



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث 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 عاوم الطبيعة والحياة

**Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire**  
قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

**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 du polymorphisme de l'apoprotéine E dans une population normale de Constantine***

---

**Présenté et soutenu par :**

**Le : 21/06/2017**

- **CHAIB Rayene**
- **DJEGHIM Ahlem**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Mr. Pr. NECIB Y.

(Professeur-UFM Constantine 1).

**Rapporteur :** Mr. KHODJA DJ.

(Maitre de conférences Université Constantine 3).

**Examineur :** Mr. Pr. ATTALAH S.

(Professeur- UFM Constantine 1).

***Année universitaire***  
***2016 - 2017***

## ***Remerciements***

Nous commençons en premier lieu à remercier ***notre dieu*** ; de nous avoir donnée le courage, la patience, la volonté et la santé nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous tenons à remercier particulièrement et avec gratitude notre encadreur ***Mr KHODJA Djamel*** (Maitre de Conférence à l'université de Constantine 3), pour nous avoir accepté d'encadrer ce travail .et aussi pour sa disponibilité et ses conseils qu'il n'a pas cessé de nous prodiguer durant toute la période de ce travail.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi au ***Mr le président du jury le Pr. Youssef NASSIB*** (Professeur à l'Université de Constantine) ; merci d'avoir accepté de présider le Jury de cette mémoire. Soyez assuré de notre profonde gratitude.

Nous tenons à remercier également ***Mr. Le Professeur Salah ATALLAH*** (Professeur à l'Université de Constantine); merci d'avoir accepté avec amabilité d'être membre de ce jury pour examiner ce travail.

Nous tenons d'autre part à remercier le : ***Pr. Noureddine ABADI*** directeur de laboratoire de biologie moléculaire au CHUC.

Un grand merci à l'ensemble du personnel du laboratoire en particulier Mr ***BOULAKROUN Zouheir*** pour leurs aides et conseils et également pour sa gentillesse, disponibilité et sa patience.

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

## *Dédicace*

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

### *A mes parents*

*Qui me sont très chers au monde. Grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.*

*A mes sœurs et mes frères Avec tout mon amour et toute ma tendresse.*

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

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

### *A mes chères amies*

*Puisse ce travail vous assurer l'expression de ma sincère amitié avec mes souhaits de succès et de bonheur. A tous ceux qui par leur sourire, leur gentillesse et espoir m'ont encouragés à poursuivre mes études.*

*Rayene*

## **Dédicaces**

*D'un sentiment plein d'amour, de sincérité et de fidélité, je dédie ce travail :*

*A mes chers parents **AHMED** et **RAFIA**, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes  
Sincères Sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide,  
Je vous remercie Pour tout ce que vous êtes fait tout le long de mes études, je dédie ce  
Travail en témoignage de mon Profond amour et respect pour leur grand sacrifice.*

*Que dieu vous garde en bonne santé.*

*A mes chers sœurs et frères : **SARA, SOUMAYA, MALEK, ANTEL, ANIS,**  
**ADEM.***

*Pour leurs soutiens infinis et leurs aides incessantes, je vous souhaite un meilleur avenir*

*A toute ma famille : ma grande mère, mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines.*

*A tous mes chères amies.*

*A tous ceux que j'aime.*

**AHLEM**

## Liste des figures :

<b>Figure 1:</b> AVC ischémiques.....	5
<b>Figure 2:</b> AVC hémorragiques.....	5
<b>Figure 3:</b> Les constituants d'une artère.....	10
<b>Figure 4:</b> la structure d'une artère.....	10
<b>Figure 5:</b> La physiopathologie de la plaque d'athérome .....	11
<b>Figure 6:</b> Evolution de l'athérosclérose.....	16
<b>Figure 7:</b> Représentation schématique de l'édifice d'une lipoprotéine.....	18
<b>Figure 8:</b> mobilité électrophorétique sur gel d'agarose des lipoprotéines.....	19
<b>Figure 9:</b> Le métabolisme des lipoprotéines.....	21
<b>Figure 10:</b> Le gène de l'apoE et modifications post transcriptionnelles .....	26
<b>Figure11:</b> Le modèle de l'apolipoprotéine E humaine.....	28
<b>Figure12:</b> Les mutations du gène de l'Apo E aux positions 112 et 158.....	33
<b>Figure 13:</b> Répartition de la population Témoins.....	36
<b>Figure 14:</b> Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% des fragments amplifiés (292pb) Par PCR du gène Apo E .....	48
<b>Figure 15:</b> site de restriction par l'enzyme HhaI .....	48
<b>Figure 16:</b> Profil d'électrophorèse sur gel d'acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI présentant différents génotypes d'Apo E.....	52
<b>Figure 17:</b> Répartition des sujets témoins selon les groupes d'âge et le sexe.....	54
<b>Figure 18:</b> Comparaison des moyennes du cholestérol total entre les deux sexes .....	56
<b>Figure 19:</b> Comparaison des moyennes des triglycérides entre les deux sexes.....	57
<b>Figure 20:</b> Comparaison des moyennes du cholestérol HDL-C entre les deux sexes .....	59
<b>Figure 21:</b> Comparaison des moyennes du cholestérol LDL-C entre les deux sexes .....	60

<b>Figure 22:</b> Fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population générale.....	62
<b>Figure23:</b> Fréquence Allélique de l'Apo E dans la population générale.....	63
<b>Figure 24:</b> Impact du génotype de l'Apo E sur le cholestérol et C-LDL chez Les porteurs de : :e2/e3, e3/e4 et e3/e3.....	66
<b>Figure 25:</b> impact du génotype de l'Apo E sur les triglycérides chez Les porteurs de : e2/e3,e3/e4 et e3/e3.....	67
<b>Figure 26:</b> impact du génotype de l'Apo E sur les C-HDL chez Les porteurs de : e2/e3, e3/e4 et e3/e3.....	68

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1 :</b> Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines.....	20/21
<b>Tableau 2:</b> Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonction des principales apolipoprotéines humaines.....	23/24
<b>Tableau 3:</b> les principaux récepteurs de l'apoE dans les différents tissus.....	31
<b>Tableau 4:</b> Répartition de la population témoin.....	36
<b>Tableau 5:</b> Tailles des fragments de restriction en paire de base (Pb) correspondants aux six géotypes possibles (3 homozygotes et 3 hétérozygote).....	51
<b>Tableau 6:</b> Répartition des sujets témoins selon les groupes d'âge et le sexe.....	54
<b>Tableau 7:</b> Moyennes, écart type du cholestérol total selon le sexe.....	55
<b>Tableau 8 :</b> Moyennes, écart type du triglycéride selon le sexe.....	57
<b>Tableau 9 :</b> Moyennes, écart type du cholestérol HDL-C selon le sexe.....	58
<b>Tableau 10:</b> Moyennes, écart type du cholestérol LDL-C selon le sexe.....	60
<b>Tableau 11:</b> Fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population générale.....	61
<b>Tableau 12:</b> Fréquence allélique de l'Apo E dans la population générale.....	63
<b>Tableau 13 :</b> Fréquences alléliques de la population constantinoise comparées à d'autres groupes ethniques.....	64
<b>Tableau 14 :</b> impact du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez Les porteurs d'e2/e3, e3/e4 et e3/e3.....	65

## ABREVIATIONS

<b>AG :</b>	Acides Gras
<b>Apo:</b>	Apolipoprotéine
<b>AOMI :</b>	Artériopathie des Membres Inferieures
<b>ARNm :</b>	ARN messenger
<b>AVC :</b>	Accident Vasculaire Cérébrale
<b>AVC H :</b>	Accident Vasculaire Cérébrale Hémorragique
<b>AVC I :</b>	Accident Vasculaire Cérébrale Ischémique
<b>BBP :</b>	Bleu de Bromophénol
<b>BET :</b>	Bromure d'éthidium
<b>CE :</b>	Cholestérol estérifié
<b>CL :</b>	Cholestérol libre
<b>CM :</b>	Chylomicron
<b>CML :</b>	Cellule Musculaire Lisse
<b>Da:</b>	Dalton
<b>DMSO :</b>	Dimethyl Sulfoxide
<b>DO :</b>	Densité Optique
<b>EDTA :</b>	Ethylene Diamine Tetra-Acetic Acid
<b>FDRCV :</b>	Facteur De Risque Cardio-Vasculaire
<b>HDL :</b>	High Density Lipoproteins
<b>HDL-C:</b>	Cholestérol véhiculé par les HDL
<b>HTA :</b>	L'Hypertension Artérielle
<b>ICAM-1 :</b>	Inter Cellular Adhesion Molecule
<b>IDL :</b>	Intermediate Density Lipoproteins
<b>IDM :</b>	L'Infarctus Du Myocard
<b>IMC :</b>	Indice De Masse Corporelle
<b>IL-1 :</b>	Inter-Leukine-1



<b>LCAT :</b>	Lécithine Cholestérol Acyl Transférase
<b>LDL :</b>	Low Density Lipoproteins
<b>Lp (a):</b>	Lipoprotéine
<b>LPL :</b>	Lipoprotéine lipase
<b>LRC :</b>	Lipids Research Clinics
<b>LRP :</b>	LDL Receptor-related Protein
<b>MCP-1 :</b>	Monocytes chematactic protein -1
<b>M-CSF :</b>	Monocytes colony stimulating factor
<b>MCV :</b>	Maladie Cardio-Vasculaire
<b>NO :</b>	Monoxyde d'Azote
<b>OMS :</b>	l'Organisation Mondiale de la Santé
<b>PAF-AH :</b>	Platelet Activating Factor-Acetylhydrolase
<b>Pb :</b>	Paire de base
<b>PCR :</b>	Polymérase Chaîne Réaction
<b>PDGF :</b>	Platelet Derived Growth Factor
<b>PGI2 :</b>	Prostaglandine I2
<b>SFBC :</b>	Société Française de Biologie Clinique
<b>SNC :</b>	Système Nerveux Central
<b>TBE:</b>	Tris borate EDTA
<b>TE:</b>	Tris EDTA
<b>TG :</b>	Triglycéride
<b>TGFβ :</b>	Transforming Growth Factor
<b>TNF-α :</b>	Tumor Necrosis Factor- α
<b>TNF-β :</b>	Tumor Necrosis Factor- β
<b>UV :</b>	Ultra-Violet
<b>VCAM-1 :</b>	Vascular Cell Adhesion Molecule
<b>VLDL :</b>	Very Low Density Lipoproteins

# Sommaire

**Introduction** ..... page 1

## **Partie 1 : Etude bibliographique**

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

**I.1. Définition** ..... page 3

**I.2. Epidémiologie** ..... page 3

**I.3. Les types des maladies cardiovasculaires** ..... page 4

    I.3.1. Accident vasculaire cérébrales (AVC) ..... page 4

        I.3.1.1. Les AVC ischémiques (AVC I) ..... page 4

        I.3.1.1. Les AVC ischémiques (AVC I) ..... page 4

        I.3.1.2. Les AVC hémorragiques (AVC H) .....page 4

    I.3.2. Angine de poitrine ..... page 5

    I.3.3. L'infarctus de myocarde (IDM) .....page 5

    I.3.4. Artériopathie des membres inferieures (AOMI) .....page 6

**I.4. Facteurs de risque** .....page 6

    I.4.1. Facteurs non modifiables .....page 6

        I.4.1.1. Age ..... page 6

        I.4.1.2. Sexe ..... page 6

        I.4.1.3. Antécédents familiaux et hérédité ..... page 6

    I.4.2. Facteurs modifiables .....page 7

        I.4.2.1. Hypertension artérielle (HTA) .....page 7

        I.4.2.2. Diabète .....page 7

        I.4.2.3. Dyslipidémies .....page 7

        I.4.2.4. Obésité .....page 8

        I.4.2.5. Tabac .....page 8

## **Chapitre II : Athérosclérose**

<b>II.1. Définition</b> .....	page 9
<b>II.2. Les cibles pariétales artérielles</b> .....	page 10
II.2.1. L'intima .....	page 10
II.2.2. La média .....	page 10
II.2.3. L'adventice .....	page 11
<b>II.3. Les différents intervenants de l'athérosclérose</b> .....	page 11
<b>II.4. Physiopathologie</b> .....	page 11
II.4.1. La dysfonction endothéliale .....	page 12
II.4.2. Pénétration et oxydation des LDL dans l'intima .....	page 12
II.4.3. Réaction inflammatoire .....	page 14
II.4.4. Migration et prolifération des cellules musculaires lisses .....	page 14
II.4.5. De l'Evolution de la plaque à la rupture .....	page 15
II.4.5.1. Evolution de la plaque d'athérome .....	page 15
<b>II.5. Classification et les stades</b> .....	page 16

## **Chapitre III : Les lipoprotéines**

<b>III.1. Structure des lipoprotéines</b> .....	page 18
<b>III.2. Classification des lipoprotéines</b> .....	page 19
III.2.1. Classification selon leur mobilité électrophorétique .....	page 19
III.2.2. Classification selon leur densité .....	page 20
<b>III.3. Métabolisme des lipoprotéines</b> .....	page 21
<b>III.4. Les Apolipoprotéines</b> .....	page 23
III.4.1. Définition .....	page 23
III.4.2. Importance des Apolipoprotéines .....	page 23

## **Chapitre IV : Apolipoprotéine E**

IV.1. Historique .....	page 25
IV.2. Définition et caractéristique .....	page 25

<b>IV.3. La génétique de l'Apo E</b> .....	page 26
IV.3.1. Le gène de l'Apo E .....	page 26
IV.3.2. La protéine l'Apo E et ses modifications post-traductionnelles .....	page 27
<b>IV.4. Protéine Apo E</b> .....	page 27
IV.4.1. Structure .....	page 27
IV.4.2. Isoformes .....	page 28
IV.4.3. Biosynthèse et distribution tissulaire .....	page 29
IV.4.4. Les récepteurs de l'Apo E .....	page 30
IV.4.5. Régulation .....	page 31
IV.4.6. Rôle .....	page 31
<b>IV.5. Polymorphisme de l'Apo E</b> .....	page 32
IV.5.1. Définition .....	page 32
IV.5.2. La relation entre le polymorphisme de l'Apo E et l'athérosclérose .....	page 34
IV.5.3. Impact du polymorphisme de l'Apo E sur le métabolisme lipidique .....	page 34

## **Partie 2 : Partie pratique**

### **Chapitre I : Moyens**

<b>I.1. Recrutement des individus</b> .....	page 36
<b>I.2. Critères d'inclusion et d'exclusion</b> .....	page 37
I.2.1. La population témoins .....	page 37

### **Chapitre II : Méthodes**

<b>II.1. Questionnaire</b> .....	page 37
II.1.1. L'enregistrement .....	page 37
II.1.2. Données de l'état civil .....	page 37
II.1.3. Données biocliniques .....	page 38
<b>II.2. Méthodes de dosage des paramètres lipidiques</b> .....	page 38
II.2.1. Dosage du cholestérol .....	page 38
II.2.2. Dosage des triglycérides .....	page 39

II.2.3. Le cholestérol HDL .....	page 40
II.2.4. Cholestérol LDL .....	page 40
<b>II.3. manipulation sur le sang total .....</b>	<b>page 41</b>
II.3.1. Extraction d'ADN .....	page 41
II.3.1.1. Etape d'extraction d'ADN .....	page 42
II.3.1.1.1. Préparation des leucocytes .....	page 42
II.3.1.1.2. Extraction de l'ADN .....	page 42
II.3.1.2. Solubilisation .....	page 43
II.3.1.3. Détermination de la pureté de l'ADN .....	page 43
II.3.1.4. Détermination de la concentration de l'ADN .....	page 44
<b>II.4. Génotypage de l'Apo E .....</b>	<b>page 44</b>
II.4.1. Amplification par PCR .....	page 45
II.4.1.1. Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR .....	page 46
II.4.1.2. Le contrôle de la PCR .....	page 47
II.4.2. La digestion du produit de PCR .....	page 48
II.4.2.1. Clivage des produits de PCR .....	page 49
II.4.3. Electrophorèses des fragments de restriction .....	page 49
II.4.3.1. Préparation d'un gel d'acrylamide 10% .....	page 49
II.4.4. Dépôt des échantillons .....	page 50
II.4.5. Migration .....	page 50
II.4.6. Coloration .....	page 50
II.4.7. Révélation du profil électrophorétique .....	page 50
<b>II.5. Analyse statistique .....</b>	<b>page 52</b>
II.5.1. Statistique descriptive .....	page 52
II.5.2. Les intervalles de confiance .....	page 53
II.5.3. Choix de la "p value " .....	page 53

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

<b>III.1. Répartition des sujets témoins selon les groupes d'âge et le sexe .....</b>	<b>page 54</b>
<b>III.2. Etudes des variations lipidiques dans les témoins .....</b>	<b>page 55</b>
III.2.1. Le cholestérol .....	page 55
III.2.2. Les triglycérides .....	page 56
III.2.3. Cholestérol HDL-C .....	page 58
III.2.4. Le cholestérol LDL-C .....	page 59
<b>III.3. Fréquence génotypique et allélique de l'Apo E .....</b>	<b>page 60</b>
III.3.1. Fréquences génotypiques dans la population générale .....	page 60
III.3.2. Fréquence Allélique de l'Apo E dans la population générale .....	page 62
<b>III.4. Influence du polymorphisme sur les paramètres lipidiques .....</b>	<b>page 64</b>
III.4.1 Génotype et paramètres lipidiques .....	page 64
III.4.1.1. Le cholestérol et C-LDL .....	page 65
III.4.1.2. Le triglycéride .....	page 66
III.4.1.3 Le Cholestérol HDL .....	page 68
<b>Conclusion .....</b>	<b>page 69</b>
<b>Références</b>	
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	



# Introduction

Les problèmes cardiovasculaires sont des pathologies concernant le cœur et vaisseaux sanguins (veines et artères). Il existe de très nombreuses pathologies sous cette dénomination : angine de poitrine, infarctus du myocarde et accidents vasculaires cérébraux.

La fréquence des maladies cardiovasculaires est très variable selon les populations humaines. Ces précédents sont la principale raison de mortalité et morbidité mondiale, sont dues aux conséquences de l'athérosclérose affection de définition anatomopathologique. Ses causes sont multifactorielles reconnaissant avant tout les dyslipidémies, l'hypertension artérielle (HTA), le diabète, l'obésité et bien sûr le tabac, ainsi que des facteurs génétiques [1].

Dans le sang, Les lipides (cholestérol et triglycérides) circulent grâce à des transporteurs appelés lipoprotéines. Les concentrations des lipoprotéines plasmatiques sont en relation étroite avec le risque cardiovasculaire. Elles sont contrôlées par des mécanismes homéostatiques impliquant la régulation du métabolisme des lipoprotéines [2].

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

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 antiathérogène qui est indépendant de son effet sur les lipides sanguins [3][4]. Trois isoformes ont été décrits, désignés par epsilon ( $\epsilon_4$ ,  $\epsilon_3$ ,  $\epsilon_2$ ) encodant les formes plasmatiques majeures d'Apo E, respectivement appelées Apo E4, Apo E3, et Apo E2. Le polymorphisme de l'Apo E correspond à des mutations ponctuelles en deux sites bien précis du gène sur les codons pour les acides aminés en position 112 et 158. Les allèles de l'Apo E se transmettent de façon codominante, il en résulte dans la population générale, la possibilité de six phénotypes : trois homozygotes E2E2, E3E3, E4E4 et trois hétérozygotes E2E3, E3E4, E2E4.



Avec de faibles différences entre les populations, la répartition de ces phénotypes montre que l'allèle  $\epsilon 3$  est le plus commun suivi de loin par l'allèle  $\epsilon 4$  tandis que l'allèle  $\epsilon 2$  est franchement rare [5]. Ce dernier est associé à une diminution des valeurs moyennes de cholestérol plasmatique et de LDL cholestérol tandis que  $\epsilon 4$  est associé à une augmentation de ces concentrations. Le génotype  $\epsilon 4/\epsilon 4$  serait donc associé à un risque accru d'hypercholestérolémie, et par conséquent de la maladie athéromateuse.

### **Notre étude pour l'objectif :**

- L'étude du polymorphisme de l'apoprotéine E dans la population de Constantine.
- Déterminer la fréquence des différents allèles dans la population témoins.
- Montrer l'influence de polymorphisme de l'apoprotéine E sur les paramètres lipidiques.



**Etude Bibliographique**



**Chapitre I**  
**Les Maladies Cardiovasculaires**

## I.1 Définition

Les maladies cardio-vasculaires constituent un ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins. Elles comprennent [6] :

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

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

## I.2 Epidémiologie

On estime à 17,5 millions le nombre de décès imputables aux maladies cardiovasculaires, soit 31% de la mortalité mondiale totale. Parmi ces décès, on estime que 7,4 millions sont dus à une cardiopathie coronarienne et 6,7 millions à un accident

vasculaire cérébral[7]. Plus de 82% des décès interviennent dans des pays à revenu moyen ou faible et touchent presque également hommes et femmes.

Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité en Algérie, avec de 20 000 à 25 000 décès chaque année. En 2002, 26,1% des décès ont été causés par ces maladies. En 2010 plus de 1 million de personnes présentent des affections cardiovasculaires dans notre pays [8].

### **I.3 Les types des maladies cardiovasculaires**

#### **I.3.1 Accident vasculaire cérébrales(AVC)**

L'accident vasculaire cérébral est un accident localisé de durée supérieure à 24 heures, causé par une lésion vasculaire cérébrale. Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) sont de deux types; ischémique et hémorragique (figure1, 2). Dans les AVC hémorragiques, on distingue les hémorragies intra parenchymateuses et les hémorragies méningées [9].

##### **I.3.1.1 Les AVC ischémiques (AVC I)**

Les registres ont montré que les accidents ischémiques cérébraux viennent en tête ; et ils représentent 80 % environ de l'ensemble des AVC [9] [10]. Les trois principales causes sont : l'athérosclérose en cause dans 20 à 25% des cas, les embolies d'origine cardiaque en cause dans également 20 à 25 % des cas et les maladies des petites artères perforantes représentent de 25 à 30% des infarctus cérébraux.

##### **I.3.1.2 Les AVC hémorragiques (AVC H)**

Les hémorragies cérébrales sont dues à un épanchement de sang dans le tissu cérébral, leurs causes sont généralement l'hypertension artérielle ou beaucoup plus rarement les pathologies dégénératives ou malformatives vasculaires [9].



**Figure 1:** AVC ischémiques [11].



**Figure 2:** AVC hémorragiques [11].

### **I.3.2 Angine de poitrine**

L'angine de poitrine est par définition la douleur intermittente consécutive à l'apparition d'une ischémie myocardique. Les artères coronaires irriguent le muscle cardiaque (myocarde) en lui apportant du sang oxygéné. La baisse de la perfusion du myocarde (ischémie) provoque des douleurs thoraciques (angor ou angine de poitrine). Elle est habituellement due à la diminution du calibre coronaire (par la présence de plaques d'athérome).

La cause principale est l'athérosclérose coronaire (90 % des cas). La présence de facteurs de risque cardiovasculaire (FDRCV : tabagisme, HTA, diabète, hypercholestérolémie, etc... [12].

### **I.3.3 L'infarctus du myocarde (IDM)**

L'infarctus aigu est alors défini par une augmentation ou une baisse de biomarqueurs cardiaques, de préférence la troponine, avec au moins une valeur supérieure au 99ème percentile, associée à des signes d'ischémie myocardique, avec au moins un des éléments suivants : une symptomatologie d'ischémie, une modification électrique significative indiquant une nouvelle ischémie, une onde Q nouvellement apparue ou une preuve par imagerie, preuve d'une nouvelle perte de myocarde viable ou d'une anomalie de la contractilité régionale de la paroi myocardique vue à l'examen d'imagerie[13].

### **I.3.4 Artériopathie des membres inférieures (AOMI)**

L'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI), complication fréquente et grave du diabète, est la grande oubliée des études de prévention cardio-vasculaire [14].

Elle est définie comme une obstruction partielle ou totale d'une ou plusieurs artères périphériques des membres inférieurs, généralement liée à l'athérome. Elle est associée à de nombreux facteurs de risque cardiovasculaire (FRCV) et est très fréquente chez les personnes âgées. Même si cette pathologie est asymptomatique chez des millions de sujets, elle peut être associée à un risque élevé de mortalité cardiovasculaire et ischémique cérébrale [15].

## **I.4 Facteurs de risque**

### **I.4.1 Facteurs non modifiables**

#### **I.4.1.1 Age**

L'impact de tous les facteurs de risque est substantiellement plus grand chez les personnes d'âge moyen ou âgées que chez les jeunes adultes [16][17][18].

#### **I.4.1.2 Sexe**

La maladie coronarienne est rare chez la femme en pré-ménopause, en l'absence de diabète ou d'hyperlipidémie génétique sévère telle que l'hypercholestérolémie familiale. Après la ménopause, le niveau de risque chez cette dernière rejoint très progressivement celui de l'homme [19][20].

Cette différence de sexe peut être expliquée par l'effet protecteur des hormones chez la femme en période d'activité génitale [16][18].

#### **I.4.1.3 Antécédents familiaux et hérédité**

Seuls les accidents cardiovasculaires précoces sont à prendre en compte, c'est à dire avant 55 ans chez un homme et avant 65 ans chez une femme ; et ne seront

considérés comme significatifs que les accidents survenus chez le père, la mère ou un parent du premier degré. En fait, la génétique ne serait responsable que du tiers du risque, le reste dépend du mode de vie du sujet [17][18][21].

## **I.4.2 Facteurs modifiables**

### **I.4.2.1 Hypertension artérielle (HTA)**

L'hypertension artérielle (HTA) est un FDR cardiovasculaire indiscutable. Il existe une relation linéaire très étroite entre les chiffres de pression artérielle, qu'ils soient systoliques ou diastoliques, et le risque d'événement cardiovasculaire. Le lien entre niveau tensionnel et risque d'IDM est continu, ce qui signifie qu'il n'y a pas de seuil individualisé en dessous duquel le risque peut être considéré comme nul [18][22].

### **I.4.2.2 Diabète**

Le diabète est le risque majeur des maladies coronariennes. Ce risque est globalement multiplié par un facteur 3 chez les deux sexes [23].

Un diabète avéré ou une anomalie du métabolisme glucidique est observé dans 30 % des angines de poitrine.

### **I.4.2.3 Dyslipidémies**

La relation entre les dyslipidémies et la cardiopathie ischémique est connue depuis longtemps [24][18]. La morbidité-mortalité coronarienne est associée à :

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



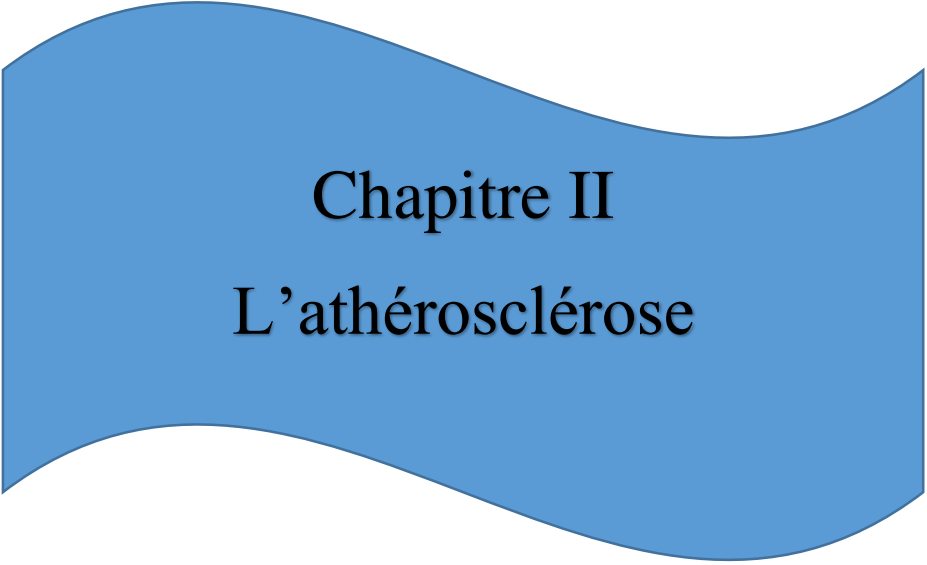
#### **I.4.2.4 Obésité**

La répartition de l'adiposité a un impact important sur le risque cardiovasculaire. En effet l'obésité abdominale (répartition de type centrale) majore le risque de façon plus significative [25][24][21].

L'obésité serait un FDR indirect des maladies cardiovasculaires passant par le développement d'une insulino-resistance et d'une HTA. Ces trois FDR s'additionnent et expliquent la forte augmentation du risque de syndrome métabolique [26].

#### **I.4.2.6 Tabac**

Le tabac peut même être un facteur de risque plus important dans les régions avec une incidence de maladie cardiovasculaire en augmentation telles que l'Asie et l'Europe de l'Est et Centrale, par rapport à l'Europe de l'Ouest et à l'Amérique du Nord [27]. In vitro L'oxydation des LDL, première condition de l'athérosclérose, peut être provoquée chimiquement par incubation de LDL natives en présence d'extraits de fumée de cigarette[9].



**Chapitre II**  
**L'athérosclérose**

## II.1 Définition

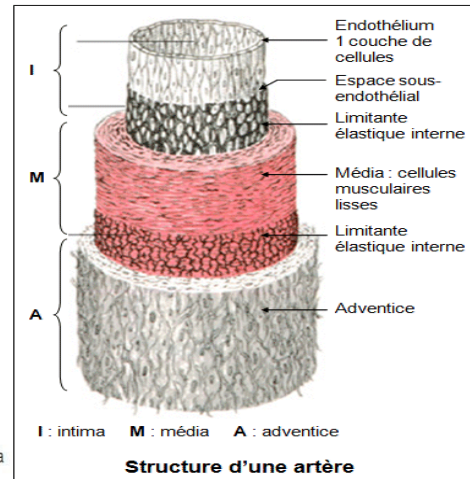
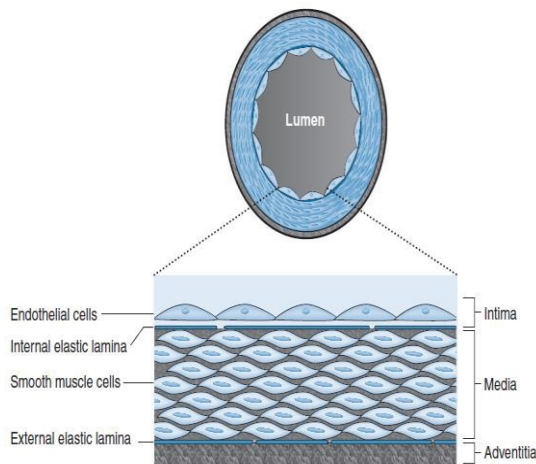
L'athérosclérose est une maladie chronique de la paroi artérielle, et une cause principale de décès et de perte d'années de vie productive dans le monde entier [28] , c'est une processus d'épaississement et de durcissement des parois vasculaires, est la principale cause de coronaropathie, d'accident vasculaire cérébral ischémique et de maladie périphérique [29][30].

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) l'athérosclérose définit comme «une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyens calibres consistant en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissus fibreux et de dépôts calcaires. Le tout s'accompagne d'une modification de la média » [31].

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

Les travaux menés ces vingt dernières années montrent clairement qu'elle correspond à un processus inflammatoire chronique qui peut aboutir à un événement clinique aigu par rupture de la plaque d'athérosclérose et thrombose. [32]

## II.2 Les cibles pariétales artérielles



**Figure 3:** Les constituants d'une artère [33]

**Figure 4 :** la structure d'un artère [34]

La paroi des vaisseaux artériels est formée de trois tuniques morphologiquement distinctes, de la lumière vers l'extérieur du vaisseau :

### II.2.1 L'intima

L'intima est principalement constituée d'une monocouche de cellules endothéliales appelée endothélium pavimenteux simple qui est en contact avec le sang, d'une fine couche de tissu conjonctif, la membrane basale et d'une couche de tissu élastique appelée limitante élastique interne. [35] Il ne s'agit pas d'une simple enveloppe mais d'une véritable glande endocrine (rôle de vasodilatation par le biais du monoxyde d'azote NO et antiagrégant plaquettaire par la prostacycline PGI<sub>2</sub>).

### II.2.2 La média

La media est la tunique moyenne, la plus épaisse. Elle est limitée de part et d'autre par les membranes limitantes élastiques interne et externe, elle est composée de cellules

musculaires lisses et d'un réseau de collagène, élastine, et de mucopolysaccharides. Suivant la prédominance de fibres élastiques ou de cellules musculaires on distingue les artères élastiques, gros vaisseaux proximaux, opposées aux artères musculaires, les petites artères périphériques particulièrement douées de vasomotricité.

### **II.2.3 L'adventice**

L'adventice est la tunique externe formée de tissu conjonctif peu organisé, constitué principalement de collagène, fibroblastes et d'éléments lymphatiques et nerveux.

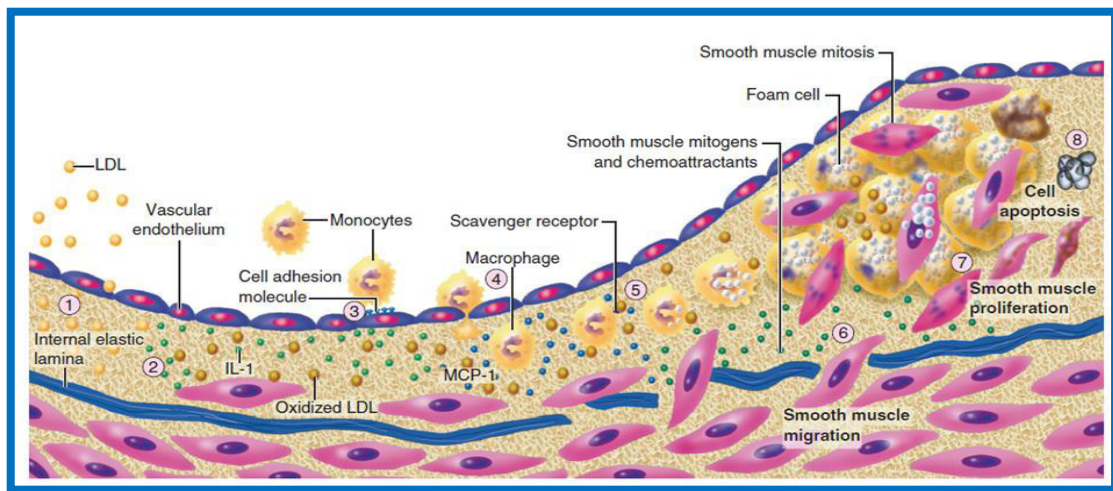
## **II.3 Les différents intervenants de l'athérosclérose**

Les importantes éléments qui jouent un rôle prépondérants dans la formation de la plaque d'athérosclérose sont : les lipoprotéines principalement les LDL modifiés et 4 types des cellulaires :

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

## **II.4 Physiopathologie**

Parmi les possibles mécanismes physiopathologiques expliquant la formation de l'athérome et ses complications, on retient essentiellement le rôle du LDL-cholestérol, l'action possible d'agents infectieux et les phénomènes inflammatoires.



**Figure 5:** La physiopathologie de la plaque d'athérome [36].

### II.4.1 La dysfonction endothéliale

Lors de son passage, le flux sanguin applique des forces de frottement contre la paroi vasculaire. Ces forces de frottement imposées directement sur l'endothélium, modulent sa structure et ses fonctions par des mécanismes de mécano-transduction. Lorsque ces forces de frottement sont constantes, cela confère à l'endothélium un statut anti-inflammatoire, antioxydant et anti-thrombotique [37].

Certaines zones de l'arbre circulatoire telles que les bifurcations ou les courbures artérielles, imposent une contrainte physique à l'écoulement sanguin, rendant les forces de frottement faibles voire négatives. Cet événement perturbe l'homéostasie de l'endothélium vasculaire et est à l'origine de la dysfonction endothéliale [16][38][39].

Ceci explique le développement préférentiel des plaques d'athérome au niveau des bifurcations artérielles. Ce dysfonctionnement en partie causé par une diminution de la biodisponibilité du NO, est aggravé par la présence des facteurs de risques qui sont : hypercholestérolémie, diabète, hypertension, tabagisme, ainsi que certains agents infectieux ou toxines [40][41].

Lorsque cette dysfonction endothéliale existe on observe :

- Une vasoconstriction ; une augmentation de la perméabilité endothéliale facilitant la pénétration des lipoprotéines athérogènes présentes en plus ou moins grande quantité
- Une expression de protéines d'adhésion telles que VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule) ou ICAM-1 (Inter Cellular Adhesion Molecule) à la surface de l'endothélium, et les monocytes.

#### **II.4.2 Pénétration et oxydation des LDL dans l'intima**

La survenue préalable d'une dysfonction endothéliale conduit à une production d'espèces réactives de l'oxygène, qui vont attaquer la partie lipidique et protéique des LDL emprisonnées dans l'intima [42]. Cette oxydation se fait par le mécanisme suivant :

- **Phase d'initiation** : les radicaux libres s'attaquent aux lipides, surtout aux acides gras polyinsaturés qui sont particulièrement vulnérables du fait de leurs doubles liaisons. La source de ces radicaux libres est intracellulaire [40].

- **Deuxième phase** : il y a propagation de ces modifications chimiques aux autres lipides selon une réaction en chaîne avec attaque des acides gras dans un ordre aléatoire. la propagation du phénomène dépend en partie de l'enzyme PAF-AH (Platelet Activating Factor-Acetylhydrolase) ou de la lipoprotein-associated phospholipase A2 qui est une enzyme principalement associée aux LDL [41].

- **Troisième phase** : la dégradation et la libération de fragments lipidiques entraîne la formation de peroxydes lipidiques dont l'accumulation peut être directement cytotoxique, mais ce sont surtout leurs produits de dégradation, en particulier les aldéhydes, qui le sont [43].

- **Quatrième phase** : les aldéhydes formés se lient aux résidus lysine de l'apoB100 qui est le ligand clé du récepteur cellulaire des LDL et modifient dans un premier temps son activité physiologique puis sa dégradation, entraînant ainsi une perte

de la reconnaissance par le récepteur des LDL natives et lui conférant la capacité de se lier au récepteur scavenger [41].

Une fois l'endothélium traversé, ces LDL se retrouvent dans l'espace sous-endothélial où elles restent piégées en raison d'interactions qui s'établissent entre des constituants de l'apoprotéine B100 (apoB100) et les protéoglycanes de la matrice [33].

### ➤ **Recrutement des monocytes circulants**

Les monocytes adhèrent à la paroi de l'endothélium, la traversent sous l'influence de divers facteurs (MCP-1 : Monocytes chemotactic protein -1 ; M-CSF : Monocytes colony stimulating factor) en macrophage. Les derniers se transforment alors en cellules spumeuses et captent les LDL oxydées par l'intermédiaire de récepteurs Scavenger (éboueurs) et produisent des cytokines inflammatoires.

## **II.4.3 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 [16] [44].

Les macrophages produisent de nombreuses cytokines pro inflammatoires (TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , IL-1...) qui augmentent l'activation endothéliale, et favorisent l'afflux de nouveaux monocytes, des collagénases, élastases et gélatinases qui possèdent toutes une activité de dégradation de la matrice extracellulaire [45][41].

## **II.4.4 Migration et prolifération des cellules musculaires lisses**

Sous l'influence de divers stimuli athérogènes, les cellules musculaires lisses vont migrer du média vers l'intima où elles vont proliférer. On observe un changement de phénotype des cellules musculaires lisses qui passent d'un phénotype contractile à un phénotype sécrétoire [46].



Les cellules musculaires lisses retrouvées dans l'intima expriment peu ces protéines contractiles, ont un indice prolifératif plus élevé et une plus grande capacité à synthétiser des molécules de la matrice extracellulaire, des protéases et des cytokines [16].

Ces événements se produisent en réponse à :

- la levée d'inhibition de prolifération des cellules endothéliales sur les cellules musculaires lisses [47].
- la sécrétion du CD40 ligand par les lymphocytes T qui participe à la migration des cellules musculaires lisses [37].
- aux LDL oxydées, qui à faible concentration stimulent la migration, la prolifération des cellules musculaires lisses en culture et la synthèse de collagène à la fois directement et indirectement par l'intermédiaire de l'expression de facteurs de croissance et de cytokines [44].

La production de facteurs de croissance, dont le PDGF (Platelet Derived Growth Factor) et le TGF $\beta$  (Transforming Growth Factor) libérés par les macrophages, les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales [44].

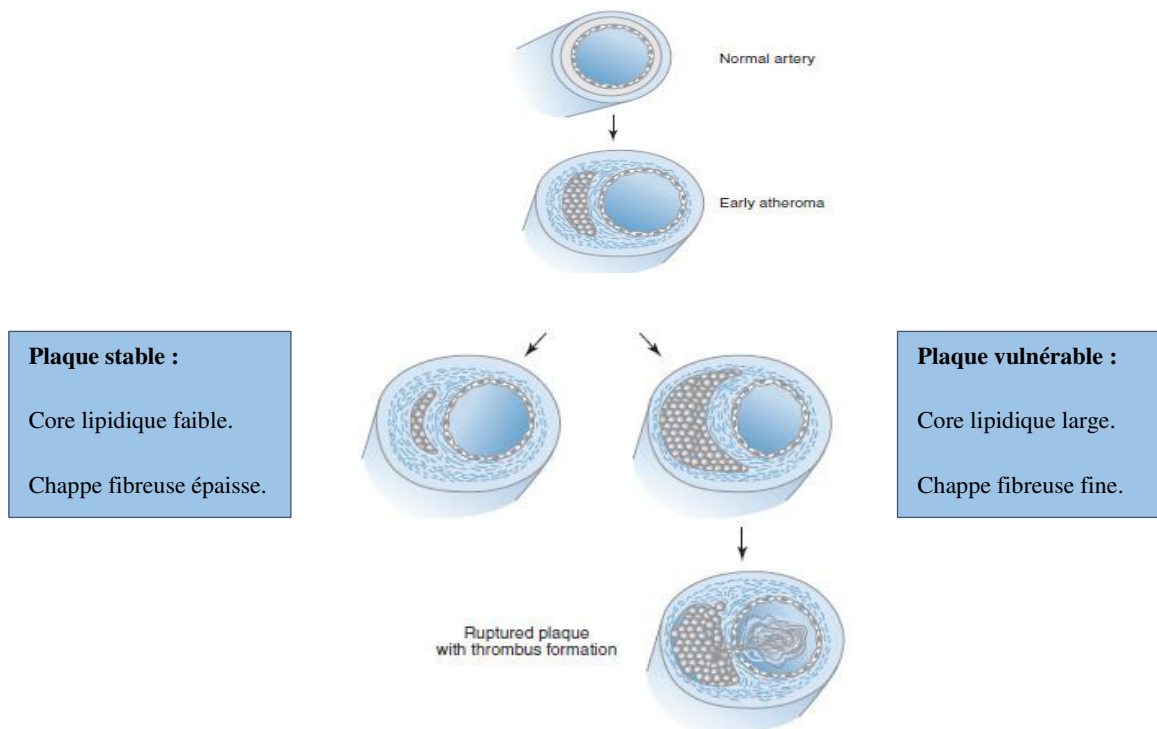
La migration, la prolifération, et la synthèse de matrice extracellulaire par les cellules musculaires lisses permettent la formation d'une chape fibreuse qui va recouvrir le cœur lipidique de la plaque [41].

## **II.4.5 De l'Evolution de la plaque à la rupture**

### **II.4.5.1 Evolution de la plaque d'athérome**

Cela conduit à la migration des cellules musculaires lisses de la média et à leur prolifération. Elles vont entourer petit à petit un noyau lipidique, formé de lipides, de cellules en apoptose et de cellules nécrosées. Le phénotype des CML change de contractile à sécrétoire, ce qui aboutit à la formation de la chape fibreuse (collagène I, III, glycoprotéines, glycoaminoglycanes...).

La plaque va ensuite grossir progressivement. Ce processus va être compensé par un élargissement artériel jusqu'à ce que la plaque occupe 40% de la paroi artérielle, seuil à partir duquel l'élargissement ne suffit plus à compenser, et ou la lumière artérielle rétrécit progressivement [37].



**Figure 6 :** Evolution de l'athérosclérose [48].

## II.5 Classification et les stades

Une classification évolutive des lésions d'athérosclérose à partir de l'étude histologique d'artères coronaires humaines a été proposée par (Stary et al.,1995) [49].

- **Stade 1 :** Il se traduit par la présence dans l'intima de cellules spumeuses isolées, c'est-à-dire « gorgées » de lipides. La présence de ces cellules provient d'un déséquilibre entre les entrées et les sorties des lipoprotéines.

- **Stade 2** : Il y a présence de stries lipidiques constituées d'un plus grand nombre de cellules spumeuses, mais présence également de cellules musculaires lisses, contenant des lipides en quantité abondante.

Il n'y a pour l'instant pas de lipides extra cellulaires. Ces deux premiers stades peuvent apparaître avant l'âge de 10 ans et sont asymptomatiques. Les stries lipidiques peuvent régresser ou évoluer vers les stades suivant.

- **Stade 3** : Il est autrement appelé « pré-athérome ». Il correspond à la présence de lipides extracellulaires en faible quantité due à la mort de cellules spumeuses.

- **Stade 4** : Il consiste en le regroupement des lipides extra et intra cellulaires en amas lipidiques constituant l'athérome simple.

- **Stade 5** : L'athérome est pris dans une trame fibreuse qui l'isole de la lumière artérielle. Les fibres sont produites par les cellules musculaires lisses et contiennent du collagène, de la fibrine, de l'élastine et des mucopolysaccharides. C'est à cet ensemble que correspond la définition de l'OMS. L'évolution vers le stade 6 survient après 40 ans et reste longtemps asymptomatique.

- **Stade 6** : Il existe 3 types de stade 6 :

- Rupture de la chape fibreuse
- Hémorragie intra-plaque
- Thrombose

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

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

- **Stade 8** : les plaques sont quasi exclusivement sclérosées



**Chapitre III**  
**Les lipoprotéines**

### III.1 Structure des lipoprotéines

Les graisses alimentaires et les lipides endogènes synthétisés par le foie doivent être transportés entre les tissus et les organes pour y être métabolisés. Ce transport plasmatique est assuré par des macromolécules hydrosolubles : les lipoprotéines.

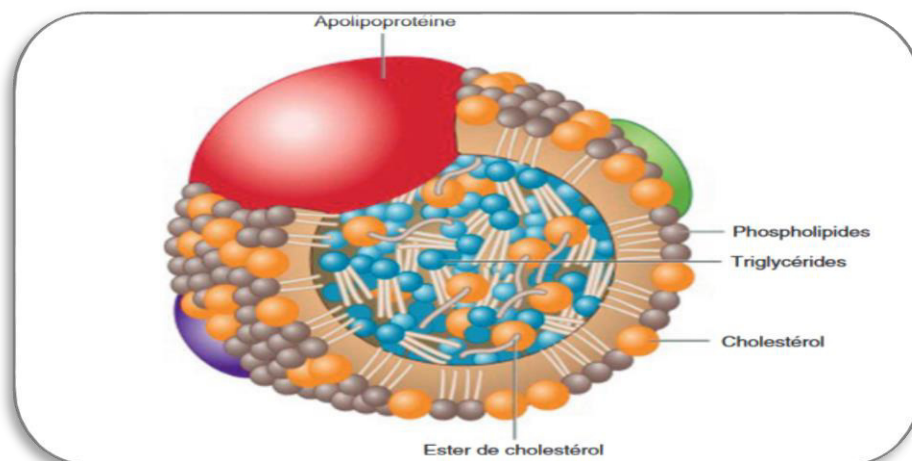
Ces dernières sont des particules sphériques avec un noyau lipidique hydrophobe (esters de cholestérol et/ou triglycérides) et une enveloppe constituée de phospholipides, de cholestérol libre et d'apoprotéines permettant leur solubilisation sous la forme de circulation des lipides.[50][51]

Les anomalies du métabolisme des lipoprotéines sont une cause importante d'athérosclérose. Les lipoprotéines sont des Édifice moléculaire non covalent entre :

- Apoprotéines (1 ou plusieurs).
- Lipides.

**Cœur** : très hydrophobe (TG, Cholestérol estérifié).

**Coquille** : monocouche de lipides (Phospholipides, cholestérol libre) et apoprotéines exposant leur partie la plus polaire en surface [52].



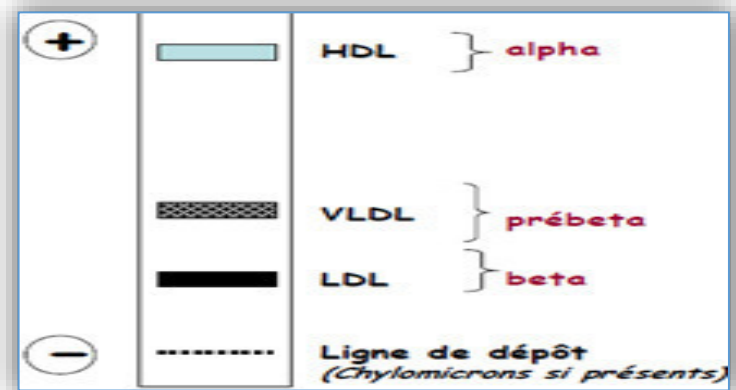
**Figure 7:** Représentation schématique de l'édifice d'une lipoprotéine [53].

## III.2 Classification des lipoprotéines

### III.2.1 Classification selon leur mobilité électrophorétique

Les lipides polaires et les apolipoprotéines de la couche périphérique confèrent aux lipoprotéines une charge électrique permettant leur séparation lorsqu'un échantillon de sérum est soumis à l'action d'un champ électrique [54]. La première classification des lipoprotéines a été proposée par Blix et al. 1941 [55], qui montrèrent que les lipides d'un plasma normal ont une migration électrophorétique équivalente à celle des  $\alpha 1$  et  $\beta$  globulines sur support de papier [56]. Puis l'emploi d'autres supports (papier avec tampon albumineux, gel d'agarose) permit de mettre en évidence la présence de lipoprotéines au niveau du dépôt et en position  $\alpha 2$  (pré- $\beta$ ). L'électrophorèse de zone (fig. 8) a été la première technique permettant une classification des lipoprotéines plasmatique en 4 fractions [56]:

- Chylomicrons, lipoprotéines ne migrant pas.
- Les  $\alpha 1$  lipoprotéines ayant une mobilité électrophorétique comparable à celle des  $\alpha$  globulines.
- Les  $\alpha 2$  lipoprotéines ou pré-béta lipoprotéines ayant une mobilité électrophorétique comparable à celle des  $\alpha 2$  globulines.
- Les bêta lipoprotéines ayant une mobilité électrophorétique comparable à celle des bêta globulines.



**Figure 8:** mobilité électrophorétique sur gel d'agarose des lipoprotéines [57].

### III.2.2 Classification selon leur densité

Les lipoprotéines qui ont une densité inférieure à celle des protéines, qui est variable selon les fractions, cette propriété permet de les séparer des protéines et entre elles par ultracentrifugation de flottation.

Dans les années 50, Goffman et al. Utilisent le fait que les lipoprotéines se distinguent par des proportions différentes (une partie protéique et une partie lipidique) pour proposer une classification basée sur leur comportement dans un champ gravitationnel [58].

L'ultracentrifugation a donc permis d'isoler différentes classes de lipoprotéines :

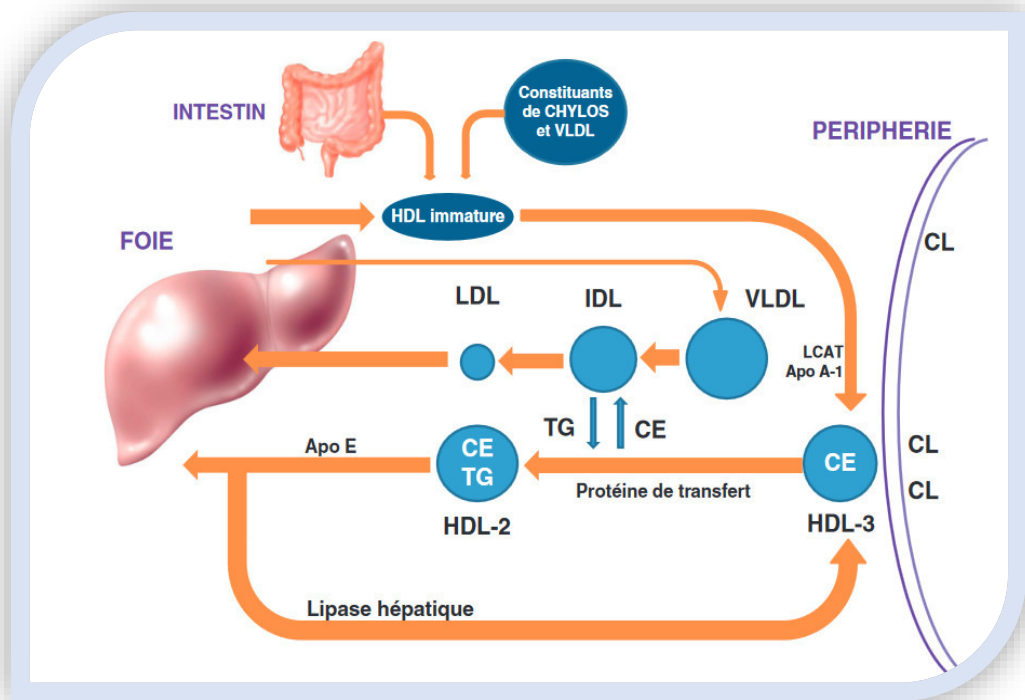
- Les chylomicrons, densité < 0.94.
- Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL),  $0.94 < \text{densité} < 1.006$ .
- Les lipoprotéines de basse densité (LDL),  $1.006 < \text{densité} < 1.1.063$ .
- Lipoprotéines de haute densité (HDL), densité > 1.063.

**Tableau 1 :** Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines [59].

Type de lipoprotéine	Mobilité électrophorétique	Densité (g/ml)	Taille (nm)	Proportion EC/TG	Principales apolipoprotéines
<b>Chylomicrons</b>	Pas de migration	0.93	75-1200	1/19	B48, E, C
<b>VLDL</b>	pré $\beta$	0,93 -1,006	30-80	1/3,3	B100, E, C
<b>IDL</b>	pré $\beta$ lent	1,006-1,019	27-35	1/3,5	B100, E
<b>LDL</b>	$\beta$	1,019-1,063	18-27	1/0,23	B100
<b>HDL2</b>	$\alpha$	1,063-1,125	9-12	1/0,22	AI, AII, C

<b>HDL3</b>	$\alpha$	1,125-1,210	7-9	1/0,19	AI, AII, C
<b>préβHDL B 100, (a)</b>	préβ	1,210-1,250	<7 (disques)	nd	AI
<b>Lp(a)</b>		1,040-1,115		25	B 100, (a)

### III.3 Métabolisme des lipoprotéines



**Figure 9 :** Le métabolisme des lipoprotéines.

CL : Cholestérol libre, CE : Cholestérol estérifié, TG : Triglycérides [60].



### ❖ La voie exogène

Permet le transfert des lipides alimentaires vers le foie par l'intermédiaire des chylomicrons qui contiennent l'apoprotéine 48 et l'apoC-II, cofacteur de la lipoprotéine lipase (LPL) qui hydrolyse les chylomicrons dans le compartiment vasculaire et libère des AG libres. Les anomalies de la LPL se traduisent par une accumulation de chylomicrons riches en TG.

### ❖ La voie endogène

Elle répartit les TG et le cholestérol du foie vers l'ensemble des tissus par l'intermédiaire des VLDL et des LDL. L'apoB-100 qui en est la charpente, est reconnue par les récepteurs membranaires qui permettent l'internalisation du cholestérol dans les cellules par un mécanisme d'endocytose. Les apoC et E, abondantes, sont échangeables. La lipase hépatique ou triglycéride lipase hépatique hydrolyse les glycérides des VLDL et IDL qu'elle transforme en LDL plus concentrées en cholestérol, achève l'hydrolyse des lipoprotéines légères et prépare le captage des LDL par leur récepteur.

### ❖ La voie de retour ou voie inverse

Elle permet au cholestérol en excès dans les tissus de revenir vers le foie qui l'excrète, par l'intermédiaire des LP HDL. L'efflux de cholestérol des cellules dépend d'une interaction entre l'ApoA-I du HDL et les récepteurs membranaires et, sur tout, de la lécithine cholestérol acyltransférase (LCAT).

Cette enzyme plasmatique hydrolyse les lécithines des LP et produit des esters de cholestérol. Elle catalyse l'estérification du cholestérol, ce qui le rend apolaire et lui permet de s'accumuler à l'intérieur des particules HDL naissantes qui deviennent sphériques. Elle agit sur les LP HDL qui ont capté le cholestérol des membranes périphériques. Le HDL enrichi en ester de cholestérol à l'issue de l'action de la LCAT conduit le cholestérol vers le foie. [61][62][63][64].

## III.4 Les Apolipoprotéines

### III.4.1 Définition

Les Apolipoprotéines sont des glycoprotéines qui permettent la circulation des lipides (insolubles en milieu aqueux) dans le sang.

Elles ont une double fonction de structure et de régulation métabolique : elles assurent la cohésion du complexe lipidique et sa solubilisation et agissent également comme activateurs des enzymes du métabolisme des lipides à la surface de ces lipoprotéines et aussi en tant que ligands pour des récepteurs à la surface cellulaire (ex LDL récepteur) [65].

Les taux plasmatiques de certaines apoprotéines et lipoprotéines sont associés au risque d'athérosclérose [66].

### III.4.2 Importance des Apolipoprotéines

**Tableau 2 :** Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonction des principales apolipoprotéines humaines [67] [68].

NOM	PM en (Da)	[C] plasmatique	Tissu	Distribution	Fonction
<b>Apo AI</b>	28300	1.10 à 2g/l	Foie, intestin	CM HDL	Structurelle ; activateur Physiologique de la LCAT ; efflux de cholestérol
<b>Apo AII</b>	17000	0.4g/l	Foie	HDL	Structurelle ; activateur/inhibiteur de la HL ; efflux de cholestérol

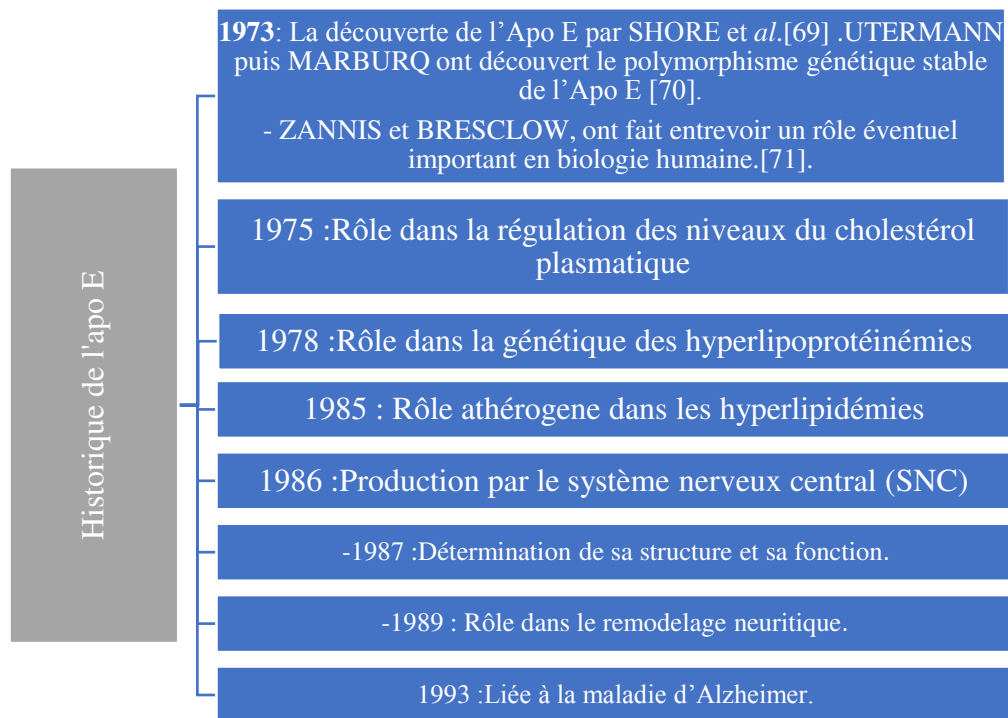
<b>Apo AIV</b>	46000	0.15 g/l	Foie, intestin	CM HDL	Transport reverse du cholestérol ; activateur de la LCAT métabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides
<b>Apo AV</b>			Foie		Métabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides
<b>ApoBI00</b>	550000	0.6 à 1.40g/l	Foie	VLDL, IDL. LDL	Structurelle : synthèse et sécrétion des VLDL ; ligand du récepteur LDLR
<b>Apo B48</b>	264000	0.03à0.05 g/l	Intestin	CM	Structurelle ; synthèse et sécrétion des chylomicrons ; ligand du récepteur B48R
<b>Apo CI</b>	6300	0.04à 0.06g/l	Foie (intestin)	CM VLDL HDL	Inhibiteur physiologique de la CETP : activateur de la LCAT; inhibiteur de la liaison aux LDLR, LRP et VLDLR
<b>Apo CII</b>	8800	0.03à 0.05g/l	Foie (intestin)	CM VLDL HDL	Activateur physiologique (cofacteur) de la LPL
<b>Apo CIII</b>	8700	0.12à 0.14g/l	Foie (intestin)	CM VLDL HDL	Inhibiteur physiologique de la LPL ; inhibiteur de la captation hépatique des lipoprotéines riches en TG
<b>Apo D (Apo A III)</b>	33000	0.06à 0.07g/l	Foie, intestin, rate pancréas, cerveau, rein Surrénales	HDL LDL VLDL	Transport reverse du cholestérol ?
<b>Apo E</b>	34200	0.03à 0.05g/l	Foie macrophage cerveau	CM VLDL IDL HDL	Ligand des récepteurs LDLR et LRP





**Chapitre IV**  
**Apolipoprotéine E**

## IV.1 Historique



## IV.2 Définition et caractéristique

L'Apolipoprotéine E (ApoE) est une protéine ubiquitaire, jouant un rôle dans le transport du cholestérol et des phospholipides [69] [72].

Ce dernier est appelé sous le nom de peptide riche en arginine, identifiée pour la première fois en 1973 par SHORE et ALCOMME constituant des VLDL [69].

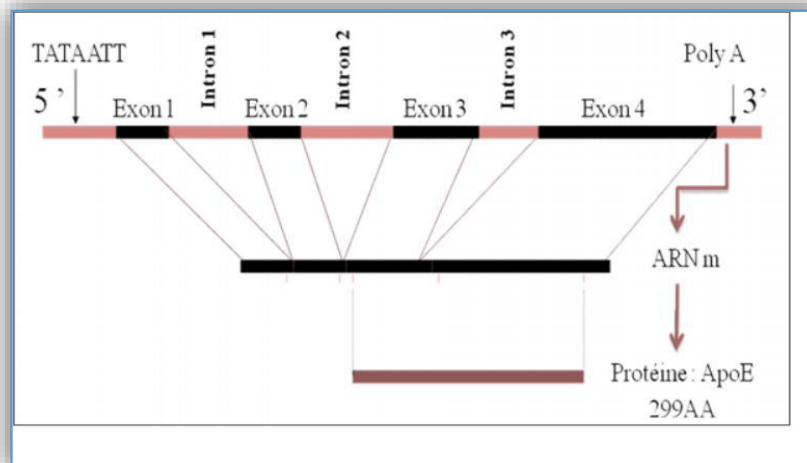
Une des caractéristiques majeures de cette apolipoprotéine est son polymorphisme, UTERMANN et ses collègues furent les premiers à le démontrer. Elle existe sous au moins trois isoformes fréquentes, associées à une hétérogénéité des concentrations plasmatiques des lipides et des lipoprotéines. La connaissance de cette molécule a aidé à résoudre l'étiologie de certaines maladies, et à mieux faire comprendre le métabolisme des lipoprotéines. Elle a fourni un des meilleurs modèles

expérimentaux pour l'étude de l'athérosclérose et remarquablement illustré la notion de prédisposition génétique et d'interaction gène-gène et gène-environnement [73].

## IV.3 La génétique de l'Apo E

### IV.3.1 Le gène de l'Apo E

Le gène de l'apo E est unique et situé à l'extrémité centromérique de l'ensemble d'une famille de gènes codant pour le groupe apolipoprotéine E, CI, et CII, sur le chromosome 19, dans la région q13.2 [74] [75]. Ce gène de 3,7 kb comporte quatre exons et trois introns [75][76]. 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. L'ARNm a une longueur de 1163 paires de base (figure 10).



**Figure 10 :** Le gène de l'apoE et modifications post transcriptionnelles [77].

### IV.3.2 La protéine l'Apo E et ses modifications post-traductionnelles

La protéine Apo E précurseur synthétisé à partir de la traduction d'ARNm qui l'encode, subit des modifications post-traductionnelles : L'apo E est clivée par une peptidase pour les 18 acides aminés composant le peptide signal, lors du passage à travers la membrane du réticulum endoplasmique [78].

L'Apo E intracellulaire subit des O-glycosylations, accompagnée de sialylation. La glycosylation, qui s'accompagne généralement d'une sialylation, a lieu à un seul site de l'apo E, à la thréonine 194. La protéine est ensuite sécrétée et désialylée extracellulairement. 90% de l'apo E plasmatique est désialylée. L'apo E mature sécrétée est une protéine de poids moléculaire apparent de 34 kDa (299 acides aminés) [79].

## IV.4 Protéine Apo E

### IV.4.1 Structure

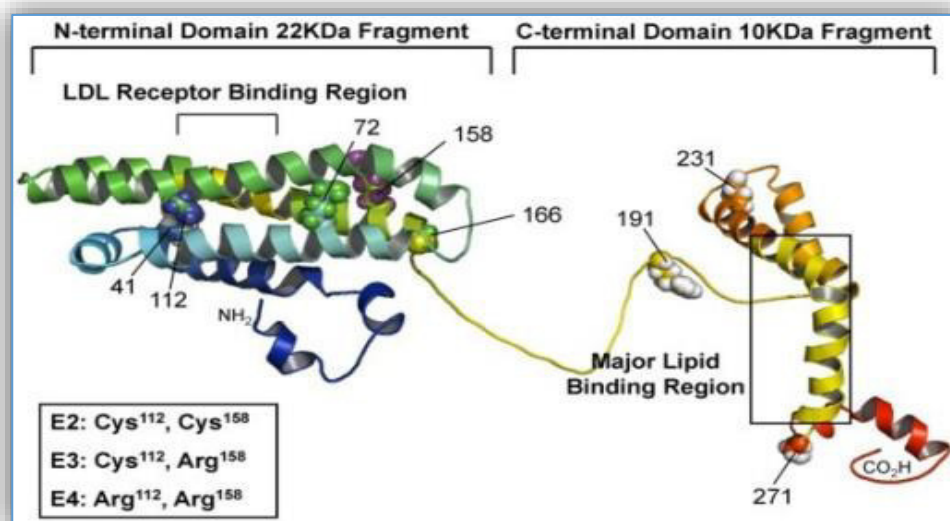
Les études structure- fonction de l'Apo E ont montré qu'elle comporte deux domaines structuraux correspondant à deux domaines fonctionnels indépendants .qui peuvent être individualisés par clivage à la thrombine [80].

- La partie N-terminale : "*receptor binding domain* " (1-191) (22 kDa) elle comporte quatre hélices  $\alpha$ -amphiphiles de 22 acides aminés (caractéristiques des apolipoprotéines) arrangées de façon antiparallèle et un domaine riche en acides aminés basiques (lysine et arginine) qui représente un site de fixation à l'héparine (142-147)[81]et de liaison avec le récepteur LDL (141-155)[82][83].

Les résidus basiques forment un domaine de charges positives qui va interagir avec les charges négatives des récepteurs LDL.



- La partie C-terminale "*lipid binding domain*" (216-299) (10 kDa) Elle comporte trois hélices, joue un rôle majeur dans le transport des lipides, grâce à un site de liaison aux lipides (244-272) [84].
- La partie située entre ces deux domaines fonctionnels : *Linker* est une région de structure non ordonnée, sensible au clivage protéasique, et contenant un site potentiel d'attache glycanne [85][86][87]. Bien que les deux domaines (N-terminal et C-terminal) soient indépendants, ils peuvent avoir une influence sur les propriétés de l'autre.



**Figure11 :** Le modèle de l'apolipoprotéine E humaine [88].

#### IV.4.2 Isoformes

De part leur composition en acides aminés, les isoformes de l'Apo E présentent des substitutions aux positions 112 et 158 qui induisent des changements de point isoélectrique (Apo E2 pI=5,5; Apo E3 pI=5,4; Apo E4 pI=5,3) [85] ; ce qui rend possible leur détection par électrophorèse. Il existe 3 formes :

- **L'Apo E4**

Une liaison Arg 112- Glu 109 qui induit une structure favorisant également la liaison de l'Arg 61 du domaine N-terminal en tant que charge positive interagissant avec le Glu 255 de charge négative du segment C-terminal. Cette liaison a un rôle primordial dans la formation d'une hélice de structure tridimensionnelle de l'Apo E4. Cette propriété particulière lui confère la préférence pour former des complexes VLDL [89].

- **L'Apo E3**

Contient une Cys qui entraîne une variation de la liaison intramoléculaire avec l'acide aminé Glu situé en position 109 ; la liaison 112-109 Glu ne s'effectuera pas, par conséquent l'Arg 61 sera positionné différemment sans interagir avec le résidu Glu 255. Ce mécanisme semble unique à l'homme [85]. Cette molécule a une préférence pour former des complexes de type HDL.

- **L'Apo E2**

La présence des cystéines en position 112 et 158 permet la formation de dimères et de multimères. L'absence de cystéine aux positions, 112 et 158 remplacées par des arginines dans l'Apo E4 impose la présence de cette isoforme sous forme monomérique [85].

#### **IV.4.3 Biosynthèse et distribution tissulaire**

L'apoE est synthétisée par de nombreux organes : le foie, le cerveau, la rate, les poumons, les surrénales et les reins. [90][91][92][93]. Le foie est le site majeur d'expression de mRNA d'apo E : il serait approximativement à l'origine des 3/4 de d'apoE plasmatique circulant. Dans le foie, les cellules du parenchyme hépatiques sont essentiellement responsables de la production de l'apoE [92]. Le second site de production de l'apo E est le cerveau (environ 1/3 de l'apo E du foie) [91]. Sa synthèse peut être effectuée au niveau du

système nerveux central par les oligodendrocytes, la microglie [94] [95] et plus particulièrement les astrocytes [96][ 97][98] [99][100].

L'Apo E est aussi élaborée dans des proportions moindres par les surrénales, le rein, les cellules du système réticulo-endothélial et les macrophages dans les tissus [101].

#### **IV.4.4 Les récepteurs de l'Apo E**

La majorité des récepteurs aux lipoprotéines contenant l'apo E fait partie de la famille des récepteurs LDL, le récepteur LDL est exprimé dans les terminaisons nerveuses et sur les astrocytes [102].

L'Apo E est un ligand pour tous les récepteurs de la famille du récepteur LDL, possédant tous une homologie structurale. L'Apo E possède 25 fois plus d'affinité pour le récepteur LDL que l'Apo B (la principale apolipoprotéine des LDL), d'où le nom de récepteur Apo B/E (tableau 3).

Le polymorphisme des isoformes E2, E3 et E4 interviennent au niveau du site d'interaction avec les récepteurs LDL et entraînent des changements de charges. Ces changements pourront modifier les interactions avec les récepteurs. L'isoforme E2 serait moins affine que les isoformes E3 et E4 pour ces récepteurs [103].

**Tableau 3:** les principaux récepteurs de l'Apo E dans les différents tissus [85,104,105].

Nom	Famille	Principaux Tissu (Localisation)
<b>LRP</b>	Récepteurs des LDL	Foie, cerveau et poumon
<b>ER-2 apoE receptor maintenant (LRP8)</b>	Récepteurs des LDL	Cerveau, placenta
<b>Isoformes d'ER - 2 LRP8</b>	Récepteurs des LDL	Plaquettes et endothélium
<b>récepteur scavenger</b>	Récepteurs Scavenger	Cellules microgliales
<b>LRP9</b>	Récepteurs des LDL	Foie, rein et poumon

#### IV.4.5 Régulation

La synthèse de l'apo E est régulée au cours du développement et par des facteurs hormonaux et nutritionnels [106]. L'expression de l'apo E dans le cerveau est régulée par les oestrogènes, cette régulation est tissu spécifique [107] [108]. Le promoteur de l'apo E dans les astrocytes est régulé de manière positive par l'AMPc et l'acide rétinoïque, grâce à une séquence consensus nommée AP-2 [109].

#### IV.4.6 Rôle

L'apolipoprotéine E (Apo E) est une molécule polymorphe et pléiotrope. Son étude a permis de comprendre l'effet modulateur puissant de son gène sur l'expression de maladies répandues : comme l'athérosclérose. Il a de multiples effets que se soit comme :

- ❖ Ligand pour diriger les lipoprotéines vers leurs sites d'épuration ou conduire à certains organes le cholestérol nécessaire à sa fonction
- ❖ Composante de lipoprotéines spécialisées pour le transport à rebours du cholestérol vers le foie
- ❖ Avoir un effet bénéfique sur l'athérosclérose par sa capacité :
  - D'inhiber la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses (CML).
  - La prolifération et l'activation des lymphocytes.
  - L'agrégation plaquettaire et la production d'oxyde nitrique par les plaquettes.
  - Les effets antioxydants sur la peroxydation lipidique ou autre.

## IV.5 Polymorphisme de l'Apo E

### IV.5.1 Définition

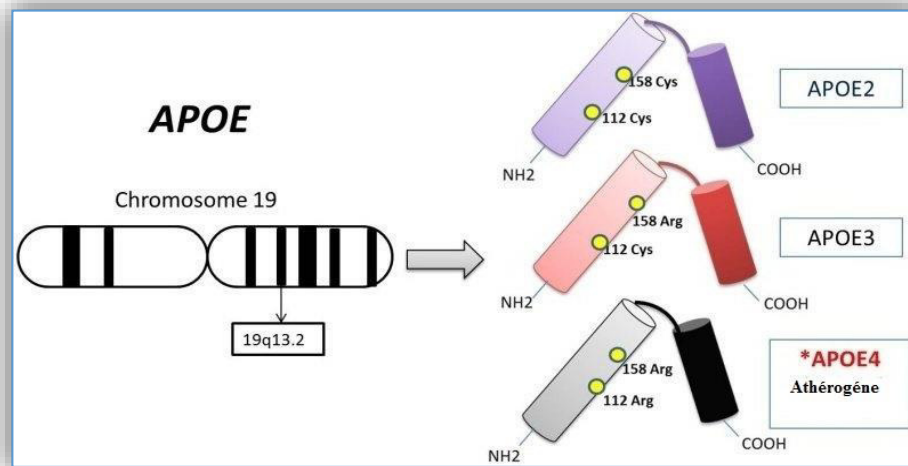
Les polymorphismes sont des marqueurs génétiques qui correspondent à une séquence d'ADN présentant une variabilité interindividuelle au sein d'une espèce donnée transmis selon un mode mendélien et mis en évidence par des techniques de biologie moléculaire. Un polymorphisme est une mutation à un locus donné dont la fréquence en population est supérieure à 1%.

Le gène Apo  $\epsilon$  est polymorphique possédant trois allèles  $\epsilon_2$ ,  $\epsilon_3$  et  $\epsilon_4$  qui codent pour les trois isoformes principales E2, E3, E4. La fréquence des allèles varie selon les populations, toutefois l'isoforme E3 reste la plus fréquente [110].

Les allèles de l'Apo  $\epsilon$  se transmettent de façon codominante : chaque individu en possède deux d'où l'existence de six génotypes : trois génotypes homozygotes ( $\epsilon_2/\epsilon_2$ ,  $\epsilon_3/\epsilon_3$ ,  $\epsilon_4/\epsilon_4$ ) et trois génotypes hétérozygotes ( $\epsilon_3/\epsilon_2$ ,  $\epsilon_3/\epsilon_4$ ,  $\epsilon_2/\epsilon_4$ ).

Le séquençage direct de l'Apo E par RALL et *al* en 1982 a permis de découvrir les différences existant entre les isoformes [111]. Les trois allèles résultent d'une transition d'une cytosine (C) en une thymine (T) aux positions correspondantes aux

acides aminés 112 et 158 de la protéine, modifiant ainsi les sites de restriction par l'enzyme HhaI [112] (Figure 12).



**Figure12 :** Les mutations du gène de l'Apo E aux positions 112 et 158 [113].

L'Apo E2 comprend deux cystéines, l'apo E3 comprend une cystéine en position 112(codon TGC) et une arginine en 158 (codon CGC) et l'apo E4 deux arginines en position 112 et 158 [114].

Ces mutations (Arg = CGC, Cys = TGC) entraînent un polymorphisme de longueur des fragments de restriction lors d'une digestion de l'ADN de l'exon 4 du gène de l'apoE par l'enzyme Hha I (gcg/c). La présence des deux sites identifie l'allèle  $\epsilon 4$  et leur absence l'allèle  $\epsilon 2$ . Dans l'allèle  $\epsilon 3$ , l'enzyme de restriction Hha I coupe l'ADN en 158 mais pas en 112. Les trois isoformes E2, E3, E4 ont des charges respectivement égal à 0, 1+et 2+ [115]. L'allèle  $\epsilon 4$  est considéré comme l'allèle ancestral ; l'allèle  $\epsilon 3$  qui est le plus fréquent, et l'allèle  $\epsilon 2$  qui est habituellement le plus rare [116].

Comme cette dernière joue un rôle primordial dans le métabolisme des lipides par conséquent sur les MCV par augmentation du risque de la maladie athéromateuse.

#### IV.5.2 La relation entre le polymorphisme de l'Apo E et l'athérosclérose

Certaines études plus approfondies réalisées au sein de plusieurs populations ont montré que cette variation génétique de l'Apo E pourrait aussi être un facteur déterminant représenté le plus souvent par l'allèle  $\epsilon_4$  dans le risque de développer une MCV. Ces études ont montré que d'une façon générale les coronariens avaient une fréquence accrue de l'allèle  $\epsilon_4$  et une fréquence moindre de l'allèle  $\epsilon_2$  par rapport aux sujets  $\epsilon_3/\epsilon_3$  [104].

En plus de ces trois isoformes, divers variantes génétiques ont été mis à jour avec ou sans modification de la charge électrique comme l'Apo E5 ayant subi l'insertion de 24 Pb résultant de la duplication en tandem de résidus 135-142 [117], l'Apo E1 et E7 [118][119] présentant les mutations qui se situent fréquemment dans la région des sites 140 à 160 de la molécule, ou encore l'Apo E3 LEIDEN, le plus souvent s'associant à des troubles lipidiques et l'Apo E3' Montréal, une nouvelle variante associée à l'hyperlipidémie [104].

#### IV.5.3 Impact du polymorphisme de l'Apo E sur le métabolisme lipidique

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 [120][121] et de ZANNIS et BRESLOW [122] 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 [123]. En effet, Chez les porteurs de l'allèle  $\epsilon_2$  (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  $\epsilon_2$ . Les déficiences se traduisent par une augmentation des chylomicrons et des résidus de VLDL dans le plasma, ce qui a pour effet d'induire une

augmentation du nombre de récepteurs, d'où un taux plus bas de cholestérol et de LDL-C plasmatiques, et un taux plus élevé des TG que chez les individus (E3/E3) [124]. Si les individus sont porteurs de l'allèle e4 (E4/E4, E4/E3), les caractéristiques sont alors à l'inverse des individus porteurs de l'allèle e2. 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 e3 (E3/E3) [125].

Il est alors devenu important de déterminer dans quelle mesure chaque allèle influençait les taux plasmatiques de lipoprotéines et si ces effets étaient généralisables. Charles F. de l'Université du Michigan a calculé l'effet allélique moyen chez des sujets normolipidémiques (LDL-C < 50<sup>ième</sup> percentile) dans la région d'Ottawa tout en considérant l'âge, le poids et la taille, il a pu établir l'impact relatif des trois allèles sur les taux de cholestérol, de LDL-C et d'Apo B et clairement démontrer l'effet d'élévation de l'allèle e 4 et de diminution de l'allèle e 2 [104].





Partie Pratique



# Moyens et Méthodes

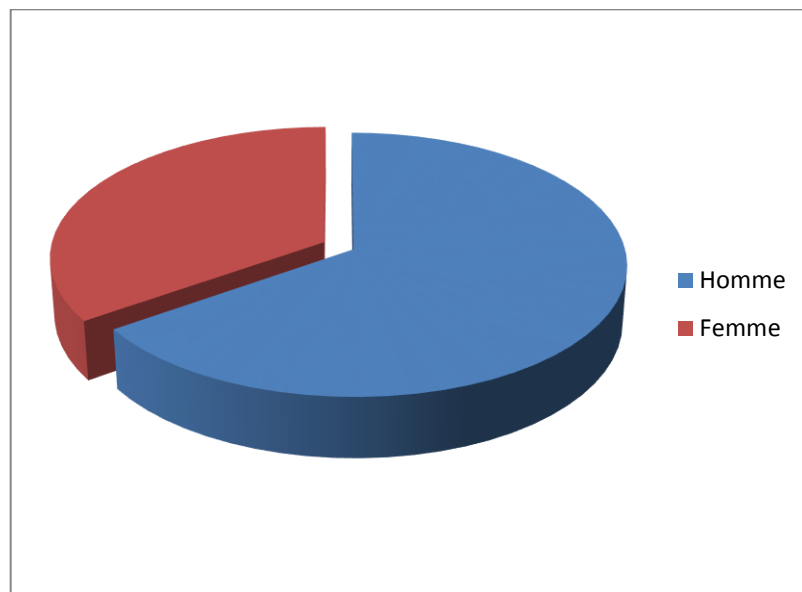
## I.MOYENS

### I.1 Recrutement des individus

La population témoin : C'est la population générale dont le nombre de sujets est de 72 (25 de sexe féminin et 47 de sexe masculin), admis au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHUC) essentiellement aux services de cardiologie et de la réanimation médicale.

**Tableau 4 :** Répartition de la population témoin.

	Femmes		Homme		Total	
	N	%	N	%	N	%
<i>Témoin</i>	25	34,7	47	65,3	72	100



**Figure 13 :** Répartition de la population Témoin.

## **I.2 Critères d'inclusion et d'exclusion**

### **I.2.1 La population témoins**

#### **Critères d'inclusion**

- ✓ Tous les Sujets des 2 sexes âgés de 20ans et plus

#### **Critères d'exclusion**

- ✓ Tous Les sujets présentant des antécédents personnels ou familiaux des pathologies cardiovasculaires (IDM angine de poitrine, AVC ou AOMI
- ✓ Ayant une pathologie entraînant une augmentation des paramètres lipidiques (Hypertension artérielle, Obésité, Diabète....etc.)
- ✓ Sous traitement médical, femmes enceintes ou encore celles prenant des oestoprogestatifs au moment de l'enquête.

## **II. Méthodes**

### **II.1 Questionnaire**

Un questionnaire clinique comprenant toutes les données nécessaires est établi pour la population d'étude. Tous les renseignements nécessaires sont enregistrés dans ce questionnaire après une consultation du dossier médicale du malade et un interrogatoire du cas témoins (Annexe 1). Ce questionnaire comporte :

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

Un numéro d'enregistrement est donné à chaque sujet : des chiffres commençant à partir du numéro 1 pour la population témoin précédé par une lettre N.

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

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

### II.1.3 Données biocliniques

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

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

#### ▪ Prélèvement du sang

5 à 10 ml de sang sont prélevés dans un tube stérile contenant un anticoagulant (EDTA).

## II.2 Méthodes de dosage des paramètres lipidiques

Le cholestérol, les triglycérides et le cholestérol HDL ont été dosés le jour même du prélèvement. Après centrifugation le surnageant est utilisé pour le dosage des différents paramètres (bilan lipidique).

### II.2.1 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 Bayé.



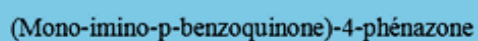
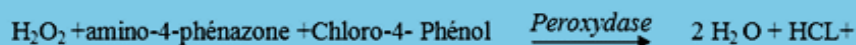
L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon du sérum.

## II.2.2 Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides a été effectué par une auto analyseur de type (ADVIA) suivant une méthode enzymatique [126] en utilisant des coffrets Bayé.

### ▪ Principe

Le principe repose sur le dosage en colorimétrie du glycérol libre (à 500nm) après sa libération par hydrolyse enzymatique des triglycérides selon les réactions suivantes :



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

### II.2.3 Le cholestérol HDL

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

#### ▪ Principe

Les chylomicrons, les VLDL et les LDL sont précipités par addition d'acide phosphotungstique et d'ions  $Mg^{++}$  à l'échantillon. On détermine par voie enzymatique la concentration en cholestérol des HDL qui restent dans le surnageant après centrifugation. Le dosage du C-HDL s'est effectué selon les recommandations de la société française de biologie clinique (SFBC) [127].

#### ▪ Technique

Pour précipiter les lipoprotéines de haute densité, on a utilisé la micro méthode avec 200ul de sérum et 500ul de réactif précipitant dilué (4 volumes de réactif +1 volume d'eau distillé). Agitation 30s au vortex puis centrifugation pendant 10mn à 5000g minimum [128].

La décantation est faite dans les 15 mn qui suivent en évitant la remise en suspension. (Le surnageant doit avoir une D.O  $\leq 0,3$  à 600nm).

Pour le surnageant troubles ou bien lorsque le taux de triglycérides est augmenté ou lorsque la D.O du surnageant est  $\geq 0,3$ , l'échantillon est dilué avec une solution physiologique de NaCl dans le rapport (1 :1).

### II.2.4 Cholestérol LDL

Le cholestérol LDL est calculé grâce à la formule de FRIEDEWALD [129] [130].

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

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

- ✓ TG/5 si les résultats sont exprimés en g/l.
- ✓ TG/ 2,2 si les résultats sont exprimés en mmol /l.

$$\text{LDL -C} = \text{CT} - [(\text{TG} /5) + \text{HDL -C}]$$

Cette formule n'est valable que si la détermination des HDL-CHOL est correcte (Absence du chylomicrons et les TG  $\leq$  à 4mmol/L (3.5g/l)).

## II.3 manipulation sur le sang total

### II.3.1 Extraction d'ADN

La plupart des études génétiques nécessitent la disposition d'échantillons d'acide nucléique, les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN. Les autres sources cellulaires peuvent être des biopsies (biopsie de villosités chorales...) ou des cultures de cellules (amniocytes, fibroblastes, lignées lymphoblastiques...) [131].

L'extraction d'ADN est requise pour des applications de biologie moléculaire telles que la PCR, la digestion par les enzymes de restriction, le Southern blotting etc., et pour l'analyse d'échantillons médico-légaux et cliniques. Les méthodes d'extraction des acides nucléiques sont diverses. Celles employées dans notre étude est une méthode utilisant un solvant inorganique, NaCl.



### II.3.1.1 Etape d'extraction d'ADN

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

#### II.3.1.1.1 Préparation des leucocytes

L'extraction des acides nucléiques à partir du sang est vigoureusement mélangé à une solution hypotonique TE 20 :5 dans un tube falcon de 50ml pour faire éclater les globules rouges. La lyse est réalisée à 4 °C pendant 10 à 15 minutes.

Le lysat est centrifugé pendant 15 min à 3900 g (3800 rpm) et, après élimination du surnageant par aspiration avec la trompe à vide, le culot cellulaire contenant les leucocytes (0,3 % des cellules circulantes) est repris dans une solution TE 20:5 dans un volume total de 25ml. On dilacérant avec une passette stérile on le laisse dans la glace pendant 10 minutes.

Une deuxième centrifugation dans les même conditions que la première fois et le culot obtenu des leucocytes par une deuxième aspiration du surnageant est utilisé pour l'extraction de l'ADN. (Si on veut s'arrêter à ce niveau le culot des leucocytes est conservé dans un tube nunc de 1.5ml avec du TE 20 :1 à - 20°).

#### II.3.1.1.2 Extraction de l'ADN

1. Transverser le culot de leucocytes dans un tube falcon de 15 ml.
2. Ajouter 3 ml de tampon de lyse (Na cl 400mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, pH8.2) En dilacérant le culot.
3. Ajouter 200ul de SDS à 10 %.
4. Ajouter 100ul de protéinase K à 10mg/ml.
5. Agiter le tube sur une roue à 37°C pendant une nuit.
6. Le lendemain refroidir dans la glace.
7. Ajouter 1ml de NaCL 4M et agiter vigoureusement à la main.
8. Remettre 5 min dans la glace pour précipitation des protéines.

9. Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
10. Transvaser le surnageant dans un tube falcon de 15 ml, ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme.
11. Laisser éventuellement 30 min à  $-20^{\circ}\text{C}$  si la pelote ne se forme pas.
12. Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette Pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70%.
13. Mettre la pelote dans un tube nunc.

### II.3.1.2 Solubilisation

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

### II.3.1.3 Détermination de la pureté de l'ADN

La contamination de l'ADN extrait par des protéines a été vérifiée en mesurant la densité optique des extraits à 260 et 280 nm et en effectuant le rapport :

$$R = \text{DO } 260\text{nm} / \text{DO } 280 \text{ nm}$$

R doit être compris entre 2 et 1,7 ( $1.7 < R \leq 2$ )

- L'ADN est contaminé par les protéines si :  $\text{DO}260/ \text{DO}280 < 1.7$ .
- L'ADN est contaminé par les ARN si :  $\text{DO}260/ \text{DO}280 > 2$ .

### II.3.1.4 Détermination de la concentration de l'ADN

La densité optique à 260nm permet de calculer la concentration de l'ADN sachant que:

**1 unité de DO<sub>260nm</sub> = 50µg/ml pour une solution d'ADN double brin**

On déduit la concentration grâce au calcul suivant :

**[C] ( µg / ml ) = Facteur de dilution x DO<sub>260 nm</sub> x 50µg / ml**

**Facteur de dilution=Vol total/Vol d'ADN**

## II.4 Génotypage de l'Apo E

Elle consiste à amplifier une partie de l'ADN contenant le gène ε, puis de différencier les génotypes par digestion d'une enzyme de restriction spécifique. La détermination du génotype a été effectuée en plusieurs étapes successives :

- La PCR (Polymérase Chaîne Réaction) et contrôle de PCR sur gel d'agarose.
- La digestion du produit de PCR par une enzyme de restriction spécifique.
- La séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur un gel de polyacrylamide et distinction des différents génotypes par transillumination sous UV.

## II.4.1 Amplification par PCR :

La Polymerase Chain Reaction (PCR) est une technique de biologie moléculaire mise au point en 1985 par KARRY MULLIS et développé par HENRI A et ses collaborateurs de la compagnie CETUS (Californie, USA) en 1985 [132].

Cette réaction enzymatique conduit à l'amplification spécifique de plusieurs millions de fois d'une séquence nucléotidique précise que l'on désire étudier. Elle permet de repérer un fragment d'ADN ou de gènes précis même présents en quantité très faible dans un mélange puis de le multiplier rapidement.

### ▪ Principe de la PCR

La (Polymerase Chain Reaction) est une technique de répliation ciblée in vitro. Elle permet d'obtenir à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie. L'ordre de grandeur à retenir est celui du million de copies en quelques heures. C'est généralement suffisant pour une utilisation ultérieure. Le principe et les conditions expérimentales qui en découlent sont très simples.

Il s'agit de réaliser une succession de réaction de répliation d'une matrice double brin d'ADN. Chaque réaction met en œuvre deux amorces oligonucléotidiques dont les extrémités 3' pointent l'une vers l'autre en bornant la séquence à amplifier.

Une réaction de PCR correspond à la succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes :

- Une étape de dénaturation des acides nucléiques.
- Une étape d'hybridation des amorces sur les séquences cibles.
- Une étape d'extension des amorces par l'ADN polymérase.

Tous les éléments nécessaires à la réaction sont regroupés dans un tube qui sera soumis aux différentes températures correspondant à chaque étape. Ces cycles de température sont réalisés automatiquement dans un thermocycleur.

#### II.4.1.1 Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR

Pour préparer le milieu réactionnel on multiplie la quantité de chaque composant par le nombre de tubes voulu + un, c'est le tube témoin négatif dans lequel on met uniquement le mélange sans ADN.

L'ADN est amplifié par PCR avec deux amorces encadrant la région avec les deux codons polymorphes des acides aminés 112 et 158 de l'apoE.

Les amorces utilisées pour l'étude du polymorphisme de l'apoE sont :

**OD 5'-ATG GCG CTG AGG CCG CGC TC-3' (20pb).**

**OG 5'-AAC AAC TGA CCC CGG TGG CG-3' (20pb).**

- Tampon de Taq10x.....7µl
- DMSO.....7µl
- Mix de dNTP 25 mM(1/10).....6µl(200µM)
- Taq polymérase 2.5µL.....0,5µl
- Mg Cl 250 Mm.....3µl
- OG solution mère 0.93 mM.....1,2µl (0,6µM)
- OD solution mère 1.11mM.....1µl (0,6µM)
- H2O q.s.p 75µL.....47,3 µl

Taq polymérase doit d'être distribué très rapidement car elle doit rester le plus possible 2 °C.

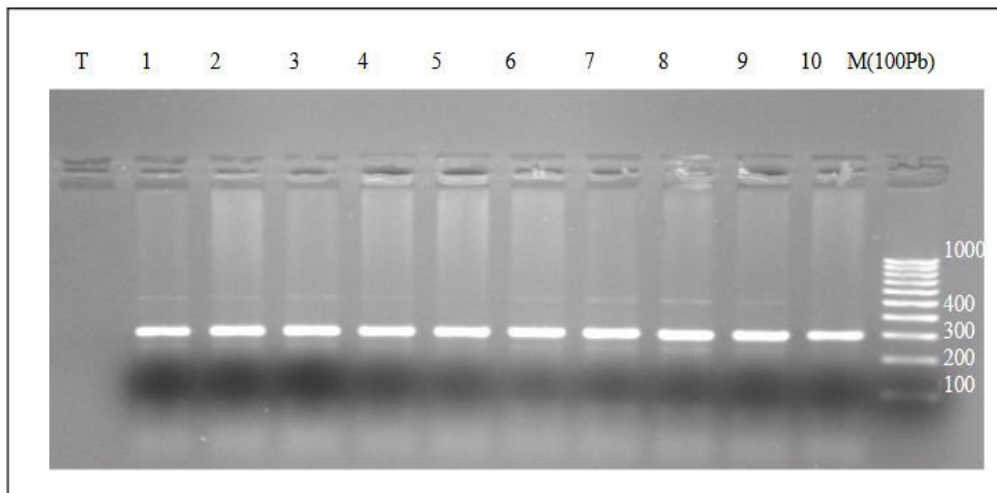
## Cycles PCR

- 5' à 94°C
  - 3' à 65°C
  
  - 50s à 72°C
  - 50s à 94°C
  - 50s à 65°C
- } 30-35 cycles
- 5' à 72 °C
  - 10' à 10 °C

### II.4.1.2 Le contrôle de la PCR

S'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose 1.5 % (1.5g d'agarose et 100 ml du TBE 1X) additionné de (10 µl) du BET (Bromure d'éthidium).

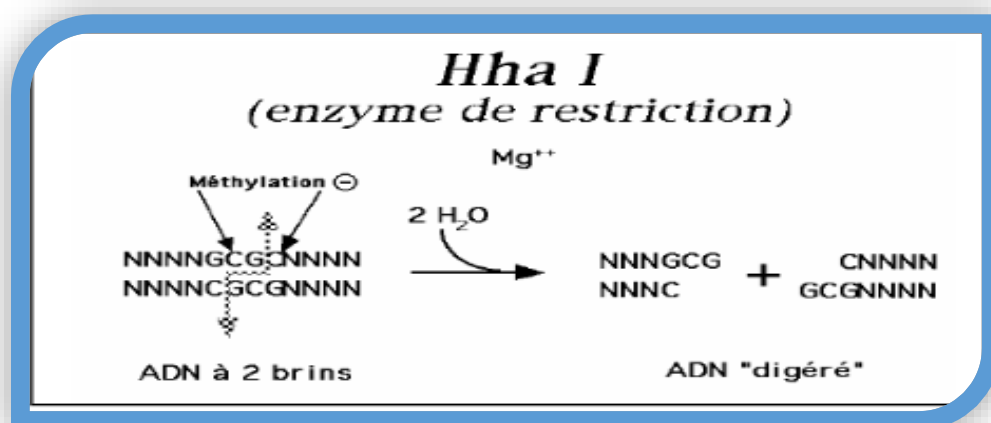
- Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale.
- Dans chaque puit du gel, nous déposons 10 à 15 µl d'amplificat en présence de 3µl du colorant Bleu de Bromophénol (BBP) qui permet de suivre le front de migration Parallèlement un échantillon sans ADN (blanc), est inclus dans la série à amplifier et sert de control négatif.
- Le dépôt se fait du côté cathode et le système est soumis à une migration sous un courant de 90 volts pendant 1 h.
- Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de bromure d'éthidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescents de même taille (figure : 14). Ce control permet aussi de vérifier si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR grâce au puit contenant le blanc.



**Figure 14 :** Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% des fragments amplifiés (292pb) par PCR du gène Apo E.

#### II.4.2 La digestion du produit de PCR

L'HhaI est une enzyme de restriction produite par *Haemophilus haemolyticus*. Elle reconnaît et clive la séquence GCG C codant pour les Arginines en position 112 et 158 (isoformes E3 et E4) quant aux séquences GTGC codant pour les cystéines en position 112 (isoformes E2 et E3) ne sont pas reconnues par l'enzyme ni coupées à ce niveau.



**Figure 15 :** site de restriction par l'enzyme HhaI.

### II.4.2.1 Clivage des produits de PCR

Les manipulations se font sur la glace :

Pour un volume final de 25 ul on prépare le mixte pour (n+1) tubes :

✓ Tampon .....	2.5 ul	} X (n +1)
✓ Hha I (10 unités) .....	1 ul	
✓ H2O qsp10ul .....	6.5 ul	

- Répartition de 10ul de mixte dans chaque tube.
- Ajouter 15ul 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.

### II.4.3 Electrophorèses des fragments de restriction

Les produits de restriction sont soumis à une migration sur gel d'acrylamide à 10% dans un tampon TBE 1X à 250 Volts.

#### II.4.3.1 Préparation d'un gel d'acrylamide10%

Pour un gel de 70 ml

✓ Acryl 30% .....	23.8ml
✓ TBE 10X.....	7ml
✓ H2O.....	38.5ml

Pendant que les réactifs se remettent à température ambiante

- Préparer le persulfate d'ammonium 10 % (0.01 g dans 100µl H2O).
- Monter le support de gel.
- Addition de persulfate d'ammonium et temed juste avant de couler le gel.



- ✓ 50µl de persulfate/10ml (350µl).
- ✓ 10µl de temed/10ml (70µl).
- 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 30 min à 2 heures.

#### **II.4.4 Dépôt 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), ôter le peigne et déposer délicatement au fond de chaque puit un échantillon ou marqueur (Annexe2).

#### **II.4.5 Migration**

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

#### **II.4.6 Coloration**

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

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

#### **II.4.7 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.

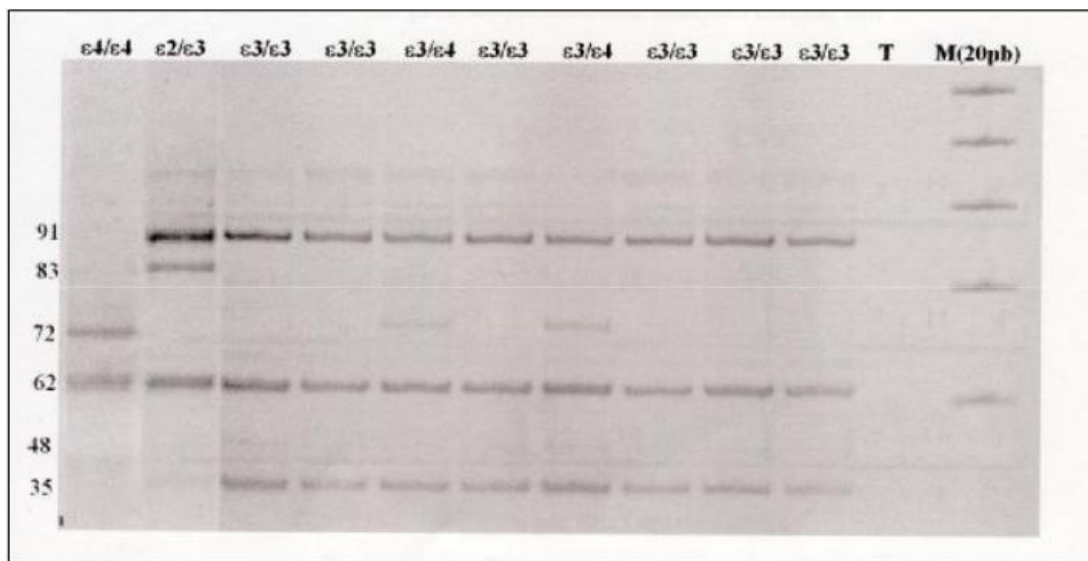
Les petits fragments de 35 Pb sont très difficiles à visualiser sur le gel sous UV. Quant à ceux de 19, 18, 16, 11,7 Pb, ils sont élués dans le tampon lors de la migration électrophorétique.

### ➤ Résultat

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

$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 2$	$\epsilon 4/\epsilon 2$	$\epsilon 2/\epsilon 2$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 4/\epsilon 4$
91	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 16 :** Profil d'électrophorèse sur gel d'acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI présentant différents génotypes d'Apo E.

## II.5 Analyse statistique

Les résultats statistiques de tous les échantillons obtenus ainsi que tous les paramètres considérés ont été traités par le logiciel Epi info version 6.0. Différentes méthodes, ainsi différents tests ont été utilisés dans cette étude.

### II.5.1 Statistique descriptive

Dans cette enquête descriptive nous avons utilisé :

- ✓ le calcul de la moyenne arithmétique, l'écart type.

$$X_a = \frac{\sum x}{n_a}$$

$$S_a^2 = \frac{\sum (x - x_a)^2}{n_a - 1}$$

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

Des comparaisons de moyenne avec formulation de l'hypothèse nulle,  
la comparaison de deux proportions observées

$$\varepsilon = \frac{(X_a - X_b)}{\sqrt{\frac{sa^2}{n_a} + \frac{sb^2}{n_b}}}$$

### II.5.2 Les intervalles de confiance

Les intervalles de confiance : ont été calculés par la méthode de CORNFIELD. L'approche certitude de cette estimation grâce à un intervalle de confiance, qui identifie généralement une fourchette de valeurs situées de part et d'autre de l'estimation et l'on peut être sûr à 95% de trouver la valeur réelle. L'intervalle de confiance pour les Odds ratio a été calculé à partir de l'approximation de FLEISS.

### II.5.3 Choix de la "p value "

Le seuil critique a priori est de 0.05 (risque  $\alpha$ ). Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative pour apparemment arbitraire est nécessaire pour l'homogénéité de la présentation des résultats. L'usage a retenu de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001) qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision.



## Résultat et Discussion

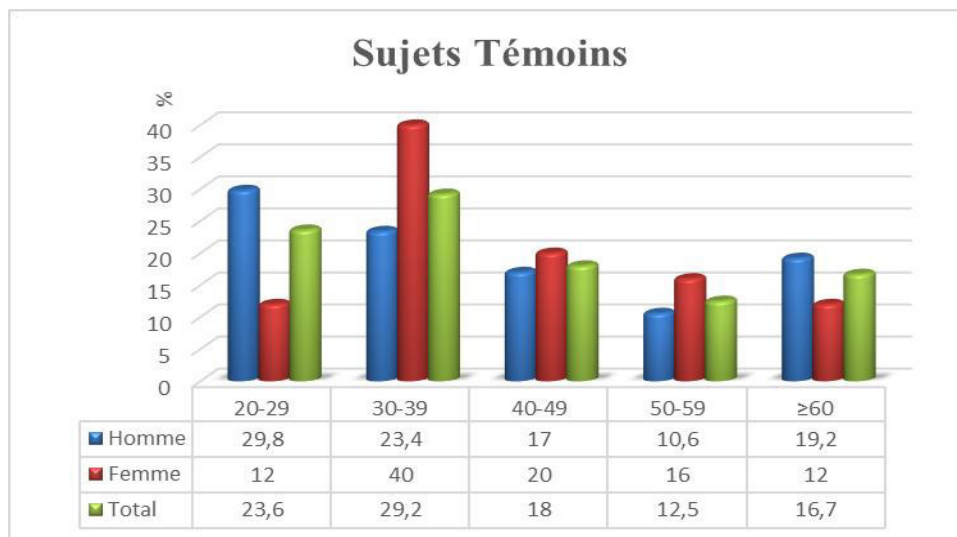
### III.1 Répartition des sujets témoins selon les groupes d'âge et le sexe

Les sujets témoins sont au nombre de 72 répartis entre : 25 de sexe féminin soit 34.7% et 47 de sexe masculin soit 65.3%.

Ils sont classés en tranches d'âge de 20 ans sauf pour les plus de 60 ans qui sont classés en une seule tranche.

**Tableau 6 :** Répartition des sujets témoins selon les groupes d'âge et le sexe.

	Femme		Homme		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	5	20	13	18
50-59	5	10.6	4	16	9	12.5
≥60	9	19.2	3	12	12	16.7
<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>100</b>	<b>25</b>	<b>100</b>	<b>72</b>	<b>100</b>



**Figure 17:** Répartition des sujets témoins selon les groupes d'âge et le sexe.

## III.2 Etudes des variations lipidiques dans les témoins

### III.2.1 Le cholestérol

En comparant les moyennes dans les deux sexes, on remarque qu'il n'y a pas de différence significative entre la cholestérolémie des hommes et des femmes .L'évolution de la cholestérolémie chez la femme est pratiquement parallèle à celle des hommes mais à un niveau légèrement supérieur. Chez les femmes, après l'âge de ménopause le taux du cholestérol augmente nettement et reste constant.

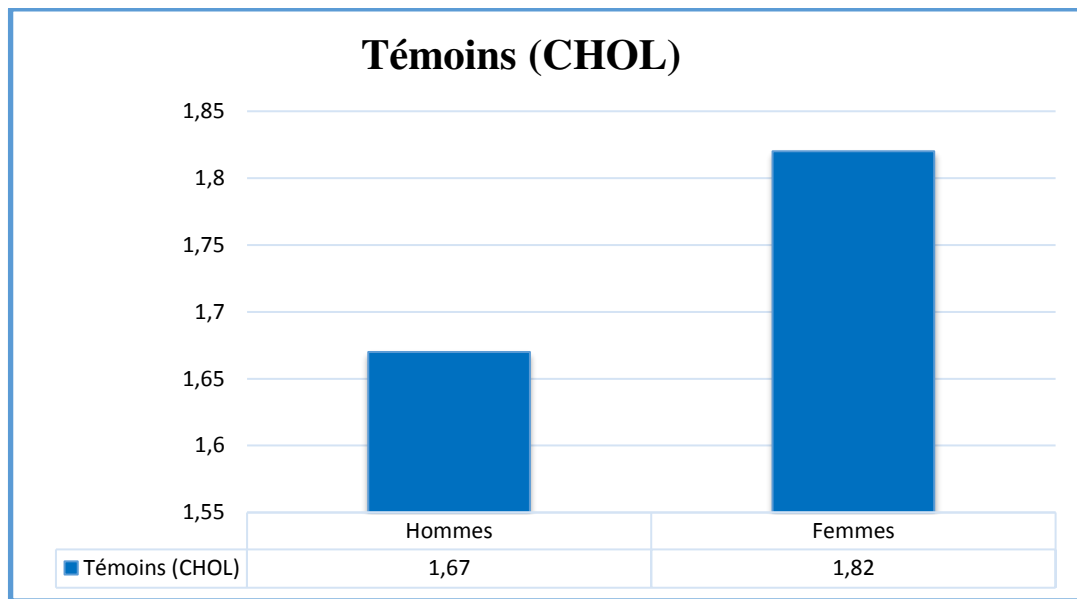
L'augmentation de la moyenne de la cholestérolémie chez la femme par rapport à celle de l'homme a été trouvé dans d'autres pays du Maghreb [133][134], les pays Européens [135] les pays d'Amérique du sud et le japon [136][137].

L'augmentation avec l'âge dans les deux sexes est rencontrée dans des études épidémiologiques avec cependant des valeurs plus élevées que celle trouvée par ADADI dans notre population [138] et la présente étude. Elle est absente dans des pays Africains comme la nouvelle Guinée et chez les Masais [139].

**Tableau7 :** Moyennes, écart type du cholestérol total selon le sexe.

	Témoins (CHOL)
Hommes	1.67±0.38
Femmes	1.82±0.42

Moyenne ±Ecart type



**Figure 18 :** Comparaison des moyennes du cholestérol total entre les deux sexes.

### III.2.2 Les triglycérides

Pour l'ensemble de la population des témoins, la moyenne est de  $1.08 \pm 1.05$ . L'évolution des moyennes montre une élévation modérée de la triglycéridémie dans les deux sexes. Cette augmentation est plus importante chez les hommes que chez les femmes respectivement

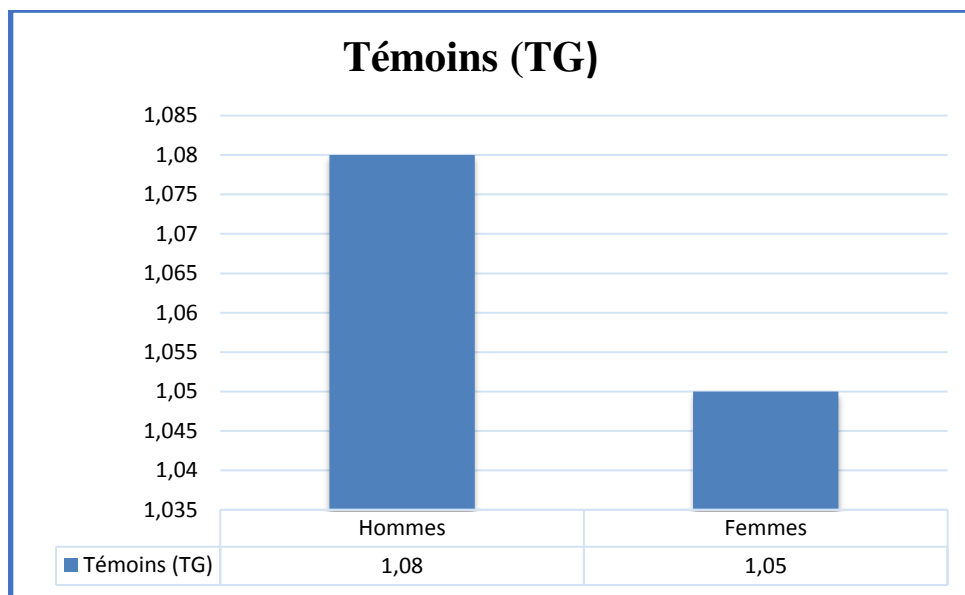
La plupart des études retrouvent une augmentation significative des taux de TG chez les coronariens même si on ne retrouve pas des triglycérides dans la plaque d'athérosclérose, l'augmentation des triglycérides peut jouer un rôle indirect dans sa constitution. Des preuves d'une relation indépendante entre triglycérides et maladie coronariennes sont apparues dans de récentes études épidémiologiques [140] [141].



**Tableau 8 :** Moyennes, écart type du triglycéride selon le sexe.

Témoins (TG)	
Hommes	1.08±0.4
Femmes	1.05±0.56

Moyenne ±Ecart type



**Figure 19 :** Comparaison des moyennes des triglycérides entre les deux sexes.

### III.2.3 Cholestérol HDL-C

On remarque, que la population féminine présente des valeurs moyennes plus élevées que chez les hommes.

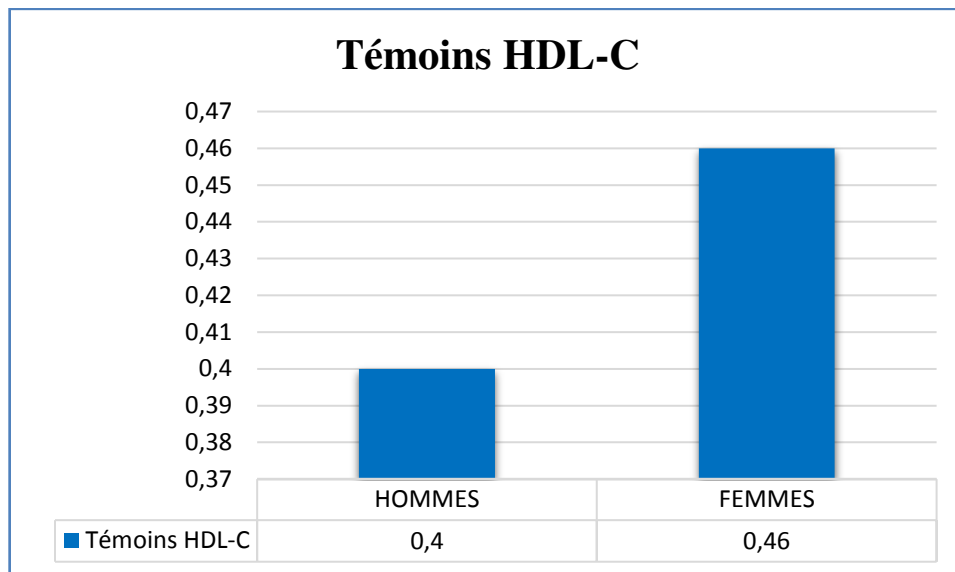
En comparant ces résultats avec celles de la LRC (Lipids Research Clinics) Américaines [142], On constate une grande différence entre les deux populations (Algérienne et Américaine) soit une différence de 10.7% chez les hommes et 6.6% chez les femmes. Ceci tient probablement au fait que Les femmes algériennes sont plus sédentaires, alors que la majorité des femmes américaines pratiquent le sport et sont à plus de 50% des employées.

L'étude de KANNEL [143] qui trouve que le cholestérol HDL est meilleur que le cholestérol total dans la prédiction des maladies cardio-vasculaires dans les deux sexes. Même en analyse multivariée la relation entre maladies cardio-vasculaires et C-HDL demeure puissante et surtout chez les femmes.

**Tableau 9 :** Moyennes, écart type du cholestérol HDL-C selon le sexe.

	Témoins (HDL-C)
Hommes	0.40±0.10
Femmes	0.46±0.010

Moyenne ±Ecart type



**Figure 20 :** Comparaison des moyennes du cholestérol HDL-C entre les deux sexes.

### III.2.4 Le cholestérol LDL-C

L'évolution des moyennes du cholestérol LDL ne montre pas de différence significative entre les deux sexes .la moyenne est de  $1.06 \pm 1.13$ .

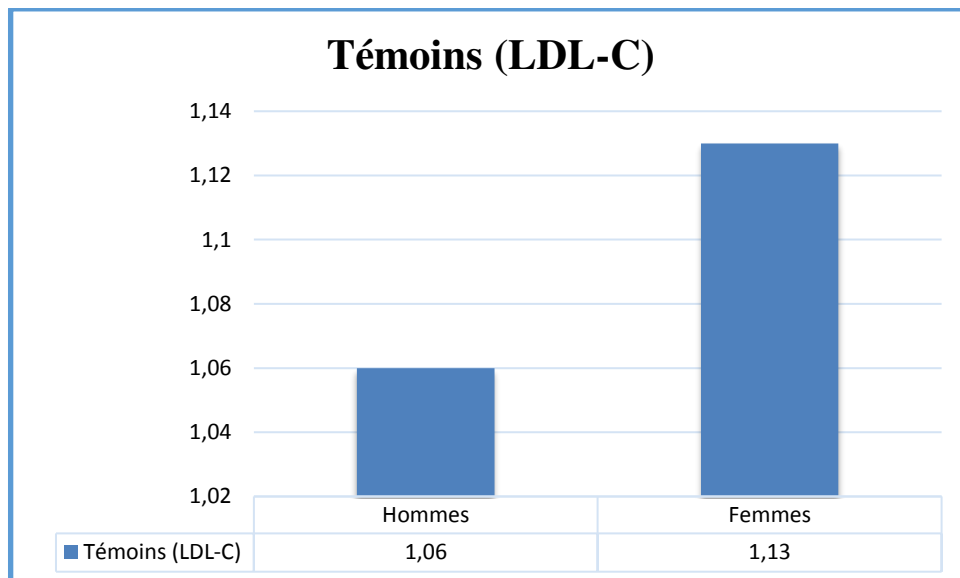
Les variations du C-LDL selon le sexe ressemblent à ceux du cholestérol total. Ceci paraît logique vu que plus de 70% du cholestérol total est transporté par les lipoprotéines de densité légère .Dans notre population on voit clairement que les variations des LDL sont identiques dans les deux ( $p < 0.05$ ).

PEKKANEN et COLL [144] trouve que le LDL cholestérol est associé avec l'augmentation de la mortalité coronarienne dans les deux sexes.

**Tableau 10 :** Moyennes, écart type du cholestérol LDL-C selon le sexe.

	Témoins (LDL-C)
Hommes	1.06±0.32
Femmes	1.13±0.31

Moyenne ±Ecart type

**Figure 21:** Comparaison des moyennes du cholestérol LDL-C entre les deux sexes.

### III.3 Fréquence génotypique et allélique de l'Apo E

#### III.3.1 Fréquences génotypiques dans la population générale

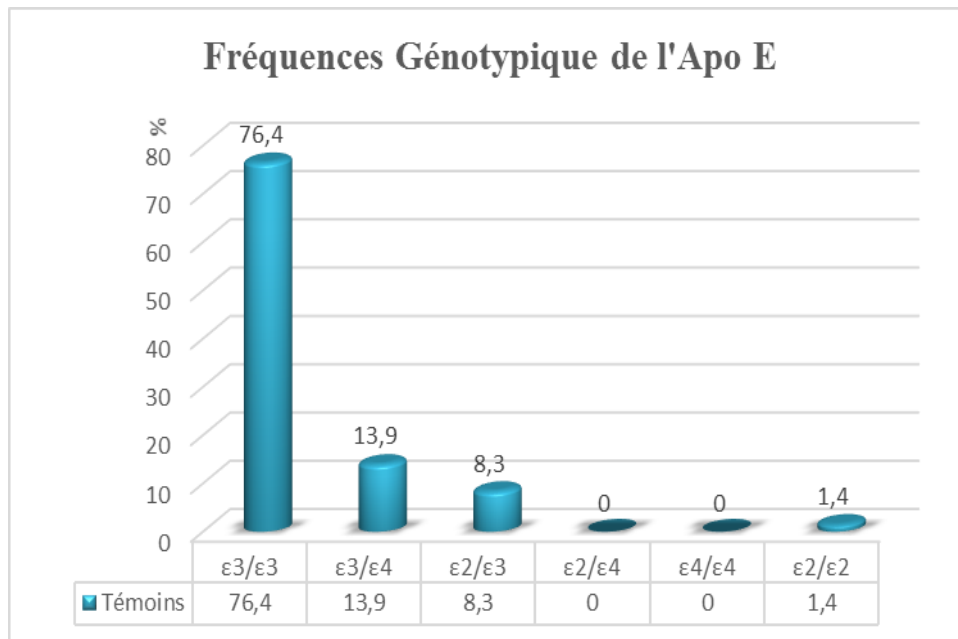
Le tableau 11 et figure 22. Montrent les fréquences génotypiques dans la population générale le génotype ( $\epsilon 3/\epsilon 3$ ) est le plus fréquent il représente 76,4% suivie par  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (13,9%),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (8,3%) respectivement.

Moins fréquent pour les génotypes  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (1.4%). Le génotype ( $\epsilon 4/\epsilon 4$ ) et ( $\epsilon 2/\epsilon 4$ ) dans nos résultats ne sont pas représentés chez les populations générales par contre elles sont présents dans d'autres études constantinoises.

La prédominance de le génotype ( $\epsilon 3/\epsilon 3$ ) retrouvée dans notre population ,est très compatible avec toutes les études effectuées à travers le monde : exemple ; la prévalence du génotype ( $\epsilon 3/\epsilon 3$ ) est de 71% en Arabie Saoudite [145], 69% au Liban [146], 65,2% en Hongrie [147], 69,84% au Portugal [148], 65,3% en Mongolie [149], 83,1% au Mexique [150], 71.2% en Tunisie [151], 58,7 % en Finlande [152], 72,1% au Japon [153], 88,2% en Grèce [154].

**Tableau 11:** Fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population générale.

	Population générale	
	N	%
E3/E3	55	76.4
E3/E4	10	13.9
E2/E3	6	8.3
E2/E4	/	/
E4/E4	/	/
E2/E2	1	1.4
<b>Total</b>	<b>72</b>	<b>100</b>



**Figure 22 :** Fréquences génotypiques de l'Apo E dans la population générale.

### III.3.2 Fréquence Allélique de l'Apo E dans la population générale

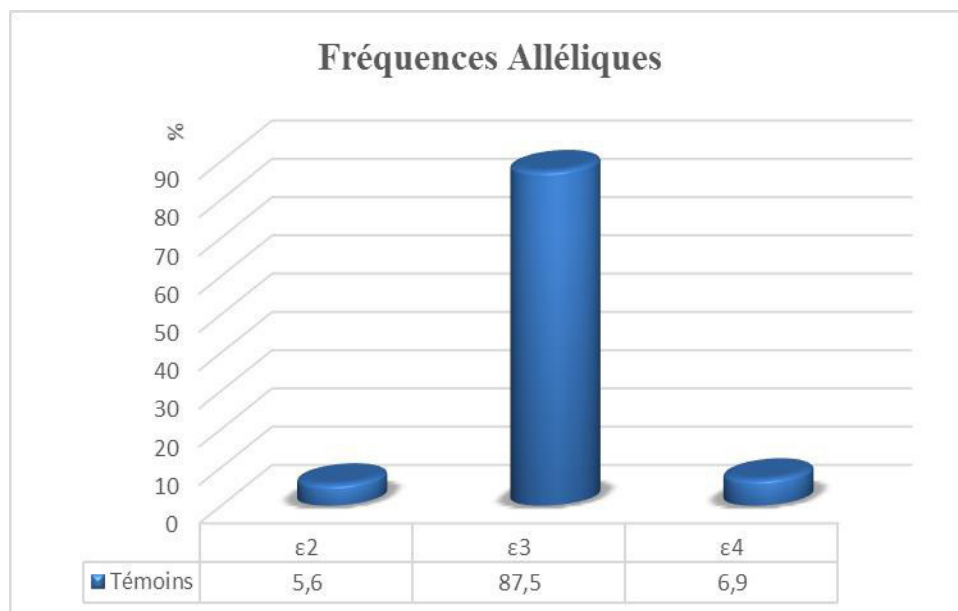
L'étude génétique du polymorphisme du gène de l'Apo E a montré que l'allèle  $\epsilon_3$  est le plus fréquent dans notre population représentant ainsi 87,5%, suivi de loin par  $\epsilon_4$  (6,9%) et  $\epsilon_2$  (5,6%) (Tab 12, Fig.23).

Ce résultat est compatible avec une étude sur la population constantinoise qui montre la prédominance de l'allèle  $\epsilon_3$  réalisé par KHODJA et *al* [155].

Cette tendance comparée aux données de la littérature, montre qu'elle est semblable aux résultats présentés par des études, Afrique du Sud , Finlande , Suède , Danemark, Maroc, Italie , Kuwait, Taiwan, Iran (tableau 13).

**Tableau 12 :** Fréquence allélique de l'Apo E dans la population générale.

	Population générale	
	N	%
<b>E2</b>	8	5.6
<b>E3</b>	126	87.5
<b>E4</b>	10	6.9

**Figure 23 :** Fréquence Allélique de l'Apo E dans la population générale.

**Tableau 13 :** Fréquences alléliques de la population constantinoise comparées à d'autres groupes ethniques.

Population	$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$
Afrique du sud [156]	19%	51,8%	29,3%
Finlande [157]	4,1%	73,3%	22,7%
Suède [158]	7,8%	71,9%	20,3%
Danemark [159]	5,8%	74,1%	17,4%
Maroc [160]	55%	84%	11%
Constantine	5,6%	87,5%	6,9%
Pologne [161]	7%	83,9%	10,6%
Italie [162]	5,1%	82,9%	10,1%
Kuwait [163]	8,4%	88,4%	6,5%
Taiwan [164]	6,3%	85,2%	6,4%
Iran [165]		88,6%	5,1%

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

#### III.4.1 Génotype et paramètres lipidiques

Le tableau 14 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 14 :** impact du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez Les porteurs d' $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$  et  $\epsilon 3/\epsilon 3$ .

	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 2/\epsilon 3$ vs $\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$ vs $\epsilon 3/\epsilon 4$
<b>CHOL</b>	1.60± 0.3	1.80 ± 0.4 2	1.85 ± 0.41	<1%	<1%
<b>TG</b>	1.14± 0.45	1.10± 0.38	1.18 ±0.35	ns	ns
<b>HDL</b>	0.46± 0.10	0.42± 0.6	0.39 ± 0.11	ns	ns
<b>LDL</b>	0.9± 0.35	1.12± 0.31	1.22 ± 0.34	<1%	<1%

### III.4.1.1 Le cholestérol et C-LDL

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 14).

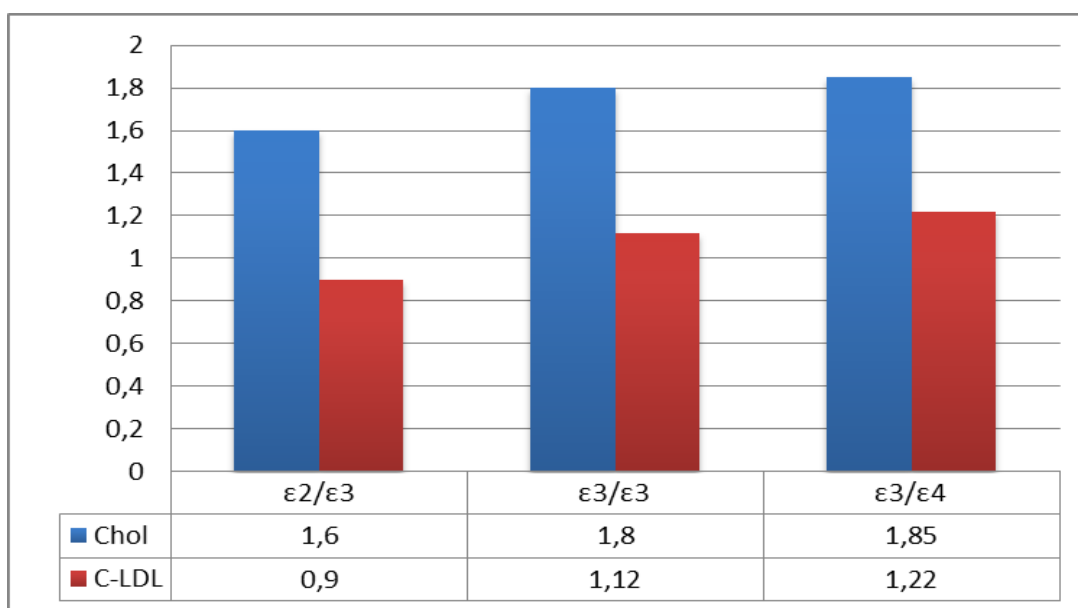
Chez les sujets  $\epsilon 3/\epsilon 3$  50% des IDL (VLDL2) sont converties en LDL, alors que chez les  $\epsilon 4/\epsilon 4$  70% sont converties [166]. Les sujets  $\epsilon 2/\epsilon 3$  ont des taux de cholestérol et C-LDL significativement diminués par rapport à  $\epsilon 3/\epsilon 3$ , et les sujets  $\epsilon 3/\epsilon 4$  ont des taux de cholestérol et C-LDL significativement augmentées par rapport à  $\epsilon 3/\epsilon 3$ . Ceci montre l'influence des allèles  $\epsilon 2$  et  $\epsilon 4$  sur les niveaux de cholestérol et de LDL cholestérol (Tableau 14).

Chez les sujets  $\epsilon 4$ , les chylomicrons et les VLDL, sont hydrolysés 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 [167].

Il y a aussi des populations où il n'y a pas de différence entre les niveaux de LDL-C entre les phénotypes  $\epsilon 4/\epsilon 3$  et  $\epsilon 3/\epsilon 3$  comme au Soudan et en Malaisie [168].

Comparativement au phénotype  $\epsilon_3/\epsilon_3$ , les phénotypes  $\epsilon_3/\epsilon_2$  et  $\epsilon_2/\epsilon_2$  sont associés avec des concentrations diminuées du LDL C, cholestérol total, et apo B et l'inverse pour les phénotypes  $\epsilon_4/\epsilon_4$  et  $\epsilon_4/\epsilon_3$  [166].

UTERMANN et *al* avaient été les premiers à rapporter que les porteurs de l'allèle  $\epsilon_2$  avaient des taux plus bas de cholestérol et de LDL-C plasmatiques que les porteurs de l'allèle  $\epsilon_3$  (phénotype  $\epsilon_3/\epsilon_3$ ) [169].



**Figure 24 :** 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  $\epsilon_3/\epsilon_3$ .

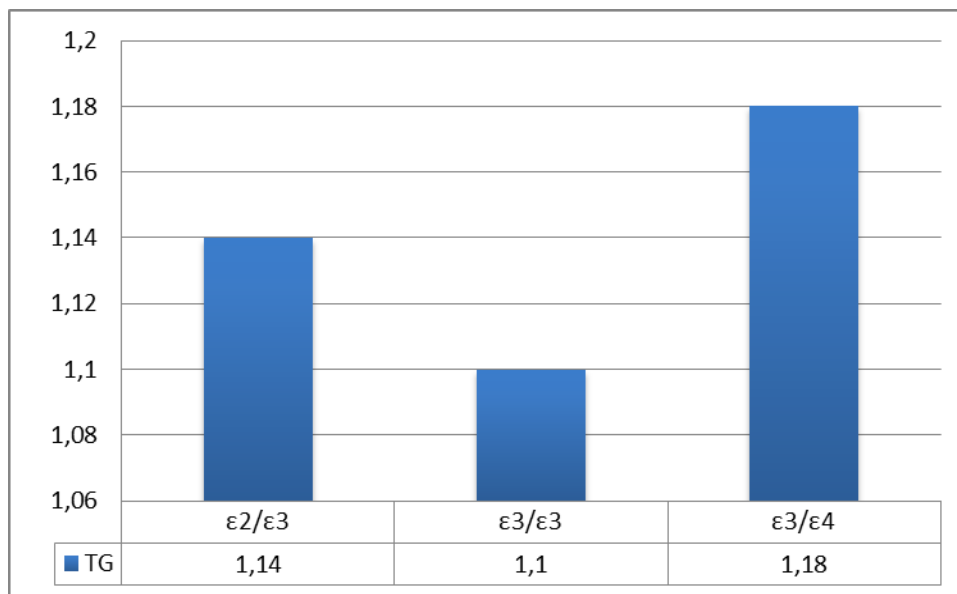
### III.4.1.2 Les triglycérides

Les études sont contradictoires quant aux triglycérides. Une méta-analyse de 45 études menées dans 17 pays par Jean DALLONGEVILLE [170] a confirmé que le phénotype d'Apo E influençait aussi les TG de façon significative, l'allèle  $\epsilon_4$  autant que l'allèle  $\epsilon_2$  pouvant augmenter les taux de TG plasmatiques chez les sujets hyperlipidémiques.

Notre étude montre une influence uniquement de l'allèle  $\epsilon 4$  sur les triglycérides. Les triglycérides sont augmentés significativement chez les sujets  $\epsilon 3/\epsilon 4$  alors que chez les sujets  $\epsilon 2/\epsilon 3$  restent au même niveau que les triglycérides des sujets  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (Tableau 24).

L'allèle  $\epsilon 4$  est associé à des concentrations plus élevées de triglycérides, ceci est observé par KOFLER et *al* dans une étude réalisée au Royaume-Uni [171].

TOLOSA et *al* [172] qu'après l'âge de ménopause, ont trouvé chez les femmes ayant le phénotype E2/E3 ont un taux élevé de TG tandis que celles ayant le phénotype E3/E4 présentent une élévation du cholestérol [173]. L'effet de  $\epsilon 2$  est très sensible à l'environnement particulièrement en ce qui a trait à l'effet sur les TG [104].

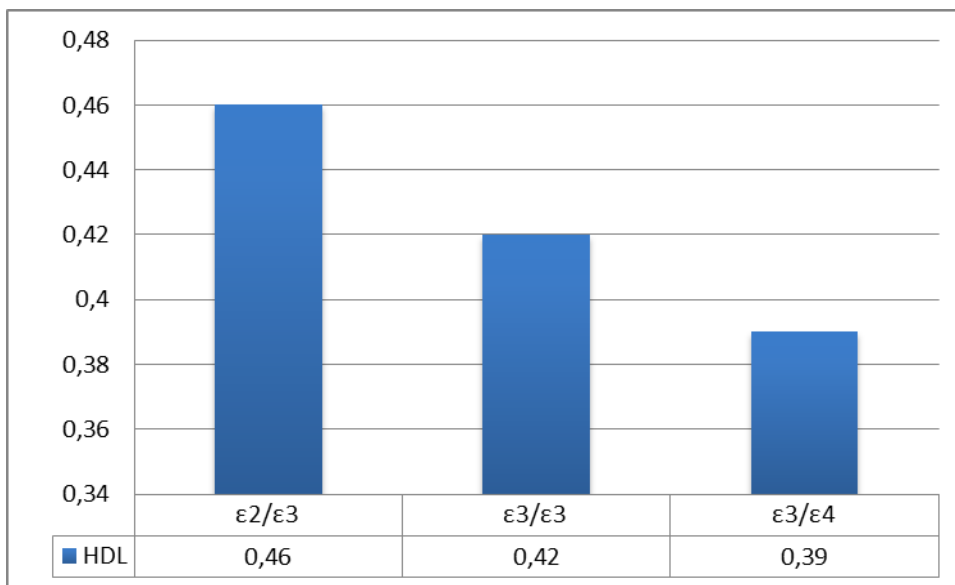


**Figure 25 :** impact du génotype de l'Apo E sur les triglycérides chez Les porteurs de :  $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$  et  $\epsilon 3/\epsilon 3$ .

### III.4.1.3 Le Cholestérol HDL

Notre étude ne retrouve pas de différence significative du C-HDL entre les différents génotypes. Le C-HDL des sujets E3/E4 est diminué par rapport aux sujets E3/E3 Par contre est élevée chez les sujet E2/E3 mais non significative (Tableau 14).

D'autres études trouvent que les femmes porteuses E2/E3 ont une concentration élevée des HDL comparées à celles qui portent le génotype E3/E3, les données de l'étude de GAMBOA.R et COLL. [174] suggèrent que la variation du locus Apo E dans la population mexicaine est un facteur génétique qui influence sur le taux de lipides plasmatiques cependant son effet est seulement observé chez la population féminine.



**Figure 26 :** impact du génotype de l'Apo E sur le cholestérol HDL chez Les porteurs de :  $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$  et  $\epsilon 3/\epsilon 3$ .



**Conclusion**

Ayant observé dans différentes études que la fréquence de l'allèle  $\epsilon_4$  est associé à un risque plus élevé de MCV par effet d'augmenter les niveaux moyennes du LDL-C la plus athérogène des lipoprotéines.

L'analyse génétique du polymorphisme de l'apo E dans notre étude a concerné concernant cas témoins de 72 individus répartis en deux groupes, une population des femmes (n=25) et une population des hommes (n=47).

Le but principale de notre étude est de déterminer le polymorphisme chez les sujets témoins et montrer l'influence du polymorphisme de l'Apo E sur les paramètres lipidique, en plus montrer les fréquences alléliques et génotypiques dans la population témoin.

La répartition des allèles de l'Apo  $\epsilon$  est inégale sur l'ensemble de la population mondiale. Nos résultats montrent la prédominance de l'allèle  $\epsilon_3$  dans la population étudiée (témoins) avec une fréquence (87,5 %), alors que l'allèle  $\epsilon_2$  est le moins fréquent (5.6%);cette tendance est en accord avec les résultats trouvés dans les autres populations.

L'allèle  $\epsilon_4$  est corrélé aux maladies cardiovasculaires. Dans notre étude, la fréquence est de 6,9 % chez les témoins. En Europe, la fréquence de cet allèle augmente du sud vers le nord et suit le gradient de fréquence des maladies cardiovasculaires.

Nos résultats montrer que le génotype  $\epsilon_3/\epsilon_3$  est plus prédominer (76,4%) suivi par  $\epsilon_3/\epsilon_4$  (13,9%), $\epsilon_2/\epsilon_3$  (8,3%) et  $\epsilon_2/\epsilon_2$  (1,4%) cette tendance s'accorde avec toutes les études effectuées à travers le monde

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  $\epsilon_3/\epsilon_2$ .Alors que l'inverse pour les sujets ayant le génotype  $\epsilon_2/\epsilon_3$ .



## Références Bibliographique

- [1]: Athérome et dyslipidémies .Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition (2014), Elsevier Masson SAS.
- [2]: **UTERMANN G., HEES M., STEINMETZ A.** (1977). Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. *Nat* 269:604-7.
- [3]: **Couderc R., Bailleul S.** (1998). L'apolipoprotéine E et ses allèles chez le sujet sain et au cours de l'athérosclérose. *Annales de Biologie Clinique*. Volume 56, Numéro 6, 651-9, Revues générales.
- [4]: **Jean Davignon., oc., md., msc., frcp (c), facp., msrc.** Apolipoprotéine E une molécule polymorphe pléiotrope. Rôle dans l'athérosclérose et au-delà. Groupe de recherche sur les hyperlipidémies et l'athérosclérose. Institut de recherches cliniques de Montréal.
- [5]: **Dairou F., Gennes de JL.** (3/1989). Epidémiologie et génétique des hyperlipoprotéinémies athérogènes. *Encycl .Méd .Chir. (Paris-France), Glandes-Nutrition*, 10368 B10, 9p.
- [6]: **OMS. Maladies cardiovasculaires.** Aide mémoire Février 2014. Disponible en ligne à l'adresse: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/fr/index.html>>
- [7]: **OMS .Maladies cardiovasculaires .**Aide-mémoire . Janvier 2015 .Disponible en ligne à l'adresse : <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/fr/index.html>>
- [8]: **Ministère de la Santé et de la Population.** (Mai, 2003) « Développement du système national de santé : Stratégie et perspectives ».
- [9]: **Bourrillon A.,Cabanis E A.,Chapuis Y., Christoforov B., et al.** (2003). LAROUSSE MEDICAL. Larousse/VUEF. ISBN-2-03-560265-3.
- [10]: **Zuber M., Mas J L.** (1993). Epidémiologie des accidents vasculaires cérébraux. Editions techniques. *Encycl. Chir. (paris-France), Neurologie*, 17-046-A-10, 8p.
- [11]: **Marescaux C., Wolff V.** Module 09-athérombose-hypertension-thrombose. DCEM1 .TD N°5: item 133.
- [12]: **Pathologie des artères coronaires.** (2009). en ligne .Disponible sur <<http://www.sciencedirect.com/science/article> > consulté le26/04/2017.
- [13]: Third Universal Definition of Myocardial Infarction ESC Clinical Practice Guidelines - *European Heart Journal* (2012);33:2551-2567.
-



[14]: **Harteman A., Lecornet-sokol E., Halbron M.** Artériopathie des membres inférieurs et Diabète. Diabétologie. [En ligne]. 2014. 277.284p. Disponible sur <<http://www.sciencedirect.com/science/article> > consulté le 26/04/2017.

[14]: **Neetish GUNNOO.** EVALUATION D'UNE TECHNIQUE DE DEPISTAGE DE L'ARTERIOPATHIE CHRONIQUE OBLITERANTE DES MEMBRES INFERIEURS AU STADE ASYMPTOMATIQUE.[En ligne]. Le 3 JUIN 2014. 130 p. Format PDF. Disponible sur <<http://www.cmge-upmc.org/IMG/pdf/gunnoo-these.pdf>> .Consulté le 01/05/2017.

[16]: **Akoudad H., Benamer H.** (2004) . Physiopathology of myocardial infarction . EMCCardiologie Angéiologie;1 : 49-67.

[17]: **Joussein-Remacle S., Delarche N., Bader H., Lasserre R., Estrade G.** (2006) .

Risk factors in a young population with acute myocardial infarction: one year prospective study. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie ; 55 : 204-209.

[18]: **Baudin B., Cohen A.** (2009). Données épidémiologiques des maladies cardiovasculaires et prise en charge des accidents cardiovasculaires. Revue Francophone Des Laboratoires ; 409 :27-39.

[19]: **Blacher J., Plu-Bureau G.** (2012). Cardiovascular risk of women after menopause: To evaluate in order to prevent. Médecine des Maladies Métaboliques; 6: 14-18.

[20]: **Dessapt A-L., Gourdy P.** (2012). Ménopause et risque cardiovasculaire, Menopause and cardiovascular risk. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction ; 41 : 13-19.

[21]: **Pessinaba S., et al.** (2013). Prevalence survey of cardiovascular risk factors in the general population in St. Louis (Senegal). Annales de cardiologie et d'angéiologie; 62 : 253- 258.

[22]: **Blacher J., Lieber A., Peroz J., Mairesse S., Yannoutsos A., M-E.** (2010). Safar. Residual cardiovascular risk in treated hypertension. Médecine des Maladies Métaboliques ;4: 371-376.

[23]: **Bouraoui H., et al.** (2005). Impact of diabetes on mortality after myocardial infarction. Annales de Cardiologie et d'Angéiologie ;54 : 55-59.

---

- [24]: **Brian M., et al.**( 2008). Cardiovascular risk factor awareness in a disadvantaged inner-city population – implications for preventive strategies. *Can J Cardiol*; 24 : 85- 94.
- [25]: **Basdevant A.** (2002). Deleterious role of adipose tissue on cardiovascular disease. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*;51 : 346-350.
- [26]: **Tison E.** (2005). Metabolic syndrome: diagnosis, cardiac and vascular consequences *EMC Cardiologie Angéiologie* ; 2: 423-430.
- [27]: **Assmann G., et al.** (1998). Maladie coronarienne : réduire le risque. Nouvelle Société Française d'Athérosclérose.
- [28]: **Libby P., Ridker PM., Hansson GK.** (Mai 2011 ). Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*. 19;473(7347):317-25. doi:10.1038/nature10146. Review. PubMed PMID: 21593864.
- [29]: **Weber C., Noels H.** (2011). Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med* (2011) 17(11):1410–22.10.1038/nm.2538 [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)].
- [30]: **Libby P.** (2012). Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32(9):2045–51.10.1161/ATVBAHA.108.179705 [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)].
- [31]: **CASTAIGNE A., CAPRON L., JACOTOT B.** (1981). Athérosclérose. *EMC* 11315 B10.1-20.
- [32]: **Jean-Louis Paul., Bruno Baudin.** Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs précoces. *MARQUEURS BIOCHIMIQUES DES MALADIES CARDIOVASCULAIRES*. [En ligne]. Février 2009. Vol . n°409.P 41-50. Disponible sur / (Consulté le 20/03/2017).
- [33]: **BIOLOGI VASCULAR ATEROSKLEROSIS.** ( Dec 22, 2015).[En ligne] Disponible sur <<http://documents.tips/documents/biologi-vascular-aterosklerosis.htm> >. Consulté le 28/04/2017.
- [34]: **Quelques données sur la physiopathologie de l'athérosclérose.** [En ligne] Disponible sur <[http://www.bio-top.net/Physiopathologie/Physiopatho\\_atherosclerose.htm](http://www.bio-top.net/Physiopathologie/Physiopatho_atherosclerose.htm) >. Consulté le 28/04/2017.
-

- [35]: **Hélène BULCKAEN WOESTELANDT**. Le vieillissement artériel dans un modèle de vieillissement physiologique et un modèle de vieillissement accéléré, le diabète: aspect fonctionnel et morphologique. Intérêt respectif de l'aspirine et de l'aminoguanidine. [En ligne]. le 29 juin 2009, 155p. Format PDF. Disponible sur : < <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00423311> > (consulté le 24/03/2017).
- [36]: **Physiopathologie de la plaque d'athérome et de la maladie coronarienne**. [En ligne]. Disponible sur <<https://es.slideshare.net/JhonAlexanderCalderon/fisiopatologia-de-la-placa-ateromatosa-y-enfermedad-coronaria>>. Consulté le 28/04/2017.
- [37]: **Bonnet J.** ( 2001). L'Athérosclérose. médecine/sciences ; 17 : 559-67.
- [38]: **Bonnet J.** (2005). Atherosclerosis. EMC-Cardiologie Angéiologie ; 2 : 436-458.
- [39]: **Puissant C., Abrahama P., Durandc S., Humeau-Heurtierd A., Fauree S., Rousseau P., Mahé G.** (2014). Endothelialfunction:Role, assessment and limits. Journal des Maladies Vasculaires; 39:47-56.
- [40]: **Beaudeau J-L., Delattre J., Therond P., Bonnefont-Rousselot D., Legrand A., Peynet J.** (2006). Oxidative stress in the atherosclerotic process. Immuno-analyse & Biologie spécialisée ;21 : 144-150.
- [41]: **Paul J-L., Baudin B.** (2009). Physiopathologie de l'athérosclérose et marqueurs précoces. Revue Francophone Des Laboratoires;409 : 41-50.
- [42]: **Huet O.,Duranteau J.** (2008). Endothelial dysfunction: Involvement of reactive oxygen species, Réanimation; 17 : 387-392.
- [43]: **Gimbrone M A., J r., Topper J N., Nagel T., Anderson K R., and Garcia-Cardena G.** (2000). Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherogenesis. AcadSci; 56: 239240.
- [44]: **Carmena R., Duriez P., Fruchart J C.** (2004). Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. Circulation; 23 : 15-109.
- [45]: **Martine G., Limon I.** (2007). L'Athérosclérose, une maladie inflammatoire. Revue Francophone des Laboratoires;389:43-48.
-

- [46]: **Doran A C., Meller N., and McNamara C A.** (2008). Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis. *ArteriosclerThrombVascBiol*, 28:812-819.
- [47]: **Owens G K., Kumar M S., and Wamhoff B R.** (2004). Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. *PhysiolRev*;84: 767-801.
- [48]: **Modified from Libby information in atherosclerosis.** (2002). *Nature* .240 ;868-874.
- [49]: **Stary H C., et al.** (1995). À definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis.À report from the Committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*; 92:1355-74.
- [50]: **Van Horn L., et al.** (Fev2008). The evidence for dietary prevention and treatment of cardiovascular disease. *J Am Diet Assoc.* 108(2):287-331. doi: 10.1016/j.jada.2007.10.050. Review. PubMed PMID: 18237578.
- [51]: **Yusuf S., et al.** (2004). INTERHEART Study Investigators.. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*.Sep11-17;364(9438):937-52. PubMed PMID: 15364185.
- [52]: **Jacqueline Lehmann-Che.** Lipoprotéines, cholestérol et dyslipidémies. [En ligne] Le 12/10/12, 20p. Disponible sur :  
<[http://12bichat2012-2013.weebly.com/uploads/1/3/9/0/13905422/ue8\\_-\\_cours\\_n6.pdf](http://12bichat2012-2013.weebly.com/uploads/1/3/9/0/13905422/ue8_-_cours_n6.pdf)>  
(Consulté le 21/03/2017).
- [53]: Biochimie clinique, P.Valdiguié, coord. Editions médicales internationales. Paris (2000).
- [54]: **PUCHOIS P., ALAUPOVIC P., FRUCHART J C.** (1985). Mise au point sur les classifications des lipoprotéines plasmatiques *Ann.Bio.Clin.* 43:831-840.
- [55]: **BLIX G., TISELUS A., SVENSSON H.** Lipids and polysaccharides in electrophoretically separated blood serum proteins. *J.Biol. Chem.*1941137,485.
- [56]: **CUVELIER I., ULRICH G.** (1992).Quel bilan lipidique en 1992 Option/Bio 88 : I-VIII.
- [57]: **A Rappels métabolisme des lipoprotéines b Origine des lipides.** (2016).Disponible sur :< <http://b.21-bal.com/other/500/index.html>> (Consulté le 12/03/2017).
-

- [58]: **ALAUPOVIC P.** (1980). The concepts, classification systems, and nomenclatures of human plasma lipoprotéines In:Lewis L.A.Opplt J.J., CRC Handbook of electrophoresis. Lipoprotéines: basic principles and concepts CRC Press .
- [59]: **71-Lagrost L., Masson D., Chapman J.** (2003). Athérosclérose, physiologie diagnostics, thérapeutiques. Masson. Paris.
- [60]: Métabolisme des lipides. Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition. 2014, Elsevier Masson SAS.
- [61]: **Bruckert E.** (2005). Rôle des LDL dans les maladies cardio-vasculaires. Nouvelles données et nouvelles recommandations. Presse Med; 34 : 249–55.
- [62]: **Carmena R., Duriel P., Fruchart JC.** (2004). Atherogenic lipoproteins particles in atherosclerosis. Circul; 109 : 1112–7.
- [63]: **Hellerstein MK., Schwaerz JM., Neese RA.** (1996). Regulation of hepatic de novo lipogenesis in humans. Ann Rev Nutr; 16 : 523–57.
- [64]: **Karleskind A., Wolff JP.** (1992). Manuel des corps gras. Paris : Tec Doc Lavoisier.
- [65]: **Boulenour Houssam.** Caractérisation des déterminants génétique du risque cardiovasculaire Impact de polymorphisme du gène de l'APOE- Etude ISOR- [en ligne]. 2014,181p. Format pdf. Disponible sur : <[http://www.univusto.dz/images/coursenligne/these\\_Houssam\\_Boulenouar.pdf](http://www.univusto.dz/images/coursenligne/these_Houssam_Boulenouar.pdf)> .Consulté (le 06/03/2017).
- [66]: **Saïle Rachid et Taki Hassan.** Cholestérol, lipoprotéines et athérosclérose : de la biochimie à la physiopathologie.
- [67]: **PHILIPPE V., DANIEL R.** (1997). Les lipides et la cellule adipeuse .Nathan. Paris.
- [68]: **LAGROST L., MASSON D., CHAPMAN J.** (2003). Lipoprotéines et métabolisme lipidique:L'athérosclérose - Physiologie, diagnostics, thérapeutiques. La Société Française d'Athérosclérose.Masson. Paris.
- [69]: **SHORE VG ., SHORE B.**(1973). Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins. Separation of species differing in protein components. Biochemistry;12:502-7
-

- [70]: **TERMANN G., HARDEWIG A., ZIMMER F.** (1984). Apolipoprotein E phenotypes in patients with myocardial infarction. *Hum.Genet.*65:237-41.
- [71]: **ZANNIS VI., JUST PW., BRESLOW JL.** (1981). Human apolipoprotein E isoprotein subclasses are genetically determined. *Am J Hum Genet.* 33:11-24.
- [72]: **Mahley RW.** (1988). Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science (Washington DC).* 240: 622–630.
- [73]: **Davignon J., Cohn JS., Mabile L., Bernier L.** (1999). Apolipoprotein E and atherosclerosis: insight from animal and human studies. *Clin.Chim.Acta* 286:115-43.
- [74]: **Olaisen B., P Teisberg, et al.** "The locus for apolipoprotein E (apoE) is linked to the complement component C3 (C3) locus on chromosome 19 in man." *Hum Genet.* 1982;62(3):233-6.
- [75]: **Das SK., Majumder PP., Majumder TK., Haldar B.** (1985). Studies on vitiligo. II. Familial aggregation and genetics. *Genet Epidemiol.* 2: 255–262.
- [76]: **Paik., Y K., Chang D J., Reardon C A., Davies G A., Mahley R W and J M.** (1985). Taylor: Nucleotide sequence and structure of the human apoprotein E gene. *Proc Natl Acad Sci.U.S.A.* 82:3445.
- [77]: **Praticó D., Tangirala R K., Rader D J., Rokach J., FitzGerald G A.** (1998). Vitamin E suppresses isoprostane generation in vivo and reduces atherosclerosis in ApoE deficient mice. *Nature Med.* 4:1189-92.
- [78]: **Zannis VI., vanderSpek J and Silverman D.** (1986). Intracellular modifications of human apolipoprotein E. *J. Biol. Chem.* Oct, Vol. 261, Issue29: 13415-13421.
- [79]: **Wernette-Hammond ME., Lauer SJ., Corsini A., Walker D., Taylor JM and Rall Jr SC.** (1985). Glycosylation of human apolipoprotein E. The carbohydrate attachment site is threonine 194. *J. Biol. Chem.* Vol. 264, Issue15:9094-9101.
- [80]: **Wetterau et al.** (1988). **Aggerbeck et al.** ( 1988).
- [81]: **Weisgraber KH., Mahley RW.** (1986). Characterization of apolipoprotein E-containing lipoproteins. *Methods Enzymol.* 129: 145-66.
-

- [82]: **Innerarity TL., Friedlander EJ., Rall SC., Weisgraber KH., and Mahley RW.** (1983). The receptor-binding domain of human apolipoprotein E. Binding of apolipoprotein E fragments. *J. Biol. Chem.* 258: 12341-12347.
- [83]: **Weisgraber KH., Innerarity TL., Harder KJ., Mahley RW., Milne RW., Marcel YL., and Sparrow JT.** (1983). The receptor-binding domain of human apolipoprotein E. Monoclonal antibody inhibition of binding. *J. Biol. Chem.* 258: 12348-12354.
- [84]: **Weisgraber KH., Mahley RW., Kowal RC., Herz J., Goldstein JL., and Brown MS.** (1990). Apolipoprotein C-I modulates the interaction of apolipoprotein E with beta-migrating very low density lipoproteins (beta-VLDL) and inhibits binding of beta-VLDL to low density lipoprotein receptor-related protein. *J. Biol. Chem.* 265:22453-22459.
- [85]: **Soulie K.** (1998). Apolipoprotéine E. thèse [En ligne].
- [86]: **Narayanaswami V., Samuel S W. Szeto., and 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.
- [87]: **Lehninger A L.** (1993). *Principles of Biochemistry 2nd Edition.* New York:Worth Publishers Inc.
- [88]: **Chou et al.** (2005). Apolipoprotéines E. [En ligne]. Disponible sur <[http://proteopedia.org/wiki/index.php/Sandbox\\_Reserved\\_595](http://proteopedia.org/wiki/index.php/Sandbox_Reserved_595)>. Consulté le 28/04/2017
- [89]: **DONG L M., PARKIN S., TRAKHANOV S D., RUPP B., and al.** (1996). Novel mechanism for defective receptor binding of apolipoprotein E2 in type III hyperlipoproteinemia. *Nat. Struct. Biol.* 3:718-722.
- [90]: **DRISCOLL D M., and GETZ G S.** (1984). Extrahepatic synthesis of apolipoprotein E. *J. Lipid Res.* 25, 1368–1379.
- [91]: **ELSHOURBAGY N A., LIAO W S., MAHLEY R W., TAYLOR J M.** (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.
-

**[92]: LIN C T., XU Y F., WU J Y., and CHAN L.** (1986). Immunoreactive apolipoprotein E is a widely distributed cellular protein. Immunohistochemical localization of apolipoprotein E in baboon tissues. *J. Clin. Invest.* 78, 947–958.

**[93]: BLUE ML., WILLIAMS DL., ZUCKER S., KHAN SA., BLUM CB.** (1983).

Apolipoprotein E synthesis in human kidney, adrenal gland, and liver. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 80:2837.

**[94]: NAKAI M., KAWAMATA T., TANIGUCHI T., MAEDA K. AND TANAKA C.** (1996). Expression of apolipoprotein E mRNA in rat microglia. *Neurosci. Lett.* 211, 41–44.

**[95]: NAIDU A., XU Q., CATALANO R., and CORDELL B.** (2002). Secretion of apolipoprotein E by brain glia requires protein prenylation and is suppressed by statins. *Brain Res* 958 (1) : 100-111.

**[96]: BOYLES J K., PITAS R E., WILSON E., MAHLEY R W AND TAYLOR J M.** (1985). Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system. *J. Clin. Invest.* 76, 1501–1513.

**[97]: DIEDRICH J F., et al.** (1991). Bibliographie 181 Neuropathological changes in scrapie and Alzheimer's disease are associated with increased expression of apolipoprotein E and cathepsin D in astrocytes. *J. Virol.* 65, 4759–4768.

**[98]: POIRIER J., HESS M., MAY P C., AND FINCH C E.** (1991). Astrocytic apolipoprotein E mRNA and GFAP mRNA in hippocampus after entorhinal cortex lesioning. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 11, 97–106.

**[99]: PITAS R E., BOYLES J K., LEE S H., FOSS D. AND MAHLEY R W.** (1987).

Astrocytes synthesize apolipoprotein E and metabolize apolipoprotein E-containing lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta* 917, 148–161.

**[100]: SHINOBU C., FUJITA., KEIKO SAKUTA., REIKO TSUCHIYA., HIROKI HAMANAKA.**(1999). Apolipoprotein E is found in astrocytes but not in microglia in the normal mouse brain. *Neuroscience Research* 35.123–133.

**[101]: BASU S K., et al.** (1982). Biochemical and genetic studies of the apoprotein E secreted by mouse macrophages and human monocytes. *J Biol Chem.* 257:9788-95.

---



- [102]: **Guillaume D., Rio N., Toutain P.L.** (1995). Kinetic studies and production rate of melatonin in pony mares. *American Journal of Physiology* 268:R1236–R1241.
- [103]: **Narita Masaaki; Bu Guojun; Holtzman, David M.; Schwartz Alan L.** (1997). The LowDensity Lipoprotein Receptor-Related Protein, a Multifunctional Apolipoprotein E Receptor, Modulates Hippocampal Neurite Development. *Journal of Neurochemistry*. February; 68(2):587-595.
- [104]: **DAVIGNON J.** (2002). Apolipoprotéine E, une molécule polymorphe et pléiotrope : Rôle dans l'athérosclérose et au-delà .*Sang Thrombose et Vaisseaux*. 14:107–120
- [105]: **LAGROST L., MASSON D., CHAPMAN J.** (2003). Lipoprotéines et métabolisme lipidique:L'athérosclérose - Physiologie, diagnostics, thérapeutiques. La Société Française d'Athérosclérose. Masson. Paris.
- [106] : **Elshourbagy et al. 1985. N A Elshourbagy , W S Liao , R W Mahley , and J M Taylor.** (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 marmosetsPNAS 1985 82 (1) 203 - 207
- [107] : **Stone DJ, Rozovsky I, Morgan TE, Anderson CP, Hajian H, Finch CE.** (1997). Astrocytes and microglia respond to estrogen with increased apoE mRNA in vivo and in vitro. *Exp Neurol* 143:313–318
- [108] : **Srivastava et al.** (1996). Apolipoprotein E Gene Expression in Various Tissues of Mouse and Regulation by Estrogen. *Biochem Mol Biol Int* 38 (1), 91-101. 2.
- [109] : **García MA, Vázquez J, Giménez C, Valdivieso F, Zafra F.** (1996). Transcription factor AP-2 regulates human apolipoprotein E gene expression in astrocytoma cells. *J Neurosci.* ;16:7550–7556. [[PubMed](#)]
- [110]: **MURAKAMI M., USHIO Y., MORINO Y., OHTA T., MATSUKADO Y.** (1988). Immunohistochemical localization of apolipoprotein E in human glial neoplasms. *J Clin Invest* .82:177-88.
-

[111]: **HALLMAN DM., BOERWINKLE E., SAHA N *and al.*** (1991). The apolipoprotein E polymorphism: A comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am.J.Hum.Genet.* 49:338-49.

[112]: **RALL S C ., WEISGRABER KH., INNERARITY TL., MAHLEY R W.** (1982).

Structural basis for receptor binding heterogeneity of apolipoprotein E from type III hyperlipoproteinemic subjects. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 79:4696-700.

[113]: **Genaro Gabriel Ortiz *et al.*** . Genetic, Biochemical and Histopathological Aspects of Familiar Alzheimer's Disease .DOI: 10.5772/59809.

[114]: **UTERMANN G.** (1985). Genetic polymorphism of apolipoprotein E - impact on plasma lipoprotein metabolism. In: Crepaldi G, Tiengo A, Baggio G, editors. *Diabetes, obesity and hyperlipidemias.* New York: Elsevier, p 1–28.

[115]: **MARGOLIS.** (4/10/1982). Personal Communication .Baltimore,Med.

[116]: **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.

[117]: **BERG K.** (1994). Gene-environment interaction: variability gene concept. In: GOLDBOURT U,DE FAIRE U, BERG K, eds. *Genetic factors in coronary heart disease.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers:373-83.

[118]: **YAMANOUCHI Y., TAKANO T., HAMAGUCHI H., TOKUNAGA K.** (2001).

A novel apolipoprotein E5 variant with a 24-bp insertion causing hyperlipidemia.*J Hum Genet* 11. 46:633-9.

[119]: **ORDOVAS J M., LITWACK-KLEIN L., WILSON P W *and al.*** (1987).

Apolipoprotein E isoform phenotyping methodology and population frequency with identification of apoE1 and apo E5 isoforms. *J.Lipid Res.* 28:37.

[120]: **UTERMANN G., HEES M., STEINMETZ A.** (1977). Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. *Nat*

269:604-7.

---

[121]: **TSUCHIYA S., YAMANOUCHI Y., ONUKI M *and al* .** (1985). Frequencies of apolipoproteins E5 and E7 in apparently healthy Japanese. *Jpn.J.Hum.Genet.* 30:271-8.

[122]: **MATTHIAS O., WENG W., FUNKE H., STEINMETZ A *and al*.** (1999).

Effects of a Frequent Apolipoprotein E Isoform, ApoE4 Freiburg (Leu 28->Pro), on lipoproteins and the prevalence of Coronary Artery Disease in Whites. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 19:1306-1315.

[123]: **UTERMANN G., VOGELBERG KH., STEINMETZ A. *and al*.** (1979). Polymorphism of apolipoprotein E. II. Genetics of hyperlipoproteinemia type III. *Clin.Genet.* 15:37-62.

[124]: **ZANNIS V I., BRESLOW J L.** (1980). Characterization of a unique human apolipoprotein E variant associated with type III hyperlipoproteinemia. *J.Biol.Chem.* 255:1759-62.

[125]: **HAVEL R J.** (1982). Familial dysbetalipoproteinemia. New aspects of pathogenesis and treatment. *Med.Clin.North Amer.* 66: 441-54.

[126]: **STEIN E A., MYERS G L.** (1995). National cholesterol education program recommendations for triglyceride measurement: Executive summary . *Clin.Chem.* 41/10 :1421-1426.

[127]: **MASSON D., MAINARD F., AUGET J L., CHIVOT L.** (1992). Effect of precipitation and centrifugation conditions on high density lipoprotein cholesterol measured with phosphotungstate-Magnesium reagent. *Clin.Chem.* 38/1 :148.

[128]: **ARCOL/SFBC Commissions Standardisation lipides - lipoprotéines : Léglise D.** Bibliographie 188 Recommandations pratiques pour le dosage du cholestérol -HDL après précipitation par le phosphotungstate de sodium et le chlorure de magnésium. *Option/Bio* (1996) suppl172/49:1-8.

[129]: **LIPPI U., GRAZIANI M S., MANZATO F., SCHINELLA M.** (1986).

The Friedewald formula :Statistical acrobatics ? *Clin.Chem.* 32/5 :909-910.

---

[130]: **FRIEDEWALD W T., FREDRICKSON D S.** (1972). Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol without use of the preparative ultracentrifugation Clin.Chem. 18 :499-502.

[131]: **MICHELLE CUSSENOT.** (1999). principes des techniques de biologie moléculaire, édition Denis TAGU.

[132]: **DELPECH M.** (1997). Les techniques d'extraction de l'ADN à partir d'un échantillon sanguin. Ann Biol Clin. 57:77-84.

[133]: **GHANNEM H., LIMAM K., BEN ABDELAZIZ A., MTIRAOUI A. et al.** (1992).

Facteurs de risque des maladies cardio-vasculaires dans une communauté semi urbaine du sahel Tunisien Rév. Epidèm. et Santé Publ. 40 :108-112.

[134]: **GHARBI M., BELHANI A., AOUIDET A., BEN RAYANA C. et al.** (1996).

Niveau des facteurs de risque cardio-vasculaire dans la population urbaine et rurale du CapBon : Tunisie Rév. Epidèm. et Santé Publ. 44 :125-132.

[135]: **LEINO A., IMPIVAARA O., KAITSAARI M., JARVISALO J.** (1995). Serum concentrations of apolipoprotein A-I, apolipoprotein B, and lipoprotein(a) in a population sample Clin.Chem. 41/11 :1633-1636 Bibliographie 200.

[136]: **STEINMETZ J., TARALLO P., FOURNIER B.,CACES E., HENNY J., SIEST G.** (1994). Valeurs de référence des apolipoprotéine AI et B avec une méthode étalonnée sur les standards IFCC. Option/BIO suppl 119/ ISB24 :1-8.

[137]: **ALBERS JJ, MARCOVINA SM.** (1989) . Standardization of apolipoprotein B and A-IDL measurements Clin.Chem. 35:1357-1361.

[138]: **ABADI N.** (1998). Contribution à l'étude des lipides dans la population de référence de la ville de Constantine et les maladies cardio-vasculaires Thèse.

[139]: **RICHARD J L.** (1989). Liens entre cholestérol et athérosclérose coronaire :Arguments épidémiologiques La revue du praticien.12 :1030-1039.

[140]: **GRUNDY S M.** (1992). Two different views of the relationship of hypertriglyceridemia to coronary heart disease Arch Intern Med 152 :28-34.

---

- [141]: **HOBBS G A., WAGNER S G., LEVINSON S S.** (1995). Relation between triglycérides, lipoproteins, glucose and coronary artery disease. *Clin.Chim.acta* 238 :59-70.
- [142]: **HEISS G., TAMIR I., CLARENCE E., et al.** (1980). Lipoprotein-Cholesterol distributions in selected North American populations: The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study *Circulation* 2 :302-315.
- [143]: **KANNEL W B.** (1988). voir (455) Cholesterol and risk of coronary heart disease and mortality in men *Clin.Chem.* 34/8(B) :B53-B59.
- [144]: **PEKKANEN J., NISSINEN A., PUSKA P et al.** (1990). Ten-year mortality from cardiovascular disease in relation to cholesterol level among men with and without preexisting cardiovascular disease. *New Engl.J.Med.* 322, 24:1700-1707.
- [145]: **Al-Khedhairy A A.** (2004). Apolipoprotein E polymorphism in Saudis. *Mol Biol Rep.* 31(4) ; 257-60.
- [146]: **Mahfouz R A., Sabbagh A S., Zahed L F and al.** (2006). Apolipoprotein E gene polymorphism and allele frequencies in the Lebanese population. *Mol Biol Rep.* 33(2); 145-9.
- [147]: **Nagy B., Karádi I., Fintor L and al.** (1999). Apolipoprotein E gene polymorphism frequencies in a sample of healthy Hungarians. *Clin Chim Acta.* 282(1-2) ; 147-50.
- [148]: **Bettencourt C., Montiel R., Santos C and al.** (2006). Polymorphism of the APOE locus in the Azores Islands (Portugal). *Hum Biol.* 78(4) ; 509-12.
- [149]: **Svobodová H., Kucera F., Stulc T and al.** (2007). Apolipoprotein E gene polymorphism in the Mongolian population. *Folia Biol (Praha).* 53(4) ; 138-42.
- [150]: **Gamboa R., Hernandez-Pacheco G., Hesiquio R and al.** (2000). Apolipoprotein E polymorphism in the Indian and Mestizo populations of Mexico. *Hum Biol.*72 (6) ; 975-81.
- [151]: **Jemaa R., Elasmí M., Naouali C and al.** (2006). Apolipoprotein E polymorphism in the Tunisian population: frequency and effect on lipid parameters. *Clin Biochem.* 39(8) ; 816-20.
- [152]: **Ehnholm C., Lukka M., Kuusi T and al.** (1986). Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations. *J Lipid Res.* 27(3) ; 227-35.
-

- [153]: **Hallman DM., Boerwinkle E., Saha N and al.** (1992). The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet.* 50(1) ; 236.
- [154]: **Sklavounou E., Economou-Petersen E., Karadima G and al.** (1997). Apolipoprotein E polymorphism in the Greek population. *Clin Genet.* 52(4) ; 216- 8.
- [155]: **Khodja D., Ouldjaouai A., abadi A., Benlatreche C.** (2007). Etude du polymorphisme de l'apoprotéine E dans la population constantinoise et dans les maladies cardiovasculaires.
- [156]: **Masemola M L., Alberts M., Urdal P.** (2007). Apolipoprotein E genotypes and their relation to lipid levels in a rural South African population. *Scand J Public Health Suppl.* 69 ; 60-5.
- [157]: **Gerdes L U., Klausen I C., Sihm I., Faergeman O.** (1992). Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 other study populations around the world. *Genet Epidemiol.*9(3) ; 155-67.
- [158]: **Eggertsen G., Tegelman R., Ericsson S and al.** (1993). Apolipoprotein E polymorphism in a healthy Swedish population: variation of allele frequency with age and relation to serum lipid concentrations. *Clin Chem.* 39(10) ; 2125-9.
- [159]: **Ehnholm C., Lukka M., Kuusi T and al.** (1986). Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and Relation to lipoprotein concentrations. *J Lipid Res.* 27(3) ; 227-35.
- [160]: **Lahlali-Kacemi N., Bamou Y., Guedira A and al.** (2002). Apolipoprotein E polymorphism in a Moroccan population: allele frequency and relation to plasma lipid concentrations. *Ann Biol Clin (Paris).* 60(1) ; 73-8.
- [161]: **Kowalska A., Wiechmann I., Walter H.** (1998). Genetic variability of apolipoprotein E in a Polish population. *Hum Biol.* 70(6) ; 1093-9.
- [162]: **Ruiu G., Cassader M., Gambino R and al.** (1995). Apolipoprotein E allele frequencies in an Italian population: relation to age and lipid profile. *Aging (Milano).*7(4) ; 185-9.
- [163]: **Al-Bustan S A., Alnaqeeb M A., Annice B G and al.** (2005). Apolipoprotein E genotyping among the healthy Kuwaiti population. *Hum Biol.* 77(4); 487-98.
-

- [164]: **Lin S K., Kao J T., Tsai S M and al.** (2004). Association of apolipoprotein E genotypes with serum lipid profiles in a healthy population of Taiwan. *Ann Clin Lab Sci.* 34(4) ; 443-8.
- [165]: **Bazrgar M., Karimi M., Fathzadeh M and al.** (2007). Apolipoprotein E polymorphism in Southern Iran: E4 allele in the lowest reported amounts. *Mol Biol Rep.* Epub ahead of print.
- [166]: **Davignon J., Gregg RE., Sing CF.**(1988). Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis.* 8 ; 1-21.
- [167]: **Couderc R.,Bailleul S.** (1998). L'apolipoprotéine E et ses allèles chez le sujet saint et au cours de l'athérosclérose *Ann. de Biol. Clin.* 6 ; 651-9.
- [168]: **Hallman ., Boerwinkle DM., Saha E., N et al.** (1991). The apolipoprotein E polymorphism: A comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am.J.Hum.Genet.* 49 ; 338-49.
- [169]: **Dallongeville J., Lussier-Cacan S., Davignon J.** (1992). Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: a meta-analysis. *J Lipid Res.*33 ; 447-54.
- [170]: **DALLONGEVILLE J., LUSSIER-CACAN S., DAVIGNON J.** (1992). Modulation of plasma triglyceridelevels by apoE phenotype: A meta-analysis. *J.Lipid Res.* 33: 447-54.
- [171]: **KOFLER B M and al.** (2012). Apolipoprotein E genotype and the cardiovascular disease risk phenotype: Impact of sex and adiposity (the FINGEN study). *Atherosclerosis .* 221: 467-470.
- [172]: **TOLOSA M., PEIRO S., REAL J.T., CANO A., ASCASO J.F., CARMENA R.** (2001). The influence of apo E phenotypes on the plasma triglycerides response to hormonal replacement therapy during the menopause. *Maturitas* 2. 40: 173-81.
- [173]: **LAHLALI N K., BAMOU., GUEDIRA A., HASSANI M., VISVIKIS S., SIEST G., ALAMI N.** (2002). Polymorphisme de l'apolipoprotéine E dans une population marocaine: fréquence allélique et relation avec les paramètres lipidiques plasmatiques *Annal. De Biol.Clin.* 601: 73-8.
- [174]: **GAMBOA R et AL.** (2001). Influence of the apolipoprotein E polymorphism on plasma Lipoproteins in a Mexican Population. *Human biology. ProQuest Medical Library.* 736: 835.
-





## Annexe 1:

### Questionnaire :

#### Polymorphisme de l'Apo E :

Nom : ..... Prénom ..... Sexe :

Age :  Poids :  Taille :  Tour de taille :

Situation familiale Marié (e) :  Célibataire :  Autre :

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

Fonction : .....

Origine ethnique :  A  C  K  M

Autres : .....

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

Chique :  Alcool :

Tension artérielle :  Oui  Non Systolique :  Diastolique :

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

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

Diagnostic : .....

Examens complémentaires : .....

Traitements : .....

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

Autre : .....

## **Annexe 2 :**

Dépôts des échantillons :

- 15 ml de produits de digestion + 2 à 3 ml de Bleu d'acrylamide.
- 2 ml de marqueur (PM 20pb LADDER ref.018206) + 2 à 3 ml de Bleu d'acrylamide.

## Résumé

Le gène de l'Apo E joue un rôle important dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines.

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

Les fréquences alléliques de l'apoprotéine E dans notre groupe témoin sont  $\epsilon_3$  (87.5%),  $\epsilon_4$  (6.9%) et  $\epsilon_2$  (5.6%). Le génotype de référence  $\epsilon_3/\epsilon_3$  est le plus fréquent (76.4%) suivi de loin par  $\epsilon_3/\epsilon_4$  (13.9%),  $\epsilon_2/\epsilon_3$  (8.3%),  $\epsilon_2/\epsilon_2$  (1.4%) respectivement.

L'étude du profil lipidique chez les témoins a montré que le cholestérol, le C-LDL et les taux de HDL sont légèrement augmentés chez la population des femmes suivies par une diminution dans les taux des TG, tandis que chez les hommes c'est le cas inverse.

Les porteurs de génotype  $\epsilon_3/\epsilon_4$  ont des concentrations significativement plus élevées de cholestérol total et de LDL-cholestérol que les porteurs de génotype  $\epsilon_3/\epsilon_3$ . Alors que l'inverse pour les sujets ayant le génotype  $\epsilon_2/\epsilon_3$ .

**Mots clés :** Apo E, polymorphisme, athérosclérose

## **Abstract**

The Apo E gene plays an important role in lipid and lipoprotein metabolism.

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

The Apo E frequencies in the control group were  $\epsilon_3$  (87.5%),  $\epsilon_4$  (6.9%) and  $\epsilon_2$  (5.6%). The genotype  $\epsilon_3/\epsilon_3$  is the most frequent (76.4%) followed by  $\epsilon_3/\epsilon_4$  (13.9%),  $\epsilon_2/\epsilon_3$  (8.3%),  $\epsilon_2/\epsilon_2$  (1.4%) respectively.

The study of the lipid profile in controls shows that Cholesterol, LDL-cholesterol and C-HDL were softly increased in women, followed by decreasing in levels of TG, although in Men it's the inverse

Cholesterol and the LDL-C are creased at subjects having the genotype  $\epsilon_3/\epsilon_4$  compared to the carriers of genotype  $\epsilon_3/\epsilon_3$ , whereas the inverse for subjects having the genotype  $\epsilon_2/\epsilon_3$ .

**Key words:** Apo E, atherosclerosis, polymorphism.

## ملخص

يلعب دورا فعالا في استقلاب البروتينات المصلية كمخالب لأغلب (Apo E) البروتين الشحمي المستقلبات للبروتينات الشحمية . الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الأنماط الوراثية عن التغيير الجيني للبروتين وتعيين الأثر الناتج عن تركيز الدسم المصلية عند عينة من سكان العامة لقسنطينة المعرضة للإصابة بالأمراض الوعائية القلبية

أوضحت نتائج الدراسة ان توزيع نسب المورثات في عينة السكان هم كالتالي:  $3\epsilon$  (87,5%),  $4\epsilon$  (6,9%) و  $2\epsilon$  (5,6%) و هي تشكل اختلافا ذو دلالة لدى عينة السكان . النمط الوراثي العادي  $3\epsilon/3\epsilon$  هو الأكثر تواجد في العينات المدروسة (76,4%) متبوعا ب  $3\epsilon/4\epsilon$  (13,9%),  $2\epsilon/3\epsilon$  (8,3%),  $2\epsilon/2\epsilon$  (1,4%) على التوالي.

بعد دراسة تركيز الدسم المصلية للعينة المعنية، الكولسترول الكلي، تركيز LDL الكولسترول وتركيز HDL الكولسترول في ارتفاع عند النساء متبوعا بانخفاض في تركيز الجليسيريدات , على عكس عينة الرجال

الكولسترول الكلي , LDL الكولسترول في ارتفاع عند الافراد حاملي النمط  $\epsilon 3/\epsilon 4$  مقارنة مع حاملي النمط  $\epsilon 3/\epsilon 3$  و هذا التأثير لا يوجد عند حاملي النمط  $2\epsilon/3\epsilon$

الكلمات الدالة: التغيير الجيني، احتشاء القلب، تصلب الشرايين، Apo E

*Etude du polymorphisme de l'apoprotéine E dans une population normale de Constantine*

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

**Résumé**

Le gène de l'Apo E joue un rôle important dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines. L'objectif de notre étude est de déterminer le polymorphisme de l'Apo E dans la population générale de Constantine ainsi que son impact sur les concentrations des lipides sanguins.

Les fréquences alléliques de l'apoprotéine E dans notre groupe témoin sont  $\epsilon_3$  (87.5%),  $\epsilon_4$  (6.9%) et  $\epsilon_2$  (5.6%). Le génotype de référence  $\epsilon_3/\epsilon_3$  est le plus fréquent (76.4%) suivi de loin par  $\epsilon_3/\epsilon_4$  (13.9%),  $\epsilon_2/\epsilon_3$  (8.3%),  $\epsilon_2/\epsilon_2$  (1.4%) respectivement.

L'étude du profil lipidique chez les témoins a montré que le cholestérol, le C-LDL et les taux de HDL sont légèrement augmentés chez la population des femmes suivies par une diminution dans les taux des TG, tandis que chez les hommes c'est le cas inverse.

Les porteurs de génotype  $\epsilon_3/\epsilon_4$  ont des concentrations significativement plus élevées de cholestérol total et de LDL-cholestérol que les porteurs de génotype  $\epsilon_3/\epsilon_3$ . Alors que l'inverse pour les sujets ayant le génotype  $\epsilon_2/\epsilon_3$ .

**Mots clés :** Apo E, polymorphisme, athérosclérose.

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

Jury d'évaluation :

**Président du jury :** Mr. Pr. NECIB Y. (Professeur UFM Constantine 1).  
**Rapporteur :** Mr. KHODJA DJ. (Maitre de conférence Université Constantine 3).  
**Examineur :** Mr. Pr. ATTALAH S. (Professeur- UFM Constantine 1).

**Date de soutenance :** 21/06/2017