

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

N° d'ordre.....

N° de série.....

mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de magister
en génétique moléculaire

Présenté par : M^{elle} ZIADA HADIA

Thème

*Polymorphisme de l'Apolipoprotéine E
dans les infarctus du myocarde
et dans la population générale de Constantine*

soutenu le

devant le jury:

Président : C. BENLATRECHE

Rapporteur : N. ABADI

Examineurs: D.SATTA

D.NAIMI

A.ROUABAH

Prof. C. H. U. de Constantine

Prof. C. H. U. de Constantine

Prof. Université Mentouri

Prof. Université Mentouri

MC. Université Mentouri

Année Universitaire : 2005/2006

Abréviations

ABC-AI: ATPbinding cassette - type A1.
Apo : apoprotéine
AVC : Accident Vasculaire Cérébral
bFGF : basic fibroblast growth factor.
CETP : protéine de transfert des esters de cholestérol
CL : cholestérol libre
CM : chylomicron
CML : Cellule Musculaire Lisse
EC : esters de cholestérol
EDCF : endothelium-derived constricting factor
EDRF : endothelial cell-derived relaxing factor
ELAM : endothelium leukocyte adhesion molecule
GM-CSF : granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GMP : granule membrane protein
HDL :high density lipoprotein
ICAM-1 : Inter Cellular Adhesion Molecule-1
IDL : intermediate density lipoprotein
IDM : Infarctus du myocarde
IL-1 : Interleukine 1
IMC : indice de masse corporelle
LCAT : lécithine:cholestérol acyltransférase
LDL : low density lipoprotein
LDLox : LDL oxydée
LH : lipase hépatique
Lp(a) : lipoprotéine(a)
Lp : lipoprotéine.
LPL : lipoprotéine lipase
LRP : LDL receptor-related protein
MCV : maladies cardiovasculaires
M-CSF : monocyte-derived colony stimulating factor
MCP-1 : Monocyte chemotactic Protein-1
MMP : Matrix Metallo Proteinase
NO: nitric oxyde
PAI : plasminogen activator inhibitor
PAF : Platelet Activation Factor
PDGF : Platelet Derived Growth Factor
R-LDL : récepteur des LDL
SR-A : scavenger receptor, class A
SR-B1 : scavenger receptor, class B1 ;
TG : triglycérides
TGF : Tumor Growth Factor
TF : tissue factor
TNF: Tumor Necrosing Factor
t-PA : tissue-type plasminogen activator
VCAM-1 : Vascular Cell Adhesion Molecule-1
VLDL : very low density lipoprotein

Introduction

Les complications de l'athérosclérose représentent une cause majeure de mortalité et de morbidité dans le monde. L'athérosclérose restant sans traitement étiologique spécifique, la correction de ses facteurs de risque est actuellement le meilleur moyen de lutter contre cette maladie (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). Ces mécanismes dépendent des facteurs d'origine multifactorielle, environnementale et génétique jouant le rôle important dans la variabilité de concentrations interindividuelles de cholestérol (3).

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

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

L'expression phénotypique de l'Apo E est le résultat d'un polymorphisme génétique sous le contrôle de trois allèles principaux ϵ_2 , ϵ_3 et ϵ_4 situés à un même locus sur le bras long du chromosome 19. Ce polymorphisme est dû à des mutations ponctuelles en deux sites précis du gène. Il en résulte trois isoformes principales (E2,E3 et E4). L'Apo E3 comporte une cystéine au résidu 112 et une arginine au résidu 158; la cystéine est présente à ces deux résidus pour l'isoforme E2, et l'arginine à ces deux mêmes positions pour l'Apo E4 (4). les différentes combinaisons génotypiques donnent six phénotypes : trois homozygotes (E2/E2 ; E3/E3 ; E4/E4) et trois hétérozygotes (E2/E3 ; E3/E4 ; E2/E4).

La détermination du polymorphisme de l'Apo E a été menée par plusieurs études qui ont révélé la relation existant entre ce polymorphisme et le risque de

maladies cardiovasculaires. L'allèle $\epsilon 2$ semble avoir tendance à l'hypertriglycéridémie tandis que l'allèle $\epsilon 4$ est probablement lié à l'hypercholestérolémie (5).

La fréquence des génotypes de l'Apo ϵ varie avec l'origine ethnique des sujets, chez les japonais on rencontre une plus grande fréquence de l'allèle $\epsilon 3$ et une fréquence relativement basse des allèles $\epsilon 2$ et $\epsilon 4$, en revanche l'allèle $\epsilon 4$ est plus fréquent dans les populations à grands risques d'athérosclérose comme la Finlande, les Etats-Unis (Framingham) (6).

Au niveau du pourtour méditerranéen, les études ont intéressé le Sud de l'Europe (Italie, Grèce, Espagne). Les résultats montrent une sous expression de l'allèle Apo $\epsilon 4$ et une mortalité par maladie cardiovasculaire nettement plus basse que le reste du monde. Ce résultat serait-il dû seulement à une différence ethnique ou à des facteurs environnementaux qui moduleraient le gène de l'Apo E.

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

Notre étude a pour objectifs :

- La détermination de ce polymorphisme dans la population Algérienne en prenant comme cible les habitants de Constantine .
- De comparer les fréquences des différents allèles dans la population d'étude (les sujets atteints par infarctus du myocarde) et dans la population témoin (habitants de Constantine).
- De voir s'il existe une relation entre ce polymorphisme et les taux des fractions lipidiques (cholestérol, triglycérides, HDL et LDL) et enfin d'entrevoir la liaison entre les différents génotypes et le risque de maladies cardio-vasculaires notamment chez les sujets âgés (plus de 80 ans) ne les ayant pas contractées afin de confirmer la prédisposition à l'athérosclérose liée à la présence de l'allèle $\epsilon 4$ en étant un nouveau facteur de risque.

1-les lipides :

1-1-Definition

Les lipides ou corps gras, sont des biomolécules organiques dérivées d'acides gras, capables de se condenser avec des alcools ou des amines (7).

Actuellement, le terme lipides dans la conjoncture biochimique est d'usage courant. Il englobe les AG, leurs esters et leurs amides, les alcools à PM élevés aliphatiques ou cycliques, les associations d'AG comportant la présence d'acide phosphorique ou sulfurique avec ou sans bases azotées, certains hydrocarbures rencontrés dans les organes animaux ou végétaux, enfin des associations d'AG avec les protéines et les glucides.

1-2-Rôle des lipides :

1-2-1- Rôle structural - fonctionnel:

Les lipides sont des constituants essentiels de la cellule à la fois au niveau structural et fonctionnel :

- la structuration des membranes biologiques :

En raison de leur constitution bipolaire, les molécules lipidiques, en présence de l'eau s'associent en ensembles orientés. L'avantage majeur de ces structures, c'est leur contribution dans la constitution des membranes cellulaires ainsi que celles de divers organites intracellulaires (RE, AG et mitochondries) qui se présentent sous forme de bicouche phospholipidique dont les parties hydrophiles polaires contenant du phosphate sont orientées vers l'extérieur de la membrane, les acides gras apolaires hydrophobes à l'intérieur de la membrane (8).

Dans les membranes en plus de l'extraordinaire fluidité de la bicouche lipidique dont dépendent les capacités de communication de la cellule et d'interaction avec les autres cellules, ils influencent aussi bien l'activité de certaines des protéines de la membrane (canaux ioniques, co-transporteurs, récepteur, molécules d'adhésion.) que l'affinité des enzymes générant les molécules de signalisation (9,10) et la fourniture de précurseurs lipidiques de différents médiateurs inflammatoires dans les fonctions immunitaires (11,12).

1-2-2-Rôle énergétique :

La graisse, mise en réserve dans le foie et surtout dans le tissu adipeux, constitue une source importante d'énergie : un gramme de triglycérides contient 6 fois plus d'énergie (37kj) qu'un gramme de glycogène (7).

1-2-3-Rôle métabolique :

Les lipides servent d'élément de base aux synthèses hormonales (le cholestérol) de messagers intracellulaires (phospholipides), d'activateurs de la transcription génique (stéroïdes, acides gras), de pigments absorbants de lumière, d'agents émulsionnants, de cofacteurs enzymatiques et de transporteurs d'électrons. Ils représentent également un matériau isolant thermique dans les tissus sous-cutanés (agents protecteurs) ou un isolant électrique permettant la propagation rapide du potentiel d'action (l'onde de dépolarisation le long des fibres nerveuses).

Les lipides peuvent se combiner avec d'autres composants, ainsi formant les phosphatidolipides, les lipopolysaccharides et essentiellement à des molécules mouillables(8) qui leur servent de véhicules lorsqu'elles circulent dans les liquides biologiques, les lipoprotéines dont le polymorphisme du gène codant certaines de ces protéines associées (l'Apoprotéine E) fera l'objet de cette étude génétique épidémiologique.

1-3-principaux lipides étudiés

Parmi les lipides ayant la plus grande importance médicale : le cholestérol (CH), les acides gras (AG) d'où les triglycérides (TG) (tableau 1)

2-Les lipoprotéines

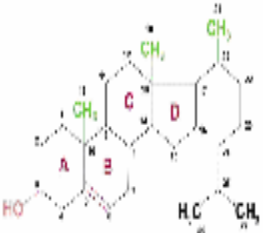
2-1-Structure et fonction des lipoprotéines :

Les lipoprotéines, véhicules lipidiques, sont des molécules sphériques de diamètres variables (Jusqu'à 1000 nm). Leur structure est adaptée au transport des lipides (7) comportant :

- Un cœur lipidique hydrophobe formé de TG provenant de l'absorption intestinale et les esters de cholestérol.
- Une enveloppe hydrophile formée de lipides polaires (phospholipides, cholestérol estérifié) associé à des fractions protéiques appelées apolipoprotéines.

Tableau 1: présentant les lipides qui revêtent une grande importance médicale (7,15,16,17,18,19,20)

Principaux lipides	Structure biochimique	Propriétés physiologiques	Origine et lieu de synthèse	Intérêt médical
Acides gras (AG)	<p>- AG saturés :</p> $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{n-2}-\text{COOH}$	<ul style="list-style-type: none"> - éléments de structure des lipides - existent sous forme libre AGL ou AGNE AG saturés ont : - des chaînes carbonées mobiles - de 12 à 18 atomes de C AG insaturés ont - des chaînes carbonées plus rigides - une ou plusieurs doubles liaisons 	<ul style="list-style-type: none"> - à partir de $(\text{CH}_3-\text{COOH})$ - l'hydrolyse des graisses naturelles 	<ul style="list-style-type: none"> - Athérogène - Anti athérogène
triglycérides	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R}_1 \\ \quad \quad \quad \parallel \\ \quad \quad \quad \quad \text{O} \\ \text{H}-\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R}_2 \\ \quad \quad \quad \parallel \\ \quad \quad \quad \quad \text{O} \\ \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R}_3 \\ \quad \quad \quad \parallel \\ \quad \quad \quad \quad \text{O} \end{array}$	<ul style="list-style-type: none"> - graisse neutres - esters formant 95% des tissus adipeux - une importante source d'énergie dans le muscle. - forment la majeure partie de la fraction la plus légère des lipoprotéines. - molécules volumineuses très légères et les moins mouillables - jouent un rôle de stockage 	<ul style="list-style-type: none"> - l'épithélium de l'intestin grêle. - cellules du tissu adipeux, foie au dépend du glucose. 	<ul style="list-style-type: none"> des niveaux élevés de TG représentent un facteur de risque indépendant aux maladies cardiovasculaires. - l'élévation de TG de 1mmol/l augmente ce risque de 15% chez les hommes et de 30% chez les femmes (17)

<p style="text-align: center;">Cholestérol</p>	<p style="text-align: center;">C₂₇H₄₅OH poly cyclique et dérive du noyau du phénanthrène (14).</p> 	<ul style="list-style-type: none"> - constituant important des membranes cellulaires. - précurseur biochimique de la vitamine D, des hormones stéroïdiennes et des acides biliaires - favorisant la digestion et l'absorption intestinale des Lipides alimentaires. - sous forme libre au sein des membranes et sous forme d'esters de cholestérol de réserve - La concentration est entre 1.7 et 2.1 g/l et augmente avec l'âge jusqu'à 2.5 g/l. 	<ul style="list-style-type: none"> - Exogène : 0.3 à 0.5g par jour de l'alimentation - <i>de novo</i> à partir de l'acide acétique - la plupart des cellules de l'organisme - la muqueuse intestinale et du foie. 	<p>-l'excès de cholestérol est un facteur de risque très important de l'athérosclérose.</p>
---	---	--	---	---

La cohésion de ces édifices dont les masses moléculaires peuvent atteindre plusieurs millions, est assurée par des forces électrostatiques de Van Der Waal et par des liaisons ioniques (21). Les lipoprotéines consistent en une vaste famille de particules (22), dont la classification en plusieurs groupes distincts est fondée sur trois types principaux de critères physico-chimiques (21,22).

Leur classement repose sur :

- **Leur mobilité électrophorétique** par analogie aux globulines α et β , deux principales classes sont distinguées, lipoprotéines α et lipoprotéines β respectivement (22) dont la migration des quatre fractions met les α lipoprotéines au niveau des α 1-globulines, les pré β lipoprotéines au niveau des α 2-globulines et les β -lipoprotéines au niveau des β -globulines et les chylomicrons ne migrent pas (21,23).

- **Leur fraction protéique** dont le classement dépend de la nature de l'apolipoprotéine présente dans leur structure lipoprotéique : Lp A (A_I et A_{II}), Lp B (B_{48} , B_{100}), Lp C (C_I , C_{II} , C_{III}), LpD et LpE (21). (tableau 2: Annexe 1).

- **Leur comportement moléculaire à l'ultracentrifugation de flottation** permettant une classification plus fine des lipoprotéines dont six populations plasmatiques sont distinctes par leur densité, taille et composition lipidique (tableau 3).

Cette subdivision a pris toute son importance dès lors que les études cliniques ont démontré la corrélation étroite entre l'incidence des maladies cardiovasculaires et le taux du cholestérol des lipoprotéines. (HDL et LDL) (22).

2-4-Les apolipoprotéines :

Ce sont les portions protéiques situées à la périphérie des lipoprotéines, sont considérées comme «la partie intelligente» de la particule. Elles se caractérisent par une structure secondaire à base d'hélices α amphiphiles ainsi que des zones très hydrophobes compatibles avec les lipides apolaires (21). Elles sont dénommées par une lettre de l'alphabet (A,B,C ,D,E,etc..) selon la nomenclature d'Alaupovic suivie d'un chiffre romain (I,II ,III..) lorsqu'il existe de modification dans la migration électrophorétique au sein de la même famille d'apoprotéine (24).

Tableau 2 : Caractéristiques physico- chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines (7,21,22)

Types de lipoprotéines	Mobilité Électropho- -rétique	Densité (g/ml)	Poids (10 ⁶ Da)	Diamètre (taille) (nm)	Proportion CHOI /TG	Principales apoprotéines (Apo)
Chylomicrons	Pas de migration	0,93	100	75-1 200	1/19	AI B48, E, C
VLDL	préβ	0,93-1,006	6	30-80	1/3,3	B100, E, C
IDL	préβ lent	1,006- 1,019	4	27-35	1/3,5	B100, E
LDL	β	1,019- 1,063	1.8	18-27	1/0,23	B100
HDL ₂	α 1	1,063- 1,125	0.4	9-12	1/0,22	AI, AII, C, E
HDL ₃	α	1,125- 1,210	0.2	7-9	1/0,19	AI, AII, C
Préβ HDL	préβ	1,210- 1,250		< 7 (disques)	nd	AI
Lp(a)		1,040- 1,115		25		B 100, (a)

Leurs caractéristiques fonctionnelles ont suscité un intérêt majeur au cours des dernières décennies dans l'évolution des maladies cardiovasculaires. Elles jouent un double rôle:

-Rôle structural dû à leurs propriétés physicochimiques dans le maintien de l'édifice macromoléculaire en le stabilisant et par leur surface polaire rendant l'assemblage soluble dans l'eau et protégeant l'intérieur fortement hydrophobe (21).

-Rôle métabolique permettant la reconnaissance et l'interaction avec les systèmes enzymatiques et les récepteurs membranaires spécifiques, en conférant à chaque classe de lipoprotéine ses propriétés fonctionnelles et son devenir métabolique (7,22) en vue de l'utilisation des AG et du CH ou en étant des enzymes activatrices ou inhibitrices impliqués dans le métabolisme intravasculaire (22).

2-5- Métabolisme des lipides et des lipoprotéines :

Trois voies essentielles du métabolisme des lipoprotéines ont été décrites (Figure 1) (22) :

2-5-1-Voie exogène (entéro-hépatique) :

Les lipides d'origine alimentaire (cholestérol et triglycérides) sont absorbés au niveau de l'intestin et intégrés ensuite dans les chylomicrons. Initiant la voie exogène, ces derniers prennent en charge le transport du cholestérol qui est transformé en esters de cholestérol au sein des entérocytes par une enzyme spécifique l'*acyl coenzyme A cholestérol-acyltransferase (ACAT)* (25).

Les chylomicrons natifs riches en TG, contiennent en plus de l'apo B₄₈, essentielle à leur assemblage de l'apo A_I, A_{II} et A_{IV} nouvellement synthétisées alors qu'ils acquièrent l'apo C et l'apo E provenant des HDL circulants (7).

Une fois sécrétés dans la lymphe mésentérique, les chylomicrons rejoignent la circulation sanguine puis sont hydrolysés par la *lipoprotéine lipase (LPL)*, enzyme lipolytique ancrée à l'endothélium des capillaires sanguins (22).

Les particules résiduelles ainsi formées (ayant perdu essentiellement de l'apo A_I et l'apo C), appelés remnants sont directement internalisés dans plusieurs tissus périphériques (principalement le cœur, muscle...) avant d'être captées finalement par le foie.

Dans cette dernière étape, interviennent les récepteurs tissulaires R LDL et LRP dans la reconnaissance et l'internalisation des remnants portant l'apo E (26). Après leur lipolyse et

protéolyse dans les cellules hépatiques, le cholestérol issu sera alors intégré dans de nouvelles particules (VLDL) ou excrété dans les canalicules biliaires (22).

2-5-2- Voie endogène d'apport aux tissus périphériques:

Initiant la deuxième voie dite endogène, les VLDL sont synthétisées et sécrétées par le foie pour transporter les lipides vers les tissus périphériques(22). Elles contiennent essentiellement des TG et des esters de cholestérol produits par l'ACAT hépatique ainsi que l'Apo B100 essentielle à leur assemblage et l'Apo C. L'Apo E est présente en grande fraction associée aux particules de VLDL naissantes dans le foie.

Après sécrétion dans le compartiment intravasculaire, les VLDL hépatiques, intestinales, subissent une cascade lipolytique :

1- Action de la LPL donnant des IDL.

2- Action de la HL (hepatic lipase) générant des LDL à partir des IDL.

Les LDL ainsi formées, riches en esters de cholestérol, ils ne contiennent que l'apo B100(24).

Tout au long de la cascade VLDL-IDL-LDL, les lipoprotéines circulant peuvent être captées par interaction avec les différents récepteurs cellulaires spécifiques localisés sur le foie et les autres tissus périphériques (26).

2-5-3-Voie de retour (transport reverse) :

Le cholestérol excédentaire de l'organisme doit être ramené au foie, seul organe capable de l'éliminer dans la bile, par une voie métabolique antiathérogène. Cette voie est appelée: transport reverse.

Les pré β HDL, molécules de forme discoïde constituées principalement de l'Apo AI favorisent l'efflux du cholestérol périphérique jusqu'au foie (22). Dans le plasma, le cholestérol des HDL est estérifié par action de la LCAT (*Cholesteryl Ester Transfer Protein*), il en résulte la formation de particules α HDL sphériques. En transférant du cholestérol des HDL vers les VLDL / IDL, la CETP (*Cholesteryl Ester Transfer Protein*) peut soit offrir une voie alternative de retour du cholestérol au foie par le biais des IDL /VLDL, soit court-circuiter le transport reverse du cholestérol qui peut être ramené aux tissus périphériques par le biais des LDL (22).

Les HDL plasmatiques peuvent également subir une étape de maturation sous l'influence de la fonction de la PLTP (*Phospholipid Transfer Protein*) qui permet l'émergence de α HDL₂ et les pré β HDL à partir des α HDL₃ (22). Dans l'étape finale limitante de la voie de retour, le cholestérol des différentes lipoprotéines peut être capté au niveau hépatique par l'intermédiaire

de récepteurs cellulaires spécifiques SR-B1(27); ou rénal récepteur des LDL; cubiline/mégaline (28), et ainsi être soit éliminé par voie biliaire, soit stocké dans des VLDL nouvellement synthétisées et remis potentiellement en circulation.

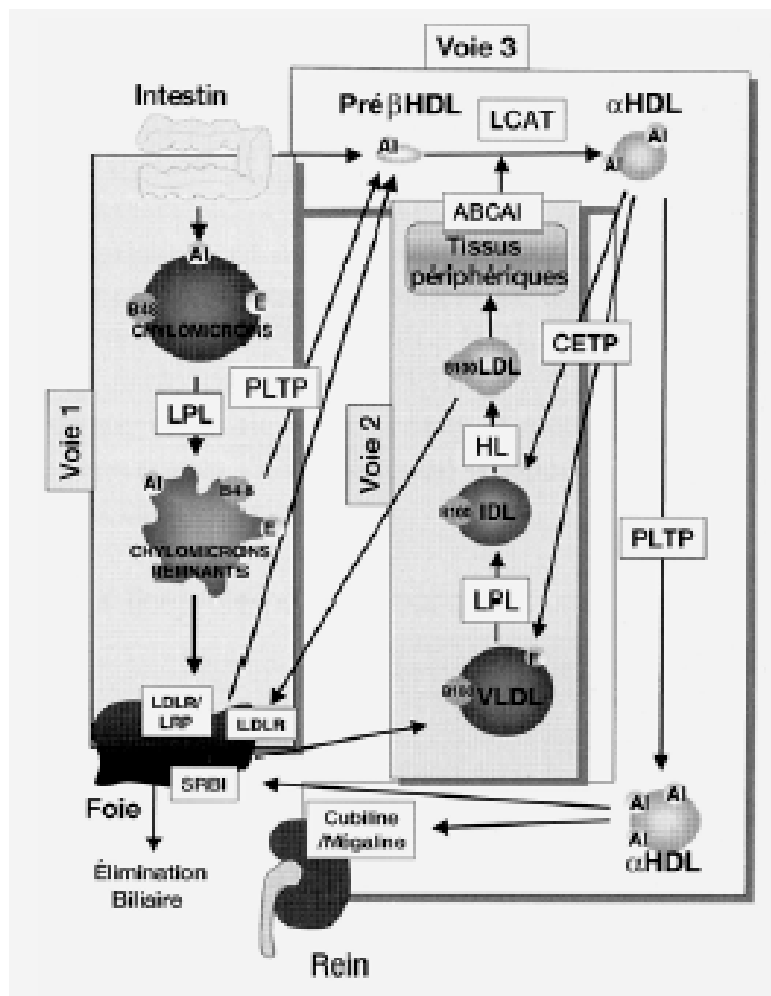


Figure 1 : Schéma général du transport du cholestérol et le métabolisme des lipoprotéines (22).

- Voie 1: Voie exogène (entéro-hépatique).
- Voie 2: Voie endogène d'apport aux tissus périphériques.
- Voie 3: Voie de retour (reverse transport)

Lipides et lipoprotéines
Chapitre I

1-Athérosclérose

1-1-Historique :

Les accidents ischémiques aigus sont dans la majorité des cas, la traduction clinique de la maladie athéromateuse, consécutifs à une rupture ou une érosion de la plaque d'athérosclérose avec formation d'un thrombus obstruant la lumière vasculaire (29).

La première description sur le plan histologique a été réalisée sur les corps momifiés égyptiens(30).A partir de 1740 de nombreux médecins ont caractérisé et décrit les altérations de la paroi artérielle qu'ils ont nommée : Athérosclérose (30,31).

1-2-Définition :

L'athérosclérose est une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibre, consistant en une accumulation locale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôt calcaires; le tout s'accompagnant de modifications de la media (32) (définition de l'OMS 1954).C'est aussi un processus par lequel du cholestérol s'accumule dans les artères, entrave la circulation sanguine et provoque en bout de ligne l'infarctus du myocarde et l'accident vasculaire cérébral. L'athérosclérose est la première cause de mortalité au niveau mondial,et est à l'origine de la plupart des maladies cardiovasculaires.

1-3-Evolution du processus d'athérogénèse

1-3-1- Structure d'une artère normale

La paroi artérielle est constituée de trois tuniques superposées (Figure 2).

-L'intima: est la tunique interne

-La média : est la tunique intermédiaire.

-L'adventice: est la tunique externe (33).

1-3-2-Théories de l'athérosclérose

1-3-2-1- Théorie d'incrustation

Cette théorie était émise en 1852 par Karl von Rokitansky (35,36): « la plaque d'athérome » résulterait d'un dépôt excessif d'une membrane vasculaire externe provenant du sang, constituée principalement de fibrine et de plaquettes puis se durcissant. (24)

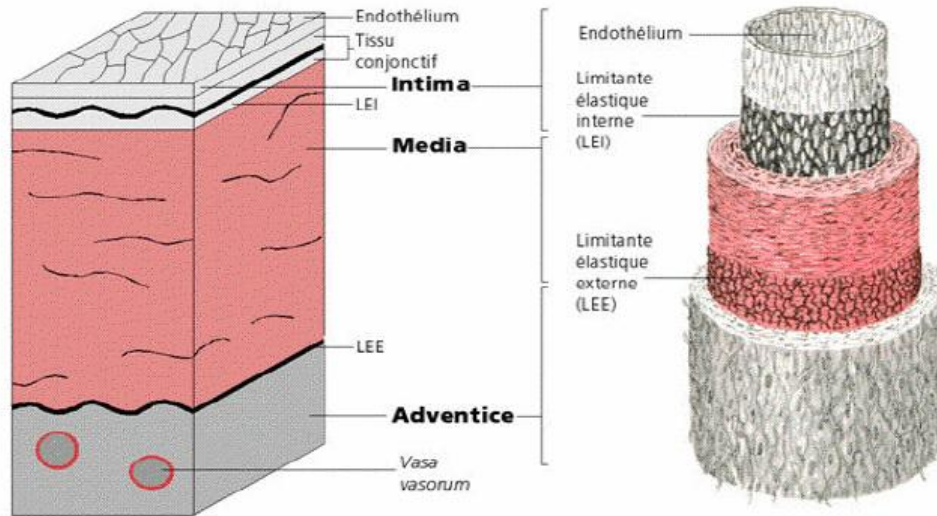


Figure 2: Structure de la paroi d'une artère normale (34)

1-3-2-2- Théorie lipidique:

Les théories concernant la pathogénèse et l'étiologie de l'athérosclérose se développaient à partir de Virchow (1856) (30) pour aboutir à la mise en évidence du rôle prépondérant du cholestérol comme facteur déclenchant. Les travaux d'IGNATOWSKI (1908) réalisés sur le lapin soumis à un régime riche en protéines et de grandes quantités de lipides montraient le lien entre le régime alimentaire et l'apparition de la plaque (36). En 1910 Stuckey établit que les modifications athéromateuses n'étaient pas dues aux protéines (24). De ce fait ; le rôle des lipides dans l'athérosclérose prédominait toutes les préoccupations.

Et ce n'est qu'en 1913 qu'ANITSCHOW et CHALATOV ont montré la responsabilité du cholestérol dans la survenue de l'athérosclérose (35,36), émettant l'hypothèse que la formation de l'athérome est le résultat d'une imbibition lipidique de la paroi artérielle (36).

Plusieurs travaux (34,35) ont confirmé que l'augmentation des lipides sériques est la cause principale de la formation de la plaque d'athérome. La principale lipoprotéine impliquée dans l'athérosclérose est la LDL. Selon cette théorie, après leur fixation accrue sur la paroi vasculaire, les LDL modifiées sont à l'origine des lésions obtenues par pénétration directe dans l'endothélium artériel, ce qui entraînerait une augmentation de l'accumulation de LDL dans les cellules de la paroi artérielle.

Durant près d'un siècle, la théorie lipidique a largement été mise en avant, occultant un peu les autres théories.

1-3-2-3-Théorie d'une réponse à une lésion endothéliale :

Russell Ross (1976) a développé la théorie de la « réponse à l'effraction endothéliale » (37). La lésion de l'endothélium provoquée par un agent mécanique, chimique, toxique, viral ou inflammatoire est due à l'agrégation et à l'adhésion du PDGF (*platelet derived growth factor*), facteur mitogène (38) secrété par les plaquettes sanguines, macrophages et cellules musculaires lisses (CML).

Cette théorie a été confortée par celle du DUGUID (1949) qui suggérait que la formation de microthrombus pourrait être à l'origine de la lésion. La thrombose initiale s'étend et devient susceptible de provoquer un épaissement de la paroi artérielle (24).

1-3-2-4- Théorie monoclonale de Beneditt et Beneditt :

Contrairement à la réponse proliférative normale polyclonale des CML des vaisseaux dans l'athérosclérose, les Beneditt (1970) ont montré que la prolifération paraît monoclonale ; une mutation génétique était à l'origine de cette prolifération sélective. Toutes les cellules de la plaque seraient donc issues d'une cellule unique ayant subi une transformation (39) ; la plaque serait ainsi semblable à un néoplasme bénin. Ces caractéristiques des néoplasies monoclonales ont conduit à évoquer une transformation des cellules musculaires lisses artérielles sous l'effet d'agents mutagènes ou l'implication de quelques virus tel l'herpès simplex, chlamydia pneumoniae et le cytomégalovirus d'où l'hypothèse virale (40).

1-3-3- Mécanisme moléculaire athéromateux :

Le mécanisme moléculaire de l'athérosclérose fait intervenir plusieurs acteurs jouant un rôle prépondérant dans la genèse de la plaque :

Les lipoprotéines essentiellement les LDL oxydées et quatre types cellulaires, les macrophages, les cellules endothéliales, les CML et les lymphocytes. Plusieurs mécanismes s'associent pour aboutir à la formation de la plaque :

- **Oxydation et pénétration des LDL dans l'intima artérielle**

L'oxydation des LDL *in situ* semble être liée à la présence de macrophages dans la paroi vasculaire. L'endothélium lésé est traversé par ces LDL plasmatiques qui pénètrent dans l'intima par un phénomène de transcytose (41)

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

Suite à une perte de l'intégrité et/ou de l'activation des cellules endothéliales, due à la cytotoxicité de LDL-oxydées, les cellules endothéliales secrètent des molécules d'adhésion (VCAM-1, ICAM-1). Ces dernières ont la capacité de se lier à des ligands de la famille des intégrines présents sur la membrane des leucocytes (41); ce qui implique l'adhésion des monocytes circulant à la surface de l'endothélium.

Après adhésion, le monocyte pénètre dans l'espace sous-endothélial où il se transforme en macrophage puis en cellule spumeuse. Ces étapes sont sous l'influence de divers facteurs : le MCP-1 (*monocyte chemotactic protein-1*); le M-CSF (*monocyte-colony stimulating factor*) (41)

La formation de cellules spumeuses est liée à l'augmentation de la captation des LDL oxydés par les macrophages résidents (42) qui expriment le récepteur scavenger B/E. Ce système d'endocytose ne possède pas un mécanisme de rétrocontrôle (43); par ailleurs l'internalisation du LDL oxydés se continue jusqu'à engorgement des cellules par les esters de cholestérol (44) ce qui est à l'origine des stries lipidiques constituant les lésions précoces de la plaque d'athérome. (42),

- **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 (42). Les macrophages produisent de nombreuses cytokines pro inflammatoires (TNF- α , TNF β , IL-1) qui augmentent l'activation endothéliale, et favorisent l'afflux de nouveaux monocytes qui peuvent aussi induire l'expression par les cellules de la plaque, de MMP (*matrix metallo protéinases*) les collagénases, les élastases et les gélatinases qui possèdent toutes une activité de dégradation de la matrice extracellulaire (45)

- **Migration des CML vers la média :**

Les CML provenant de la média migrent à travers la limitante élastique interne vers l'intima où elles prolifèrent sous l'action du facteur mitogène PDGF sécrété par les plaquettes et l'endothélium. Au cours de ce passage, les CML acquièrent le phénotype sécrétoire et une forte activité synthétique de protéines conjonctives (collagène, d'élastine et de protéoglycannes) à forte affinité pour les LDL oxydés.

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

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

Le centre lipidique constitué de lipides libérés après dégénérescence des cellules spumeuses est entouré par la chape fibromusculaire (CML, protéines conjonctives) c'est : la plaque athéroscléreuse adulte (46). L'intégrité de cette plaque d'athérome est un élément déterminant de sa stabilité.

- **Modification de la paroi artérielle:**

La formation de la plaque athéroscléreuse entraîne d'autres modifications de la paroi artérielle environnante

- L'irrigation de la paroi est accrue par la formation de néo-vaisseaux provenant de ramifications des vasa vasorum de l'adventice.

- L'organisation structurale générale de la paroi est également perturbée : Le développement de la plaque entraîne un dédoublement et une fragmentation de la limitante élastique interne ; la media s'amincit et dans l'adventice, des infiltrats lymphocytaires et des granulomes sont retrouvés (44).

1-3-4-Developpement morphologique et anatomopathologique

Selon STARY 1994, La description anatomopathologique moderne de l'athérosclérose a huit stades évolutifs (47). Elle apparaît comme une lente métamorphose de l'intima artérielle (31) résumée en une séquence des étapes suivantes :

1-3-4-1-Lesions pré-athérosclérotiques:

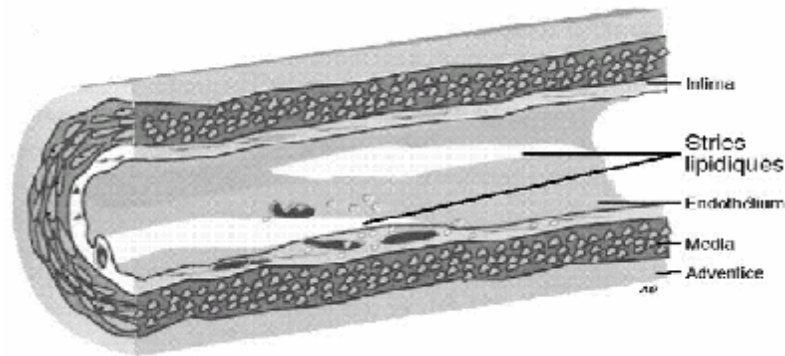
- Coussinet intimal (Stade I):

Dès les premières années de la vie, il se produit au niveau sous-endothélial : une accumulation de macrophages dont Certains se transforment en cellules spumeuses chargées de vésicules lipidiques (48), outre cette infiltration macrophagique , un début de prolifération des cellules musculaires lisses et une agrégation plaquettaire normales sont notées (32). L'ensemble de ces activités (accumulation, prolifération et agrégations) ont conduit à l'épaississement de la paroi qui par la suite sera le terrain sur lequel se développera l'athérosclérose. Il n'a

pas été décrit ni des conséquences sur la morphologie de la lumière vasculaire ni d'évolution obligatoire vers l'athérosclérose (Figure3).

- Stries lipidiques (Stades II,III):

Lésions précoces et fréquentes dont les CML et les cellules spumeuses d'origine macrophagique en sont caractéristiques. Elles apparaissent comme des surélévations linéaires, parallèles et de couleur jaune beurre qui font légèrement saillie dans la lumière artérielle. Ces stries pourraient évoluer vers la formation de la plaque fibreuse (32). (Figure 3)



a-Coussinet intimal

b- Stries lipidiques

Figure 3 : Lésions pré-athéroscléreuseuses (37)

1-3-4-2-Plaque d'athérosclérose non compliquée (Stades IV et V)

C'est une plaque fibrolipidique mûre, simple, non compliquée. C'est un épaissement focal (qui n'occupe qu'un secteur de la circonférence) de l'intima formée :

-D'un centre graisseux (ou athérome) :constitué des esters de cholestérol (50 %), du cholestérol (25 %) et des phospholipides (25 %)(36)

-D'une armature fibreuse périphérique (ou sclérose) recouvrant le centre athéromateux; elle sépare le centre athéromateux de la media constituée essentiellement de collagène, de mucopolysaccharides, d'élastine, de fibrine et de CML qui, en l'absence de fibroblastes assurent exclusivement la formation de ce tissu fibreux (36,44) (Figures 4,5).

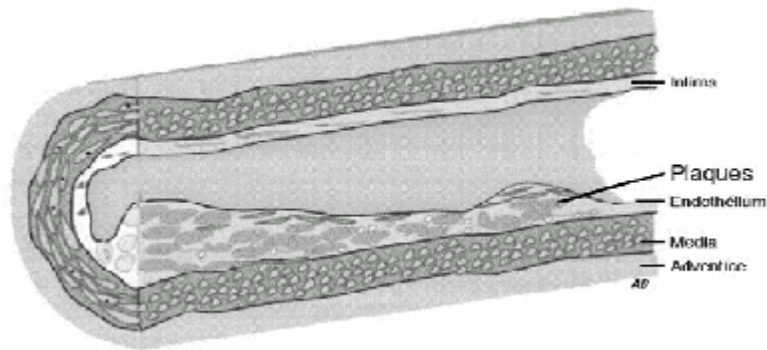


Figure 4: Plaque d'athérosclérose non compliquée (37)

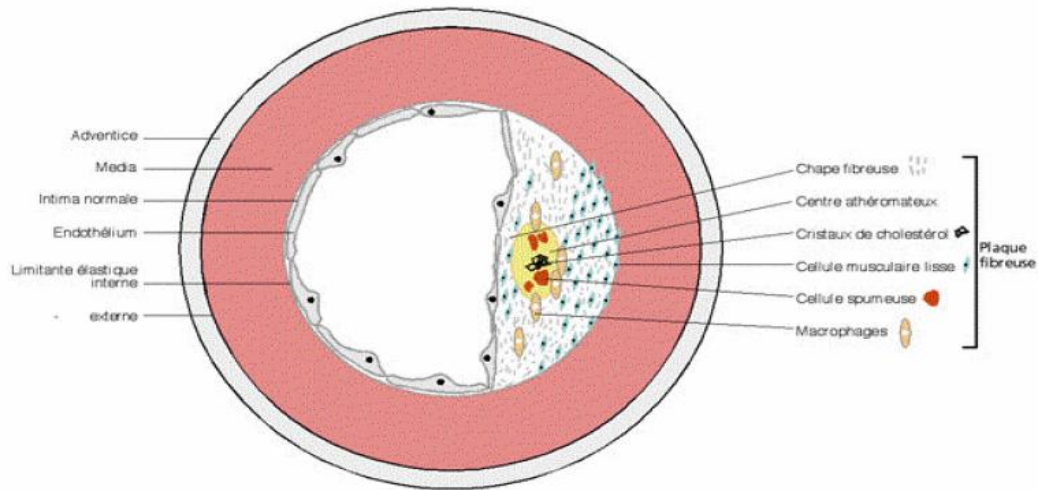


Figure 5 : Plaque d'athérosclérose non compliquée (37)

1-3-4-3-La plaque d'athérosclérose compliquée (Stade VI) :

Dans cette étape la formation locale de la plaque athéroscléreuse pouvant se poursuivre et s'étendre longitudinalement puis sur toute la circonférence du vaisseau de façon lente et irrégulière. Cette évolution reste longtemps asymptomatique.

La sténose :

Un rétrécissement de la lumière artérielle provoqué par la saillie de la plaque. Elle peut être constituée par une plaque seule ou par une plaque à laquelle s'est ajouté un thrombus. (49).

L'ulcération :

C'est une fracture de la plaque avec une rupture de l'endothélium de la chape fibreuse, due à la nécrose endothéliale. Elle met en contact du sang circulant, les

substances pro-coagulantes contenues dans la plaque (49) Les plaquettes sont mobilisées vers le sous endothélium et libèrent des substances vasoconstrictrices. L'ensemble forme un point d'appel à la thrombose (36).

L'hémorragie :

C'est la formation d'un hématome généralement entre la plaque et la média qui est dû : soit à la richesse vasculaire de la plaque (49), soit à la pénétration de sang venant de la lumière artérielle à travers une ulcération (36). Cet hématome peut distendre la plaque accentuant un effet de sténose, se propager en décollant l'intima de la média et réalisant un hématome disséquant (49).

La thrombose :

La thrombo-résistance est compromise ,lorsque l'endothélium est rompu et lésé par une simple fissuration ou une ulcération (49). Le point de départ est l'adhésion plaquettaire, formation d'un thrombus blanc, édification d'un réseau de fibrine dans les mailles aboutissant à la formation d'un néo thrombus mixte ou rouge. Ce qui va obstruer brusquement la lumière artérielle résiduelle (36).

Les calcifications :

A tous ces processus s'ajoutent des phénomènes de calcifications (36) qui sont un avatar habituel de toute sclérose organique. Il s'agit simplement d'un passage obligatoire, des ions phosphocalciques fixés sur la trame collagène d'une phase liquide à une phase cristalline solide (49) aboutissant à la formation de plaques fibrocalcaires (stades VII et VIII).

2-L'infarctus du myocarde :

2-1-Définition :

L'infarctus du myocarde (IDM) est une des complications majeures de l'athérosclérose des artères coronaires (41). Il s'agit d'une nécrose ischémique systématisée du muscle cardiaque le plus souvent due à une thrombose occlusive brutale d'une artère coronaire. Cette occlusion coronaire aiguë par un thrombus survient le plus souvent sur une plaque d'athérome devenue instable à la suite d'une érosion, d'une ulcération, d'une fissuration ou d'une rupture (50) (Figure 6). La gravité de l'infarctus tient surtout à son étendue : plus l'artère obstruée irrigue une zone importante, plus l'infarctus est grave .

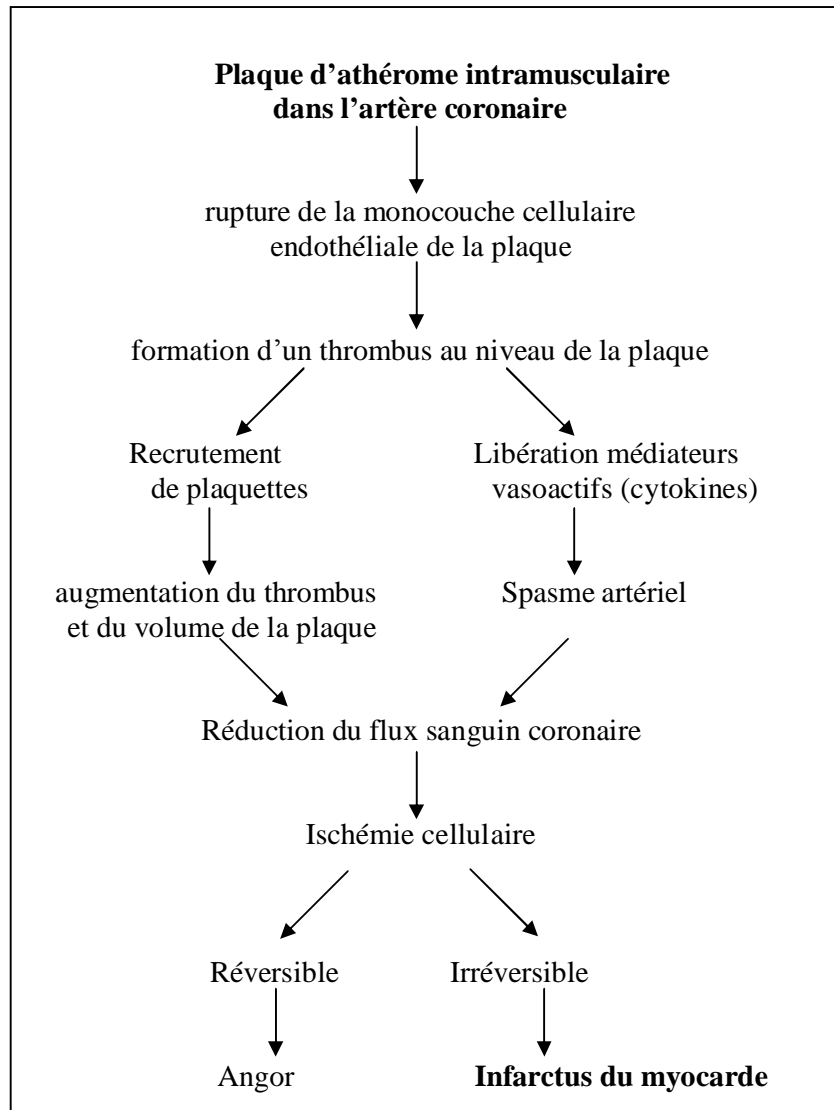


Figure 6: Mécanisme de formation de l' infarctus du myocarde (52)

2-2-Donnés épidémiologique :

Selon les données de l'OMS : L'infarctus du myocarde constitue une urgence cardiologique absolue dont l'incidence reste encore la plus élevée. En effet, sur 50 millions de décès annuels dans le monde, les cardiopathies ischémiques se placent au premier rang avec 7.2 millions de décès d'origine coronaire. A cette mortalité, il faut ajouter une morbidité importante et un retentissement socio-économique.

L'étude européenne MONICA (*multinational monitoring of trends and determinants of cardiovascular disease*) a mis en évidence un gradient nord-sud dans la mortalité coronaire, de plus, il est confirmé que dans la tranche d'âge 35-64 ans, les taux de mortalité chez la femme par maladie coronaire aiguë sont nettement inférieurs aux taux de mortalité chez l'homme (51).

2-3-Etiologie et facteurs de risque :

L'athérome coronaire est la cause la plus fréquente de l'infarctus du myocarde. Sa formation est sous la dépendance de facteurs de risque cardio-vasculaire (53).

2-3-1- Les facteurs de risque constitutionnels (non modifiables)

2-3-1-1-Age :

Les lésions d'athérosclérose apparaissent très précocement et s'aggravent avec l'âge. Ce qui reflète la durée d'exposition d'un individu aux autres facteurs de risque (41), même si des cas d'athérosclérose ont été observés chez des sujets jeunes, la prévalence de cette pathologie reste fortement corrélée à l'âge.

2-3-1-2- Sexe

L'homme a un risque d'athérosclérose beaucoup plus élevé que la femme : sur 100 infarctus, 20 surviennent chez la femme. Cette protection est rattachée à l'influence bénéfique des oestrogènes naturels sur le profil lipidique, la sensibilité à l'insuline et sur la pression artérielle. Cette protection disparaît 10 à 15 ans après la ménopause et explique l'âge tardif de survenue des complications de l'athérosclérose chez la femme (41).

2-3-1-3- Hérité et antécédents familiaux :

Les antécédents familiaux de maladie cardiovasculaire sont un facteur de risque d'autant plus important que l'âge de survenue des événements a été précoce dans la famille (père < 55 ans et mère < 65 ans).

Dans le cas de maladies cardiovasculaires, la susceptibilité génétique est multifactorielle. Elle implique de nombreux gènes et de nombreuses interactions gène-gène et gène- environnement . Le gène de l'Apo E polymorphique est directement impliqué dans la régulation du métabolisme des lipides et la détermination du risque (41).

2-3-2- Facteurs de risque environnementaux modifiables

2-3-2-1- Tabagisme :

Il s'agit d'un facteur de risque majeur quelque soit le type de tabagisme, actif ou passif. La consommation touche actuellement des populations jusque là moins exposées (femmes, sujets jeunes). Les effets délétères du tabac sont liés à la quantité quotidienne de tabac consommée par jour, à l'âge de début de consommation et à la durée de l'exposition. Le risque augmente linéairement avec l'augmentation du nombre de paquets par année (53)

L'oxydation des LDL première condition de l'athérosclérose, peut être provoquée chimiquement in vitro par incubation de LDL natives en présence d'extraits de fumée de cigarette (30).

2-3-2-2- Régime alimentaire

L'effet athérogène du régime alimentaire repose sur la modification de plusieurs facteurs de risque tel que la glycémie, l'HTA et est très intriqué avec des facteurs de risque comme l'obésité. C'est la consommation d'acides gras saturés qui est athérogène en augmentant le LDL-cholestérol (53).

Le régime méditerranéen (pauvre en acides gras saturés et riche en acides gras insaturés) est associé au risque cardiovasculaire le plus bas et à l'espérance de vie la plus longue.

2-3-2-3- Obésité:

Elle est évaluée par l'indice de masse corporelle (IMC) (poids/taille²). Les normales sont de 20 à 25 chez l'homme et de 19 à 24 chez la femme.

Il y a surpoids lorsque l'IMC est supérieur à 25 et d'obésité au-delà de 30. L'obésité est dite morbide pour des IMC supérieur à 40. Elle est actuellement mesurée par la circonférence abdominale (< 102 cm chez l'homme et < 88 cm chez la femme.), car la masse grasse intra abdominale augmente plus le risque cardiovasculaire (53).

2-3-2-4- Sédentarité

Le manque d'activité physique régulière est associé à une augmentation du risque de mortalité cardiovasculaire dans la plupart des études épidémiologiques. L'activité physique diminue le LDL-C, augmente le HDL cholestérol et modifie certains facteurs de risque (maintien d'un poids normal, la pression artérielle)(52).

2-3-2-5- Facteurs psychosociaux

L'influence des facteurs psychologiques est indéniable et difficile à quantifier. Les études épidémiologiques ont permis de montrer qu'ils sont très intriqués avec d'autres facteurs comportementaux (tabac, régime alimentaire... ..) (52).

2-3-2-6- Diabète

Le diabète est actuellement défini par une glycémie à jeun égale à 7 mmol/l (1,26 g/l) à 2 reprises. Les diabètes de type I et II sont associés à une augmentation du risque cardiovasculaire (52).

Pour le diabète de type I, le risque cardiovasculaire apparaît dès l'âge de 30 ans et est d'autant plus important que le contrôle glycémique est mauvais et qu'il y a une néphropathie. Le diabète de type II et l'intolérance au glucose associés à d'autres

facteurs de risque (HTA, dyslipidémie, obésité).constituent un risque cardiovasculaire majeur (53).

2-3-2-7- Dyslipidémies :

L'élévation du LDL-C et des TG est délétère. L'élévation du HDL-C est protectrice. Il s'agit avant tout de facteurs de risque de coronaropathie.

2-3-2-8- Hypertension artérielle :

L'hypertension artérielle (HTA) a un impact cardiovasculaire essentiellement cérébral.

3- Métabolisme des lipoprotéines chez les sujets présentant un IDM :

3-1-Rôle proathérogène des LDL :

Il a été largement démontré que l'augmentation du LDL-C sérique est athérogène par de nombreuses études épidémiologiques et expérimentales. A l'heure actuelle, les recherches mettent en scène l'importance de l'aspect qualitatif des LDL,et font corrélérer l'athérosclérose et l'hétérogénéité des LDL (54) .

Certaines études telles celles d'AUSTIN et KRAUS en 1988 évoquent un risque d'infarctus du myocarde augmenté trois fois plus lorsque les LDL sont plus petites,plus denses et plus chargées négativement (pouvoir d'oxydabilité élevé)(55).

3-2- Modification des LDL :

Le rôle athérogène des LDL est fortement lié aux transformations biochimiques qu'elles subissent au sein de l'intima, il existe différentes modifications des LDL qui ont été mises en évidence chez le lapin watanabé (56),ainsi que dans les lésions athérosclérotiques humaines (57); il s'agit de la carbonylation, la conjugaison avec des aldéhydes, la glycation et plus essentiellement l'oxydation.Toutefois, elles sont oxydées,les LDL sont reconnues par d'autres récepteurs, les récepteurs Scavenger (*éboueurs*) des macrophages. Ces récepteurs entraînent les LDL dans un processus athérogène, dans la mesure où cette voie ne subit aucun rétrocontrôle métabolique (36).

3-3- Oxydation des LDL:

L'oxydation se déroule en quatre étapes :

- 1- Elle est initiée au niveau de l'intima ou il y a moins d'antioxydants, (58) Les radicaux libres s'attaquent aux lipides, surtout aux acides gras polyinsaturés (AGPI).
- 2- La propagation de ces modifications chimiques aux autres lipides conduit à la dégradation et à la libération de fragments lipidiques.

3- La formation de peroxydes lipidiques ; des produits de dégradation, en particulier les aldéhydes qui sont cytotoxiques.

La fragmentation des hydroperoxydes lipidiques est favorisée par le stress oxydant, incluant les cations métalliques tels que le cuivre (Cu^{2+}) et le fer (Fe^{3+}), et des activités enzymatiques (PAF-AH) (Figure 7). Les vitamines tels B , C et E entraînent une inhibition de l'oxydation des LDL d'où la diminution de leur cytotoxicité sur les vaisseaux artériels (24)

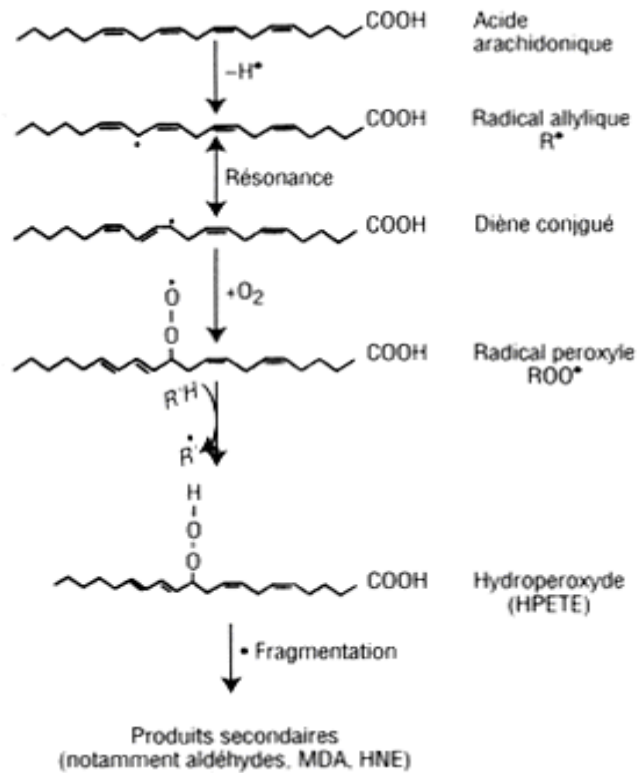


Figure 7 : Exemple d'une oxydation des LDL retenues au niveau intimal subissant une modification oxydative en conséquence de leur interaction avec les espèces réactives de l'oxygène (30)

Tableau 5 : Effet des LDL oxydées sur les cellules artérielles (59)

Types cellulaires	Effet direct	Effet indirect
Cellules endothéliales	<ul style="list-style-type: none"> -Synthèse et sécrétion des molécules d'adhésion (ELAM , ICAM-1, VCAM-1 et GMP-140) -Synthèse de molécules chimioattractantes (MCP-1) -Synthèse des facteurs de stimulation des colonies (M-CSF, GM-CSF) -Synthèse des facteurs de croissance (b-FGF- PDGF) -Altération de la sécrétion d'EDRF et sécrétion d'EDCF -Augmentation de la synthèse du TF -Inhibition de la synthèse du t-PA et stimulation de la synthèse du PAI-1 	<ul style="list-style-type: none"> -Adhésion des monocytes -Migration des monocytes dans l'intima artérielle -Transformation des monocytes en macrophages -Vasoconstriction et agrégation plaquettaire -Génération de thrombine - Diminution de la fibrinolyse et Coagulation
Monocytes/Macrophages	<ul style="list-style-type: none"> - Synthèse du MCP-1 - Captage direct - Augmentation antigénique 	<ul style="list-style-type: none"> -Chimiotactisme des monocytes -Formation des cellules spumeuses -Activation de la réponse immunogène
Cellules musculaires lisses (CML)	<ul style="list-style-type: none"> - Chimioattraction directe - Synthèse du PDGF - Synthèse du bFGF 	<ul style="list-style-type: none"> -Prolifération et migration de CML et épaissement néo intimal. -Expression du récepteur Scavenger et formation de cellules spumeuses.

3-4-Rôle anti athérogène des HDL

La responsabilité de l'oxydation des LDL dans la formation de la plaque d'athérosclérose étant largement admise, cette théorie oxydative a conduit à envisager d'une autre part qu'il existe une relation inverse entre la concentration plasmatique du HDL-C et le développement de l'athérosclérose pour conférer un rôle protecteur aux HDL. Ce rôle apparaît à trois niveaux :

- (1) Inhibition de l'oxydation des LDL.
- (2) Stimulation de l'efflux du cholestérol et intervention dans son transport inverse
- (3) Inhibition de la sécrétion des molécules d'adhésion produites par les cellules endothéliales.(60)

Plusieurs mécanismes d'action des HDL ont été décrits en faveur du pouvoir protecteur des HDL sur le métabolisme de la paroi des vaisseaux, vis-à-vis de l'effet néfaste des LDL.

- Les phospholipides des HDL pourraient entrer en compétition avec ceux des LDL lors des phénomènes d'oxydation.
- les hydroperoxydes formés pourraient être transférés depuis les LDL oxydées jusqu'aux HDL natives.
- Deux enzymes liées aux HDL, la paraoxonase et la PAF-acétylhydrolase (PAF-AH, ou *Platelet Activating Factor AcetylHydrolase*), pourraient conférer aux HDL des propriétés anti-oxydantes en permettant l'hydrolyse des phospholipides oxydés des LDL (60).

D'autant qu'il existe une baisse de l'activité de cette enzyme chez les sujets ayant fait un infarctus du myocarde.

Plusieurs travaux sont intéressés du rôle anti-athérogène important que semblent jouer les HDL riches en Apo E (HDL-E). Ceci a été suggéré à l'origine chez l'animal et chez l'homme, des HDL dépourvues d'Apo B qui étaient captées par le récepteur-LDL, plus tard les travaux du groupe de Theodore Mazzone montraient l'importance de l'Apo E produite par le macrophage pour l'efflux de cholestérol vers les HDL₃(61).

Apolipoprotéine E

L'Apo E est une glycoprotéine de 299 acides aminés riche en arginine et de poids moléculaire 34200 daltons. Elle est retrouvée sur la plupart des lipoprotéines qui transportent le CH et les TG dans le sang, mais tout particulièrement sur les VLDL, les IDL et les HDL (62).

Elle existe sous trois formes majeures dont un ou deux coexistent dans la circulation. Ces trois formes diffèrent les unes des autres par la substitution des acides aminés en position 112 et 158 qui résultent des mutations survenant sur le gène unique qui les encode. Cette variation génétique produit dans les populations un polymorphisme de fréquences alléliques variées.

1- Historique :

- **1973** : La découverte de l'Apo E par shore et shore (63) .Utermann puis Marburg ont découvert le polymorphisme génétique stable de l'Apo E (64).
- Zannis et Breslow, ont fait entrevoir un rôle éventuel important en biologie humaine. (65) :
- **1975** Rôle dans la régulation des niveaux du cholestérol plasmatique
- **1978** Rôle dans la génétique des hyperlipoprotéïnémies
- **1985** Rôle athérogène dans les hyperlipidémies
- **1986** Production par le système nerveux central (SNC)
- **1987** Détermination de sa structure et sa fonction.
Rôle dans la réparation nerveuse.
- 1989** Rôle dans le remodelage neuritique.
- **1993** Liée à la maladie d'Alzheimer.

2-Génétique de l'Apo E

2-1-Gène de l'Apo E

Le gène (Apo ε) humain est un membre de la famille multigénique codant les apoprotéines. Il est situé sur le bras long du chromosome 19 en (19q13.2) étroitement lié au complexe génique Apo C-I/C-II (66) (Figure8),et comprend quatre exons séparés par trois introns .Il s'étend sur 3597 nucléotides et code pour un ARNm de 1163 nucléotides. Les tailles des quatre exons de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' sont respectivement 44, 66, 193, et 860 nucléotides , celles des introns est de 760, 1092 et 582 nucléotides (Figure9) (66).

Le premier exon est non codant, le deuxième exon code pour un peptide signal (18 acides aminés), le troisième exon pour les 61 premiers acide aminés et le quatrième pour l'essentiel de la protéine mature. Les séquences similaires d'exons et d'introns entre les différents gènes des apoprotéines ainsi que les éléments répétitifs de séquences similaires suggèrent une origine commune des diverses apoprotéines.(67)

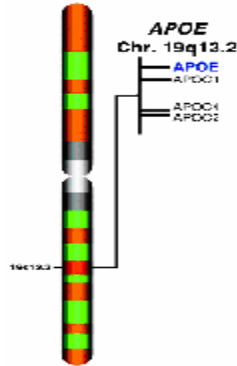


Figure 8. Localisation cytogénétique du gène de l'apo E sur le chromosome 19 (68)

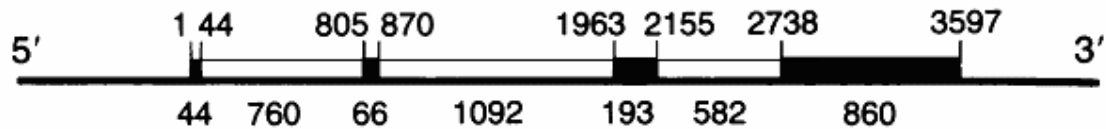


Figure 9. Positions exons-introns dans le gène d'apo E. (66)

■ Exons □ Introns

2-2- Modifications post-traductionnelles de l' Apo E

La protéine Apo E précurseur synthétisée à partir de la traduction d'ARNm qui l'encode, subit des modifications post-traductionnelles :

Les 18 acides aminés composant le peptide signal de l'Apo E sont clivés par une peptidase pendant sa translocation à travers la membrane du réticulum endoplasmique (69);ensuite le reste de la protéine intracellulaire subit des O-glycosilations accompagnée de sialylation ayant lieu à un seul site correspondant à la Thr en position 194 de la chaîne protéique (70). La protéine plasmatique mature (299 acides aminés, PM : 34200Da) est sécrétée au milieu extracellulaire où 90% de la protéine est désialylé (64).

3- Protéine Apo E :

3-1-Structure de l'Apo E

La structure primaire de l'Apo E a été déterminée par le séquençage direct des aminoacides de la protéine des VLDL humaines (71), ensuite elle a été confirmée par le séquençage de l'ADN_c de l'ARN_m de l'Apo E (72). L'Apo E donne deux domaines structuraux fonctionnels, qui peuvent être séparés par clivage à la thrombine (73), elle est composée de trois parties (Figure10) :

- La partie N-terminale (1-191) (22 kDa) (74) : est déterminée grâce à l'étude de la structure cristalline par diffraction aux rayons X de l'Apo E , il a été démontré que cette partie est organisée en quatre hélices α -amphiphiles arrangées de façon antiparallèle (75). Cette partie comprend un domaine (142-147) riche en acides aminés basiques (lysine et arginine) représentant un site de fixation à l'héparine (76) et essentiellement un segment de liaison avec le récepteur LDL (77), une large région de l'hélice 4 (136-150) constituée de résidus basiques dont les charges positives (+) vont interagir avec les charges négatives (-) des récepteurs LDL (75,78). Les cotés hydrophobes des chaînes sont contenues à l'intérieur du paquet, leurs résidus hydrophobes contribuent probablement à la stabilité de la structure tridimensionnelle de la molécule (79). De plus l'arrangement des leucines répétées dans la chaîne forme la structure "leucine zipper like" stabilisant les interfaces entre les hélices 1 et 4 et entre les hélices 2 et 3 (80).
- La partie C-terminale (216-299) (10kDa) contient trois hélices constituées respectivement des acides aminés (203-223) , (225-266) et (268-289) (81). Suivant diverses études (80) cette dernière, joue un rôle majeur dans le transport des lipides, grâce au site de liaison aux lipides (244-272) (77) ainsi que dans la tetramérisation de l'Apo E. plus précisément, le fragment (263-286) semble jouer un rôle crucial dans la liaison aux lipides en particulier l'association de l'Apo E aux VLDL (82)
- La partie (192-215) située entre ces deux domaines fonctionnels est une région de structure non ordonnée, sensible au clivage protéasique, elle contient l'unique site potentiel d'attache glycanique localisé sur la thréonine en position 194 (70). En terme fonction et propriétés physiologiques de l'Apo E, ce phénomène est encore mal compris (64).

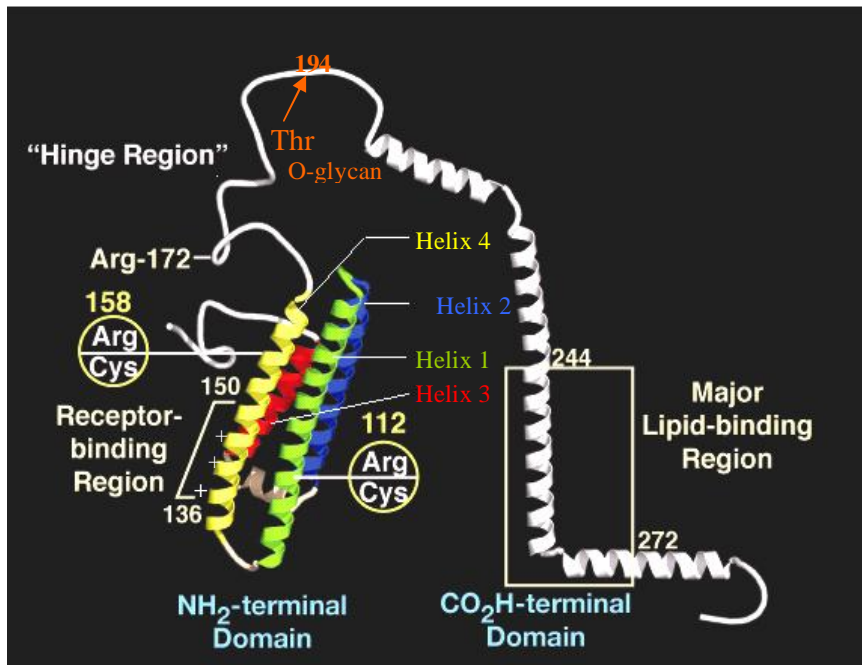


Figure 10: Structure des différents domaines de l'Apo E (83)

3-2- Isoformes de l'Apo E

De part leur composition en acides aminés, les isoformes de l'Apo E présentent des substitutions aux positions 112 et 158 qui induisent des changements de point isoélectrique (Apo E2 pI=5,5; Apo E3 pI=5,4; Apo E4 pI=5,3) (77) ; ce qui rend possible leur détection par électrophorèse.

Il existe dans l'isoforme E4, une liaison Arg 112- Glu 109 qui induit une structure favorisant également la liaison de l'Arg 61 du domaine N-terminal en tant que charge positive interagissant avec le Glu 255 de charge négative du segment C-terminal. Cette liaison a un rôle primordial dans la formation d'une hélice de structure tridimensionnelle de l'Apo E4. Cette propriété particulière lui confère la préférence pour former des complexes VLDL (84).

Le changement de l' Arg 112 dans l'Apo E4, pour une Cys dans l'Apo E3 entraîne une variation de la liaison intramoléculaire avec l'acide aminé Glu situé en position 109 ; la liaison 112-109 Glu ne s'effectuera pas, par conséquent l'Arg 61 sera positionné différemment sans interagir avec le résidu Glu 255. Ce mécanisme semble unique à l'homme (77) car toutes les autres espèces excepte le lapin et le boeuf (Cys112) ont

une Arg en position 112 et 158 de l'Apo E, comparable à l'Apo E4 humaine, mais n'ont pas d'Arg en position 61 (84). Ces exceptions structurales dans les isoformes humaines leur confèrent des propriétés particulières.

La présence des cystéines en position 112 et 158 dans l'Apo E2 permet la formation de dimères et de multimères. La seule cystéine 112 de l'Apo E3 autorise la formation de dimères. L'absence de cystéine aux positions, 112 et 158 remplacées par des arginines dans l'Apo E4 impose la présence de cette isoforme sous forme monomérique (77). Ces modifications fines intramoléculaires faisant différer les trois isoformes d'Apo E pourraient être à l'origine d'interactions spécifiques au sein des lipoprotéines (85). En effet, il a été montré par ultracentrifugation que l'Apo E3 a une préférence pour former des complexes de type HDL, de même que l'Apo E2; tandis que l'Apo E4 forme plutôt des VLDL (85) et elle est principalement retrouvée au niveau des lipoprotéines riches en Apo B.

Il a été également prouvé que la modification de l'acide aminé en 112, qui est extérieur à la zone de liaison aux récepteurs, doit influencer la conformation de cette région de façon à entraîner des changements de charges intervenant effectivement dans l'interaction avec les récepteurs LDL; en effet les VLDL porteuses d'Apo E4 ont une affinité accrue pour les récepteurs-LDL sur les cellules hépatiques (86), cependant, l'Apo E2 est moins affine pour ce récepteur que E3 ou E4 ce qui influence leur métabolisme faisant que les VLDL et les remnants porteurs d'Apo E4 sont métabolisés chez l'humain plus rapidement que les porteurs d'Apo E2, par rapport aux lipoprotéines associées à l'Apo E3 (87)

3-3- Rôle de l'Apo E :

En plus des fonctions communes attribuées aux apolipoprotéines (maintien de l'édifice lipoprotéique et ligand promoteur de reconnaissance), l'Apo E est une composante majeure prenant part au processus général d'homéostasie du cholestérol. Elle possède la fonction de distribution des lipides entre les cellules d'un même tissu et celle de redistribution des lipides depuis leur lieu de synthèse jusqu'à leur lieu d'utilisation, stockage ou excrétion.

L'Apo E intervient activement dans le phénomène de transport à rebours du cholestérol vers le foie (88) en entrant dans la constitution de 1 à 2 % des HDL (77). elle représente un ligand spécifique du récepteur de l'Apo E exclusivement

hépatique ,qui interagit avec les lipoprotéines contenant l'Apo E en vue de leur catabolisme. Ceci concerne en particulier les lipoprotéines riches en TG et en cholestérol et qualifiées de résidus de chylomicrons (61) d'origine intestinale et de VLDL (77) qui se composent de 10 à 20 % d'Apo E. Le site responsable de la liaison de l'Apo E avec ses récepteurs spécifiques a également la propriété d'assurer la liaison des lipoprotéines à l'héparine ou d'autre protéoglycannes. Ce processus pourrait être impliqué dans la liaison lipoprotéines-endothélium vasculaire lors du phénomène d'athérogénèse.

Son rôle dans le métabolisme lipidique faisait l'objet de travaux de plusieurs groupes (Robert Mahley et de Richard Havel, à San Francisco celui de Bryan Brewer à Bethesda, ceux de James Shepherd et Christopher Packard, à Glasgow, ainsi que ceux de Jean-Charles Fruchart, à Lille) effectués sur des humains ainsi que des modèles animaux déficients en Apo E ou présentant la forme défective (89), et qui ont révélé la capacité qu'avait l'Apo E de diriger la destinée métabolique des lipoprotéines.

De nombreuses études chez l'homme et les animaux transgéniques ,ont révélé que l'Apo E pourrait avoir certaines fonctions associées également à l'homéostasie des TG; en montrant que des taux élevés d'Apo E inhibent la lipolyse des lipoprotéines riches en TG, principales effectrices dans l'hyperglycémie (89,90) . L'hyperexpression de l'Apo E stimule la production des TG associés aux VLDL hépatiques in vivo (91,92) et probablement en initiant l'accumulation et/ou la sécrétion des lipoprotéines contenant l'Apo B sur les cultures cellulaires in vitro. Au contraire, la carence de l'Apo E diminue la sécrétion de TG associés aux VLDL(93,94) ce qui lui donnerait une valeur considérable dans les applications de thérapie génique en corrigeant les désordres génétiques codant pour les remnants impliqués dans les sévères hyperglycémies.

Dans les tissus , ce sont essentiellement les monocytes différenciés en macrophages qui secrètent l'Apo E. cette sécrétion est associée à l'expression du récepteur scavenger de type A (SR-A) et elle est modulée par des facteurs positifs (stérols) ou négatifs (cytokines) (61). L'Apo E ainsi secrétée permet l'immobilisation des lipides in situ ainsi que leur internalisation dans les macrophages où ils sont stockés avant d'être relargués vers les autres cellules ; dans ces dernières le cholestérol peut être

utilisé pour la réparation des membranes ou lors de la prolifération cellulaire. Il est à noter que l'Apo E contribuant dans la formation des remnants est générée majoritairement par le foie et non des macrophages. Celle-ci permet l'épuration des lipoprotéines du transport reverse de cholestérol dont certaines contenant l'Apo A_I tandis que d'autres en sont dépourvus. Le cholestérol ainsi transporté des tissus périphériques vers le foie est excrété dans la bile à travers le récepteur scavenger de type B1 (SR-B1) ou LRP (LDL-receptor related protein) (61).

En fait, l'Apo E a un effet bénéfique contre l'athérosclérose :

- Anti-athérosclérotique d'une part, par son rôle requis dans le métabolisme des remnants lipoprotéiques au niveau du foie (95) et d'autre part par sa capacité d'inhiber la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses (CML) (ce qui n'est pas nécessairement partagé par l'apo E des remnants).
- Antiprolifératif des lymphocytes et anti-inflammatoire, par inhibition de la régulation plaquettaire et la production d'oxyde nitrique par les plaquettes et a un effet antioxydant pour la peroxydation lipidique (oxyde nitrique NO) (figure 11).

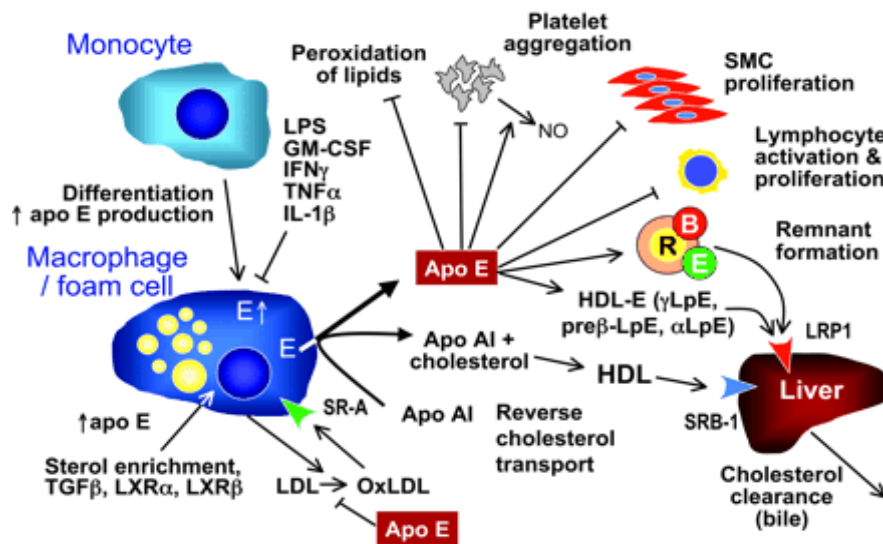


Figure 11: Les effets antiathérogènes de l'Apo E secrétés par les macrophages (61)

L'Apo E joue un rôle clairement établi dans le turn over lipidique, mais il est probable qu'elle joue d'autres rôles notamment au niveau du système nerveux. L'intervention de l'Apo E dans la régénération du système nerveux ne semble pas limitée à son rôle de transporteur du cholestérol; l'Apo E peut également jouer un rôle

dans la croissance neuritique, la toxicité neuronale ou la stabilisation du cytosquelette neuronal (77).

Plusieurs fonctions peuvent être également décrites pour l'Apo E, cette molécule polymorphe et pléiotrope a permis d'apprécier l'effet modulateur puissant d'un gène sur l'expression non seulement de l'athérosclérose mais aussi dans la maladie d'Alzheimer ainsi que d'autres pathologies moins fréquentes telles que la dysbétalipoprotéïnémie (type III), la glomérulopathie lipoprotéinique et des dyslipidémies associées à diverses mutations du gène qui l'encode (61).

3-4- Biosynthèse et distribution tissulaire de l'Apo E :

L'Apo E est synthétisée par de nombreux tissus. Elle est produite en majeure partie par le foie, qui est à l'origine des 2/3, voire des 3/4 de l'Apo E plasmatique (96) soit 60 à 80% de la production totale de cette molécule dans l'organisme (97).

Le second site de sa synthèse est le cerveau (environ 1/3 de l'Apo E du foie) (96). Sa synthèse a été démontrée dans les astrocytes(88), et peut être effectuée dans les oligodendrocytes, la microglie, elle est aussi présente dans le liquide céphalo-rachidien (77).

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. (98)

3-5- Récepteurs de l'Apo E :

Grâce aux différents récepteurs, les complexes Apo E / lipides sont internalisés par les cellules. L'Apo E est un ligand pour tous les récepteurs de la famille du récepteur LDL, possédant tous une homologie structurale. L'Apo E possède 25 fois plus d'affinité pour le récepteur LDL que l'Apo B (la principale apolipoprotéine des LDL), d'où le nom de récepteur Apo B/E.(tableau 6)

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

Tableau 6 : les principaux récepteurs de l'apoE dans les différents tissus (77,61, 22)

Non	Famille	Principaux Tissu (Localisation)
LDLR	Récepteurs des LDL	foie,muscle,cerveau (Astrocytes,oligodendrocytes, microglie), cellules endothéliales de capillaire cérébral et cœur
LRP	Récepteurs des LDL	foie, cerveau et poumon
VLDLR	Récepteurs des LDL	muscle, cœur, tissu adipeux Neurones et microglie. Cellules pyramidales de l'hippocampe et du cortex. Cellules granulaires du gyrus dentelé et les macrophages.
ER-2 apoE receptor maintenant renommé LRP8	Récepteurs des LDL	cerveau, placenta
Isoformes de ER-2 LRP8	Récepteurs des LDL	Plaquettes et endothélium
le récepteur gp330/Mégaline		Rein et neurones
récepteur scavenger	Récepteurs Scavenger	Cellules microgliales
Mégaline	Récepteurs des LDL	Rein, intestin et placenta
LRP9	Récepteurs des LDL	Foie, rein et poumon

4- Polymorphisme de l'Apo E et athérosclérose:

Le gène Apo ϵ 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(99). Les allèles de l'Apo ϵ 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.(100). 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 (101) (Figure 12).

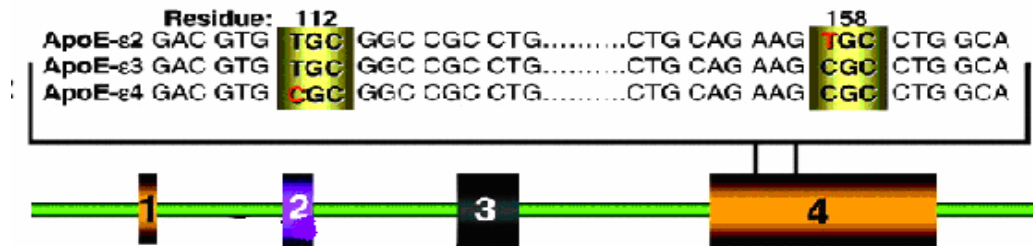


Figure 12 : Les mutations du gène de l'Apo E aux positions 112 et 158 (68)

L'allèle $\epsilon 4$ codant E4(Arg112-Arg158) est considéré comme l'allèle ancestral; l'allèle $\epsilon 3$ codant E3(Cys112 -Arg158), le plus fréquent, et l'allèle $\epsilon 2$ codant E2(Cys112- Cys158),habituellement le plus rare,en sont dérivés au cours de l'évolution (102). Les forces sélectives qui maintiennent ce polymorphisme ne sont pas encore connues (61). Les différentes expressions phénotypiques du gène de l'Apo E dans les populations ,a facilité son utilisation comme marqueur génétique (103)car ce polymorphisme génétique prend place dans la partie codante du gène et modifie ainsi la fonction de la protéine produite (61). Comme cette dernière joue un rôle primordial dans le métabolisme des lipides et que la variation génétique au sein de l'Apo E influence les concentrations de cholestérol sanguin et de lipoprotéines,le gène de l'Apo E est donc considéré comme un gène capable d'influencer autant les niveaux que la variation d'un paramètre(level and variability gene)(104).

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 $\epsilon 3/\epsilon 3$ (61).

En plus de ces trois isoformes, divers variants génétiques ont été mis à jour avec ou sans modification de la charge électrique comme l'Apo E5 ayant subi l'insertion de 24 pb résultant de la duplication en tandem de résidus 135-142 (105), l'Apo E1 et E7 (106,107) 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 (61)

4-1-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 (2,108) et de Zannis et Breslow (109) 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 (110).

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) (111). Si les individus sont porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ (E4/E4,E4/E3), les caractéristiques sont alors à l'inverse des individus porteurs de l'allèle $\epsilon 2$. Le nombre de récepteurs B/E se trouve ainsi diminué, d'où des niveaux plus élevés de cholestérol et LDL par rapport à ceux portant l'allèle $\epsilon 3$ (E3/E3). (112).

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^{ième} 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 ε 4 et de diminution de l'allèle ε 2 (61)

4-2-Relation polymorphisme de l'Apo E et facteurs de risques:

Plusieurs études ont démontré l'effet du polymorphisme de l'Apo E sur l'interaction entre les différents facteurs de risque ainsi que sur l'interaction existant entre les facteurs génétique et environnementaux (113). En effet, de même lorsqu'il a été démontré que le phénotype E2/E2, conférait une prédisposition génétique, la présence d'autres facteurs causant une hyperlipidémie (régime alimentaire, obésité, hypothyroïdie, déficience en oestrogènes tabagisme..) était nécessaire pour que la maladie se révèle (114).

Le travail de Minnesota et Reilly en 1992, réalisé sur les caucasiens de Rochester a montré l'influence du polymorphisme de l'Apo E sur les relations entre le poids et les niveaux de certains lipides plasmatiques (cholestérol, TG et HDL-C). Ceci était différent entre les deux sexes : chez la femme le polymorphisme de l'Apo E influençait cette relation par contre chez l'homme, le polymorphisme de l'Apo E n'exerçait aucune influence entre le poids et les niveaux de lipides et de lipoprotéines. Dans une autre étude menée par Tikkanen 1990 ainsi que Miettinen, il a été démontré que la réponse du cholestérol plasmatique à un changement diététique était modulée par le polymorphisme de l'Apo E en réponse à une diminution du cholestérol à la consommation alimentaire. Les individus porteurs de l'allèle ε4 présentaient une réduction plus élevée de cholestérol total que les individus porteurs des autres génotypes (115).

Dans une étude chez des sujets âgés, l'usage du tabac abolit complètement l'effet modulateur de l'Apo E sur l'athérosclérose périphérique et sur le diabète (116). Dans le diabète de type 1, les porteurs de l'allèle ε2 ont un risque trois fois plus élevé de développer une néphropathie diabétique que les non porteurs (117). Ceci est peut être relié à la glycation des protéines dans le diabète. La glycation de l'Apo E est allèles-spécifique, l'Apo E2 ayant le plus haut taux de glycation suivie par

E4 et E3; de plus la glycation altère la capacité de l'Apo E de lier l'héparine, ce qui pourrait influencer les interactions entre les lipoprotéines et les cellules par le truchement de l'héparane sulfate protéoglycane et favoriser la dyslipidémie (61).

Les génotypes de l'apoE varient en ce qui concerne leur association aux maladies cardiovasculaires et dyslipidémies (tableau 7)

Tableau 7: Associations des différents génotypes aux MCV (118)

Génotype	Caractéristiques
Apo e2/e2	Homozygote : grande association à l'hyperlipoproteinemies de Type III.
Apo e3/e3	Homozygote: le génotype le plus commun (normal).
Apo e4/e4	homozygote: associé à une élévation du taux de cholestérol plasmatique pouvant contribuer dans le développement de maladies cardiovasculaires et la maladie d'Alzheimer .
Apo e2/e3	Hétérozygote, quelques associations aux hyperlipoproteinemies de type III chez les patients hétérozygote pour hypercholestérolémie familiale
Apo e2/e4	Hétérozygote, quelques associations aux hyperlipoproteinemies de type III chez les patients hétérozygote pour hypercholestérolémie familiale
Apo e3/e4	Hétérozygote, quelques associations à une élévation du taux de cholestérol plasmatique pouvant contribuer dans le développement de maladies coronariennes.

Patients et méthodes

L'étude que nous avons entreprise est transversale de type cas témoins; elle a duré neuf mois et porté sur deux types de populations : Une population témoins et une population de malades.

Recrutement des individus :

-Les malades : il s'agit de sujets des deux sexes atteints de maladie cardiovasculaire, infarctus du myocarde (IDM) admis au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine (CHUC) essentiellement aux services de cardiologie et de la réanimation médicale durant les neuf mois .

-Les témoins : population générale de référence, sujets sains des deux sexes (présumés en bonne santé) habitants à Constantine présentant les différentes tranches d'âges.

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

Critères d'inclusion :

- Pour les témoins : Sujets des deux sexes résidants à Constantine et âgés de 20 à plus de 80 ans.
- Pour les malades : tout malade ayant été admis au niveau des services de cardiologie ou de réanimation et ayant présentant un IDM diagnostiqué par des médecins spécialistes.

Critères d'exclusion :

- Sujets refusant de faire de prélèvement.

Pour les témoins :

- Les sujets ayant des antécédents vasculaires personnels et familiaux (HTA, infarctus du myocarde, accidents vasculaires cérébraux, artériopathies des membres inférieurs).
- Sujets ayant une pathologie entraînant une augmentation des fractions lipidiques (hyperuricémie,Diabète)
- Sujets sous traitement médical, femmes enceintes ou encore celles prenant des oestoprogestatifs au moment de l'enquête.

1- Prélèvement sanguin :

Le prélèvement est effectué, systématiquement à chaque hospitalisation d'un patient pour cause d'IDM.

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction de l'ADN est recueilli stérilement dans un tube en présence d'EDTA en quantité de 6 à 10 ml (On ne prélève pas sur héparine car c'est un inhibiteur de la Taq polymérase). Il est essentiel de connaître la triglycéridémie et la répartition du cholestérol dans les fractions lipoprotéiques. Pour obtenir ces données de façon standardisée, un jeun de 12 heures est nécessaire. Les prélèvements faits plus de 2 heures après le déjeuner diminuent la sensibilité des valeurs calculées du LDL-C.

Avant le prélèvement, il est demandé au sujet de se placer en position semi assise pendant quelques minutes, de façon à limiter les effets hémodynamiques sur les taux de lipides; la position debout augmente la valeur de la cholestérolémie, tout comme une occlusion veineuse prolongée avec un garrot.

2- Questionnaire et Enregistrements:

2-1-Questionnaire

Un recueil de données a été effectué au niveau du service d'hospitalisation concerné : En plus du dossier médical du malade un interrogatoire du patient est mené par nous même. (Annexe 2)

2-2-Enregistrement :

Tous les prélèvements recrutés sont étiquetés soigneusement , portant le nom et prénom du sujet associés à la numérotation 1,2,3,4,... Sur chaque questionnaire ,sont mentionnés le numéro de dossier et le lieu de prélèvement (s'il s'agit d'un malade) ainsi que le numéro d'enregistrement de chaque sujet correspondant à celui sur notre registre.

3-Méthodes de dosage des paramètres lipidiques :

Le sang ainsi prélevé est acheminé directement au laboratoire pour l'analyser

- Le cholestérol, les triglycérides et le HDL-C ont été dosés le jour même du prélèvement

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

3-1-Séparation du sérum :

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

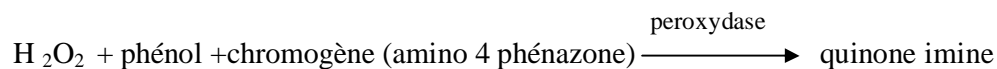
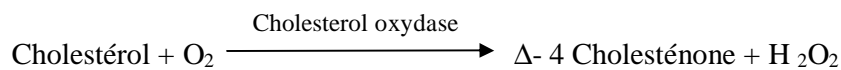
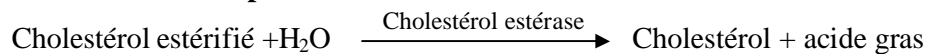
3-2- Manipulation sur le sérum

3-2-1-Dosage du cholestérol total :

Le cholestérol peut être dosé par de très nombreuses méthodes, dont les plus anciennes sont colorimétrique alors que celles pratiquées actuellement sont enzymatiques (119)

Dans notre étude, le cholestérol a été déterminé suivant une méthode enzymatique (réaction de Trinder) par un auto analyseur de type (Technicon RA et Opera systems N° de ref.T01-2801-56) en utilisant les coefficients de Boehring Mannheim

- Principe :



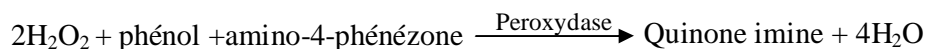
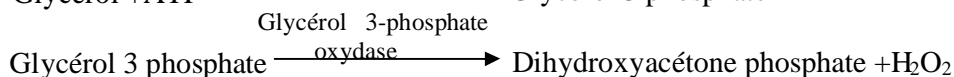
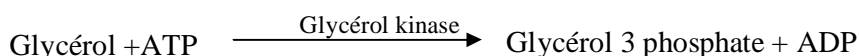
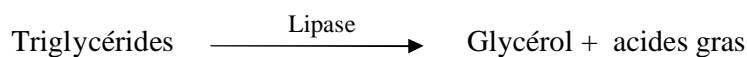
L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon du sérum.

3-2-2- Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides a été effectué par le même auto analyseur (Technicon RA et Opera systems N° de ref.T01-2801-56) suivant une méthode colorimétrique enzymatique des triglycérides.

-Principe :

Repose sur le dosage enzymatique du glycérol libéré après action de la lipase.



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.

3-2-3- Dosage du cholestérol HDL :

-Principe :

Le dosage du HDL cholestérol s'effectue après précipitation grâce au réactif phosphotungstique associé au chlorure de magnésium (ref .T01-2801-56 , 6x5 ml) qui consiste à précipiter les LDL et les VLDL. Le HDL cholestérol est alors dosé dans le surnageant résultant de la centrifugation du précipité par la même technique enzymatique que le cholestérol total (119) .

3-2-4- Évaluation du cholestérol des LDL :

La formule de Friedewald (1972) permet de calculer le LDL -C à condition que les TG soient inférieurs à 3,5 g/l (4 mmol/l).

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

3-3-Essai de standardisation des techniques

3-3-1-Contrôle de qualité

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

3-3-2- Répétabilité

Il a été réalisé un pool à partir des sérums et ainsi que le cholestérol et les triglycérides de la journée même ont été dosés (30 fois), le cholestérol HDL (15 fois) le jour même (tableau 8).

Tableau 8 : Tableau exprimant les résultats du contrôle de qualité préalablement réalisé

Répétabilité				Reproductibilité			
Paramètre	N	X S	CV%	Paramètre	N	X S	CV%
Cholesterol	3	1,85 ± 0,08	4,3	Cholestérol	30	2,29 ± 0,11	4,8
Triglycerides	30	1,08 ± 0,05	4,6	Triglycérides	30	1,48 ± 0,08	5,4
HDL	15	0,41 ± 0,01	2,4	HDL	30	0,45 ± 0,02	4,4

3-3-3-Reproductibilité

Elle a été réalisée grâce à deux sérums de contrôle, l'un normale et l'autre pathologique pour chaque série d'analyse. Les contrôles sont préparés chaque jour et dosés soit au début, soit à la fin de la série.

4- Manipulation sur le sang total

4-1- Extraction de l'ADN

Toutes les études génétiques nécessitent la disposition d'échantillons d'acide nucléique, les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN, les autres sources cellulaires peuvent être des biopsies (biopsie de villosités chorales ...).

Dans la grande majorité des cas la technique d'extraction des acides nucléiques doit être adaptée à l'échantillon, à la nature du génome, au nombre de copies et de méthode de biologie moléculaire utilisée ultérieurement (PCR) ...

Les méthodes d'extraction des acides nucléiques sont diverses(120).

Celle employée dans notre étude est une méthode utilisant un solvant inorganique, NaCl.

- Principe :

L'extraction de l'ADN consiste en l'isolement de leucocytes du sang total par une lyse hypotonique des globules rouges ; ils seront ensuite traités par un détergent (SDS) et une protéinase K.

Dans le lysat, l'ADN nucléaire ainsi libéré est associé aux différentes protéines qui seront digérées et éliminées par précipitation au NaCl. Le surnageant ainsi récupéré est traité par de l'éthanol dans lequel une pelote de l'ADN se forme par précipitation.

L'ADN est solubilisé en phase aqueuse (Tris EDTA 10 :1). Sa pureté ainsi que sa concentration sont estimées par spectrophotométrie à UV.(Annexe3)

4-2-Détermination de la pureté et la concentration de l'ADN :

4-2-1-Détermination de la pureté :

- Principe :

- L'ADN absorbe à 260 nm alors que les protéines (témoins de contamination) absorbent à 280 nm.

- L'échantillon est dilué au 1/100 dans l'eau distillée (10 µl de l'ADN solubilisé dans 990 µL de l'eau stérile).

- Les DO sont lues à 260 et 280 nm (longueurs d 'onde d'absorption des acides nucléiques et des protéines) dans le même type de cuve que celle ayant servi à faire le zéro (eau stérile).

- Par le moyen du rapport de DO 260 nm / DO 280nm, la pureté de l 'ADN est déterminée en indiquant la contamination de l'ADN par les protéines ou par les ARN.

On considère que

- L'ADN est suffisamment pur lorsque le rapport $R = DO_{260} / DO_{280}$ est compris entre 1.6 et 2 ($1.6 < R \leq 2$).
- L'ADN est contaminé par les protéines si : $DO_{260} / DO_{280} < 1.6$.
- L'ADN est contaminé par les ARN si : $DO_{260} / DO_{280} > 2$.

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisées par la suite. Dans le cas où l'ADN est contaminé, ce dernier ne laisserait pas aboutir à un bon résultat dans les étapes suivantes de son analyse par PCR. Il est donc indispensable de procéder par la réextraction de la pelote de l'ADN afin d'obtenir la pureté souhaitée (Annexe3) .Les ADN purs sont conservés à + 4°C jusqu'à utilisation.

4-2-2-Détermination de la concentration de l 'ADN :

-Principe

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

$$\mathbf{1 \text{ unité de } DO_{260} \text{ nm} = 50 \text{ } \mu\text{g/ ml d'ADN double brin.}}$$

Exemple :

Pour un ADN solubilisé dans 1000 µl de TE 10 :1 ayant une $DO_{260} \text{ nm} = 0.139$

$$1 \text{ unité de } DO_{260} \text{ nm} \longrightarrow 50 \text{ } \mu\text{g/ ml d'ADN}$$

$$0.139 \text{ de } DO_{260} \text{ nm} \longrightarrow X$$

$$X = 0.139 \times 50 = 6.95 \text{ } \mu\text{g/ ml}$$

Considérant que l'ADN est dilué à 1/100 ,donc $6.95 \times 100 = 695 \text{ } \mu\text{g/ ml}$.

Donc :

La concentration de l'ADN en µg /ml = facteur de dilution x DO 260 x 50 µg / ml.

La qualité de l'ADN peut être vérifiée par un contrôle de taille des molécules d'ADN qui doivent être suffisamment longues pour être digérés. L'ADN génomique doit donc être manipulé en évitant toute action mécanique violente.

5- 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.

5-1-La PCR (Polymérase Chaîne Réaction) :

La PCR est une technique de biologie moléculaire (121) mise au point en 1985 par Kary Mullis et développée par Henri A. Herlich et ses collaborateurs de la compagnie CETUS (Californie, USA).

5-1-1-Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR :

Pour préparer le milieu réactionnel (Annexe 4) , multiplier 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'Apo E (Annexe 4, Tableau 7) .

5-1-2- Déroulement des cycles de la PCR :

Chaque cycle de la PCR repose sur trois étapes indispensables : Dénaturation, hybridation et élongation (Annexe 4 : Tableau 10)

5-1-3-Contrôle des produits de la PCR

Le Contrôle de La taille des fragments amplifiés s'effectue par une électrophorèse sur un gel d'agarose à 1.5 % additionné de 10 μ l de BET (Bromure d'éthidium) et coulé sur plaque du cuve horizontale.

Dans chaque puits du gel, il est déposé :

- 15 μ l de produit d'amplification + 2 μ l BBP (Bleu de Bromophénol).
- 3 μ l de marqueur de taille (PM 100pb LADDER,ref.018209) +10 μ l H₂O +2 μ l BBP

Les dépôts se font du côté cathode (-) . Le système soumis à une migration sous un courant de 90 à 120 volts pendant 1 h .

Cette analyse permet aussi ,d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN est survenue au cours de la PCR.

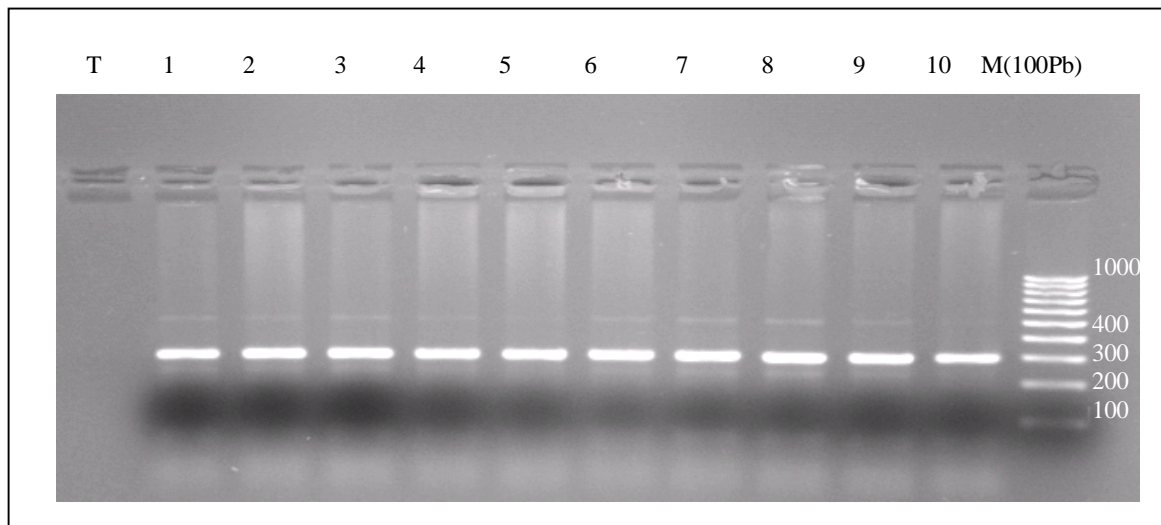


Figure 13: Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% des fragments amplifiés (292pb) par PCR du gène Apo E

5-2-Digestion des produits de PCR

Préparer le milieu de digestion de l'enzyme HhaI pour le nombre de tubes voulu + 1 témoin (Annexe 5: Tableau 10).

Les produits de la PCR sont soumis à une digestion enzymatique par HhaI. Ils sont incubés pendant une nuit dans un bain marie à 37°C.

Après incubation ils sont concentrés au speed -vac (System ISS 40-SAranta).

5-2-1-Condition de migration :

5-2-1-1- Préparation d'un gel d'acrylamide 10% (Annexe 5 Tableau 11):

Après préparation de persulfate d'ammonium 10% (0.01g dans 100 µl H₂O).

Monter le support du gel : maintenir deux plaques de verre bien serrées verticalement et séparées par un joint de 2 mm d'épaisseur et placer de chaque côté des pinces fixatrices.

L'addition de persulfate d'ammonium et de Temed (agents polymérisants),juste avant de couler le gel (risque de polymérisation dans le b cher).

Homogénéiser,couler immédiatement en versant le contenu de b cher entre les plaques de verre par une seringue en ayant soin de ne pas faire de bulles .

Placer le peigne plat afin de former les puits et laisser polymériser   température ambiante pendant 1h 30 min à 2 heures.

5-2-1-2- Dépôts des échantillons :

Quand le gel est polymérisé, plonger le système (gel + électrodes) dans la cuve verticale contenant un volume (450ml) du tampon Tris Borate EDTA (TBE 1X) Oter le peigne et déposer délicatement au fond de chaque puits un échantillon ou marqueur (Annexe 5).

5-2-1-3- Migration :

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

5-2-1-4- Coloration :

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

- Glisser délicatement le gel de façon horizontale dans le bac pendant 10 à 15 min .
- Décolorer le gel, en l’immergeant dans un bac contenant du TBE 1X de 10 à15 min.
- Visualiser le gel aux UV et prendre une photo.

5-2-1-5- 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.

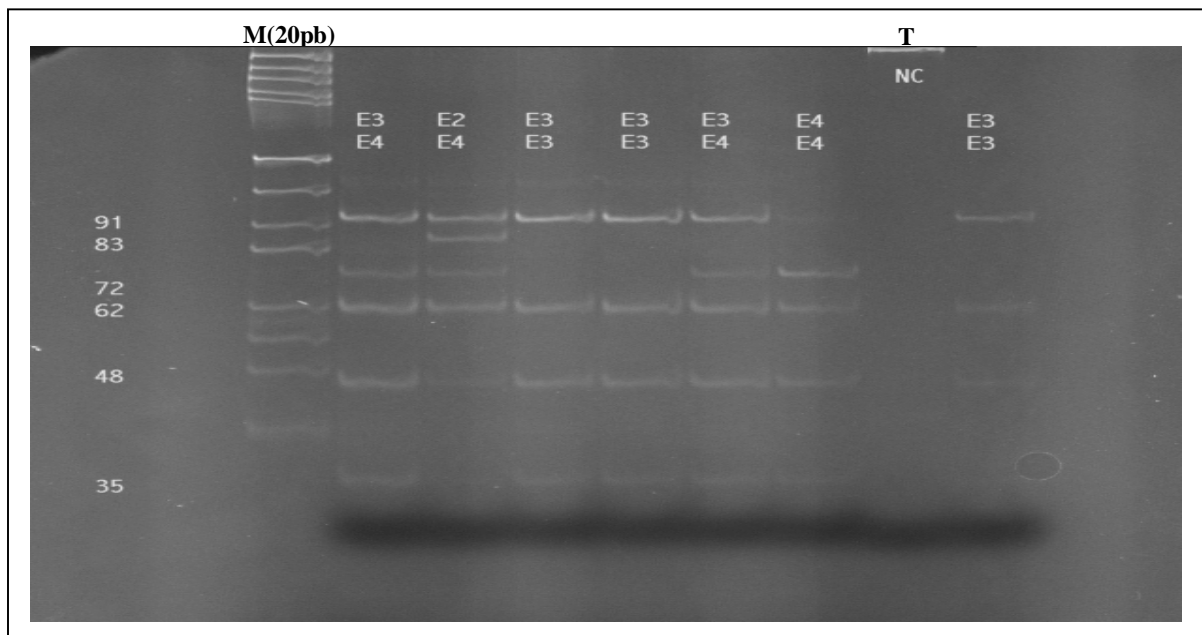


Figure 14 : Profil d’électrophorèse sur gel d’acrylamide des fragments issus par clivage de HhaI présentant différents génotypes d’Apo E

5-2-2-6-Digestion par l'enzyme de restriction HhaI :

L'HhaI est une enzyme de restriction produite par *Haemophilus haemolyticus*. Elle reconnaît et clive la séquence $\text{GCG} \downarrow \text{C}$ codant pour les Arginines en position 112 et 158 (isoformes E3 et E4) quant aux séquences $\text{G} \downarrow \text{TGC}$ 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).

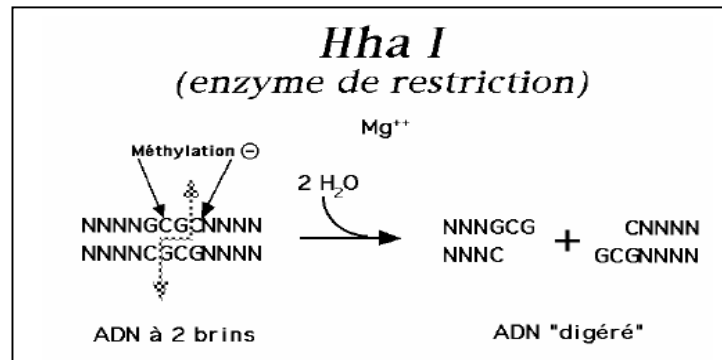


Figure 15 : site de restriction par l'enzyme HhaI

5-2-2- Profils RFLP obtenus

Chacune des isoformes de l'Apo E se distingue par une combinaison unique de polymorphisme des longueurs de fragments de restriction (RFLP) issus par clivage de HhaI et possédant différentes tailles (Figure 16, tableau 12) .

Chaque allèle a un site de coupure spécifique. L'allèle ϵ_2 (Cys112,Cys158) est caractérisé par l'absence de codon CGC de l'arginine 158,par conséquent la coupure donne un fragment de 83 pb spécifique de cet allèle et un fragment 91 pb encadrant le site 112.

L'allèle ϵ_4 (Arg112,Arg158), se distingue par la présence du codon CGC en position 158 ,par conséquent ,l'enzyme agit à ce niveau et libere deux segments d'ADN 48 et 35 pb ,un fragment 72 pb issu de clivage au position 112.

L'allèle ϵ_3 (Cys112,Arg158), c'est l'allèle commun,se caractérise d'une part par la présence du fragment 91pb due à l'absence du codon CGC au position 112 retrouvé dans l'allèle ϵ_2 et d'autre part par la présence des fragments 48 et 35 sont retrouvés également dans l'allèle ϵ_4 .

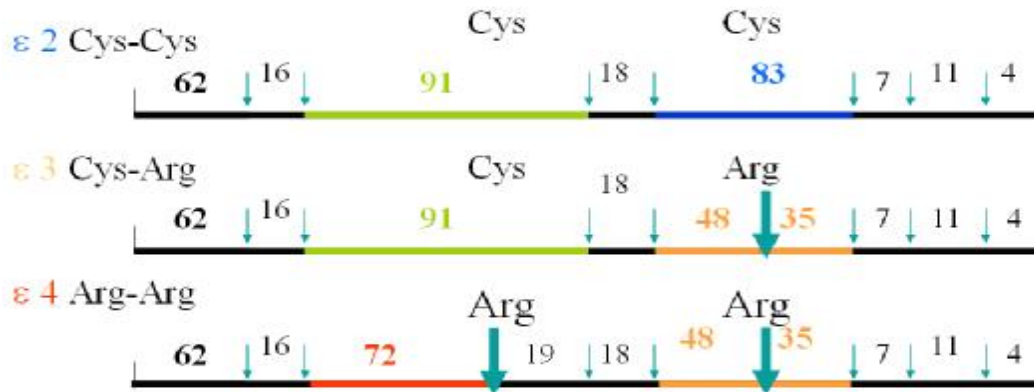


Figure 16 : Digestion par Hha I des trois allèles.

Tableau 12 : Tailles des fragments de restriction en paire de base (Pb) correspondant aux six génotypes possibles

e3/e3	e3/e4	e3/e2	e4/e4	e4/e2	e2/e2
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	

NB :

Les petits fragments de 35 pb sont très difficiles à visualiser sur le gel sous UV. Quant à ceux de 19,18,16,11,7 et 4 pb, ils sont élués dans le tampon lors de la migration électrophorétique.

6-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 que différents tests ont été utilisés dans cette étude.

6-1-Statistique descriptive :

Dans cette étude descriptive nous avons utilisé:

- Le calcul de la moyenne arithmétique , l'écart type et les percentiles (5^{ième} ,25^{ième} ,50^{ième} ,75^{ième} et 95^{ième}).

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

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

- Le coefficient de corrélation pour la relation entre deux variables et la droite de régression . En déduisant une équation d'estimation qui décrit la nature fonctionnelle de la relation entre les variables.

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

n_a et n_b sont les tailles de deux échantillons

ε = écart réduit

$e = \frac{(\bar{X}_a - \bar{X}_b)}{\sqrt{\frac{s_a^2}{n_a} + \frac{s_b^2}{n_b}}}$
--

$\frac{s_a^2}{n_a}$ et $\frac{s_b^2}{n_b}$ variances de la moyenne dans le groupe A et B

La valeur ε calculée est comparée à la valeur lue dans la table de l'écart réduit.

Si $\varepsilon < 1.96$, la différence n'est pas significative au seuil de 5% et on ne peut rejeter l'hypothèse nulle d'absence de différence entre X_a et X_b (où p_1 et p_2 pour des proportions).

Si $\varepsilon \geq 1.96$ la différence est significative au risque $\alpha = 0.05$, on peut conclure que X_1 (ou p_1) est statistiquement différent de X_2 (où p_2).

Tests de comparaison de variances :

L'égalité des variances est la condition de base pour les tests de comparaisons de moyennes . c'est le test de L'ANOVA.

Nous avons utilisé donc L'ANOVA en cas de distribution normale . Dans le cas ou les variances différent , objectivées grâce au test d'homogénéité des variances de Bartlett , nous avons utilisé le test non paramétrique de Mann-Whitney .

6-2-L'enquête analytique :

Dans l'enquête analytique: pour étudier la relation entre un facteur d'exposition et la maladie, et en plus des tests déjà cités nous avons :

- Comparé la moyenne de la variable mesurant l'exposition chez les malades et les non malades.
- Nous avons créé des classes et utilisé des méthodes qualitatives. Ces méthodes permettent de décrire la relation entre le facteur d'exposition et la maladie de manière plus concrète et permet l'utilisation de méthodes statistiques plus simples (123). Le test utilisé dans ces conditions est le χ^2 .

6-3-Calcul de l'odds ratio :

Pour calculer l'odds ratio nous avons établi un tableau de contingence :

Il est présenté sous forme de tableau croisé 2x2. Le statut malade/non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne.

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

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

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

Cependant on peut calculer :

- La cote d'être exposé (Exposure Odds ;EO) pour les cas EO malades = a/c
pour les témoins EO témoins = b/d
- Le rapport des cotes d'exposition qui est l'Odds ratio (Exposure Odds ratio)

OR = $a*d / b*c$

L'Odds ratio représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population (prévalence <5%). Dans ce cas l'Odds ratio peut être une bonne approximation du risque relatif que donnerait une enquête de cohorte pour la population.

Pour déterminer s'il existe une stabilité épidémiologique, on a utilisé trois tests statistiques, en cherchant à tester l'hypothèse nulle H_0 selon laquelle il n'y aurait pas

d'association entre la maladie et le facteur de risque l'hypothèse nulle et formulé d'une seule manière qui est (Ho: OR=1).

On a utilisé la méthode de Mantelet Haenszel pour calculer un Odds lié à un facteur en ajustant simultanément sur plusieurs autres :

Trois valeurs de χ^2 sont données : les valeurs de p sont données pour un degré de liberté.

- Le test du χ^2 sans correction :

$$N = [(a*d) - (b*c)]^2 / [(a+b)*(c+d)*(a+c)*(b+d)]$$

- Le test du χ^2 de Mantel- Haenszel :

$$N = (N-1) [(a*d)-(b*c)]^2 / [(a+b)*(c+d)*(a+c)*(b+d)]$$

- La correction de Yates :

$$N = [I(a*d.)-(b*c)I - 0.5*N]^2 / [(a+b)*(c+d)*(a+c)*(b+d)]$$

Le test de Fisher est calculé pour le tableau ,et les résultats des deux tests unilatéral et bilatéral sont donnés dans les cas où une case du tableau est inférieure à 5.

6-4-Les intervalles de confiance:

Les intervalles de confiance : ont été calculés par la méthode de Cornfield . L'approche estimative de l'analyse statistique vise à quantifier l'effet étudié et le degré de certitude de cette estimation grâce à un intervalle de confiance , qui identifie généralement une fourchette de valeurs situées de part et d'autre de l'estimation et l'on peut être sûr à 95% de trouver la valeur réelle .

La notion d' un intervalle de confiance repose sur l'idée suivante : Si la même étude était réalisée sur un échantillon différent de patients , les résultats ne seraient pas identiques, mais seraient proches du résultat véritable qui reste inconnu .l'intervalle de confiance estime cette variation due à l'échantillon (124)

L'intervalle de confiance pour les Odds ratio ont été calculés à partir de l'approximation de Fleiss.

6-5-Choix de la "p value ":

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

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

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

1- Répartition des sujets selon l'age et le sexe

1-1- Les sujets témoins

Les sujets témoins sont au nombre de 457 répartis entre:

- 216 du sexe masculin soit 47.26%.
- 241 du sexe féminin soit 52.74%.

Ils sont classés en tranches d'âge de 10 ans sauf pour les plus de 60 ans qui sont classés en une seule tranche. (Tableau13, Figure17)

Tableau 13: représente la répartition des sujets de référence selon l'age et le sexe.

Age	Hommes		Femmes		Total	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
20-29	22	10,18	62	25,72	84	18,38
30-39	31	14,35	47	19,5	78	17,06
40-49	41	18,98	68	28,21	109	23,85
50-59	51	23,61	27	11,2	78	17,06
≥60	71	32,87	37	15,35	108	23,63
Total	216	100	241	100	457	100

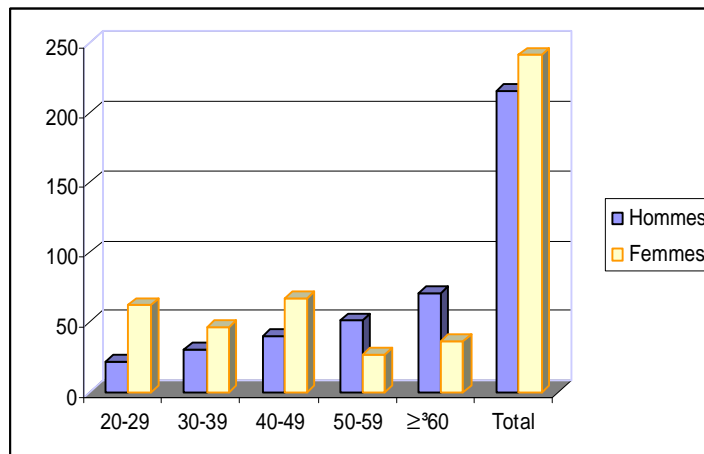


Figure 17 : Répartition de la population de référence selon l'age et le sexe

1-2- Les sujets malades :

Les sujets présentant un IDM sont au nombre de 218 répartis entre :

- 162 de sexe masculin soit 74.31%.
- 56 de sexe féminin soit 25.69 %.

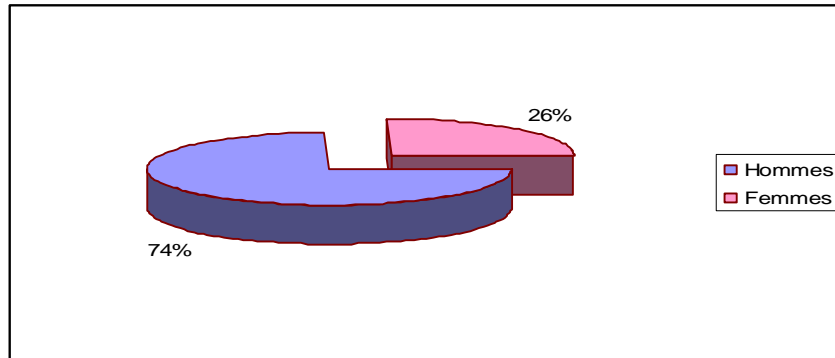


Figure 18: la répartition des sujets présentant un IDM selon le sexe

La répartition des malades présentant un IDM est représentée sur le tableau 14 et les figures 18,19 :

Tableau 14: Répartition des sujets présentant un IDM selon l'age et le sexe

Age	Hommes		Femmes		Total	
	N	(%)	N	(%)	Nombre	(%)
20-29	3	1,85	0	0	3	1,37
30-39	8	4,93	1	1,78	9	4,12
40-49	31	19,13	4	7,14	35	16,05
50-59	49	30,24	12	21,4	61	27,98
>60	71	43,82	39	69,6	110	50,45
Total	162	100	56	100	218	100

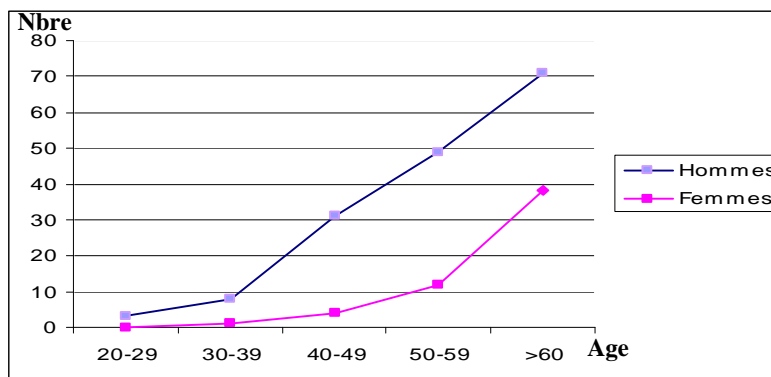


Figure 19 : Répartition des IDM selon l'age et le sexe

Pour ce qui est de la répartition selon l'age et le sexe de l'infarctus du myocarde, les figures 18 et 19 montrent que les hommes sont plus atteints que les femmes, nous n'avons pas trouvé de cas d' IDM durant notre étude chez les femmes dans la tranche 20-30 ans et un seul cas dans la tranche 30-40 ans.

Le tableau 18 montrent une augmentation de l'atteinte avec l'age chez les deux sexes. Cette maladie est fortement corrélée aux deux premiers facteurs de risque, le sexe masculin et l'âge.

On remarque chez les hommes que l'augmentation est accentuée entre la deuxième et la troisième tranche d'âge tandis qu'une augmentation plus importante dans la dernière tranche d'age. Chez les femmes, l'apparition de cette maladie augmente rapidement après 50 ans mais reste moins importante que chez les hommes.

De nombreuses études ont montré que ces pathologies augmentent avec l'âge (125).

2- Etude des paramètres lipidiques dans la population de référence:

2-1-Le cholestérol :

L'évolution des moyennes et des percentiles selon l'age montre une élévation modérée de la cholestérolémie dans les deux sexes.

Tableau 15 : Moyennes, écart type et distribution des percentiles du cholestérol selon l'age et le sexe.

<i>CHOL</i>	Femmes					Hommes				
	Moy.± S	25	50	75	95	Moy.± S	25	50	75	95
20-29	1,69 ± 0,32	1,48	1,67	1,9	2,3	1,45 ± 0,36	1,28	1,39	1,81	2,2
30-39	1,73 ± 0,31	1,48	1,7	1,92	2,35	1,72 ± 0,28	1,52	1,65	1,98	2,28
40-49	1,84 ± 0,31	1,6	1,78	2,04	2,4	1,80 ± 0,32	1,57	1,8	2,13	2,4
50-59	1,84 ± 0,32	1,58	1,8	2,11	2,51	1,81 ± 0,36	1,5	1,82	2,07	2,55
>60	1,79 ± 0,44	1,54	1,76	2,06	2,96	1,78 ± 0,43	1,6	1,76	2,2	2,8
Total	1,78 ± 0,37	1,5	1,75	1,96	2,52	1,76 ± 0,35	1,54	1,72	2,2	2,5

Moy: moyenne, S:écart type.

Pour l'ensemble de la population des témoins, la moyenne est de 1.77 ± 0.36 , la cholestérolémie augmente du 25^{ème} au 95^{ème} percentile respectivement de 1.52 à 2.52 g/l (Tableau 15).

Cette moyenne est plus basse que celle trouvée par Ghannem et col.(126) en Tunisie dans une population du sahel (1.88 g/l) et plus élevée que celle trouvée par une autre équipe de Tunisie du Cap-Bon (127) qui retrouve un taux de 1.74 g/l.

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 âgés de 20 à 50 ans. 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 (Tableau 15). La concentration plasmatique varie beaucoup d'une population à l'autre. Une augmentation importante est observée avec l'âge entre 20 et 50 ans dans les pays occidentaux. Cette augmentation existe aussi dans notre population (24) mais elle est plus réduite. Elle est absente dans des pays Africains comme la nouvelle Guinée et chez les Masais (128).

2-2- Les triglycérides:

L'évolution des moyennes et des percentiles selon l'âge montre une élévation modérée de la triglycéridémie dans les deux sexes.

Tableau 16 : Moyennes, écart type et distribution des percentiles (25^{ème}, 50^{ème}, 75^{ème} et 95^{ème}) des TG selon l'âge et le sexe.

TG	Femmes					Hommes				
	Moy.± S	25	50	75	95	Moy.± S	25	50	75	95
age										
20-29	1,08 ± 1,4	0,63	0,76	1,1	2,5	0,98 ± 0,45	0,62	0,86	1,42	1,7
30-39	1,16 ± 0,69	0,63	0,99	1,55	2,7	1,22 ± 0,47	0,77	1,17	1,59	2,1
40-49	1,21 ± 1,2	0,78	1,15	1,55	2,9	1,26 ± 0,41	0,98	1,22	1,47	2,5
50-59	1,26 ± 0,6	0,82	1,16	1,64	2,4	1,29 ± 0,6	0,82	1,05	1,8	2,6
>60	1,15 ± 0,51	0,79	1,06	1,48	3	1,16 ± 0,54	0,97	1,15	1,37	2,4
Total	1,18 ± 0,60	0,86	1,09	1,45	3,5	1,21 ± 1,01	0,86	1,05	1,45	4

Moy: moyenne, S:écart type.

Pour l'ensemble de la population des témoins, la moyenne est de 1.19 ± 0.80 , augmente du 25^{ème} au 95^{ème} percentile respectivement de 0.86 à 3.75 g/l.

On remarque qu'il existe une augmentation de la concentration très importante entre le centile 75 et 95 dans les deux dernières tranches d'âge de façon parallèle et dans les deux sexes (Tableau 16).

L'augmentation du 95^{ième} percentile est retrouvée aussi à Framingham avec un taux de 3.5g/l pour la tranche d'âge 50-59 ans et 2.81 g/l pour la tranche 60-69 ans, ainsi qu'à Honolulu où le taux au 95^{ième} percentile pour la tranche 50-59 ans atteint 4.5g/l (129).

2-3- Le cholestérol -HDL

-Evolution des moyennes et des percentiles selon l'age et le sexe:

Tableau 17 : Moyennes, écart type et distribution des percentiles (25^{ième}, 50^{ième}, 75^{ième} et

C-HDL	Femmes	Hommes								
		25	50	75	95					
age	Moy.± S	25	50	75	95	Moy.± S	25	50	75	95
20-29	0.51 ± 0.08	0,45	0,5	0,58	0,62	0.44± 0.08	0,37	0,46	0,49	0,54
30-39	0.49 ± 0.11	0,45	0,52	0,57	0,66	0.40 ± 0.11	0,34	0,38	0,57	0,6
40-49	0.47± 0.08	0,4	0,48	0,53	0,63	0.41± 0.12	0,31	0,45	0,47	0,5
50-59	0.47 ± 0.11	0,37	0,48	0,54	0,67	0.45± 0.16	0,32	0,45	0,49	0,48
>60	0.45 ± 0.09	0,38	0,46	0,55	0,61	0.42± 0.10	0,31	0,42	0,48	0,45
Total	0.48 ± 0.09	0,45	0,5	0,58	0,62	0.42± 0.10	0,37	0,46	0,49	0,54

Moy: moyenne, S:écart type.

Le tableau 17 montre une diminution modérée selon l'âge dans le même sexe, mais une différence importante selon le sexe, la population féminine présente des valeurs moyennes plus élevées que chez les hommes, et cela à tous les âges.

La comparaison avec les résultats de la LRC (Lipids Research Clinics) Américaines (130), montre chez les femmes une plus grande différence entre les deux populations, américaines et algérienne soit une différence totale de 10.7%. (24) 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. Chez les hommes la différence existe mais elle est moindre.

En reprenant comme exemple l'étude de Knuiman et col. (131) Sur les treize pays, comparant la cholestérolémie et le cholestérol HDL de diverses populations et en incorporant la notre nous retrouvons sur le tableau 18 :

Tableau 18 : Comparaison des valeurs de CH et HDL-C entre Constantine et les autres pays

	Gh	CI	Nig.	Sur	Pak.	Ph	EF	WF	Hun	Ita	NT	Pol.	Por.	Esp.	Cne	Cne
CH	1.58	1.58	1.18	2.05	1.83	1.85	2.45	2.34	2.03	2.01	2.20	1.91	2.03	2.08	1.76	1.77
C-HDL	0.47	0.45	0.32	0.41	0.28	0.39	0.54	0.53	0.55	0.46	0.44	0.46	0.52	0.46	0.42	0.45

Gh :Ghana, CI :cote d'ivoire, Nig :Nigeria, Sur :Surinam, Pak :Pakistan, Ph :Philippine, EF :Est Finlande, WF : West Finlande, Hun :Hongrie, Ita :Italie, NT : Pays bas, Pol :Pologne, Por :Portugal, Esp :Espagne, Cne :Constantine(1) et (2)

Plusieurs autres causes de variations de cholestérol HDL entre populations peuvent exister (132).

- Les triglycérides sont corrélés négativement au cholestérol HDL , nous trouvons une corrélation significative dans notre étude ($r = - 0.28$).
- Le tabac abaisse le cholestérol HDL.
- L'alcool augmente le cholestérol HDL. L'élévation porte principalement sur la sous fraction HDL₃, Il est impossible d'affirmer la corrélation négative entre maladies cardio-vasculaires et consommation d'alcool, d'autant plus que la sous fraction HDL₃ n'entraîne pas de protection selon les études épidémiologiques. Mais d'autres auteurs pensent qu'elle touche également la sous fraction HDL₂ et qu'il est protecteur. Ce qui pourrait expliquer ce qu'on appelle actuellement aux Etats Unis le «French Paradoxe » et qui consiste à dire que les français sont plus protégés que les américains en ce qui concerne les maladies cardio-vasculaires. A moins que cette protection est due aux substances phénoliques que contient le vin rouge et qui inhibent l'oxydation des LDL humaines par le cuivre (133) ou qui stimulent la sécrétion de l'apoA-I par les hépatocytes humaines (134). Ceci reste à prouver vu qu'il existe plusieurs contradictions quand à la consommation d'alcool et que notre population qui consomme beaucoup moins d'alcool paraît mieux protégée que la population Française.
- Les graisses polyinsaturées ont tendance à abaisser les HDL . Cette diminution est mise en évidence uniquement lorsque l'apport d 'acides gras polyinsaturés est quatre fois plus élevés que l'apport en acides gras saturés ce qui est difficile à obtenir en réalité (132).Par contre les acides gras monoinsaturés ne diminuent pas les HDL.

- Le sport augmente le cholestérol HDL et surtout le cholestérol HDL2 (135). Cette augmentation est plus importante si l'effort est plus soutenu (sport de compétition, marathon etc.)
- Les oestrogènes naturels ou non, augmentent l'HDL cholestérol. Les progestatifs ont un effet inverse, mais moins marqués si bien que l'association oestroprogestative donnée à titre contraceptif augmente les HDL et surtout les HDL2. Notre étude trouve une discrète augmentation mais qui n'est pas significative.

2-4- Le cholestérol –LDL

Tableau 19 : Moyennes,écart type et distribution des percentiles (25^{ème},50^{ème},75^{ème} et 95^{ème}) du cholestérol -LDL selon l'age et le sexe.

<i>C-LDL</i>	Femmes					Hommes				
	Moy.± S	25	50	75	95	Moy.± S	25	50	75	95
age										
20-29	0,94 ± 0,24	0,78	0,92	0,98	1,8	1,07 ± 0,26	0,91	1,01	1,2	1,7
30-39	1,08 ± 0,28	0,88	1,09	1,23	1,8	1,11 ± 0,23	0,94	1,04	1,24	1,6
40-49	1,18 ± 0,30	0,3	1,00	1,34	1,8	1,2 ± 0,4	1,01	1,2	1,5	1,8
50-59	1,16 ± 0,32	0,94	1,09	1,38	1,9	1,2 ± 0,36	1,03	1,2	1,5	1,6
>60	1,4 ± 0,36	0,91	1,09	1,32	1,8	1,1 ± 0,45	1,01	1,06	1,4	1,8
Total	1,15 ± 0,29	0,95	1,10	1,4	1,72	1,13 ± 0,30	0,97	1,26	1,49	1,8

Moy: moyenne, S:écart type.

Il n'y a pas de différences significatives de l'évolution des moyennes du cholestérol -LDL entre les deux sexes. La concentration du cholestérol –LDL s'élève avec l'age en particulier chez les femmes (Tableau 19).

Les valeurs du cholestérol LDL sont le miroir du cholestérol total. L'étude de Kannel et coll. (136) retrouve une différence de moyenne de plus de 0.16g/l chez les femmes âgées par rapport aux hommes.

Cette différence entre femmes et hommes âgés de 50 ans et plus et ceux âgés de moins de 50 ans est égale 0.07g/l, la moitié environ, est retrouvée dans l'étude réalisée sur la population constantinoise par Abadi et al (24)

Pekkanen et coll.(137) trouve que le LDL cholestérol est associé avec l'augmentation de la mortalité coronarienne dans les deux sexes.

3 – Paramètres lipidiques et IDM :

3-1- Le cholestérol

Le tableau (20) montre la différence des moyennes du cholestérol entre l’IDM et la population témoin au niveau de toutes les tranches d’âge et cela dans les deux sexes séparément.

Tableau 20 : Comparaison des Moyennes du cholestérol dans l'IDM et chez les témoins selon l'âge et le sexe.

CHOL	Hommes		Femmes		
	Age	Témoins	IDM	Témoins	IDM
20-29	1,45 ± 0,36	1,96 ± 0,34*	1,69 ± 0,32	/	/
30-39	1,72 ± 0,28	2,02 ± 0,37**	1,73 ± 0,31	/	/
40-49	1,80 ± 0,32	2,05 ± 0,51**	1,84 ± 0,39	2,02 ± 0,20*	
50-59	1,81 ± 0,36	2,02 ± 0,44**	1,84 ± 0,31	1,94 ± 0,31*	
>60	1,78 ± 0,43	1,90 ± 0,43	1,79 ± 0,44	1,98 ± 0,40*	

* p< 0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

On remarque qu'il y a dans tous les cas des différences significatives entre les deux populations et dans toutes les tranches d'âges.

Il existe une différence significative chez les hommes (p<0.05) dans la première tranche d'âge et une différence plus significative (p<0.01) dans les trois classes 30-39, 40-49 et 50-59 tandis que chez les femmes la différence est moins significative (p<0.05) et cela à partir de 40 ans.

L'augmentation de la cholestérolémie suivant l'âge chez les malades n'est pas retrouvée comme chez les témoins, ainsi elle varie entre 1.9 et 2.05 g/l indépendamment de la tranche d'âge.

Cette étude trouve dans les IDM une cholestérolémie augmentée significativement par rapport à la population témoin. Cela dans tous les âges et dans les deux sexes. Ceci concorde avec toutes les études épidémiologiques effectuées.

L'étude qui a retrouvé une différence la plus significative entre le cholestérol et les manifestations coronariennes est celle de Framingham (138).

Plus de 40 études épidémiologiques prospectives et rétrospectives dans différentes parties du monde ont montré la liaison du cholestérol total et des maladies ischémiques (136,137,139,140).

Pour le Multiple Risk Factor Intervention Trial (141), la mortalité coronarienne était augmentée de 30 à 70% chez les patients ayant un taux de cholestérol compris entre

1.80g/l et 2.20g/l en comparaison avec les sujets ayant un taux inférieur à 1.80g/l. Ce qui veut dire que même si le cholestérol est dans les limites normales le fait d'augmenter peut commencer à favoriser le développement de l'athérosclérose (141).

Plusieurs études ont trouvé une forte association entre le cholestérol et les maladies coronariennes chez les sujets âgés, mais le risque est plus faible chez les jeunes hommes (142,143).

3-2- Les triglycérides :

La comparaison entre malades et témoins est représentée sur le tableau 21 qui montre après appariement avec l'âge et le sexe qu'il existe des différences significatives ($p < 0.001$) et cela dans toutes les tranches d'âge et dans les deux sexes.

Tableau 21: Comparaison des Moyennes des TG dans l'IDM et chez les témoins selon l'âge et le sexe.

TG	Hommes		Femmes	
	Témoins	IDM	Témoins	IDM
20-29	0,98 ± 0,45	1,25 ± 0,88*	1,08 ± 1,4	/
30-39	1,28 ± 0,47	1,38 ± 0,95*	1,16 ± 0,64	/
40-49	1,26 ± 0,41	0,74 ± 0,99*	1,21 ± 1,2	2,26 ± 1,26**
50-59	1,29 ± 0,6	1,54 ± 0,9*	1,26 ± 0,6	1,51 ± 0,35*
>60	1,16 ± 0,56	1,45 ± 0,54***	1,15 ± 0,53	1,59 ± 0,62 ***

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Cependant l'étude effectuée à Constantine (24) montre une différence moins importante chez les sujets masculins âgés de plus de 60 ans tandis que chez les femmes cette différence est toujours maintenue.

On note également des différences moins significatives ($p < 0.05$) chez les hommes jusqu'à 59 ans tandis que chez les femmes cela n'apparaît que dans la classe 50-59 ans (Tableau 21).

Aberg et coll. (144) retrouvent une association des triglycérides avec l'infarctus du myocarde. La plupart des études retrouvent une augmentation significative des taux de TG chez les coronariens même si on ne retrouve pas des triglycérides dans la plaque d'athérosclérose, l'augmentation des triglycérides peut jouer un rôle indirect dans sa constitution. Des preuves d'une relation indépendante entre triglycérides et maladie coronariennes sont apparues dans de récentes études épidémiologiques (145,146).

L'étude réalisée à Constantine a montré en analyse univariée une liaison significative à partir du 50^{ième} percentile pour les cardiopathies ischémiques et que ce risque persiste après appariement sur les autres facteurs de risque (en analyse multivariée) uniquement au 95^{ième} percentile (24).

Différents mécanismes sont proposés pour expliquer le rôle possible des triglycérides dans les maladies cardio-vasculaires :

1. Mécanismes en relation avec les autres fractions lipidiques :

- Avec les HDL :

Le métabolisme des VLDL est relié à celui des HDL par deux mécanismes :

Le transfert d'une quantité de phospholipides des VLDL sur les HDL ce qui aboutit à la formation de HDL₂ et à une augmentation du cholestérol HDL

Le deuxième se fait grâce à la CETP, il existe un transfert de cholestérol et de triglycérides entre les HDL et les VLDL. Lorsque ce transfert devient important, les HDL seraient enrichies en triglycérides et les VLDL en cholestérol ce qui les transforment en IDL puis en LDL particules athérogènes.

Il existe une relation fréquente entre les triglycérides et le cholestérol HDL. Ceci peut impliquer que les triglycérides jouent un rôle dans le métabolisme des HDL. L'hypertriglycéridémie entraîne une diminution du cholestérol HDL (147) probablement par l'échange des esters de cholestérol des HDL contre les triglycérides VLDL ce qui diminue la concentration du cholestérol HDL et l'enrichissement en triglycérides (145).

C'est probablement par cette relation inverse avec le cholestérol HDL que les triglycérides jouent le rôle principal dans l'athérosclérose.

Des auteurs (148) pensent que c'est seulement certaines classes de lipoprotéines riches en triglycérides qui sont athérogènes. Ces lipoprotéines proviennent soit de l'intestin (chylomicrons) soit du foie (VLDL), soit correspondent à des particules nouvellement sécrétés ou partiellement dégradées appelées remnants. Les

triglycérides de ces lipoprotéines subissent une lipolyse et s'enrichissent en esters de cholestérol.

Selon Brukert (149) trois facteurs sont susceptibles d'affecter l'athérogénicité des particules porteuses de triglycérides.

- La taille : Les lipoprotéines de petite taille s'infiltrent plus rapidement dans la paroi artérielle que les grandes particules et devraient ainsi être plus athérogènes.
- Leur contenu en esters de cholestérol qui amène plus de cholestérol dans la paroi artérielle
- Leur composition en apolipoprotéine, la présence d'apoE sur les lipoprotéines riches en triglycérides pourrait faciliter leur fixation sur les récepteurs des lipoprotéines existant à la surface des macrophages favorisant ainsi la formation de cellules spumeuses.

Une étude prospective d'observation (PROCAM) apporte des preuves étayant l'augmentation du risque de maladies cardio-vasculaires chez les individus ayant des taux élevés de cholestérol LDL et bas de cholestérol HDL et une hypertriglycémie (145).

- Avec les LDL :

Les triglycérides peuvent induire une hétérogénéité (polydispersion) de la fraction LDL. Cela concerne les LDL petites et denses.

Les LDL sont en effet hétérogènes sur le plan de leur composition chimique, de leur taille de leur charge électrique etc..

Cette hétérogénéité est plus nette dans les types III et IV de la classification de Frederickson ainsi que l'existence de LDL de plus petites taille et plus denses (par comparaison avec les sujets normaux et hypercholestérolémiques). Le lien entre cette hétérogénéité et l'athérosclérose a été montré par l'étude (150).

L'équipe de Maninnen (151) a montré une relation significative entre augmentation de la triglycémie et les maladies coronariennes surtout si elle est accompagnée d'une augmentation du rapport Cholestérol -LDL / cholestérol -HDL.

Selon Bruckert (152) les liens existant entre LDL et triglycérides sont résumés en quatre points:

- * Les VLDL des sujets hypertriglycéridémiques sont enrichies en triglycérides, et de plus grande taille
- * Ces VLDL s'enrichissent en ester de cholestérol plus efficacement que des VLDL normales avec parallèlement un enrichissement des LDL en triglycérides.
- * Ces VLDL sont moins facilement transformée en LDL et subissent un catabolisme direct
- * Les LDL produits sont anormales, enrichies en triglycérides .Leur catabolisme est ralenti en raison d'une affinité moindre pour le récepteur.

- Théorie post prandial de l'athérosclérose :

Pour Zilversmit (153), l'athérogenèse est le résultat d'une accumulation de fragments de cholestérol qui proviennent de la dégradation des chylomicrons et pré β par la lipoprotéine lipase au niveau de l'endothélium vasculaire. Ainsi les remnants de chylomicrons d'origine intestinale serait aussi athérogènes que les LDL

De même qu'on a montré, (152) que les cellules musculaires lisses de la paroi artérielle, captaient et incorporaient plus avidement les IDL de type III que les LDL et que chez les patients diabétiques le contenu des xanthomes éruptifs était fait d'une substance provenant des chylomicrons .

2. Mécanisme en relation avec la coagulation :

De récentes données établissent une relation entre les taux de triglycérides et les altérations du système de coagulation, ainsi que des données cliniques sont en faveur d'un rôle pathogène des triglycérides dans les troubles de l'hémostase tant au niveau veineux qu'au niveau artériel (144,154).

L'augmentation des triglycérides est associée avec celle de plusieurs facteurs de la coagulation. Bruckert et coll. (155) retrouvent une corrélation constante entre la

triglycéridémie et le facteur VII dans une population dyslipidémique, accompagné d'une activation des complexes phospholipidiques de ce même facteur .

Il existe aussi une augmentation du facteur VIII et de l'activité coagulante du facteur X(145).

Le système fibrinolytique responsable de la dissolution des caillots est aussi concerné. Ainsi il existe une altération de la fibrinolyse par augmentation de l'inhibiteur 1 de l'activateur du plasminogène (145) et diminution de l'activateur tissulaire du plasminogène. Ces modifications peuvent être athérogènes.

De même que l'association élevée entre hypertriglycéridémie et thrombose à été signalé par De Gennes et Bruckert (155) au niveau des membres inférieurs, mais le mécanisme reste inconnu.

3. Autres mécanismes :

- L'augmentation des triglycérides peut s'accompagner d'une augmentation des particules VLDL , ces particules sont enrichies en apoE et peuvent être athérogènes par le fait de leur captation par les macrophages pour former des cellules spumeuses.(155)
- Cette augmentation peut provoquer une compétition entre les VLDL et les lipoprotéines post prandiales pour la lipoprotéine lipase. L'hydrolyse des chylomicrons est retardé chez ces patients ce qui aboutit à une épuration retardée des lipoprotéines post prandiales. Si comme le supposent certains auteurs (145) ces dernières sont athérogènes l'augmentation des triglycérides VLDL pourrait accroître le risque de maladies cardio-vasculaires en interférant avec le catabolisme des lipoprotéines post prandiales.
- En plus du cholestérol HDL et LDL l'hypertriglycéridémie est associée à plusieurs facteurs de risque, comme l'HTA, la sédentarité, la consommation de cigarettes etc..

- Enfin l'hypertriglycéridémie pourrait accélérer la clairance de l'apoA1 en la soutirant des particules HDL, ce qui diminuerait la concentration du cholestérol HDL. Un faible taux de cholestérol HDL peut freiner le transport reverse du cholestérol ce qui aboutit à sa stagnation dans la paroi cellulaire.

3-3- Le cholestérol -HDL:

On remarque une diminution globale des concentrations des HDL-C dans les deux sexes et qui varie selon la tranche d'âge.

Tableau 22 : Comparaison des Moyennes des HDL dans l'IDM et chez les témoins selon l'âge et le sexe.

HDL	Hommes		Femmes	
	Témoins	IDM	Témoins	IDM
20-29	0,44 ± 0,08	0,30 ± 0,15	0,51 ± 0,08	/
30-39	0,40 ± 0,4	0,38 ± 0,24	0,49 ± 0,11	/
40-49	0,41 ± 0,12	0,35 ± 0,10*	0,47 ± 0,9	0,36 ± 0,09**
50-59	0,45 ± 0,86	0,35 ± 0,4 *	0,47 ± 0,11	0,36 ± 0,11 **
>60	0,42 ± 0,1	0,37 ± 0,24*	0,47 ± 0,09	0,37 ± 0,09 **

* p< 0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

Le tableau 22 montre que la différence des moyennes du C-HDL est significative à tous les âges chez les femmes (p<0.01) tandis que chez les hommes la différence est moins significative (p<0.05) et est retrouvée dans les dernières classes d'âge de façon constante.

Ces variations sont identiques à l'étude effectuée à Constantine (24) avec cependant une différence significative plus importante chez les femmes et ce dans toutes les tranches d'âges.

Même si l'impact du cholestérol diminue avec l'âge, sa valeur prédictive est retrouvée lors du fractionnement en HDL et LDL

L'étude de Kannel (136) 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.

La première grande étude qui a rapporté la signification après 50 ans du cholestérol HDL est la FHS et qu'il est le facteur le plus prédictif (156).

JENKINS (157) a étudié la sévérité de l'athérosclérose coronarienne quantifiée par un score basé sur le nombre et la sévérité des lésions de 8 segments proximaux de la circulation coronarienne et a trouvé qu'il existait une relation inverse avec le cholestérol HDL.

HAMSTEN (158) a retrouvé une augmentation significative des triglycérides, apoB, VLDL, cholestérol et une diminution significative des HDL et ce dernier était plus discriminant que le LDL cholestérol.

SALONEN (159) confirme que le cholestérol HDL présente une association inverse avec le risque d' IDM.

La diminution de l'HDL est significativement associée dans la Framingham heart study (160) la Tromso heart study (161) , Oslo heart study , Prevention trial (162), lipid research Clinics prevalence Mortality Follow-up Study (159), Helsinki heart study (163) et la British Regional heart Study (BRHS) (164).

La non signification est observée dans la Minnesota Businessman Study et l'étude des Seven Countries study (159).

Les arguments expliquant le rôle protecteur des HDL sont nombreux :

1. Le transport « reverse »

L'hypothèse la plus développée est celle du « transport reverse » qui est le retour du cholestérol des tissus périphériques vers le foie et dont nous en avons parlé dans la première partie. L'importance de cet efflux est un argument en faveur du rôle des HDL dans la prévention de l'athérosclérose.

2. Arguments génétiques

D'autres auteurs préfèrent une autre méthode d'évaluation de cette relation et utilisent les anomalies génétiques : Cependant ces anomalies, rares, peuvent chez certains sujets atteints d'hypoalphalipoprotéïnémie donner une athérosclérose précoce, chez d'autres non. Parmi ces anomalies on distingue :

- Anomalies du gène de l'apolipoprotéine A_I (165) : Les sujets atteints présentent une athérosclérose précoce. On rencontre chez ces sujets une absence de l'Apo C_{III} ce qui suggère que le déficit en Apo A_I est seul responsable de l'atherogénèse.

En plus dans ces déficits, les sujets peuvent être homozygotes ou hétérozygotes et il existe plusieurs types de mutations (165) et qui ne sont pas toutes athérogènes. Il est difficile d'affirmer, comme c'est le cas dans les hypercholestérolémies familiales où la concentration élevée en LDL est responsable de l'athérosclérose, que le déficit en apoA₁ est responsable d'une athérosclérose.

- Maladie de tangier : Cette maladie entraîne une forte diminution des HDL avec hypertriglycéridémie et une diminution des LDL entraîne une athérosclérose qui apparaît tardivement (probablement protégés par le taux faible de LDL)
- Anomalies du gène de la LCAT : La LCAT a deux types d'action ; en activité alpha agissant au sein des HDL et une activité bêta LCAT au sein des VLDL et LDL.

Déficit familial en LCAT : C'est un déficit en alpha et bêta. Ces sujets présentent des HDL de petite taille soit de forme sphérique, soit apparaissant comme des disques empilés. Ces sujets ne présentent pas d'athérosclérose prématurée.

3. *Arguments en relation avec les autres lipoprotéines athérogènes :*

La relation des différentes lipoprotéines entre elles se fait grâce aux enzymes. Une activité lipase hépatique élevée est à l'origine de la formation de LDL petites et denses. La fréquence de ce type est associée à un HDL bas, et en même temps à l'apparition de l'athérosclérose. Les sujets qui ont un HDL cholestérol bas présentent d'autres anomalies athérogènes comme une augmentation des remnants de VLDL, des LDL petites et denses.

La diminution du cholestérol HDL est associée également à la diminution de l'activation de la lipoprotéine lipase et l'augmentation de la lipase hépatique.

Les HDL des sujets ayant une hypoalphalipoprotéïnémie sont de petite taille. Ces HDL sont plus efficaces en ce qui concerne l'efflux du cholestérol des cellules et sont plus facilement catabolisables que les HDL de grande taille.

4. *Autres arguments :*

Les autres arguments expliquant les mécanismes d'action du cholestérol HDL ont une liaison directe avec les phénomènes intravasculaires.

- HDL et réaction vasculaire :

L'équipe de ZEIHER (166) montre que l'élévation du cholestérol HDL lutte contre la vasoconstriction pathologique et l'épaississement de la paroi athérosclérotique. Il suggère que le cholestérol HDL exerce un effet bénéfique dans la réaction vasculaire pathologique qui représente un trouble fondamentale associé à l'athérosclérose coronarienne.

Ceci pourrait expliquer le fait que l'augmentation du cholestérol HDL améliore la paroi des vaisseaux en créant un micro-environnement, à l'intérieur des parois des vaisseaux athérosclérotiques, qui contient moins de LDL oxydés et moins de production d'anions superoxydes par les macrophages et qui provoque une diminution de l'inactivation de l'EDRF (166).

- HDL et oxydation :

L'HDL peut se comporter comme un antioxydant, ceci peut expliquer pourquoi il est associé dans les cultures cellulaires avec l'augmentation de la production de prostacycline (167) et la réduction de l'agrégabilité des plaquettes (168).

L' HDL inhibe l'oxydation du cholestérol et la formation de peroxydes lipidiques qui sont cytotoxiques sur l'endothélium et inhibe la synthèse de prostaglandines à certaines concentrations.

Les HDL pourraient être une source d'antioxydants qui seront transportés aux LDL quoique les LDL en possèdent une plus grande quantité.

Les lipides oxydés pourraient être transférés des LDL aux HDL grâce aux protéines de transfert. Les HDL oxydés ne sont pas reconnues par les récepteurs scavengers et ne forment pas de cellule spumeuse.

Les HDL possédant aussi des acides gras polyinsaturés pourrait être oxydés comme les LDL ce qui pourrait diminuer l'oxydation des LDL par compétition.

- HDL et thrombose :

L'HDL peut aussi stimuler la synthèse de prostacycline cellulaire dans l'endothélium vasculaire (166) et donc être indirectement antithrombotique.

Il active la fibrinolyse (169) et l'augmentation de sa concentration diminue la captation des LDL par les cellules endothéliales par compétition avec les récepteurs des LDL.

Il s'oppose in vitro à l'activation des plaquettes par les LDL.

- Autres mécanismes :

- ◇ Plusieurs auteurs soulignent la relation inverse entre la valeur du cholestérol HDL à jeun et la lipémie post prandiale. De ce fait la valeur du cholestérol HDL serait le témoin du bon fonctionnement de la lipolyse sous l'action de la lipoprotéine lipase (170).
- ◇ Plusieurs enzymes existent au niveau des HDL et pourront avoir un rôle très important. Ce sont la lécithine cholestérol acyl transférase dont le rôle est connu, et deux enzymes dont le rôle n'est pas encore clarifié et qui sont , la paraoxonase et le « platelet-activating factor acetylhydrolase» (PAF-AH).

La paraoxonase est une enzyme polymorphe associée à une sous population spécifique de HDL .Elle semble capable de réduire l'oxydation des LDL en diminuant la peroxydation . Elle peut réduire les effets chémotactiques des LDL oxydées sur les monocytes.

La PAF-AH est une enzyme trouvée dans les LDL et dans les HDL. Elle est capable d'hydrolyser les chaînes d'acides gras peroxydés fragmentés des phospholipides

Ceci pourrait expliquer davantage le rôle des HDL surtout chez les sujets présentant un taux d'HDL normal et qui ont des lésions athéromateuses et d'autres ayant un taux relativement bas et ne font jamais de maladies cardio-vasculaires . Ces derniers pourront avoir dans leur HDL beaucoup plus d'enzymes antioxydantes ce qui pourrait avoir une conséquence très importante sur des nouvelles approches thérapeutiques en ciblant les sous populations d'HDL possédant ces enzymes.

En plus l'équipe de Shah (171) a trouvé une relation entre la diminution du cholestérol HDL et l'augmentation du risque de resténose ce qui pourrait supposer que cette fraction lipidique joue un rôle important dans la prévention de la resténose.

3-4- Le cholestérol –LDL:

On remarque une augmentation globale de la concentration des LDL-C dans les deux sexes et dans tous les tranches d'âge.

Tableau 23 : Comparaison des Moyennes des TG dans l'IDM et chez les témoins selon l'âge et le sexe.

LDL	Hommes		Femmes	
	normale	IDM	normale	IDM
Age				
20-29	0,94 ± 0,29	1,08 ± 0,33*	1,07 ± 0,16	/
30-39	1,08 ± 0,29	1,35 ± 0,2**	1,11 ± 0,23	/
40-49	1,18 ± 0,30	1,35 ± 0,2**	1,2 ± 0,4	1,32 ± 0,4*
50-59	1,14 ± 0,32	1,32 ± 0,4*	1,2 ± 0,36	1,30 ± 0,4*
>60	1,14 ± 0,4	1,23 ± 0,4*	1,1 ± 0,45	1,21 ± 0,4*

* p< 0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

Il existe des différences significatives entre les malades et les témoins à tous les âges dans les deux sexes, mais qui sont plus importante (p<0.01) dans les classes 30-39 et 40-49 chez les hommes. Cependant l'étude de Constantine (24), a trouvé des différences plus significatives à partir de l'âge de 40 ans chez les hommes (Tableau 22).

La NCEP a désigné les LDL comme étant la lipoprotéine majeure responsable du risque et la première qui doit être diminuée lors d'un traitement (172).

Une hypercholestérolémie due à une augmentation du cholestérol LDL constitue un facteur primordial de l'insuffisance coronarienne (173).

Il existe deux types de particules LDL, celle ayant une petite taille et celle ayant une grande taille. La fréquence d'une forte proportion de LDL de petite taille, riches en protéines est nettement augmentée chez les malades coronariens et chez les survivants d' IDM (174).

Cette approche quantitative des LDL devra être évaluée dans le cadre d'études prospectives et pourrait constituer un marqueur d'avenir dans le dépistage des hyperlipidémies hétérogènes.

Les études épidémiologiques ainsi que les expérimentations animales ont montré que les LDL sont les particules athérogènes. Ce sont surtout les travaux sur les personnes

atteintes d'hypercholestérolémie familiale homozygote qui ont permis d'établir une relation causale entre les particules LDL et l'athérosclérose humaine.

L'équipe de Welty (175) à montré que la diminution de la concentration du cholestérol LDL est associée à la diminution de la concentration des facteurs de risque hémostatiques ce qui pourrait protéger des complications thrombotiques de l'athérosclérose.

4- Les facteurs de risques cardiovasculaires

Parmi les facteurs de risque nous avons pris en considération les plus connus et les plus quantifiables à savoir: le tabagisme (la prise de cigarette),l'HTA,le diabète et l'obésité.

4-1-Le tabagisme

Les malades fumant plus de 10 cigarettes/jour sont au nombre de 112 soit 51.37 % de l'ensemble des deux sexes. Les fumeurs étant surtout des hommes.(Tableau 24 , Figure 20) .

Tableau 24 : répartition des fumeurs plus de 10 cigarettes/jour dans l'IDM selon le sexe

	Non fumeur		Fumeur		Total
	N	(%)	N	(%)	
Hommes	51	31.5	111	68.5	162
Femmes	55	98.2	1	1.8	56

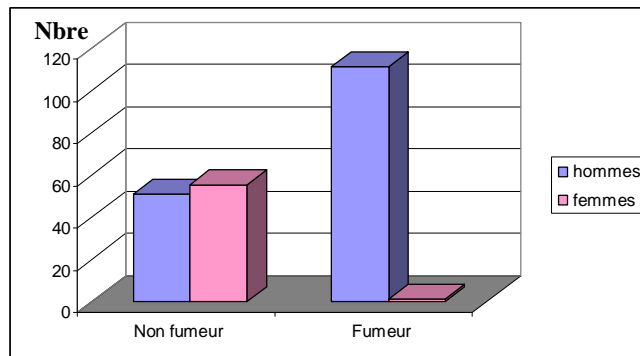


Figure 20 : Répartition des fumeurs et des non fumeurs dans l'IDM selon le sexe

L'étude de Constantine (24) concernant le tabagisme chez les hommes, trouve une prévalence de 52.1% de fumeurs, le pourcentage des fumeurs dans notre étude est plus augmenté 68.5%.

Le tabagisme est retrouvé comme facteur de risque dans la plupart des études (176) avec une augmentation de mortalité coronarienne chez les fumeurs des deux sexes (177).

Le tabac apparaît comme un facteur de risque dans l'étude de Framingham, en association avec la diminution des HDL et l'augmentation des LDL (178).

Caralis et coll. (179) trouvent une grande association entre le tabagisme chez des jeunes femmes et la fréquence du spasme coronarien.

Deux facteurs principaux interviennent, le nombre de cigarettes consommées en une journée (180) et la durée en année (181,182).

Les composés du tabac impliqués dans les effets cardio-vasculaires du tabac sont la nicotine et le monoxyde de carbone. Selon l'hypothèse d'Arstup, le monoxyde de carbone augmente la perméabilité endothéliale, ce qui entraîne un oedème de la paroi et un passage accru des macromolécules avec dépôt des particules lipidiques (182).

4-2-L'hypertension artérielle (HTA):

Parmi les 218 malades, on a trouvé 83 sujets hypertendus soit 38.07 % répartis entre 19 femmes représentant 33.92 % de la population féminine malade et 64 hommes soit 39.50 % de l'ensemble des IDM de sexe masculin (Tableau 25). On remarque que les femmes ont un pourcentage d'HTA moins élevé que les hommes cependant avant 10 ans on observait le contraire dans l'étude de Constantine(24)

Tableau 25: Répartition des malades hypertendus selon le sexe

	HTA		Normal	
	<i>N</i>	%	<i>N</i>	%
Femmes	19	33.9	37	66.1
Hommes	64	39.5	98	60.5
Total	83	38.07	135	61.92

L'HTA est un facteur de risque coronarien indiscutable. Nous la retrouvons comme un facteur de risque dans notre étude, avec cependant un risque plus élevé chez les hommes.

L'influence génétique a été rapportée dans plusieurs études. Deux études apparaissent contradictoires : La National Heart, Lung and Blood Institute (183) a étudié 514 jumeaux monozygotes des deux sexes âgés de 42 à 56 ans et a trouvé une liaison génétique. Par contre, le Kaiser-Permanente Twin Registry n'a trouvé qu'une participation génétique très minime à l'HTA chez des jumelles de 19-39 ans (183).

Ceci pourrait s'expliquer par la différence d'âge et penser que l'HTA s'exprime en fonction de l'âge et du sexe.

En plus l'HTA est souvent liée au diabète (DNID) et à une perturbation du bilan lipidique. Plusieurs études retrouvent une liaison soit avec le cholestérol, soit avec les triglycérides et le cholestérol HDL (184).

4-3- Le diabète:

Parmi les 218 malades, on a noté 97 sujets diabétiques (DNID) soit 44.49 % répartis entre 28 femmes représentant 50 % de la population féminine malade et 69 hommes soit 42.59 % de l'ensemble des IDM du sexe masculin (tableau 26).

Tableau 26: Répartition des malades diabétiques selon le sexe

	DNID		Normal	
	<i>N</i>	%	<i>N</i>	%
Femmes	28	50	28	50
Hommes	69	42.6	93	57.4
Total	97	44.5	121	55.5

La plupart des études trouvent une liaison entre cardiopathies ischémiques et diabète où le diabète est un facteur de risque dans tous les pays européens et d'Amérique du nord (185,186).

L'étude de Goldschmid et coll. (187) trouve une relation entre la mortalité par cardiopathies ischémiques chez les femmes diabétiques et le taux diminué de cholestérol HDL et VLDL cholestérol.

4-4- L'obésité :

La prévalence de l'obésité dans L'IDM est de 18.3 % elle est plus élevée chez les femmes que chez les hommes 25% pour la femme contre 16.1 % pour l'homme La prévalence du surpoids représente 33.9 % pour l'ensemble des deux sexes. Elle est légèrement plus élevée chez les femmes 35.7% que chez les hommes 33.9 %. (Tableau 27)

Tableau 27: Répartition de l'obésité et du surpoids dans l'IDM

	<25		25-29.9		≥30	
	N	%	N	%	N	%
Femmes	22	39.3	20	35.7	14	25
Hommes	82	50.6	54	33.3	26	16.1
Total	104	47.7	74	33.9	40	18.3

IMC < 25 : poids normal, 25 < IMC < 29,9 surpoids, IMC ≥ 30 obésité

Dans la population générale la prévalence de l'obésité est de 15.9 % elle est élevée chez les femmes que chez les hommes et représente presque le double 20,7% pour la femme contre 10.7 % pour l'homme La prévalence du surpoids représente 22.9 % pour l'ensemble des deux sexes. Elle est légèrement plus élevée chez les hommes 22.9% que chez les femmes 21.1% . (tableau 28,figure 21) .

Tableau 28: représente la répartition de l'obésité et le surpoids selon le sexe dans la population de référence

Obésité	N	Total (%)	Femmes(%)	Hommes(%)
< 25	280	61,1	58,2	66,4
25-29,9	105	22,9	21,1	22,9
³ 30	73	15,9	20,7	10,7

IMC < 25 : poids normal , 25 < IMC < 29,9 surpoids , IMC ≥ 30 obésité

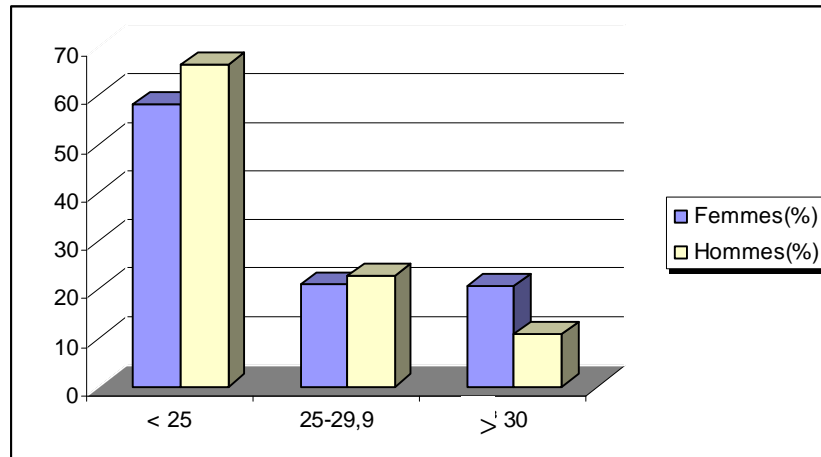


Figure 21: Prévalence de l'obésité et le surpoids dans la population de référence selon le sexe

On remarque que la prévalence de l'obésité (15.9 %) est doublée durant 10 ans au sein de la population constantinoise (7.55 %).(24)

Elle est inférieure à celle d'autres pays, elle varie de 18% à 32.7% entre deux régions de France (188), de même que chez les européens de 25.7 à 26.3 % (189), elle atteint les 33 % au USA (190).

L'obésité apparaît dans notre étude comme un facteur de risque dans l'IDM et cela pour les deux sexes.

Taylor et coll. (191) ont observé une association entre IMC et une augmentation de plusieurs facteurs de risque cardio vasculaire (HTA, diabète, hypertriglycéridémie etc.) sans donner d'explication à cette association.

5-Fréquences génotypiques et alléliques de l'Apo E:

L'étude génétique du polymorphisme de l'Apo E a concerné 320 témoins et 218 malades.

5-1-Répartition des fréquences génotypiques dans les deux groupes:

Le tableau (29) montre la comparaison des fréquences génotypiques entre les témoins et les malades atteints d'infarctus du myocarde.

Tableau 29: fréquences génotypiques de l'Apo E

	Témoins		IDM	
	<i>n</i>	(%)	<i>n</i>	(%)
e3 / e3	227	70,9	128	58,7
e3 / e4	60	18,8	66	30,3
e2 / e3	22	6,9	19	8,7
e2 / e4	9	2,8	1	0,45
e4 / e4	1	0,3	3	1,4
e2 / e2	1	0,3	1	0,45
Total	320	100	218	100

Le génotype ε3/ε3 est le plus fréquent dans notre population, il représente 70.9% ceci est en accord avec toute les études réalisée à travers le monde: Finlande 58.7%, Framingham (USA) 66.7% Allemagne 62.2%, Japon 71.9% France 64.3% Mexique 73.8 % Chine 70.9% Maroc 67.3%.(Tableau 30)

Tableau 30: Fréquence génotypique de la population Constantinoise comparées à d'autres groupes ethnique (192,193)

	N	E3/E3	E3/E4	E2/E3	E2/E4	E4/E4	E2/E2
Finlande	1577	58.7	30.6	5.4	1.8	3.2	0.3
Framingham	2258	66.7	18.8	13.1	1.7	3	0.6
Allmagne	1557	62.2	19.9	11.7	2.9	2.2	0.9
Japon	576	71.9	19.3	6.1	0.7	1.7	0.3
France	504	64.3	18.7	13.9	1.6	1.6	0.8
Mexique	964	73.8	17.32	6.8	0.73	1.1	0.21
Cne	320	70.9	18.8	6.9	2.8	0.3	0.3
Chine	141	70.9	14.9	12.1	0	0.7	1.4
Maroc	168	67.3	19.9	12.8	0.64	0.64	0.64

La distribution des génotypes du polymorphisme Apo ε varie entre les témoins et les IDM mais présente le même ordre décroissant en fréquences correspondant aux génotypes ε3/ε3, ε3/ε4, ε2/ε3, ε2/ε4, ε4/ε4 et ε2/ε2 respectivement (Tableau 29) .

Dans les deux groupes étudiés les porteurs du génotypes ε2/ε2 sont rares; cependant les porteurs du génotype ε2/ε3 sont plus nombreux dans le groupe des IDM

comparé au groupe témoin. Ceci est retrouvé inversement dans l'étude menée sur la population oranaise en 2004 (194)

L'étude de Framingham Offspring Study indique que le phénotype Apo E3/E2 est associé à une incidence élevée des maladies cardiovasculaires chez les hommes par rapport au phénotype Apo E3/E3 (195).

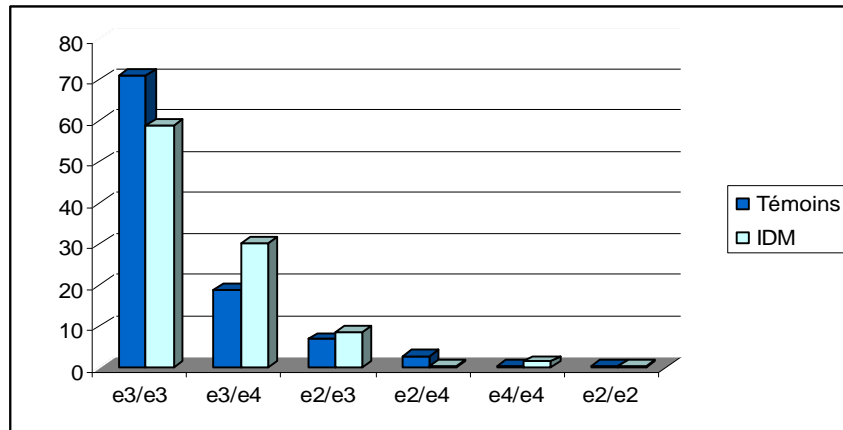


Figure 22: Répartition des fréquences génotypiques dans la population de Constantine et dans les IDM.

Selon les résultats obtenus (Figure 22), on peut observer que le génotype $\epsilon 3/\epsilon 4$ est plus fréquent chez les malades atteints d'IDM, son pourcentage est augmenté de 11.5 % par rapport aux témoins. De même le génotype $\epsilon 4/\epsilon 4$ est plus important chez les malades.

Ceci indique une association entre la présence de l'allèle $\epsilon 4$ et la maladie cardiovasculaire.

Un grand nombre d'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 E3/3 qui représentent environ 62% de la population (104,195,196,197) Ceci a été établi grâce à des études de type cas-témoins dans diverses populations (64,198) chez des sujets présentant de l'athérosclérose prématurée des coronaires et soumis à l'angioplastie (199), et chez des sujets jeunes ou âgés (200,201) suivis de façon prospective.

L'étude de Kumar a démontré une contribution importante du polymorphisme de l'Apo E dans l'accélération des maladies cardiovasculaires dans la population indienne asiatique (202). Cette association a été également prouvée dans de nombreux groupes ethniques y compris les caucasiens américains (USA), australiens et les italiens et les turcs (198, 203). En se basant sur cette forte association Apo E4 et IDM précoce, on peut considérer que l'allèle $\epsilon 4$ est un facteur de risque indépendant en Inde asiatique (202).

Lenzen et coll. ont rapporté que 60 % des patients porteurs de phénotypes E3/E4 souffrent d'un IDM avant l'âge de 60 ans, cependant ceci est inversé chez les sujets ayant le phénotype E2/E3 (204).

5-2- Répartition des fréquences alléliques dans les deux groupes

Le tableau (31) montre que la répartition des allèles de l'Apo E est inégale sur l'ensemble des deux groupes. Cependant on trouve la même tendance, l'allèle $\epsilon 3$ est le plus fréquent (83,8% et 78,20% chez les témoins et les IDM respectivement).

Tableau 31 : Fréquences alléliques de l'Apo E dans la population de Constantine et dans les IDM.

	$\epsilon 2$		$\epsilon 3$		$\epsilon 4$	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Témoins	33	5,10	536	83,8	71	11,10
IDM	22	5	341	78,2	73	16,80

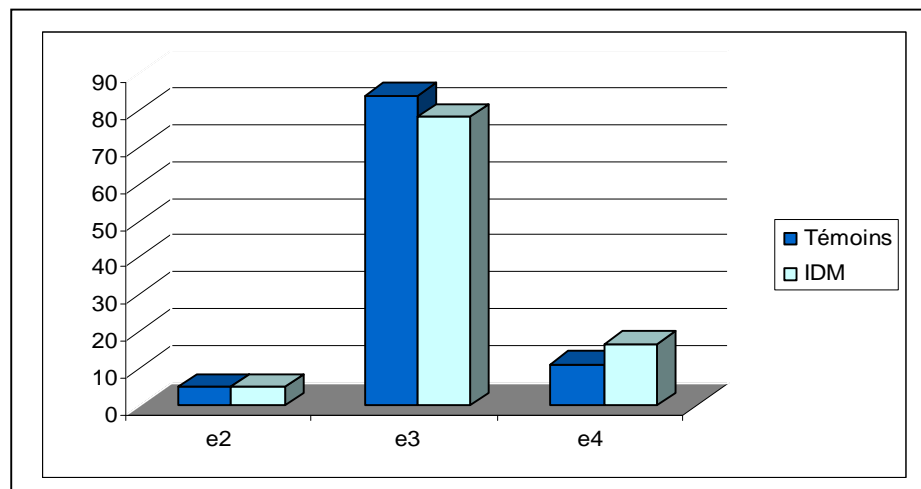


Figure 23 Répartition des fréquences alléliques de l'Apo E dans la population témoin et dans l' IDM.

Dans cette étude, la présence de l'allèle $\epsilon 4$ est plus importante dans le groupe des IDM que chez les témoins et présente une variation de 4.70 % suggérant ainsi sa relation avec la maladie.

La fréquence des allèles de l'Apo E varie dans les différentes populations (Tableau 32).

Plusieurs études ont établi le lien entre l'allèle $\epsilon 4$ et l'élévation du risque des maladies cardiovasculaires (192,193).

En Europe, Gerdes et coll.(205) ont comparé 45 pays à la Norvège et ont constaté un gradient décroissant allant du nord, où la prévalence de maladie coronarienne est grande, au sud où elle est basse (206). Ce gradient nord-sud en Europe a été confirmé chez des jeunes adultes de 11 pays différents. En revanche, l'association entre l'allèle $\epsilon 2$ et ces maladies reste à démontrer en dehors de l'hyperlipoprotéïnémie de type III.(207).

Selon l'étude menée par Garenc C et al. La fréquence de l'allèle $\epsilon 2$ est la moins prévalente dans la région de Québec au Canada ce qui suggère que cette région est épidémiologiquement moins à risque pour l'expression d'hypertriglycéridémies athérogènes de type III (208).

Le taux de mortalité par coronaropathie est de 24,5/100 000 pour une augmentation de 0,01 de la fréquence relative de l'allèle $\epsilon 4$ (61) il est proportionnelle à la fréquence de l'allèle $\epsilon 4$ et diffère d'un pays à l'autre (la Finlande et l'Écosse en tête, le Canada, les États-Unis et l'Allemagne au centre et le Japon, la France et les pays méditerranéens au bas de la liste) (204).

D'autres études révèlent que la fréquence de l'allèle $\epsilon 2$ croît avec la diminution de la mortalité coronarienne, toutefois là où l'environnement est favorable, comme au Japon, les allèles $\epsilon 2$ et $\epsilon 4$ s'accompagnent d'un risque accru (209,210).

La comparaison avec les autres ethnies montrent que la fréquence du type 3/3 est la plus importante et qu'elle se rapproche de celle des pays méditerranéens (Europe du sud ,Maroc) (Tableau 32).

Tableau 32: Fréquence allélique de la population Constantinoise comparées à d'autres groupes ethniques(192,193).

Population	Fréquence		
	ϵ 2	ϵ 3	ϵ 4
Finlande	12	66	22
Irlande du nord	12	66	22
Suède	8	72	20
Grampian (Ecosse)	8.3	77	14.7
Framingham (USA)	7.2	78.6	14
Munich (RFA)	8.2	78.2	13.6
Nancy (France)	13	74.2	12.8
Japon	3.9	85.9	11.7
Constantine	5.1	83.8	11.1
Maroc	5	84	11
Chine	7	86	7

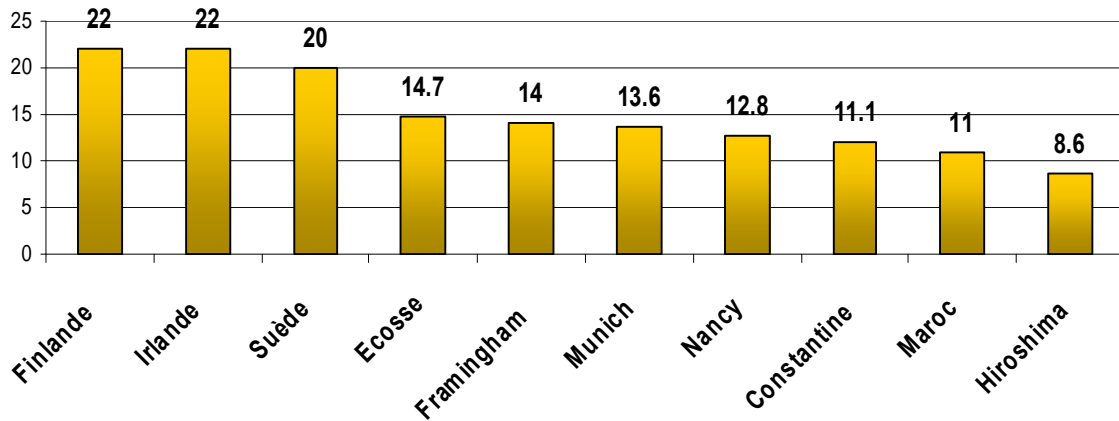


Figure 24: Fréquence de l'apoE4 dans différentes populations.

6- Influence du polymorphisme sur les paramètres lipidiques

Le tableau (33) montre l'influence du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez les malades porteurs de $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ et $\epsilon 3/\epsilon 3$.

Tableau 33 : impact du génotype de l'Apo E sur les paramètres lipidiques chez les malades porteurs de $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ et $\epsilon 3/\epsilon 3$.

TOTAL	$\epsilon 2/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 4$	$\epsilon 2/\epsilon 3$ vs $\epsilon 3/\epsilon 3$	$\epsilon 3/\epsilon 3$ vs $\epsilon 3/\epsilon 4$
AGE	42,9 ± 22,4	43,9 ± 18,3	44,2 ± 19,8	NS	NS
CHOL	1,35 ± 0,27	1,77 ± 0,31	1,95 ± 0,41	<1%	<1%
TG	1,15 ± 0,32	1,15 ± 0,57	1,35 ± 1,13	NS	<5%
HDL	0,46 ± 0,06	0,46 ± 0,10	0,45 ± 0,29	NS	NS
LDL	0,85 ± 0,22	1,15 ± 0,36	1,24 ± 0,37	<1%	<1%
HOMMES					
AGE	43,9 ± 22	44,3 ± 20,4	45,5 ± 22,7	NS	NS
CHOL	1,35 ± 0,33	1,79 ± 0,35	1,94 ± 0,4	<1%	<1%
TG	1,21 ± 0,19	1,20 ± 0,5	1,40 ± 0,86	NS	<1%
HDL	0,44 ± 0,06	0,42 ± 0,09	0,42 ± 0,42	NS	NS
LDL	0,89 ± 0,11	1,17 ± 0,42	1,21 ± 0,39	<5%	<5%
FEMMES					
AGE	41,5 ± 19,4	42,3 ± 17,5	42,9 ± 15,2	NS	NS
CHOL	1,34 ± 0,14	1,71 ± 0,37	1,95 ± 0,44	<5%	<5%
TG	1,11 ± 0,38	1,10 ± 0,6	1,30 ± 1,34	NS	<1%
HDL	0,48 ± 0,08	0,48 ± 0,1	0,44 ± 0,10	NS	NS
LDL	0,81 ± 0,3	1,14 ± 0,33	1,28 ± 0,35	<5%	<5%

□ 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 33).

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

Selon notre étude; l'effet de diminution de l'allèle $\epsilon 2$ est trois fois plus grand que l'effet d'élévation de l'allèle $\epsilon 4$ sur le LDL-C. Ceci concorde avec les travaux de Utermann et coll.(116) qui 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 E3/3).

Jean Ferrières, a démontré que même dans l'hypercholestérolémie familiale, l'allèle $\epsilon 2$ pouvait réduire de façon prononcée les taux de LDL-C chez la femme (211)

l'allèle $\epsilon 4$ s'associait à des taux plus élevés de ces variables lipidiques (61).

Chez les sujets E4, les chylomicrons et 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 (207).

Chez les sujets E3/E3 50% des IDL (VLDL₂) sont convertie en LDL, alors que chez les E4/E4 70% sont converties (104).

Les sujets E2/E3 ont des taux de cholestérol et C-LDL significativement diminués par rapport à E3/E3. Ceci montre l'influence des allèles $\epsilon 2$ et $\epsilon 4$ sur les niveaux de cholestérol et de LDL cholestérol (Tableau 33).

Il y a aussi des populations où il n'y a pas de différence entre les niveaux de LDL-C entre les phénotypes E4/3 et E3/3 comme au Soudan et en Malaisie (212).

Le polymorphisme de l'Apo E explique de 4 à 15 % de variations des concentrations des LDL-C dans le sérum (192,193)

□ Les triglycérides

Les études sont contradictoires quand aux triglycérides. Une méta-analyse de 45 étude menée dans 17 pays par Jean Dallongeville (213) 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 33).

La fréquence de l'allèle $\epsilon 2$ est la plus faible exigeant un plus grand nombre de sujets pour faire une démonstration statistiquement significative (61).

Tolosa et al (214) 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 (192,193)

L'effet de $\epsilon 2$ est très sensible à l'environnement particulièrement en ce qui a trait à l'effet sur les TG (61).

Alors que dans un échantillon de volontaires sélectionnés parce qu'ils étaient en santé, l'allèle $\epsilon 2$ s'associait plutôt à des TG plus bas tant chez l'homme que chez la femme qui ne prend pas d'hormones (61).

Dans une étude (209), l'allèle $\epsilon 2$ s'associait à la présence de *remnants* dans 44% des cas d'hypertriglycéridémie

Plusieurs autres chercheurs (215), montrent que la fréquence de l'allèle $\epsilon 2$ est plus grande chez les sujets présentant une hypertriglycéridémie, mais ont précisé que c'était le cas pour l'hypertriglycéridémie simple (216).

la fréquence relative du phénotype E3/E2 augmentait chez les hypertriglycéridémiques à mesure que le rapport VLDL-C/TG augmentait, indiquant que certains hypertriglycéridémiques porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ étaient plus à risque que d'autres (216).

L'étude Stanislas (217) a montré à son tour que cette liaison n'est possible que chez les sujets ne possédons pas de polymorphisme LPL (mutation serine 447 \rightarrow Stop C \rightarrow G).

❑ Le Cholestérol HDL

Notre étude ne retrouve pas de différence significative du C-HDL entre les différents génotypes. Chez les femmes le C-HDL des sujets E3/E4 est diminués par rapport aux sujets E3/E3 mais non significative (Tableau33).

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. (218) suggèrent que la variation du locus Apo E dans la population mexicaine est un facteur génétique qui influence sur les taux de lipides plasmatiques cependant son effet est seulement observé chez la population féminine.

□ Evolution du cholestérol et C-LDL selon les percentiles :

Tableau 34 : Évolution du cholestérol selon les percentiles et le génotype

	percentiles			
	25	50	75	95
e2/e3	1,36	1,71	1,93	2,31
e3/e3	1,5	1,76	1,94	2,57
e3/e4	1,65	1,9	2,17	3,52

Tableau 35 : Évolution du cholestérol LDL selon les percentiles et le génotype

	percentiles			
	25	50	75	95
e2/e3	0,91	1,08	1,3	2,32
e3/e3	0,95	1,09	1,32	2,4
e3/e4	0,98	1,28	1,49	2,44

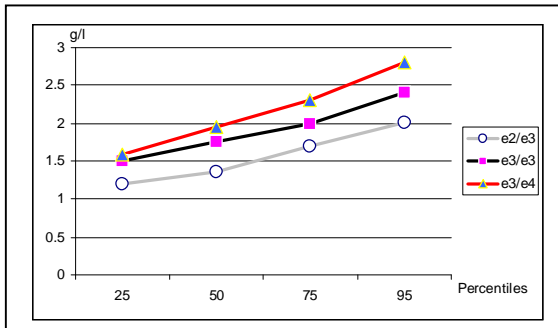


Figure 25: Évolution du cholestérol selon les percentiles et le génotype

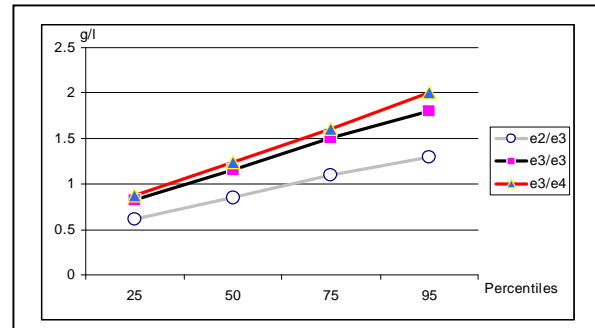


Figure 26: Évolution du cholestérol LDL selon les percentiles et le génotype

On remarque qu'il existe une évolution du cholestérol de façon constante, du 25^{ème} percentile jusqu'au 75^{ème} et à partir duquel elle accentue jusqu'à atteindre des valeurs maximales au 95^{ème} percentile dans les trois génotypes. Cependant chez les sujets ayant le génotype ε3/ε4, le graphe montre une augmentation par rapport à ceux portant les génotypes ε3/ε3 et ε2/ε3. Le génotype ε2/ε3 présente des valeurs moindres de cholestérol, en particulier au niveau du 95^{ème}. Les sujets ε3/ε4 possèdent les taux les plus élevés au niveau de tous les percentiles et ceux ayant le génotype ε2/ε3 les taux les plus faibles (Tableaux 34,35 Figures 25,26).

On remarque les mêmes évolutions des trois courbes que pour le cholestérol.

Il a été attribué une valeur prédictive à la présence de l'allèle ε 4 et calculé que le cholestérol plasmatique augmentait de 0,114 mmol/L (4,405 mg/dL) (61).

□ Effet allélique moyen:

Le calcul de l'effet allélique moyen dans notre population après ajustement avec l'âge montre sur le tableau 33 l'impact relatif des trois allèles sur le cholestérol et le C-LDL.

Tableau 36: Effets alleliques moyens du gene de l'Apo E

	ε 2	ε 3	ε 4	ε2 vs ε3	ε2 vs ε4	ε3 vs ε4
Chol				P	P	P
F	1,56 ± 0,35	1,71 ± 0,37	1,94 ± 0,34	0,02*	0,02*	0,04*
H	1,46 ± 0,25	1,79 ± 0,35	1,98 ± 0,43	0,04*	0,003**	0,01*
T	1,53 ± 0,35	1,77 ± 0,31	1,96 ± 0,40	0,005**	0,005**	0,003**
TG						
F	1,12 ± 0,45	1,10 ± 0,6	1,34 ± 1,2	<i>NS</i>	0,01*	0,04*
H	1,23 ± 0,20	1,20 ± 0,5	1,51 ± 0,83	<i>NS</i>	0,0005***	0,009***
T	1,15 ± 0,30	1,15 ± 0,57	1,42 ± 1,08	<i>NS</i>	0,00003***	0,008***
HDL						
F	0,49 ± 0,06	0,48 ± 0,1	0,49 ± 0,27	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
H	0,47 ± 0,07	0,40 ± 0,09	0,47 ± 0,09	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
T	0,49 ± 0,06	0,46 ± 0,10	0,49 ± 0,27	<i>NS</i>	<i>NS</i>	<i>NS</i>
LDL						
F	0,81 ± 0,28	1,14 ± 0,33	1,32 ± 0,38	0,02*	0,002***	0,02*
H	0,85 ± 0,14	1,17 ± 0,42	1,25 ± 0,39	0,01**	0,001***	0,04*
T	0,84 ± 0,42	1,14 ± 0,33	1,29 ± 0,38	0,03*	0,00026***	0,03*

ε2 = Sujets ε2/ε2 + ε2/ε3 + ε2/ε4, ε3 = Sujets ε3/ε3,
ε4= Sujets ε2/ε4 + ε3/ε4 + ε4/ε4

Ceci reflète ce qui a été présenté sur le tableau 33.

Le CH et le C-LDL sont diminués chez les sujets ayant l'allèleε2 par rapport aux sujets ayant ε3/ε3 ,alors que les sujets ayant l'allèle ε4,leur CH et C-LDL sont augmentés.

Pour les TG, l'impact de l'allèle ε4 est significatif chez les sujets présentant cet allèle par rapport aux sujets ayant ε3/ε3. Alors qu'il n'y a pas d'impact de l'allèle ε2 sur les TG de même que le C-HDL (Tableau 36).

Chez des sujets normolipidémiques provenant de la région d'Ottawa, et après ajustement pour l'âge, le poids et la taille, il a été établi clairement l'effet d'élévation de l'allèle ε4 et de diminution de l'allèle ε2 (208).

Il est possible d'expliquer, du moins en partie, le rôle de l'Apo E4 dans l'athérosclérose par sa plus grande solubilité dans les lipoprotéines à Apo B. La cholestérolémie moyenne des sujets E4/E3 est supérieure à celle des sujets E3/E3, elle-même supérieure à celle des sujets E3/E2, probablement du fait d'un captage plus rapide des remnants des chylomicrons et des VLDL chez les sujets E4/E3(207).

7- Polymorphisme et risque cardio vasculaire

Le calcul de l'odds ratio montre que les porteurs de l'allèle ε4 présentent une association significative ($p < 0.01$) vis-à-vis la survenue de l'IDM, suggérant que les sujets ayant un allèle ε4 sont plus prédisposés à développer une maladie coronaires par rapport aux porteurs de ε3/ε3 (Tableau 37).

Ceci est confirmé par de nombreuses études qui démontrent l'implication de l'allèle ε4 dans les maladies cardiovasculaires.

Tableau 39 : Calcul des odds ratio des sujets malades ayant un allèleε4, ε2, ε3/ε4 et ε2/ε3 par rapport aux témoins ayant un génotype 3/3.

	Odds ratio		C²	P
ε4 vs ε3/ε3	1.77 (1.17 < OR < 2.69*)	Nombre unique	8,13	0,0043
		De Mantel Haenszel	8,12	0,0043
		Corrigé de Yates	7,56	0,0059
ε2 vs ε3/ε3	1.16 (0.62 < OR < 2.18*)	Nombre unique	0,25	0,61
		De Mantel Haenszel	0,25	0,61
		Corrigé de Yates	0,12	0,72
ε3/ε4 vs ε3/ε3	1.95 (1.27 < OR < 3.01*)	Nombre unique	10,3	0,0013
		De Mantel Haenszel	10,28	0,0013
		Corrigé de Yates	9,63	0,0019
ε2/ε3 vs ε3/ε3	1.53 (0.76 < OR < 3.08*)	Nombre unique	1,67	0,196
		De Mantel Haenszel	1,66	0,197
		Corrigé de Yates	1,25	0,262

* : Limites de confiance selon Cornfield à 95%

Une méta analyse faite en 1995 indiquait que le risque cardiovasculaire relatif (*odds ratio*) associée à l'allèle $\epsilon 2$ était de 0,98 et non significatif (IC = 0,85-1,14), alors qu'il était de 1,26 et significatif (IC = 1,14-1,46, $p < 0,05$) pour l'allèle $\epsilon 4$ (61).

Les sujets ayant l'allèle $\epsilon 2$ ne présentent pas de différence significative par rapport aux homozygotes $\epsilon 3/\epsilon 3$ en ce qui concerne son implication dans l'IDM ce qui indique l'absence de l'effet de l'allèle $\epsilon 2$ dans l'athérosclérose.

Il a été trouvé qu'il existe une importante association entre les fréquences de l'allèle l'Apo $\epsilon 4$ ($P < 0,0001$) des génotypes $\epsilon 3/\epsilon 4$ ($P < 0,005$) et $\epsilon 4/\epsilon 4$ ($P < 0,005$) au groupe ayant l'IDM prématuré par rapport des témoins. Les individus ayant l'Apo $\epsilon 4$ ont 46 fois plus de risque pour développer un IDM prématuré selon Kummar (202).

Il a été établi le risque relatif en fonction du phénotype d'Apo E; par rapport au phénotype E3/3; il est de 0,23, 0,61, 0,78, 1,16 et 1,33 respectivement pour les phénotypes E2/2, E3/2, E4/2, E4/3, et E4/4 (61).

Il a été démontré l'existence de cet effet (7%) sur une population sélectionnée pour la santé (employés d'Hydro-Québec) et dépourvue des principaux facteurs de risque cardiovasculaire (sauf le tabagisme) (61)

Dans l'étude faite par Lahoz et coll. (219) des descendants de Framingham portant sur 3413 sujets génotypés suivis de 1971 à 1994, les allèles $\epsilon 2$ et $\epsilon 4$ constituent un facteur de risque cardiovasculaire pour l'homme toujours par rapport à l'allèle $\epsilon 3$. Après ajustement pour l'âge et les facteurs de risque non reliés aux lipides sanguins, le risque relatif est respectivement pour $\epsilon 2$ et $\epsilon 4$ de 1,79 ($p = 0,0098$) et de 1,62 ($p = 0,0086$) et, après ajustement pour l'âge et tous les facteurs de risque cardiovasculaire, de 1,94 ($p = 0,004$) et 1,51 ($p = 0,026$).

Chez la femme, seul l'allèle $\epsilon 4$ est relié de façon significative au risque cardiovasculaire (OR = 1,56, $p = 0,054$) après ajustement pour les facteurs de risque non lipidiques, mais non plus après ajustement pour tous les facteurs de risque cardiovasculaire

Pour l'allèle $\epsilon 2$ chez la femme, le risque est réduit à 0,75 ($p = 0,051$), 0,79 ($p = 0,0538$) et à 0,91 (0,0944) après ajustement pour l'âge, ou pour les facteurs de risque cardiovasculaire excluant ou incluant les lipides respectivement. ..

Le fait que ces données chez la femme ne soient pas significatives est attribué à la faible prévalence des problèmes cardiovasculaires chez celles-ci (prévalence cumulative d'environ 66 par 1000) par rapport à l'homme (165 par 1000) dans cette cohorte de sujets relativement jeunes au départ (environ 35 ans en moyenne). Ici encore, on perçoit un effet protecteur de l'allèle $\epsilon 2$ nettement influencé par le sexe (61).

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

Dans son étude, Davignon suggère que le polymorphisme de l'Apo E accordé à aux variations des niveaux de cholestérol plasmatique explique seulement 2.8% du risque des MCV (104)

Gerdes et coll.(205) ont observé que dans l'étude 4S (*Scandinavian Simvastatin Survival Study*), les sujets ayant subi un infarctus du myocarde et porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ et qui ont été suivis durant cinq ans, avaient un risque de mortalité presque deux fois plus grand que les non porteurs. L'impact de l'allèle 4 étant plus évident que celui de l'allèle $\epsilon 2$ (61).

Les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ se présentaient plus jeunes pour subir un premier pontage aorto-coronarien, selon que l'on avait deux, un ou aucun allèle $\epsilon 4$, l'âge était $54,2 \pm 6,9$, $61 \pm 10,3$ et $62,6 \pm 10,1$ ans respectivement (220).

Diverses études ont été faites en fonction de l'âge de début de l'infarctus du myocarde, en fonction de la présence d'une histoire parentale d'infarctus ainsi que des études angiographiques et anatomopathologiques à l'autopsie (61)

L'étude de Kumar a montré le lien existant entre le polymorphisme de l'Apo E dans l'IDM prématuré et son relation avec les niveaux lipidiques dans le sérum

Il a été trouvé qu'il existe une importante association entre les fréquences de l'allèle l'Apo $\epsilon 4$ ($P < 0,0001$) des génotypes $\epsilon 3/\epsilon 4$ ($P < 0,005$) et $\epsilon 4/\epsilon 4$ ($P < 0,005$) au groupe ayant l'IDM prématuré par rapport des témoins. En se basant sur cette forte

association Apo e4 et IDM prématuré l'allèle e4 représente aussi un facteur de risque indépendant en inde asiatique (202).

Corbo et Scacchi (198) trouvaient que la fréquence de l'allèle ϵ 4 est très élevée dans les populations où les ressources alimentaires sont limitées tel que chez les Pygmées (0,407), les Papous (0,368) et les Lapons (0,310) Et considèrent l'allèle ancestral, ϵ 4 comme un allèle "économe", de survie dans la frugalité (« *thrifty allele* »), un allèle de susceptibilité à la maladie coronarienne et à l'Alzheimer (61).

Cependant il y a quelques exceptions où le risque cardiovasculaire n'a pas été associé à l'allèle ϵ 4, parfois parce que le nombre de sujets était insuffisant pour la démonstration (61)

Chez les Africains du sud du Sahara, des études ont trouvé une absence d'association de l'allèle ϵ 4 avec la coronaropathie et la maladie d'Alzheimer alors que chez les Africains américains cette association est présente (198).

Plusieurs études se sont intéressées à l'influence des autres facteurs de risque et leurs liaisons avec les différents génotypes.

- Le groupe de Després, à Québec, a observé, que la femme insulino-résistante avec une insuliniémie à jeun élevée porteuse de l'allèle ϵ 2 avait des valeurs supérieures de TG plasmatiques qu'en présence d'une insuliniémie normale (221).
- Le polymorphisme de l'Apo E module aussi l'association entre l'obésité et la dyslipidémie (222).
- Dans une étude longitudinale, de la BHS (Bogalusa heart study), chez de jeunes adultes obèses suivis pendant près de sept ans, l'augmentation de l'adiposité s'accompagne d'une plus grande augmentation du LDL-C chez les sujets ϵ 4 et d'une plus forte augmentation des TG et diminution du HDL-C chez les sujets ϵ 2 (223).
- La pression sanguine systolique est significativement plus élevée chez les porteurs de l'Apo E4 que chez les non porteurs (198).

8- Apo E et age

Notre étude montre une diminution de 4% de l'allèle ε 4 chez les octogénaires (0.091 vs 0.131) (Tableau 36).

Tableau 36: Répartition des différents allèles selon l'age

N=20 sujets	ε2 (%)	ε3 (%)	ε4 (%)
20 - 79 ans	4.6	82.3	13.1
≥ 80 ans	5.6	85.3	9.1

Plusieurs résultats ont montré que la fréquence de l'allèle ε4 était significativement réduite chez les octogénaires (0,087 vs. 0,152, $p < 0,025$), vraisemblablement parce qu'un plus grand nombre de sujets à haut risque cardiovasculaire dû à la présence de l'allèle ε 4 et d'un LDL plus élevé étaient décédés (61). La réduction de l'allèle ε 4 avec l'âge a été confirmée dans plusieurs études (224,225).

En ce qui concerne la fréquence de l'allèle ε2, plusieurs études ont montré une augmentation avec l'âge et une contribution à la longévité a été postulée (226,227,228,229).

L'étude finlandaise de sujets centenaires (230) démontre que la présence de l'allèle ε 2 prédispose un individu à vivre très vieux . Dans les groupes d'âge 100-101, 102-103 et 104 et plus, la fréquence des porteurs de cet allèle était respectivement 9%, 21% et 25%.

Notre étude montre une légère augmentation de l' ε2 (1% environ). Cependant le sujet le plus âgé dans notre étude avait 98 ans.

Conclusion

La répartition des allèles de l'Apo ϵ est inégale sur l'ensemble de la population mondiale. Nos résultats montrent la prédominance de l'allèle $\epsilon 3$ dans la population constantinoise avec une fréquence 83,8 %, alors que l'allèle $\epsilon 2$ est le moins fréquent (5%); 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 16,8% chez les IDM alors qu'elle est de 11,1 % chez les témoins. En Europe, la fréquence de cet allèle augmente du sud vers le nord et suit le gradient de fréquence des maladies cardiovasculaires .

Des études ont montré également que le risque moyen de développer une MCV est 1.43 fois supérieur chez les individus porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ par rapport à ceux portant l'allèle $\epsilon 2$, nous retrouvons cette tendance dans notre étude avec un odds ratio de 1.77. En revanche l'association entre l'allèle $\epsilon 2$ et ces maladies reste à démontrer et le rôle protecteur de cet l'allèle est moins établi.

Les arguments prouvant le lien entre le polymorphisme de l'Apo E et le développement de l'athérosclérose sont encore fragmentaires et controversés..

Le phénotype de l'Apo E n'est pas un facteur indépendant de la maladie cardiovasculaire. Cependant l'influence du polymorphisme de l'Apo E sur le risque de maladie se traduit indirectement via son effet sur les lipides et les lipoprotéines.

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

Toutefois, cet effet pourrait être partiellement contrecarré par la tendance des individus possédant l'allèle $\epsilon 2$ à développer des hypertriglycémies et avoir des niveaux supérieurs de lipoprotéines athérogènes chargées en cholestérol en réponse à des stimuli génétiques ou environnementaux additionnels .

La faible fréquence de l'allèle $\epsilon 4$ chez les octogénaires suggère une relation entre la longévité et l'absence de cet allèle

Il a été montré par notre étude une association de l'allèle $\epsilon 4$ et d'autres facteurs de risque dont: la cigarette, l'hypercholestérolémie, l'hypertension artérielle, le diabète et l'obésité avec l'IDM.

Cependant, ces facteurs de risque ne peuvent en aucun cas être assimilés directement à des causes de la maladie. Une relation de cause à effet ne peut pas être déduite seulement de cette association épidémiologique vu que certains patients ayant la maladie ne présentent aucun de ces facteurs de risque .

Mais cette association établit quand même un certain lien de causalité. Ainsi il est établi qu'en terme de probabilité la survenue d'un IDM, est fortement influencée par la présence de ces facteurs de risque.

En résumé, la présence d'un facteur de risque isolé ou plusieurs facteurs permet de prédire la survenue d'une pathologie cardio-vasculaire mais l'absence de tout facteur de risque ne signifie pas qu'il n'y aura pas de maladies.

La recherche de facteurs de risque puis leur contrôle est donc une étape importante dans la prévention de même la connaissance du polymorphisme de l'apo E devient un élément à prendre en considération. Sa détermination chez les patients doit être incluse dans des études bio cliniques afin de :

- Confirmer le diagnostic de l'hyperlipoprotéinémie de type III.
- Révéler une prédisposition particulière à l'hypertriglycémie
- Faire reconnaître l'existence d'un risque accru d'athérosclérose.
- trouver d'autres variants du gène ϵ comme le $\epsilon 5, \epsilon 7$ pouvant être impliqués dans les maladies cardiovasculaires.

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

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

Références bibliographiques

- 1- BOGARD M., LAMORIL J.**
Biologie moléculaire en biologie clinique III Applications en génétique.Option Bio .Elsevier.(2000).
- 2-UTERMANN G, HEES M, STEINMETZ A.**
Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. Nat (1977)269:604-7
- 3- HOBBS H.H., SCOTT J.**
Genetics and molecular biology .Curr.Opin.Lipidol.(1994):77-80
- 4-MAHLEY RW.**
Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. Science (1988)240:622-30.
- 5- VISVIKIS S.**
L'apolipoprotéine E et le cholestérol. Stanislas Echange. la recherche .3 (1997)
- 6- EICHNER J.E., DUNN T.S., PERVEEN G., and al**
Apolipoprotein E Polymorphism and Cardiovascular Disease: A HUGE Review.Am.Jour of Epidemyogy.(2002) 6: 487-495.
- 7- PHILIPPE V.,DANIEL R.**
Les lipides et la cellule adipeuse .Nathan. Paris. (1997).
- 8- HENRI D.**
Cholestérol, ESF Edition .Paris (1992).
- 9- STUBBS C.D,SMITH A.D.**
The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function.Biochim.Biophys.Acta (1984) ;799(1) :89-137.
- 10-CLANDININ.M.T,CHEEMA S, FIELD C.J. et al .**
Dietary fat:exogenous determination of membrane structure and cell function. FASEB J.(1991) 5 (13):2761-9.
- 11-CALDER P.C,GRIMBLE R.F.**
Polyunsaturated fatty acid,inflammation and immunity.Eur.J.Clin.Nutr.(2002)56(3):S14-S19.
- 12- CALDER P.C, FIELD C.J.**
Fatty acid, inflammation and immunity.In:Nutrition and immune function by Calder PC, field CJ Gill H.S.Cabi Publishing,(2002):57-92
- 13- MILCENT .R.**
Chimie organique hétérocyclique.EDP sciences. France. (2003).
- 14- JACQUES C. BARATTL**
Cours de Biochimie Structurale .Chapitre 7 : Les lipides. DEUG SV2 (2003)on line
- 15- OUADAHL N**
Thèse Hypocholestérolémies et pathologies. Implications diagnostiques et pronostiques. (2003).
- 16- LAMMERT F.,WANG D.Q.,**
New insights into the genetic regulation of intestinal cholesterol absorption. Gastroenterology (2005) 129: 718-734.
- 17 -TURPIN H.,**
Alimentation et nutrition humaine .ESF Edition (1992) :151-152

18-BRUKERT E., THOMAS D.

Les hypercholestérolémies. John Libbey Eurotext. (1997).

19-DE GERME J.L.,

Le cholestérol et l'athérosclérose, Hermann éditeurs des sciences et des arts .Paris.(1997).p79.

20- JACQUES K.,

Biochimie études médicales et biologiques.Hermann collection. Paris.(1971) p 405.

21- CHAPMAN M.J.-

Animal lipoproteins : chemistry, structure and comparative aspects. J LipidRes,(1980)21 : 789-853.

22- LAGROST L., MASSON D., CHAPMAN J.,

Lipoprotéines et métabolisme lipidique:L'athérosclérose - Physiologie, diagnostics, thérapeutiques. La Société Française d'Athérosclérose. Masson. Paris. (2003).

23-CUVELIER I.,ULRICH G.,

Quel bilan lipidique en 1992 Option/Bio (1992) 88 : I-VIII

24- ABADI N.

Contribution à l'étude des lipides dans la population de référence de la ville de Constantine et les maladies cardio-vasculaires thèse (1998).

25- NORUM K.R., BERG T., HELGERUD P., DREVON C.A.,

Transport of cholesterol. Physiol Rev, (1983) 63 :1343-1419.

26-HUSSAIN M.M.,STRICKLAND D.K.,BAKILLAH A.,

The mammalian low-density lipoprotein receptor family. Ann Rev Nutr,(1999)19: 141-172.

27 -ACTON S., RIGOTTI A., LANDSCHL K.T., Xu S., Hobbs H.H., and al.

Identification of scavenger receptor SR-B1 as a high density lipoprotein receptor. Science,(1996) 271:518-520.

28 -MOESTRUP S.K., KOZYRAKI R.,

Cubilin, a high-density lipoprotein receptor. Curr Opin Lipidol, (2000) 11 : 133-140.

29-LIBBY.

Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. Circulation, (2001) 104: 365-372.

30- LAGROST J. F., TOUSSAINT M., CHAPMAN J., and al

Pathogénèse de l'athérosclérose : théories et mécanismes L'athérosclérose physiologie,diagnostics,thérapeutique.société Française d'Athérosclérose.Masson.Paris. (2004)

31- FYE W.B.

A historical perspective on atherosclerosis and coronary artery disease. In : FUSTER V., ROSS R., TOPOL E.J. Atherosclerosis and Coronary Artery Disease. Lippincott-Raven, Philadelphia. (1996).1-12.

32-GIRAL P.

Athérome : anatomie pathologique, physiopathologie, épidémiologie et facteurs de risque, prévention. Rev Prat (1998) 48 : 99-106.

33-GRIGNON G.

Cours d'histologie :Chap appareil circulatoire.(Ed) Elipses.Paris.(1996) p 167.

34-ROUSSEAUX J.

Biochimie métabolique notions de pathologie lipidique.1^{er} Cycles des études médicales.PCEM2 cours 2 version 1 (2003)

35-WATTS GF

Pathogénie de l'athérosclérose :extr .De cholestérol et maladie coronarienne.Current Medical Literature Lid (1990).1-18

36- LÉONI J., DAUBROSSE E.,

Physiopathologie de l'athérosclérose : Mécanismes et prévention de l'athérotrombose.Université de Franche-Comté .UFR de Pharmacie. Besançon. (2001).

37- ROSSR., GLOMSETJ. A.

pathogenesis of atherosclerosis. N Engl J Med. (1976) 295 :420-425.

38-VANDENBUNDER B

Mécanismes moléculaires contrôlant la prolifération cellulaire dans le système vasculaire .Arch.Mal.Coeur (1993) 86 (1) :39-45.

39-LEFER A.M.

Nitric oxide: Nature' s naturally occurring leukocyte inhibitor Circulation.(1997) 95:662-668

40-CAPRON L,WYPLOSZB.

Théorie infectieuse de l'athérosclérose.Arch Mal C.ur,(1998) 91 : 21-26.

41-BAUTERS.C.

Physiopathologie de l'athérosclérose Hôpital Cardiologique.Lille. (2000)

42- PALINSKI W.,HERTUALA Y.,ROSENLDME.,and al

Antisera and monoclonal antibodies specific for epitopes generated during oxidative modification of low density lipoprotein Arteriosclerosis (1990)10 :325-335

43- WINTHER M.P.,VANDIJK K.W., HAVEKES L.M., HOFKER M.H. Macrophage scavenger receptor class A : A multifunctional receptor in atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. (2000) 20:290-297.

44-COHEN A.

Cardiologieet pathologie vasculaire.ESTEM. Paris.(1997) in LIONI J(2001).Physiopathologie de l'athérosclérose, mécanismes et prévention de l'athérotrombose.Thèse DED en pharmacie.Université de Franche-comte. N°25 01

45-QUILICI J.,GALLO R.,

Physiologie des syndromes coronariens aigus.Ann.Cardio.Angio(1999) 48:611-23.

46-STEINBERG D.,LEWIS A.,

Conner memorial lecture.Oxidative modification of LDL and atherogenesis. Circulation. (1997) 95 (4) : 1062-71

47- STARY H C., CHANDLER A B., DINSMORE RE. and al .

A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis, Circulation. (1995) 92 : 1355-1374.

48-THOMAS D.,

Cardiologie. Ellipses.Paris (1996).

49- FINET G., TABIB A.,

L'athérosclérose.Chap 57.on line.

50- DAUBERT .

Infarctus du myocarde. Département de cardiologie et maladies vasculaires CHU de Rennes.(1998)

51-CAMBOU JP and al.

La maladie coronaire en France : données des registres MONICA (1985-1991).
Rev Epidém Santé Publique (1996)44 : S46-S52.

52- MENU P.

Physiopathologie cardiaque.Faculté de pharmacie .université paris Sud XI (2002).

53-FARMER JA, GOTTO AM JR.

Dyslipidemia and other risks factors for coronary artery disease In Braunwald E. Heart Disease.
Philadelphia. WB Sanders Company, (1997) : 1126-60.

54- JAMES R.W.

L'oxydation de lipoprotéines de faible densité (LDL) .Med.Hyg. (1993)51 :2894

55-CHAPMAN M.J.,LAPLAUD P.M., LUC G.,FORGEZ P.,BRUCKER E.,

Further resolution of low density lipoprotein, spectrum in normal human plasma :Physicochemical characteristics of discrete subspecies separated by density gradient ultracentrifugation .J.Lipid .Res. (1988) 29:442-58.

56- CHAIT A.,BOYD.C.,WOLFBAUER.G.,ALLEN M.A

Monoclonal antibody against oxidized LDL binds to atheromata from Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits Arteriosclerosis (1989) 5,5:698

57- HERTUALA Y.S.,PALINSKI W.,ROSENFELD M.E.,PARTHASARAT.Y.,CAREWT.E, WITSTUM J.L.,STEINBERG

Evidence for the presence of oxidatively modified LDL in human atherosclerosis lesions Arteriosclerosis (1989) 5,5:698

58- WITZTUM J.L., STEINBERG D.

Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. J Clin Invest. (1991) 88:1785-1792

59- HOLVET P.,COLLEN D.

Oxidized lipoprotein in atherosclerosis and thrombosis.FASEBJ (1994) 8 :1279-1284.

60- BONNEFONT R.D.

Oxydation des lipoprotéines et mécanisme d'action des antioxydants :apport de la radiolyse gamma.Ann.Biol.Clin.(1999) 4 :409-16

61- DAVIGNON J.

Apolipoprotéine E, une molécule polymorphe et pléiotrope :Rôle dans l'athérosclérose et au-delà .Sang Thrombose et Vaisseaux. (2002)14:107-120.

62-STOTT J,KNOTT J,SHAW D.J, and al.

Localization of gene encoding apolipoprotein CI,CII, and E to the p13->cen region of human chromosome 19.Hum Genet (1985)71:144-6

63-SHORE V G., SHORE B.

Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins.Separation of species differing in protein components. Biochemistry (1973)12:502-7.

64- UTERMANN G, HARDEWIG A, ZIMMER F.

Apolipoprotein E phenotypes in patients with myocardial infarction. Hum.Genet. 1984;65:237-41.

65-ZANNIS V.I., BRESLOW J.L.

Human very low density lipoprotein apolipoprotein E isoprotein polymorphism is explained by genetic variation and posttranslational modification. Biochemistry (1981)20:1033-

- 66- KI PAIK., DAVID J., CHANG., CATHERINE A., REARDON., GLENN E., and al.**
Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene, Proc.Natl. Acad. Sci. USA ,(1985) 82:3445-3449
- 67- ROBEITAILLE N.**
Thèse: Polymorphisme de l'apolipoprotéine E au sein de la population de LAC ST JEAN CHIBOUGAMAU.QUEBEC (1994).on line
- 68- SIMON M., HONE E., GANDY S., MARTIN R.**
Expanding the association between the APO E gene and the risk of Alzheimer's disease : possible roles for APOE promoter polymorphisms and alteration in APOE transcription.Journal of neurochemistry.(2003)84: 1215-1236.
- 69-ZANNIS VI., VAN DER S.J., SILVERMAN D.**
Intracellular modifications of human apolipoprotein E. J Biol Chem (1986)261: 13415-21.
- 70- GIROUX L.M., DAVIGNON J., NARUSZEWICZ M.**
Simvastatin. inhibits the oxidation of lowdensity lipoproteins by activated human monocyte-derived macrophages.Biochim.Biophys.Acta Lipids Lipid Metab. (1993) 1165:335-8.
- 71-RALL SC. JR., MAHLEY R.W.,**
The role of apolipoprotein E genetic variants in lipoprotein disorders. J Intern Med (1992)231:653-9.
- 72-MCLEAN JW, FUKAZAWA C, TAYLOR JM.**
Rat apolipoprotein E mRNA. Cloning and sequencing of double-stranded cDNA. J Biol Chem (1983)258:8993-9000.
- 73-WETTERAU J.R., AGGERBECK L.P., RALL SC.JR., WEISGRABER KH.**
Human apolipoprotein E3 in aqueous solution. I. Evidence for two structural domains. J Biol Chem (1988)263:6240-8.
- 74- NARAYANASWAMI V., SAMUEL S., W. SZETO., and et al**
Lipid Association-induced N- and C-terminal Domain Reorganization in Human Apolipoprotein E3* BIOL CHEM. (2001) 41:37853–37860.
- 75-WILSON C, WARDELL M.R, WEISGRABER ., MAHLEY R.W., AGARD D.A.** Three-dimensional structure of the LDL receptor-binding domain of human apolipoprotein E. Science (1991)252:1817-22.
- 76- WEISGRABER KH, RAIL SC JR., MAHLEY R.W, MILNE RW., MARCEL Y.L.AND AL**
Human apolipoprotein E. Determination of the heparin binding sites of apolipoprotein E3. J Biol Chem (1986)261:2068-76.
- 77-SOULIE K.**
Apolipoprotéine E. These (1998) on line.
- 78-WEISGRABER KH.**
Apolipoprotein E: structure-function relationships.In: Schumaker VN, ed. Advances in protein chemistry. Academic Press. (1994)45:249-302.
- 79-PAUL M.M. WEERS., NARAYANASWAMI V.,CHOY N, LUTY.R and al**
Lipid binding ability of human apolipoprotein E N-terminal domain isoforms: correlation with protein stability?_Biophysical Chemistry (2003) 100: 481–492
- 80-SIEST .G., PILOT T., -BAILLY A.R., MULLER B.L., STEINMETZ J.,MARIE-M. GALTEAU, AND VISVIKIS S**
Apolipoprotein E: An Important Gene and Protein to Follow in Laboratory Medicine. CLIN. CHEM. (1995) 41/8: 1068-1086

- 81-NOLTE R.T., ATKINSON D.**
Conformational analysis of apolipoprotein A-I and E-3 based on primary sequence and circular dichroism. *Biophys J* (1992)63:1221-39.
- 82-SPARROW J.T., SPARROW D.A., FERNANDO G, CULWELL A.R., KOVAR M,GOTTO AM JR.**
Apolipoprotein E: phospholipid binding studies with synthetic peptides from the carboxyl terminus. *Biochemistry* (1992)31:1065-8.
- 83-WILSON C, WARDELL MR, WEISGRABER KH, MAHLEY RW, AGARD DA.** Three-dimensional structure of the LDL receptor-binding domain of human apolipoprotein E. *Science* (1991) 252:1817-22.
- 84-DONG. L.M., PARKIN S., TRAKHANOV S.D., RUPP B., and al**
Novel mechanism for defective receptor binding of apolipoprotein E2 in type III hyperlipoproteinemia. *Nat. Struct. Biol.* (1996) 3:718-722.
- 85-NATHAN B.P., BELLOSTA S., SANAN D.A., WEISGRABER KH, MAHLEY R.W., PITAS R.E.**
Differential effects of apolipoproteins E3 and E4 on neuronal growth in vitro. *Science* (1994) 264:850-2.
- 86-MAMOTTE CDS, STURM M., FOO J.I., VAN BOCKXMEER FM., TAYLOR RR.**
Comparison of the LDL-receptor binding of VLDL and LDL from apoE4 and apoE3 homozygotes. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.* (1999) 276:553-557.
- 87- GREGG R.E., ZECH L.A., SCHAEFER E.J., BREWER H.B.,**
Apolipoprotein E metabolism in normolipoproteinemic human subjects. *J.Lipid Res.* (1984)25:1167-76.
- 88- FAITH M., HARRIS., TESSEUR I., WALTER J. BRECHT and al.**
Astroglial Regulation of Apolipoprotein E Expression in Neuronal Cells: Implications for Alzheimer's Disease. *JBC Papers in Press.*(2003)
- 89-KULPERS,F.,JONG M.C., LIN Y.,VAN ECK M.,HAVINGA R.,BLOKE V.**
Impaired secretion of very low density lipoprotein-triglyceride by apolipoprotein E-deficient mouse hepatocytes. *J. Clin. Invest* (1997)100: 2915-2922.
- 90- KYRIAKOS E., KYPREOS.**
Domains of Apolipoprotein E Contributing to Triglyceride and Cholesterol Homeostasis in Vivo. *J. Biol. Chem.*,(2001) 23:19778-19786,
- 91- HUANG, Y., JI S., BRECHT W.J., RALL S.C., JR., TAYLOR J.M., MAHLEY R.W.**
Overexpression of apolipoprotein E3 in transgenic rabbits causes combined hyperlipidemia by stimulating hepatic very low density lipoprotein (VLDL) production and impairing VLDL lipolysis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* (1999) 19:2952-2959.
- 92- HUANG Y., QIN LIU X., RALL JR S.C., TAYLOR J.M. ECKARDSTEIN V, ASSMANN G.** Overexpression and Accumulation of Apolipoprotein E as a Cause of Hypertriglyceridemia *Biol Chem*, (1998) 41:26388-26393
- 93- CYRILLE MAUGEAIS, UWE J. F. TIETGE, TSUKAMOTO K., JANE M.GLICK.,DANIEL J.RADER**
Hepatic apolipoprotein E expression promotes very low density lipoprotein-apolipoprotein B production in vivo in mice *Journal of Lipid Research*,(2000) 41:1673-1679
- 94-LALAZAR A.,MAHLEY R.W.** Human apolipoprotein E. Receptor binding activity of truncated variants with carboxyl-terminal deletions. *Biol. Chem.* (1989) 264 : 8447-8450.

95-LINDA K.,CURTISS.

ApoE in Atherosclerosis *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. (2000)20:1852.

96- ELSHOUBAGY, N. A., LIAO, W.S., MAHLEY, R. W. TAYLOR, J. M. PROC. NATL. ACAD. SCI. USA (1985) 82:203-207.**97-TREMBLAY., CAROLINE et al.**

Implication de la synthèse de l'apolipoprotéine E par les cellules hépatiques sur les activités de liaison et de dégradation des lipoprotéines. *Congrès Acfas. Biochimie et biologie structurale* (1998): S-101.

98-BASU S.K, HO Y.K, BROWN M.S, BILHEIMER D.W, ANDERSON RGW,GOLDSTEIN J.L.

Biochemical and genetic studies of the apoprotein E secreted by mouse macrophages and human monocytes. *J Biol Chem* (1982)257:9788-95.

99-MURAKAMI M., USHIO Y., MORINO Y., OHTA T., MATSUKADO Y.

Immunohistochemical localization of apolipoprotein E in human glial neoplasms. *J Clin Invest* (1988) 82:177-88.

100- HALLMAN DM, BOERWINKLE E, SAHA N and al.

The apolipoprotein E polymorphism: A comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am.J.Hum.Genet.* 1991;49:338-49.

101-RALL S.C ., WEISGRABER KH, INNERARITY T.L, MAHLEY R.W. Structural basis for receptor binding heterogeneity of apolipoprotein E from type III hyperlipoproteinemic subjects. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* (1982)79:4696-700.

102-HIXSON J.E., VERNIER D.T.

Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J.Lipid Res.* (1990) 31:545-8.

103-FULLERTON S.M, CLARK A.G., WEISS K.M and al.

Apolipoprotein E variation at the sequence haplotype level: Implications for the origin -and maintenance of a major human polymorphism. *Am.J.Hum.Genet.* 2000;67:881-900.

104- DAVIGNON J., GREGG R.E., SING CF.

Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* (1988)8:1-21.

105- BERG K.

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

106- YAMANOUCHI Y, TAKANO T, HAMAGUCHI H, TOKUNAGA K.

A novel apolipoprotein E5 variant with a 24-bp insertion causing hyperlipidemia. *J Hum Genet* 11. (2001)46:633-9.

107-ORDOVAS J.M., LITWACK-KLEIN L., WILSON P. W.and al.

Apolipoprotein E isoform phenotyping methodology and population frequency with identification of apoE1 and apo E5 isoforms. *J.Lipid Res.* (1987)28:371-80.

108-TSUCHIYA S., YAMANOUCHI Y., ONUKI M and al .

Frequencies of apolipoproteins E5 and E7 in apparently healthy Japanese. *Jpn.J.Hum.Genet.* (1985)30:271-8.

109-MATTHIAS O., WENG W., FUNKE H., STEINMETZ A and al.

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*. (1999)19:1306-1315.

- 110- UTERMANN G., VOGELBERG KH., STEINMETZ A. and al**
Polymorphism of apolipoprotein E. II. Genetics of hyperlipoproteinemia type III. Clin.Genet. (1979)15:37-62.
- 111- ZANNIS V.I., BRESLOW J.L.**
Characterization of a unique human apolipoprotein E variant associated with type III hyperlipoproteinemia. J.Biol.Chem. (1980)255:1759- 62.
- 112- HAVEL R.J.**
Familial dysbetalipoproteinemia. New aspects of pathogenesis and treatment. Med.Clin.North Amer. (1982)66: 441-54.
- 113-UTERMANN G., PRUIN N., STEINMETZ A.**
Polymorphism of apolipoprotein E: III. Effect of a single polymorphic gene locus on plasma lipid levels in man. Clin.Genet.(1979)15:63-72.
- 114-BOUTHILLIER D., SING C.F., DAVIGNON J.**
Apolipoprotein E phenotyping with a single gel method: application to the study of informative matings. J.Lipid Res.(1983)24:1060- 9.
- 115-REILLY S.L., FERRELL R.E., KOTTKE B.A., SING C.F.**
The gender-specific apolipoprotein E genotype influence on the distribution of plasma lipids and apolipoproteins in the population of Rochester, Minnesota. II. Regression relationships with concomitants. Am.J.Hum.Genet. (1992)51:1311-24.
- 116-UTERMANN G.**
Apolipoprotein E (Role in lipoprotein metabolism and pathophysiology of hyperlipoproteinemia type III). Ric.Clin.Lab. (1982)12:23-33.
- 117-CORMIER G.**
These :Influence du polymorphisme de l'apolipoprotéine E sur les relations existant entre les facteurs de risque des maladies cardiovasculaires.Quebec. (1994).
- 118- RESNICK H.E., RODRIGUEZ B., HAVLIK R. and al.**
Apo E genotype, diabetes, and peripheral arterial disease in older men: The Honolulu Asia-Aging study. Genet.Epidemiol. (2000)19:52-63.
- 119- LL, and al.**
Apolipoprotein E: laboratory determination and clinical significance. In *Laboratory measurement of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins*. N Rifai and GR Warnick, eds. Washington AACC Press, (1994) 279-304.
- 120- P.VALDIGUIE.**
Biochimie clinique. Médicales internationales.2^{ème} édition (1995).Paris.
- 121- DELPECH M.**
Les techniques d'extraction de l'ADN à partir d'un échantillon sanguin. Ann Biol Clin.(1997) 57:77-84.
- 122- WINTER P.C.,HICKEY G.I, FLETCHER H.L.**
L'essentiel en génétique. BERTI (2000).Paris.
- 123- RUMEAU-ROUQUETTE C., BLONDEL B., KAMINSKI M.**
Epidémiologie : Méthode et pratique
- 124- FRANOIS D., DRUCKER J., MOREN A.**
Epidémiologie d'intervention.Editions Arnette (1992) :589.

125- CASTAIGNE A

Facteurs de risque des cardiopathies liées à l'athérosclérose coronaire
Médicorama (1993) n°298 :1-36

126- GHANNEM H., LIMAM K., BEN ABDELAZIZ A., MTIRAOUI A. et al.

Facteurs de risque des maladies cardio-vasculaires dans une communauté semi urbaine du sahel
Tunisien
Rév. Epidèm. et Santé Publ. (1992) 40 :108-112

127- GHARBI M., BELHANI A., AOUIDET A., BEN RAYANA C. Et al.

Niveau des facteurs de risque cardio-vasculaire dans la population urbaine et rurale du Cap-
Bon :Tunisie
Rév. Epidèm. et Santé Publ. (1996) 44 :125-132

128- RICHARD J.L.

Liens entre cholestérol et athérosclérose coronaire :Arguments épidémiologiques
La revue du praticien (1989) 12 :1030-1039

129- GORDON C., CASTELLI WP, HJORTLAND MC, KANNET WB, DAWBER TR

High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease : The Framingham Study
Am.J.Med. (1977) 62 :707-714

130-HEISS G, TAMIR I, CLARENCE E, et al

Lipoprotein-Cholestérol distributions in selected North American populations : The Lipide Research
Clinics Program Prevalence Study
Circulation (1980) 2 :302-315

131-KNUIMAN J.T., CLIVE E.W., and BUREMA J

Serum total and high density lipoprotein cholesterol concentration and body mass index in adult men
from 13 countries
Am.J.Epidemiol (1982),116 :631-642

132- BRUCKERT E, GIRAL P, FAIROU J.L., DE GENNES J.L.

Lipoprotéines de haute densité -cholestérol : Métabolisme et rôle dans l'athérosclérose
Presse médical (1988) 17 :862-866

133- FRANKEL E.N., KANNER J., GERMAN J.B., PARKS E., KINSELLA J.E.

Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phénolic substances in red wine Lancet
(1993) 341 :454-457.

134-AMARASURIYA R.N., GUPTA A.K., CIVEN M., HORNG Y.C. et al.

Ethanol stimulates apolipoprotein A-I secretion by hman hepatocytes : Implications for a mechanism
for atherosclerosis protection.
Metabolism (1992) 41/8 :827-832

135- WILLIAMS P.T.

High-density lipoprotein cholesterol and other risk factor for coronary heart disease in female runners
New Engl.J.Med. (1996)334/20 :1298-1303

136-KANNEL W.B. voir (455)

Cholesterol and risk of coronary heart disease and mortality in men
Clin.Chem. (1988)34/8(B) :B53-B59

137-PEKKANEN J., NISSINEN A., PUSKA P et al.

Ten-year mortality from cardiovascular disease in relation to cholesterol level among men with and
without preexisting cardiovascular disease.
New Engl.J.Med. (1990) 322,24 :1700-1707

- 138-GORDON C., CASTELLI WP, HJORTLAND MC, KANNET WB, DAWBER TR**
High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease : The Framingham Study
Am.J.Med. (1977)62 :707-714
- 139-STAMLER J, WENTTWORTH D., NEATON J.**
Is relation between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded ?
JAMA (1986) 256,20 :2823-2828
- 140- TUNSTALL-PEDOE H., SMITH W.C.S.**
Cholesterol as a risk factor for coronary heart disease
Br.Med.Bulletin (1990) 46/4 :1075-1087
- 141-CREAGER M.A., SELWYN A.**
When « Normal » cholesterol levels injure the endothelium
Circulation (1997) 96 :3255-3257
- 142- BENFANTE R., REED D.,**
Is elevated serum cholesterol level a risk factor for coronary heart disease in the elderly ?
JAMA (1990) 19 :393-396
- 143- HIGGINS M., KELLER JB**
Cholesterol , coronary heart disease, and total mortality in middle-aged and elderly men and women in Tecumseh
Ann epidemiol (1992) 2 :69-76
- 144-ABERG H., LITHELL H., SELINUS I., HEDSTRAND H**
Serum triglyceride are a risk factor for myocardial infarction but not for angina pectoris : Result from a 10 year Follow-up of Uppsala Primary Preventive Study
Atherosclerosis (1985) 54 :89-97
- 145-GRUNDY S.M.**
Two different views of the relationship of hypertriglyceridemia to coronary heart disease
Arch Intern Med (1992) 152 :28-34
- 146- HOBBS G.A., WAGNER S.G., LEVINSON S.S.**
Relation between triglycérides, lipoproteins, glucose and coronary artery disease.
Clin.Chim.acta (1995) 238 :59-70
- 147-GAZIANO J.M., HENNEKENS C.H., O'DONNELL C.J., BRELOW J.L., BURING J.E.**
Fasting triglycérides, high-density lipoprotein and risk of myocardial infarction
Circulation (1997) 96 :2520-2525
- 148- COHN JS, NAMARA NM, COHN SD, OORDOVAS JM, SCHAFFER EJJ**
Postprandial plasma lipoprotein changes in human subjects of different ages
J.Lipid Res. (1988) 29 :469-479
- 149-BRUCKERT E., EMMERICH J, RICHARD J.L., THOMAS D.**
Rôle des triglycérides dans les maladies cardio-vasculaires
Arch.Mal.Coeur (1992) 85 (III):29-35
- 150-AUSTIN MA, BRESLOW J.L., HENNEKENS C.H., BURING J.E., WILLET W.C.,KRAUSS R.M.**
LDL subclass patterns and risk of myocardial infarction
JAMA (1988) 260 :1917-1921
- 151-MANNINEN V., TENKANEN L., KOSKINEN P., HUTTUNEN 10-19 et al.**
Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentration on coronary heart disease risk in the Helsinki heart study
Circulation (1992) 85 :37-45

152- BRUCKERT E.

Les hypertriglycéridémies : Un facteur méconnu de risque cardio-vasculaire. Pierre Fabre (1994) 172 pages

153- ZILVERSMIT D.B.

Atherogenic nature of triglycerides, postprandial lipidemia, and triglyceride-rich remnant lipoproteins Clin.Chem. (1995) 41/1 :153-158

154- BRUCKERT E., DAIROU F., DE GENNES J.L.

Complications cardio-vasculaires de l'hypertriglycéridémie endogène mineure. Arch.Mal.Coeur (1987) 11 :1587-1592

155- BRUCKERT E.

Stratégie thérapeutique devant une hypertriglycéridémie. Médecine thérapeutique (1995) 3 :287-295

156- CASTELLI WP, GARRISON RJ, WILSON PWF, ABBOT RD, KALOUSPIAN S, KANNEL WB

Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham study JAMA (1986) 256 :2835-2838

157- JENKINS P.J., HARPER R.W., NESTEL P.J.

Severity of coronary atherosclerosis related to lipoprotein concentration. Br.Med.J. (1978) 2 :388-391

158- HAMSTEN A., WALLDIUS G., DAHLEN G., JOHANSEN B., DE FAIRE U.

Serum lipoproteins and apolipoproteins in young male survivors of myocardial infarction. Atherosclerosis (1986) 59 :223-235

159- SALONEN J.T., SALONEN R., SEPPANEN K. et al.

HDL, HDL₂ and HDL₃ subfractions, and the risk of acute myocardial infarction : A prospective population study in Eastern Finnish men. Circulation (1991) 84 :129-139

160- ABBOT RD, WILSON PWF, KANNEL WB, CASTELLI WP

High density lipoprotein cholesterol, total cholesterol screening and myocardial infarction : The Framingham Study Arteriosclerosis (1988) 8 :207-211

161- MILLER NE, THELLE DS, FÖRDE OH, MJÖS OD

THE TROMSÖ HEART-STUDY : High density lipoprotein and coronary heart disease : A prospective case-control study . The Lancet (1977) 1 :965-970

162- GORDON DJ, KNOKE J, PROBSTFIELD L, SUPERKO R, TYROLER A

High density lipoprotein cholesterol and coronary heart disease in hypercholesterolemic men : The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial. Circulation (1986) 6 :1217-1986

163- MANNINEN V., HUTTUNUN JK, HEMONEN OP, TENKANEN L, FRICK H

Relation between baseline lipid and lipoprotein values and the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Heart study. Am.J.Cardiol.(1989) 63 :H42-H47

164- POCOCK S.J., SHAPER A.G., PHILLIPS A.N., WALKER M., WHITEHEAD T.P.

High density lipoprotein cholesterol is not a major risk factor for ischaemic heart disease in British men. Br.Med.J. (1986) 292 :515-519

165- MICCOLI R., BERTOLOTTA A., NAVALESI R. and al.

Compound heterozygosity for a structural apolipoprotein A-I variant, ApoA-I(L141R)_{ISA} And apolipoprotein A-I null allele in patients with absence of HDL cholesterol, corneal opacifications, and coronary heart disease. Circulation (1996) 94 :1622-1628

166- ZEIHNER A.M., SCHÄCHINGER V., HOHNLOSER H, SAURBIER B, JUST H

Coronary atherosclerotic wall thickening and vascular reactivity in humans : Elevated high density lipoprotein levels ameliorate abnormal vasoconstriction on early atherosclerosis. Circulation (1994) 89 :2525-2532

167- GORDON D.J., RIFKIND B.

High-density lipoprotein. The clinical implications of recent study. *New Engl.J.Med.* (1989)321/19 :1311-1316

168- DUCHASSAING D., DEZELLUS Ph. GUEN2E B. et al.

lipides et lipoprotéines dans l'artériopathie athéroscléreuse des membres inférieurs
Path.Biol. (1985)33/9 :881-885

169-BUCHWALD H, VARCO RADICAUX LIBRES, MATTS JP, ET COL.

Effect of partial ileal bypass surgery on mortality and morbidity from coronary heart disease in patient with hypercholesterolemia :Report of the program on the surgical control of the hyperlipidemias (POSCH)
New Engl.J.Med. (1990), 323 :946-955

170- EMMERICH J, BRUCKERT E., DELAHAYE F., THOMAS D, RICHARD JL

Relation entre HDL-cholestérol et maladies cardio-vasculaires
Arch.Mal.Coeur (1992) 85(III) :21-28

171- SHAH P.K., JATIN A ;

Low high density lipoprotein level is associated with increased restenosis rate after coronary angioplasty.*Circulation* (1992) 1279-1285

172- National Cholesterol Education Program (NCEP)

Second report of the expert panel on : Detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol , adults (Adult treatment panel II).*Circulation* (1994) 89, 3 :1329-1445

173-ATGER V.

Biochimie des dyslipoprotéïnémies : Nouvelles perspectives au-delà des marqueurs classiques
La revue du cardiologue praticien (1995) 2 :78-83

174-AUSTIN M, HOKANSON J, BRUNZELL D.

Characterization of low-density lipoprotein subclasses : methodology approaches and clinical relevance.*Current Opinion in lipidology* (1994) 5 :395-403

175- WELTY F.K., MITTLEMAN M.A., WILSON W.F., SUTHERLAND P

Hypobetalipoproteinemia is associated with low levels of hemostatic risk factors in the Framingham offspring population
Circulation (1997) 95 :825-830

176-SIMON A., SEGOND P., GIARD A.M., DEMURE B. et al.

Diagnostic précoce de l'athérosclérose silencieuse et dépistage des facteurs de risque cardio-vasculaire
La Presse Médicale (1993) 22 /22 :1033-1038

177- NEATON J.D., L. KULLER , WENTWORTH D., BORHANI N.O.

Total and cardiovascular mortality in relation to cigarette smoking, and diastolic blood pressure among black and white males followed up for five years.
Am. Heart J. (1984) 108-759-769

178-WILSON W.P., ANDERSON K.M., CASTELLI W.P.

Twelve -year incidence of coronary heart disease in middle-aged adults during the Era of hypertensive therapy : The Framingham offspring study
Am.J.Med. (1991) 90 :11-16

179- CARALIS D.G., DELIGONUL U., KERN M.J., COHEN J.D.

Smoking is a risk factor for coronary spasm in young women
Circulation (1992) 85 :905-909

180- INGALL TJ, HOMER D., BAKER HL, HOTTKE B.A., O'FALLON WM, WHISNAUT JP
Predictors of intracranial carotid artery atherosclerosis. Duration of cigarette smoking and hypertension are more powerful than serum lipid levels
Arch Neurol(1991),48 :687-691

181-DONNAN G.A., YOU R., THRIFT A., MAC NEIL J.
Smoking as a risk factor for stroke. Cerebrovasc. Dis. (1993),3 :129-138

182-VEYSSIER BELOT C
Tabagisme et risque cardio vasculaire. Sang Thrombose Vaisseaux (1995) 7 :297-304

183-SLYPER A., SCHECTMAN G
Coronary artery disease risk factors from a genetic and developmental perspective. Arch Intern Med (1994) ; 154 :633-638

184-GOODE G.K., MILLER J.P. ; HEAGERTY A.M ;
Hyperlipidaemia, hypertension, and coronary heart disease. The Lancet (1995) 345 :362-364

185- MEDDOUR S.E.
Insuffisance coronaire en milieu hospitalier. Etude des facteurs de risque « classiques » et étude liés à l'environnement..Thèse de doctorat en sciences médicales

186-Groupe de travail OMS/MNH sur les AVC et autres affections cérébrales
Rapport de l'organisation mondiale de la santé : AVC/STROKE
Recommandations pour la prévention, le diagnostic et le traitement des accidents vasculaires cérébraux
Expansion scientifique Française

187-GOLDSCHMID M.G., BARETT-CONNOR E., EDELSTEIN S.L., et al.
Dyslipidemia and ischemic heart disease mortality among men and women with diabetes. Circulation (1994) 89 :991-997

188- WINISZEWSKI P., PINGET M.
Obésité : épidémiologie, étiologie, diagnostic, évolution et pronostic, traitement. La revue du praticien (1991) 41/7 :651-656

189-ERICA RESEARCH GROUP
The CHD risk-MAP of Europe : the 1st report of the who-Erica project .European Heart J. (1988) 9 (Suppl.I)1-36

190- ROSENBAUM M., LEIBEL R.L., HIRSCH J.
Obesity New Engl.J.Med. (1997)337/6 :396-397

191-TAYLOR C.B., JATULIS D., FORTMAN S.P., KRAEMER H.C.
Weight variability effects : A prospective analysis from the Stanford five city Project
Am.J.Epidemiol (1995) 141/5 :461-465

192- EICHNER J E., DUNN S ., PERVEEN G., DAVID M. THOMPSON; KENNETH.
Apolipoprotein E Polymorphism and Cardiovascular Disease: A HuGE Review
American Journal of Epidemiology; ProQuest Medical Library,(2002)155, 6:487.

193-LAHLALI NK., BAMOU ., GUEDIRA A., HASSANI M., VISVIKIS S., SIEST G., ALAMI N.
Polymorphisme de l'apolipoprotéine E dans une population marocaine : fréquence allélique et relation avec les paramètres lipidiques plasmatiques Annal. de Biol. Clin. (2002) 60 1: 73-8.

194-MEDIENE-BENCHEKOR S., MEROUFEL D., BROUSSEAU T et a
Impact du polymorphisme ApoE/Hha I sur les lipides plasmatiques et l'infarctus du myocarde dans un échantillon de la population oranaise. Jam.(2004) XIII 4:173-177.

- 195- ORDOVAS JM, MAYER J, MCNAMARA JR, OTVOS JD, WILSON PFW.** Association between apo E alleles, remnant lipoproteins and VLDL subclass phenotypes in the Framingham Offspring Study. *Circulation* (1998)98 I : 790.
- 196- DAVIGNON J.** Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. In: Schwartz CJ, Born GVR, eds. *New horizons in coronary heart disease*. London: Current Science (1993)5.1: 5.21
- 197- LAHOZ C, SCHAEFER EJ, CUPPLES LA ET AL.** Apolipoprotein E genotype and cardiovascular disease in the Framingham Heart Study. *Ath* (2001)154:529-37.
- 198- CORBO RM, VILARDO T, RUGGERI M, GEMMA AT, SCACCHI R.** Apolipoprotein E genotype and plasma levels in coronary artery disease. A case-control study in the Italian population. *Clinical Biochemistry* (1999)32:217-22.
- 199- BOCKXMEER FM, MAMOTTE CDS.** Apolipoprotein ϵ_4 homozygosity in young men with coronary heart disease. *Lancet* (1992)340:879-80.
- 200-STENGÅRD JH, ZERBA KE, PEKKANEN J, EHNHOLM C, NISSINEN A, SING CF.** Apolipoprotein E polymorphism predicts death from coronary heart disease in a longitudinal study of elderly Finnish men. *Circulation* (1995)91:265-9.
- 201-STENGÅRD JH, WEISS KM, SING CF.** An ecological study of association between coronary heart disease mortality rates in men and the relative frequencies of common allelic variations in the gene coding for apolipoprotein E. *Hum.Genet.* (1998)103:234-41.
- 202- KUMAR P., LUTHRA K., DWIVEDI M., BEHL V.K., ET AL** Apolipoprotein E gene polymorphisms in patients with premature myocardial infarction: A case-controlled study in Asian Indians in North India. *Ann. of Clini Bioch.*4 (2003) 40 : 382.
- 203-ATILIA G, ACARTURK E, ESKANDARI G, AKPINAR O, et al.** Effects of apolipoprotein E genotypes and other risk factors on the development of coronary artery disease in Southern Turkey. *Clin Chim Acta* (2001) 312: 191-6
- 204- LENZEN HJ, ASSMANN G, BUCHWALSKY R, SCHULTE H.** Association of apolipoprotein E polymorphism, low-density lipoprotein cholesterol and coronary artery disease. *Clin Chem* (1986)325: 778-81.
- 205- GERDES LU, KLAUSEN IC, SIHM I, FÆRGE MAN O.** Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 other study populations around the world. *Genet.Epidemiol.* (1992)9:155-67.
- 206- DALLONGEVILLE J.** Apolipoproteine E: propriétés physiologiques, polymorphisme et athérosclérose. *Sang Thrombose Vaisseaux* (1993)5:707-17.
- 207-COUDERC R., BAILLEUL S.** L'apolipoprotéine E et ses allèles chez le sujet sain et au cours de l'athérosclérose *Ann. de Biol. Clin.*(1998) 6: 651-9.
- 208- GARENC C, AUBERT S, LAROCHE J, GIROUARD J, BERGERON J, ROUSSEAU F ET JULIEN P** Prévalence du polymorphisme de l'apolipoprotéine E (apoE) dans la population de la région de Québec par la technique du PCR-ASO. CRML et Unité de recherche en génétique humaine et moléculaire, CHUQ. Université Laval, Québec (2002).
- 209- ETO M, WATANABE K, MAKINO I.** Increased frequencies of apolipoprotein epsilon 2 and epsilon 4 alleles in patients with ischaemic heart disease. *Clin.Genet.* (1989)36:183-8.

- 210- KAMEDA K, MATSUZAWA Y, KUBO M et al.** Increased frequency of lipoprotein disorders similar to type III hyperlipoproteinemia in survivors of myocardial infarction in Japan. *Ath* (1984)51:241-9.
- 211- FERRIERES J, SING CF, ROY M, DAVIGNON J, LUSSIER-CACAN S.** Apolipoprotein E polymorphism and heterozygous familial hypercholesterolemia: Sex-specific effects. *Arterioscler.Thromb.* (1994)14:1553-60.
- 212- HALLMAN DM, BOERWINKLE E, SAHA N et al.**
The apolipoprotein E polymorphism: A comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am.J.Hum.Genet.* (1991)49:338-49.
- 213- DALLONGEVILLE J, LUSSIER-CACAN S, DAVIGNON J.**
Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: A meta-analysis. *J.Lipid Res.* (1992)33:447-54.
- 214- TOLOSA M, PEIRO S, REAL JT, CANO A, ASCASO JF, CARMENA R.** The influence of apo E phenotypes on the plasma triglycerides response to hormonal replacement therapy during the menopause. *Maturitas* 2 (2001) 40:173-81.
- 215- LUSSIER-CACAN S, BOUTHILLIER D, DAVIGNON J.** Apo E allele frequency in primary endogenous hypertriglyceridemia (Type IV) with and without hyperapobetalipoproteinemia. *Arteriosclerosis* (1985)5:639-43.
- 216- DALLONGEVILLE J, ROY M, LEOEUF N, XHIGNESSE M, DAVIGNON J, LUSSIER-CACAN S.**
Apolipoprotein E polymorphism association with lipoprotein profile in endogenous hypertriglyceridemia and familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis* (1991)11:272-8.
- 217 - SALAH D, BOHNET K, GUEGUEN R, SIEST G, VISVIKIS S.**
Combined effects of lipoprotein lipase and apolipoprotein E polymorphisms on lipid and lipoprotein levels in the Stanislas cohort. *J Lipid Res* (1997) 38:904–12.
- 218-GAMBOA R..et al**
Influence of the apolipoprotein E polymorphism on plasma Lipoproteins in a Mexican Population. *Human biology. ProQuest Medical Library* (2001) 73 6 :835
- 219- LAHOZ C, SCHAEFER EJ, CUPPLES LA et al.**
Apolipoprotein E genotype and cardiovascular disease in the Framingham Heart Study. *Ath* (2001)154:529-37.
- 220- NEWMAN MF, LASKOWITZ DT, WHITE WD et al.** Apolipoprotein E polymorphisms and age at first coronary artery bypass graft. *Anesth.Analg.* (2001)92:824-9.
- 221-DESPRÉS J-P, VERDON M-F, MOORJANI S et al.**
Apolipoprotein E polymorphism modifies relation of hyperinsulinemia to hypertriglyceridemia. *Diabetes*(1993)42:1474-81.
- 222-FUMERON F, RIGAUD D, BERTIERE MC, BARDON S, DELY C, APFELBAUM M.**
Association of apolipoprotein E4 isoform with hypertriglyceridemia. *Clin.Genet.* (1988)34:1-7.
- 223-SRINIVASAN SR, EHNHOLM C, ELKASABANY A, BERENSON GS.**
Apolipoprotein E polymorphism modulates the association between obesity and dyslipidemias during young adulthood: The Bogalusa Heart Study. *Metabolism* 2001;50:696-702
- 224-CAULEY JA, EICHNER JE, KAMBOH MI, FERRELL RE, KULLER LH.** Apo E allele frequencies

in younger (age 42-50) vs older (age 65- 90) women. Genet.Epidemiol. (1993)10:27-34.

225-KERVINEN K, SAVOLAINEN MJ, SALOKANNEL J et al. Apolipoprotein E and B polymorphisms--Longevity factors assessed in nonagenarians. Ath (1994)105:89-95.

226- CORDER EH, SAUNDERS AM, STRITTMATTER WJ et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. Science (1993)261:921-3.

227-. CAULEY JA, EICHNER JE, KAMBOH MI, FERRELL RE, KULLER LH. Apo E allele frequencies in younger (age 42-50) vs older (age 65- 90) women. Genet.Epidemiol. (1993)10:27-34.

228- KERVINEN K, SAVOLAINEN MJ, SALOKANNEL J et al. Apolipoprotein E and B polymorphisms--Longevity factors assessed in nonagenarians. Ath (1994)105:89-95.

229- CORDER EH, LANFELT L, VIITANEN M et al. Apolipoprotein E genotype determines survival in the oldest old (85 years or older) who have good cognition. Arch.Neurol.(1996)53:418-22.

230- FRISONI GB, LOUHIJA J, GEROLDI C, TRABUCCHI M. Longevity and the ϵ_2 allele of apolipoprotein E: The Finnish Centenarians Study. J.Gerontol.[A] (2001)56: M75-M78.

Annexe 1 :

Tableau : Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonction des principales apolipoprotéines humaines.(7,22)

NOM	Poids moléculaire en Da	Concentrations plasmatique	Tissu	Distribution	Fonction
Apo AI	28300	1.10 à 2g/l	foie, intestin	chylomicrons, HDL	Structurelle; activateur physiologique de la LCAT; efflux de cholestérol
Apo AII	17000	0.4g/l	Foie	HDL	Structurelle ; activateur/inhibiteur de la HL; efflux de cholestérol
Apo AIV	46000	0.15 g/l	foie, intestin	chylo, HDL	Transport reverse du cholestérol ; activateur de la LCAT ; métabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides
Apo AV			foie		Métabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides
Apo B ₁₀₀	550000	0.6 à 1.40g/l	foie	VLDL, IDL, LDL	Structurelle : synthèse et sécrétion des VLDL ; ligand du récepteur LDLR
Apo B ₄₈	264000	0.03 à 0.05 g/l	intestin	chylomicrons	Structurelle ; synthèse et sécrétion des chylomicrons ; ligand du récepteur B48R

Apo C _I	6300	0.04 à 0.06g/l	foie (intestin)	chylomicrons, VLDL, HDL	Inhibiteur physiologique de la CETP : activateur de la LCAT ; inhibiteur de la liaison aux LDLR, LRP et VLDLR
apo C _{II}	8800	0.03 à 0.05g/l	C _{II} foie (intestin)	chylomicrons, VLDL, HDL	Activateur physiologique (cofacteur)de la LPL
Apo C _{III}	8700	0.12 à 0.14g/l	foie (intestin)	Chylomicrons, VLDL, HDL	Inhibiteur physiologique de la LPL ; inhibiteur de la captation hépatique des lipoprotéines riches en TG
Apo D (apo A _{III})	33000	0.06 à 0.07g/l	foie, intestin, rate pancréas, cerveau, rein Surrénales	HDL, LDL, VLDL	Transport reverse du cholestérol ?
Apo E	34200	0.03 à 0.05g/l	foie, macrophage cerveau intestin surrénales	chylomicrons, VLDL, IDL, HDL	Ligand des récepteurs LDLR et LRP
Apo F			foie	LDL (VLDL, HDL)	Inhibiteur de la CETP
Apo G				HDL	?
Apo H (β2glycoprotéineI)				HDL	?
Apo J (clusterine)				HDL	Anti-inflammatoire
Apo L				HDL	?
Apo SAA				HDL, chylomic	Phase aiguë de l'inflammation

Annexe 2 : Le questionnaire:

Polymorphisme de l'apo E :

Nom : Prénom.....

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 3:

-Les valeurs normales du bilan lipidique

Cholestérol	1.50-2.10 g/l
Triglycérides	0.70-1.50 g/
C-HDL	> 0.38 g/l
C-LDL	< 1.30 g/

-Les étapes de l'extraction de l'ADN :

1- Préparation des leucocytes

- Dans un tube Falcon de 50 ml ; mettre le sang total (7-10 ml) et compléter à 45 ml avec du TE 20 :5. Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm).
- Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.
- Rajouter le TE 20:5 au culot jusqu'à 25-30 ml, agiter pour le remettre en suspension et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger dans les mêmes conditions précédentes.
- Déverser le surnageant : obtention d'un culot de leucocytes.
(Si on s'arrête à ce niveau, les mettre dans un tube nunc de 1.5 ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20°C dans un congélateur).

2- Extraction de l'ADN

- Décongeler les leucocytes.
- Centrifuger pendant 15 min à 3900 rpm
- dilacérer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (NaCl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2)
- Ajouter 200 µL de SDS à 10% (100 g SDS + 1000 ml H₂O)
- Ajouter 100 µL de protéinase K à 10 mg / ml.
- dans l'étuve, Agiter le tube sur une roue rotative à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain ; refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de NaCl 4 M et agiter rigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).

- Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml , ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu (100%) préalablement refroidi et agiter en tournant le tube plusieurs fois : **la formation de la méduse** visible à l'œil nu . (laisser éventuellement 30 min à -20°C si la pelote d'ADN ne se forme pas).
- Récupérer la pelote d'ADN par une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% dans un tube nunc (eppendorf) stérile.

3-Solubilisation de l'ADN :

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

Annexe 4

Tableau 7: Préparation du milieu réactionnel du PCR

Mix de PCR	Quantité en ml
Tampon de Taq 10X	7.5
DMSO	7.5
Mix de dNTP 25mM (au 1/10)	7.5
Taq polymerase 2.5 u	0.5
Mg Cl2 50mM	3
OG solution fille	1.2 (0.6 uM)
OD solution fille	1
H2O q.s.p 65 µl	47.3 (0.6 uM)
ADN	1 (250 ng/ µl)
Total du volume	75

- Oligonucléotides utilisées :

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

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

- Dilutions des solutions mères utilisées

- OG solution mère 0.93 mM (dilution 1/25)
OG solution fille : 3.7 µl de OG solution mère + 96.3 µl H₂O
- OD solution mère 1.11 mM
OD solution fille : 4.4 µl de OD solution mère + 95.6 µl H₂O
- dNTP solution mère
dNTP solution fille : 10 µl de dNTP solution mère + 90 µl H₂O

Tableau 9: Déroulement des cycles de la PCR dans le thermocycleur(ref

Nombre de cycles	Étape	Température (°C)	Durée
X 1	Dénaturation	94	5 min
	Hybridation	65	3min
	Elongation	72	5min
X 30	Dénaturation	94	50s
	Hybridation	65	50s
	Elongation	72	50s
		10	10 min
		4	5min-24 h

Annexe 5

Tableau 10: préparation du milieu de digestion par l'enzyme HhaI

Milieu de digestion	Quantité en ml
Tampon de l'HhaI	2.5
HhaI	1
H2O	6.5
Volume total	25

Tableau 11 : Préparation d'un gel d'acrylamide 10%


Composition de gel d'acrylamide 10%	Quantité
Acrylamide / bis 30% (19 :1)	25 ml
TBE 1X	7.5 ml
persulfate d'ammonium à 10% (NH ₄) ₂ S ₂ O ₈	350 µl
Temed (C ₆ H ₁₆ N ₂) N,N,N',N'.Tetramethylethylendiamin.	70 µl
H2O	42.5 ml
Volume total	75 ml

Dépôts des échantillons :

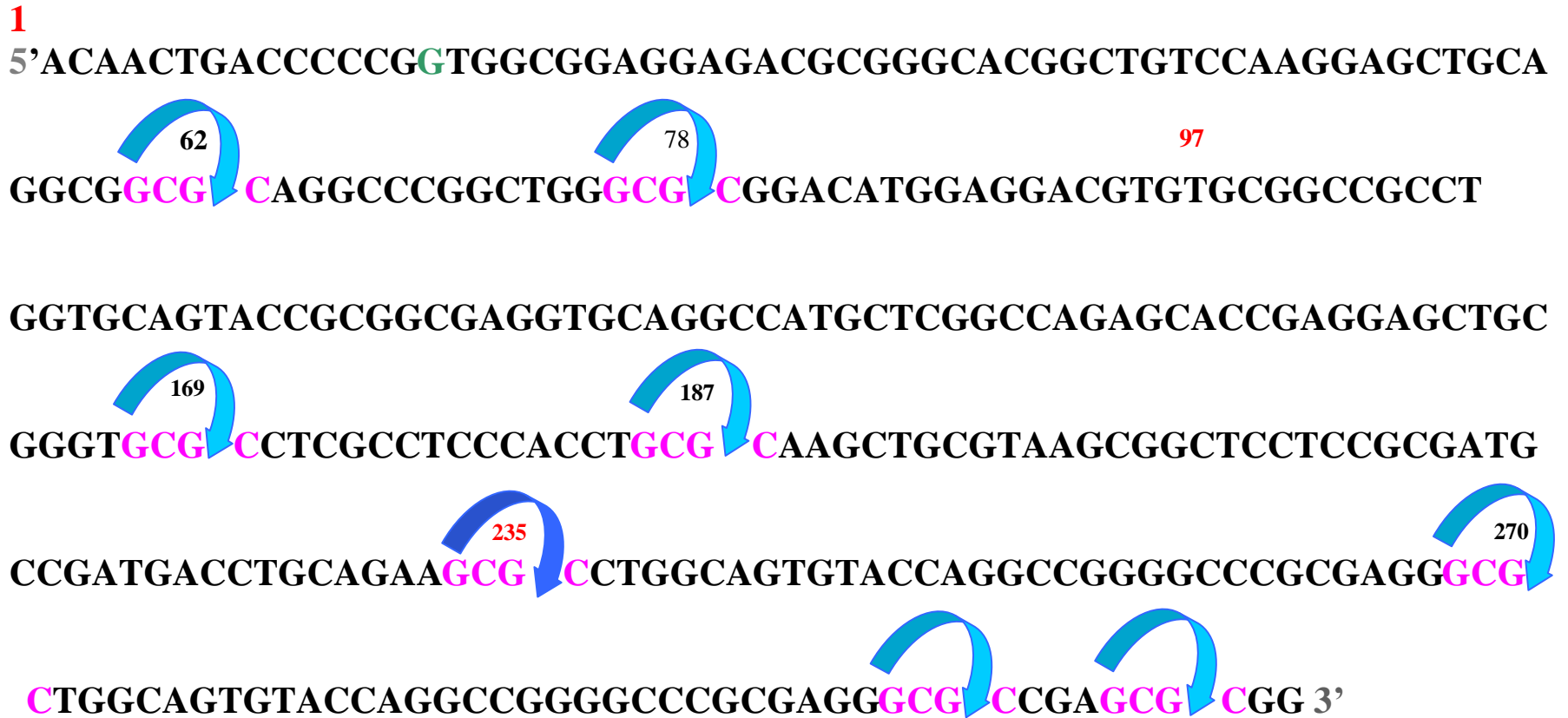
- 15 µl de produits de digestion + 2 à 3 µl de Bleu d'acrylamide.
- 2 µl de marqueur (PM 20pb LADDER ref.018206)+ 2 à 3 µl de Bleu d'acrylamide

Annexe 7

Sites de clivage par l'enzyme HhaI sur la séquence amplifiée de l'exon 4 du gène Apo e

- **GCGC** la séquence reconnue par HhaI
- La couleur ● de la séquence représente le fragment de restriction spécifique de chaque allèle.
-  Site de clivage par HhaI.
- **GTG** position de la mutation (GCG codant pour Cys → GTG codant pour Arg)
- sites de restriction reconnus par l'enzyme HhaI : (62 78. **97**. 169. 187. **235**. 270. 277. 288)

Apo – E3 (Cys112-Arg 158)



Apo - E4 (Arg112-Arg 158)

1

5'ACAAC**T**GACCCCCGGTGGCGGAGGAGACGCGGGCACGGCTGTCCAAGGAGCTGCA



GGCG**GCG** CAGGCCCGGCTGG **GCG** CGGACATGGAGGACGTG**GCG** GGCCGCCT

GGTGCAGTACCGCGGGCGAGGTGCAGGCCATGCTCGGCCAGAGCACCGAGGAGCTGC



GGGT**GCG** CCTCGCCTCCCACCT **GCG** CAAGCTGCGTAAGCGGCTCCTCCGCGATG

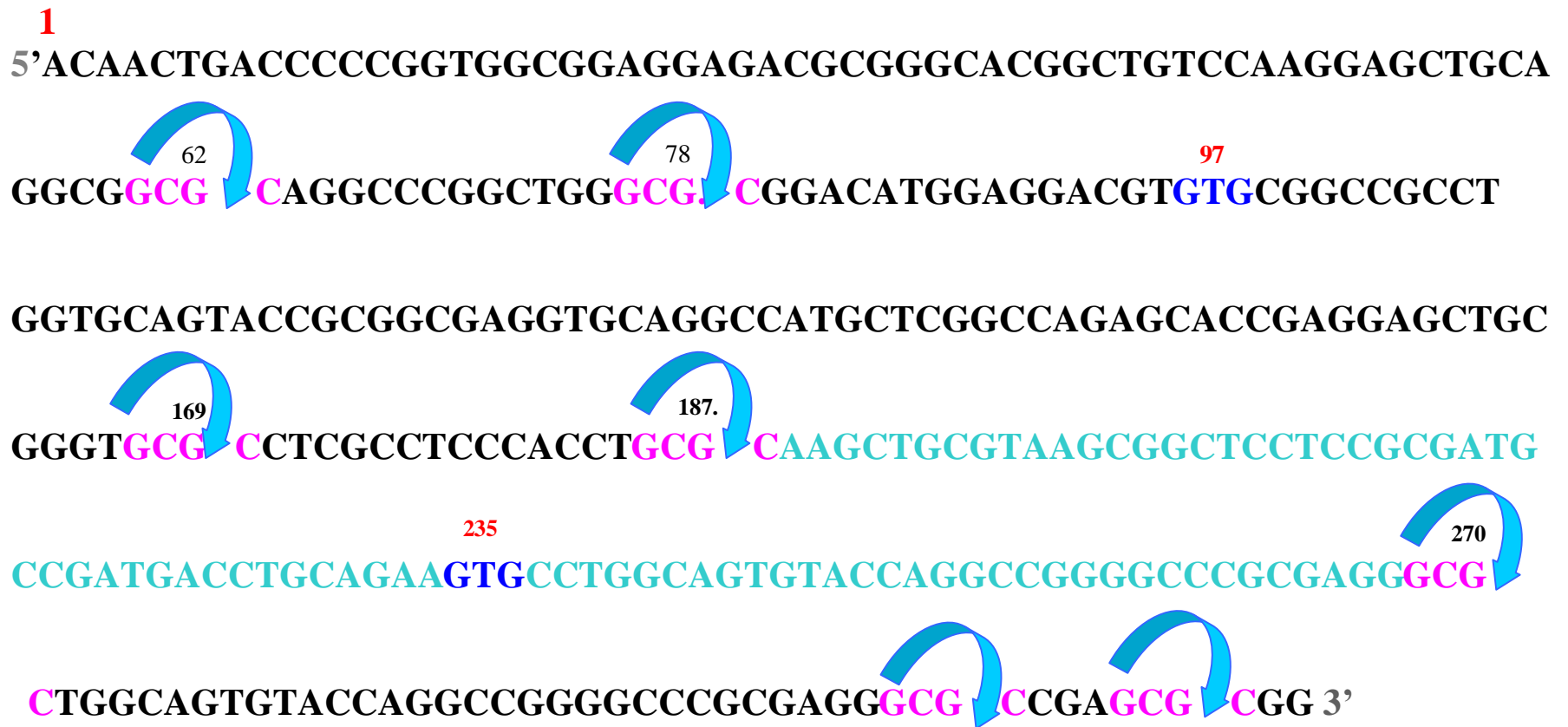


CCGATGACCTGCAGAA**GCG** CCTGGCAGTGTACCAGGCCGGGGCCCGCGAGG**GCG**



CTGGCAGTGTACCAGGCCGGGGCCCGCGAGG**GCG** CCGAG**GCG** CGG 3'

Apo – E2 (Cys112-Cys 158)



Annexe 6:

Séquence Nucléotidique (954 nt):

ATGAAGGTTCTGTGGGCTGCGTTGCTGGTCACATTCCTGGCAGGATGCC
AGGCCAAGGTGGAGCAAGCGGTGGAGACAGAGCCGGAGCCCGAGCTGCG
CCAGCAGACCGAGTGGCAGAGCGGCCAGCGCTGGGAACTGGCACTGGGT
CGCTTTTGGGATTACCTGCGCTGGGTGCAGACACTGTCTGAGCAGGTGC
AGGAGGAGCTGCTCAGCTCCAGGTCACCCAGGAACTGAGGGCGCTGAT
GGACGAGACCATGAAGGAGTTGAAGGCCTACAAATCGGAACTGGAGGAA
CAACTGACC CGGTG GCG GAGGAGACG CGGGCACGGCTGTCCAAGGAGC
TGCAGGCGGGCCAGGCCCGGCTGGGCGCGGACATGGAGGACGTGTGCGG
CCGCCTGGTGCAGTACCGCGGC GAGGTGCAGGCCATGCTCGGCCAGAGC
ACCGAGGAGCTGCGG GTG CGCCTCGCC TCCACCTGCGCAAGCTGCGTA
AGCGGCTCCTCCGC GATGCC GATGACCTGCAGAAGCGCCTGGCAGTGTA
CCAGGCCGGGGCCCGCGAGGGGCGCCGAGCGCGGCTCAGCGCCATCCGC
GAGCGCCTGGGGCCCCTGGTGGAACAGGGCCGCGTGCGGGCCGCCACTG
TGGGCTCCCTGGCCGGCCAGCCGCTACAGGAGCGGGCCAGGCCTGGGG
CGAGCGGCTGCGCGCGCGGATGGAGGAGATGGGCAGCCGGACCCGCGAC
CGCCTGGACGAGGTGAAGGAGCAGGTGGCGGAGGTGCGCGCCAAGCTGG
AGGAGCAGGCCAGCAGATACGCTGCAGGCCGAGGCCTTCCAGGCCCG
CCTCAAGAGCTGGTTCGAGCCCCTGGTGGAAAGACATGCAGCGCCAGTGG
GCCGGGCTGGTGGAGAAGGTGCAGGCTGCCGTGGGCACCAGCGCCGCC
CTGTGCCCAGCGACAATCACTGA

Traduction (317 aa):

MKVLWAALLVTFLAGCQAKVEQAVETEPEPEL RQQTEWQSGQRWELALG
RFWDYLRWVQTLSEQVQEELLSSQVTQEIRALMDETMKELKAYKSELEE
QLTPVAEETRARLSKELQAAQARLGADMEDVCGRLVQYRGEVQAMLGQS
TEELRVRLASHLRKLRKRLLRDADDLQKRLAVYQAGAREGAERGLSAIR
ERLGPLVEQGRVRAATVGS LAGQPLQERAQAWGERLRARMEEMGSRTD
RLDEVKEQVAEVRAKLEEQAQQIRLQAEAFQARLKSWFEP LVEDMQRQW
AGLVEKVQAAVGTSAAPVPSDNH

Les parties colorées représentent la séquence codante sur le gène et la protéine mature produite de l'Apo E.

Nom : ZIADA Prénom : HADIA	Date de soutenance 23/09/2006
TITRE : Polymorphisme de l'Apolipoprotéine E dans les infarctus du myocarde et la population générale de Constantine	
NATURE DU DIPLOME : Magister en génétique moléculaire	
RESUME : <p>L'objectif de cette étude est de déterminer le polymorphisme de l'Apo E dans la population générale de Constantine et dans l'IDM ainsi que son impact sur les concentrations des lipides sanguins et les facteurs de risque de la maladie cardiovasculaire.</p> <p>Les résultats de notre étude montrent que les fréquences des trois allèles ε3 (0.84), ε4 (0.11) et ε2 (0.05) présentent une distribution significativement différente au sein de notre population et aussi entre malades et témoins. Le génotype normal ε3/ε3 est le plus fréquent dans notre population en accord avec de nombreuses études. L'allèle ε4 est fortement exprimé chez les sujets d'IDM par rapport aux sujets de référence et il est associé à une augmentation significative des taux plasmatiques du cholestérol total et du LDL-C, cependant l'allèle ε2 exerce un effet contraire sur ces taux lipidiques.</p> <p>Ces résultats mettent en évidence une influence des génotypes de l'Apo E sur les concentrations des lipides plasmatiques, indiquant l'effet protecteur de l'allèle ε2, l'effet délétère de l'allèle ε4 et sa contribution comme facteur de risque dans les maladies cardiovasculaires.</p>	
Mots clés : Apo E, Athérosclérose, IDM, polymorphisme	
Laboratoire de recherche : laboratoire de biologie et génétique moléculaire.	

التغير الجيني للبروتين الشحمي Apo E عند مرضى احتشاء القلب و في عينة من سكان قسنطينة

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الأنماط الوراثية الناتجة عن التغير الجيني للبروتين الشحمي Apo E في عينة من سكان قسنطينة و في فئة من مرضى احتشاء القلب و تعيين أثره على تركيز الد سم المصلية والعوامل المعرضة للإصابة بالأمراض الوعائية القلبية.

أوضحت نتائج الدراسة أنّ توزيع نسب الأليلات $\epsilon 3$ (0.84)، $\epsilon 4$ (0.11) و $\epsilon 2$ (0.05) يشكل اختلاف ذو دلالة سواء في عينة السكان نفسها أو بين عينة السكان و فئة المرضى باحتشاء القلب.

توافقا مع دراسات عالمية سابقة، وجد أنّ النمط الوراثي العادي $\epsilon 3/\epsilon 3$ يتواجد بكثافة في العينات المدروسة ، في حين أنّ الأليل $\epsilon 4$ المكون خاصة للنمط الوراثي $\epsilon 3/\epsilon 4$ يتواجد في العينة المريضة بنسبة أكثر منها في عينة السكان بالمقارنة مع النمط العادي $\epsilon 3/\epsilon 3$ كما أثبت أنّه يواكب ازدياد في تراكيز الكلسترول الكلي و الكلسترول LDL عند الفئة المريضة بينما يعمل $\epsilon 2$ عكس ذلك بتأثير أقل .

خلصت هذه الدراسة أنّه بالإضافة إلى العوامل الأخرى المعرضة للإصابة بالأمراض الوعائية القلبية يشكل التغير الجيني للبروتين الشحمي Apo E أثرا على اختلاف النسب الشحمية المصلية حيث يشكل الأليل $\epsilon 4$ عاملا معرضا للإصابة بالمرض في حين يشكل الأليل $\epsilon 2$ عاملا حاميا منها.

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

Apolipoprotein E polymorphism in myocardial infarction and in Constantine population

Abstract

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

A significantly different distribution of Apo E allelic frequencies ϵ_3 (0.84), ϵ_4 (0.11) and ϵ_2 (0.05) has been found in our population and between cases of MI and example cases.

The ϵ_3/ϵ_3 normal genotype is the most frequent in our population. The ϵ_4 allele is more represented in MI patients and it is associated with increase of total cholesterol and LDL- C levels in plasma. however the ϵ_2 allele has an effect inverse.

These results demonstrate an influence of apo E alleles on serum lipids concentrations and indicate a deleterious effect of ϵ_4 allele and a protector effect of ϵ_2 allele in cardiovascular disease .

Key words: Apo E, Atherosclerosis , MI, polymorphism

Remerciement

Je témoigne que

c'est par la grâce de dieu le tout puissant et miséricordieux, d'aide incessante, qu'il m' a porté et d'orientation imminente qu'il m' a accordé pour achever ce travail.

Remerciements

Mes sincères remerciements s'adressent :

A mon encadreur **Professeur Nouredine ABADI** Directeur de laboratoire de biologie moléculaire au CHUC pour son attention ,générosité scientifique et compréhension. Qu'il trouve ici le témoignage de ma haute considération et de mon profond respect.

A **docteur Karima SIFI** au CHUC de m'avoir guidé et encouragé au cours mon travail, également pour sa gentillesse,disponibilité et sa patience.

Au **professeur Dalila SATTA** au département des sciences de la nature et de la vie et responsable de la filière de Génétique pour son dévouement,suivi et encouragements durant toute notre formation. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma haute considération et de mon profond respect.

Au **professeur Cherifa BENLATRACHE** Directrice de laboratoire biochimie (CHUC) et unité de recherche d'avoir accepté de juger ce travail et m' honoré de sa présidence du jury.

Au **professeur Dalila NAIMI** professeur au département des sciences de la nature et de la vie pour son encouragement et d'avoir accepté de juger ce travail.

A **docteur Abdelkader ROUABAH** maître de conférence au département des sciences de la nature et de la vie pour son encouragement et d'avoir accepté de juger ce travail

A tout le personnel de laboratoire de l'hormonologie notamment :

- Abla et Manel pour leur aide précieuse
- M^{me} Zoubida chef de service , M^r Brihmat ,Yassmina et Nawel
- M^r Khodja Djamel , Mr Boulekroun Zaher et Mr Ouldjiaoui Ahmed pour leur aide,encouragements et disponibilité.

A tout le personnel des services de cardiologie et de réanimtion notamment :

- M^r Bouguettaya Mohamed pour sa disponibilité et aide précieuses
- Zahia ,Hassen et Yassine

A tous ceux qui ont contribué dans ma formation de prés ou de loin : mes enseignants à l'Université , M^r Benguedouar , M^{me} Rouabah, M^{me} Bencheriat, Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma gratitude.

Sommaire

ABREVIATION.

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I- LIPIDES ET LIPOPROTEINES

1- Lipides.....	3
1-1- Définition	3
1-2- Rôle des lipides.....	3
1-2-1- Rôle structural et fonctionnel.....	3
1-2-2- Rôle énergétique.....	4
1-2-3- Rôle métabolique.....	4
1-3- Principaux lipides étudiés.....	4
2- Lipoprotéines:.....	4
2-1- Structure et fonction des lipoprotéines :	4
2-2- Apolipoprotéines	7
2-3- Métabolisme des lipides et des lipoprotéines	9
2-3-1- Voie exogène	9
2-3-2- Voie endogène	10
2-3-3- Voie de retour	10

II-ATHEROSCLEROSE ET LIPOPROTEINES

1- Athérosclérose.....	12
1-1- Historique.....	12
1-2- Définition.....	12
1-3- Evolution du processus d'athérogenese.....	12
1-3-1- Structure d'une artère normale	12
1-3-2- Théories de l'athérosclérose	12

1-3-2-1- Théorie d'incrustation.....	12
1-3-2-2- Théorie lipidique	13
1-3-2-3- Théorie d'une réponse à une lésion endothériale.....	14
1-3-2-4- Théorie monoclonale de BENEDITT et BENEDIT	14
1-3-3- Mécanisme moléculaire athéromateux	14
1-3-4- Développement morphologique et anatomopathologique	16
1-3-4-1- Lésions pré-athéroscléreuses.....	16
1-3-4-2 - Plaque d'athérosclérose non compliquée.....	17
1-3-4-3- Plaque d'athérosclérose compliquée.....	18
2- Infarctus du myocarde.....	19
2-1 - Définition.....	19
2-2- Données épidémiologiques.....	20
2-3- Etiologie et facteurs de risque.....	21
2-3-1- Les facteurs de risque constitutionnels	21
2-3-1-1 - Age	21
2-3-1-2- Sexe	21
2-3-1-3- Hérité et Antécédents familiaux	21
2-3-2- Facteurs de risque environnementaux.....	21
2-3-2-1-Tabagisme	21
2-3-2-2- Régime alimentaire.....	22
2-3-2-3-Obésité.....	22
2-3-2-4- Sédentarité.....	22
2-3-2-5- Facteurs psychosociaux.....	22
2-3-2-6- Diabète.....	22
2-3-2-7- Dyslipidémies.....	23
2-3-2-8- Hypertension artérielle.....	23
3- Métabolisme des lipoprotéines chez les sujet présentant un IDM.....	23
3-1- Rôle proathérogène des LDL.....	23
3-2- Modifications des LDL.....	23
3-3- Oxydation des LDL.....	23
3-4- Rôle anti athérogène des HDL.....	26

III : APO E ET POLYMORPHISME GENETIQUE

1- Historique :	27
2- Génétique de l'Apo E.....	27
2-1- Gène de l'Apo E	27
2-2- Modifications post-traductionnelles de l'Apo E.....	28
3- Protéine Apo E :.....	29
3-1- Structure de l'Apo E.....	29
3-2- Isoformes de l'Apo E.....	30
3-3- Rôle de l'Apo E :.....	31
3-4- Biosynthèse et distribution tissulaire de l'Apo E :.....	34
3-5- Récepteurs de l'Apo E :.....	34
4- Polymorphisme de l'Apo E et athérosclérose.....	36
4-1- Impact du polymorphisme de l'Apo E sur le métabolisme lipidique :	37
4-2- Relation polymorphisme de l'Apo E et facteurs de risques cardiovasculaires.....	38

PARTIE PRATIQUE

PATIENTS ET METHODES.....	40
Recrutement des individus	40
1- prélèvement sanguin.....	41
2- Questionnaire et Enregistrements:.....	41
2-1-Questionnaire.....	41
2-2-Enregistrement.....	41
3- Méthodes de dosage des paramètres lipidiques	41
3-1- Séparation du sérum.....	42
3-2- Manipulation sur le sérum.....	42
3-2-1- Dosage du cholestérol total.....	42
3-2-2- Dosage de triglycérides	42
3-2-3- Dosage du cholestérol HDL	43
3-2-4- Évaluation du cholestérol des LDL	43

3-3-Essai de standardisation des technique.....	43
3-3-1- Le contrôle de qualité.....	43
3-3-2- Répétabilité.....	43
3-3-3- La reproductibilité.....	44
4- Manipulation sur le sang total	44
4-1- Extraction de l'ADN.....	44
4-2-Détermination de la pureté et la concentration de l'ADN :.....	44
4-2-1-Détermination de la pureté :.....	44
4-2-2- Détermination de la concentration de l'ADN :.....	45
5- Génotypage de l'Apo E	46
5-1- La PCR (Polymérase Chaîne Réaction)	46
5-1-1- Préparation du milieu réactionnel de PCR.....	46
5-1-2- Déroulement des cycles de la PCR	46
5-1-3- Contrôle des produits de la PCR.....	46
5-2-Digestion des produits de PCR.....	47
5-2-1- Condition de migration	47
5-2-2- Profils RFLP obtenus.....	49
6-Analyse statistique.....	50
RESULTATS ET DISCUSSION.....	54
1- Répartition des sujets selon l'age et le sexe.....	54
1-1- Les sujets témoins.....	54
1-2- Les sujets malades.....	55
2- Etude des paramètres lipidiques dans la population de référence.....	56
2-1-Le cholestérol.....	56
2-2- Les triglycérides.....	57
2-3- Le cholestérol –HDL.....	58
2-4- Le cholestérol –LDL.....	60
3 -Paramètres lipidiques et IDM.....	61
3-1- Le cholestérol	61
3-2- Les triglycérides :.....	62
3-3- Le cholestérol –HDL.....	67

3-4- Le cholestérol –LDL.....	72
4- Les facteurs de risques cardiovasculaires.....	73
4-1-Le tabagisme.....	73
4-2-L'hypertension artérielle (HTA).....	74
4-3-Le diabète.....	75
4-4-L'obésité.....	76
5-Fréquences génotypiques et alléliques de l'Apo E.....	77
5-1-Répartition des fréquences génotypiques dans les deux groupes.....	77
5-2- Répartition des fréquences alléliques dans les deux groupes.....	80
6- Influence du polymorphisme sur les paramètres lipidiques.....	83
7- Polymorphisme et risque cardiovasculaire.....	88
8- Apo E et age.....	92
CONCLUSION.....	93
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	95
ANNEXES	