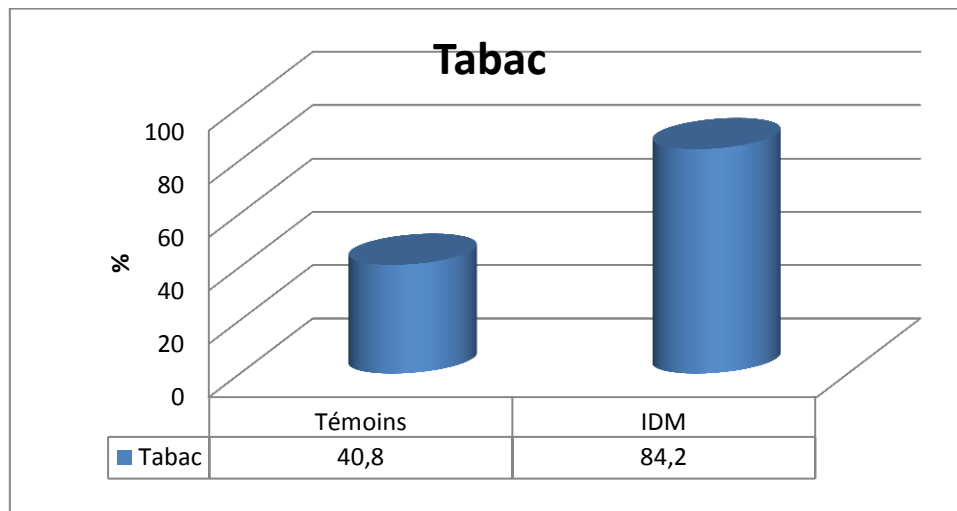
**Figure 26:** Comparaison de la fréquence de diabète entre les témoins et les IDM.

La prévalence du diabète dans notre population générale n'existe pas, et dans la population malade représente 19.6% des malades coronariens. (Figure 26)

La plupart des études trouvent une liaison entre cardiopathies ischémiques et diabète où le diabète est un facteur de risque dans tous les pays européens et d'Amérique du nord (122,123).

Le diabète est associé au risque de IDM cela peut s'expliquer par l'effectif des personnes diabétiques ou il occupe le troisième rang 19.6 %. Le risque d'IDM est nettement augmenté chez les diabétiques par rapport aux non diabétiques et explique environ 30 % de décès dans une population. (124). Nos résultats concordent avec les travaux de l'étude Prime (125) et de l'étude InterHeart (126).

➤ **Le tabagisme :**



**Figure 27:** Comparaison de la fréquence du tabagisme chez les hommes entre les témoins et les IDM.

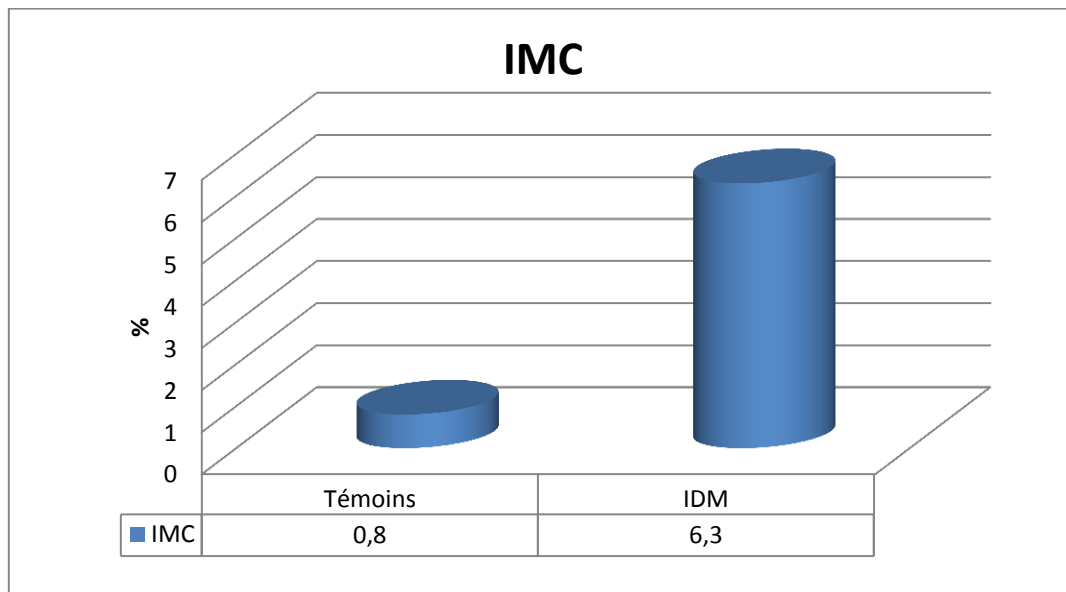
Le tabac est un facteur de risque dans notre population, sa prévalence chez les hommes dans la population générale est de 40.8% inférieure à la fréquence des hommes fumeurs chez les malades qui est très importante avec un pourcentage de 84.2%.

Il est retrouvé comme facteur de risque dans la plupart des études (127) avec une augmentation de mortalité coronarienne chez les fumeurs des deux sexes (128), Les composés du tabac impliqués dans les effets cardiovasculaires sont la nicotine et le monoxyde de carbone, selon l'hypothèse d'Arstup, le monoxyde de carbone augmente la perméabilité endothéliale, ce qui entraîne un œdème de la paroi et un passage accru des macromolécules avec dépôt des particules lipidiques (129).

Au-delà de 10 cigarettes/jour, l'intoxication tabagique multiplie par 3 le risque d'infarctus du myocarde. A partir de 20 cigarettes/jour, le risque d'infarctus du myocarde est multiplié par 5 chez les grands fumeurs inhalant la fumée et celui de mort subite est multiplié par 6 (130). Les effets délétères du tabac sont liés à la quantité quotidienne de tabac consommée à l'âge du début de consommation et à la durée de l'exposition.

Il a été démontré que la suppression du tabac permet de diminuer de 50 % la mortalité d'origine vasculaire; alors que la poursuite du tabagisme après l'apparition de la maladie aggrave fortement le pronostic.

➤ **L'obésité :**



**Figure 28:** Comparaison de la fréquence de l'obésité entre les témoins et les IDM.

Dans la population témoin la prévalence de l'IMC est de 0.8% et dans les maladies coronariennes la prévalence est de 6.3% plus élevé que les témoins.

L'obésité apparaît dans notre étude comme un facteur de risque dans l'IDM et cela pour les deux sexes. Taylor et coll. (131) ont observé une association entre IMC et une augmentation de plusieurs facteurs de risque cardiovasculaire (HTA, diabète, hypertriglycéridémie etc.) sans donner d'explication à cette association.

### III.3 Fréquences génotypiques et alléliques de l'Apo E:

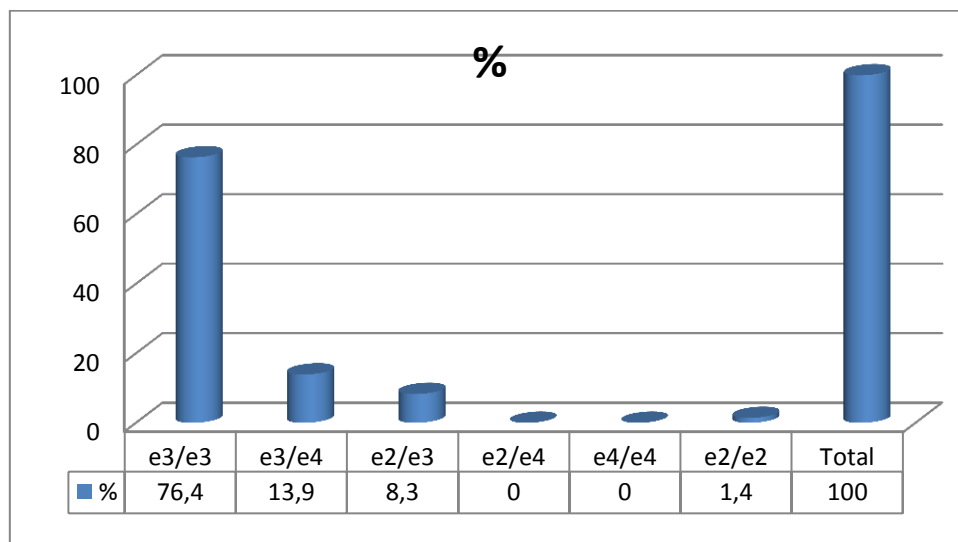
L'étude génétique du polymorphisme de l'Apo E a concerné 119 témoins, et 48 malades d'IDM.

#### III.3.1 Fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population générale de Constantine :

Le tableau 14 et fig.29 montrent Les fréquences génotypiques dans la population de Constantine ; le génotype ( $\epsilon 3 / \epsilon 3$ ) est le plus fréquent il représente (91) 76.4% suivie par ( $\epsilon 3 / \epsilon 4$ ) et moins fréquent pour les génotypes ( $\epsilon 2 / \epsilon 4$ ), ( $\epsilon 4 / \epsilon 4$ ) et ( $\epsilon 2 / \epsilon 2$ ).

**Tableau 14 :** fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population générale.

	Population générale	
	n	%
$\epsilon 3 / \epsilon 3$	91	76.4
$\epsilon 3 / \epsilon 4$	17	13.9
$\epsilon 2 / \epsilon 3$	9	8.3
$\epsilon 2 / \epsilon 4$	/	/
$\epsilon 4 / \epsilon 4$	/	/
$\epsilon 2 / \epsilon 2$	2	1.4
Total	119	100



**Figure 29:** Fréquences génotypiques de l'apoE dans la population générale.

La prédominance du génotype  $\epsilon 3/\epsilon 3$  retrouvée dans notre population, est très compatible avec toutes les études effectuées à travers le monde: exemple: Finlande 58.7%, Framingham (USA) 66.7%, Allemagne 62.2%, Japon 71.9% France 64.3%, Mexique 73.8 %, Chine 70.9% (Tableau 15).

**Tableau 15:** Fréquence génotypique de la population Constantinoise comparée à d'autres groupes ethnique.

	N	E3/E3	E3/E4	E2/E3	E2/E4	E4/E4	E2/E2	Référence
Finlande	1577	58.7	30.6	5.4	1.8	3.2	0.3	445
Copenhague	5112	55.8	25.4	12.8	02.5	02.9	00.5	437

Framingham	2258	66.7	18.8	13.1	1.7	3	0.6	442
Allemagne	1557	62.2	19.9	11.7	2.9	2.2	0.9	439
Japon	576	71.9	19.3	6.1	0.7	1.7	0.3	444
France	504	64.3	18.7	13.9	1.6	1.6	0.8	440
Italie	260	68.4	166.5	12	1.5	1.2	0.4	441
Mexique	964	73.8	17.32	6.8	0.73	1.1	0.21	448
<b>Cne</b>	<b>119</b>	<b>76.4</b>	<b>13.9</b>	<b>8.3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1.4</b>	<b>Cette série</b>
Chine	141	70.9	14.9	12.1	0	0.7	4.7	443

### III.3.2 Fréquences alléliques de l'apoE dans la population générale de Constantine :

L'étude de la distribution des fréquences alléliques de l'apoE dans la population Constantinoise est 5.5% pour l'allèle  $\epsilon 2$ , 87.4% pour l'allèle  $\epsilon 3$  et 7.1% pour l'allèle  $\epsilon 4$  tableau 16.

**Tableau 16:** Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population de Constantine.

	$\epsilon 2$		$\epsilon 3$		$\epsilon 4$	
	N	%	N	%	N	%
Témoins	13	5.5	208	87.4	17	7.1

La comparaison avec ceux d'autres populations dans le monde montrent que dans toutes les populations étudiées l'allèle  $\epsilon 3$  est le plus fréquent (62.6% - 87.5%) suivie par l'allèle  $\epsilon 4$  (4% - 29.7%) et l'allèle  $\epsilon 2$  le moins fréquent (0% -14%) tableau 17 et fig.33.

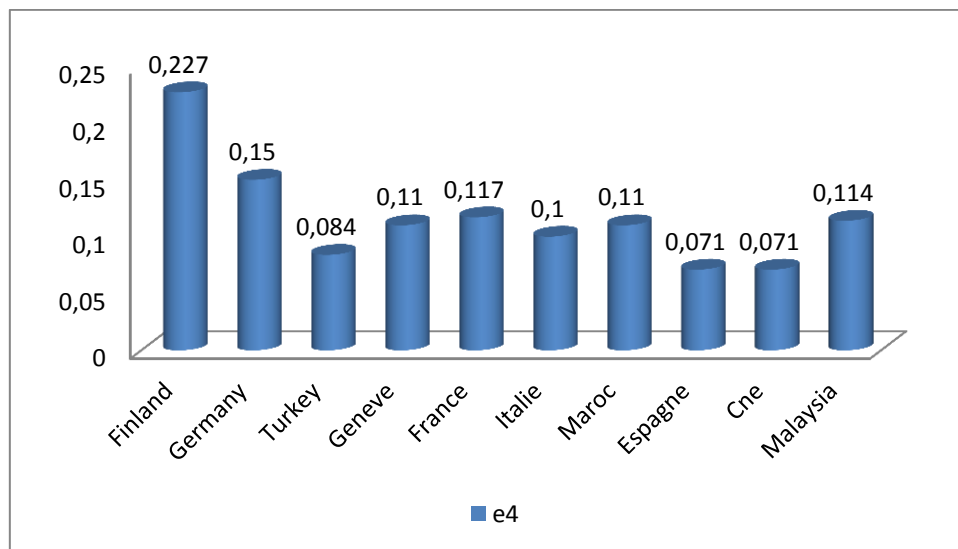
Nos résultats montrent que la fréquence des allèles de l'apoE est similaire à ce qui est rapporté pour les populations d'Europe du sud : Italie, Espagne, la France, et aussi à celle des populations asiatiques.

**Tableau 17:** Fréquences alléliques de l'Apo E dans différentes populations.

Populations	Fréquences Alléliques			Références
	$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$	
Finlande	0.041	0.733	0.227	293
Germany	0.077	0.773	0.15	293
Turkey	0.083	0.833	0.084	451

Genève	0.070	0.820	0.110	470
France	0.061	0.827	0.117	441
Italie	0.073	0.827	0.100	441
Maroc	0.050	0.840	0.110	393
Espagne	0.057	0.811	0.071	435
<b>Cne</b>	<b>0.055</b>	<b>0.874</b>	<b>0.071</b>	<b>Cette série</b>
Malaysia	0.058	0.829	0.114	448

La Finlande a une fréquence relativement faible de l'allèle  $\epsilon_2$  (4.1%) comparativement aux autres populations (Tableau 17)



**Figure 30:** Fréquence de l'allèle 4 dans différentes populations.

Dans les populations d'Europe La fréquence de l'allèle  $\epsilon_4$  est dans l'ordre décroissant du nord vers le sud ou la Finlande a la plus haute fréquence (22.7%) que celle des populations du nord comme la France 11.7%, l'Italie 10%, l'Espagne 7.1%.

### III.3.3 Fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population de Constantine et IDM :

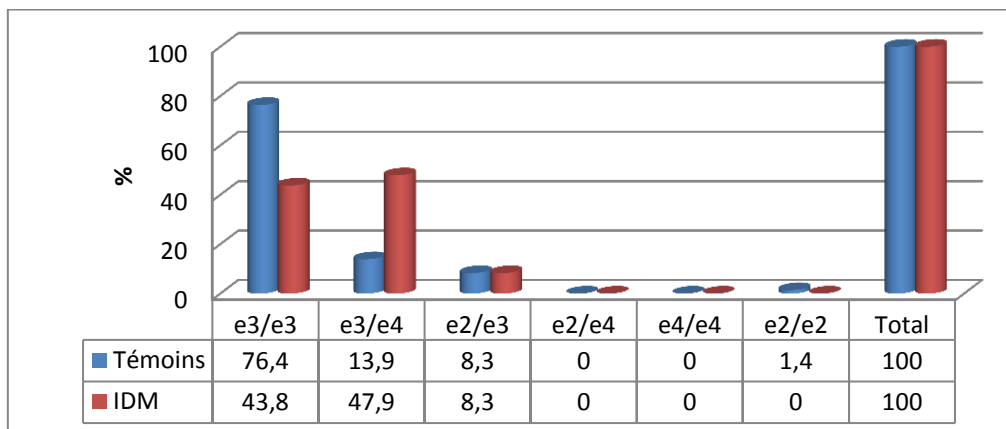
La distribution des génotypes du polymorphisme Apo  $\epsilon$  varie entre les témoins et les IDM, qui présente un ordre décroissant en fréquences correspondant aux génotypes  $\epsilon_3/\epsilon_3$ ,  $\epsilon_3/\epsilon_4$ ,  $\epsilon_2/\epsilon_3$ ,  $\epsilon_2/\epsilon_4$ ,  $\epsilon_4/\epsilon_4$  et  $\epsilon_2/\epsilon_2$  respectivement chez les cas témoins, et dans l'IDM le plus

fréquent est  $\epsilon_3/\epsilon_4$  suivi par  $\epsilon_3/\epsilon_3$ ,  $\epsilon_2/\epsilon_3$  (et  $\epsilon_2/\epsilon_4$ ,  $\epsilon_4/\epsilon_4$  et  $\epsilon_2/\epsilon_2$  n'existe pas dans notre résultats ça revient au nombre des échantillons qui est insuffisant). (Tableau 18, figure 31)

Dans les deux groupes étudiés les porteurs du génotype  $\epsilon_2/\epsilon_2$  sont rares; cependant les porteurs du génotype  $\epsilon_2/\epsilon_3$  sont plus nombreux dans le groupe des témoins comparés au groupe IDM.

**Tableau 18:** fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population de Constantine et dans les IDM.

	Témoins		IDM	
	n	%	n	%
$\epsilon_3 / \epsilon_3$	91	76.4	30	43.8
$\epsilon_3 / \epsilon_4$	17	13.9	17	47.9
$\epsilon_2 / \epsilon_3$	9	8.3	2	8.3
$\epsilon_2 / \epsilon_4$	/	/	/	/
$\epsilon_4 / \epsilon_4$	/	/	/	/
$\epsilon_2 / \epsilon_2$	2	1.4	/	/
Total	119	100	48	100



**Figure 31:** Répartition des fréquences génotypiques dans la population de Constantine et dans les IDM.

Selon les résultats obtenus, on peut observer que le génotype  $\epsilon_3/\epsilon_4$  est plus fréquent chez les malades atteints d'IDM, son pourcentage est augmenté de 47.9 % par rapport aux témoins. Ceci indique une association entre la présence de l'allèle  $\epsilon_4$  et la maladie cardiovasculaire.

Par contre on ne trouve pas la fréquence de phénotype  $\epsilon 2/\epsilon 2$  ça revient au nombre de nos échantillons qui est insuffisant.

Lenzen et coll. ont reporté que 60 % des patients porteurs de phénotypes E3/E4 souffrent d'un IDM avant l'âge de 60ans cependant ceci est inversé chez les sujets ayant le phénotype E2/E3 (132).

L'étude de Kumar a démontré une contribution importante du polymorphisme de l'Apo E dans l'accélération des maladies cardiovasculaires dans la population indienne asiatique (133). Cette association a été également prouvée dans de nombreux groupes ethniques y compris les caucasiens américains (USA), australiens et les italiens et les turcs (134) En se basant sur cette forte association Apo E4 et IDM prématuré laisse considérer que l'allèle  $\epsilon 4$  est un facteur de risque indépendant en inde asiatique (133).

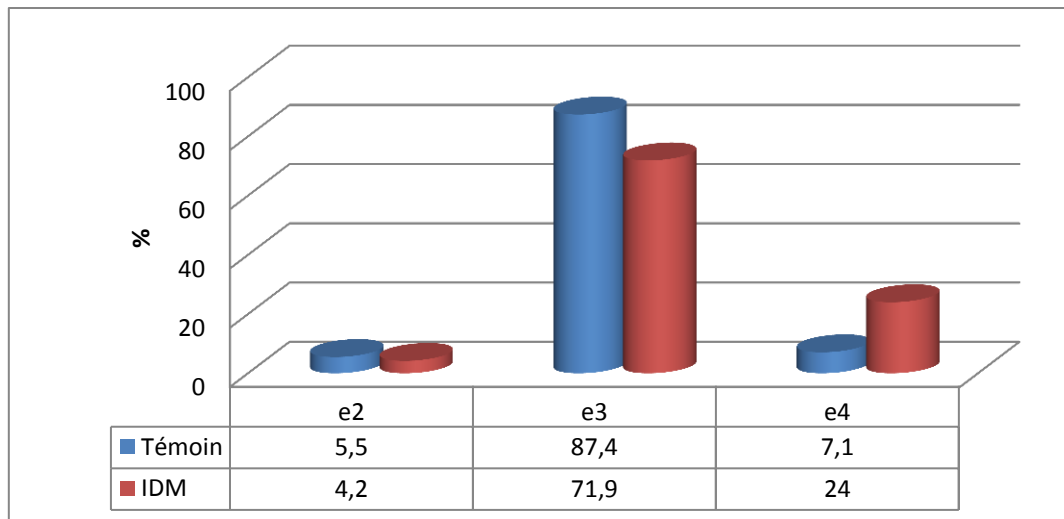
### III.3.4 Fréquences alléliques de l'Apo E dans les IDM :

Le tableau 19, et le figure 32 montrent que la fréquence de l'allèle  $\epsilon 2$  chez les témoins (5.5%) est proche de celle des IDM (4.2%), La fréquence de l'allèle  $\epsilon 3$  est relativement faible chez les IDM (71.9%vs 87.4 %), et significativement élevé pour l'allèle  $\epsilon 4$  chez les IDM (24% vs 7.1%)  $p < 1\%$  comparativement aux témoins suggérant ainsi sa relation avec la maladie.

**Tableau 19:** Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population de Constantine et dans les IDM.

	$\epsilon 2$		$\epsilon 3$		$\epsilon 4$	
	N	%	N	%	N	%
Témoins	13	5.5	208	87.4	17	7.1
IDM	4	4.2	69	71.9	23	24





**Figure 32:** Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population de Constantine et dans les IDM.

La fréquence des allèles de l'Apo E varie dans les différentes populations (Tableau 17). Plusieurs études ont établi le lien entre l'allèle  $\epsilon 4$  et l'élévation du risque des maladies cardiovasculaires (135) En Europe, Gerdes et coll. (136) ont comparé 45 pays à la Norvège et ont constaté un gradient décroissant allant du nord, où la prévalence de maladie coronarienne est grande, au sud où elle est basse (137).

Le taux de mortalité par coronaropathie est de 24,5/100 000 pour une augmentation de 0,01 de la fréquence relative de l'allèle  $\epsilon 4$  (80) il est proportionnelle à la fréquence de l'allèle  $\epsilon 4$  et diffère d'un pays à l'autre (132).

D'autres études révèlent que la fréquence de l'allèle  $\epsilon 2$  croît avec la diminution de la mortalité coronarienne, toutefois là où l'environnement est favorable, comme au Japon, les allèles  $\epsilon 2$  et  $\epsilon 4$  s'accompagnent d'un risque accru (138).

### III.4 Influence du polymorphisme sur les paramètres lipidiques :

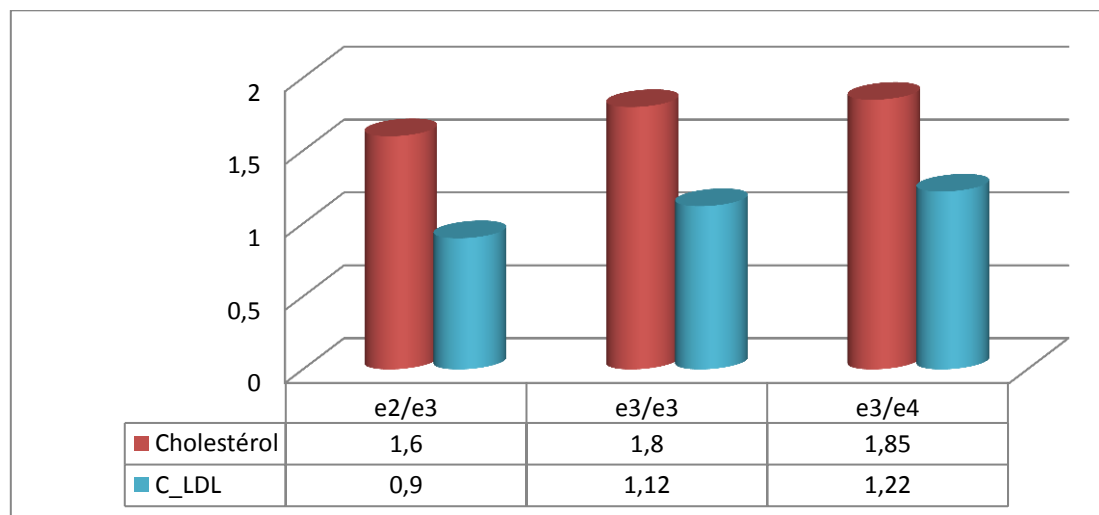
#### III.4.1 Génotype et paramètres lipidiques :

Le tableau (20) montre l'influence du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez les sujets porteurs de  $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$  et  $\epsilon 3/\epsilon 3$ .

**Tableau 20:** impact du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez Les porteurs d' $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$  et  $\epsilon 3/\epsilon 3$ .

	$\epsilon 2 / \epsilon 3$	$\epsilon 3 / \epsilon 3$	$\epsilon 3 / \epsilon 4$	$\epsilon 2/\epsilon 3$ $\epsilon 3/\epsilon 3$	vs	$\epsilon 3 / \epsilon 4$ vs $\epsilon 3 / \epsilon 3$
Cholestérol	1.60± 0.3	1.80 ± 0.4	1.85 ± 0.41	<1%		<1%
TG	1.14± 0.45	1.10± 0.38	1.18 ± 0.35	ns		ns
HDL	0.46± 0.1	0.42± 0.1	0.39 ± 0.1	ns		ns
LDL	0.90± 0.5	1.12± 0.32	1.22 ± 0.35	<1%		<1%

➤ **Le cholestérol et C-LDL :**



**Figure 33:** impact du génotype de l'Apo E sur le cholestérol et C\_LDL chez Les porteurs de :  $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$  et  $\epsilon 3/\epsilon 3$ .

Notre étude montre que les taux de cholestérol et de cholestérol –LDL chez les sujets  $\epsilon 3/\epsilon 4$  sont augmentés significativement alors que les taux de C-HDL ne sont pas significativement différents (Tableau 20).

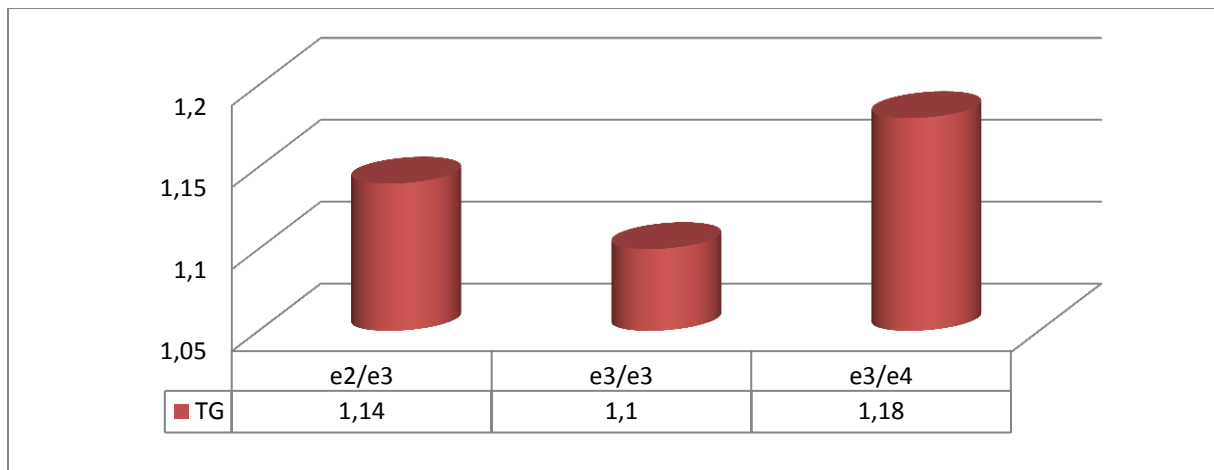
Plusieurs études confirment la liaison polymorphisme-Lipides. L'allèle  $\epsilon 4$  est associé à une augmentation du cholestérol, LDL-C et Apo B.

Dans l'étude ECTOR, l'allèle  $\epsilon 2$  est associé à des valeurs inférieures de total cholestérol, et de LDL-cholestérol, ceci est en accord avec plusieurs études qui ont rapporté

l'association de l'allèle  $\epsilon 2$  avec des concentrations de total et/ou de LDL-cholestérol plus basses comparées avec les homozygotes  $\epsilon 3\epsilon 3$ . L'allèle  $\epsilon 2$  exerce ainsi un effet protecteur sur les concentrations des lipides plasmatiques (139).

Selon notre étude; l'effet de diminution de l'allèle  $\epsilon 2$  est trois fois plus grand que l'effet d'élévation de l'allèle  $\epsilon 4$  sur le LDL-C. Ceci concorde avec les travaux de Utermann et coll. (140) qui avaient été les premiers à rapporter que les porteurs de l'allèle  $\epsilon 2$  avait des taux plus bas de cholestérol et de LDL-C plasmatiques que les porteurs de l'allèle  $\epsilon 3$  (phénotype E3/ E3).

➤ **Les triglycérides :**



**Figure 34:** impact du génotype de l'Apo E sur les triglycérides chez Les porteurs de :  $e 2/e 3$ ,  $e 3/e 4$  et  $e 3/e 3$ .

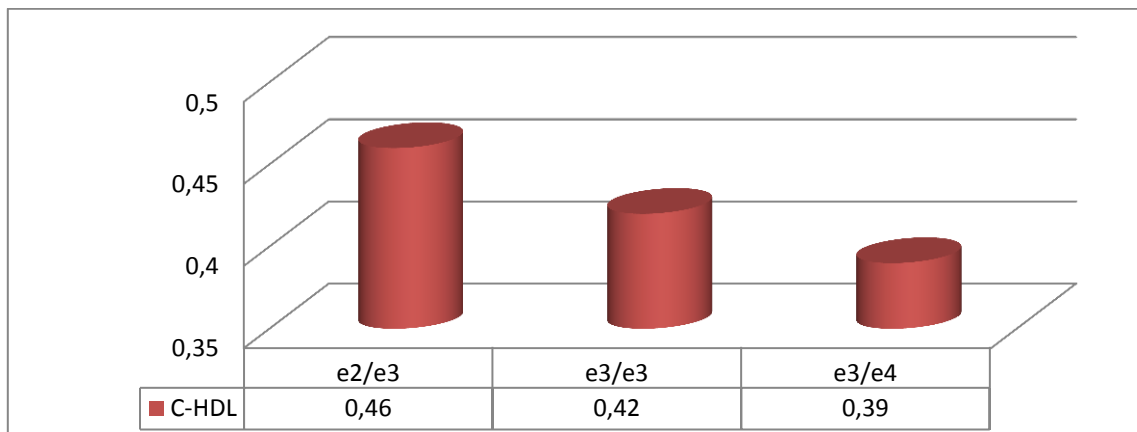
Les études sont contradictoires quand aux triglycérides. Une méta-analyse de 45 études menées dans 17 pays par Jean Dallongeville (141) a confirmé que le phénotype d'Apo E influençait aussi les TG de façon significative, l'allèle  $\epsilon 4$  autant que l'allèle  $\epsilon 2$  pouvant augmenter les taux de TG plasmatiques chez les sujets hyperlipidémiques.

Notre étude montre une influence uniquement de l'allèle  $\epsilon 4$  sur les triglycérides. Les triglycérides sont augmentés significativement chez les sujets  $\epsilon 3/\epsilon 4$  alors que chez les sujets  $\epsilon 2/\epsilon 3$  restent au même niveau que les triglycérides des sujets  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (Tableau 20).

L'allèle  $\epsilon 4$  est associé à des concentrations plus élevées de triglycérides, ceci est observé par Kofler et al dans une étude réalisée au Royaume-Uni (142).

Tolosa et al (143) qu'après l'âge de ménopause, ont trouvé chez les femmes ayant le phénotype E2/E3 ont un taux élevé de TG tandis que celles ayant le phénotype E3/E4 présentent une élévation du cholestérol (135). L'effet de  $\epsilon 2$  est très sensible à l'environnement particulièrement en ce qui a trait à l'effet sur les TG (80).

➤ **Le Cholestérol HDL :**



**Figure 35 :** impact du génotype de l'Apo E sur les triglycérides chez Les porteurs de : e2/e3, e3/e4 et e3/e3.

Notre étude ne retrouve pas de différence significative du C-HDL entre les différents génotypes. Le C-HDL des sujets E3/E4 est diminué par rapport aux sujets E3/E3 Par contre est élevée chez les sujet E2/E3 mais non significative (Tableau 20).

D'autres études trouvent que les femmes porteuses E2/E3 ont une concentration élevée des HDL comparées à celles qui portent le génotype E3/E3, les données de l'étude de GAMBOA.R et coll. (144) suggèrent que la variation du locus Apo E dans la population mexicaine est un facteur génétique qui influence sur le taux de lipides plasmatiques cependant son effet est seulement observé chez la population féminine.

### III.5 Polymorphisme et risque cardio-vasculaire :

#### III.5.1 Prévalence de L'odds ratio dans l'IDM :

Le calcul de l'odds ratio montre que les porteurs de l'allèle  $\epsilon 4$  présentent une association significative ( $p < 0.01$ ) vis-à-vis de la survenue de l'IDM, suggérant que les sujets

ayant un allèle  $\epsilon 4$  sont plus prédisposés à développer une maladie coronaires par rapport aux porteurs de  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (Tableau 21).

Ceci est confirmé par de nombreuses études qui démontrent l'implication de l'allèle  $\epsilon 4$  dans les maladies cardiovasculaires.

**Tableau 21:** Calcul des odds ratio des sujets malades (IDM) ayant un allèle  $\epsilon 4$  par rapport aux témoins ayant un génotype  $\epsilon 3/\epsilon 3$ .

	Odds ratio	P
$\epsilon 4$ vs $\epsilon 3/\epsilon 3$	5.86 2.19<OR<13.9	P<1%

Les individus ayant l'allèle  $\epsilon 4$  ont 46 fois plus de risque de développer un IDM prématuré selon Kummar (133). Il a été établi le risque relatif en fonction du phénotype d'Apo E; par rapport au phénotype E3/E3; il est de 0,23, 0,61, 0,78, 1,16 et 1,33 respectivement pour les phénotypes E2/2, E3/2, E4/2, E4/3, et E4/4 (80).

Notre étude montre une relation étroite de l'Apo E4 avec une concentration élevée du cholestérol et du C-LDL qui peut directement influencer la pathogenèse des MCV. Ceci a été expliqué par l'influence de polymorphisme de l'Apo E sur l'absorption et le métabolisme des lipides alimentaires.

Dans son étude, Davignon suggère que le polymorphisme de l'Apo E accordé aux variations des niveaux de cholestérol plasmatique explique seulement 2.8% du risque des MCV (74). Gerdes et coll. (136) ont observé que dans l'étude 4S (Scandinavian Simvastatin Survival Study), les sujets ayant subi un infarctus du myocarde et porteurs de l'allèle  $\epsilon 4$  et qui ont été suivis durant cinq ans, avaient un risque de mortalité presque deux fois plus grand que les non porteurs.



***Conclusion***

## Conclusion:

L'étude que nous avons entreprise est une étude transversale de type cas témoin concernant 167 individus répartis en deux groupes, Cependant les moyennes des lipides dans notre population sont plus basses que celles trouvées dans les pays industrialisés. Une population de malade présentant un infarctus du myocarde (n=48) et une population de cas témoin (n=119).

Les lipides constituent un facteur de risque majeur des maladies coronariennes, notre étude présente un profil lipidique montrant une augmentation du cholestérol total, une augmentation des triglycérides, une diminution du HDL, et une élévation des LDL, chez les sujets présentant un IDM par rapport aux témoins.

Parmi les 48 malades présentant un IDM, la prévalence des sujets hypertendus est de 19.7%, soit 19.6% sont des diabétiques, soit 42.1% des hommes sont fumeurs, soit une prévalence de 6.3% des personnes obèses.

Cependant, ces facteurs de risque ne peuvent en aucun cas être assimilés directement à des causes de la maladie. Une relation de cause à effet ne peut pas être déduite seulement de cette association épidémiologique vu que certains patients ayant la maladie ne présentent aucun de ces facteurs de risque. Mais cette association établit quand même un certain lien de causalité. Ainsi il est établi qu'en termes de probabilité la survenue d'un IDM, est fortement influencée par la présence de ces facteurs de risque.

D'autre part, dans le présent travail, nous nous sommes proposés de déterminer le polymorphisme de l'apoE chez les sujets atteints d'IDM et de comparer les fréquences alléliques et génotypiques dans la population d'étude à une population témoin.

Nos résultats ont montré la prédominance de l'allèle  $\epsilon 3$  dans la population constantinoise avec une fréquence de 87.4%, suivi de loin par  $\epsilon 4$  (7.1%) et  $\epsilon 2$  (5.5%). cette tendance s'accorde avec toutes les études effectuées à travers le monde.

L'allèle  $\epsilon 4$  est corrélé aux maladies cardiovasculaires. Dans notre étude, la fréquence est 24% chez les IDM alors qu'elle est de 7.1 % chez les témoins. En Europe, la fréquence de cet allèle augmente du sud vers le nord et suit le gradient de fréquence des maladies cardiovasculaires.

Des études ont montré également que le risque moyen de développer une MCV est 1.43 fois supérieur chez les individus porteurs de l'allèle  $\epsilon 4$  par rapport à ceux portant l'allèle  $\epsilon 2$ , nous retrouvons cette tendance dans notre étude avec un odds ratio de 5.86. En revanche l'association entre l'allèle  $\epsilon 2$  et ces maladies reste à démontrer et le rôle protecteur de cet allèle est moins établi.

Ce travail révèle que le polymorphisme du gène de l'Apo E avait un impact sur la variation du cholestérol, les triglycérides et le cholestérol-LDL plasmatiques dans la population malade. L'allèle  $\epsilon 4$  est associé avec des concentrations plasmatiques en lipides élevées de 1 à 5 %, tandis que l'allèle  $\epsilon 2$  est associé à des concentrations plutôt basses.

La découverte d'un allèle  $\epsilon 4$  ajoute à la sûreté du diagnostic :

- le suivi des patients dyslipidémiques.
- Pour une meilleure adaptation thérapeutique et diététique.
- Pour la connaissance des variations inter individuelles dans l'initiation et la progression d'athérosclérose.

Le développement des techniques de biologie moléculaire est donc à poursuivre pour proposer de nouvelles approches médicamenteuses contre l'athérosclérose. Les travaux qui en découlent devraient contribuer à diminuer l'impact négatif des maladies cardiovasculaires sur la longévité, non seulement dans les pays industrialisés, mais également dans le reste du monde, car ces maladies n'ont pas de limites socio-économiques ou géographiques.





***Références  
bibliographiques***

## **Références bibliographiques**

- 1- BOGARD M., LAMORIL J.** Biologie moléculaire en biologie clinique III Applications en génétique. Option Bio. Elsevier. (2000).
- 2- UTERMANN G., HEES M., STEINMETZ A.** Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. *Nat.* (1977). 269: 604-7.
- 3- MAHLEY RW.** Apo lipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science.* (1988). 240: 622-30.
- 4- VISVIKIS S.** L'apolipoprotéine E et le cholestérol. Stanislas Echange. La recherche 3. (1997).
- 5- OMS.** Maladies cardiovasculaires. Aide Disponible en ligne à l'adresse <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/fr/index.html>. Mémoire Février (2014).
- 6- MINISTERE DE LA SANTE ET DE LA POPULATION.** « Développement du système national de santé: Stratégie et perspectives ». Mai (2003).
- 7- NISSEN ET AL.** *JAMA.* (2003). 290: 2292.
- 8- GUILLAUME L., LAPERCHE T.** Marqueurs biochimiques du syndrome coronarien aigu (SCA). *Revue Francophone Des Laboratoires.* (2009). 409: 51-57.
- 9- BAUDIN B., COHEN A.** Données épidémiologiques des maladies cardiovasculaires et prise en charge des accidents cardiovasculaires. *Revue Francophone Des Laboratoires.* (2009). 409: 27-39.
- 10- PESSINABA S., MBAYEA A., YABETA G.A.D., HAROUNA H., SIB A.E., KANEB A.D., BODIAN M., NDIAY M.B., MBAYE-NDOUR M., NIANG K., DIAGNE-SOWA D., DIACK B., KANE M., DIAO M., MATHIEU J.B.S., KANE A.** Prevalence survey of cardiovascular risk factors in the general population in St. Louis (Senegal). *Annales de cardiologie ET d'angéologie.* (2013). 62: 253-258.
- 11- JOUSSEIN-REMACLE S., DELARCHE N., BADER H., LASSERRE R., ESTRADE G.** Risk factors in a young population with acute myocardial infarction: one year prospective study. *Annals de Cardiology ET d'Angéologie.* (2006). 55: 204-209.
- 12- BLACHER J., PLU-BUREAU G.** Cardiovascular risk of women after menopause: To evaluate in order to prevent. *Médecine des Maladies Métaboliques.* (2012). 6: 14-18.
- 13- DESSAPT. A.-L., GOURDY. P.** Ménopause et risque cardiovasculaire, Ménopause and Cardiovascularrisk. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction.* (2012). 41: 13-19.
- 14- BLACHER J., LIEBER A., PEROZ J., MAIRESSE S., YANNOUTSOS A., M.E.** Safar. Residual cardiovascular risk in treated hypertension. *Médecine des Maladies Métaboliques.* (2010). 4: 371-376.

- 15- BOURAOUI H., TRIMECHE B., ERNEZ-HAJRI S., MAHDHAOUI A., ZAARAOUI J., GASMI A., JERIDI G., AMMAR H.** Impact of diabetes on mortality after myocardial infarction. *Annales de Cardiologie et d'Angéologie*. (2005). 54: 55-59.
- 16- BRIAN M., WONG MD FRCPC1., YELIAN GARCIA MD1., AIALA BARR MS MSC PHD1, RICHARD H., GLAZIER MD MPH CCFP2., BETH L., ABRAMSON MD MS MSC FRCPC FACCI1.** Cardiovascular risk factor awareness in a disadvantaged inner-city population – implications for preventive strategies. *Can J Cardiol*. (2008). 24: 85-94.
- 17- TISON E.** Metabolic syndrome: diagnosis, cardiac and vascular consequences. *EMCCardiologieAngéologie*. (2005). 2: 423-430.
- 18- COLLART P., COPPIETERS Y., DRAMAIX M., LEVÊQUE A.** Acute myocardial infarction in Charleroi: Evolution of risk factors and therapeutic practices. *Annales de cardiologie ET d'angéologie*. (2013). 62: 233-240.
- 19- ANDRE P., SIX M., GRISON C., METRON D.** Interest of a physical activity adapted for the correction of the factors of cardiovascular risk at the coronary subject. *KinesitherRev*. (2013). 13: 23-28.
- 20- ASSMANN G., CARMENA R., VALENCIA P.C., MUNSTER J.C., FRUCHART, LEWIS B., MANCINI M., OLSSON A., LINKOPING R., PAOLETTI, MILAN M.T.** Helsinki. Maladie coronarienne: réduire le risque. Nouvelle Société Française d'Athérosclérose. (1998).
- 21- AKOUDAD H., BENAMER H.** Physiopathology of myocardial infraction. *EMC Cardiologie Angéologie*. (2004). 1: 49-67.
- 22- RUFFER J.** Patho. Bacterial. "On arterial lesion found in Egyptian mummies" (1911). 15: 453.
- C. Russo-Marie F, Peltier A, Polla BS. "L'inflammation". (1998). 126.
- 23- BENLIAN P.** Génétique et dyslipidémies: approche gène-candidat. Paris: Les éditions INSERM. (1996).
- 24- PAUL J.L., BAUDIN B.** Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs précoces. *Revue Francophone Des Laboratoires*. (2009). 409: 41-50.
- 25- COHEN A.** Cardiologie et pathologie vasculaire. Physiopathologie de l'athérosclérose. Mécanismes et prévention de l'athérotrombose. Thèse DED en pharmacie. ESTEM. Université de Franche-Comté. Paris. (1997). in LIONI J. (2001). N°25 01.
- 26- LUC G., LECERF JM., BARD JM ET AL.** Cholestérol et athérosclérose. Paris: Masson. (1991).
- 27- CHEVRIER G.** Structure des artères et des veines de capillaire. <http://bio.m2osw.com/gcartable/cardiologie/arterveinetcap.htm>. (2013).

- 28- CHUNG N.S., WASAN K.M.** "Potential role of the low-density lipoprotein receptor family as mediators of cellular drug uptake". *Adv. Drug Deliv.* (2004). 56: 1315-1334.
- 29- ROSS R.N.** "Mechanisms of disease: Atherosclerosis-An Inflammatory Disease". *N Engl. J. Med.* (1999). 340: 115-126.
- 30- ANONYME.** L'athérogenèse. <http://theworldofhorus.over-blog.com/article-6659981.html>. (2012d).
- 31- LUSIS A.J.** "Atherosclerosis". *Nature.* (2000). 407(6801): 233-41.
- 32- DAVIES M., RICHARDSON P.D. AND WOOLF N.** "Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content". *Br. Heart J.* (1993). 69: 377-381.
- 33- LEE R.T., LIBBY P.** "The unstable atheroma". *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* (1997). 17: 1859-1867.
- 34- TABAS I.** "Macrophage Apoptosis in Atherosclerosis: Consequences on plaque Progression and the Role of Endoplasmic Reticulum Stress" *Antioxid Redox Signal* Feb 25. [Epub ahead of print]. (2009).
- 35- GUZMAN RJ.** "Clinical, cellular, and molecular aspects of arterial calcification" *J. Vasc Surg.* 45 Suppl (2007). A: A57-63
- 36- LIBBY P.** Inflammation in atherosclerosis. (2002). *Nature* 420: 868-874.
- 37- STARY H.C., CHANDLER A.B., DINSMORE R.E., FUSTER V., GLAGOV S., INSULL W.JR., ROSENFELD M.E., SCHWARTZ C.J., WAGNER W.D., WISSLER R.W.** A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation.* (1995). 92: 1355-1374.
- 38- DOUEK P., LAISSY J.P., LEVY C., TRILLAUD H.** *Angiographie par résonance magnétique.* Masson, Paris. 4. (2002).
- 39- CAPRON L.** Évolution des théories sur l'athérosclérose. *Rev Prat.* (1996). 46: 533-7.
- 40- SALVAYRE R., AUGE N., BENOIST H., NEGRE-SALVAYRE A.** Oxidized low density lipoprotein-induced apoptosis. *Biochim Biophys Acta.* (2002). 1585: 213-221.
- 41- LAGROST L., MASSON D., CHAPMAN J.** *Lipoprotéines et métabolisme lipidique: L'athérosclérose - Physiologie, diagnostics, thérapeutiques.* La Société Française d'Athérosclérose. Masson. Paris. (2003).
- 42- CHAPMAN M.J.** Animal lipoproteins: chemistry, structure and comparative aspects. *J LipidRes.* (1980). 21: 789-853.
- 43- CAPRON L.** Infection et athérosclérose *Sang Thrombose Vaisseaux.* (1997). 1/9: 7-9.

- 44- MURAY R, GRANNER D., MAYES P, RODWELL V ET AL.** "Harper's Illustrated Biochemistry" Twenty-Sixth Edition by The McGraw-Hill Companies. (2003). 25: 205-217.
- 45- YOUNG S.G., PARTHASARATHY S.** Why are low-density lipoproteins atherogenic ? West J. Med. (1994). 160: 153-164.
- 46- ALAUPOVIC P.** The role of apolipoprotéins in lipid transport processus Rec.Clin.Lab. (1982). 12: 3.
- 47- VASANTHY NARAYANASWAMI., SAMUEL S.W., SZETO., ROBERT O.** Lipid Association-induced N- and C-terminal Domain Reorganization in Human Apo E3. The journal of biological chemistry. Issue of October 12 (2001). 276, No. 41: 37853–37860.
- 48- ZIEGLER O., GOT I., DROUIN P.** Lipoprotéines et diabète In: traité de diabétologie. Tchobroutsky G, Slama G, Assan R eds. Pradel Editions. Paris. (1990). 231-249.
- 3- MAHLEY R.W.** Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. Science. (1988). 240: 622-630.
- 49- WEISGRABER K.H.** Apolipoprotein E: structure-function relationships. Adv Protein Chem. (1994). 45: 249-302.
- 50- KI PAIK., DAVID J., CHANG., CATHERINE A., REARDON., GLENN E AND AL.** Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene, Proc.Natl. Acad. Sci. USA. (1985). 82: 3445-3449.
- 51- ROBEITAILLE N.** Thèse: Polymorphisme de l'apolipoprotéine E au sein de la population de LAC ST JEAN CHIBOUGAMAQUÉBEC. on line. (1994).
- 52- SIMON M., HONE E., GANDY S., MARTIN R.** Expanding the association between the APO E gene and the risk of Alzheimer's disease: possible roles for APOE promoter polymorphisms and alteration in APOE transcription. Journal of neurochemistry. (2003). 84: 1215-1236.
- 53- ZANNIS VI., VAN DER S.J., SILVERMAN D.** Intracellular modifications of human apolipoprotein E. J. Biol Chem. (1986). 261: 13415-21.
- 54- GIROUX L.M., DAVIGNON J., NARUSZEWICZ M.** Simvastatin. inhibits the oxidation of low-density lipoproteins by activated human monocyte-derived macrophages. Biochim.Biophys. Acta Lipids Lipid Metab. (1993). 1165: 335-8.
- 55- UTERMANN G., HARDEWIG A., ZIMMER F.** Apolipoprotein E phenotypes in patients with myocardial infarction. Hum. Genet. (1984). 65: 237-41.
- 56- TEDGUI A., CHAPMAN J.** Pathogénèse de l'athérosclérose: théories et mécanismes. (2004).
- 57- DAVIGNON J., COHN J.S., MABILE L., BERNIER L.** Apolipoprotein E and atherosclerosis: insight from animal and human studies. Clin.Chim. Acta. (1999). 286: 115-43.

- 58- GARNER B.** Structure Function Relationship of Apolipoprotein-E Oligosaccharides. (2002).
- 59- SOULIE K.** Apolipoprotéine E. These on line. (1998).
- 60- DONG L.M., PARKIN S., TRAKHANOV S.D., RUPP B AND AL.** Novel mechanism for defective receptor binding of apolipoprotein E2 in type III hyperlipoproteinemia. *Nat. Struct. Biol.* (1996). 3: 718-722.
- 61- NATHAN B.P., BELLOSTA S., SANAN D.A., WEISGRABER KH., MAHLEY R.W., PITAS R.E.** Differential effects of apolipoproteins E3 and E4 on neuronal growth in vitro. *Science.* (1994). 264: 850-2.
- 62- MAMOTTE C.D.S., STURM M., FOO J.I., VAN BOCKXMEER F.M., TAYLOR R.R.** Comparison of the LDL-receptor binding of VLDL and LDL from apoE4 and apoE3 homozygotes. *Am.J. Physiol.Endocrinol.Metab.* (1999). 276: 553-557.
- 63- GREGG R.E., ZECH L.A., SCHAEFER E.J., BREWER H.B.** Apolipoprotein E metabolism in normolipoproteinemic human subjects. *J.Lipid Res.* (1984). 25: 1167-76.
- 64- Eichner J.E., Dunn S.T., Perveen G., Thompson D.M., Stewart K.E., Stroehla B.C.** *Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a huGE review.* *Am J. Epidemiol.* (2002). 155: 487-495.
- 65- TREMBLAY., CAROLINE ET AL.** Implication de la synthèse de l'apolipoprotéine E par les cellules hépatiques sur les activités de liaison et de dégradation des lipoprotéines. Congrès Acfas. *Biochimie et biologie structurale.* (1998). S-101.
- 67- FAITH M., HARRIS., TESSEUR I., WALTER J., BRECHT AND AL.** Astroglial Regulation of Apolipoprotein E Expression in Neuronal Cells: Implications for Alzheimer's Disease. *JBC Papers in Press.* (2003).
- 68- BASU S.K., HO Y.K., BROWN M.S., BILHEIMER D.W., ANDERSON RGW., GOLDSTEIN J.L.** Biochemical and genetic studies of the apoprotein E secreted by mouse macrophages and human monocytes. *J Biol Chem.* (1982). 257: 9788-95.
- 69- SIEST G., PILLOT T., REGIS-BAILLY A ET AL.** Apolipoprotein E: an important gene and protein to follow in laboratory medicine. *Clin Chem.* (1995). 41(8): 1068-1086. **Pub Med | Google Scholar.**
- 70- MURAKAMI M., USHIO Y., MORINO Y., OHTA T., MATSUKADO Y.** Immunohistochemical localization of apolipoprotein E in human glial neoplasm's. *J Clin Invest.* (1988). 82: 177-88.
- 71- HALLMAN D.M., BOERWINKLE E., SAHA N AND AL.** The apolipoprotein E polymorphism: A comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am.J.Hum.Genet.* (1991). 49: 338-49.

- 72- RALL S.C., WEISGRABER K.H., INNERARITY T.L., MAHLEY R.W.** Structural basis for receptor binding heterogeneity of apolipoprotein E from type III hyperlipoproteinemic subjects. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* (1982). 79: 4696-700.
- 73- HIXSON J.E., VERNIER D.T.** Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J.Lipid Res.* (1990). 31: 545-8.
- 74- DAVIGNON J., GREGG R.E., SING C.F.** Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis.* (1988). 8(1): 1-21. **Pub Med | Google Scholar.**
- 75- BERGERON N., HAVEL R.J.** Prolonged postprandial responses of lipids and apolipoproteins in triglyceride-rich lipoproteins of individuals expressing an apolipoprotein epsilon 4 allele. *J Clin Invest.* (1996). Jan 1; 97(1): 65-72. **Pub Med | Google Scholar.**
- 76- WILSON P.F., MYERS R.H., LARSON M.G., ORDOVAS J.M., WOLF P.A., SCHAEFER E.J.** Apolipoprotein E alleles, dyslipidemia and coronary heart disease: the Framingham Offspring Study. *JAMA.* (1994). 272(21): 1666-1671. **Pub Med | Google Scholar.**
- 77- TSAI M.S., TANGALOS E.G., PETERSEN R.C ET AL.** Apolipoprotein E: risk factor for Alzheimer disease. *Am J. Hum Genet.* (1994). 54(4): 643-649. **Pub Med | Google Scholar.**
- 78- BERG K.** Gene-environment interaction: variability gene concept. In: GOLDBOURT U, DE FAIRE U, BERG K, eds. *Genetic factors in coronary heart disease.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. (1994). 373-83.
- 79- YAMANOUCHI Y., TAKANO T., HAMAGUCHI H., TOKUNAGA K.** A novel apolipoprotein E5 variant with a 24-bp insertion causing hyperlipidemia. *J Hum Genet* 11. (2001). 46: 633-9.
- 80- DAVIGNON J.** Apolipoprotéine E, une molécule polymorphe et pléiotrope: Rôle dans l'athérosclérose et au-delà. *Sang Thrombose et Vaisseaux.* (2002). 14: 107-120.
- 81- KNOUF C., HINSDALE M.E., MEZDOUR H., ALTENBURG M.K., WATANABE M., QUARFORDT S.H., SULLIVAN P.M., MAEDA N.** Apo E structure determines VLDL clearance and atherosclerosis risk in mice. *J Clin Invest.* (1999). 103: 1579-1586.
- 82- ZANNIS V.I., BRESLOW J.L.** Characterization of a unique human apolipoprotein E variant associated with type III hyperlipoproteinemia. *J.Biol.Chem.* (1980). 255: 1759-62.
- 83- HAVEL R.J.** Familial dysbetalipoproteinemia. New aspects of pathogenesis and treatment. *Med.Clin.North Amer.* (1982). 66: 441-54.
- 84- UTERMANN G., PRUIN N., STEINMETZ A.** Polymorphism of apolipoprotein E: III. Effect of a single polymorphic gene locus on plasma lipid levels in man. *Clin.Genet.* (1979). 15: 63-72.

- 85- MAHLEY R., RAIL S.** *Type III hyperlipoproteinemia: the role of apolipoprotein E in normal and abnormal lipoprotein metabolism.* Editions Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D. The metabolic basis of inherited disease, T edition. New York, McGraw Hill. (1995). 1953-1980.
- 86- ORCHARD T.J., EICHNER J., KULLER L.H., BECKER D.J., MCCALLUM L.M., GRANDITS G.A.** Insulin as a predictor of coronary heart disease: interaction with apolipoprotein E phenotype. A report from the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Ann Epidemiol.* (1994). 4: 40-45.
- 87- WILSON P.W., SCHAEFER E.J., LARSON M.G., ORDOVAS J.M.** Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* (1996). 16: 1250-1255.
- 88- SONG Y., STAMPFER M., LIU S.** Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med.* (2004). 141: 137-147.
- 89- RESNICK H.E., RODRIGUEZ B., HAVLIK R AND AL.** Apo E genotype, diabetes, and peripheral arterial disease in older men: The Honolulu Asia-Aging study. *Genet. Epidemiol.* (2000). 19: 52-63.
- 90- LL., AND AL.** Apolipoprotein E: laboratory determination and clinical significance. In *Laboratory measurement of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins.* N Rifai and GR Warnick, eds. Washington AACC Press. (1994). 279-304.
- 91- STEIN E.A., MYERS G.L.** National cholesterol education program recommendations for triglyceride measurement: Executive summary. *Clin.Chem.* (1995). 41/10: 1421-1426.
- 92- ARCOL/SFBC.** Commissions Standardisation lipides - lipoprotéines: L'église D. Recommandations pratiques pour le dosage du cholestérol -HDL après précipitation par le phosphotungstate de sodium et le chlorure de magnésium. *Option/Bio.* (1996). Suppl 172/49: 1-8.
- 93- MASSON D., MAINARD F., AUGET J.L., CHIVOT L.** Effect of precipitation and centrifugation conditions on high density lipoprotein cholesterol measured with phosphotungstate-Magnesium reagent. *Clin.Chem.* (1992). 38/1: 148.
- 94- LIPPI U., GRAZIANI M.S., MANZATO F., SCHINELLA M.** The Friedewald formula: Statistical acrobatics? *Clin.Chem.* (1986). 32/5: 909-910.
- 95- FRIEDEWALD W.T., FREDRICKSON D.S.** Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol without use of the preparative ultracentrifugation *Clin.Chem.* (1972). 18: 499-502.
- 96- VALDIGUIE P.** *Biochimie Clinique. Médicales internationales.* 2eme édition. Paris. (1995).
- 97- MILLER S.A., DYKES D.D., POLESKY H.F.** A simple salting-out for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* (1988). 16: 12-15.



- 98- RICHARD P., GINETTE THOMAS., MARIA PASCUAL DE ZULUETA., ET AL.** Common and Rare Genotypes of Human ApolipoproteinE determined by Specific Restriction Profiles of Polymerase Chain Reaction-Amplified DNA. *Clin. Chem.* (1994). 40/1, 24-29.
- 99- FRANOIS D., DRUCKER J., MOREN A.** *Epidémiologie d'intervention* Editions Arnette. (1992). 589 pages.
- 100- ALTMAN D.G.** Intervalles de confiance: Indications du degré de certitude des résultats de recherches EBM *Journal.* (1996). 5-6.
- 101- TUNSTALL-PEDOE H., SMITH W.C.S.** Cholesterol as a risk factor for coronary heart disease. *Br.Med.Bulletin.* (1990). 46/4: 1075-1087.
- 102- VERSCHUREN M., JACOBS D., BLOEMBERG B ET AL.** serum total cholesterol and long term coronary heart disease mortality in different cultures. 25 year follow-up of the seven countries study. *JAMA.* (1995). 274: 131-136.
- 103- MEDIENE-BENCHEKOR S., BROUSSEAU T., RICHARD F., BENHAMAMOUCHE S. AND THE ECTIM STUDY GROUP.** Blood lipid concentrations and risk of myocardial infarction. *The Lancet.* (2001). 358: 1064-1065.
- 104- MOROZOVA S., SUC-ROYER I., AUWERX J.** Modulateurs du métabolisme du cholestérol et avenir du traitement de l'athérosclérose. *Pub Med.* (2004). 20 N°6-7 p 685-690.
- 105- FARNIER M., DALLONGEVILLE J.** lipids ET lipoproteins. *Pub Med.* (2004). 371: 30-36.
- 106- ABERG H., LITHELL H., SELINUS I., HEDSTRAND H.** Serum triglyceride are a risk factor for myocardial infarction but not for angina pectoris: Result from a 10 year Follow-up of Uppsala Primary Preventive Study Atherosclerosis. (1985). 54: 89-97.
- 107- HOBBS G.A., WAGNER S.G., LEVINSON S.S.** Relation between triglycerides, lipoproteins, glucose and coronary artery disease. *Clin.Chim.acta.* (1995). 238: 59-70.
- 108- SAILE R ET AL.** Dyslipidémies et athérosclérose: aspects clinique et physiopathologique. (2006).
- 109- YOSHIYUKI S., KATSUYUKI M., YUKO M., MUNeko N., YUMIKO N., YUCHI NARUSE., SADANOBU K., AND HIDEAKI N.** High-Density Lipoprotein Cholesterol and Risk of Stroke in Japanese Men and Women. The Oyabe Study. *Stroke.* (2003). 34: 920-0293.
- 110- CORTI M.C., GURALNIK J.M., SALIVE M.E., HARRIS T., FIELD T.S., WALLACE R B., BERKMAN L.F., SEEMAN T.E., GLYNN R.J., AND HENNEKENS C.H.** HDL cholesterol predicts coronary heart disease mortality in older persons. *JAMA.* (1995). 274: 539-544.
- 111- CURB J.D., ROBERT D., ABBOTT., BEATRIZ L., RODRIGUEZ ET AL.** High Density Lipoprotein Cholesterol and the Risk of Stroke in Elderly Men. The Honolulu Heart Program. *Am J Epidemiol.* (2004). 160: 150-157.

- 112- GORDON D.J., PROBSTFIELD J.L., GARRISON R.J ET AL.** High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease: four prospective American studies. *Circulation*. (1989). 79: 8-15.
- 113- AUSTIN M., HOKANSON J., BRUNZELL D.** Characterization of low-density lipoprotein subclasses: methodologies approaches and clinical relevance. *Current Opinion in lipidology*. (1994). 5: 395-403.
- 114- KRAUSS R.M.** Heterogeneity of plasma low-density lipoproteins and atherosclerosis risk. *Curr Opin Lipidol*. (1994). 5: 339-149.
- 115- McNAMARA J., ORDOVAS J.M., PETERSON J.** Effect of gender, age, and lipid status on low density lipoprotein subfraction distribution. Results from the Framingham Offspring Study. *American Heart Association*. (1987). 7: 483-490.
- 116- FARNIER M., DALLONGEVILLE J.** lipides et lipoprotéines. *Pub Med*. (2006). 391: 32-38.
- 117- ABADI N.** Contribution à l'étude des lipides dans la population de référence de la ville de Constantine et les maladies cardio-vasculaires. Thèse. (1998).
- 118- WINISZEWSKI P., PINGET M.** Obésité: épidémiologie, étiologie, diagnostic, évolution et pronostic, traitement. *La revue du praticien*. (1991). 41/7: 651-656.
- 119- ERICA RESEARCH GROUP.** The CHD risk-MAP of Europe: the 1st report of the who-Erica project. *European Heart J*. (1988). 9 (Suppl.I) 1-36.
- 120- ROSENBAUM M., LEIBEL R.L., HIRSCH J.** Obesity *New Engl.J.Med*. (1997). 337/6: 396-397.
- 121- DUJARDIN J.J., CAMBOU J.P.** Epidemiology of myocardial infarction. *EMC Cardiologie Angéologie*. (2005). 2: 375-387.
- 122- MEDDOUR S.E.** Insuffisance coronaire en milieu hospitalier. Etude des facteurs de risque « classiques » et étude liés à l'environnement. Thèse de doctorat en sciences médicales.
- 123- Groupe de travail OMS/MNH sur les AVC et autres affections cérébrales** Rapport de l'organisation mondiale de la santé: AVC/STROKE Recommandations pour la prévention, le diagnostic et le traitement des accidents vasculaires cérébraux Expansion scientifique Française.
- 124- SABRY M., BENYASS A., LAKHAL Z., RAISSOUNI M., KENDOUSI M., MOUSTAGHFIR A., ZBIR M., HDA A., BOUKILI A., HAMANI A.** Infarctus du myocarde chez le diabétique Présentation d'une série de 85 patients diabétiques comparée à 106 patients non diabétiques. *Presse Med*. (2006). 35: 207-11.
- 125- GOLAY A.** Are postprandial triglyceride and insulin abnormalities neglected cardiovascular risk factors in type 2 diabetes? *Eur J Clin Invest*. (2000). 30: 12-18.

- 126- YUSUF S., HAWKEN S., OUNPUU S.** pour le groupe des investigateurs INTERHEART. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study, Étude cas-témoin de l'impact des facteurs de risque modifiables sur l'infarctus du myocarde dans 52 pays (INTERHEART). *Lancet*. (2004). 364: 937-52.
- 127- SIMON A., SEGOND P., GIARD A.M., DEMURE B ET AL.** Diagnostic précoce de l'athérosclérose silencieuse et dépistage des facteurs de risque cardiovasculaire *La Presse Médicale*. (1993). 22 /22: 1033-1038.
- 128- NEATON J.D., KULLER L., WENTWORTH D., BORHANI N.O.** Total and cardiovascular mortality in relation to cigarette smoking, and diastolic blood pressure among black and white males followed up for five years. *Am. Heart J.* (1984). 108: 759-769.
- 129- DONNAN G.A., YOU R., THRIFT A., MAC NEIL J.** Smoking as a risk factor for stroke. *Cerebrovasc.Dis.* (1993). 3: 129-138.
- 130- TEO K.K., OUNPUU S., HAWKEN S., PANDEY M.R., VALENTEN V., HUNT D., DIAZ R., RASHED W., FREEMAN R., JIANG L., ZHANG X., YUSUF S.** INTERHEART Study Investigators. Tobacco use and risk of myocardial infarction in 52 countries in the INTERHEART study: a case-control study. *Lancet*. (2000). 368: 647-58.
- 131- TAYLOR C.B., JATULIS D., FORTMAN S.P., KRAEMER H.C.** Weight variability effects: A prospective analysis from the Stanford five city Project *Am.J.Epidemiol.* (1995). 141/5: 461-465.
- 132- LENZEN H.J., ASSMANN G., BUCHWALSKY R., SCHULTE H.** Association of apolipoprotein E polymorphism, low-density lipoprotein cholesterol and coronary artery disease. *Clin Chem.* (1986). 325: 778-81.
- 133- KUMAR P., LUTHRA K., DWIVEDI M., BEHL V.K ET AL.** Apolipoprotein E gene polymorphisms in patients with premature myocardial infarction: A case-controlled study in Asian Indians in North India. *Ann. of Clini Bioch.*4. (2003). 40: 382.
- 134- ATTLA G., ACARTURK E., ESKANDARI G., AKPINAR O ET AL.** Effects of apolipoprotein E genotypes and other risk factors on the development of coronary artery disease in Southern Turkey. *Clin Chim Acta.* (2001). 312: 191.
- 135- LAHLALI N.K., BAMOU., GUEDIRA A., HASSANI M., VISVIKIS S., SIEST G., ALAMI N.** Polymorphisme de l'apolipoprotéine E dans une population marocaine: fréquence allélique et relation avec les paramètres lipidiques plasmatiques *Annal. De Biol.Clin.* (2002). 601: 73-8.
- 136- GERDES L.U., KLAUSEN I.C., SIHM I., FÆRGEMAN O.** Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 other study populations around the world. *Genet. Epidemiol.* (1992). 9: 155-67.
- 137- DALLONGEVILLE J.** Apolipoprotéine E: propriétés physiologiques, polymorphisme et athérosclérose. *Sang Thromboses Vaisseaux.* (1993). 5: 707-17.

- 138- ETO M., WATANABE K., MAKINO I.** Increased frequencies of apolipoprotein epsilon 2 and epsilon 4 alleles in patients with ischemic heart disease. *Clin.Genet.* (1989). 36: 183-8.
- 139- BAHRI R., ESTEBAN E., MORAL P., HASSINE M., BEN HAMDA K., CHAABANI H.** Apolipoprotein gene polymorphisms and plasma levels in healthy Tunisians and patients with coronary artery disease. *Lipids in health and disease* **7**. (2008).
- 140- UTERMANN G.** Apolipoprotein E (Role in lipoprotein metabolism and pathophysiology of hyperlipoproteinemia type III). *Ric.Clin.Lab.* (1982). 12: 23-33.
- 141- DALLONGEVILLE J., LUSSIER-CACAN S., DAVIGNON J.** Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: A meta-analysis. *J.Lipid Res.* (1992). 33: 447-54.
- 142- KOFLER B.M., MILES E.A., CURTIS P., ARMAH C.K., TRICON S., GREW J., NAPPER F.L., FARRELL L., LIETZ G., PACKARD C.J., CASLAKE M.J., MATHERS J.C., WILLIAMS C.M., CALDER P.C., MINIHANE A.M.** Apolipoprotein E genotype and the cardiovascular disease risk phenotype: Impact of sex and adiposity (the FINGEN study). *Atherosclerosis.* (2012). 221: 467-470.
- 143- TOLOSA M., PEIRO S., REAL J.T., CANO A., ASCASO J.F., CARMENA R.** The influence of apo E phenotypes on the plasma triglycerides response to hormonal replacement therapy during the menopause. *Maturitas* 2. (2001). 40: 173-81.
- 144- GAMBOA R ET AL.** Influence of the apolipoprotein E polymorphism on plasma Lipoproteins in a Mexican Population. *Human biology.* ProQuest Medical Library. (2001). 736: 835.



***Annexe***

## Annexe : Le questionnaire:

### Polymorphisme de l'Apo E :

Nom : ..... Prénom..... Sexe :

Age :  Poids :  Taille :  Tour de taille :

Situation familiale Marié (e) :  Célibataire :  Autre :

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

Fonction : .....

Origine ethnique :  A  C  K  M

Autres : .....

Fumeur :  Oui  Non Nbre/J :  Café :  Nbre/J :

Chique:  Alcool :

Tension artérielle :  Oui  Non Systolique :  Diastolique :

Contraceptifs :  Oui  Non Types de contraceptifs : .....

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

Diagnostic : .....

Examens complémentaires : .....

Traitements : .....

Chol : ..... TG : ..... Glycémie : .....

Autre : .....

## Résumé :

Plusieurs facteurs de risque biologiques et génétiques sont associés à l'infarctus du myocarde. Parmi les facteurs de risque primaires, les dyslipidémies constituent un facteur de risque majeur.

L'objectif de cette étude est de déterminer le polymorphisme de l'Apo E dans la population générale de Constantine et dans l'IDM ainsi que son impact sur les concentrations des lipides sanguins et les facteurs de risque de la maladie cardiovasculaire.

Les fréquences alléliques de l'apoE dans notre population sont  $\epsilon_3$  (87.4%),  $\epsilon_4$  (7.1%) et  $\epsilon_2$  (5.5%). Le génotype de référence  $\epsilon_3/\epsilon_3$  est le plus fréquent (76.4%) suivi de loin par  $\epsilon_3/\epsilon_4$  (13.9%),  $\epsilon_2/\epsilon_3$  (8.3%),  $\epsilon_2/\epsilon_2$  (1.4%) respectivement.

Notre résultats mettent en évidence une influence des génotypes de l'apo E sur les concentrations des lipides plasmatique, indiquant l'effet protecteur de l'allèle  $\epsilon_2$ , et l'effet délétère de l'allèle  $\epsilon_4$  et sa contribution comme facteur de risque dans les maladies cardiovasculaires.

**Mots clés:** Apo E, Athérosclérose, IDM, polymorphisme.

## **Abstract:**

Many biological and genetic risk factors are associated with the myocardial infarction (MI), among which the dyslipidemia constitutes a major risk.

The objective of this study is to determine the Apo E polymorphism repartition in Constantine population and in myocardial infarction (MI) patients and their impact on lipid parameters with the other risk factors of cardiovascular disease.

The apoE allele frequencies in our population were  $\epsilon 3$  (87.4%),  $\epsilon 4$  (7.1%) and  $\epsilon 2$  (5.5%). The genotype  $\epsilon 3/\epsilon 3$  is the most frequent (76.4%) followed by  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (13.9%),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (8.3%),  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (1.4%) respectively.

Our results demonstrate an influence of apo E alleles on serum lipids concentrations and indicate a deleterious effect of  $\epsilon 4$  allele and a protector effect of  $\epsilon 2$  allele in cardiovascular disease.

**Key words:** Apo E, Atherosclerosis, MI, polymorphism.



## ملخص:

يعتبر مرض احتشاء القلب محصلة للعديد من العوامل البيولوجية و الوراثة. و من بين هذه العوامل تمثل الليبيدات (الدهون) ضابط أساسي لحدوث هذا المرض.

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الأنماط الوراثة الناتجة عن التغير الجيني للبروتين الشحمي في عينة من سكان قسنطينة و في فئة من مرضى احتشاء القلب و تعيين أثره على تركيز الدسم المصلية و العوامل المعرضة للإصابة بالأمراض الوعائية القلبية.

أوضحت نتائج الدراسة أن توزيع نسب المورثات في عينة السكان هم كالتالي :  $\epsilon 3$  (87.4%),  $\epsilon 4$  (7.1 %) و  $\epsilon 2$  (5.5 %) وهي تشكل اختلافا ذو دلالة سواء في عينة السكان نفسها أو بين عينة السكان و فئة المرضى. النمط الوراثي العادي  $\epsilon 3/\epsilon 3$  هو الأكثر تواجد في العينات المدروسة (76.4%) متبوعا ب  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (13.9%),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (8.3 %) و  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (1.4%) على التوالي.

خلصت دراستنا انه بالإضافة إلى العوامل الأخرى المعرضة للإصابة بالأمراض الوعائية القلبية يشكل التغير الجيني للبروتين الشحمي أثرا على اختلاف النسب الشحمية المصلية حيث يشكل الاليل  $\epsilon 4$  عاملا معرضا للإصابة بالمرض في حين يشكل الاليل  $\epsilon 2$  عاملا حاميا منها.

**الكلمات الدالة :** التغير الجيني، احتشاء القلب، تصلب الشرايين، Apo E.

<b>Nom et Prénom :</b> KEDDACHE RAHIMA                      LADJEL AMINA	<b>Date de soutenance :</b> 30/06/2015
<b>TITRE :</b> Etude de l'influence du polymorphisme de l'apoprotéine E sur les paramètres lipidiques dans les infarctus du myocarde.	
<b>NATURE DU DIPLOME :</b> Master en Analyse Protéomique et Santé	
<b>RESUME :</b>  <p>Plusieurs facteurs de risque biologiques et génétiques sont associés à l'infarctus du myocarde. Parmi les facteurs de risque primaires, les dyslipidémies constituent un facteur de risque majeur.</p> <p>L'objectif de cette étude est de déterminer le polymorphisme de l'Apo E dans la population générale de Constantine et dans l'IDM ainsi que son impact sur les concentrations des lipides sanguins et les facteurs de risque de la maladie cardiovasculaire.</p> <p>Les fréquences alléliques de l'apoE dans notre population sont <math>\epsilon 3</math> (87.4%), <math>\epsilon 4</math> (7.1%) et <math>\epsilon 2</math> (5.5%). Le génotype de référence <math>\epsilon 3/\epsilon 3</math> est le plus fréquent (76.4%) suivi de loin par <math>\epsilon 3/\epsilon 4</math> (13.9%), <math>\epsilon 2/\epsilon 3</math> (8.3%), <math>\epsilon 2/\epsilon 2</math> (1.4%) respectivement.</p> <p>Notre résultats mettent en évidence une influence des génotypes de l'apo E sur les concentrations des lipides plasmatique, indiquant l'effet protecteur de l'allèle <math>\epsilon 2</math>, et l'effet délétère de l'allèle <math>\epsilon 4</math> et sa contribution comme facteur de risque dans les maladies cardiovasculaires.</p>	
<b>Mots clés :</b> Apo E, Athérosclérose, IDM, polymorphisme.	
<b>Laboratoire de recherche :</b> Laboratoire de Biologie et Génétique moléculaire CHUC	