



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 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

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

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie moléculaire et santé

Intitulé :

Etude de polymorphisme de l'apoprotéine E dans les artériopathies oblitérantes des membres inférieurs chez une population constantinoise

Présenté et soutenu par :

- HAMMIA Souad
- NEGHCHE Nor El Houda

Le : 21/06/2017

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mr. Pr. NECIB Y. (Professeur - UFM Constantine1)
Rapporteur : Mr. KHODJA DJ. (Maitre de conférences Université Constantine 3).
Examineur : Mr. Pr. ATTALAH S. (Professeur - UFM Constantine1).

Année universitaire
2016 - 2017

Remerciements

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

Nous tenons à remercier particulièrement et avec gratitude notre encadreur Mr KHODJA Djamel, maître de conférence à l'université Constantine 3, pour sa disponibilité et ses conseils durant toute la période de ce travail.

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

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

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

Un grand merci au personnel du laboratoire, en particulier Mr BOULAKROUN Zouheir pour leurs aides et conseils.

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

Dédicace

Avec l'aide de Dieu le tout puissant qui m'a éclairé les chemins du savoir, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie à

Mes très chers parents

Avec tout mon amour, ma tendresse et mon estime, je n'arriverai jamais à leurs rendre ce qu'ils ont fait pour moi. Que Dieu vous protège.

Mes chères sœurs et mon frère

Pour tout l'amour qu'ils m'apportent et leur soutien.

Mes chères amies

Pour leurs encouragements.

SOUAD

Dédicace

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

À mon cher 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.

À ma très chère mère

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.

À mes sœurs hala et lamis et mon frère Hachem

Avec tout mon amour et toute ma tendresse.

À ma tante zahia

Pour son soutiens et ses encouragements

À ma famille

À mes chères amies souad ,ahlam , rayene

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

Nor el houda

Sommaire

pages

I. Introduction.....	01
II. Etude bibliographique.	

CHAPITRE 1 : Artériopathie oblitérante des membres inférieurs AOMI

1.1. Définition des maladies cardiovasculaire.....	03
1.2. Historique de l'AOMI.....	03
1.3. Définition de l'AOMI.....	03
1.4. Épidémiologie	03
1.5. Développement de l'AOMI.....	04
1.6. Classification.....	05
1.7. Facteurs de risque.....	06

CHAPITRE 2 :L'athérosclérose

2.1 Historique.....	08
2.2 Définition.....	08
2.3 Épidémiologie.....	08
2.4 Structure de la paroi vasculaire.....	09
2.5 Formation de la plaque d'athérome.....	10

CHAPITRE 3 : les lipoprotéines et les Apo lipoprotéine

3.1 Les lipoprotéines.....	13
3.1.1 Généralité.....	13
3.1.2 Classification et nomenclature des lipoprotéines.....	14
3.1.3 Rôle physiopathologique des lipoprotéines.....	15
3.1.4 Métabolisme des lipoprotéines.....	15
3.2 Les Apo lipoprotéines.....	18
3.2.1 Généralité.....	18
3.2.2 Rôle des Apo lipoprotéines.....	18
3.2.3 Classification	18
3.2.4 Distribution tissulaire des apolipoprotéines.....	19

CHAPITRE 4 : polymorphisme de l'Apo lipoprotéine E

4.1 Définition du polymorphisme.....	20
4.2 Définition de l'apolipoprotéine E.....	20
4.3 Gène de l'Apo E.....	20
4.4 modification poste traductionnelle de l'Apo E.....	21
4.5 Structure de l'Apo E.....	22
4.6 Polymorphisme de l'Apolipoprotéine E.....	23
4.7 Biosynthèse et distribution tissulaire.....	25
4.8 Récepteur de l'Apo E.....	25
4.9 Polymorphisme de l'Apo E, les lipoprotéines et l'athérosclérose.....	26
4.10 Le polymorphisme de l'apo E et les facteurs de risque.....	27

III. Partie pratique

Chapitre 1 : Moyens et méthodes

1. Moyens.....	29
1.1.Population de référence.....	29
1.1.1. Critères d'inclusion pour les malades.....	29
1.1.2. Critères d'inclusion pour les témoins.....	29
1.1.3. Critères d'exclusion pour les témoins.....	30
1.2.Fréquence de la population témoin et malades.....	30
1.2.1. Les sujets témoins.....	30
1.2.2. Les artériopathies oblitérantes des membres inférieurs (AOMI).....	31
1.2.2.1.Diagnostique.....	31.
1.2.2.2.Répartition des AOMI selon le sexe et l'âge.....	31
2. Méthodes	
2.1.Méthodes de dosage des paramètres lipidiques.....	33
2.1.1. Dosage du cholestérol.....	33
2.1.2. Dosage des triglycérides.....	33
2.1.3. Dosage du cholestérol HDL.....	33
2.1.4. Evaluation du cholestérol des LDL.....	34
2.2.Extraction de l'ADN.....	35
2.2.1. Principe.....	35
2.2.2. Prélèvement du sang.....	35
2.2.3. Etape d'extraction d'ADN.....	36

2.2.3.1.Préparation des leucocytes	36
2.2.3.2.Extraction de l'ADN.....	36
2.2.3.3.Solubilisation	37
2.2.3.4.Dosage des acides nucléiques.....	37
2.3.Détermination du polymorphisme de l'apo E.....	38
2.3.1. Amplification d'ADN par réaction de polymérisation (PCR).....	39
2.3.1.1. Préparation du milieu réactionnel (ou Mix) de PCR.....	40
2.3.1.2.Les Cycles de PCR.....	41
2.3.2. Visualisation de l'amplification.....	41
2.3.3. Digestion du gène de l'apo E amplifié par l'enzyme de restriction Hha I.....	42
2.3.4. Visualisation des produits de la digestion.....	44
2.4.Statistique descriptive.....	46
2.5.Calcul de l'odds ration.....	46
2.6.Les intervalles de confiance.....	47

Chapitre2 : Résultats et discussions

1 Comparaison des moyennes des paramètres lipidique dans les AOMI et les témoins.....	49
1.1 Comparaison des moyennes du cholestérol totale dans les AOMI et Témoins.....	49
1.2 Comparaison des moyennes des TG dans les AOMI et témoins.....	50
1.3 Comparaison des moyennes de l'HDL-cholestérol dans les AOMI et Témoins.....	51
1.4 Comparaison des moyennes de l'LDL-cholestérol dans les AOMI et Témoins.....	53
2 Prévalence des différents facteurs de risques dans les AOMI.....	54
3 Fréquences génotypiques de l'apoE dans La population témoin et dans les AOMI	57
3.1 Fréquences génotypiques de l'apoE dans la population témoin.....	57
3.2 Fréquences génotypiques de l'apoE dans les AOMI.....	58
4 Fréquences alléliques de l'apoE dans la population témoin et dans les AOMI.....	59
4.1.Fréquences alléliques de l'apoE dans la population témoin.....	59
4.2.Fréquences alléliques de l'apoE dans les AOMI.....	60

5	Impact du génotype de l'apoE sur les paramètres lipidiques chez les porteurs des E2/E3, E3/E4 et E3/E3.....	61
5.1	Cholestérol et LDL-cholestérol.....	61
5.2	Les triglycérides TG.....	62
5.3	Le Cholestérol HDL.....	63
6	Calcul des odds ratio des sujets présentant une AOMI ayant un allèle ε4 et un allèle ε2 par rapport aux témoins ayant un génotype E3/E3.....	63
IV.	Conclusion.....	65
	Références bibliographiques	
	Annexes	
	Résumé	

Liste des tableaux :	pages
Tableau 1 : la nouvelle classification de l'AOMI.....	5
Tableau 2: Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines Plasmatiques humaines.....	14
Tableau 3 : Classification selon le contenu en apolipoprotéines.....	19
Tableau 4: Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonctions des principales apolipoprotéines humaines d'après Toussaint et al. 2004.....	19
Tableau5: les principaux récepteurs de l'apoE dans les différents tissus.....	26
Tableau 6 : Répartition de la population d'étude.....	29
Tableau 7: Répartition des sujets témoins selon l'âge et le sexe.....	30
Tableau 8: Répartition des AOMI selon l'âge et le sexe.....	32
Tableau9 : les composantes de Mix.....	40
.	
Tableau 10 : Tailles des fragments de restriction en paire de base (Pb) Correspondants aux six génotypes possibles (3 homozygotes et 3 hétérozygotes).....	45
Tableau 11 : comparaison des moyennes de cholestérol, dans les AOMI et chez les témoins selon le sexe.....	49
Tableau 12_: comparaison des moyennes de triglycérides, dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.....	50

Tableau 13 : comparaison des moyennes de HDL-C, dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe	52
Tableau 14 : comparaison des moyennes de LDL-C, dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.....	53
Tableau 15 : Prévalence des facteurs de risque dans les AOMI.....	54
Tableau 16 : fréquences génotypiques de l'Apo E dans les AOMI et dans la population témoins.....	57
Tableau 17 : Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population témoin et dans les AOMI.....	59
Tableau 18 : Fréquences alléliques de l'Apo E dans différentes populations.....	59
Tableau 19 : impact du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez Les porteurs d' e_2/e_3 , e_3/e_4 et e_3/e_3	61
Tableau 20 : Calcul des odds ratio des sujets malades (AOMI) ayant un allèle e_4 par rapport aux témoins ayant un génotype e_3/e_3	64

Liste des figures :	pages
Figure 1 : les artères responsable de la vascularisation des membres inferieurs.....	4
.	
Figure 2 : structure de la paroi artérielle.....	9
.	
Figure 3 : Formation de la plaque d'athérome.....	10
Figure4 : Structure générale d'une lipoprotéine.....	13
Figure 5 : les différentes classes des lipoprotéines.....	14
Figure 6 : Vue d'ensemble du métabolisme des lipoprotéines.....	17
Figure 7 : Localisation cytogénétique du gène de l'Apo E sur le chromosome 19.....	21
Figure 8: Positions exons –introns dans le gène d'Apo E.....	21
Figure 9 : Structure des différents domaines de l'Apo E.....	23
Figure 10: Polymorphisme de l'Apo E.....	24
Figure 11 : Les mutations du gène de l'Apo E aux positions 112 et 158.....	24
Figure 12 : répartition de la population d'étude.....	29
Figure 13: Répartition des sujets témoins selon l'âge et le sexe.....	31
Figure 14 : Répartition des AOMI selon l'âge et le sexe.....	32
Figure 15: évolution de l'AOMI selon l'âge et le sexe.....	32

Figure 16: profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% des fragments amplifiés (292pb) par PCR.....	42
Figure 17 : site de restriction par l'enzyme HhaI.....	43
Figure 18 : Digestion par Hha I des trois allèles.....	43
Figure 19: Profil d'électrophorèse sur gel d'acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI présentant différents génotypes d'Apo E.....	46
Figure 20 : comparaison des moyennes du cholestérol dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.....	49
Figure 21 : comparaison des moyennes des triglycérides dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.....	51
Figure 22 : comparaison des moyennes des HDL-C dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.....	52
Figure 23 : comparaison des moyennes des LDL-C dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.....	53
Figure 24 : Prévalence des facteurs de risque dans les AOMI.....	55
Figure 25: Fréquences génotypiques de l'Apo E dans les AOMI et dans les témoins.....	58
Figure 26: Fréquences alléliques de l'apoE dans la population de Constantine et dans les AOMI.....	60
Figure 27: impact du génotype de l'Apo E sur le cholestérol et C _{LDL} chez Les porteurs de : e ₂ /e ₃ , e ₃ /e ₄ et e ₃ /e ₃	61

Figure 28: impact du génotype de l'Apo E sur les triglycérides chez Les porteurs de :
e2/e3, e3/e4 et e3/e3.....**62**

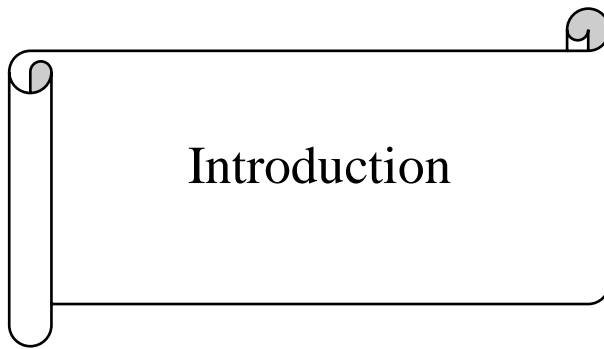
Figure 29 : impact du génotype de l'Apo E sur les triglycérides chez Les porteurs de :
e2/e3, e3/e4 et e3/e3.....**63**

Abréviations

AG :	Acide gras
ARNm :	ARN messenger
AVC :	Accident Vasculaire Cérébral
AOMI:	Artériopathie oblitérante des membres inférieurs
ACAT:	Acyl-CoA Cholesterol acyl Transferase
APP :	Amyloïde Protein Precursor.
ABCA1 :	ATP-binding cassette
Arg:	Arginine
BBP :	Bleu de bromophenol
BET :	Bromure d'etidium
bp:	Paire de base
CML :	Cellule Musculaire Lisse
CE :	Cholestérol estérifié
CL :	Cholestérol libre
CM :	Chylomicrons
CETP :	Cholesteryl-ester transfer protein
Cys :	Cystéine
DO:	Densité optique
DNID :	Diabete non insulin dependant
DNF :	Dégénérescences neurofibrillaires
DTA :	Démence de type Alzheimer
DMSO:	Dimethyl sulfoxide
EDTA:	Ethylene diamine tetra-acetic acid
E D H F:	Endothelium derived hyperpolarizing factor
EC:	Esters de cholestérol
FHS:	Framangham Heart study
Glu:	Glutamate
GM-CSF:	Granulocyte- macrophage colony -stimulating factor
GP:	Glycerol phosphate
HDL :	Lipoprotéine de haute densité (High-density lipoprotein)
HDL-C :	Cholestérol véhiculé par les HDL
HLP :	Hyperlipoprotéinémies

HMG-CoA:	Hydroxy-méthylglutaryl-coenzyme A
HTA:	Hypertension artérielle
IL-1 :	Interleukine 1
IFN γ :	Interferon γ
ICAM-1 :	Inter Cellular Adhesion Molecule-1
IDL :	Lipoprotéine de densité intermédiaire
IDM :	Infarctus du myocarde
IMC :	Indice de masse corporelle
LDL :	Lipoprotéine de faible densité (low-density lipoprotein)
LDLc :	Cholesterol LDL
LH :	Lipase hépatique
LDLR :	Récepteur des LDL
LCAT:	Lecithin cholesterol-acyl transférase
LPL :	Lipase lipoprotéique
Lp(a) :	Lipoprotéine(a)
Lp :	Lipoprotéine.
LRP:	LDL receptor-related protein
LCR :	Liquide céphalorachidien
MCP-1:	Monocyte chemotactic protein-1
M-CSF:	Monocyte-colony stimulating factor
MCV:	Maladie cardiovasculaire
MG:	Monoglyceride
MMP:	Matrix metallo protéinases
NCEP:	National Cholesterol Education Program
NO:	Monoxyde d'azote
PAF-AH:	Platelet Activation Factor acetylhydrolase
PDGF:	Platelet derived growth factor
PLTP :	Protéine de transfert des phospholipides (phospholipid transfer protein
PL:	Phospholipids
PHF:	Paired helical filaments
RFLP :	Restriction fragment length polymorphism
SR-B1:	Scavenger receptor type B1
SDS:	Sodium dodecyl sulfate

SMC:	Cellule Musculaire Lisse (smooth muscular cellular)
TE:	Tris EDTA
TBE:	Tris borate EDTA
TNF:	Tumor Necrosing Factor
TG:	Triglyceride
VCAM-1:	Vascular Cell Adhesion Molecule-1
VLDL:	Very low density lipoprotein
VLDLR:	Récepteur des VLDL



Introduction

INTRODUCTION

Apolipoprotéine E est une glycoprotéine, ayant un poids moléculaire de 34 k Da situé sur le chromosome 19, elle est présente dans toutes les lipoprotéines. Elle est synthétisée majoritairement au niveau du foie, elle est multifonctionnelle jouant notamment un rôle clé dans le métabolisme des lipoprotéines. (1)

Les causes génétiques sont diverses et au sein d'une population coexistent à la fois des mutations dites causales, Le gène de l'apo E est polymorphique, l'expression phénotypique de ce polymorphisme est associée à des variations des concentrations lipidiques et une diminution de son pouvoir anti-athérogène qui est indépendant de son effet sur les lipides sanguins. (2)

Les complications de l'athérosclérose représentent une cause majeure de mortalité et de morbidité dans le monde .L'athérosclérose restant sans traitement étiologique spécifique, la correction de ses facteurs de risque est actuellement le meilleur moyen de lutter contre cette maladie. (3)

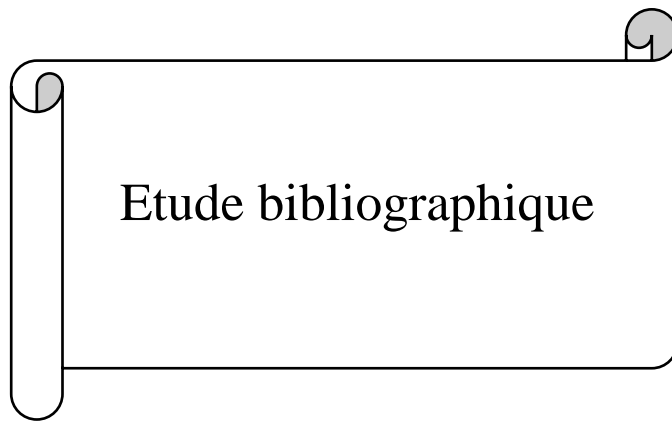
Les maladies cardiovasculaires (MCV) sont, les maladies qui touchent de plus les populations des pays développés. Elles sont la cause principale des décès. (2) Et parmi les MCV les plus fréquents en constatent l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI) qui définit par une. Manifestation locale d'une maladie générale qu'est l'athérosclérose.

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. (4)

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 l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs).

- 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.



Etude bibliographique

1. l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs AOMI

1.1 Définition des maladies cardiovasculaires

Les maladies cardiovasculaires regroupent une catégorie d'accidents variés(5), ce sont des pathologies affectant le cœur, et les vaisseaux (artères et veines) de l'organisme. Elles sont classées aux premières places des causes de décès dans le monde et en particulier dans les pays industrialisés (6, 7, 8,9)

Il existe quatre types des maladies cardiovasculaires, infarctus de myocarde IDM, accident vasculaire cérébrale AVC, angine de poitrine et l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs AOMI.

1.2 Historique de l'AOMI

La claudication intermittente, conséquence de l'artériopathie a été reconnue pour la première fois chez le cheval en 1831 (10) et chez l'homme en 1846 (11) la maladie a été décrite par Jean-Martin Charcot dans une publication datée le 1858 (12).

1.3 Définition de l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs AOMI

L'artérite (artériopathie) des membres inférieurs est une des expressions de l'athérosclérose lorsqu'elle touche les artères destinées à la vascularisation des membres inférieurs (aorte terminale, iliaques, fémorales, poplitées, artères jambières) , et elle a été définie par la HAS en 2006 comme un « Rétrécissement du calibre des artères à destination des membres inférieurs qui entraîne une perte de charge hémodynamique, avec ou sans traduction clinique »(13) l'AOMI est l'une des maladies cardiovasculaires plus fréquente surtout chez les hommes qui dépassent 65ans, et est classée parmi les pathologies mortelles .

1.4 Epidémiologie de l'AOMI

En Algérie la prévalence de l'artérite oblitérante des membres inférieurs asymptomatiques n'a pas eu d'études consacrées à la Population générale, sauf se qui ont été faite par Zekri, Belhadj et Khellaf. La prévalence de l'AOMI à l'aide de l'IPS a été estimée à 17.5% dans un groupe de 700 patients âgés de 50 ans et plus et habitants la commune de Sidi

Bel abes d'après Belhadj (14). Dans un autre travail réalisé sur 500 sujets diabétiques suivis en consultation de diabétologie et de médecine interne dans deux structures hospitalières algéroises, Zekri a retrouvé une prévalence de 14.2% en utilisant l'IPS et une prévalence de 24% en combinant les données de l'IPS à celles de l'écho doppler artériel des membres inférieurs (15). toujours à Alger, et chez 300 coronariens hospitalisés dans trois unités de soins cardiologiques, Khellaf, en n'utilisant que l'IPS, a retrouvé une prévalence de l'AOMI de 29.8% (16).

1.5 Développement de l'AOM

Lorsque l'athérosclérose touche les artères de la jambe (figure 1), on parle d'artérite des membres inférieurs (AMI) ou encore d'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI).

Les membres inférieurs reçoivent le sang du cœur par l'intermédiaire des artères : l'aorte, les artères iliaques, fémorales, tibiales et pédiéeses. Quand ces artères se rétrécissent (on parle de sténose) ou se bouchent (on parle d'occlusion) à cause de la formation de plaques d'athérome (dépôt de cholestérol), on parle d'artérite. L'AOMI est favorisée par l'ensemble des facteurs de risque de l'athérome dont le tabac, le diabète, l'excès de cholestérol, l'hypertension artérielle, la sédentarité, l'obésité abdominale, une alimentation déséquilibrée et des troubles psycho-sociaux(17).

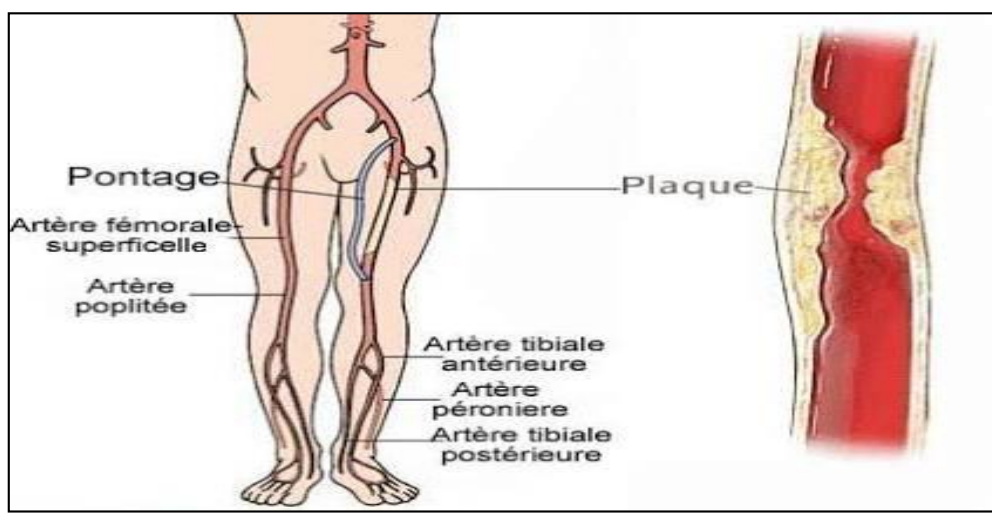


Figure 1 : les artères responsable de la vascularisation des membres inférieurs (18).

1.6 Classification de l'AOMI

Il existe trois classifications l'une selon Leriche et Fontaine qui est basée sur l'apparition des symptômes lors du développement de la maladie(19,20) ; l'autre selon Rutherford établie en1997 reprend ces critères cliniques en y ajoutant un critère objectif : la pression de cheville de repos (21) ; la dernière classification est la combinaison entre les deux classifications précédentes :

Tableau 1 : la nouvelle classification de l'AOMI (22, 23, 24 ; 25).

Les formes	Les classes	Manifestations
Forme chronique	asymptomatique	Ce sont des patients asymptomatiques avec un IPS inférieur à 0.90. Les lésions occlusives sont peu importantes ou très bien supplées
	ischémie permanente (stades III et IV de Leriche et Fontaine)	Elles représentent le tiers des AOMI et peuvent se manifester par des douleurs musculaires d'effort typique (crampe, étai) en aval de l'atteinte artérielle .L'IPS est abaissé et le test de marche sur tapis est anormal.
	Ischémie non permanente	elles peuvent se manifester par des douleurs de décubitus soulagées évoluant depuis plus de deux semaines ; avec une pression systolique artérielle à la cheville inférieure ou égale à 50 mm Hg, ou une pression artérielle au gros orteil inférieure ou égale à 30mmHg.
Forme aiguë	Formes non immédiatement menaçantes	Le membre est viable, il n'y a pas de troubles sensitivomoteurs
	Formes menaçantes récupérables.	Il n'y a pas de faiblesse musculaire (ischémie modérément menaçante) Les troubles sensitivomoteurs disparaissent rapidement (ischémie immédiatement menaçante)
	Formes menaçantes avec séquelles inévitables	Les troubles sensitivomoteurs sont irréversibles sous forme soit d'anesthésie profonde du membre soit de paralysie.

1.7 Facteurs de risque de l'AOMI

- **Sexe**

La prévalence de l'AOMI est plus importante chez l'homme que chez la femme. Les différences entre les sexes diminuent avec l'âge (22).

- **Age**

L'incidence et la prévalence de l'artérite des membres inférieurs augmentent avec l'âge (22).

- **Tabac**

Le tabac est l'un des facteurs de risque majeur de développer une artérite des membres inférieurs. Le tabac aurait 2 à 3 fois plus de risque de causer une AOMI qu'une maladie coronarienne. (26) Le risque d'artérite des membres inférieurs augmente de façon dose-dépendante avec le nombre de cigarettes fumées chaque jour et avec la durée du tabagisme(27).

- **Diabète**

Le diabète augmente le risque d'AOMI de 2 à 4 fois selon l'étude de Hoorn. (28) De plus, chez les patients diabétiques, l'artérite est généralement plus agressive. Le risque d'amputation majeure est multiplié par 5 à 10 chez les patients diabétiques par rapport aux non-diabétiques (22).

- **Dyslipidémie**

Selon l'étude de Framingham, un taux de cholestérol total supérieur à 2,7 g/L multiplie par 2 le risque d'AOMI. Le risque d'artérite des membres inférieurs augmente avec le taux de cholestérol.

- **Hypertension artérielle**

L'HTA multiplie le risque de claudication de 2,5 chez l'homme et de 3,5 chez la femme selon l'étude de Framingham. (22) Cependant, la corrélation entre l'HTA et l'AOMI est moins importante que pour les pathologies coronariennes ou les AVC.

- **Hérédité familiale**

L'hérédité familiale joue surtout un rôle dans la genèse des autres facteurs de risque, comme l'hypertension artérielle, le diabète, les dyslipidémies. Il convient de prendre en compte les événements survenus avant 55 ans chez un homme et avant 65 ans chez une femme, chez les parents du premier degré (29).

CHAPITRE 2 :L'athérosclérose

2.1. Historique

L'anatomiste JF Crell 1746 a isolé des éléments calcaires dans l'aorte, différentes des éléments osseux, en 1843 Vogela isolé des éléments de cholestérol dans ces lésions artérielles ; puis le biologiste Marchand(1904) décrivent une matière «jaunâtre » entre la tunique interne et moyenne (30).

2.2. Définition

L'athérosclérose selon l'Organisation Mondiale de la Santé OMS (1957) est 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(31).

Les études expérimentales les plus récentes, associées aux observations anatomopathologiques permettent d'optimiser la définition principe ; l'athérosclérose est considérée comme une inflammation chronique de l'intima des artères de gros et de moyen calibre, dont l'origine repose sur une interaction complexe entre des composants plasmatiques athérogènes (certaines lipoprotéines circulantes par exemple) et les cellules de la paroi artériel [cellules endothéliales, cellules musculaires lisses (CML), monocytes, macrophages, lymphocytes T] (32).

2.3. Epidémiologie

L'athérosclérose est la première cause de mortalité et morbidité dans les pays industrialisés, l'augmentation de la prévalence de la maladie est du au vieillissement de la population et aux changements dans les facteurs de risque (33) ;en plus de ces conséquences, ces accidents - lorsqu'ils ne sont pas fatals, sont aussi à l'origine de paralysie, troubles sensitifs, troubles du langage dans le cas des AVC ; apparition d'une insuffisance cardiaque, de troubles du rythme dans le cas d'un infarctus du myocarde (IDM)(32) ;elle est aussi une

cause majeure de mortalité du fait du caractère délétère des complications ischémiques qu'elle entraîne et qui touche le myocarde, le cerveau et les membres inférieurs (33).

2.4. Structure de la paroi vasculaire

La paroi d'une artère est composée de trois parties principales nommées de l'intérieur vers l'extérieur, intima, média et adventice (figure 2).

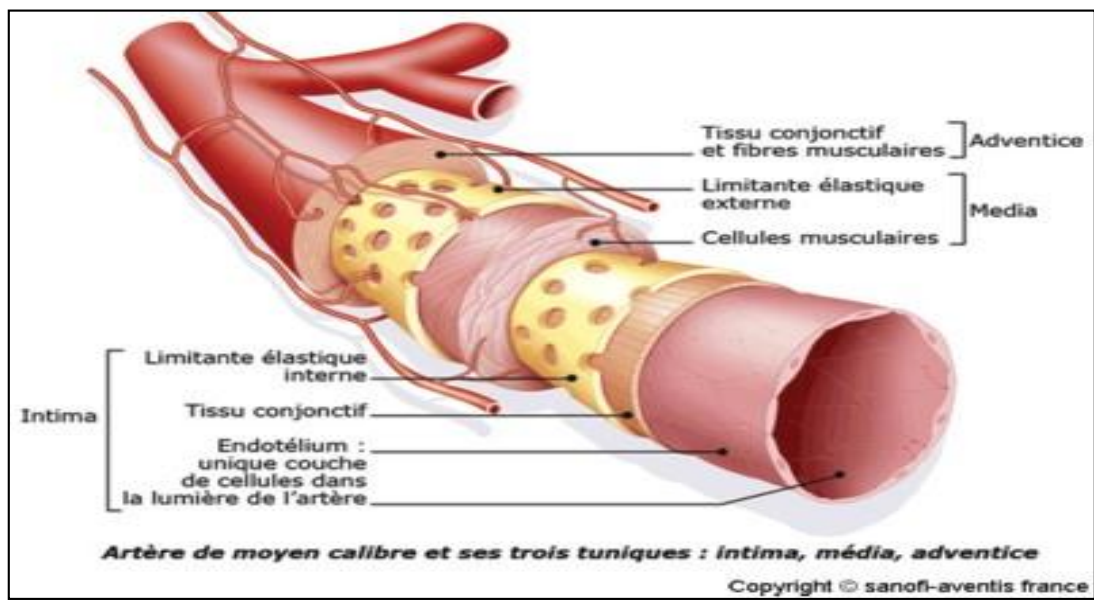


Figure 2 : structure de la paroi artérielle (34).

❖ L'intima

C'est la partie interne, plus fine. C'est à ce niveau que se développe l'athérosclérose. Elle est constituée d'une seule couche de cellules endothéliales ; d'une couche de tissu conjonctif fibro-élastique et d'une lame de fibre élastique constituée d'élastine, la limitante élastique interne (absente dans de nombreux vaisseaux)(34).

❖ Le media

C'est la partie moyenne, séparée de l'intima par la limitante élastique interne et de l'adventice par la limitante élastique externe; elle est la plus épaisse ; elle est aussi le constituant principal de l'artère(34).

❖ L'adventice

L'adventice c'est la partie externe. Elle est constituée d'un tissu conjonctif peu organisé ; d'une enveloppe qui assure l'ancrage des artères aux structures avoisinantes et un réseau de nerfs vasomoteurs non myélinisés (34).

2.5. Formation de la plaque d'athérome

Les lipoprotéines essentiellement les LDL modifiés ; les cellules endothéliales ; les cellules musculaires lisses ; les lymphocytes ; les monocytes ; les macrophages et les plaquettes jouent un rôle essentiel dans la formation de la plaque d'athérome cette dernière est formée par l'association de plusieurs mécanismes (figure 3).

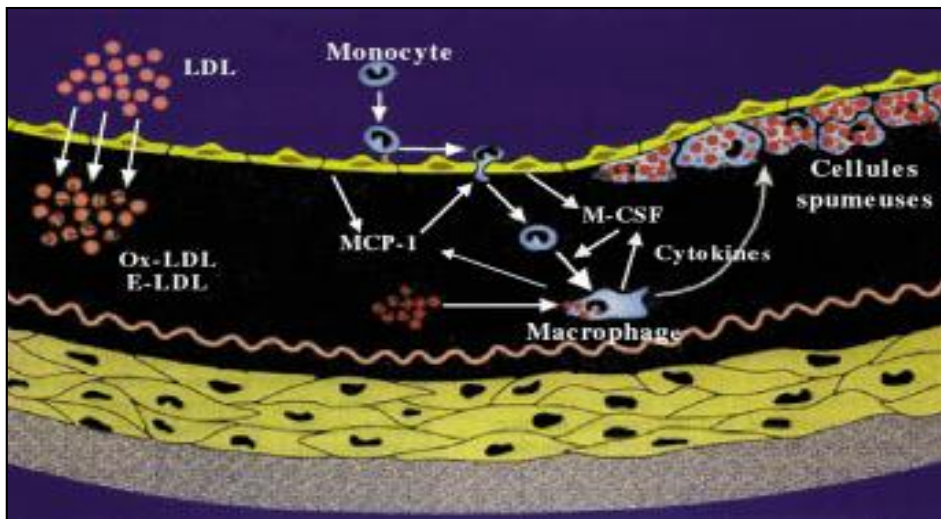


Figure 3 : Formation de la plaque d'athérome(35).

▪ Pénétration et oxydation des LDL dans l'intima artérielle

La toute première étape de l'athérosclérose est l'accumulation des lipoprotéines athérogènes Low Density Lipoprotein (LDL) dans l'intima (35,36), il s'agit d'un phénomène passif qui est secondaire à un déséquilibre entre les entrées et les sorties.

Les flux d'entrée sont augmentés par l'élévation des concentrations plasmatiques de ces lipoprotéines, ainsi que par celle de la perméabilité endothéliale (lésions et dysfonction

endothéliales) ; les flux de sortie peuvent être diminués du fait de la présence de protéoglycanes et de collagène qui fixent les LDL dans le sous endothélium (38) ; cette activation endothéliale aura pour conséquence d'induire un stress oxydant, par une augmentation de la NADH/NADPH oxydase endothéliale qui produit l'anion super oxyde (O_2^-) (39).

L'oxydation des LDL débute par la peroxydation de leurs acides gras polyinsaturés et se propage grâce à une enzyme la PAF-AH (Platelet Activating Factor Acetyl hydrolase) qui possède une activité phospholipase A2. Il en résulte la fragmentation des acides gras polyinsaturés et la formation d'aldéhydes et de cétones, Les aldéhydes se fixent sur les résidus lysine de l'Apo B100 des LDL, qui dès lors ne reconnaissent plus le LDL-récepteur mais les différents récepteurs scavenger exprimés à la surface des macrophages et des CML (40,41).

▪ **Recrutement des monocytes et leurs transformations en macrophages puis en cellules spumeuses**

Suite à une perte de l'intégrité et/ou de l'activation des cellules endothéliales, due à la cytotoxicité des LDL-oxydées, les cellules endothéliales secrètent des molécules d'adhésion (VCAM-1, ICAM-1). Ces dernières ont la capacité de se lier à des ligands de la famille des intégrines présents sur la membrane des leucocytes; ce qui implique l'adhésion des monocytes circulants à la surface de l'endothélium(42).

Après adhésion, le monocyte pénètre dans l'espace sous-endothélial où il se transforme en macrophage puis en cellule spumeuse. Ces étapes sont sous l'influence de divers facteurs : le MCP-1(monocyte chemotactic protein-1); le M-CSF (monocyte-colony stimulating factor) (42).

La formation de cellules spumeuses est liée à l'augmentation de la captation des LDL oxydés par les macrophages résidents (43) qui expriment le récepteur scavenger B/E, qui à l'inverse de récepteurs classiques de LDL normales (récepteurs de Brown-Goldstein), ne sont pas régulés négativement par le contenu intracellulaire en cholestérol (44) ; par ailleurs l'internalisation des LDL oxydées se continue jusqu'à engorgement des cellules par les esters de cholestérol (45) ce qui est à l'origine des stries lipidiques constituant les lésions précoces de la plaque d'athérome. (43),

- **Réaction inflammatoire**

Dès l'infiltration de la paroi artérielle par les macrophages, une réaction inflammatoire chronique se produit et serait à l'origine d'un véritable phénomène d'auto amplification et de croissance de la plaque (43). Les macrophages produisent de nombreuses cytokines pro inflammatoires (TNF- α TNF β , IL-1) qui augmentent l'activation endothéliale, et favorisent l'afflux de nouveaux monocytes, ils peuvent aussi induire l'expression par les cellules de la plaque, de MMP (matrix metallo protéinases), des collagénases, élastases et gélatinases qui possèdent toutes une activité de dégradation des protéines de la matrice extracellulaire (46)

- **Migration des cellules musculaires lisses**

Les CML provenant du média migrent à travers la limitante élastique interne vers l'intima où elles prolifèrent. Les cellules inflammatoires (les macrophages, les polynucléaires ; les neutrophiles et les lymphocytes), aussi les CML activées sécrètent des MMP (matrix métalloprotéases) qui dégradent les composants de la matrice extracellulaire et facilitent la migration des CML vers l'intima, les cellules endothéliales et les macrophages sécrètent le PDGF et provoquent la prolifération des CML, même les CML sécrètent ce facteur qui provoque leur prolifération par une action autocrine. (47).

- **Formation du centre athéromateux et de la chape fibreuse**

A ce stade, les LDL oxydées accumulées au sein des cellules résidant dans le sous endothélium sont cytotoxiques ; elles aboutissent à la mort des cellules spumeuses et se regroupent pour former un amas acellulaire appelé : centre athéromateux.

Le centre lipidique constitué de lipides libérés après dégénérescence des cellules spumeuses est entouré par la chape fibro musculaire (CML, protéines Conjonctives qui sont la collagène, l'élastine et les protéoglycanes)) c'est : la plaque athérosclérose adulte (48).

Chapitre 3 : les lipoprotéines et les apolipoprotéines

3.1. Les lipoprotéines

3.1.1. Généralités des lipoprotéines

Les lipoprotéines sont des macromolécules hydrosolubles qui assurent le transport des lipides dans le compartiment plasmatique, elles sont des particules complexes constituées de lipides et d'une partie protéique spécifique appelée apoprotéines, ces particules lipoprotéiques sont dans un état dynamique permanent (synthèse, distribution et dégradation) (49).

Ces macromolécules transporter Les lipides exogènes apportés par l'alimentation et les lipides endogènes synthétisés par le foie (50), les lipoprotéines sont des particules micellaires à noyau hydrophobe, contenant des triglycérides et des esters de cholestérol, dont la surface est composée de phospholipides, de cholestérol non estérifié et de protéines(figure 4) (51).

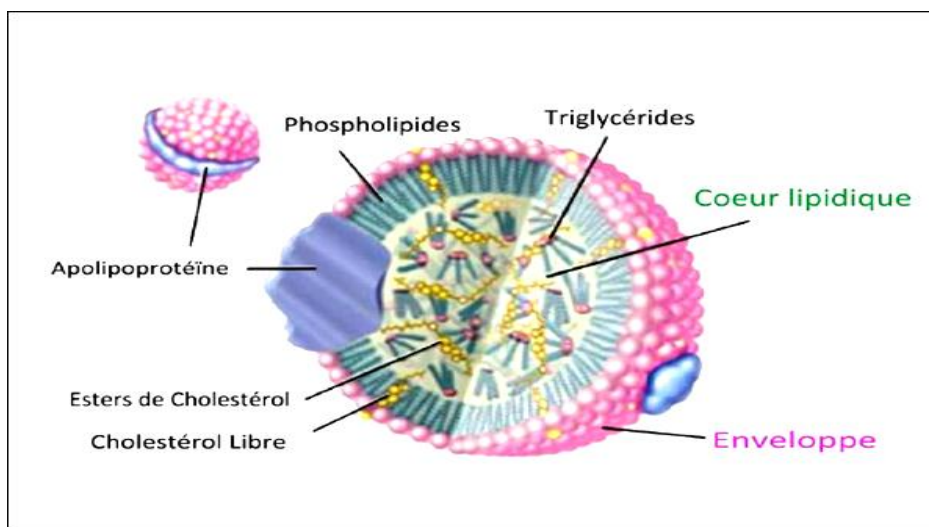


Figure4 : Structure générale d'une lipoprotéine(52).

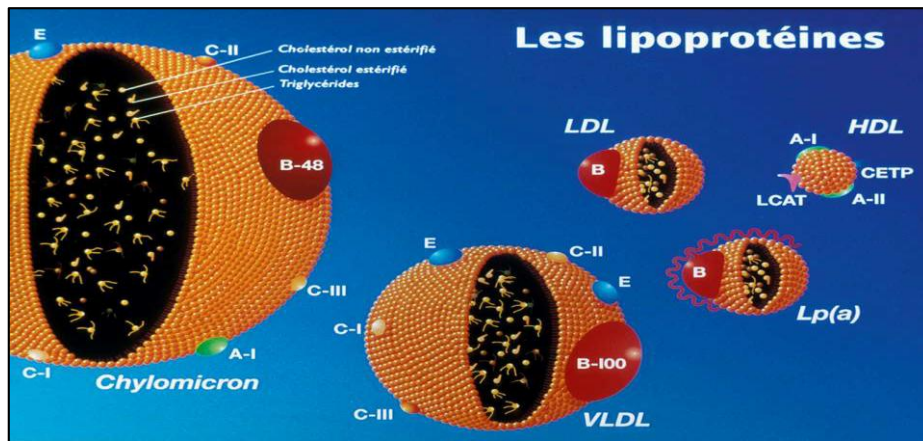


Figure 5 : les différentes classes des lipoprotéines (53).

3.1.2. classification et nomenclature des lipoprotéines

Tableau 2 : Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines Plasmatiques humaines(54).

Type de lipoprotéine	Mobilité Electro-phorétique	Densité (g/ml)	Taille (nm)	Proportion EC/TG	Principales Apolipoprotéines
Chylomicrons	pas de migration	0.93	75-1200	1/19	B48, E, C
VLDL	Pré β	0.93-1.006	30-80	1/3.3	B100, E, C
IDL	Pré β lent	1.006-1.019	27-35	1/3.5	B100, E
LDL	β	1.019-1.063	18-27	1/0.23	B100
HDL2	α	1.063-1.125	9-12	1/0.22	AI, AII, C
HDL3	α	1.125-1.210	7-9	1/0.19	AI, AII, C
L Pa	/	1.040-1.115	/	25	B 100, (a)

3.1.3. Rôle physiopathologique des lipoprotéines

Les différentes espèces de lipoprotéines ne jouent pas le même rôle dans la circulation sanguine.

- ➔ Les LDL sont considérés à juste titre comme responsables des dépôts artériels générateurs d'athérome et d'athérosclérose.
- ➔ Les VLDL moins directement impliquées dans les dépôts artériels sont néanmoins considérées comme nocives lorsqu'elles sont trop abondantes.
- ➔ Les CM, ne sont pas athérogènes, leur accumulation donne lieu par ailleurs à des troubles pancréatiques.
- ➔ Les HDL, jouent au contraire un rôle antiathérogène, peut-être faudrait-il limiter ce rôle à certaines HDL à Apo-I sans Apo-II(55).

3.1.4. Métabolisme des lipoprotéines

Le métabolisme de particules de Lipoprotéine peut se produire par l'intermédiaire de la voie exogène ou endogène :

▪ Principaux acteurs de leur métabolisme

- ✚ **Les Apo lipoprotéines.**
- ✚ **Les enzymes** : trois enzymes jouent un rôle central ; la lipoprotéine lipase (LPL), la lipase hépatique (HL) et la lécithine cholestérol acyle transférase (LCAT).
- ✚ **Protéines de transfert** : essentiellement la CETP (*cholesterol ester transfer protein*) mais également la PLTP (*phospholipid transfer protein*).
- ✚ **Récepteurs** : le LDL-récepteur, récepteur LRP (*LDL-receptor related protein*), récepteur ABC-1(*ATP binding cassette transporter*), récepteur *scavenger* (56).

▪ La voie exogène

Les lipides alimentaires, riches en TG, sont absorbés au niveau des entérocytes au sein desquels ils s'associent à des apolipoprotéines pour constituer les CM natifs qui passent dans la lymphe puis dans le sang.

Dans la circulation, les CM sont catabolisés en quelques minutes par la lipoprotéine lipase (LPL), les particules résiduelles, appelées CM remnants seront captés par le foie via les

LDLR et les protéines liées aux récepteurs LDL (LRP), puis leur catabolisme se poursuit sous l'action de la LH. En dehors des périodes digestives, les VLDL d'origine hépatique remplacent les CM comme principal transporteur de TG et c'est alors le foie qui domine le métabolisme des Lp (57) (58).

▪ **La voie endogène**

❖ **Métabolisme des VLDL**

Les VLDL sont sécrétées par les hépatocytes dans le plasma sanguin, elles subissent également l'action de la lipoprotéine lipase LPL et libèrent des acides gras qui pénètrent dans les cellules musculaires et adipeuses. Elles deviennent alors des lipoprotéines riches en esters de cholestérol, les IDL. Une grande partie des IDL retourne au foie où elle sera dégradée. Le retour au foie est assuré par leur liaison aux récepteurs apo B100/E hépatiques (Apo B100/E-R). Le reste des IDL subit l'activité LPL hépatique, s'enrichit en cholestérol estérifié CE et perd l'Apo E, ce qui conduit à leur conversion en LDL.

❖ **Métabolisme des LDL**

Les LDL prennent naissance dans les vaisseaux sanguins à partir des VLDL via les IDL, elles constituent les transporteurs majeurs du cholestérol vers les tissus où il est intégré aux membranes, transformé en hormones stéroïdes.

Les LDL délivrent le cholestérol aux cellules après avoir été endocytées sous forme de complexe (Apo B100 et récepteur) suite à la reconnaissance de l'Apo B100 par le récepteur spécifique (59).

▪ **La voie inverse**

Les HDL Principalement formées dans le foie, ils captent le cholestérol à partir des macrophages, via les protéines transporteurs spécifiques ABCA1 et SR-B1, et à partir des membranes des tissus périphériques via le transporteur ABCG1.

Les HDL libérées par le foie sont très pauvres en cholestérol ; elles sont nommées « Lipid-poor apo A ».

Dans le sang, la LCAT (lécithine cholestérol acyl transférase) estérifie le cholestérol libre CL en cholestérol estérifié CE qui devient totalement hydrophobe et pénètre au centre du HDL laissant ainsi de la place en périphérie pour capter du CL

Les HDL deviennent des HDL3, ils peuvent alors capter le cholestérol en excès au niveau des tissus périphérique (ils deviennent des HDL 2) et le ramener au foie en se fixant sur les récepteurs de l'apo AI : SR-B1.

La captation du cholestérol membranaire par les HDL réalise ce que l'on appelle le transport revers du cholestérol(60).

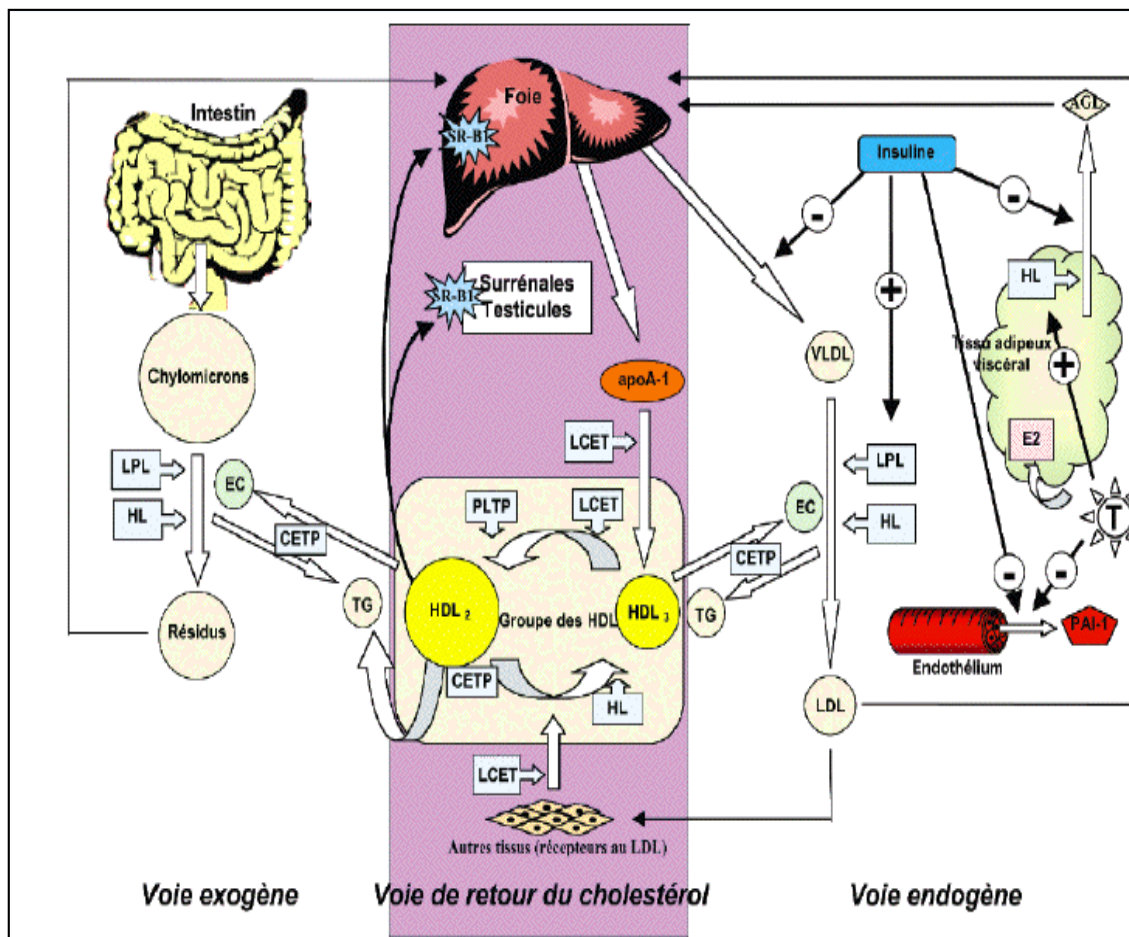


Figure 6 : Vue d'ensemble du métabolisme des lipoprotéines(60).

3.2. Les Apo lipoprotéines

3.2.1. Généralités

Les apolipoprotéines (apo) sont les constituants protéiques des lipoprotéines. Ces protéines permettent la formation et la stabilisation des particules lipoprotéiniques. Les apolipoprotéines jouent donc un rôle fondamental dans le transport sanguin des lipides (61).

Il existe 4 familles d'apolipoprotéines (nomenclature A, B, C et E), Leur élément moléculaire commun est un motif de 11 acides aminés formant une hélice de 3,6 acides aminés par tour Les acides aminés polaires sur une face et les acides aminés apolaires sur l'autre face lui confèrent des caractéristiques d'hélice α amphiphile (62).

3.2.2. Rôles des apolipoprotéines

Elles exercent trois rôles fondamentaux. Tout d'abord, grâce à leur structure en α Hélice amphipathique, elles assurent la cohésion structurale des lipoprotéines telles que les ApoB48 (chylomicrons et VLDL).

De plus, elles peuvent avoir un rôle d'effecteur enzymatique, aussi elle peut être un bon marqueur pour suivre les lipoprotéines riches en TG, et finalement les apolipoprotéines permettent la reconnaissance de récepteurs membranaires spécifiques, principalement les ApoB et les ApoE (62).

3.2.3. Classification des apolipoprotéines

Les apolipoprotéines sont classés selon leur contenu en lipoprotéin

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)

3.2.4. distribution tissulaire des apolipoprotéines

Tableau 4 : Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonctions des principales apolipoprotéines humaines d'après Toussaint et al. 2004(52).

nom	tissus	distribution	fonction
Apo AI	Foie, intestin	CM, HDL	Structurelle ; activateur physiologique de la LCAT ; efflux de cholestérol
Apo AII	Foie (intestin)	HDL	Structurelle ; activateur/inhibiteur de la HL ; efflux de cholestérol
Apo B100	foie	VLDL, IDL, LDL	Structurelle ; synthèse et sécrétion des VLDL ; ligand du récepteur LDLR
Apo B48	intestin	CM	Structurelle ; synthèse et sécrétion ; des CM ligand du recepteurB48R
Apo CI	Foie (intestin)	CM, VLDL, HDL	Inhibiteur physiologique de la CETP ; activateur de la LCAT ; inhibiteur de la liaison aux LDLR, LRP et VLDL
Apo CII	Foie (intestin)	CM, VLDL, HDL	Activateur physiologique de la LPL
Apo E	Foie, cerveau, macrophage,	CM, VLDL, HDL, IDL	Ligand des récepteurs LDLR et LRP

CHAPITRE 4 : polymorphisme de l'Apo lipoprotéine E

4.1. Définition du polymorphisme

Le concept de polymorphisme génétique (du grec «poly» plusieurs et «morphe» forme) désigne la coexistence de plusieurs allèles pour un gène ou locus donnés, dans une population animale, végétale, fongique, bactérienne (64).

Il explique qu'une espèce présente des individus aux caractères phénotypiques différentes (appelés morphotypes) au sein d'une même population (65).

4.2. Définition de l'apolipoprotéines E

L'Apo E est une glycoprotéine de 299 acides aminés riche en arginine et de poids moléculaire 34200 daltons(66,67). Elle est mentionnée dans la littérature d'abord sous le nom de peptide riche en arginine, identifiée pour la première fois en 1973 par Chore et al comme constituant des VLDL (68) .Elle est retrouvée sur la plupart des lipoprotéines qui transportent le CH et les TG dans le sang, mais tout particulièrement sur les VLDL, les IDL et les HDL. Une des caractéristiques majeures de cette apolipoprotéine est son polymorphisme, Uterman et ses collègues étaient les premiers à le démontrer. Elle existe sous trois formes majeures dont un ou deux coexistent dans la circulation.

Ces trois formes diffèrent les unes des autres par la substitution des acides aminés en position 112 et 158 qui résultent des mutations survenant sur le gène unique qui les encode. Cette variation génétique produit dans les populations un polymorphisme de fréquences alléliques variées(66,67).

4.3. Gène de l'Apo E

Le gène de l'apolipoprotéine E est unique et situé à l'extrémité centromérique de l'ensemble d'une famille de gènes codant pour le groupe apolipoprotéine E, C-I, et C-II, sur le chromosome 19, dans la région q13.2 (figure 7) (69).

Ce gène de 3.7 kilo base, comporte quatre exons et trois introns (66,70). Il s'étend sur 3597 nucléotides et code pour un ARN m de 1163 nucléotides. Les tailles des quatre exons de

l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' sont respectivement 44, 66, 193 et 860 nucléotides (figure 8). Le premier exon est non codant, le deuxième exon code pour un peptide signal, le troisième exon pour les 61 premiers acides aminés et le quatrième pour l'essentiel de la protéine mature, en outre le gène comprend 4 séquences ALU (69). Les séquences similaires d'exons et d'introns entre les différents gènes d'apolipoprotéine ainsi que les éléments répétitifs de séquence similaire laissent croire à une origine commune des diverses apolipoprotéine(66,69).



Figure 7 : Localisation cytogénétique du gène de l'Apo E sur le chromosome 19 (71).

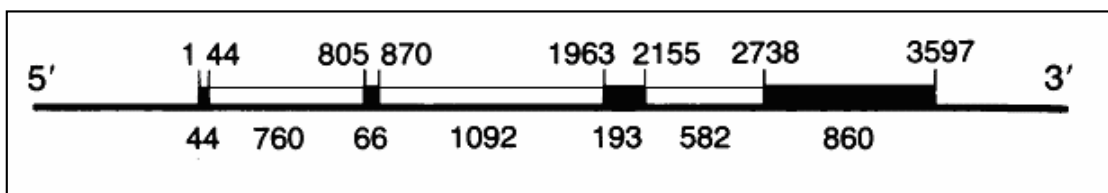
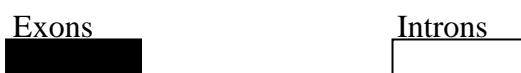


Figure 8 : Positions exons –introns dans le gène d'Apo E. (72)



4.4. modification poste traductionnelle de l'Apo E

La protéine Apo E précurseur synthétisée à partir de la traduction d'ARNm qu'il 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(73); ensuite le reste de la protéine intracellulaire subit des O-glycosilations accompagnée de sialylation ayant lieu à un seul site correspondant à la Thréonine en position 194 de la chaîne protéique (74). La protéine plasmatique mature (299 acides aminés, PM : 34200Da) est secrétée au milieu extracellulaire où 90% de la protéine est désialylé (75).

4.5. Structure de l'Apo E

L'Apo E donne deux domaines structuraux fonctionnels, qui peuvent être séparés par clivage à la thrombine ; donc elle est composée de deux parties essentielles(Figure9) :

La partie N-terminale (de 1 jusqu'à 191 acides aminé de poids moléculaire de 22 k Da) (76) est déterminée grâce à l'étude de la structure cristalline par diffraction aux rayons X de l'Apo E, il a été démontré que cette partie est organisée en quatre hélices α -amphiphiles arrangées de façon antiparallèle (77). Cette partie comprend un domaine (142-147) riche en acides aminés basiques (lysine et arginine) représentant un site de fixation à l'héparine (78)et essentiellement un segment de liaison avec le récepteur LDL (70), une large région de l'hélice 4 (136-150) constituée de résidus basiques dont les charges positives (+) vont interagir avec les charges négatives (-) des récepteurs LDL (77,79).

La partie C-terminale (de 216 jusqu'à 299 acides aminé de poids moléculaire de 10kDa) contient trois hélices constituées respectivement des acides aminés (203-223), (225-266) et (268-289) (80). Suivant diverses études ; cette dernière joue un rôle majeur dans le transport des lipides, grâce au site de liaison aux lipides (244-272) (69) ainsi que dans la tetramérisation de l'Apo E. plus précisément, le fragment (263-286) semble jouer un rôle crucial dans la liaison aux lipides en particulier l'association de l'Apo E aux VLDL (81).

La partie (192-215) située entre ces deux domaines fonctionnels est une région de structure non ordonnée, sensible au clivage protéasique, elle contient l'unique site potentiel d'attache glycanique localisé sur la thréonine en position 194 (74). En terme fonction et propriétés physiologiques de l'Apo E, ce phénomène est encore mal compris (75).

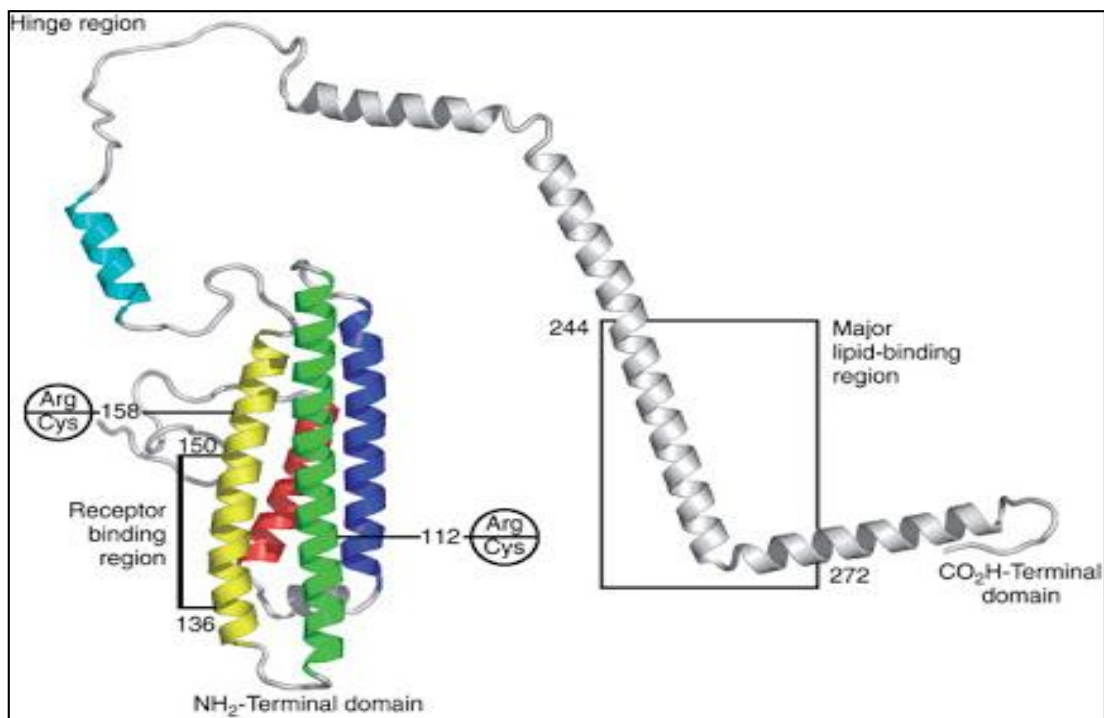


Figure 9 : Structure des différents domaines de l'Apo E(82).

4.6. Polymorphisme de l'Apolipoprotéines E

Il existe 3 isoformes de l'apoE humaine : apoE2, apoE3, apoE4, génétiquement ces trois isoformes correspondent aux trois allèles : $\epsilon 2$; $\epsilon 3$; $\epsilon 4$ (83,84). Les allèles de l'apoE se transmettent de façon codominance. Chaque individu possède 2 allèles et les combinaisons possibles de ces allèles dans la population donnent 6 phénotypes différents : trois homozygotes ($\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 4/\epsilon 4$) et trois hétérozygotes ($\epsilon 4/\epsilon 2$, $\epsilon 3/\epsilon 2$, $\epsilon 4/\epsilon 3$) (85).

Le séquençage direct de l'Apo E par Rall et al en 1982 a permis de découvrir les différences qui existent entre les trois isoformes. La plus commune des trois isoformes est l'Apo E3, elle possède au site 112, une cystéine et au site 158, une arginine. L'Apo E4 diffère de l'Apo E3 par la substitution au site 112 d'une cystéine par une arginine ce qui lui confère une charge positive de plus que l'Apo E3. L'Apo E2 est différente de l'Apo E3 en ce qu'elle possède au site 158 une cystéine au lieu d'une arginine, ce qui lui enlève une charge positive (66) (figure 10).

Selon différentes études (*Copenhagen General Population Study CGPS* et *Copenhagen City Heart Study CCHS*)

les fréquences génotypiques de l'apoE sont 0.1% ; 12.4% ; 2.9% ; 5.5% ; 25.4% et 2.9% pour $\epsilon 2/\epsilon 2, \epsilon 3/\epsilon 2, \epsilon 4/\epsilon 2, \epsilon 3/\epsilon 3, \epsilon 4/\epsilon 3, \epsilon 4/\epsilon 4$ respectivement (86).

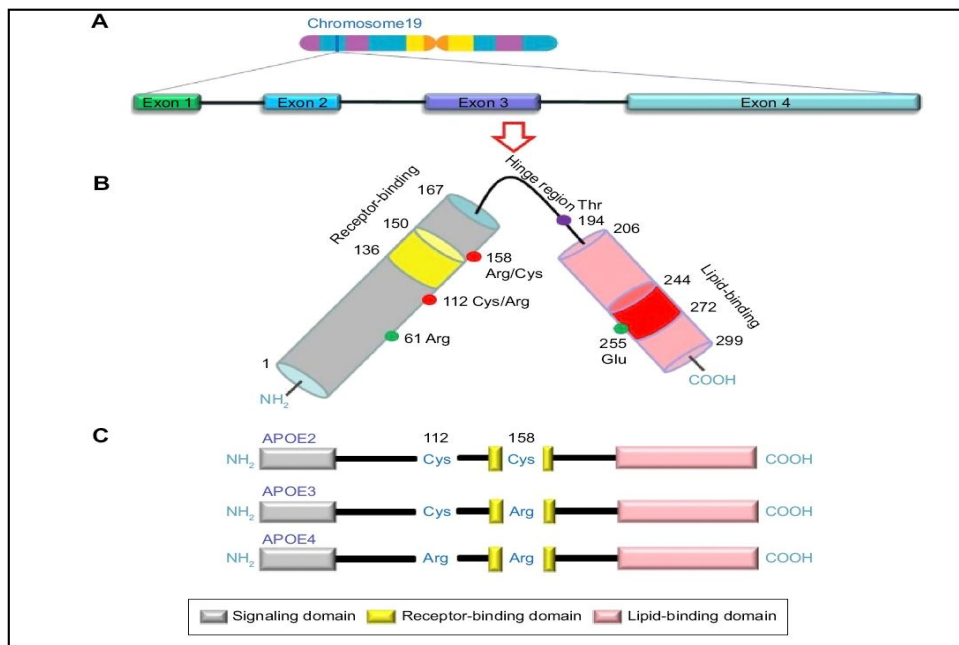


Figure 10 : Polymorphisme de l'Apo E(87).

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(88) (Figure11) qui induit des changements de point isoélectrique.

L'allèle e4 codant E4 (Arg112-Arg158) est considéré comme l'allèle ancestral; l'allèle e3 codant E3 (Cys112 -Arg158), le plus fréquent, et l'allèle e2 codant E2 (Cys112- Cys158), habituellement le plus rare (89).

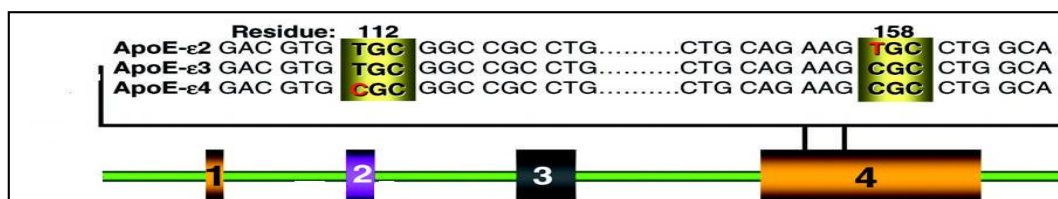


Figure 11 : Les mutations du gène de l'Apo E aux positions 112 et 158 (71).

4.7. Biosynthèse et distribution tissulaire

L'Apo E est synthétisée par de nombreux tissus. Elle est produite majoritairement par le foie, le cerveau est le second site de sa synthèse (90), elle peut être effectuée aussi au niveau du système nerveux central particulièrement par les astrocytes (91), l'Apo E est aussi élaborée dans des proportions moindres par les surrénales, les reins, les cellules du système réticulo-endothélial et les macrophages dans les tissus(92).

La synthèse de l'apoE est régulée au cours du développement par des facteurs hormonaux et nutritionnels. L'expression de l'apoE dans le cerveau est régulée par les œstrogènes. Le promoteur de l'apoE dans les astrocytes est régulé de manière positive par l'AMPc et l'acide rétinoïque, grâce à une séquence consensus nommée AP-2. L'expression du gène de l'apoE peut être régulée in vitro par l'induction de stress (93).

4.8. Récepteur de l'Apo E

Grâce aux différents récepteurs (tableau 5); les complexes Apo E / lipides sont internalisé par les cellules.

L'Apo E possède 25 fois plus d'affinité pour le récepteur LDL que l'Apo B qui est la principale apolipoprotéines des LDL (récepteur Apo B/E) (52) ; en plus 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 (94) 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, qui entraîne des changements de charges intervenant dans l'interaction avec les récepteurs LDL ; en effet les VLDL porteuses d'Apo E4 ont une affinité accrue pour les récepteurs-LDL(95), cependant, l'Apo E2 est moins affine pour ce récepteur que pour l'E3 ou E4 (96).

Tableau5: les principaux récepteurs de l'apoE dans les différents tissus (70,97, 52).

nom	famille	Principaux Tissu(Localisation)
LDLR	Récepteurs des LDL	foie, muscle, cerveau cellules endothéliale
LRPR	Récepteurs des LDL	foie, cerveau et poumon
VLDLR	Récepteurs des LDL	muscle, cœur, tissu adipeux et les macrophages.
Apo E receptor 2	Récepteurs des LDL	cerveau, placenta
megaline	Récepteurs des LDL	Rein, intestin et placenta
Récepteur scavenger	Récepteur scavenger	Cellules microgliales

Les complexes (Apo E/lipides) ainsi internalisés à l'intérieur des cellules, sont dissociés: les récepteurs sont recyclés au niveau de la membrane plasmique; les lipides sont libérés dans le cytoplasme; l'Apo E aurait pour destinée une dégradation par la voie endosomale/lysosomale (98,99).

4.9. Polymorphisme de l'Apo E, les lipoprotéines et l'athérosclérose

Le polymorphisme d'apoE module la susceptibilité à beaucoup des maladies ; il est, cependant, particulièrement notoire pour son rôle dans les troubles neurodegenerative (101) et les maladies des artères athéromateux (96,101),l'allèle $\epsilon 4$ de l'apoE (phénotypes $\epsilon 4/\epsilon 4$ et $\epsilon 4/\epsilon 3$) qui est associé à des niveaux plus élevée de LDL-C est considéré comme un agent athérogènes, tandis que la présence de l'allèle $\epsilon 2$ du l'ApoE ($\epsilon 3/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 2$), étant associé à des niveaux plus bas de LDL-C, est considérée pour avoir l'effet opposé (bien qu'elle peut être associée aux taux accrus des triglycérides et des remnants des chylomicrons plasmatique).

Cette équation simple, cependant, est une simplification exagérée parce que ces propriétés sont sujettes à des beaucoup d'influences environnementales et génétiques. ApoE a des effets allèle-genre dépendants sur le transport renversé de cholestérol, agrégation de

plaquette, et processus oxydants qui sont susceptibles d'affecter le potentiel athérogènes global attribué à la modulation du métabolisme de lipoprotéine (102, 103,101).

Plusieurs auteurs ont révélé la capacité qu'avait l'Apo E à déterminer la destinée métabolique des lipoprotéines ; cette capacité touchait en particulier les lipoprotéines riches en TG et en cholestérol et qualifiées de résidus de chylomicrons et de VLDL correspondant à la fraction lipoprotéinique de densité intermédiaire (IDL) (104,96) La variation de répartition de l'Apo E dans les lipoprotéines en fonction de l'isoformes d'une part, associée à une différence d'affinité pour les récepteurs d'autre part, pourrait expliquer les différences des concentrations plasmatiques moyennes en LDL que l'on trouve entre les sujets ϵ_3/ϵ_2 et les sujets ϵ_2/ϵ_2 qui ont la plus faible concentration plasmatique, les sujets ϵ_4/ϵ_3 et les sujets ϵ_4/ϵ_4 qui ont la plus forte concentration plasmatique (96).

4.10. Le polymorphisme de l'apoE et les facteurs de risque

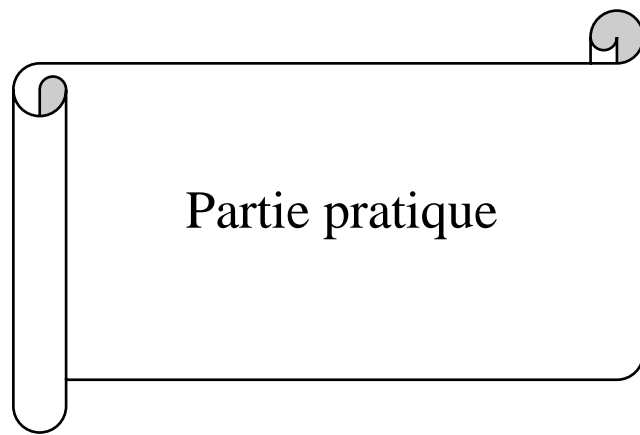
Le polymorphisme de l'Apo E interfère sur le métabolisme lipidique et par conséquent augmente ou atténue le risque de MCV. Les travaux d'Utermann, de Zannis et Breslow; ont de plus montré qu'une dyslipidémie rare (~1:10,000) était associée à la présence du phénotype E2/E2. Il s'agit de la dysbetalipoprotéïnémie de type III caractéristique des taux très élevés de cholestérol et de TG plasmatiques, et de l'athérosclérose survenant à l'âge moyen (105). En effet, Chez les porteurs de l'allèle ϵ_2 (E2/E2, E2/E3) les chylomicrons, les VLDL et les HDL sont caractérisés par une moins grande affinité aux récepteurs B/E, ainsi qu'une déficience dans l'habilité à réagir avec l'enzyme LPL.

La conversion des résidus de VLDL en LDL est également réduite chez les individus porteurs de l'allèle ϵ_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) (106). Si les individus sont porteurs de l'allèle ϵ_4 (E4/E4,E4/E3),les caractéristiques sont alors à l'inverse des individus porteurs de l'allèle ϵ_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 ϵ_3 (E3/E3). (107).

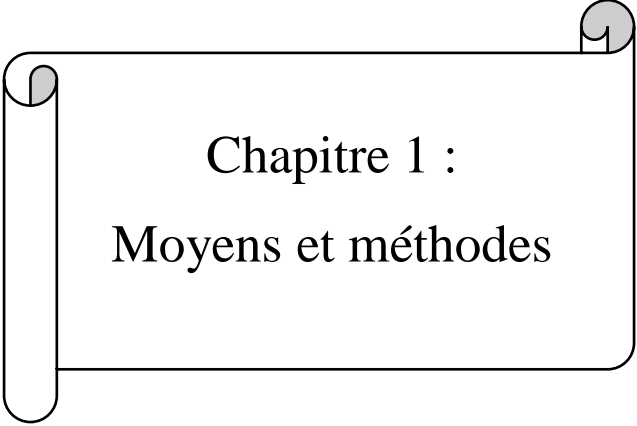
Plusieurs études ont démontré l'effet du polymorphisme de l'Apo E sur l'interaction entre les différents facteurs de risque ainsi que sur l'interaction existant entre les facteurs génétiques et environnementaux (108). En effet, de même lorsqu'il a été démontré que le phénotype E2/E2, conférait une prédisposition génétique, la présence d'autres facteurs causant une hyperlipidémie (régime alimentaire, obésité, hypothyroïdie, déficience en œstrogènes tabagisme.) était nécessaire pour que la maladie se révèle (109).

Le travail de Minnesota et Reilly en 1992, réalisé sur les caucasiens de Rochester a montré l'influence du polymorphisme de l'Apo E sur les relations entre le poids et les niveaux de certains lipides plasmatiques (cholestérol, TG et HDL-C) ; ceci était différent entre les deux sexes : chez la femme le polymorphisme de l'Apo E influençait cette relation par contre chez l'homme, le polymorphisme de l'Apo E n'exerçait aucune influence entre le poids et les niveaux de lipides et de lipoprotéines ,dans une autre étude menée par Tikkan en 1990 ainsi que Miettinen, il a été démontré que la réponse du cholestérol plasmatique à un changement diététique était modulée par le polymorphisme de l'Apo E en réponse à une diminution du cholestérol à la consommation alimentaire. Les individus porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ présentaient une réduction plus élevée de cholestérol total que les individus porteurs des autres génotypes (110).

Dans une étude chez des sujets âgés l'usage du tabac abolit complètement l'effet modulateur de l'Apo E sur l'athérosclérose périphérique et sur le diabète (111), dans le diabète de type 1, les porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ ont un risque trois fois plus élevé de développer une néphropathie diabétique que les non porteurs (112) ; ceci est peut être relié à la glycation des protéines dans le diabète, l'Apo E2 ayant le plus haut taux de glycation suivie par E4 et E3; de plus la glycation altère la capacité de l'Apo E de lier l'héparine, ce qui pourrait influencer les interactions entre les lipoprotéines et les cellules par le intermédiaire de l'héparine sulfate protéoglycane et favoriser la dyslipidémie (102).



Partie pratique



Chapitre 1 :
Moyens et méthodes

1. Moyens

1.1. Population de référence

Les échantillons que nous avons utilisé appartient à la banque d'ADN de monsieur Khoja Dj, le nombre des individus dans notre étude est 102 ; repartis en deux groupes : une population de malade présentant une AOMI (N=30) et une population témoin ou bien de référence (N=72).

Tableau 6 : Répartition de la population d'étude.

	Hommes		Femmes		Total	
	N	%	N	%	N	%
témoin	47	65.3	25	34.7	72	70.58
AOMI	11	36.7	19	63.3	30	29.41

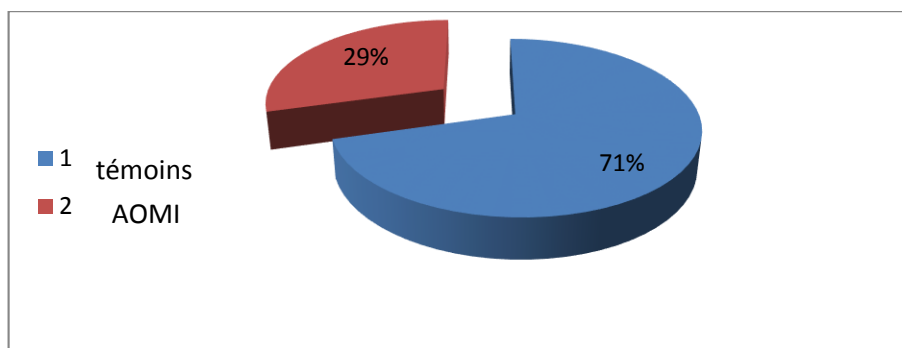


Figure 12 : répartition de la population d'étude.

Des critères d'inclusion et d'exclusion ont été établis pour les malades et pour la population de référence.

1.1.1 Critères d'inclusion pour les malades

Pour les malades : tout malade ayant été admis au niveau des services de cardiologie et les urgences médicales et ayant présentant une AOMI diagnostiqué par des médecins spécialistes.

1.1.2 Critères d'inclusion pour les témoins

Tous les Sujets des 2 sexes âgés de 20ans et plus, résidants dans la wilaya de Constantine.

1.1.3 Critères d'exclusion pour les témoins

Tous Les sujets présentant des antécédents personnels ou familiaux d'une AOMI, pour pouvoir comparer l'effet du polymorphisme de l'apo E sur les fractions lipidiques nous avons exclu les sujets :

- ✚ Ayant une pathologie entraînant une augmentation des paramètres lipidiques (Hypertension artérielle, Obésité, Diabète....etc.)
- ✚ Sous traitement médical, femmes enceintes ou encore celles prenant des oestoprogostatifs au moment de l'enquête.

1.2 Fréquence de la population témoin et malades

1.2.1 Les sujets témoins

Les sujets témoins sont au nombre de 72 répartis entre : 47 du sexe masculin soit 65.30% et 25 du sexe féminin soit 34.70%.

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 7: Répartition des sujets témoins selon l'âge et le sexe.

	Hommes		Femmes		Total	
	N	%	N	%	N	%
20-29	14	29.8	3	12	17	23.6
30-39	11	23.4	10	40	21	29.2
40-49	8	17.0	5	20	13	18
50-59	5	10.6	4	16	9	12.5
≥60	9	19.2	3	12	12	16.7
Total	47	100	25	100	72	100

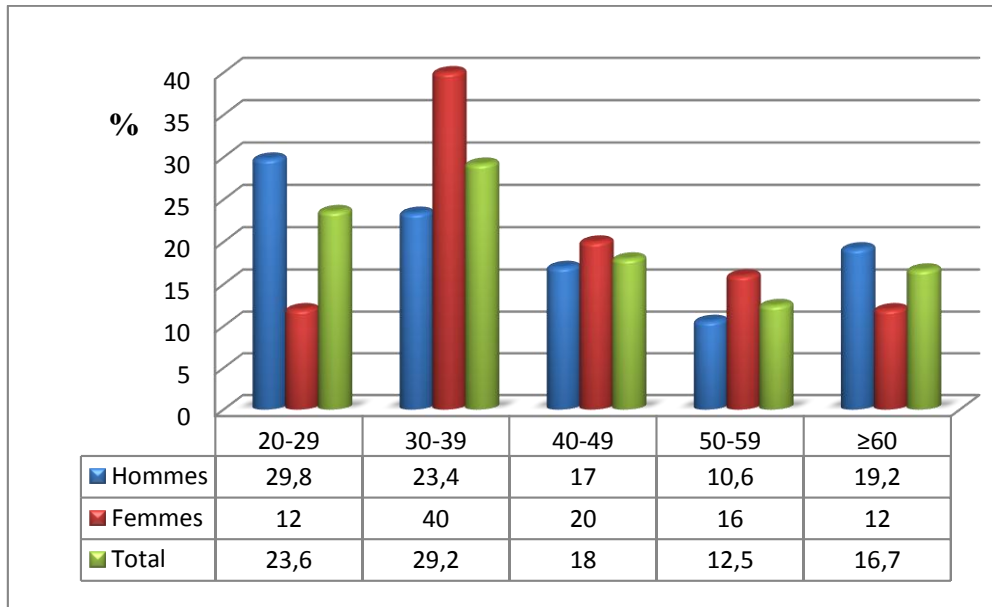


Figure 13: Répartition des sujets témoins selon l'âge et le sexe.

1.2.2 Les artériopathies oblitérantes des membres inférieurs (AOMI)

1.2.2.1 Diagnostique

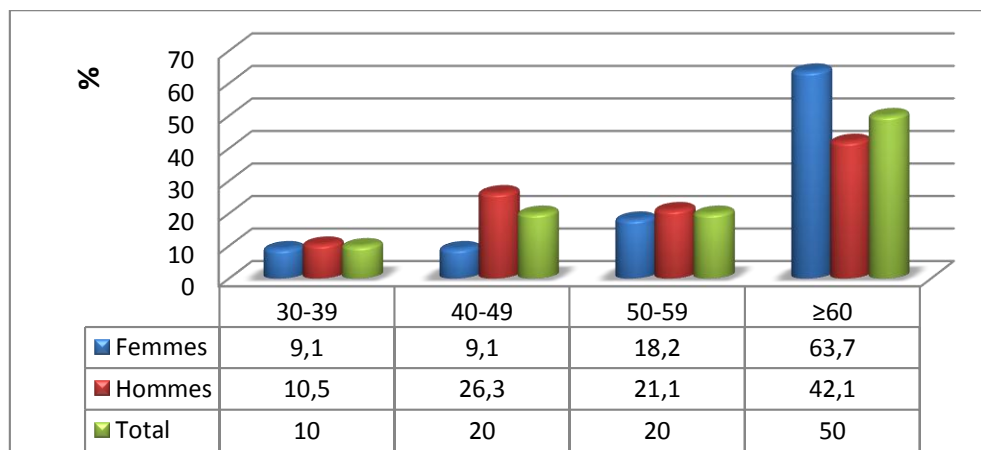
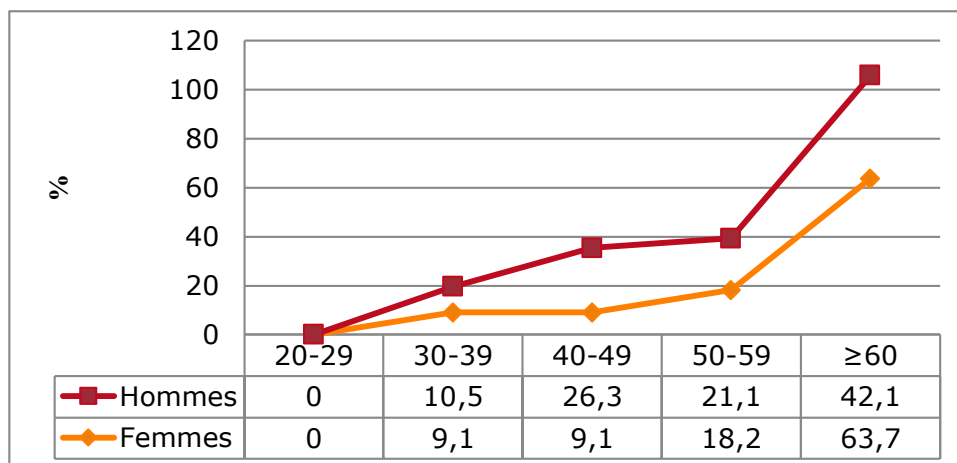
Les malades atteints d'artériopathies des membres inférieurs ont été recrutés à partir des services de médecine interne et de cardiologie. Le diagnostic a été porté par des Spécialistes de ces services hospitaliers qui reposent surtout sur des critères cliniques.

1.2.2.2 Répartition des AOMI selon le sexe et l'âge

La répartition des artériopathies des membres inférieurs selon l'âge montre une augmentation de la fréquence suivant l'âge, et que cette augmentation est plus importante chez les hommes que chez les femmes.

Tableau 8 : Répartition des AOMI selon l'âge et le sexe.

	Femmes		Hommes		Total	
	N	%	N	%	N	%
20-29	\	\	\	\	\	\
30-39	1	9.1	2	10.5	3	10
40-49	1	9.1	5	26.3	6	20.0
50-59	2	18.2	4	21.1	6	20.0
≥60	7	63.7	8	42.1	15	50.0
Total	11	100	19	100	30	100

**Figure 14 :** Répartition des AOMI selon l'âge et le sexe.**Figure 15 :** évolution de l'AOMI selon l'âge et le sexe.

2. Méthodes

2.1. Méthodes de dosage des paramètres lipidiques

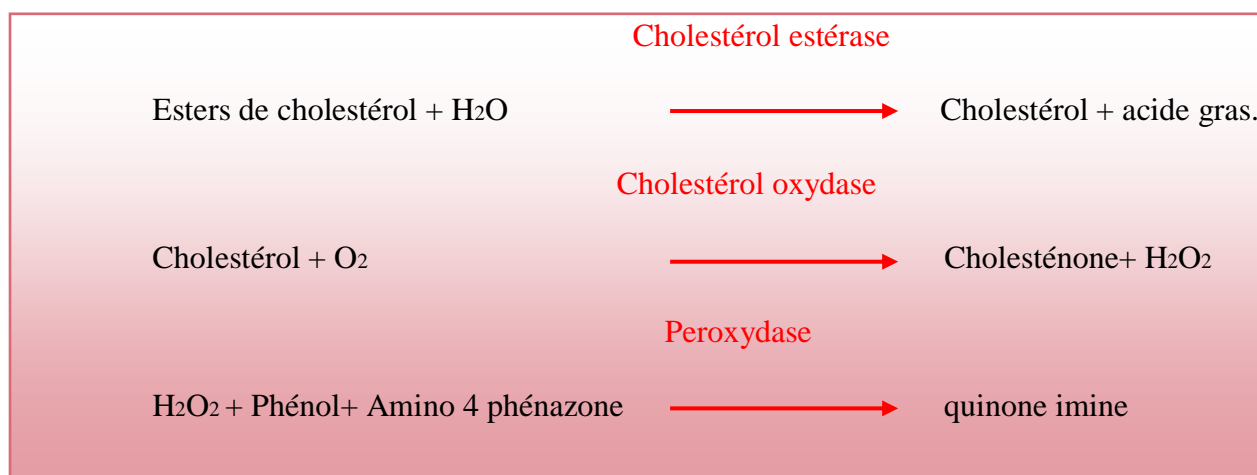
2.1.1. Dosage du cholestérol

Le dosage du cholestérol a été effectué par un auto analyseur de type (ADVIA) suivant une méthode enzymatique (réaction de Trinder) en utilisant des coffrets Bayer.

- **Principe**

Les esters de cholestérol sont hydrolysés par un cholestérol estérase en cholestérol libre et acide gras. Le cholestérol libre produit et celui préexistant sont oxydés par un cholestérol oxydase en cholesténone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxydase, est oxydé en composé coloré (quinone imine).

- **Réaction**



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

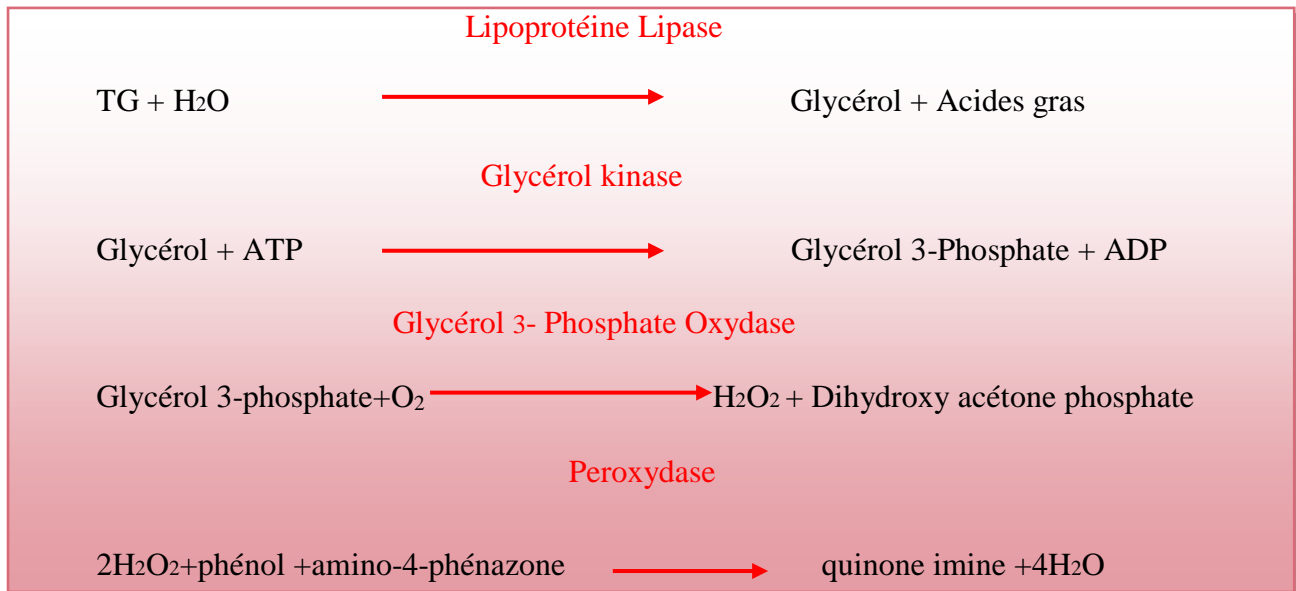
2.1.2. Dosage des triglycérides

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

Principe

La méthode utilisée est basée sur la détermination enzymatique de la glycérophosphate oxydase (GPO) après hydrolyse par la lipoprotéine lipase (113)

- **Réaction**



Comme le cholestérol, l'intensité de la coloration de la quinone imine à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité des triglycérides présentent dans l'échantillon du sérum.

2.1.3. Dosage du cholestérol HDL

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

- **Principe**

Elle est effectuée par précipitation sélective des autres lipoprotéines (LDL, VLDL, CM) grâce au réactif phosphotungstate associé au chlorure de magnésiums, suivie d'une centrifugation du précipité pendant 15 nm à 4000 tours /mn. Le HDL cholestérol (surnagent) est ensuite dosé par la même technique colorimétrique-enzymatique que le cholestérol total (114).

2.1.4. Evaluation du cholestérol des LDL

Le calcul se fait par la formule de Friedewald à condition que les TG soient inférieures à 3.5g/l (4mmol/l) (115).

- Si les résultats sont exprimés en g/l on utilise :

$$\text{Cholestérol LDL} = \text{Cholestérol total} - \text{Cholestérol HDL} - \frac{TG(g/l)}{5}$$

- Si les résultats sont exprimés en mmol/l on utilise :

$$\text{Cholestérol LDL} = \text{Cholestérol total} - \text{Cholestérol HDL} - \frac{TG(mmol/l)}{2.2}$$

- **Contrôle de qualité**

Le contrôle de qualité a été réalisé pour tous les paramètres. Nous avons apprécié ce contrôle par la répétabilité et la reproductibilité.

2.2. Extraction de l'ADN

2.2.1. Principe

De très nombreux procédés d'extraction des acides nucléiques ont été décrits, et des kits sont actuellement proposés par un certain nombre d'industriels. La méthode d'extraction d'ADN utilisée dans notre étude est celle utilisant des solvants non organiques. (La méthode au NaCl).

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 leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN ; pour pouvoir extraire ces leucocytes, le sang doit être initialement mélangé à une solution hypotonique pour permettre la lyse des globules rouges, après récupération des leucocytes, ces derniers vont être traités par un mélange représenté par un détergeant (SDS) et la protéinase K. L'ADN nucléaire est ainsi libéré, une précipitation au NaCl va éliminer les protéines qui lui sont associées et une précipitation avec l'éthanol va former la pelote d'ADN(116).

2.2.2. Prélèvement du sang

Avant qu'on a faire les prélèvements on a questionné les malades sur leurs états civil et bioclinique (annexe 1).

- 5 à 10 ml de sang sont prélevés dans un tube stérile contenant un anticoagulant

EDTA (pour l'extraction d'ADN) et des tubes hépariné (pour le dosage des paramètres lipidiques).

- ✓ Pour le dosage des paramètres lipidique on a utilisé seulement le sérum (Les prélèvements sanguins sont centrifugés pendant 15 min à 4000 rpm).
- ✓ Pour l'extraction d'ADN les manipulations se font sur le sang total.

2.2.3. Etape d'extraction d'ADN

L'extraction d'ADN est une manipulation particulièrement délicate qui s'effectue en plusieurs étapes :

2.2.3.1. Préparation des leucocytes

Pour la préparation des leucocytes on a suivi les étapes suivantes :

- Dans un tube Falcon de 50 ml ; mettre le sang total et compléter à 25 ml avec du Tris EDTA 20 :5. Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 10 min à (4000 rpm)
- Déverser le surnageant.
- Ajouter le TE 20 :5 jusqu'à 30 μ L au culot, agiter et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.
- Déverser le surnageant : obtenir du culot de leucocytes.
- Ajouter du TE 10 :1 .

2.2.3.2. Extraction de l'ADN

Pour l'extraction de l'ADN :

- ✓ Transverser le culot de leucocytes dans un tube falcon de 15 ml.

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

2.2.3.3. Solubilisation

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

2.2.3.4. Dosage des acides nucléiques

- La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées ultérieurement pour cela on est obligée de vérifier la pureté de notre ADN avant de mesurer leur concentration.

L'ADN peut être contaminé par les protéines et l'ARN qui absorbent à 260 nm et 280 nm ou bien par les phénols qui absorbent à 270 nm ; pour cela une dilution au 1/100^{ième} de l'ADN est effectuée, et les DO sont lus à 260 et 280 nm (longueurs d'onde d'absorption des acides nucléiques et des protéines) dans le même type de cuve que celle ayant servi à faire le zéro (eau stérile).

Par le moyen du rapport de DO 260 nm / DO 280nm, la pureté de l'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN ; on considère pour une solution d'ADN double brin que :

- ❖ L'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = DO_{260} / DO_{280}$ est compris entre 1.6 et 2 ($1.6 < R \leq 2$).
- ❖ L'ADN est contaminé par les protéines si : $DO_{260} / DO_{280} < 1.6$
- ❖ L'ADN est contaminé par les ARN si : $DO_{260} / DO_{280} > 2$
- La densité optique à 260 nm permet de calculer la concentration de l'ADN sachant que :

1 unité de DO₂₆₀ nm = 50 µg / ml d'ADN double brin.

- La concentration de l'ADN est déduite grâce au calcul suivant :

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

Sachant que :

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

2.3. Détermination du polymorphisme de l'apo E

Afin d'étudier le polymorphisme de l'apo E on a eu besoin de suivre les étapes suivantes :

- ✓ Amplification de l'ADN (partie contenant le gène ϵ) par PCR (polymérase chaîne réaction) en utilisant les amorces adéquates.
- ✓ Visualisation de l'amplification ;
- ✓ Digestion de l'ADN amplifié par l'enzyme de restriction Hha I ;
- ✓ Séparation des produits de la digestion par migration électrophorétique sur gel de polyacrylamide ;
- ✓ Visualisation aux UV des produits de la digestion.

2.3.1. Amplification d'ADN par réaction de polymérisation (PCR)

La PCR est une technique de biologie moléculaire (118) mise au point en 1985 par Kary Mullis et développée par Henri A. Herlich et ses collaborateurs de la compagnie CETUS (Californie, USA).

Une réaction de PCR correspond à une succession d'une trentaine de cycle comportant chacun trois étapes ; la dénaturation, l'hybridation, et l'élongation. L'ADN contenant le segment à amplifier ; ce dernier est chauffé à une température supérieure à sa T_m (94°C), en présence des composants nécessaires à la réplication afin de séparer les deux brins. Elle est ensuite abaissée graduellement à 65°C pour que les amorces s'hybrident parfaitement avec les extrémités 3' de la séquence à amplifier avec l'ADN dénaturé. La température est ensuite élevée à environ 72°C permettant à la Taq polymérase de commencer l'élongation des amorces.

Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un tube qui sera soumis aux différentes températures correspondantes à chaque étape. Ces cycles de température sont réalisés automatiquement dans un thermocycleur. Ces trois étapes constituent un cycle d'amplification. Le même cycle est répété autant de fois que nécessaire. Dans la pratique le nombre de cycle est environ 30 à 35 cycles (117).

✓ Principe de la PCR

La Polymérase Chain Réaction permet l'amplification d'un segment d'ADN compris entre deux régions de séquences connues par un procédé d'extension d'amorce. Elle consiste à utiliser deux amorces oligonucléotidiques de synthèse de 20 à 25 nucléotides complémentaires des extrémités 3' des deux brins d'ADN encadrant la séquence à amplifier.

Une de ces amorces est une copie du brin codant et l'autre, une copie du brin non codant. Sous l'action d'une enzyme (Taq. polymérase), chaque amorce est allongée dans le sens 5'→ 3'd'une séquence exactement complémentaire du brin copié. La répétition des cycles aboutit à une amplification exponentielle de la séquence cible considérée.

2.3.1.1. Préparation du milieu réactionnel (ou Mix) de PCR

Le milieu réactionnel qu'on a préparé comporte les conditions nécessaires pour l'amplification du gène de l'apo E (Tableau 9).

Tableau 9 : les composantes de Mix.

Mix de PCR	Quantité en μl
Tampon de Taq10x	7 μl
DMSO	7 μl
Mix de d NTP 25mM (1/10)	6 μl (200 μM)
Taq polymérase 2.5 μ	0,5 μl
Mg Cl ₂ 50 mM	3 μl
OG solution mère 0,93mM	1,2 μl (0,6 μM)
OD solution mère 1,1mM	1 μl (0,6 μM)
H ₂ O q. s. p 75 μl	47,3 μl

Les volumes du milieu réactionnel ont été multipliés par le nombre des tubes qu'on a ; sauf les volumes correspondants aux Taq polymérase et l'ADN (2 μL / à 250 n g / μL) qui ont été ajouté à la fin, pour le tube témoin on met uniquement le mix sans ADN.

Le gène de l'apo E a été amplifié par PCR avec deux amorces encadrant la région comprenant les deux codons polymorphes des acides aminés 112 et 158 de l'apo E (103) ; les deux amorces utilisées sont :

OD : 5'-ATG GCG CTG AGG CCG CGC TC - 3'

OG : 5'-AAC AAC TGA CCC CGG TGG CG -3'

2.3.1.2. Les Cycles de PCR

Après avoir préparé le mix du PCR ; nous avons pris 72.5 μ l de ce mélange avec 0.5 μ l de Taq polymérase et 2 μ l d'ADN dans chaque tube, à la fin on met ces tubes fermé dans le thermocycleur, le déroulement des cycles a été effectué comme suite :

- . 5' à 94°C
 - . 3' à 65°C
 - . 50s à 72°C
 - . 50s à 94°C
 - . 50s à 65°C
- } 35 cycles
- . 5' à 72 °C
 - . 10' à 10° C

2.3.2. Visualisation de l'amplification

Cette étape est très importante afin de contrôler les tailles des fragments amplifiés et l'inexistence d'une contamination c'est-à-dire le déroulement normal de la PCR.

La visualisation a été effectuée par une électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% additionné de 10 μ l de BET (bromure d'éthidium) et coulé sur plaque d'une cuve horizontale (figure 16)

10 μ l de la solution d'ADN amplifié ont été déposés dans chaque puits d'un gel d'agarose à 1.5 % soumis à une migration sous un courant de 90 volts pendant 1 h.

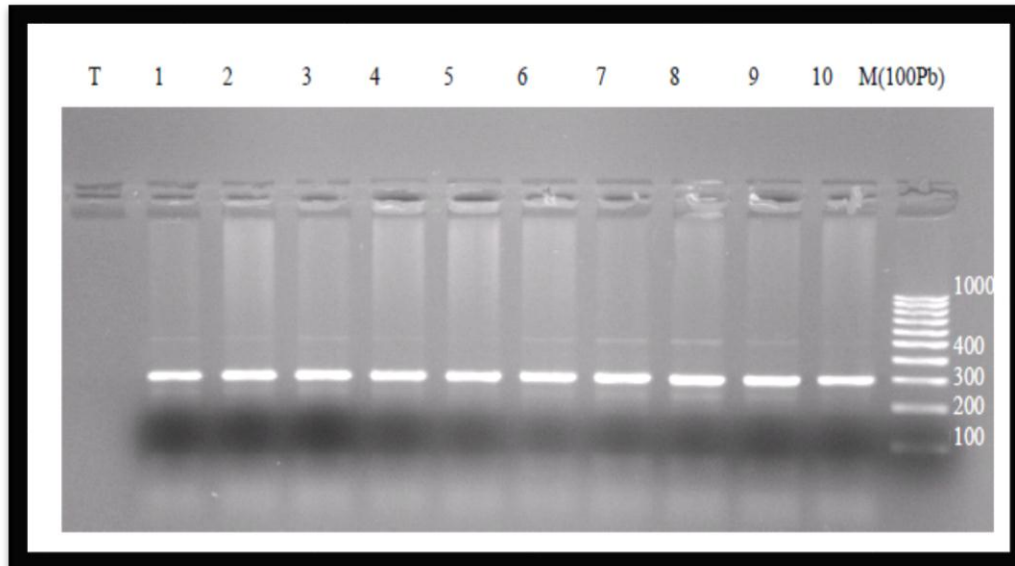


Figure 16 : profil d'électrophorese sur gel d'agarose 1.5% des fragment amplifiés (292pb) par PCR.

2.3.3. Digestion du gène de l'apo E amplifié par l'enzyme de restriction Hha I

L'Hha I est une enzyme de restriction produite par *Haemophilus heamolyticus*. Elle reconnaît et clive la séquence GCG C codant pour les arginines en position 112 et 158 (figure 17) ; Son action n'est possible que lorsque des arginines figurent en 112 ou 158 parce que celles-ci sont ici codées par la séquence CGC et que ces deux locus sont précédés tous les deux d'un codon se termine par G.

Chacune des isoformes de l'Apo E se distingue par une combinaison unique de polymorphisme des longueurs de fragments de restriction (RFLP) issus par clivage de HhaI et possédant différentes tailles (Figure18).

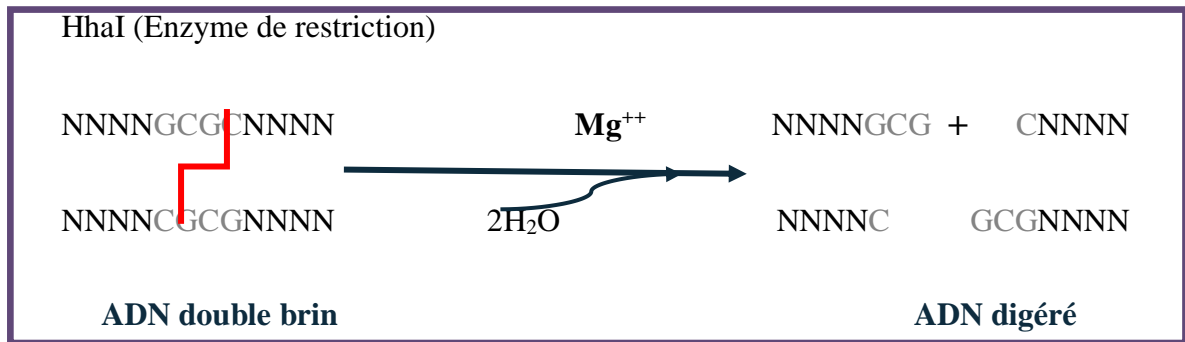


Figure 17 : site de restriction par l'enzyme HhaI.

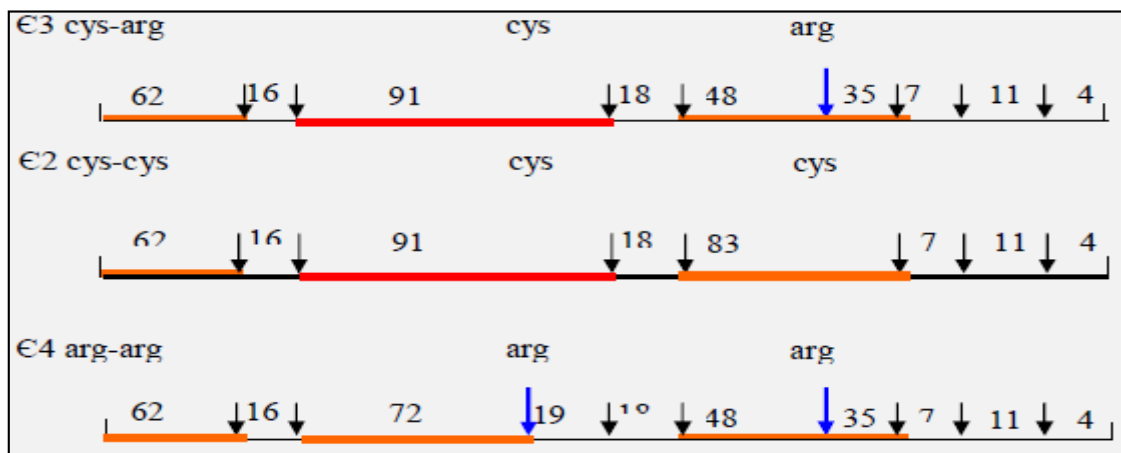


Figure 18 : Digestion par Hha I des trois allèles.

Les manipulations se font sur le glas ; Pour un volume totale de 25 μ l on prépare le mix pour (n+1) tubes :

- Tampon 2.5 μ l
 - Hha I (10 unités) 1 μ l
 - H₂O qsp 10 μ l 6.5 μ l
- X (n + 1)

- Répartition de 10 μ l de mixte dans chaque tube
- Ajouter 15 μ l 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.

2.3.4. 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 du 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 10 % (0.01 g dans 100 μ l H₂O).
- Monter le support de gel
- Addition de persulfate d'ammonium et temed juste avant de couler le gel
 - 50 μ l de persulfate/10ml (350 μ l)
 - 10 μ l de temed/10ml (70 μ l)
- Homogénéiser, couler immédiatement en versant le contenu de béccher entre les plaques de verre par une seringue en ayant pris soin de ne pas faire les bulles et placer le peigne plat afin de former les puits, laisser polymériser à température ambiante pendant 1h à 1h 30min.

✓ Dépôts des échantillons :

Quand le gel est polymérisé, plonger le système (gel + électrodes) dans la cuve verticale contenant un volume (450 ml) du tampon Tris Borate EDTA (TBE 1X) ; Oter le peigne et déposer délicatement au fond de chaque puits un échantillon (15 μ l de produits de digestion avec 2 à 3 μ l de Bleu d'acrylamide) ou marqueur (2 μ l de marqueur (PM 20 p b LADDER ref.018206) avec 2 à 3 μ l de Bleu d'acrylamide).

✓ **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.

✓ **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. (Tableau 10 et figure.19)

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

E3/E3	E2/E2	E4/E4	E3/E2	E4/E2	E3/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

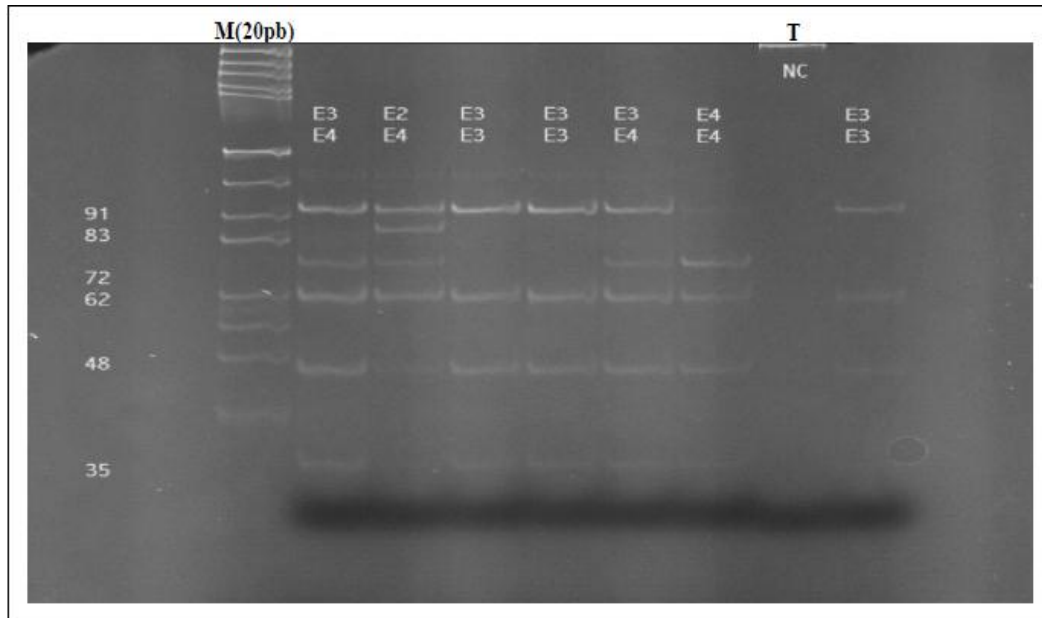


Figure 19: Profil d'électrophorèse sur gel d'acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI présentant différents génotypes d'Apo E.

2.4. Statistique descriptive

Dans cette étude descriptive nous avons utilisé :

- Le calcul de la moyenne arithmétique et l'écart type ;

$$Xa = \frac{\sum x}{na}$$

$$S_a^2 = \frac{\sum (x-xa)^2}{na-1}$$

Les variables quantitatives sont décrites par la moyenne \pm 1 écart type, sauf exception qu'on précisera dans le texte.

2.5. Calcul de l'odds ration

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	
Exposés (E+)	a	b	a+b
Non exposés (E-)	c	d	c+d
	a+c	b+d	totale

✓ 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 (118).

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.

2.6. 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 sur à 95% de trouver la valeur réelle.

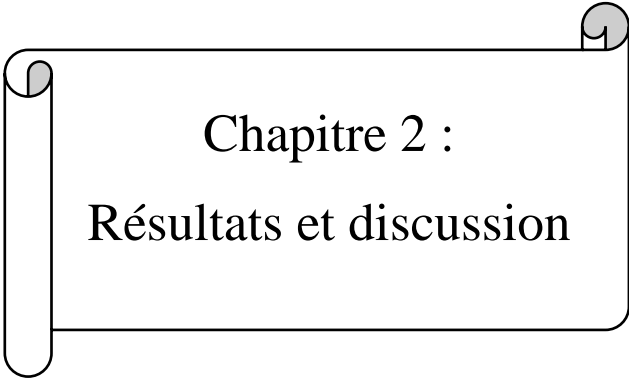
La notion d'un intervalle de confiance repose sur l'idée suivante : Si la même étude était réalisée sur un échantillon différent de patients, les résultats ne seraient pas identiques, mais seraient proches du résultat véritable qui reste inconnu, l'intervalle de confiance estime cette variation due à l'échantillon (119). 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 α) .Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative pour apparemment arbitraire est nécessaire pour l'homogénéité de la présentation des résultats.

L'usage a retenu de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001) qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision.

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 2 :
Résultats et discussion

1. Comparaison des moyennes des paramètres lipidique dans les AOMI et les témoins

1.1. Comparaison des moyennes du cholestérol totale dans les AOMI et témoins

Pour la population témoin, la moyenne de cholestérol totale est de 1.67 ± 0.38 pour les hommes et de 1.82 ± 0.42 pour les femmes, concernant la population présentant une AOMI ; la moyenne est de 1.76 ± 0.4 pour les hommes et de 1.94 ± 0.49 pour les femmes.

Tableau 11 : comparaison des moyennes de cholestérol, dans les AOMI et chez les témoins selon le sexe.

	Témoin	AOMI	P
Hommes	1.67 ± 0.38	1.76 ± 0.4	0.6
Femmes	1.82 ± 0.42	1.94 ± 0.49	0.56

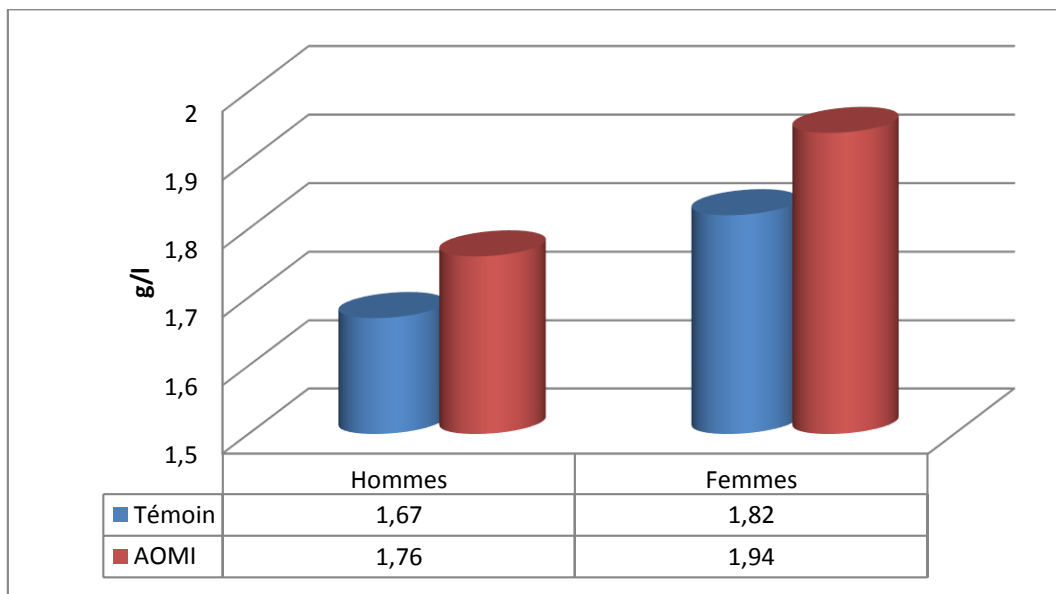


Figure 20 : comparaison des moyennes du cholestérol dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.

On comparant les moyenne de cholestérol ; on remarque qu'il n'existe pas une différence significative ($p=0.6$) entre les moyennes de cholestérol totale dans la population témoin (1.67 ± 0.38) et dans la population présentant une AOMI (1.76 ± 0.4) pour les hommes, aussi pour les femmes il n'existe pas une différence significative ($p=0.56$) ; avec un moyenne de (1.82 ± 0.42) dans la population témoin et de (1.94 ± 0.49) dans la population présentant une AOMI.

On remarque aussi que les taux de cholestérolémie sont plus élevés chez les femmes par rapport aux hommes.

Nos résultats s'accordent avec les études d'Olin et coll (1992) ; ces résultats suggèrent que les patients artéritiques ont, par rapport à la normale, un cholestérol total un peu plus élevé (120), une autre étude rapportée par Juergens et coll. (1960) concernant des patients présentant une AOMI prouve que les concentrations de cholestérolémie variée de 1,97-2,81 g/l (121).

1.2. Comparaison des moyennes des TG dans les AOMI et témoins

Pour la population témoin, la moyenne des TG est de 1.08 ± 0.4 pour les hommes et de 1.05 ± 0.56 pour les femmes, concernant la population présentant une AOMI ; la moyenne est de 1.46 ± 0.7 pour les hommes et de 1.55 ± 0.68 pour les femmes.

Tableau 12 : comparaison des moyennes de triglycérides, dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.

	Témoin	AOMI	P
Hommes	1.08 ± 0.4	1.46 ± 0.7	0.038
Femmes	1.05 ± 0.56	1.55 ± 0.68	0.01

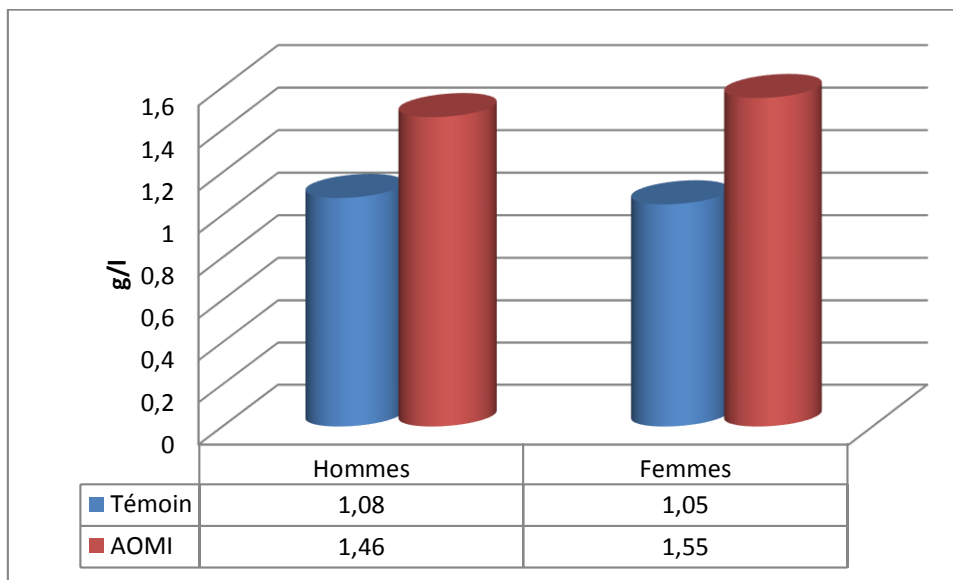


Figure 21 : comparaison des moyennes des triglycérides dans l’AOMI et chez les témoins selon le sexe.

D’après le tableau et la figure on remarque qu’il y a une augmentation du taux de TG chez les femmes et les hommes présentant une AOMI par rapport aux témoins.

Nos résultats montrent qu’il y a une différence moyennement significative ($p=0.038$) des moyennes des TG chez les hommes et plus significative chez les femmes ($p=0.01$) dans les deux populations.

Les résultats que nous avons obtenus s’accordent avec de nombreuses études cas-témoins, les cas sont généralement des sujets présentant une AOMI symptomatique, parmi ces études ; les études font par Olin, Juergens et Kannel; qui montrent que l’augmentation du taux de TG liée à la sévérité de l’AOMI ainsi que les patients artéritiques ont, par rapport à la normale des triglycérides plus élevés avec une concentration variée de 1,54-2,41 g/l(120, 121, 122).

1.3. Comparaison des moyennes de l’HDL-cholestérol dans les AOMI et témoins

Pour la population témoin, la moyenne de l’HDL-cholestérol est de 0.40 ± 0.10 pour les hommes et de 0.46 ± 0.01 pour les femmes, concernant la population présentant une AOMI ; la moyenne est de 0.35 ± 0.011 pour les hommes et de 0.32 ± 0.11 pour les femmes.

Tableau 13 : comparaison des moyennes de HDL-C, dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.

	Témoin	AOMI	P
Hommes	0.40±0.10	0.35±0.011	0.05
Femmes	0.46±0.010	0.32±0.11	0.0002

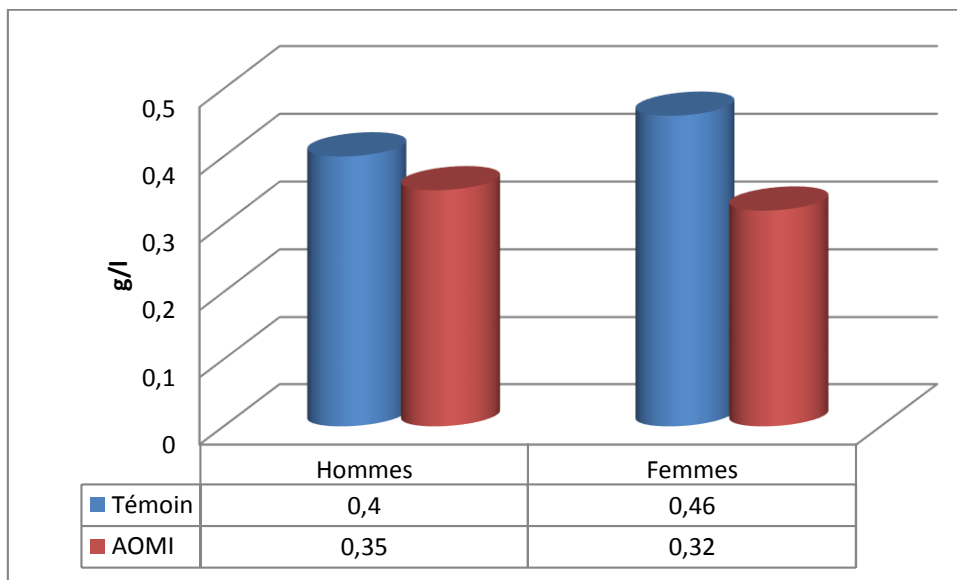


Figure 22 : comparaison des moyennes des HDL-C dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.

On observe qu'il y a une diminution du taux de l'HDL-cholestérol chez les deux sexes présentant une AOMI par rapport aux témoins, et que cette diminution est associée avec des différences significatives des moyennes de l'HDL-cholestérol dans les deux populations d'étude; ces différences sont plus significatives chez les femmes ($p=0.0002$) par rapport aux hommes ($p=0.05$).

La moyenne totale du l'HDL-cholestérol pour la population malade est plus basse que celle de la population témoin. Différentes études confirment qu'une telle diminution des valeurs du HDL-cholestérol est un facteur de risque indépendant des maladies coronariennes pour les sujets d'âge moyen et cela pour les deux sexes (123), alors que l'association inverse des taux de l'HDL et le risque des maladies coronariennes chez les sujets âgés n'est pas retrouvée dans certaines études (124).

Encore les études de prévalence et des comparaisons cas-témoins permettent de retenir que, parmi les lipides sanguins, l'abaissement du taux de HDL-cholestérol et de ses sous-fractions athéroprotectrices (HDL2 ou particules HDL de grande taille) est clairement associé à l'AOMI. Cet abaissement de la concentration en HDL-cholestérol s'associe à une tendance à l'élévation de la triglycéridémie (125,126); cependant, celle-ci, moins constamment retrouvée au cours des différentes études.

1.4. Comparaison des moyennes de l'LDL-cholestérol dans les AOMI et témoins

Pour la population témoin, la moyenne de l'LDL-cholestérol est de 1.06 ± 0.32 pour les hommes et de 1.13 ± 0.31 pour les femmes, concernant la population présentant une AOMI ; la moyenne est de 1.12 ± 0.33 pour les hommes et de 1.30 ± 0.4 pour les femmes.

Tableau 14 : comparaison des moyennes de LDL-C, dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.

	Témoin	AOMI	P
Hommes	1.06 ± 0.32	1.12 ± 0.33	0.05
Femmes	1.13 ± 0.31	1.30 ± 0.4	0.11

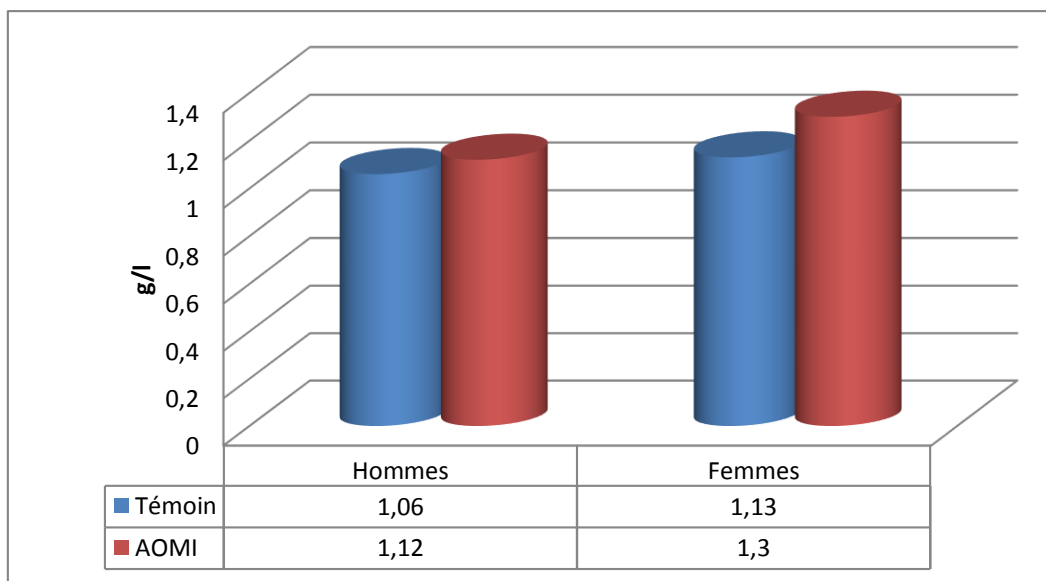


Figure 23 : comparaison des moyennes des LDL-C dans l'AOMI et chez les témoins selon le sexe.

On remarque qu'il n'existe pas des différences significatives des moyennes de l'LDL-cholestérol dans les deux populations et chez les deux sexes ($p>0.05$).

Nos résultats ne s'accordent pas avec les autres études cas-témoin, cela revient au nombre de nos échantillons qui est insuffisant, parmi ces études celle de la NCEP qui a désigné les LDL comme étant la lipoprotéine majeure responsable du risque des maladies cardiovasculaires et la première qui doit être diminuée lors d'un traitement (127).

Encore l'équipe de Welty (128) a montré que la diminution de la concentration du cholestérol LDL est associée à la diminution de la concentration des facteurs de risque hémostatiques ce qui pourrait protéger des complications thrombotiques de l'athérosclérose.

2. Prévalence des différents facteurs de risques dans les AOMI

Parmi les différentes facteurs de risques; nous avons pris en considération les plus connus et les plus quantifiables à savoir chez les AOMI (hypertension artérielle HTA (14/9), diabète non insuline dépendante DNID ($\geq 1.26g/l$) et l'obésité par la mesure de l'indice de masse corporelle (poids en Kg/taille en mètre²) IMC(≥ 29)), 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.

Tableau 15 : Prévalence des facteurs de risque dans les AOMI.

	AOMI		
	Hommes N=11	Femmes N=19	Total N=30
HTA 14/9	9.09%	5.26%	6.67%
DNID ≥ 1.26	81.82%	5.26%	33.33%
IMC ≥ 29	9.09%	15.79%	13.33%

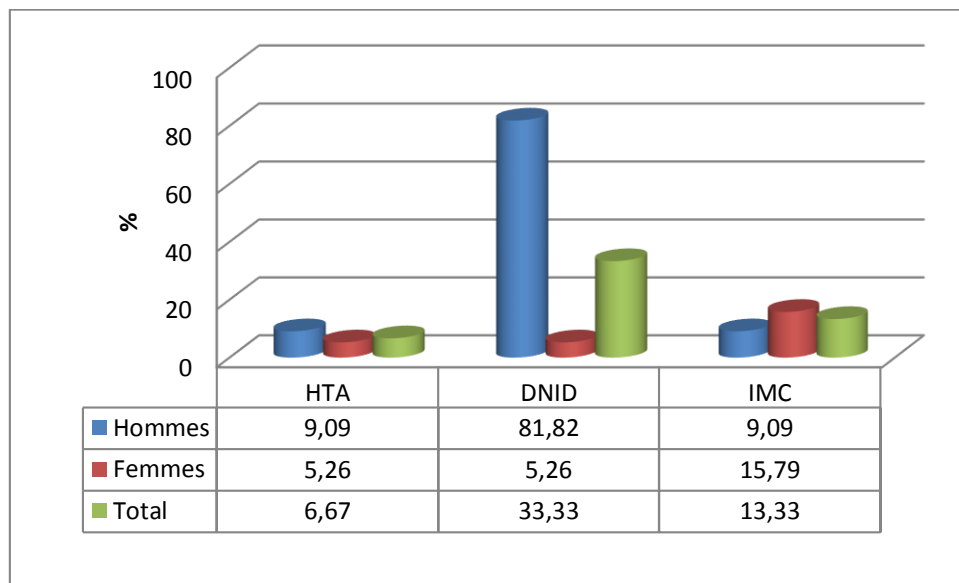


Figure 24 : Prévalence des facteurs de risque dans les AOMI.

D'après nos résultats; on remarque que le facteur de risque le plus important chez les hommes (N=11) est le DNID avec une prévalence de 81.82%, suivie par l'HTA et l'obésité avec une prévalence similaire dans les deux facteurs (9.09%), cependant chez les femmes (N=19) le facteur le plus important est l'obésité (IMC) avec une prévalence de 15.79%, suivie par le DNID et l'HTA avec une prévalence de 5.26%, pourtant chez la population malade en général(N=30) on observe que le DNID est le facteur de risque le plus important chez les AOMI avec une prévalence de 33.33% suivie par l'obésité (13.33%) puis l'HTA (6.67%).

➤ hypertension artérielle HTA

La prévalence de l'HTA dans l'ensemble de la population présentant une AOMI est 6.67%.

Les résultats que nous avons obtenus montrent qu'il n'existe pas une forte relation entre l'hypertension artérielle(HTA) et l'AOMI, plusieurs auteurs ne trouvent pas d'association entre les artériopathies des membres inférieurs et l'hypertension artérielles (129, 130,131), d'autres retrouvent une association uniquement avec la pression systolique (132,133) ; cependant selon l'étude de Dr. Khodja qu'il a constaté que Par comparaison avec la population témoin il existe une différence significative entre les artériopathies des membres inférieurs et l'hypertension artérielle (31.7% contre 20.8%)(134).

➤ **Diabète**

La prévalence du diabète dans l'ensemble de la population présentant une AOMI est 33.33%.

Les résultats que nous avons obtenus montrent qu'il y a une forte relation entre le DNID et l'AOMI; cette relation est très prépondérante chez les hommes (81.82%) que chez les femmes (5.26%), nos résultats s'accordent avec les autres études, en France; dans l'étude CODIAB incluant 427 diabétiques de type 2, la prévalence est similaire à 19,4% dont 6,3% de formes modérés à sévères (135).de plus l'étude UKPDS a montré que le risque de survenue de l'AOMI était corrélé au niveau d'hyperglycémie, une augmentation de 1% de l'HBa1C augmentait de 28% le risque de d'AOMI à 10 ans (136).

➤ **L'obésité**

L'obésité est le deuxième facteur de risque après le DNID avec une prévalence dans l'ensemble de la population présentant une AOMI de 13.33%.

On remarque qu'il y a une faible relation entre l'obésité et l'AOMI, nos résultats s'accordent avec les autre études, parmi ces études celle de Dr Khodja qui montre qu'il n'y a pas de différence importante dans la fréquence de l'obésité chez les malades d'artériopathies des membres inférieurs 21.3% chez les malades contre 19.7% dans la population témoin(134).

3. Fréquences génotypiques de l'apoE dans La population témoin et dans les AOMI

3.1. Fréquences génotypiques de l'apoE dans la population témoin

Nos résultats montrent que le génotype (ϵ_3/ϵ_3) est le plus fréquent dans les témoins il représente 76,4% suivie par ϵ_3/ϵ_4 (13,9%), ϵ_2/ϵ_3 (8,3%) respectivement, le génotype le moins fréquent (1,4%) est ϵ_2/ϵ_2 , les génotypes ϵ_4/ϵ_4 et ϵ_2/ϵ_4 ne sont pas présentes dans notre étude.

Tableau 16 : fréquences génotypiques de l'Apo E dans les AOMI et dans la population témoins.

	Population générale		AOMI	
	n	%	n	%
E3/E3	55	76.4	22	73.3
E3/E4	10	13.9	6	20
E2/E3	6	8.3	2	6.7
E2/E4	/	/	/	/
E4/E4	/	/	/	/
E2/E2	1	1.4	/	/
Total	72	100	30	100

On remarque d'après les résultats que nous avons obtenues que le génotype ϵ_3/ϵ_3 est le plus fréquent dans la population générale, cette résultats s'accordent avec toutes les études effectuées à travers le monde, parmi ces études on trouve celle de : l'Allemagne avec une fréquence de 62.2%(137), Türkiye 69.05%(138), France 64.3 (139), Maroc 67.3% (140), Kuwait 73.6%(141), Arabie Saoudite 71%(142), Tunisie 71.2%(143), la Chine 70.9%(144) et plusieurs autres.

3.2. Fréquences génotypiques de l'apoE dans les AOMI

Nos résultats montrent que le génotype (ϵ_3/ϵ_3) est le plus fréquent dans les AOMI il représente 73,3% suivie par ϵ_3/ϵ_4 (20%), ϵ_2/ϵ_3 (6.7%) respectivement, les génotypes ϵ_4/ϵ_4 , ϵ_2/ϵ_4 et ϵ_2/ϵ_2 ne sont pas présentes dans notre étude.

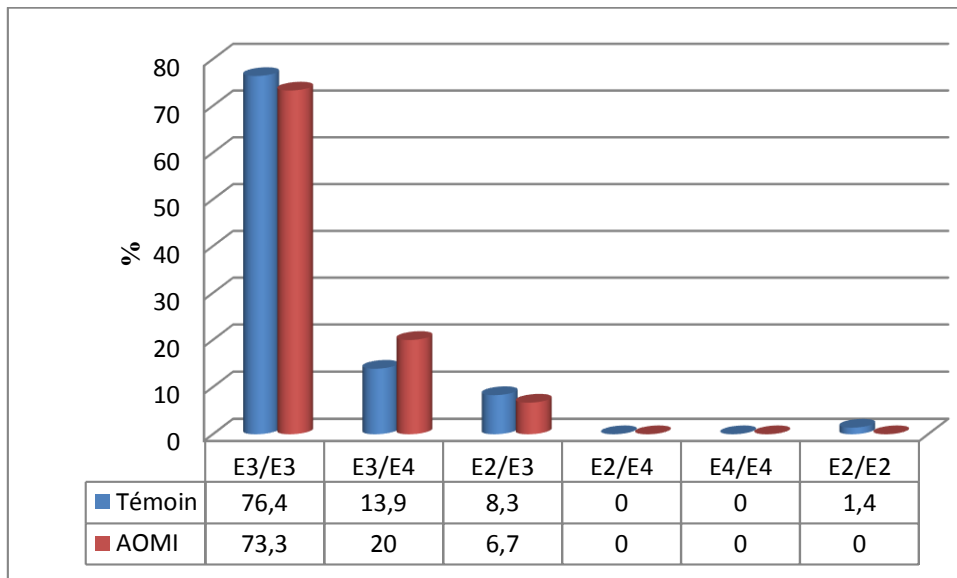


Figure 25 : Fréquences génotypiques de l'Apo E dans les AOMI et dans les témoins.

On remarque d'après les résultats que nous avons obtenus que les distributions des fréquences génotypiques de l'apoE dans les AOMI présente le même ordre décroissante que celui des témoins, mais avec des fréquences différentes.

Les génotypes ϵ_3/ϵ_3 et ϵ_2/ϵ_3 sont plus fréquentes dans la population témoin par rapport à la population présentant une AOMI cela revient au nombre de notre échantillons qui est insuffisant, cependant le génotype ϵ_3/ϵ_4 est plus fréquent dans les AOMI par rapport aux témoins, les génotypes ϵ_2/ϵ_4 , ϵ_4/ϵ_4 et ϵ_2/ϵ_2 n'existe pas dans notre étude.

Nos résultats s'accordent avec l'étude réalisée par Dr Khodja qui a montrée que Dans les AOMI le même ordre décroissant des fréquences génotypiques est constaté avec des fréquences presque identiques à celles des témoins, le génotype ϵ_3/ϵ_4 est plus fréquent dans le groupe des AOMI, il est augmenté légèrement de 1.2 % (par rapport à celui des témoins), cependant les génotypes ϵ_4/ϵ_4 , ϵ_2/ϵ_2 et ϵ_2/ϵ_4 ne sont pas représentés dans les AOMI (134).

4. Fréquences alléliques de l'apoE dans la population témoin et dans les AOMI

4.1. Fréquences alléliques de l'apoE dans la population témoin

Tableau17 : Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population témoin et dans les AOMI.

	témoin		AOMI	
	n	%	n	%
E2	8	5.6	2	33.3
E3	126	87.5	52	86.66
E4	10	6.9	6	10

Notre étude montre que l'allèle $\epsilon 3$ est le plus fréquente dans la population témoin avec une fréquence de 87.5% suivie de loin par les allèles $\epsilon 4$ (6.9%) et $\epsilon 2$ (5.6%), cette résultat est compatible avec plusieurs études parmi ces études celle de Constantine réalisé par Dr Khodja, de l'Italie, de l'Espagne, du France, du Türkiye, aussi à celle de Maroc, par contre elle différent à celle du Finlande, du Soudan et du Nigeria où l'allèle $\epsilon 4$ est deux fois plus que dans les autre études(tableau 18).

Tableau 18 : Fréquences alléliques de l'Apo E dans différentes populations

populations	$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$	références
Constantine1	5%	84.3%	10.7%	134
Italie	7.3%	82.7%	10%	145
Espagne	5.7%	81.1%	7.1%	146
France	6.1%	80.2%	11.7%	137
Türkiye	8.3%	83.3%	8.4%	138
Maroc	5%	84%	11%	140
Finlande	4.1%	73.3%	22.7%	147
Soudan	8.3%	62.6%	29.1%	147
Nigeria	2.7%	66.7%	29.7%	147
Constantine2	5.6%	87.5%	6.9%	Cette série

4.2. Fréquences alléliques de l'apoE dans les AOMI

On remarque que l'allèle ϵ_3 est le plus fréquente dans les AOMI avec une fréquence de 86.7% suivie de loin par les allèles ϵ_4 (10%) et ϵ_2 (3.3%).

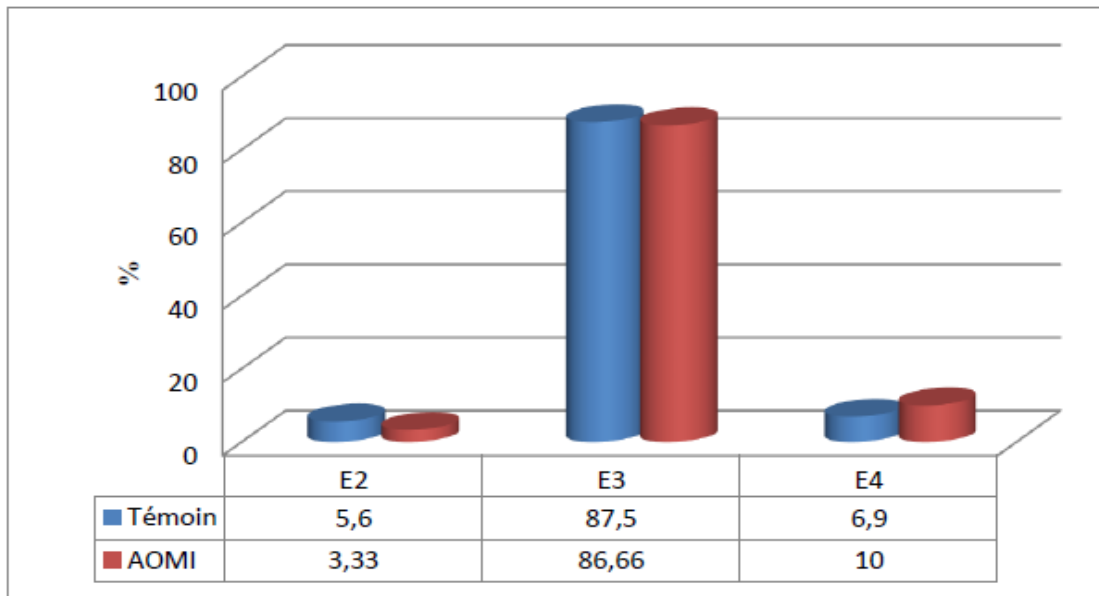


Figure 26 : Fréquences alléliques de l'apoE dans la population de Constantine et dans les AOMI.

Nos résultats montrent que Les fréquences alléliques de l'apoE dans les artériopathies oblitérantes des membres inférieurs ne présentent presque aucune différence significative par rapport aux témoins, l'allèle ϵ_3 est presque similaire dans les deux populations (87.5% vs 86.7%), l'allèle ϵ_2 est un peu plus fréquent dans les témoins par rapport aux AOMI (5.6% vs 3.3%), l'allèle ϵ_4 est plus fréquent dans les AOMI par rapport aux témoins (10% vs 6.9%).

Plusieurs études ont établi le lien entre l'allèle ϵ_4 et l'élévation du risque des maladies cardiovasculaires (140) En Europe, Gerdes et coll. (147) 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 (148).

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 ϵ_4 (100) il est proportionnelle à la fréquence de l'allèle ϵ_4 et diffère d'un pays à l'autre (149).

5. Impact du génotype de l'apoE sur les paramètres lipidiques chez les porteurs des E2/E3, E3/E4 et E3/E3

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

Tableau 19: impact du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez Les porteurs d' $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ et $\epsilon 3/\epsilon 3$.

	E2 / E3	E3 / E3	E3/E4	E2/E3 vs E3/E3	E3/E3 vs E3/E4
Cholestérol	1.6±0.3	1.80±0.42	1.85±0.41	<1%	<1%
TG	1.14±0.45	1.10±0.38	1.18±0.35	ns	ns
HDL	0.46±0.10	0.42±0.6	0.39±0.11	ns	ns
LDL	0.9±0.35	1.12±0.31	1.22±0.34	<1%	<1%

5.1. Cholestérol et LDL-Cholestérol

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 19).

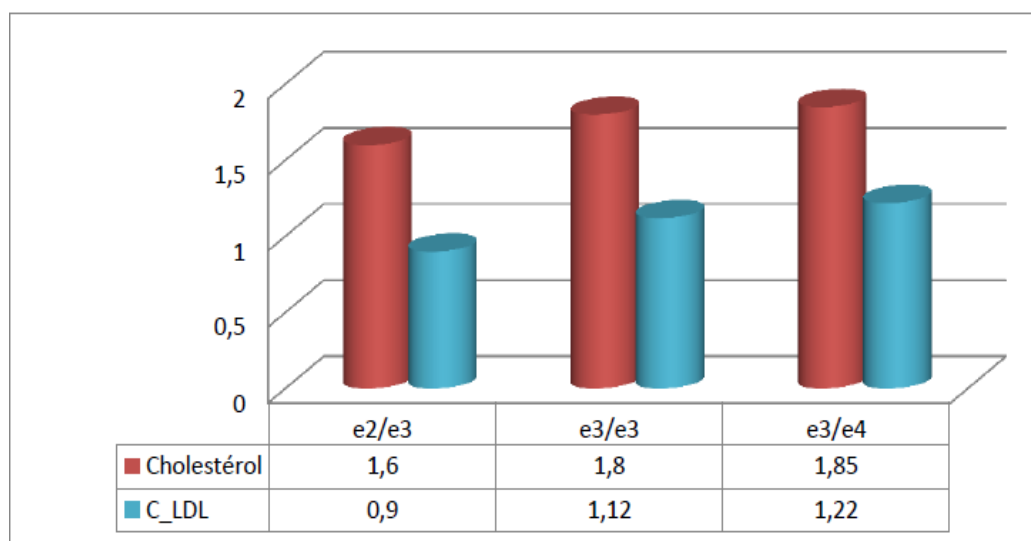


Figure 27 : impact du génotype de l'Apo E sur le cholestérol et C_LDL chez Les porteurs de : $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ et $\epsilon 3/\epsilon 3$.

Chez les sujets ϵ_3/ϵ_3 50% des IDL (VLDL2) sont converties en LDL, alors que chez les ϵ_4/ϵ_4 70% sont converties (96). Les sujets ϵ_2/ϵ_3 ont des taux de cholestérol et C-LDL significativement diminués par rapport à ϵ_3/ϵ_3 , et les sujets ϵ_3/ϵ_4 ont des taux de cholestérol et C-LDL significativement augmentées par rapport à ϵ_3/ϵ_3 , ceci montrent l'influence des allèles ϵ_2 et ϵ_4 sur les niveaux de cholestérol et de LDL cholestérol (Tableau 19).

Chez les sujets ϵ_4 , les chylomicrons et les VLDL sont hydrolysée rapidement l'apport du cholestérol au niveau hépatique provoque une inhibition de la synthèse du récepteur des LDL et une diminution du captage des LDL ce qui entraîne une augmentation de la concentration plasmatique (150).

Il y a aussi des populations où il n'y a pas de différence entre les niveaux de LDL-C entre les phénotypes ϵ_4/ϵ_3 et ϵ_3/ϵ_3 comme au Soudan (151).

Comparativement au phénotype ϵ_3/ϵ_3 , les phénotypes ϵ_3/ϵ_2 et ϵ_2/ϵ_2 sont associées avec des concentrations diminuées du LDL C, cholestérol total, et apoB et à l'inverse pour les phénotypes ϵ_4/ϵ_4 et ϵ_4/ϵ_3 (96)

Utermann *et al*, avaient été les premiers à rapporter que les porteurs de l'allèle ϵ_2 avaient des taux plus bas de cholestérol et de LDL-C plasmatiques que les porteurs de l'allèle ϵ_3 (phénotype ϵ_3/ϵ_3) (148).

5.2. Les triglycérides TG

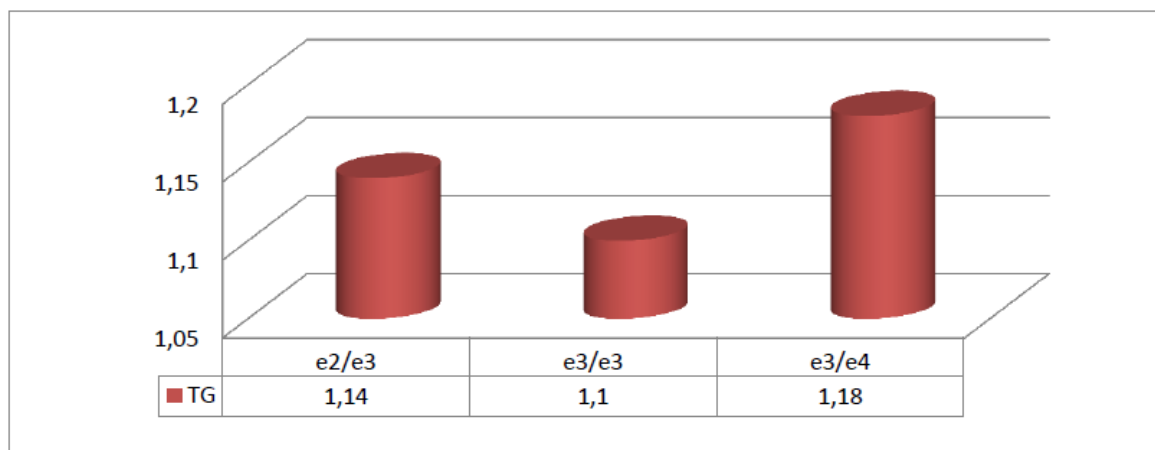


Figure 28 : impact du génotype de l'Apo E sur les triglycérides chez Les porteurs de : e_2/e_3 , e_3/e_4 et e_3/e_3 .

Notre étude ne retrouve pas de différence significative du TG entre les différents génotypes. Une méta-analyse menée par Jean Dallongeville (148) confirme 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.

5.3. Le Cholestérol HDL

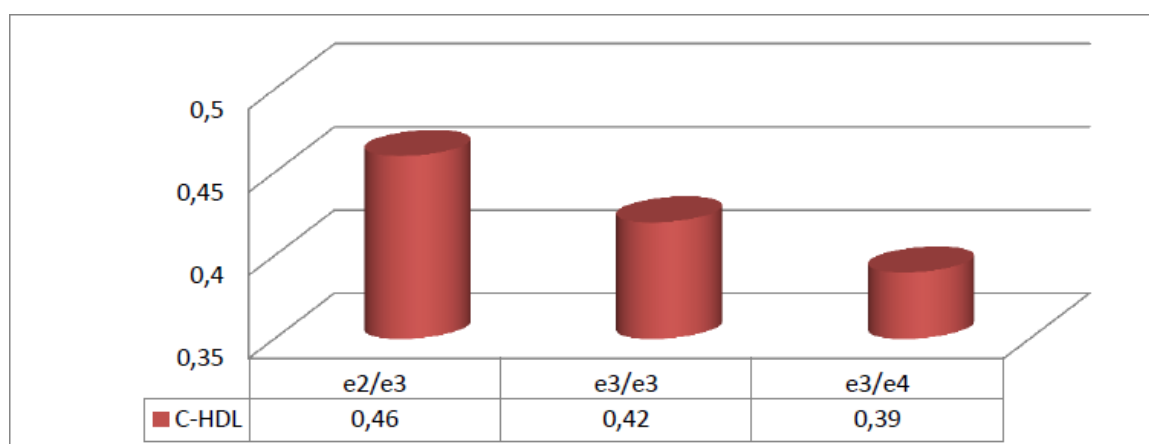


Figure 29 : impact du génotype de l'Apo E sur les triglycérides chez Les porteurs de : e2/e3, e3/e4 et e3/e3.

Notre étude ne retrouve pas de différence significative du C-HDL entre les différents génotypes. Le C-HDL des sujets $\epsilon 3/\epsilon 4$ est diminué par rapport aux sujets $\epsilon 3/\epsilon 3$ mais non de façon significative (Tableau 19).

6. Calcul des odds ratio des sujets présentant une AOMI ayant un allèle $\epsilon 4$ et un allèle $\epsilon 2$ par rapport aux témoins ayant un génotype E3/E3

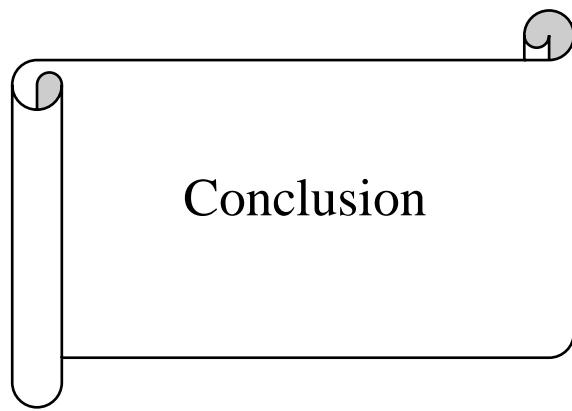
Le calcul de l'odds ratio entre des sujets présentant une AOMI ayant les génotypes $\epsilon 2/\epsilon 3$ et $\epsilon 3/\epsilon 4$ vis-à-vis des témoins ayant un génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$; permis de donner une idée sur l'association entre la survenue de l'AOMI et l'allèle $\epsilon 4$.

Tableau 20: Calcul des odds ratio des sujets malades (AOMI) ayant un allèle $\epsilon 4$ par rapport aux témoins ayant un génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$.

	Odds ratio	p
E2/E3 vs E3/E3	0.83 (0.11<OR<5.15)	ns
E3/E4 vs E3/E3	0.47 (0.42<OR<5.24)	ns

Les résultats que nous avons obtenue (un odds ration de 0.83 avec un IC de [0.11-5.15] concernant les AOMI $\epsilon 2/\epsilon 3$ vs des témoins $\epsilon 3/\epsilon 3$ et de 0.47 avec un IC de [0.42-5.24] pour les AOMI $\epsilon 3/\epsilon 4$ vs des témoins $\epsilon 3/\epsilon 3$) montrent qu'il n'existe pas une association significative ($p > 0.05$) entre l'allèle $\epsilon 4$ et l'allèle $\epsilon 2$ vis-à-vis la survenue de l'AOMI.

Nos résultats ne s'accordent pas avec les autres études qui prouvent que le risque cardiovasculaire relatif (odds ratio) associée à l'allèle $\epsilon 2$ était de 0,98 et non significatif (IC = 0,85-1,14), alors qu'il était de 1,26 et significatif (IC = 1,14-1,46, $p < 0,05$) pour l'allèle $\epsilon 4$ (102) ; cela revient au nombre de notre échantillons qui est insuffisant.



Conclusion

Conclusion

L'étude que nous avons entreprise est une étude transversale de type cas témoin concernant 102 individus répartis en deux groupes, une population malade présente un artériopathie oblitérante des membres inférieurs AOMI (N=30), et une population témoin (N=72) ; elle concerne principalement la détermination du polymorphisme de l'apoE chez les AOMI.

L'étude des paramètres lipidiques chez les individus présentant une AOMI par comparaison aux témoins montre qu'il y a une association significative entre les triglycérides et le cholestérol-LDL et cette maladie.

L'étude de la prévalence des facteurs de risque dans les AOMI montre que le diabète de type 2 DNID est le facteur de risque le plus fréquent (33.33%) chez les AOMI, suivie par l'obésité (13.33%) et l'hypertension artérielle (6.67%) respectivement.

Le génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$ est le plus fréquent chez les AOMI ; il représente 73,3% suivie par $\epsilon 3/\epsilon 4$ (20%), $\epsilon 2/\epsilon 3$ (6.7%) respectivement, cependant l'allèle $\epsilon 3$ est le plus fréquente dans les AOMI avec une fréquence de 86.7% suivie de loin par les allèles $\epsilon 4$ (10%) et $\epsilon 2$ (3.3%), la prédominance de l'allèle $\epsilon 3$ et de génotype $\epsilon 3/\epsilon 3$ est prouvée dans tout les études effectuées à travers le monde.

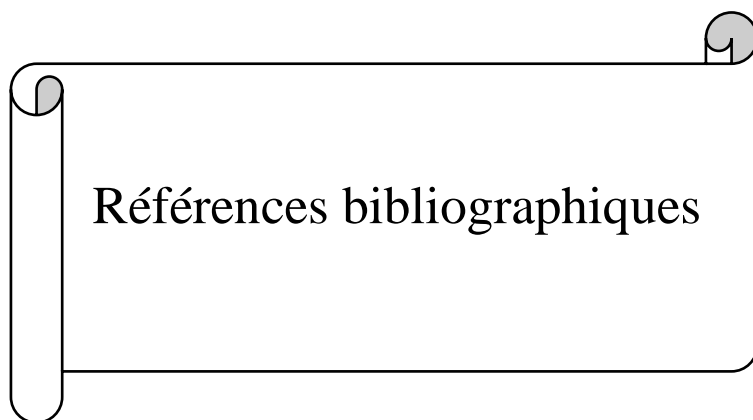
La fréquence de l'allèle $\epsilon 2$ dans les AOMI (3.3%) par rapport aux témoins (5.6%) ; nos résultats laissent à penser que l'allèle $\epsilon 2$ exerce un effet protecteur vis-à-vis de la survenue de l'AOMI.

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

Le calcul de l'odds ratio montre qu'il n'existe pas une association significative ($p > 0.05$) entre l'allèle $\epsilon 4$ et l'allèle $\epsilon 2$ vis-à-vis la survenue de l'AOMI.

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. Selon notre étude l'allèle $\epsilon 4$ n'a aucune association avec la survenue de l'AOMI, tandis qu'elle est associée avec des concentrations plasmatiques en lipides élevées, cependant l'allèle $\epsilon 2$ est associé à des concentrations plutôt basses.



Références bibliographiques

Références bibliographique :

1. **Dominiczak M H. Caslake M J.** (2011). Apolipoproteins: metabolic role and clinical biochemistry applications. *Annals of clinical biochemistry.* **48** ; 498-515 (lien Pubmed).
2. **Sztajzel R. Poli L. Turley ML.** (2004). Les dyslipidémies. Médecine-Sciences Flammarion.
3. **Bogard M. Lamoril J.** (2000). Biologie moléculaire en biologie clinique III Applications en génétique. Option Bio. www.Elsevier.org.
4. **Utermann G. Hees M. Steinmetz A.** (1977). Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. *Nat* **269**:604-7
5. **Guérard L et al.** (1999). L'insuffisance cardiaque à Montréal-Centre: les faits saillants. Direction de la santé publique de Montréal-Centre.
6. **Rubins H B. et al.** (1999). Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high Density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med.***341(6)**: p.410-8.
7. **MARTIN G. et al.** (2001). Statin-induced inhibition of the Rho-signalling pathway activates PAR alpha and induces HDL apoA-I. *J Clin Invest.* **107(11)**: p. 1423-32.
8. **Slater J. V Rill.** (2004). Coronary artery disease: new insights into the pathophysiology, prevalence, and early detection of a monster menace. *Semin Ultrasound CT MR.* **25(2)**: p. 113-21.
9. **Murray C J. A D Lopez.** (1997). Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *Lancet.* **349(9061)**: p. 1269-76

10. **JF .Bouley.** (1831). claudication intermittente des membres posterieurs déterminée par l'obliteration des artères fémorales .Rec Med Vet. ; **8** :517.
11. **BC.Brodie.** (1846). lecture illustrative of various subjects in pathology and surgery. London. A Spottis Wood.
12. **JM Charcot.** (1858). sur la claudication intermittente observée dans un cas d'obliteration complète de l'une des artères iliaques primitive .CR Soc Biol (paris) ; **5** :225.
13. **Haute Autorité de Santé.** (2006). Prise en charge de l'artériopathie chronique oblitérant athérosclérose des membres inférieurs – Indications médicamenteuses, de revascularisation et de rééducation.
14. **Belhadj N.** (2015). Prévalence de l'artériopathie oblitérant des membres inférieurs dans la commune de Sidi Bel Abbès. Thèse de doctorat en sciences médicales soutenue publiquement à la faculté de Sidi Bel Abbès.
15. **Zekri S. Hatri A. Kessal F et al.** (2007). Dépistage précoce de l'artériopathie oblitérant des membres inférieurs du diabétique. Angéiologie; **59(4)**:44-9.
16. **Khellaf N.** (2013). Prévalence de l'artériopathie oblitérant des membres inférieurs chez le coronarien algérien. Thèse de doctorat en sciences médicales soutenue publiquement à la faculté d'Alger.
17. Société française de chirurgie thoracique et cardio-vasculaire. www.sfctcv.org.
18. www.fedecardio.org.
19. **laura Reimeringer.** (2015). BUPHA-T-2015-REIMERINGER-LAURA. Place actuelle des antiagrégants plaquettaires et Des AVK dans l'artérite des membres inférieurs a partir D'une revue de la littérature. **5** : p77.

20. **Fontaine R. Kim M. Kiény R.** (1954). Surgical treatment of peripheral circulation disorders. *Helv. Chir Acta.*; **21(5-6)**: 499-533.
21. **Rutherford RB. et al.** (1997). Classification de l'AOMI selon Fontaine et Rutherford. *J Vasc. Surg* : 26:517-38.
22. **Norgren L. Hiatt WR. Dormandy JA et al.** (2007). On behalf of the TASC II Working group. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASCII). *Eur Vasc Endovasc Surg*; **33** (Suppl 1):S1-75.
23. **Dormandy JA. Rutherford RB.** (2000). Management of peripheral arterial disease. Working Group. Trans Atlantic Inter-Society Consensus (TASC). *J Vasc Surg*; **31**:S1-296.
24. **The Task Force on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Artery Disease of the European Society of Cardiology (ESC).** *European Heart Journal*. **32**: 2851-2906.
25. **Thompson MM. Sayers RD. Varty K. et al.** (1993). Chronic critical leg ischaemia must be redefined. *Eur J Vasc Surg*; **7**: 420-6.
26. **Price JF. Mowbray PI. Lee AJ. Rumley A. Lowe GD. Fowkes FG.** (1999). Relationship between smoking and cardiovascular risk factors in the development of peripheral arterial disease and coronary artery disease : Edinburgh Artery Study. *Eur Heart Journal*. **20(5)**. pp.344-353
27. **Cole CW. Hill GB. Farzad E. Bouchard A. Moher D. Rody K. Shea B.** (1993). Cigarette smoking and peripheral arterial occlusive disease. *Surgery*. **114(4)**. pp.756-757.
28. **Beks PJ. Mackaay AJ. De Neeling JN. De Vries H. Bouter LM. Heine RJ.** (1995). Peripheral arterial disease in relation to glycaemic level in an elderly Caucasian population : the Hoorn study. *Diabetologia*, **38(1)**. pp.86-96

29. **Murabito JM. Evans JC. Nieto K. Larson MG. Levy D. Wilson PW.** (2002). Prevalence and clinical correlates of peripheral arterial disease in the Framingham Off spring Study. *Am Heart J.* **143(6)**, pp.961-9.
30. **Miller EJ et al.** Atherosclerosis in young white males, arterial collagen and cholesterol. <https://clinicaltrials.gov>.
31. **Castaigne A. Capron L. Jacotot B.** (1981). Athérosclérose. EMC 11315 B10 20.
32. **François Schiele.** *Athérosclérose* [en ligne]. France .Université de Franche Comte Service de Cardiologie. Mise à jour le 10/2008. [Consulter le 10/03/2017]. disponible à : www.besancon.cardo.org.
33. **Moatti N.** (2004). Athérosclérose : concepts actuels. *Biochimie pathologique* [en ligne]. De Boeck.
34. **Patrice Dervanian.** les maladies des artères coronaires. In : ADETEC. *Maladies cardiovasculaires*. France. Mise à jour le : 07/11/2014. [Consulter le 12/03/2017]. Disponible à : <http://www.adetec.coeur.fr>.
35. NSFA. *Pathogénèse de l'athérosclérose : théories et mécanismes*. www.nsfa.asso.fr.
36. **Franc PG. Lisanti MP.** (2004). Caveolin-1 and ctaveolae in atherosclerosis: differential roles in fatty streak formation and neointimal hyperplasia. *Curr Opin Lipidol* : **15(5)**: 523-9.
37. **Gustafsson MR. Boén J.** (2004). Mechanism of lipoprotein retention by the extracellular matrix. *Curr Opin Lipidol*; **15(5)**: 505-14.

38. **Vaneps JS. Vorp DA.** (2007). Mechano-pathobiology of atherogenesis. review. *J Surg Res.* **142(1):**202-17.
39. **Madamanchi NR, Moon SK, Hakim ZS et al.** (2005). Differential activation of mitogenicsignaling pathway in aortic smooth muscle cells deficient in superoxide dismutase isoforms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **25(5):** 950-6.
40. **Packard RR. Libby P.** (2008). Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem.* **54(1):** 24-38.
41. **Van Berkel TJ. Out R. Hoekstra M. Kuiper J et al.** (2005). Scavenger receptors: friend or foe in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol;* **16(5):**525-35.
42. **Bauters C.** Physiopathologie de l'athérosclérose. Hôpital Cardiologique. Lille. (2000).
43. **Palinski W. Hertualay. Rosenldm et al.** (1990). Antisera and monoclonal antibodies specific for epitopes generated during oxidative modieication of low density lipoprotein Arteriosclerosis. **10** : 325-335.
44. **Winther M P. van Dijk KW. Havekes L M. Hofker M H.** (2000). Macrophage scavenger receptor class A : A multifunctional receptor in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **20:** 290-297.
45. **Cohen A.** Cardiologie et pathologie vasculaire. ESTEM. Paris. (1997) in LIONI J(2001).Physiopathologie de l'athérosclérose, mécanismes et prévention de l'athérotrombose.Thèse DED en pharmacie. Université de Franche-Comté. N°25 01.
46. **Quilici J. Gallo R.** (1999). Physiologie des syndromes coronariens aigus. *Ann. Cardio. Angio.* **48:** 611-23.

47. **Tedgui A, Mallat Z.** (2001). Athérosclérose et inflammation. *Médecine/Sciences*; **17**: 162-169.
48. **Steinberg D, Lewis A.** (1997). Conner memorial lecture. Oxydativ modification of LDL and atherogenesis. *Circulation*. **95 (4)** : 1062-71
49. **Jean Dallongeville.** (2006). Le métabolisme des lipoprotéines. *Cah. Nutr. Diét.* p 41.
50. **Quang Huy lé.** (2015). Rôle des lipides oxydés dans la régulation de l'activation plaquettaire par les lipoprotéines de haute densité (HDL) plasmatique est leur implication dans le diabète type 2. [en ligne] thèse de doctorat en biochimie. Université claudes bernard. lyon 1.p199.
51. **Li Tian, Mingde Fu.** (2010). The relationship between high-density lipoprotein subclass profile and plasma lipids concentrations. *Lipids Health Dis*; **9**: 118.
52. **Ingueneau C.** (2010). Régulation de la signalisation calcique dans l'apoptose induite par les lipoprotéines oxydées. Implication dans l'athérosclérose. *Biologie cellulaire* : Toulouse; p187.
53. **Emmerich J, Bruneval P.** (2000) L'athérosclérose.
54. **Lagrost L, Masson D, Chapman J.** (2003). Athérosclérose, physiologie diagnostics, thérapeutiques. Masson. Paris.
55. **Ziegler O, Guerci B, Drouin P.** (1998). Le "deuxième phénotype athérogène" ou le rôle de l'insulino-résistance dans le risque vasculaire. *Arch. Mal. Cœur Vaisseaux*. **91** (spécial V) : 33-9.

56. **Krempf M. Chétiveau M. et Masson M.** (1999). Métabolisme des lipoprotéines. *FRISON ROCHE*; **287**: 160-67.
57. **Pauciullo P.** (2002). Lipoprotein transport and metabolism : abrief update. *NutrMetab. Cardiovasc. Dis*; **12(2)**: 90–7.
58. **Kwan BCH. Kronenberg F. Beddhu S. Cheung AK.** (2007). Lipoproteinmetabolism and lipid management in chronic kidney disease. *J Am So Nephrol*; **18**: 1246–61.
59. **Quentin F. Gallet PF. Guilloton M. Quintard B.** (2015). Biochimie en 24 fiches. **75** : 182-185.
60. <http://www.urofrance.org/nc/science-et-recherche/base-bibliograp>.
61. **Bolanos Garcia VM. Miguel R N.** (2003). On the structure and function of apolipoproteins: more than a family of lipid-binding proteins. *Prog Biophys Mol Biol* **83** : 47-68
62. **Mahley RW. Innerarity T L. Rall SC Jr. Weisgraber KH.** (1984). Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *Journal of lipidresearch* **25**:1277-1294.
63. **Toussaint JF. Jacob MP. Lagrost L. Chapman J.** (2003). Lipoprotéines et métabolisme lipidique, p. 59-74. In Masson (ed), *L'athérosclérose: Physiopathologie diagnostics, thérapeutiques*, **vol. 1**
64. **Pierre Henri Gouyon. PJ Henry.** (1998). *Precis de génétique des populations*. Masson.

65. **Frankhan R.** (1995). conservation génétique. *Annu. Rev. Genet.* **29**. 305-327.
66. **Robitaille N.** (1994). Polymorphisme de l'apolipoprotéine E au sein de la population du LAC ST-JEAN CHIBOUGAMOU. Québec. Thèse.
67. **Namba Y. Tomonaga M. Kawasaki H. Otomo E. Ikeda K.** (1991).
Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Res*; **541** : 163-6.
68. **Shore VG. Shore B.** (1973). Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins. Separation of species Differing in protein components. *Biochemistry*; **12**:502-7.
69. **Ki Paik. David J. Chang. Catherine A. Reardon. Glenn E. et al.** (1985).
Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:3445-3449
70. **Soulie K.** Apolipoprotéine E. thèse (1998) on line.
71. **Simon M. Hone E. Gandy S. Martin R.** (2003). Expanding the association between the APO E gene and the risk of Alzheimer's disease : possible roles for APOE promoter polymorphisms and alteration in APOE transcription. *Journal ofneurochemistry.* **84**: 1215-1236.
72. **Narayanaswami V. Samuel S. W Szeto. Ryan RO.** (2001). Lipid Association-induced N- and C-terminal Domain Reorganization in Human Apolipoprotein E3. *American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.* Vol. **276**, No. 41, pp. 37853–37860.
73. **Zannis VI. Van Der SJ. Silverman D.** (1986). Intracellular modifications of human apolipoprotein E. *J Biol Chem.* 261: 13415-21.

74. **Giroux I M. Davignon J. Naruszewicz M.** (1993). Simvastatin. inhibits the oxidation of lowdensity lipoproteins by activated human monocyte-derived macrophages. *Biochim. Biophys. Acta Lipids Lipid Metab.* **1165**:335-8.
75. **Utermann G. Hardewig A. Zimmer F.** (1984). Apolipoprotein E phenotypes in patients with myocardial infarction. *Hum. Genet*; **65**: 237-41.
76. **Narayanaswami V. Samuel S. W Szeto. et al.** (2001).Lipid Association-induced N- and C-terminal Domain Reorganization in Human Apolipoprotein E3. *BIOL. CHEM.* **41**:37853–37860.
77. **Wilson C. Wardell MR. Weisgraber. Mahley RW. Agard DA.** (1991). Three dimensional structure of the LDL receptor-binding domain of human apolipoprotein E. *Science* **252**:1817-22.
78. **Weisgraber KH. Rail SC JR. Mahley RW. Milne RW. Marcel YL.et al.** (1986).Human apolipoprotein E. Determination of the heparin binding sites of apolipoprotein E3. *J Biol Chem* **261**:2068-76.
79. **Weisgraber KH.** (1994). Apolipoprotein E: structure-function relationships.In: Schumaker VN, ed. *Advances in protein chemistry.* Academic Press. 45:249-302.
80. **Nolte R.T., Atkinson D.** (1992). Conformational analysis of apolipoprotein A-I and E-3 based on primary sequence and circular dichroism.*Biophys J* **63**:1221-39.
81. **Sparrow JT. Sparrowd A. Fernando G. Culwell AR. Kovar M. Gotto AM JR.** (1992). Apolipoprotein E: phospholipid binding studies with synthetic peptides from the carboxyl terminus. *Biochemistry.* **31**:1065-8.

82. **Hsieh YH, Chou CY** (2011) Structural and functional characterization of human apolipoprotein E peptides in both aqueous and lipid environments. *Journal of biomedical science* **18**: 4. 72-166 <http://www.jbiomedsci.com/content/18/1/4>.
83. **VI Zannis. PW Just. JL Breslow.** (1981). *Human apolipoprotein E isoprotein sub classes are genetically determined*, *Am. J. Hum. Genet.* **33**. 11-24. [http://refhub.elsevier.com/S0021-9150\(16\)31440-x/sref15](http://refhub.elsevier.com/S0021-9150(16)31440-x/sref15).
84. **VI Zannis. JL Breslow.** (1981). *Human very low density lipoprotein apolipoproteinE isoprotein polymorphism is explained by genetic variation and post translational modification.* *Biochemistry* .20 .1033-1041. [http://refhub.elsevier.com/S0021-9150\(16\)31440-x/sref15](http://refhub.elsevier.com/S0021-9150(16)31440-x/sref15).
85. **VI Zannis. JL Breslow. G Utermann. et al.** (1982), *Proposed nomenclature of apo E isoproteins, apo E genotypes, and phenotypes*, *J. Lipid .Res.* **23**. 911-914. [http://refhub.elsevier.com/S0021-9150\(16\)31440-x/sref15](http://refhub.elsevier.com/S0021-9150(16)31440-x/sref15).
86. **KL Rasmussen. A Tybjaerg-Hansen. BG Nordestgaard. R Frikke-Schmidt.** (2015). Plasma levels of apolipoprotein E and risk of dementia in the general population. *Ann. Neurol.* **77**. 301-311. <http://dx.doi.org/10.1002/ana.24326>.
87. www.dovepress.com/role-of-apoE-in-norodegenerative-diseases/NDT.
88. **Fullerton SM. Clark AG. Weiss KM et al.** (2000). Apolipoprotein E variation at the sequence haplotype level: Implications for the origin and maintenance of a major human polymorphism. *Am J.Hum.Genet.*; **67**:881-900.
89. **-Dong L., Wilson C., Wardell M.R., et al.** (1994). Human apolipoprotein E. Role of arginine 61 in mediating the lipoprotein preferences of the E3 and E4 isoforms. *J Biol Chem* ; **269** : 22358-65.
90. **Elshourbagy NA., Liao WS. Mahley RW. Taylor JM.** (1985). Apolipoprotein E mRNA is abundant in the brain and adrenals, as well as in the liver, and is present

in other peripheral tissues of rats and marmosets. PROC. NATL. ACAD. SCI. USA. **82**:203-207.

91. **Faith M. Harris. Tesseur I. Walter J. Brecht et al.** (2003). Astroglial Regulation of Apolipoprotein E Expression in Neuronal Cells: Implications for Alzheimer's Disease. JBC Papers in Press.
92. **Basu SK. Ho YK. Brown MS. Bilheimer DW. Anderson RGW. Goldstein JL.** (1982). Biochemical and genetic studies of the apoprotein E secreted by mouse macrophages and human monocytes. J Biol Chem **257**:9788-95.
93. **Soulié Cathia.** (2004). Apolipoprotéine E. Thèse DEA DE Ferreira Stéphanie.
94. **Siest G. Pillot T. Regis Bailly A. et al.** (1995). Apolipoprotein E: an important gene and protein to follow in laboratory medicine. Clin Chem;**41**:1068-86.
95. **Weisgraber KH. Innerarity TL. Mahley RW.** (1982). Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human E apoprotein due to cysteine arginine interchange at a single site. J Biol Chem; **257**:2518-2521.
96. **Davignon J, Gregg RE, Sing CF.** (1988). Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. Arteriosclerosis; **8**:1-21.
97. **Gregg RE. Zech LA. Schaefer EJ. Stark D. Wilson D. Brewer HB JR.** (1986). Abnormal in vivo metabolism of apolipoprotein E4 in humans. J Clin Invest. **78**:815-21.
98. **Ji ZS. Fazio S. Lee YL. Mahley RW.** (1994). Secretion-capture role for apolipoprotein E in remnant lipoprotein metabolism involving cell surface heparan sulfate proteoglycans. J.Biol. Chem.; **269**: 2764-72.
99. **Mahley RW. Ji ZS., Brecht WJ. Miranda RD. He D.** (1994). Role of heparan sulfate proteoglycans and the LDL receptor-related protein in remnant lipoprotein metabolism. Ann. NY Acad. Sci. **737**: 39-52.

100. **Mahley RW. Nathan BP. Pitas RE.** (1996). Apolipoprotein E: structure, function and possible roles in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci*; **777**: 139–145. <http://atvb.ahajournals.org/content/25/2/267>
101. **Davignon J. Cohn JS. Mabile L. Bernier L.** (1999). Apolipoprotein E and atherosclerosis: insight from animal and human studies. *Clin Chim Acta.* **286**:115–143. <http://atvb.ahajournals.org/content/25/2/267>.
102. **Davignon J.** (2002). Apolipoprotéine E, une molécule polymorphe et pléiotrope - Rôle dans l'athérosclérose et au-delà. Deuxième partie. *Sang Thrombose - Vaisseaux*. **14**:107–120. <http://atvb.ahajournals.org/content/25/2/267>.
103. **Davignon J.** (2002). Apolipoprotéine E, une molécule polymorphe et pléiotrope - Rôle dans l'athérosclérose et au-delà. Première partie. *Sang Thrombose - Vaisseaux*; **14**:39 –58. <http://atvb.ahajournals.org/content/25/2/267>.
104. **Gregg RE. Zech LA. Schaefer EJ. Brewer HB Jr.** (1984). Apolipoprotein E metabolism in normolipoproteinemic human subjects. *J. Lipid Res.* **25**:1167-76.
105. **Utermann G. Vogelberg KH. Steinmetz A. et al.** (1979). Polymorphism of apolipoprotein E. II. Genetics of hyperlipoproteinemia type III. *Clin. Genet.* **15**:37-62.
106. **Zannis VI. Breslow JL.** (1980). Characterization of a unique human apolipoprotein E variant associated with type III hyperlipoproteinemia. *J. Biol. Chem.* **255**:1759- 62.
107. **Havel RJ.** (1982). Familial dysbetalipoproteinemia. New aspects of pathogenesis and treatment. *Med. Clin. North Amer.* **66**: 441-54.
108. **Utermann G. Pruin N. Steinmetz A.** (1979). Polymorphism of apolipoprotein E: III. Effect of a single polymorphic gene locus on plasma lipid levels in man. *Clin. Genet.* **15**:63-72.

109. **Bouthillier D. Sing CF. Davignon J.** (1983). Apolipoprotein E phenotyping with a single gel method: application to the study of informativematings. *J. Lipid Res.* **24**:1060- 9.
110. **Reilly SL. Ferrell RE. Kottke BA. Sing CF.** (1992). The gender-specific apolipoprotein E genotype influence on the distribution of plasma lipids and apolipoproteins in the population of Rochester, Minnesota. II. Regression relationships with concomitants. *Am.J.Hum.Genet.* **51**:1311-24.
111. **Utermann G.** (1982). Apolipoprotein E (Role in lipoprotein metabolism and pathophysiology of hyperlipoproteinemia type III). *Ric.Clin.Lab.* **12**: 23-33.
112. **Cormier G.** (1994). Thèse : Influence du polymorphisme de l'apolipoprotéine E sur les relations existant entre les facteurs derisque des maladies cardiovasculaires. Québec.
113. **Stein EA. Myers GL.** (1995). National cholesterol education program recommendations for triglyceride measurement : exclusive summary. *Clin. Chem.* **41/10** :1421-1426.
114. **ARCOL/SFBC** (1996). Commissions Standardisation lipides-lipoprotéines : L'église D. Recommendations pratiques pour le dosage du cholestérol -HDL après précipitation par le phosphotungstate de sodium et le chlorure de magnésium. *Option/Bio suppl* **172/49** : 1-8.
115. **Lippi U. Graziani M S. Manzato F. Schinella M.** (1986). The Friedewald formula : Statistical acrobatics. *Clin. Chem.* **32/5** :909-910.
116. **BienvenuT. Monier C et al.** (1999). Les techniques d'extraction d'ADN à partir d'un échantillon sanguin. *Ann. Biol. Clin.***57** : 77-84.
117. **Kaplan J-C. Delpech M.** (1998). Biologie moléculaire et medecine. 2eme édition. Médecine-sciences Flammarion.

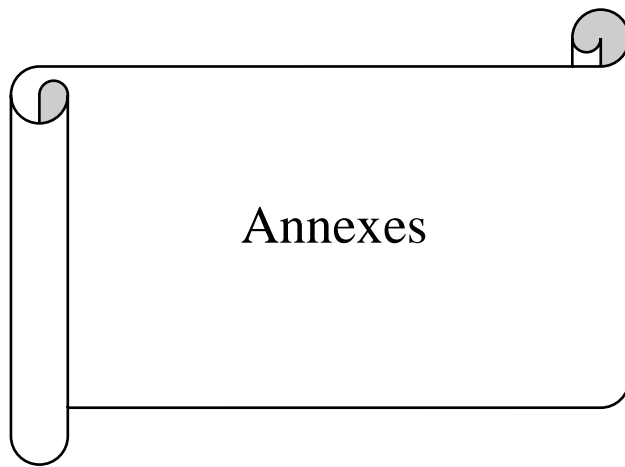
118. **Franois D. Drucker J. Moren A.** (1992). Epidémiologie d'intervention Editions Arnette. 589 pages
119. **Altman D.G.** (1996). Intervalles de confiance : Indications du degré de certitude des résultats de recherches EBM Journal 5-6.
120. **Olin JW, Cressman MD, Young JR, Hoogwerf BJ, Weinstein CE.** (1992). Lipid and lipoprotein abnormalities in lower extremity arteriosclerosis obliterans. *Cle Clin J Med.* **59**: 491-497.
121. **Juergens JL. Barker NW. Hines EA.** (1960). Atherosclerosis obliterans: Review of 520 cases with special reference to pathological and prognostic factors. *Circulation.* **21**: 188-195.
122. **KANNEL WB, KASTELLI WP, GORDON T.**(1979). Cholesterol in the prediction of atherosclerosis disease. New prospective based on the Framingham study. *Ann Int Med.* **90**: 85-91.
123. **Shinton R. Beevers G.** (1989). Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke. *Br.Med, J.* 298. 789-794.
124. **Peter N. Lee MA et all.** (2006). Environmental Tobacco Smoke Exposure and Risk of Stroke in Nonsmokers: A Review With Meta-analysis. www.Elsevier.org.
125. **Johansson J. Egberg N. Johnsson H. Carlson L.** (1993). Serum lipoproteins and hemostatic function in intermittent claudication. *Arteriosclerosis.***13**: 1441-1448
126. **Vigna GB. Bolzan M. Romagnoni F. Valerio G. Vitale E. Zuliani G. Fellin R.** (1992). Lipids and other risk factors selected by discriminant analysis in symptomatic patients with supra aortic and peripheral atherosclerosis. *Circulation* **85**: 2205-2211.

127. **National Cholesterol Education Program (NCEP).** (1994). Second report of the expert panel on : Detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol , adults (Adult treatment panel II).Circulation 89. **3** :1329-1445.
128. **Welty FK. Mittleman MA. Wilson WF. Sutherland P.** (1997). Hypobetalipoproteinemia is associated with low levels of hemostatic risk factors in the Framingham offspring population Circulation 95 : 825-830.**3**.
129. **Smith WCS. Woodward M. Tunstall-Pedoe H.** (1991). Intermittent claudication in Scotland In : Fowkes FGR ed. Epidemiology of peripheral vascular disease. New York. Springer-Verlag: 117-123.
130. **Reunanen A. Takkunen H. Aroma A.** (1982). Prevalence of intermittent claudication and its effects on mortality. Acta Med. Scan, **211** :249-256.
131. **Bowlins J. Medalie JH. Flocke SA. Zyranski SJ. Goldbourt U.** (1994). Epidemiology of intermittent claudication in middle-aged men Am. J. Epidemiol . **140** :418-430.
132. **Criqui MH. Browner D. Fronck A et al.** (1989)
Peripheral arterial disease in large vessels is epidemiologically distinct from small vessel disease An analysis of risk factors. Am. J. Epidemiol **129** :1110-1119.
133. **Fowkes FGR. Housley E. Riemersma RA et al.** (1992). Smoking, lipids, glucose intolerance, and blood pressure as risk factors for peripheral atherosclerosis compared with ischemic heart disease in the Edinburgh artery study. Am.J.Epidemiol. **135** :331-340.
134. **khodja djamel.** (2007). KHO5031. étude de polymorphisme de l'apoprotéine E dans la population constantinoise et dans les maladies cardiovasculaires.
135. **Delcourt C, Vauzelle-Kervroedan F, Cathelineau G, Papoz L.** (1998). Low prevalence of long-term complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus

in France: a multicenter study. CODIAB-INSERM-ZENECA Pharma Study Group. *J Diabetes Complications*. Mar-Apr.**12(2)**:88-95.

136. **Adler AI. Stevens RJ. Neil A. Stratton IM. Boulton AJ. Holman RR.** (2002) UKPDS 59: hyperglycemia and other potentially modifiable risk factors for peripheral vascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. May.**25(5)**:8949.
137. **Assman G, Schmitz G, Menzel H-J et al.** (1984). Apolipoprotein E polymorphism and hyperlipidemia. *Clin Chem*; **30**: 641-3.
138. **Mustafa Serter. Sophie Viskikis. Tomris Ozben. Bernardherbeth. Sevin Balkan. Gerard Siest.** (2001). Lipid Profile and Apolipoprotein E Genotyping in Stroke: A Case-Control Study Neuroscience-Net. Volume **3**. Article # 10015
139. **Luc G Bard JM. Arveler D. et al.** (1994). Impact of apolipoprotein E polymorphism on lipoproteins and risk of myocardial infarction : The ECTIM study . *Arterioscler. Thromb.* **14**:1412-19.
140. **Lahlali NK. Bamou. Guedira A. Hassani M. Visvikis S. Siest G. Alamin.** (2002). Polymorphisme de l'apolipoprotéine E dans une population marocaine : fréquence allélique et relation avec les paramètres lipidiques plasmatiques *Annal. de Biol.Clin***60. 1**: 73-8.
141. **Suhail Al-Shammria. Hasmukh Fataniab. Reem Al-Radwanc. et al.** (2005). The relationship of APOE genetic polymorphism with susceptibility to multiple sclerosis and its clinical phenotypes in Kuwaiti Arab subjects *Clinica Chimica Acta* **351** 203–207
142. **Al-Khedhairy A A.** (2004). Apolipoprotein E polymorphism in Saudis. *Mol Biol Rep.***31(4)**. 257-60.
143. **Jemaa R. Elasmî M. Naouali C et al.** (2006). Apolipoprotein E polymorphism in the Tunisian population: frequency and effect on lipid parameters. *Clin Biochem.* **39(8)** ; 816-20.

144. **Evans A. Zhand W. Morcel JFR. et al.** (1993). polymorphism of Apolipoprotein B and E gene and their relationship to plasma lipidvariables in healthy Chinese men .Hum genet ; **92**:191-7.
145. **Cartin I. Fisicaro M. Tonizzo M. et al.** (1997). polymorphism of apolipoprotein E gene and early carotid atherosclerosis defined by ultrasonography in asymptomatic adults. Arterioscler Thromb Vasc Biol **17**:91-94.
146. **Dolores Corella. Marisa Guille N. et al.** (2001). Environmental Factors Modulate the Effect of the APOE Genetic Polymorphism on PlasmaLipid Concentrations: Ecogenetic Studies in a Mediterranean Spanish PopulationMetabolism, Vol **50**. No 8 (August). pp 936-944.
147. **Gerdes LU. Klausen IC. Sihm I. Færgeman O.** (1992). Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 otherstudy populations around the world. Genet.Epidemiol. **9**:155-67.
148. **Dallongeville J.** (1993).Apolipoproteine E: propriétés physiologiques, polymorphismeet athérosclérose. Sang Thromboses Vaisseaux. **5**: 707-17.
149. **Lenzen HJ. Assmann G. Buchwalsky R. Schulte H.** (1986). Association of apolipoprotein E polymorphism, low-density lipoprotein cholesterol and coronary artery disease. Clin Chem. **325**: 778-81.
150. **Couderc R. Bailleul S.** (1998).L'apolipoprotéine E et ses allèles chez le sujet sain et au cours de l'athérosclérose Ann. de Biol. Clin. **6**: 651-9.
151. **Hallman DM, Boerwinkle E, Saha N et al.** (1991). The apolipoprotein E polymorphism: A comparison of allele frequencies and effects in ninepopulations. Am.J.Hum.Genet. **49**:338-49.



Annexe: le questionnaire

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		

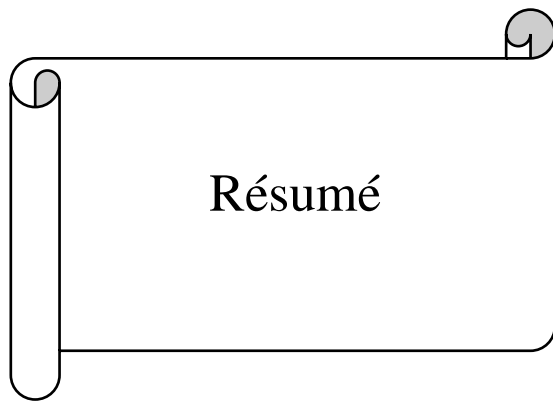
Diagnostic :

Examens complémentaires :

Traitements :

Chol : TG : Glycémie :

Autre :



Résumé

Résumé

Le polymorphisme de l'apoE a un rôle très important dans plusieurs maladies cardiovasculaires ; parmi ces maladies les artériopathies oblitérantes des membres inférieurs.

L'objectif de notre étude est de déterminer le polymorphisme de l'apoE dans les AOMI ainsi que l'influence de ce polymorphisme sur les paramètres lipidiques.

Le génotype le plus fréquent dans notre population est $\epsilon 3/\epsilon 3$ avec une fréquence de 73.3% suivie par $\epsilon 3/\epsilon 4$ (20%), $\epsilon 2/\epsilon 3$ (6.7%) respectivement ; cependant l'allèle le plus fréquent chez les AOMI est $\epsilon 3$ avec une fréquence de 86.7% suivie de loin par les allèles $\epsilon 4$ (10%) et $\epsilon 2$ (3.3%).

Nos résultats mettent en évidence l'influence des génotypes de l'apoE sur les paramètres lipidiques, indiquant l'effet protecteur de l'allèle $\epsilon 2$ et l'absence d'aucune association entre l'allèle $\epsilon 4$ et le survenue des AOMI.

Les mots clés: polymorphisme, apoE, AOMI, Athérosclérose.

ملخص

لتعدد الأنماط الوراثية التابعة للبروتين الشحمي (نوع E) دور هام في العديد من الأمراض القلبية الوعائية، من بين هاته الأمراض نجد تصلب شرايين الأعضاء السفلية (AOMI).

الهدف من دراستنا هذه هو تحديد الأنماط الوراثية للبروتين الشحمي (نوع E) لدى مرضى تصلب شرايين الأعضاء السفلية (AOMI)، و تأثير هذا الأخير على المؤشرات الليبيدية المصلية.

النمط الوراثي الأكثر شيوعا لدى الفئة التي درسناها هو ϵ_3/ϵ_3 بنسبة مئوية تقدر بـ 73.3% متبوعة بـ ϵ_4/ϵ_3 بنسبة تقدر بـ 20%، و ϵ_3/ϵ_2 6.7% على التوالي؛ في حين أن الاليل الأكثر شيوعا لدى مرضى أَل AOMI هو ϵ_3 بنسبة مئوية تقدر بـ 86.7% متبوعا من بعيد بالاليل ϵ_4 بنسبة تقدر بـ 10% و الاليل ϵ_2 بنسبة 3.3%.

النتائج التي تحصلنا عليها تظهر تأثير التعدد الوراثي للبروتين الشحمي (نوع E) على المؤشرات الليبيدية المصلية، مبينا الدور الايجابي في الحماية الذي يقوم به الاليل ϵ_2 مع غياب أي علاقة بين الاليل ϵ_4 والإصابة بتصلب شرايين الأعضاء السفلية.

الكلمات المفتاحية: التعدد الوراثي، البروتين الشحمي (نوع E)، AOMI، تصلب الشرايين.

Abstract

The polymorphism of apo E has a very important role in many cardio-vascular diseases; the peripheral artery disease (PAD) is one of them.

The objective of our study is the determination of the polymorphism of apo E in PAD's patients, also the influence of this polymorphism on the lipid's parameters.

The most frequent genotype in our population is $\epsilon 3/\epsilon 3$ with a frequency of 73.3% followed by $\epsilon 3/\epsilon 4$ (20%), $\epsilon 2/\epsilon 3$ (6.7%) respectively; however the most frequent allele over the PAD's patients is $\epsilon 3$ with a frequency of 86.7% followed by the allele $\epsilon 4$ (10%) and $\epsilon 2$ (3.3%).

our results put in evidence the influence of genotypes of apoE on lipid's parameters, shown the protector effect of allele $\epsilon 2$ and the absence of any association between allele $\epsilon 4$ and the arrive of PAD.

The key words: polymorphism, apoE, PAD, Atherosclerosis.

Présenté par : HAMMIA Souad

Année universitaire : 2016/2017

NEGHICHE Nor El Houda

Etude de polymorphisme de l'apoprotéine E dans les artériopathies oblitérantes des membres inférieurs chez une population constantinoise

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie moléculaire et santé.

Résumé

Le polymorphisme de l'apoE a un rôle très important dans plusieurs maladies cardiovasculaires ; parmi ces maladies les artériopathies oblitérantes des membres inférieurs.

L'objectif de notre étude est de déterminer le polymorphisme de l'apoE dans les AOMI ainsi que l'influence de ce polymorphisme sur les paramètres lipidiques.

Le génotype le plus fréquent dans notre population est $\epsilon 3/\epsilon 3$ avec une fréquence de 73.3% suivie par $\epsilon 3/\epsilon 4$ (20%), $\epsilon 2/\epsilon 3$ (6.7%) respectivement ; cependant l'allèle le plus fréquent chez les AOMI est $\epsilon 3$ avec une fréquence de 86.7% suivie de loin par les allèles $\epsilon 4$ (10%) et $\epsilon 2$ (3.3%).

Nos résultats mettent en évidence l'influence des génotypes de l'apoE sur les paramètres lipidiques, indiquant l'effet protecteur de l'allèle $\epsilon 2$ et l'absence d'aucune association entre l'allèle $\epsilon 4$ et le survenue des AOMI.

Mots clés : polymorphisme, apoE, AOMI, Athérosclérose.

Laboratoire de recherche : laboratoire de biologie et de génétique moléculaire au CHUC.

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Mr. Pr. NECIB Y. (Professeur - UFM Constantine1).

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

Examineur : Mr. Pr. ATTALAH S. (Professeur - UFM Constantine1).

Date de soutenance : 21/06/2017