

**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 de biologie animale**

N° d'ordre.....

N° de série.....

**Mémoire**

*En vue de l'obtention du diplôme de magister en biologie moléculaire et  
cellulaire*

*Option: génétique des pathologies humaines*

*Présenté par : M<sup>elle</sup> Amari Hanane*

**THEME**

*L'Association entre le polymorphisme de  
l'Apolipoprotéine E, le profil lipidique sérique et  
la maladie d'Alzheimer .*

*Directeur de thèse Prof. A. HAMRI*

***Devant le jury:***

<b>Président :</b>	<b>N. ABADI</b>	<b>Prof. CHU DE CONSTANTINE</b>
<b>Rapporteur:</b>	<b>A. HAMRI</b>	<b>Prof. CHU DE CONSTANTINE</b>
<b>Examineurs :</b>	<b>D. SATTI</b>	<b>Prof. UNIVERSITE DE CONSTANTINE</b>
	<b>C. BENLATRECHE</b>	<b>Prof CHU DE CONSTANTINE</b>
	<b>D. KOUDJA</b>	<b>M.C. UNIVERSITE DE CONSTANTINE</b>

*Année Universitaire: 2007/2008*

# *Remerciements*

*Mes sincères remerciements s'adressent*

*À mon encadreur le professeur A. Hamri d'avoir accepté de diriger ce travail*

*À mon professeur Nouredine ABADI Directeur de laboratoire de biologie moléculaire au CHUC pour son attention générosité scientifique et compréhension*

*À Ouldjaoui Ahmed au CHUC de m'avoir guidé et encouragé au cours de mon travail, également pour sa gentillesse, disponibilité et sa patience.*

*Au professeur Cherifa BENLATRACHE Directrice de laboratoire biochimie (CHUC) et unité de recherche d'avoir acceptée de juger ce travail*

*Au professeur Dalila SATTI au département des sciences de la nature et de la vie et pour son dévouement, suivi et encouragements durant toute notre formation  
Qu'elle trouve ici le témoignage de ma haute considération et mon profond respect.*

*M<sup>r</sup> Brihmat, DrKohil, Dr Sifi Karima, et Sifi Yamina pour Leur aide, encouragements et disponibilités.*

*Au M<sup>r</sup> M<sup>r</sup> Khodja Djamel d'avoir accepté de juger ce travail.*

*À tout le personnel de laboratoire de l'hormonologie notamment:*

*- Abla et Manel masouda pour leur aide précieuse*

*- M<sup>me</sup> Zoubida chef de service, Yassmina*

*A tous ceux qui ont contribué dans ma formation de près ou de loin: mes enseignants à L'université, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma gratitude.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail:*

*À mes très chers parents: Amar et Habiba.*

*À ma soeur: Asma.*

*À mon frère: Ahmed.*

*À toute ma grande famille: mes oncles, mes tantes,  
Mes cousines.*

*À toutes mes amies surtout: Rima, Imen, Hassiba, et Asma.*

*À tout le groupe de ma promotion*

*À tout ceux et celles qui m'ont encouragés, entourés de leur soutien  
durant les moments difficiles avec tant d'amour et de compréhension.*

# Sommaire

## Abréviation

Introduction .....	1
--------------------	---

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### I- LA MALADIE D'ALZHEIMER

1. Historique .....	3
2. Symptômes et évolution de la maladie .....	3
3. Le diagnostic .....	3
4. Physiopathologie .....	4
4.1. Les dépôts amyloïdes .....	4
4.1.1. Les plaques séniles .....	4
4.1. 2. Angiopathie amyloïde .....	5
4.2. Les dégénérescences neurofibrillaires (DNF).....	5
4.3. L'atrophie corticale .....	5
5- mécanismes moléculaires de la maladie.....	6
5.1. Les mécanismes de formation du peptide A $\beta$ .....	6
5.1.1. Expression et Hétérogénéité de l'APP .....	6
5.1.2. Le catabolisme du précurseur des peptides amyloïde.....	7
5.1.2.1. La voie non- amyloïdogénique .....	8
5.1.2.2. La voie amyloïdogénique .....	8
5-2- Hypothèse de la cascade amyloïde .....	9
5.3. mécanismes de formation des (DNF).....	10
5.3.1. Hyperphosphorylation de la protéine TAU .....	10
6. Causes et facteurs de risque .....	12
6.1. Les mutations dans le gène précurseur amyloïde.....	13

6.2. Gènes des préséniline .....	13
6.2.1. Gène et mutation de la La préséniline 1 .....	13
6.2.2. Gène et mutation de la préséniline 2 .....	15
6.3. Autres facteurs de risque .....	15
<b>II- APOLIPOPROTEINE E ET LA MALADIE D'ALZHEIMER</b>	
1- Apolipoproteine E .....	17
1.1. Le gène de l'apo E.....	17
1.2. La protéine apo E et ses modifications post-traductionnelles...	17
1.3. Structure .....	18
1.4. Polymorphisme de l'apoE .....	19
1.5. Distribution tissulaire .....	20
1.6. Les récepteurs de l'apo E.....	20
1.7. Rôle de l'apoE.....	21
1.8. L'apoE dans le système nerveux .....	21
2. Apolipoprotéine E et maladie d'Alzheimer .....	22
2.1. Apo E et lésions de la maladie .....	22
2.2. Apo E et peptide amyloïde .....	23
2.3. Apo E: cofacteur de l'amyloïdogénèse.....	23
2.4. Apo E: élimination du peptide amyloïde.....	24
2.5. Apo E et protéines du cytosquelette .....	25
2.6. Expression et polymorphismes du promoteur de l'apoE.....	26
<b>METABOLISME LIPIDIQUE ET ALZHEIMER</b>	
1. LIPIDES ET LIPOPROTEINES :.....	27
1.1 Principaux lipides étudiés :.....	27
1.1.1. Les triglycérides et acides gras .....	27
1.1.2. Cholestérol .....	28
2. Les lipoprotéines .....	30
2.1. Structure générale des lipoprotéines .....	30
3. Les apolipoproteines .....	31

<b>4. Métabolisme des lipides et lipoprotéines .....</b>	<b>32</b>
<b>4.1 Voie exogène (entéro-hépatique) .....</b>	<b>32</b>
<b>4.2. Voie endogène d'apport.....</b>	<b>33</b>
<b>4.3. Voie de retour.....</b>	<b>35</b>
<b>5. Association lipides Alzheimer .....</b>	<b>36</b>
<b>5.1. Le cholestérol et le métabolisme de l'AB .....</b>	<b>36</b>
<b>5.2. La phosphorylation de la protéine tau et les DNF.....</b>	<b>38</b>
<b>5.3. Les gènes du métabolisme du cholestérol .....</b>	<b>39</b>

## PARTIE PRATIQUE

<b>METHODOLOGIE .....</b>	
<b>1. le prélèvement .....</b>	<b>41</b>
<b>2. Le questionnaire .....</b>	<b>42</b>
<b>2-1- enregistrement .....</b>	<b>42</b>
	<b>42</b>
<b>3. Méthodes de dosage des paramètres lipidiques.....</b>	
<b>3.1. Dosage du cholestérol .....</b>	<b>42</b>
<b>3.2. Dosage des triglycérides .....</b>	<b>42</b>
<b>3.3. Le cholestérol HDL .....</b>	<b>43</b>
<b>3.4. Cholestérol LDL .....</b>	<b>44</b>
	<b>44</b>
<b>5. Extraction de l'ADN.....</b>	
<b>5.1. Introduction.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2. Etape d'extraction d'ADN .....</b>	<b>45</b>
<b>5.2.1. Préparation des leucocytes.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2.2. Extraction de l'ADN.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2.3. Détermination de la pureté et la concentration de .....</b>	<b>45</b>
<b>5.2.3.1. Détermination de la pureté .....</b>	<b>47</b>
<b>5.2.3.2. Détermination de la concentration de l'ADN.....</b>	<b>47</b>
<b>6. Génotypage de l'Apo E :.....</b>	<b>48</b>
<b>6.1. Amplification d'ADN par réaction de polymérisation (PCR)..</b>	<b>48</b>
	<b>48</b>

6.1.1 Introduction .....	48
6.1.2. Principe de la PCR.....	48
6.2. Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR.....	49
6.3. Condition d'amplification .....	50
6.4.. Contrôle de La taille des fragments amplifiés .....	50
7. La digestion du produit de PCR .....	51
7.1. Clivage des produits de PCR .....	52
7.2. Electrophorèse des fragments de restriction .....	52
7.2.1 Préparation d'un gel d'acrylamide 10%.....	52
7.2.2. Dépôts des échantillons .....	53
7.2.3. Révélation du profil électrophorétique .....	53
8. Analyse statistique .....	55
8.1. Statistique descriptive .....	55
8.2. Tests de comparaison de variances .....	55
8.3. L'enquête analytique .....	55
8.4. Calcul de l'odds ratio .....	56
8.5. Les intervalles de confiance.....	57
8.6. Choix de la "p value " .....	57
 <b>RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
1- Répartition des sujets selon la pathologie et le sexe .....	59
2- Répartition en tranche d'age .....	60
3- MMSE et L'évaluation du statut cognitif .....	62
4- L'étude génétique de l'APOE .....	63
4-1 Répartition des fréquences alléliques et génotypique .....	63
4-2- Les fréquences génotypiques de l'Apo E .....	66
4-3- Influence des fréquences génotypiques et alléliques sur La MA .....	69
4-4- Répartition selon le nombre de copies .....	71
5- Etude des autres facteurs de risque .....	73
5-1- Le niveau d'étude .....	73

<b>5.2. Les traumatismes crâniens .....</b>	<b>75</b>
<b>5.3. Dépression .....</b>	<b>76</b>
<b>5.4. Etude des facteurs de risque vasculaires dans la MA .....</b>	<b>77</b>
<b>5.4.1. Le tabagisme et l'alcool.....</b>	<b>78</b>
<b>5.4.1.1. Le tabagisme .....</b>	<b>78</b>
<b>5.4.1.2. Alcool .....</b>	<b>78</b>
<b>5.4. 2. Le diabète .....</b>	<b>80</b>
<b>5.4.3. L'hypertension artérielle (HTA) .....</b>	<b>80</b>
<b>6. Etude du Profil lipidique .....</b>	<b>82</b>
<b>6-1- Le cholestérol .....</b>	<b>83</b>
<b>6-2- Les HDL.....</b>	<b>86</b>
<b>6-3- Les LDL.....</b>	<b>87</b>
<b>6-4- Les triglycérides.....</b>	<b>88</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>89</b>
<b>Références .....</b>	<b>92</b>
<b>Annexes</b>	

# *Abréviations*

AD: Alzheimer disease

ADRDA : Alzheimer Disease and Related Disorders Association

AGPI: Acides gras poly-insaturés

Apo : Apoprotéine

APP : Amyloid protein precursor

A $\beta$ : peptide  $\beta$  amyloïde

AVC: accident Vasculaire Cérébral

CETP : protéine de transfert des esters de cholestérol

CL : cholestérol libre

CM : chylomycron

CML : cellule musculaire lisse

DCL : déclin cognitif léger

DNF : dégénérescences neurofibrillaires

DSM IV: Diagnostic and statistical Manual of Mental Disorders Fourth Edition

EC: esters de cholesterol

EOAD: early onset Alzheimer diseases

HDL: high density lipoprotein

IDL: intermediate density lipoprotein

LCAT: Lecithin cholesterol acyltransferase

LDL: low density lipoprotein

LH: lipase hépatique

LOAD: Late onset Alzheimer diseases

Lp (a): lipoprotéine (a)

Lp: lipoprotéine

LPL: lipoprotéine lipase

LRP: LDL receptor-related protein

LRP: low density related protein

MA : Maladie d' Alzheimer

MAP : microtubule-associated proteins

MMSE : Mini Mental Status Examination

NINCDS : National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke

PFH : paires de filaments hélicoïdaux

PKC : phospho-kinases à calcium

PPAR: peroxisome proliferator-activated receptors

PS : plaques séniles

R-LDL : récepteur des LDL

Tau: tubule associated unit

TG: triglyceride

VLDL: very low density lipoprotein

## Introduction :

La maladie d'Alzheimer est la cause la plus fréquente des démences du sujet âgé, c'est une affection hétérogène tant sur le plan clinique que génétique, son expression est le résultat de multiples facteurs génétiques et environnementaux.

L'évolution démographique et le vieillissement progressif de la population laissent supposer que la maladie d'Alzheimer va devenir, dans les vingt prochaines années, un problème majeur de santé publique et de société (1).

Actuellement, elle affecte 15 millions d'individus à travers le monde (1), aux États-Unis, le nombre de sujets touchés est estimé à 4 millions. En France, la MA affecte 5 à 10 % de la population de plus de 65 ans (350 000 cas). Cependant, sa prévalence augmente avec l'âge, premier facteur de risque, pour toucher environ 30 % des sujets de plus de 90 ans (2), Ces chiffres devraient au moins doubler d'ici 2020 (3).

En Algérie, la MA est encore sous-estimée, elle est restée longtemps dans l'ombre, et a souffert d'un manque de reconnaissance qui a certainement limité les moyens mis en œuvre pour faire face au défi douloureux auquel les familles sont confrontées. Le diagnostic lorsqu'il est fait, intervient souvent tardivement. Les premiers symptômes cognitifs sont encore largement considérés comme des signes de vieillissement normal. En outre, ils surviennent fréquemment chez des patients atteints de multiples affections, que l'on juge à tort responsables de l'affaiblissement intellectuel.

La MA est multifactorielle, la composante génétique y est importante, à ce jour 4 déterminants ont été identifiés. Dans les formes familiales (représentant 1 % des 30% des cas à début précoce), les gènes mis en causes sont localisés sur le chromosome 21 (gène de l'APP), 1 (gène de présiniline 2), et 14 (gène de présiniline 1), dans ces formes, la maladie ségrège selon le mode autosomique dominant. Dans les formes tardives sporadiques, les plus fréquentes (environ 70 % des cas) de nombreux facteurs génétiques et environnementaux agissent seuls ou en synergie induisant probablement une susceptibilité individuelle au développement de ces formes (4).

De nombreuses études ont montré que l'allèle  $\epsilon 4$  de l'Apo E est un facteur de risque pour cette maladie et qu'il existerait une relation entre le nombre d'allèles  $\epsilon 4$  et l'incidence de la MA, le risque de développer la maladie est multiplié par 3 pour un hétérozygote et par 8 pour un homozygote  $\epsilon 4$  (4).

La pathogénicité potentielle de l'allèle  $\epsilon 4$  de l'Apo E est complexe. Plusieurs hypothèses sont actuellement proposées pour l'expliquer, en dehors d'une action directe de l'APOE sur la formation des dépôts amyloïdes, de nombreuses autres hypothèses ont été formulées. Elles sont fondées sur le métabolisme des lipides, le développement d'une réponse inflammatoire ou encore une toxicité propre des produits du métabolisme de l'APOE (5).

De récentes études sur l'épidémiologie et la pathogénie de la maladie ont suggéré l'existence d'un lien puissant entre facteurs de risque vasculaires, pathologie cérébrovasculaire et maladie d'Alzheimer. De plus, il a été suggéré que si ces facteurs de risque vasculaires étaient présents à l'âge mûr, ils pouvaient augmenter le risque d'apparition d'une MA à début tardif. Il y a actuellement de nombreuses preuves sur le rôle que peuvent jouer les facteurs vasculaires dans la MA ou dans la démence mixte (maladie d'Alzheimer et lésions vasculaires cérébrales) (6) (7).

Plusieurs chercheurs ont étudié la relation entre les lipides sériques et la MA. À ce jour, le rôle des niveaux élevés ou abaissés du cholestérol total, des triglycérides et des lipoprotéines en tant que facteurs de risque, demeure obscur. Deux hypothèses principales sont avancées actuellement ; elles se fondent sur une modification du métabolisme du précurseur du peptide amyloïde et sur une anomalie de régénérescence neuronale associée à une atteinte spécifique du système cholinergique (6) (7).

L'identification des mécanismes vasculaires responsables de la démence doit permettre d'envisager de nouvelles pistes pour prévenir ou retarder son apparition et la connaissance du polymorphisme de l'apoE devient un élément à prendre en considération pour confirmer le diagnostic de la maladie, ainsi que pour une meilleure adaptation thérapeutique. (7)

Notre étude a pour objectifs :

- Déterminer le génotype Apo E, les fréquences alléliques  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$ , du groupe de sujets atteints et les comparer avec ceux du groupe de sujets témoins.

§ Entrevoir la liaison entre les différents génotypes et le risque de la MA.

- Comparer le profil lipidique sérique des sujets atteints de la MA par rapport aux sujets témoins

§ Faire une étude non exhaustive des facteurs de risque de la M.A.

## **1. Historique :**

C'est en 1902 qu'Aloïs Alzheimer observe une patiente (Augusta. D) âgée de 51 ans résidante dans l'hospice municipal de Frankfurt qui présente un délire suivi d'une désintégration des fonctions intellectuelles ne pouvant pas être expliqués par la médecine de l'époque, six ans plus tard en 1907 (4), il publie l'étude anatomo-clinique de la malade décédée après une évolution progressive de 4 ans et six mois dans un grand tableau démentiel avec désorientation et hallucinations, l'article est intitulé «A propos d'une étrange maladie du cortex cérébral» (8) (9).

Après L'étude histologique du cerveau de la patiente Alzheimer découvre la signature anatomique de la maladie et l'intitule «dégénérescences neuro-fibrillaires» (10). À la suite de cette première observation, c'est Kraepelin qui, en 1912 (9) dans son traité de psychiatrie parle pour la première fois de la « maladie d'Alzheimer » définie alors comme une démence du sujet jeune, rare et dégénérative. Il fallait attendre le dernier tiers du XXe siècle pour que les connaissances relatives à la maladie d'Alzheimer s'affinent.

## **2. Symptômes et évolution de la maladie :**

La maladie commence toujours par une phase asymptomatique qui peut durer plus de 20 ans (11), au fur et à mesure qu'elle affecte les régions du cerveau, elle va entraîner la perte de certaines fonctions ou habiletés (12).

Le début est insidieux; marqué par l'installation progressive de troubles mnésiques, phasiques, de problèmes de praxies et de gnosies ainsi que par une atteinte des fonctions exécutives (13). Il existe également des manifestations psycho-comportementales associées aux troubles cognitifs (14) perturbations de l'humeur (anxiété, dépression), instabilité psychomotrice, hallucinations, idées délirantes.

La durée moyenne de son évolution est de 5 à 9 ans, à terme, la maladie provoque une détérioration de l'état général. Les troubles des conduites alimentaires et les difficultés de déglutition sont souvent à l'origine d'un amaigrissement important avec altération des défenses immunitaires. Cela favorise les complications infectieuses qui sont souvent à l'origine du décès (15).

## **3. Le diagnostic :**

En absence de marqueurs diagnostiques fiables de la maladie d'Alzheimer, seule l'étude anatomopathologique du cerveau permet le diagnostic de certitude. La stratégie diagnostique repose sur un faisceau d'arguments cliniques et paracliniques, réalisant un diagnostic d'exclusion en éliminant les autres affections qui présentent des tableaux

proches et qui seraient susceptibles de bénéficier de traitements spécifiques (tumeurs, hématome ou accident vasculaire cérébral) (16).

L'utilisation des critères répondant à une standardisation internationale (comme ceux du DSM-IV (15) et ceux du NINCDS-ADRDA et de Mc Khann *et coll.* (14), permet de retenir le diagnostic de maladie d'Alzheimer possible ou probable avec une probabilité comprise entre 90 et 95 % (16) (17). Ils permettent en outre d'éliminer un certain nombre de diagnostics différentiels (17).

#### **4. Physiopathologie de la maladie :**

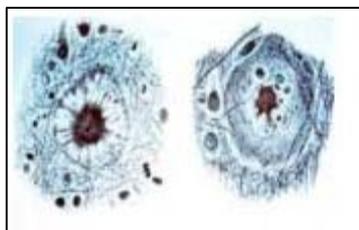
La nature neurodégénérative de la maladie d'Alzheimer se traduit par l'installation progressive et irréversible dans le cortex cérébral de lésions histopathologiques bien précises, qui sont les plaques séniles (PS) (18), les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) (19), et les dégénérescences granulo-vasculaires (DGV). Elles s'accompagnent d'une dépopulation neuronale avec atrophie corticale.

##### **4.1. Les dépôts amyloïdes :**

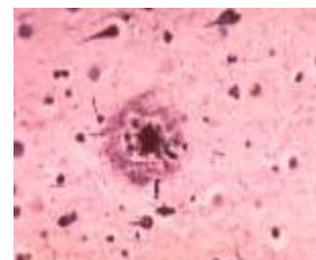
Il existe 2 types de dépôts amyloïdes extracellulaires. Les premiers sont localisés au centre des PS et les autres entourent la paroi des vaisseaux pour former l'angiopathie amyloïde.

##### **4.1.1. Les plaques séniles :**

Ce sont des dépôts extracellulaires affectant une forme sphérique composés d'un centre amyloïde d'environ 10 à 20 µm de diamètre, (20) entourés de prolongements neuritiques en voie de dégénérescence, de cellules microgliales activées, d'astrocytes, des composants précoces de la cascade du complément, l'antichymotrypsine, différents types d'interleukine ont été identifiés au sein de la plaque sénile et témoignent d'un processus inflammatoire persistant (21). (fig1)



**A**



**B**

**Figure 1 : les plaques séniles (10)**

En microscopie électronique, le centre amyloïde est constitué d'un enchevêtrement de filaments rectilignes formés du peptide amyloïde A $\beta$  (22).

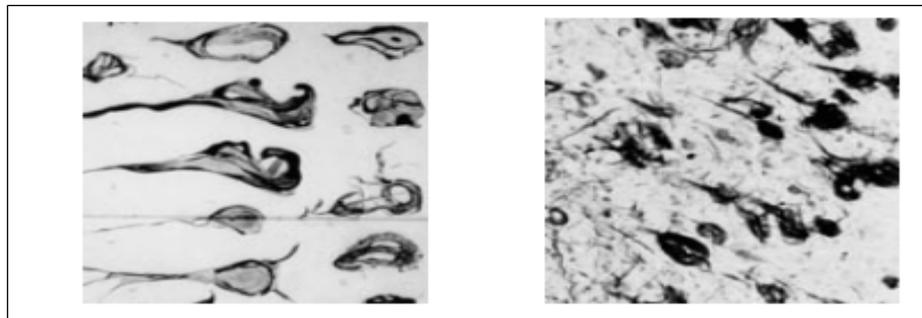
Ce peptide provient d'un clivage anormal d'une glycoprotéine membranaire (Amyloïde precursor protéine (APP)) donnant le petit peptide hydrophobe qui se décline sous plusieurs longueurs : 39, 40, 42 et 43 AA (23).

#### **4.1. 2. Angiopathie amyloïde :**

Ce terme concerne l'accumulation de matériel protéique amyloïde dans la paroi des vaisseaux cérébraux, fréquemment observée chez les malades Alzheimer (24). Il désigne également une affection autonome, appartenant au groupe des démences artériopathiques (25), caractérisée par des hémorragies et des ramollissements cérébraux récidivants.

#### **4.2. Les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) :**

Les DNF sont retrouvées en microscopie photonique et après imprégnation argentique dans les cytoplasmes des neurones sous la forme d'épais trousseaux de fibrilles anormaux pouvant réaliser des aspects en flammes (fig 2), déformant souvent le neurone et excentrant le noyau (26).

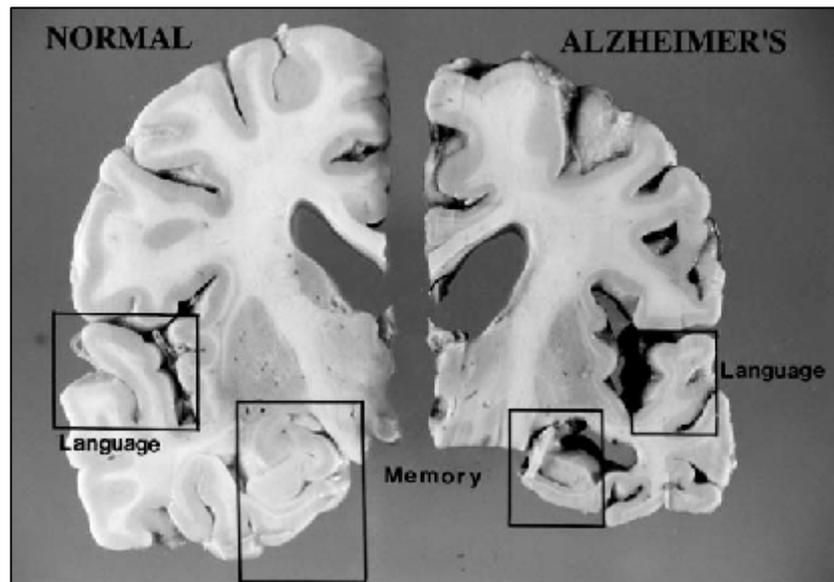


**Figure 2 : Les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) (10)**

Ces structures seraient issues du cytosquelette normal du neurone (neurofilaments et microtubules) réalisant un aspect dégénéré. Constitués, entre autre, d'une forme hyperphosphorylée de la protéine tau qui prend l'aspect de paires de filaments hélicoïdaux (PFH) (27).

#### **4.3. L'atrophie corticale :**

La perte neuronale et synaptique pendant la maladie induit l'atrophie cérébrale qui s'accompagne d'une dilatation du système ventriculaire, un agrandissement des espaces périvasculaires et un élargissement des sillons corticaux (fig 3). Le poids du cerveau diminue au cours de la maladie (200 à 300 g, soit 15 à 25 % selon la plupart des auteurs) (28) (29).



**Figure 3 : Schéma comparant un cerveau sain (à droite) et un cerveau atteint de la maladie d'Alzheimer (177).**

## **5. mécanismes moléculaires de la maladie :**

### **5.1. Les mécanismes de formation du peptide A $\beta$ :**

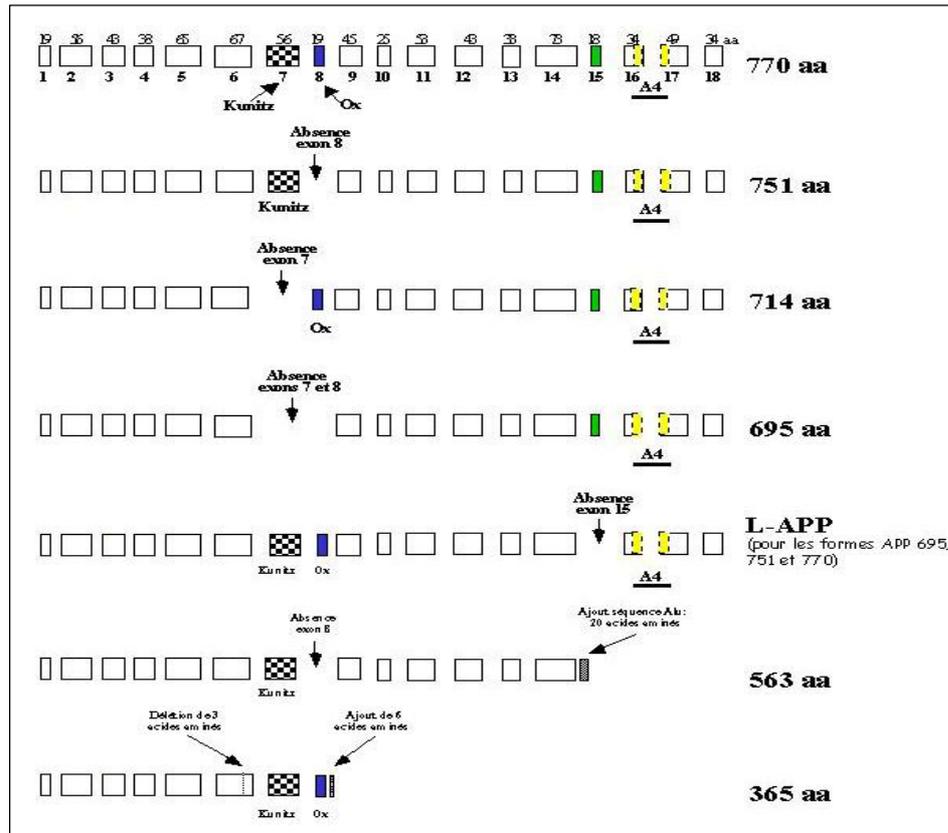
Le polypeptide A $\beta$  résulte du clivage d'une protéine de grande taille nommée APP (amyloid protein precursor) (30).

#### **5.1.1. Expression et Heterogenéité de l'APP :**

Le gène de l'APP fut le premier gène connu pour être associé à une forme familiale de la MA. Il est localisé sur le bras long du chromosome 21 en position 21q21.2, il appartient à la famille des gènes domestiques ubiquitaires exprimés dans une variété de tissus dont le système nerveux, le sang, le tractus digestif et la peau, l'APP est très répandu dans l'organisme (31).

La partie transcrite du gène de l'APP est constituée de 18 séquences exoniques (32) qui suite à l'épissage alternatif (splicing) donne plusieurs ARNm, aboutissant à la transduction de différentes isoformes de protéines APP (fig4). L'épissage au niveau des exons 7 et 8 conduit à l'expression des 3 isoformes majeurs de 695, 751 ou 770 AA (33).

Ces protéines sont soumises à diverses modifications post-traductionnelles, telles que des O- et N-glycosylations, des sulfatations ou des phosphorylations (34).



**Figure 04 : Epissage alternatif aboutissant à la formation des différents isoformes de la protéine APP (177)**

Les ARNm des 3 isoformes majeures ont été trouvés dans le cerveau, l'APP 695 y serait l'isoforme la plus abondante et aurait une expression principalement neuronale, il pourrait faciliter le contact entre les cellules, l'adhérence à la matrice extraneuronales et la stabilité des synapses. Les autres isoformes, L'APP 751 et l'APP 770, sont trouvées dans tous les types cellulaires.

Ces trois isoformes contiennent la séquence Aβ codée à partir exons 16 et 17 et sont ainsi amyloïdogènes (35).

### 5.1.2. Le catabolisme de l'APP:

Les isoformes d'APP à expression neuronale sont des glycoprotéines transmembranaires d'environ 110-135 KDa présentant d'un part et d'autre du domaine intramembranaire, un long domaine N-Terminale extra cytoplasmique correspondant à 80% de la masse de la protéine, et un court domaine C-terminale (36).

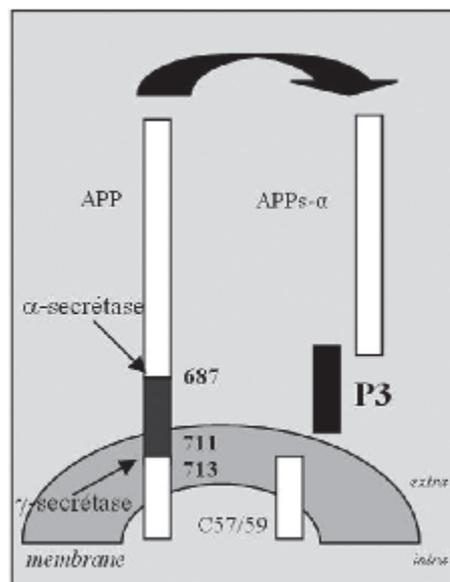
Le domaine de l'APP qui correspond au peptide A $\beta$  se situe à la jonction des domaines extracellulaires et membranaires. L'APP est métabolisée de façon constitutive *via* deux voies biologiques : la voie non-amyloïdogénique et la voie amyloïdogénique (37).

Ces 2 voies se distinguent l'une de l'autre essentiellement par le type d'enzymes impliquées dans le clivage de l'APP, et par les métabolites (fragments) qu'elles engendrent.

#### 5.1.2.1. Voie non- amyloïdogénique de maturation de l'APP :

C'est la voie plus commune, elle ne produit pas de peptides amyloïdes, elle fait intervenir 2 clivages endoprotéolytiques orchestrés par l $\alpha$ -sécrétase, et la  $\gamma$ -sécrétase.

Les trois isoformes majeures de l'APP contiennent un site de clivage protéolytique situé dans le domaine extra cellulaire à l'intérieur de la séquence A $\beta$  (lys16/ leu17) composée des 28 acides aminés jouxtant le domaine trans-membranaire et des 12 à 14 résidus voisins faisant partie du domaine extra-membranaire (38) (39). (fig 5.a)



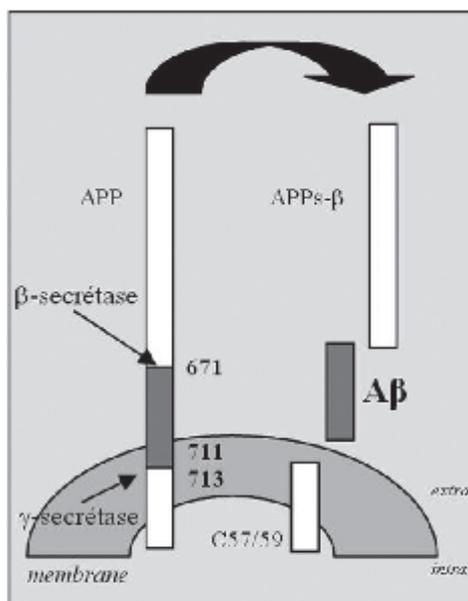
**Figure 5 (a) : voie normale de la maturation de l'APP (93)**

Les dérivés sécrétoires issus du clivage de l'APP ont plusieurs fonctions biologiques, ils peuvent jouer un rôle dans la transmission des signaux de la membrane vers le noyau (signalisation cellulaire).

#### 5.1.2.2. La voie amyloïdogénique de maturation de l'APP :

Dans cette voie de maturation, le clivage de l'APP se fait en premier par une protéase lysosomiale la B-Sécrétase (40).

La coupure de l'APP par la  $\beta$ -sécrétase se fait entre les AA 671 et 672 de l'APP ; cette réaction libère un domaine extracellulaire, l'APPs- $\beta$  (41), et un fragment carboxyterminal transmembranaire de 99 AA, le C99. Ce fragment contient la région correspondante à la partie aminoterminal du peptide A $\beta$  qui sera par la suite clivé par la  $\gamma$ -sécrétase. Il apparaît alors 2 fragments : l'APP soluble $\beta$  (APPs $\beta$ ) et les peptides A $\beta$ . (Fig 5.b)



**Figure 5 (b): voie amyloïdogénique de la maturation de l'APP.(93)**

## 5.2. Hypothèse de la cascade amyloïde :

On s'accorde généralement sur le fait que la cascade amyloïde est le facteur étiologique central de la maladie d'Alzheimer (42), dans laquelle un déséquilibre entre les mécanismes de production et les mécanismes de dégradation/évacuation de l'A $\beta$  serait à l'origine de son agrégation (43).

La protéine amyloïde bêta s'accumule dans le milieu extracellulaire puis s'agrège avec différentes substances. L'effet neurotoxique de ces dépôts amyloïdes est complexe, à la fois direct et indirect.

Les plaques produisent des effets chémoattractants et activateurs sur les monocytes et les astrocytes qui libèrent des cytokines et initient une cascade inflammatoire (44).

L'accumulation d'A $\beta$  et l'activation de la microglie augmente la libération de radicaux libres (48) accroissant le stress oxydatif (45) (49), et favorise des processus métaboliques menant à l'apoptose en provoquant l'altération de la membrane cellulaire (46).

Ces événements altèrent l'homéostasie ionique, qui se traduit par une entrée excessive de calcium dans les neurones (47), qui va suractiver les PkC (phospho-kinases à calcium), provoquant une hyperphosphorylation de la protéine tau, un dysfonctionnement neuronal, une perte de synapses, une diminution du nombre de dendrites, une diminution des neurotransmetteurs et la mort cellulaire.

### 5.3. Mécanismes de formation des dégénérescences neurofibrillaires (DNF) :

En microscope, les axones des neurones en dégénérescence se présentent sous la forme d'une spirale toute torsadée. Le fait que l'axone soit dans cet état prive les composantes du neurone des substances essentielles.

#### 5.3.1. Hyperphosphorylation de la protéine TAU :

Les protéines tau appartiennent à la famille des MAP (microtubule-associated proteins) (50), elles sont à expression principalement neuronales et jouent un rôle important dans la polymérisation des microtubules et dans le flux axonal.

Le gène de tau est localisé sur le bras long du chromosome en 17q2154. Le transcrit primaire contient 16 exons (51). Il y a six isoformes de protéines tau dans le cerveau adulte (52).

La protéine tau est divisée en deux grandes régions : la partie N-terminale appelée « Domaine de projection » et la partie C-terminale nommée « Domaine de liaison aux microtubules ». (fig 6.a).

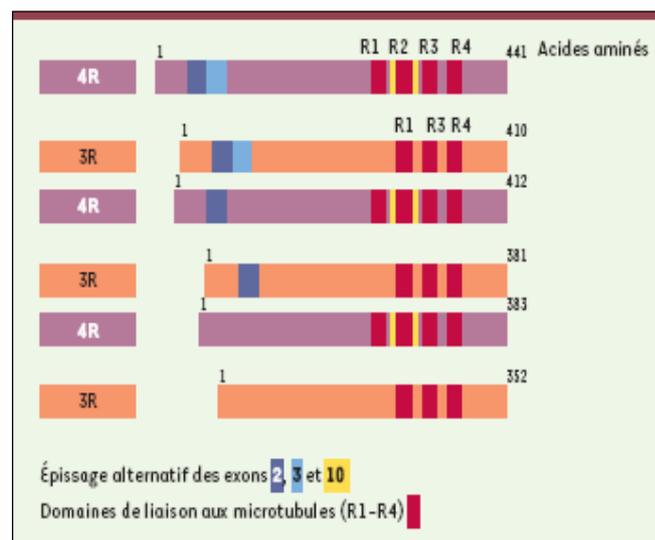
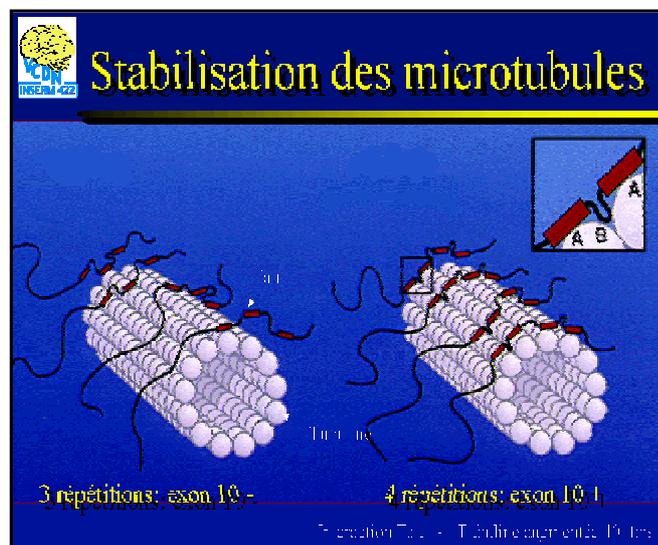


Figure 6 (a) : les différents isoformes de tau (219)

Les interactions avec les dimères de tubuline s'effectuent *via* le domaine carboxy-terminal des protéines, partie de la molécule beaucoup plus basique que le reste de la protéine, ce domaine possède des séquences répétées codées par les exons 9-12.

Les trois isoformes de tau dépourvues de la séquence codée par l'exon 10 possèdent trois domaines de liaison aux microtubules (3R) et les trois isoformes comportant cette séquence possèdent quatre de ces régions répétitives (4R) Chacun des motifs répétés présente 18 Acides Aminés conservés au cours de l'évolution (70), ces domaines répétés se voient séparés par des séquences plus ou moins conservées de 13 à 14 Acides Aminés nommées « Région inter-repeat ». Le Domaine de projection permet l'interaction de tau avec la membrane neuronale (53). (fig6.b)



**Figure 6 (b): liaison et stabilisation des microtubules (177)**

Dans un cerveau normal, la proportion d'isoformes 3R et 4R est identique. Cependant, l'interaction avec les microtubules est beaucoup plus forte pour les formes à 4 domaines, ce qui leur confère une meilleure stabilité (54).

Les protéines tau règlent également la stabilité des microtubules en fonction de leur état de phosphorylation. Il existe 80 sites potentiels de phosphorylation sur la protéine Tau dont plus d'une vingtaine sont phosphorylés.

La phosphorylation est la principale modification post-traductionnelle des protéines tau, surtout de part et d'autre des domaines de liaison aux microtubules cette phosphorylation de tau est réglée par de multiples kinases (55).

La protéine tau hyperphosphorylée est le constituant majeur des PFH (paires de filaments hélicoïdaux)(56), de nombreuses hypothèses ont été émises pour expliquer cette

phosphorylation anormale, la neurotoxicité de l'A $\beta$ , perturbation de l'homéostasie du calcium,... Elles sont pour la plupart non exclusives ou même synergiques mais aucune n'est clairement démontrée (57).

D'après la théorie de la cascade amyloïde l'entrée des quantités massives de calcium et de l'A $\beta$  dans le milieu intraneuronal, vont suractiver les kinases qui vont à leur tour hyperphosphoryler les protéines Tau, il s'ensuit une perturbation du réseau microtubulaire et du transport axonal. L'atteinte de ce système vital entraîne la dégénérescence du neurone. Les connaissances actuelles sur la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer ne permettent pas d'établir si l'hyperphosphorylation de tau est une cause ou une conséquence de la démence. (58)

L'A $\beta$  peut entraîner la mort neuronale par ses propriétés neuromodulatrices négatives des neurotransmetteurs, elle abaisse énormément l'efficacité de la transmission synaptique cholinergique des neurones, particulièrement de ceux de l'hippocampe, Le déficit cholinergique peut atteindre jusqu'à 90 % dans les stades sévères de la maladie (59).

## **6. Causes et facteurs de risque de la maladie :**

La maladie d'Alzheimer est d'origine multifactorielle, les mécanismes causals de cette pathologie sont loin d'être élucidés. L'âge est le principale facteur de risque de la MA, la majorité des malades (>95%) ont un âge de début supérieur à 65ans représentant la forme à début tardives de la maladie (LOAD, late-onset AD), alors que 1-5% seulement ont un début précoce (EOAD, early-onset AD) survenant bien avant 65 ans (60).

Les deux formes (LOAD et EOAD) sont cliniquement indiscernables, cependant la forme précoce est généralement plus sévère avec une progression plus rapide (60).

Après l'âge l'hérédité est le facteur de risque le plus important, les études de populations de jumeaux indiquent que sa fréquence est plus élevée chez les jumeaux monozygotes que chez dizygotes, et les études de famille suggèrent une importante composante génétique, dans laquelle la MA est transmise de manière autosomique dominante avec une pénétrance complète (familial AD, FAD) (61)

La majorité des cas de la MA (90-95%) sont sporadiques, sans antécédents familiaux et à étiologie multifactorielle, la proportion des formes tardives (LOAD) ayant été attribués à des facteurs génétiques est de 37% à 83%. Cependant, dans la majorité des cas de LOAD il n'y a aucun modèle clair de transmission, et seulement 10% de la totalité des EOAD présentent une histoire familial et apparaît transmis d'une manière autosomique dominante, qui est l'équivalent de moins de 1% de tous les cas de la MA (62).

Grâce à des études d'analyse de liaison génétique, et les méthodes du clonage positionnel, les gènes impliqués dans la genèse de la maladie ont été isolés. Ces gènes présentent des mutations majoritairement faux-sens ont été répertoriées sur le gène de la préséniline 1 (PS1) de la préséniline 2 (PS2), et sur le gène de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP). Ces gènes mutés causent la pathologie avec un patron autosomal dominant (61) (62).

### **6.1. Les mutations dans le gène précurseur amyloïde :**

Il y a eu plusieurs tentatives infructueuses pour démontrer l'association la MA à l'APP jusqu'à ce que Goate et coll (63) ont retrouvé chez une seule famille la liaison de la MA avec le chromosome 21, la ségrégation de la maladie chez cette famille a été due à une substitution Val-Ile au niveau du codon 717 de l'APP 'London mutation' (63).

Après la découverte de la première mutation, plusieurs autres mutations ont été répertoriées sur le gène de l'APP, chez plusieurs familles dans le monde.

Le début des manifestations cliniques dans les familles portant des mutations dans les gènes APP varie entre 43 et 62 ans (64). Ne représentant que 3-5% de l'ensemble des cas des formes familiales à début précoce et 0,5% de la totalité de cas de l'AD.

Les conséquences biochimiques des mutations du gène APP à l'origine de la MA font l'objet de nombreux travaux, les cellules transfectées par les séquences APP mutantes synthétisent plus de A $\beta$ -40 et A $\beta$ -42(43) que les cellules hébergeant la séquence APP sauvage. Ainsi que des quantités accrues de A $\beta$ -42 ont été observées aussi bien dans les cellules que dans le sérum chez les patients MA porteurs des mutations APP(64).

### **6.2. Gènes des préséniline :**

#### **6.2.1. gène et mutation de la préséniline 1 :**

En 1995, un nouveau gène fut identifié et associé au développement d'une forme familiale de la maladie d'Alzheimer, et en raison du caractère précoce de la manifestation de l'MA chez ces familles on l'a appelé préséniline 1 (PS1).

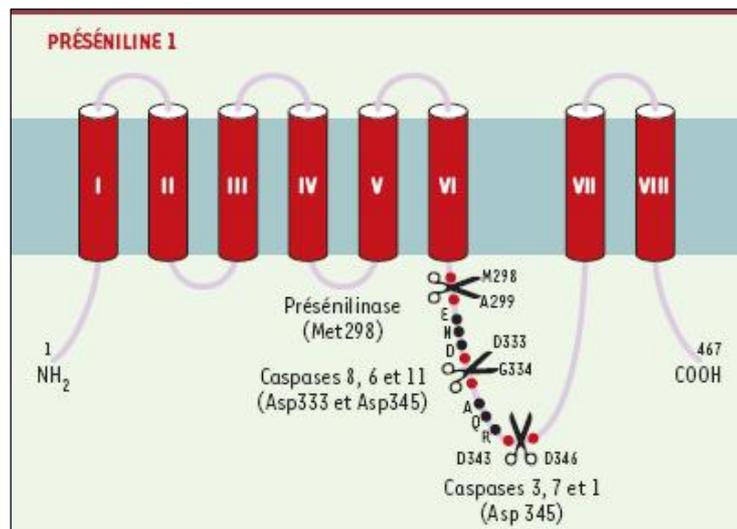
Il est composé de 12 exons, les deux premiers étant non codons (65), le cadre de lecture code potentiellement une protéine intégralement membranaire de 467AA comportant 8 domaines hydrophobiques transmembranaires, dont les domaines N-terminale, C-terminale et la boucle sont des domaines hydrophiliques se situant dans le côté cytoplasmique (66).

La boucle hydrophile se retrouve entre les domaines transmembranaires 6 et 7 et une partie hydrophobe de la boucle est présente entre la thréonine à la position 291 et l'alanine à la position 299(66)(fig 7).

PS1 est transcrit dans le système nerveux central, essentiellement dans les neurones où elle se retrouve dans le corps cellulaire et les dendrites et les cellules gliales (67) ainsi qu'au niveau des tissus périphériques (68).

Notamment, il a été bien établi qu'elles subissent une coupure endoprotéolytique par une activité nommée « présénilase » au niveau de sa partie acide hydrophilique (entre les acides aminés 292 et 298) (69). Il en résulte une accumulation de 2 fragments prédominants d'un poids approximatif de 28 kDa (N-terminal, NTF) et 18 kDa (C-terminal, CTF) ainsi qu'une faible quantité résiduelle (holoprotéine) de PS1 intact d'environ 49 kDa. (69).

Il apparaît que les produits N- et C-terminaux de protéolyse des présénilines sont stables et interagissent et forment des hétérodimères stables (NTF/CTF) (70) qui correspondent aux complexes biologiquement actifs des présénilines.



**Figure 7 : La structure des présénilines. (219)**

Les présénilines présentent des propriétés remarquables de protéines chaperons (71) capables d'interagir avec de nombreuses protéines, et notamment avec l'APP, le fait que les présénilines interagissent avec l'APP est sans doute le premier indice indirect d'un contrôle de la maturation de l'APP par les présénilines.

Les études portant sur la caractérisation du métabolisme des présénilines ont permis de démontrer que l'activité enzymatique de type  $\gamma$ -secrétase était étroitement liée au complexe de haut poids moléculaire contenant l'hétérodimère NTF/CTF (72).

Le gène de préséniline est considéré comme le gène majoritairement impliqué dans les formes autosomiques dominantes de la MA détecté chez 70% de tous les cas familiaux d'AD a manifestation précoce (72).

À ce jour plus de 50 mutations différentes ont été décrites sur le PS1 dans plus de 50 familles (73). La majorité sont des mutations faux sens. A part Une mutation d'épissage qui ôte l'exon 9 a été identifié dans une seule famille Les mutations sont très largement distribuées tout le long du cadre de lecture de PS1 avec une prédominance pour le domaine transmembranaire 2 (30%) et la grande boucle hydrophile 6 (37,5%) (73).

### **6.2.2. Gène et mutation de la préséniline 2 :**

Ce gène PS2 a été isolé à l'aide d'une sonde PS1, il était identifié grâce à sa forte homologie de séquence en acides aminés 67% avec le gène de PS1 (74), la protéine PS2 est composée de 475 acide aminée, avec 6 à 8 domaines transmembranaires, et présente des fonctions biologiques similaires à la PS1.

Les mutations du PS2 sont rares et a pénétrance incomplète, trois mutations faux sens on été décrites dans le gène de PS2 (75). Elles sont présentes que chez moins de 1% des familles avec EOAD et l'âge de début semble plus tardif que dans les formes associées à une mutation de PS1.

Les expériences in vivo ont suggérées que la protéine PS1 mutante altère le processus protéolytique de l'APP sur la partie C-terminal de l'A $\beta$  pour favoriser la déposition de l'A42 le peptide amyloïde le plus long, et le plus amyloïdogène (73).

### **6.3. Autres facteurs de risque :**

Les travaux de recherche ont tenté de mettre en évidence des facteurs favorisant la survenue de la maladie ou " facteurs de risque ". Les autres facteurs soit des facteurs de susceptibilité génétique soit des facteurs environnementaux, les uns et les autres pouvant être associés et interagir. L'étude des facteurs de risque dans ces cas est délicate comme le montrent les résultats des études épidémiologiques souvent contradictoires jusqu'à maintenant (76).

Les études de jumeaux suggèrent l'intervention de puissants facteurs de l'environnement : dans l'une des plus importantes, 7/17 paires de jumeaux monozygotes,

2/5 paires de dizygotes étaient concordantes. Bien entendu, les limites de telles études (par exemple, la survenue possible de la maladie à des âges différents), sont certaines. Il n'en est pas moins vrai que la génétique seule peut expliquer les faits (77).

Parmi les principales pistes d'explication explorées, l'une des premières a été la toxicité chronique de l'aluminium, très débattue en raison, notamment, de la particulière ubiquité de ce métal (78).

De très nombreux autres agents ont été incriminés, tels que les solvants, l'exposition à des faibles doses de plomb, et à des champs électriques ou magnétiques. Aucun d'entre eux ne paraît, actuellement représenter un risque sérieux.

Les traumatismes crâniens, qu'il s'agisse de traumatismes répétés (en raison de la rare démence pugilistique des boxeurs, qui ressemble à la MA) ou banals, restent encore des facteurs à discuter (79).

Les facteurs de risque vasculaire (essentiellement l'hypertension artérielle) ont été récemment mis en cause par de nombreuses études épidémiologiques.

L'influence protectrice de certains facteurs de l'environnement a été décrite. Il s'agit surtout du traitement par les oestrogènes, les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les antioxydants, comprenant la vitamine E et la sélénine (77).

Toutes ces données font l'objet de controverses et doivent être confirmées par les études prospectives contrôlées en cours. D'autres facteurs sont encore plus débattus, comme la protection apportée par le niveau d'éducation élevé, la consommation de doses modérées de vin, de benzodiazépine ou de tabac (77).

La connaissance des facteurs de risque de cette maladie plurifactorielle, s'appuie sur plusieurs grandes études épidémiologiques (PAQUID, Framingham, Rotterdam,.....).

## 1- Apolipoprotéine E

A côté des gènes qui interviennent dans le cadre de formes autosomiques dominantes de MA un quatrième gène a été identifié, qui agit autant que facteur de risque de la maladie. Il s'agit du gène de l'apolipoprotéine E (apoE).

### 1.1. Le gène de l'apo E :

Le gène de l'apo E est situé à l'extrémité centromérique de l'ensemble d'une famille de gènes codant pour le groupe apolipoprotéine E, CI, et CII, sur le chromosome 19, dans la région q13.2 (80).

Ce gène de 3,7 kb codant un ARNm d'une longueur de 1163 paires de bases (81) comporte quatre exons et trois introns. Les tailles des exons de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' sont respectivement 44, 66, 193 et 860 nucléotides, celles des introns sont de 760, 1092 et 582 nucléotides. Le premier exon est non codant, le deuxième exon code pour un peptide signal (18 acides aminés), le troisième exon pour les 61 premiers acides aminés et le quatrième pour l'essentiel de la protéine mature (81) (80). (Fig 8)

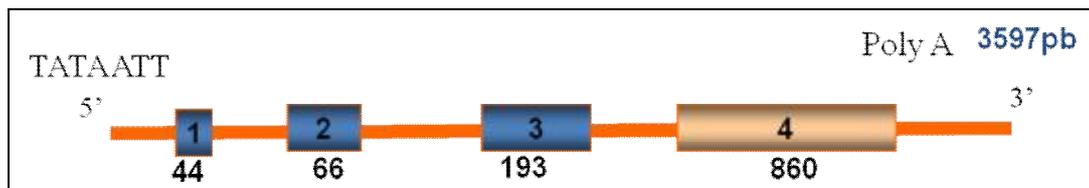


Figure 8 : gène de l'apoE

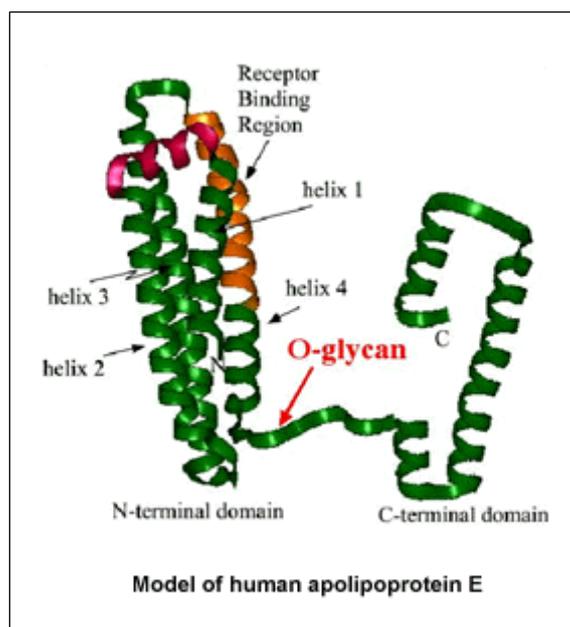
### 1.2. La protéine apo E et ses modifications post-traductionnelles :

L'apo E est clivé par une peptidase pour les 18 acides aminés composant le peptide signal, lors du passage à travers la membrane du réticulum endoplasmique (82), l'apo E intracellulaire subit des O-glycosylations, accompagnée de sialylation qui a lieu à un seul site de l'apo E, à la thréonine 194. La protéine est ensuite sécrétée et désialylée extracellulairement. 90 % de l'apo E plasmatique est désialylée. L'apo E mature sécrétée est une protéine de poids moléculaire apparent de 34 kDa (299 acides aminés) (83).

Les substitutions des acides aminés aux positions 112 et 158 des trois principales isoformes de l'apo E induisent des changements de point isoélectrique (apo E2, pI=5,5; apo E3, pI=5,4; apo E4, pI=5,3) (84).

### 1.3. Structure :

L'apo E comporte deux domaines structuraux correspondant à deux domaines fonctionnels, qui peuvent être individualisés par clivage à la thrombine (85) (fig 9).



**Figure 9 : model de l'apo E (287)**

La partie N-terminale (1-191) (22 kDa) comporte quatre hélices  $\alpha$ -amphiphiles de 22 acides aminés (caractéristiques des apolipoprotéines) arrangées de façon antiparallèle 110 et un domaine riche en acides aminés basiques (lysine et arginine) un domaine de charges positives qui représente un site de fixation à l'héparine (142-147) et de liaison avec le récepteur LDL de charges négatives (141-155) (86).

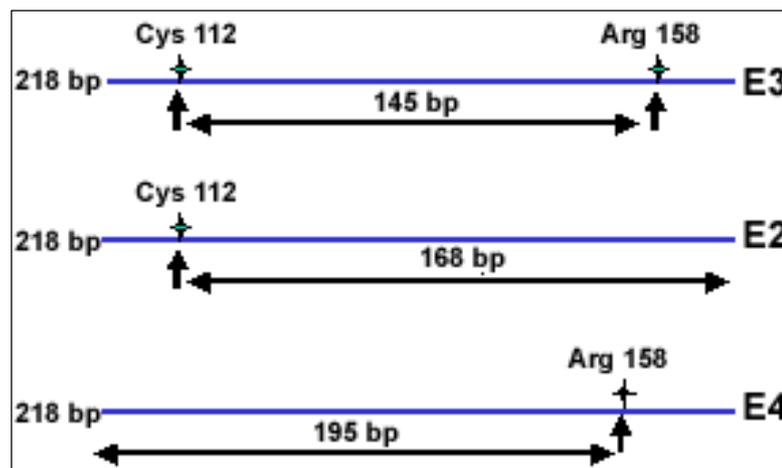
La partie C-terminale (216-299) (10 kDa) contient trois hélices constituées respectivement des acides aminés (203-223), (225-266) et (268-289). Cette dernière joue un rôle majeur dans le transport des lipides, grâce à un site de liaison aux lipides (244-272). Ainsi que dans la tetramérisation de l'apoE. Plus précisément, le fragment (263-286) semble jouer un rôle crucial dans la liaison aux lipides en particulier l'association de l'apoE aux VLDL. Bien que les deux domaines (N-terminal et C-terminal) soient indépendants, ils peuvent avoir une influence de l'une sur les propriétés de l'autre (85) (86).

La partie (192-215) située entre ces deux domaines fonctionnels est une région de structure non ordonnée, sensible au clivage protéasique, et contenant un site potentiel d'attache glycanique localisé sur la thréonine en position 1944 (86).

#### 1.4. Polymorphisme de l'apoE :

L'apo E existe sous trois isoformes principales E2, E3, E4, produits des allèles e2, e3, e4. La fréquence des allèles varie selon les populations, toutefois l'isoforme E3 reste la plus fréquente (112). Ces trois isoformes peuvent donner six génotypes: trois génotypes homozygotes (E2/E2, E3/E3, E4/E4) et trois génotypes hétérozygotes (E3/E2, E3/E4, E2/E4), le génotype le plus commun est E3/E3. (Fig 10)

Les différences entre les trois allèles résultent d'une transition de cytosine à thymine aux positions correspondantes, modifiant les sites de restriction HhaI (113). 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 (87).



**Figure 10 : ApoE et son polymorphisme (249)**

De part leur composition, les isoformes de l'apo E forment des complexes différents: la présence des cystéines en position 112 et 158 de l'apo E2 permet la formation de dimères et de multimères; la seule cystéine en position 112 de l'apo E3 autorise la formation de dimères; l'absence de cystéine à ces positions, remplacées par des arginines dans l'apo E4 impose la présence de cette isoforme sous forme monomérique (87)

L'apo E est un des composants des lipoprotéines. Elle est un des constituants des VLDL, des HDL, et des chylomicrons. L'apo E3 a une préférence pour former des complexes de type HDL, de même que l'apo E2; l'apo E4 forme plutôt des VLDL (88).

Cette interaction spécifique des isoformes de l'apo E avec les lipoprotéines pourrait être due à une structure différente de ces trois protéines apo E.

Dans l'apo E4, une liaison Arg 112- Glu 109 existe et induit une structure favorisant la liaison de l'Arg 61 avec l'acide glutamique 255, appartenant au domaine C-terminal, L'Arg 61 joue un rôle primordial dans la formation de la structure tridimensionnelle de l'apo E4 (89), en tant que charge positive interagissant avec le domaine C-terminal.

Dans l'apo E3, la liaison de l'acide glutamique 109 avec le résidu 112 ne s'établira pas, puisque c'est une cystéine; en conséquence, l'Arg 61 sera positionnée différemment et ne pourra interagir avec l'acide glutamique 255.

Ce mécanisme semble unique à l'homme. A l'exception du lapin et du boeuf (Cys112), toutes les autres espèces 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 (90). Ces exceptions des isoformes humaines leur confèrent des propriétés particulières, comme la préférence de l'isoforme E4 pour former des complexes VLDL (91).

### **1.5. Distribution tissulaire :**

L'apo E est synthétisé par de nombreux tissus. Des quantités importantes d'ARNm d'apo E ont été détectées dans le foie, le cerveau, les poumons, les reins, les ovaires... La source majeure de production d'apo E est le foie: il serait à l'origine des 2/3, voire des 3/4 de l'apo E plasmatique (92). Le second site de production de l'apo E est le cerveau (environ 1/3 de l'apo E du foie) (92). Sa synthèse peut être effectuée au niveau du système nerveux central par les oligodendrocytes, la microglie et plus particulièrement les astrocytes (93).

La présence de la protéine apo E est aussi mise en évidence dans les cellules nerveuses (94), La capture par les neurones, de l'apoE sécrétée par les astrocytes, pourrait expliquer cette localisation intra-neuronale. Cette hypothèse est renforcée par l'existence de nombreux récepteurs de l'apoE dans le cerveau dont certains sont plus spécifiques de la population neuronale. Elle est aussi présente de façon notable dans le liquide céphalo-rachidien. L'apo E est la principale apolipoprotéine du système nerveux (95).

### **1.6. Les récepteurs de l'apo E :**

Les complexes apo E/ lipides sont internalisés par les cellules grâce aux différents récepteurs. La majorité des récepteurs aux lipoprotéines contenant l'apo E font partie de la famille des récepteurs LDL, le récepteur LDL est exprimé dans les terminaisons nerveuses et sur les astrocytes (96) - le récepteur LRP, ou récepteur a-2 macroglobuline, est majoritairement exprimé dans les neurones et plus faiblement dans les astrocytes (97). Tableau (1) en annexe.

Le polymorphisme des isoformes E2, E3 et E4 interviennent au niveau du site d'interaction avec les récepteurs LDL et entraînent des changements de charges. Ces changements pourront modifier les interactions avec les récepteurs. L'isoforme E2 serait moins affine que les isoformes E3 et E4 pour ces récepteurs, l'isoforme E4 étant elle plus affine qu'E3. De même, l'apo E2 est moins affine pour le récepteur LRP qu'E3 ou E4 (98).

### **1.7. Rôle de l'apoE :**

En plus des fonctions communes attribuées aux apolipoprotéines, dont sont rôle dans la clairance plasmatique des lipoprotéines riches en triglycérides l'apoE est une composante majeure prenant part dans le processus générale d'homéostasie du cholestérol. Son rôle dans le métabolisme lipidique faisant l'objet de travaux de plusieurs groupes, et qui révèle la capacité qu'avait l'apoE de diriger la destinée métabolique des lipoprotéines.

L'apo E joue un rôle clairement établi dans le transport des lipides, mais il est probable qu'elle joue d'autres rôles notamment au niveau du système nerveux.

### **1.8. L'apo E dans le système nerveux :**

De nombreuses études tentent de déterminer la fonction de l'apoE dans le système nerveux normal ce qui permettrait d'établir en conséquence des hypothèses sur son rôle dans certaines pathologies.

Les premiers travaux remontent à l'année 1986. A cette époque, des modèles animaux ayant subi une lésion du nerf sciatique ont permis de démontrer l'implication de l'apoE dans le stockage et la redistribution du cholestérol nécessaires à la régénération neuronale périphérique (99).

Les souris déficientes en apoE ont permis de mettre en évidence le rôle de l'apoE dans le système nerveux central (SNC). On a pu observer que cette apolipoprotéine est impliquée dans la plasticité et dans le maintien de l'intégrité des synapses et des terminaisons nerveuses du système nerveux central au cours du vieillissement. De plus, les souris déficientes en apoE ont une faible capacité de réparation neuronale après lésion avec en particulier une forte perturbation du réseau cytosquelettique.

Plusieurs études ont essayé d'élucider les mécanismes impliqués dans la fonction de l'apoE sur le cytosquelette neuronal mais les résultats semblent contradictoires et pourraient dépendre du système cellulaire étudié. Ainsi, l'apoE3 favorise la croissance neuritique de neurones de ganglions dorsaux de lapin (100), et des cellules de neuroblastome Neuro2a transfectées avec l'apoE3 ont également une pousse neuritique favorisée. Par contre, l'apoE4 n'affecte pas la croissance des neurites dans le cas des

Neuro2a transfectées ou bien elle inhibe cette croissance et déstabilise le réseau microtubulaire des neurones de ganglion dorsaux de lapin (102).

*In vitro*, il a été démontré que l'apoE pourrait effectivement avoir une action sur le réseau microtubulaire en favorisant la polymérisation de la tubuline en microtubules. Cependant aucune différence en fonction de l'isoforme de l'apoE étudiée n'a pu être observée.

D'autres travaux ont démontré que l'apoE ajoutée dans le milieu de culture de lignées cellulaires de type neuronal pouvait être toxique (102). La même observation a été faite au sein du laboratoire sur la lignée de neuroblastome SKNSH-SY5Y différenciées. L'apoE entraîne une rétraction des neurites des cellules différenciées et, de même, l'isoforme E4 s'est avérée plus délétère que l'isoforme E3.

L'intervention de l'apoE dans le système nerveux central ne semble donc pas limitée à son rôle de transporteur du cholestérol. L'apoE pourrait également jouer un rôle dans la stabilisation du cytosquelette neuronal, la croissance neuritique et la toxicité neuronale.

La compréhension de la fonction de l'apoE dans le SNC est primordiale pour appréhender son implication dans le maintien de l'intégrité du cerveau au cours du vieillissement mais aussi dans la maladie d'Alzheimer où son mécanisme d'action reste controversé. L'ensemble des résultats montre qu'il est important d'élucider le rôle extracellulaire mais aussi intracellulaire de l'apoE sur les neurones et en particulier de déterminer son action sur le cytosquelette (100).

## **2. Apolipoprotéine E et maladie d'Alzheimer :**

### **2.1. Apo E et lésions de la maladie :**

Les études génétiques ont décrits l'allèle e2 comme facteur protecteur et l'allèle e4 comme facteur de risque pour la maladie d'Alzheimer.

Des études immunohistochimiques des cerveaux de patients atteints de maladie d'Alzheimer ont montré la présence d'apo E dans les dépôts amyloïdes extracellulaires, ainsi que les dépôts vasculaires, dans les astrocytes et dans quelques neurones contenant ou non des PHFs (103). C'est la partie C-terminale de l'apoE qui est retrouvée au sein des fibrilles amyloïdes des cerveaux Alzheimer (104). L'apoE est mise en évidence dans les dépôts compacts d'amyloïde, mais il existe une distribution régionale de l'apo E au sein des dépôts diffus d'amyloïdes.

L'allèle e4 est un facteur de risque de la maladie, qui semble corrélér avec des données immunohistochimiques. Les sujets homozygotes pour l'allèle e4 ont un nombre

accru de dépôts amyloïdes au sein des vaisseaux et de plaques amyloïdes (105). De même, les PS sont plus nombreuses dans les cerveaux de patients Alzheimer possédant une isoforme E4 de l'apo E par rapport à ceux ayant une isoforme E3. Une augmentation de l'expression de l'apo E par les astrocytes est observée dans les cerveaux de patients.

Le polymorphisme de l'apo E peut également jouer sur les déficits neurochimiques, et notamment sur le déficit cholinergique. Qui sont plus importants chez les patients porteurs de l'allèle e4 (106).

## **2.2. Apo E et peptide amyloïde :**

La localisation de l'apo E au sein des plaques serait le résultat de son association avec le peptide amyloïde (107). La liaison du peptide amyloïde et de l'apo E n'est pas spécifique de la maladie d'Alzheimer, car elle est retrouvée dans l'angiopathie cérébrale et différentes pathologies cérébrales avec amyloïdoses.

Les différentes isoformes ont des propriétés particulières vis à vis de la protéine b amyloïde. Cette affinité de l'apo E pour le peptide Ab est discutée selon les auteurs. Deux mécanismes sont donc proposés pour l'intervention de l'apo E dans l'amyloïdogénèse. Le rôle de l'apo E est isoforme spécifique quelque soit le mécanisme proposé, et implique une liaison différente de l'apo E au peptide amyloïde. Les isoformes de l'apo E diffèrent dans leur capacité: - soit à faciliter la déposition du peptide amyloïde, en modulant la formation de fibrilles et l'agrégation du peptide amyloïde. - soit à aider à l'élimination du peptide amyloïde et retarder la formation des fibrilles (107).

## **2.3. Apo E: cofacteur de l'amyloïdogénèse**

L'apo E4 purifiée de plasma se lierait au peptide amyloïde avec une affinité plus importante que les autres allèles (108); ce sont des formes oxydées de l'apo E qui se lient à l'Ab. Cette liaison a lieu pour l'apo E dans le domaine d'interaction avec les lipides. La liaison de l'Ab avec l'apo E4 s'effectue de façon plus rapide que celle de l'apo E3 et de l'Ab (109), et entraîne l'apparition de fibrilles plus précocement (110).

L'association de l'apo E et du peptide amyloïde aboutit donc à la formation de fibrilles insolubles. La proportion d'apo E par rapport au peptide amyloïde serait déterminante dans l'agrégation du peptide amyloïde). L'Apo E favorise l'agrégation du peptide amyloïde. (111)

Les arguments les plus forts ont été récemment obtenus par l'utilisation de souris transgéniques pour le gène humain du précurseur du peptide amyloïde muté au codon 717 (mutation responsable de formes familiales précoces de la maladie d'Alzheimer). Ces souris ont alors pour particularité de développer de nombreuses plaques amyloïdes.

La quantité de dépôts amyloïdes est directement corrélée au nombre de copies du gène de l'APOE murine (112). Chez ces souris, âgées de 9 à 15 mois, l'APOE semble nécessaire pour convertir des dépôts diffus d'amyloïde (thioflavine-S négatif) en dépôts fibrillaires plus mûrs (thioflavine-S positif) et observer une sévère dégénérescence neuritique. Il faut noter qu'une expression spécifique de l'isoforme APOE4 conduit à davantage de dépôts fibrillaires (>10 fois) que l'expression de l'APOE3. L'apo E4 est environ deux fois plus active que l'apo E3, elle-même deux fois plus active que l'apo E2. L'association apo E2-apo E4 inhibe la formation des filaments amyloïdes. Ces résultats suggèrent donc que l'APOE murine affecte le développement de la maladie d'Alzheimer en facilitant la conversion du peptide amyloïde en fibrille amyloïde plus toxique (112).

L'apo E serait donc une molécule chaperonne pour la fibrillogénèse, et c'est l'isoforme E4 qui se lierait préférentiellement au peptide amyloïde (113). La liaison de l'apo E4 et du peptide amyloïde expliquerait son rôle en tant que facteur de risque.

#### **2.4. Apo E: élimination du peptide amyloïde :**

D'autres auteurs, ont mis en évidence des résultats contradictoires: le peptide Ab se lierait préférentiellement à l'apo E3 associée à des lipoprotéines, plutôt qu'à l'isoforme E4 associée à des lipoprotéines. L'apo E2, sous forme de dimères, serait encore plus efficace que l'apo E3 pour la formation de complexes avec le peptide amyloïde (114).

L'efficacité à former des complexes entre l'apo E et le peptide amyloïde est inversement corrélée au risque de développer la maladie: l'apo E2, qui est un facteur protecteur se lie préférentiellement au peptide amyloïde. Le peptide amyloïde et l'apo E ont été mis en évidence au sein de mêmes vésicules dans les neurones (115); ces neurones expriment en quantité importante le récepteur gp330. La présence de complexes solubles apo E2/E3-Ab permettraient l'internalisation par des récepteurs de l'apo E dans les cerveaux de patients atteints de maladie d'Alzheimer. Les résultats obtenus dans ce modèle murin avec de l'APOE d'origine humaine sont plus complexes. En effet, la quantité de dépôts amyloïdes diminue avec un nombre croissant de copies du gène de l'APOE humaine chez les souris âgées de 9 mois. C'est seulement à 15 mois que les résultats observés deviennent similaires à ceux obtenus avec de l'APOE murine (116).

Si l'on fait abstraction des différences de séquences primaires entre les APOE humaine et murine, ces observations indiquent que l'APOE humaine interviendrait dans la dégradation du peptide amyloïde. Cette hypothèse est soutenue par le fait que des cellules microgliales immunoréactives pour l'APOE sont localisées au centre des plaques séniles (117).

Il a été proposé que le peptide amyloïde, après être complexé à des lipoprotéines contenant de l'APOE, serait éliminé par l'intermédiaire des récepteurs de l'APOE et en particulier de la protéine LRP (*low density related protein*) (118). En présence d'apo E4, le peptide amyloïde extracellulaire ne serait pas ou peu éliminé.

Un argument supplémentaire en faveur du rôle protecteur de l'apo E est la protection *in vitro* de la toxicité du peptide amyloïde (119) avec un effet spécifique de chaque isoforme (E3 étant plus efficace que E4 et moins que E2). L'apo E diminue les effets toxiques en protégeant d'un stress oxydatif induit par le peptide amyloïde (120).

### **2.5. Apo E et protéines du cytosquelette :**

Pour que l'apo E puisse interagir avec les protéines Tau, l'apo E doit se situer dans le cytoplasme du neurone, ce qui a été décrit par. L'apo E étant décrite comme non synthétisée par le neurone, elle doit être internalisée par la voie des récepteurs, et échapper à la dégradation par la voie endosomale/lysosomale. Les isoformes ayant des affinités différentes pour les récepteurs, les divers variants de l'apo E ne se fixent pas identiquement aux récepteurs neuronaux et ne soient donc pas internalisés de la même façon.

*In vitro*, l'isoforme E3 a une affinité plus importante pour les protéines Tau que l'isoforme E4 (121). Et la liaison des protéines Tau et de l'apo E intervient au niveau de la région N-terminale de l'apo E (région de liaison aux récepteurs LDL) et dans la région de la liaison aux microtubules des protéines Tau (122).

Les liaisons différentielles de l'apo E3 et de l'apo E4 aux protéines Tau peuvent s'expliquer par l'absence d'une cystéine en position 112 sur l'isoforme E4. La cystéine, à cette position de l'isoforme E3, pourrait intervenir dans la liaison aux cystéines présentes dans la région de liaison aux microtubules des protéines Tau, qui sont nécessaires pour la dimérisation des protéines Tau, et ainsi empêcher la phosphorylation des protéines Tau et leur dimérisation, puis la formation de PHFs.

Selon Mercken et Brion (1995), la phosphorylation des protéines Tau de souris n'exprimant pas l'apo E n'est pas affectée. Par contre, les protéines Tau de souris n'exprimant pas d'apo E sont plus phosphorylées que les protéines Tau de souris sauvages. Selon Genis et al. (1995) une liaison de l'apo E3 avec les protéines Tau diminue la glycation de ces protéines *in vitro*. L'interaction de l'apo E pourrait intervenir dans la phosphorylation ou la glycation des protéines en masquant les sites sensibles. L'association de l'allèle e4 avec la maladie s'expliquerait par l'absence d'effet protecteur, de l'allèle e3 (123).

Toutes ces hypothèses proposent un rôle indirect de l'apo E dans la maladie d'Alzheimer. Cependant, un rôle direct de l'apo E peut aussi être envisagé. D'après des études sur le rôle de l'apo E dans le système nerveux, l'apo E module avec un effet isoforme spécifique la croissance neuritique, et participerait à la réinnervation après perte cellulaire. D'autre part, l'apo E ou des fragments dérivés sont toxiques pour des cellules en culture. Ces différentes voies pourraient agir en synergie, ce qui impliquerait un rôle prédominant de l'apo E dans la maladie d'Alzheimer.

## **2.6. Expression et polymorphismes du promoteur de l'apolipoprotéine E :**

Les données obtenues à partir des souris transgéniques APP717 exprimant 0, 1 ou 2 copies du gène de l'APOE suggèrent qu'une variation de l'expression de l'APOE chez l'homme serait un déterminant de l'étiologie de la maladie d'Alzheimer. Cette observation est particulièrement intéressante puisque, chez l'homme, en ne tenant compte que de la seule combinaison des allèles  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  et  $\epsilon 4$  et d'autres marqueurs génétiques localisés sur le locus de l'APOE, on peut mieux définir des sous populations à risque (124).

La découverte de nouveaux polymorphismes dans le promoteur du gène de l'APOE (-491 A→T, -427 C→T et -219 G→T), capables de moduler le risque de développer l'affection renforce cette hypothèse (125).

Si la plupart des études s'accordent sur l'association de ces polymorphismes à la maladie d'Alzheimer, la controverse réside dans l'origine de cette association : provient-elle uniquement du déséquilibre de liaison de ces polymorphismes avec l'allèle  $\epsilon 4$ , ou ceux-ci jouent-ils un rôle indépendamment de cet allèle, Une méta-analyse regroupant plus de 3 800 sujets suggère des effets propres de ces polymorphismes (126).

En outre, ces polymorphismes ont une traduction fonctionnelle et modulent l'expression de l'APOE comme le suggèrent à la fois des études *in vivo* et *in vitro* (127) (128). Les mécanismes par lesquels ces polymorphismes entraînent la variation de l'expression de l'APOE ne sont pas élucidés. Il a été observé que ces polymorphismes sont corrélés à la quantité de dépôts amyloïdes dans le cerveau de patients atteints de maladie d'Alzheimer, leurs effets étant indépendants du génotype  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$  (129). De même, dans le tissu cérébral de témoins, le nombre de plaques séniles dans deux régions de l'hippocampe (CA1 et *subiculum*) augmente de façon significative pour les individus de génotype -219 TT, bien qu'il soit difficile de déterminer si cet effet est indépendant ou non de l'allèle  $\epsilon 4$  161. Néanmoins, ces données confirment la validité de l'association entre expression de l'APOE et quantité de dépôts amyloïdes dans le tissu cérébral humain.

## **1. LIPIDES ET LIPOPROTEINES :**

Les lipides forment un groupe hétérogène de composés dans lesquels on inclut les graisses, les huiles et les cires, insolubles dans l'eau et les milieux biologiques aqueux (lipos) et solubles dans les solvants organiques non polaires comme le benzène, chloroforme, éther (130).

Ils présentent environ 20 % du poids du corps et jouent un rôle capital en exerçant une grande variété de fonctions biologiques à la fois au niveau structurel et fonctionnel : ils interviennent dans la constitution des membranes cellulaires et constituent aussi une source énergétique importante. Ils sont cependant loin de n'être que des éléments de réserve d'énergie. Ce sont aussi des messagers chimiques et précurseurs de dérivés doués d'activités biologiques indispensables, prostacyclines, thromboxanes et leucotriènes, acides biliaires et stéroïdes hormonaux (131).

### **1.1 Principaux lipides étudiés :**

Les lipides majeurs dans le corps sont les triglycérides (TG), le cholestérol libre (CL), le cholestérol estérifié (CE) et les phospholipides (132).

#### **1.1.1. Les triglycérides et acides gras :**

Les triglycérides, stockés dans les adipocytes des tissus adipeux, constituent une réserve énergétique essentielle pour l'organisme. De sources animales et végétales, sous forme de graisse et huiles alimentaires, ils constituent 90% de l'apport en lipides de notre alimentation. Leur catabolisme est régulé par des signaux hormono-dépendants. Les triglycérides sont dégradés en glycérol et acides gras libres, ces derniers libérés dans le sang et transportés aux tissus, ils peuvent être captés par le foie et les muscles, ou ils seront oxydés en acétyl-CoA (133).

Dans le plasma, les acides gras existent de manière assez transitoire sous forme libre alors appelés AGL (acides gras libres) ou AGNE (acides gras non estérifiés). Sont nécessaires à de nombreux processus physiologiques comme la différenciation cellulaire. Les acides linoléique (18 : 2 n-6), et linoléique (18 : 3 n-3) (acides gras essentiels) et leurs dérivés poly-insaturés à 20 et 22 atomes de carbone exercent des fonctions vitales, multiplication et différenciation des cellules, reproduction et croissance des animaux, précurseurs de prostaglandines, thromboxanes et leucotriènes...(134)

Immédiatement après le tissu adipeux, le système nerveux est l'organe comprenant la plus grande concentration en lipides (50% du poids sec) contrairement des lipides du tissu adipeux, dont le rôle est essentiellement métabolique, leurs homologues du système

nerveux interviennent au niveau de la structure, et de la fonction (la gaine de myéline très riche en lipides, intervient dans la conduction nerveuse) (134) (135).

Les AGPI (acides gras poly-insaturés) qui composent en grande partie les membranes des neurones sont indispensables au développement cérébral. À partir des acides gras essentiels, vont être synthétisés des dérivés à longue chaîne sous l'effet des élongases et des désaturases, en particulier l'acide arachidonique C20 : 4(n-6), l'EPA C20 : 5(n-3) et le DHA C22 : 6(n-3) qui sont des constituants majeur de la membrane des neurones. Cette activité enzymatique diminue avec l'âge (136). Le statut en DHA est alors beaucoup plus dépendant des apports nutritionnels (137).

Outre leur rôle dans la composition et la fluidité des membranes des neurones, plusieurs mécanismes pourraient expliquer les effets des AGPI au niveau cérébral. Les AGPI  $\omega$ 3 et  $\omega$ 6 ont des effets opposés sur le plan cardiovasculaire. Les AGPI  $\omega$ 3 diminuent le risque d'arythmie cardiaque, ils ont aussi des effets anti-thrombotiques et anti-athérosclérose (138).

À côté de ces hypothèses vasculaires, le rôle des AGPI dans l'inflammation pourrait également expliquer leur effet sur le vieillissement cérébral. En effet, de nombreux travaux ont montré une association entre neuro-inflammation et pathologie neurodégénérative (139). Les AGPI  $\omega$ 3 issus de l'alimentation pourraient prévenir la neurodégénérescence en régulant négativement la surexpression des cytokines inflammatoires qui apparaît au cours du vieillissement.

Enfin, les acides gras activent des récepteurs nucléaires spécifiques (PPAR) (peroxisome proliferator-activated receptors) et induisent ainsi la transcription de gènes codant pour des protéines et des enzymes impliquées dans la  $\beta$ -oxydation mitochondriale et peroxisomale (140).

### **1.1.2. Cholestérol :**

Le cholestérol est une molécule multifonctionnelle, elle détermine les propriétés des membranes cellulaires et de leurs composants de signalisation, sert de précurseurs à la synthèse des hormones stéroïdiennes et règle les fonctions des différents signaux cellulaires (141).

Compte tenu de ces multiples fonctions, il n'est pas surprenant que des déficiences du métabolisme du cholestérol soient à l'origine de graves maladies (142). Cependant, peu de données existent sur le rôle du cholestérol dans le système nerveux (143)

A partir des travaux réalisés sur des cultures de neurones purifiés à partir du système nerveux central de rongeurs deux hypothèses ont été formulées quant à la fonction du cholestérol dans le cerveau et au rôle de la glie dans son métabolisme :

Durant le développement cérébral, les neurones réduisent ou arrêtent la synthèse du cholestérol et l'importent à partir d'un sous-type de cellules gliales, les astrocytes, qui sécrètent le cholestérol dans des particules de lipoprotéines riches en apo-lipoprotéine E (ApoE). Les neurones du (SNC) ont besoin de ce cholestérol provenant de la glie afin de former de nombreuses synapses fonctionnelles (144) et Stimulé également l'efficacité de la libération de neurotransmetteurs (145).

La diminution du cholestérol dans la lignée cellulaire « neuronale » PC12 perturbe l'exocytose et que la machinerie d'exocytose (vésicules et protéines associées) est localisée dans des micro-domaines membranaires riches en cholestérol (146). De nombreuses données expérimentales suggèrent l'existence de tels domaines, dénommés rafts, dont la fonction est d'organiser les composants de signalisation dans la membrane plasmique des cellules, en général, et des synapses neuronales, en particulier.

Des études antérieures avaient montré que les vésicules synaptiques possèdent plus de cholestérol que les autres organites intracellulaires (147) De plus une étude a démontré que le transport des vésicules le long des microtubules nécessite que leur membrane renferme du cholestérol (148) Cela suggère que le transport efficace des vésicules synaptiques vers les terminaisons pré-synaptiques dépendrait de leur composition en cholestérol.

Le cholestérol pourrait également favoriser la différenciation post-synaptique. Il a été notamment montré que les récepteurs des neurotransmetteurs, ainsi que d'autres composants post-synaptiques, sont associés aux rafts (149). Le cholestérol fourni par les astrocytes pourrait faciliter, via les rafts, l'agrégation des récepteurs post-synaptiques et augmenter ainsi les réponses post-synaptiques (150).

Il a été clairement établi que la totalité du cholestérol cérébral est synthétisée localement et non puisé dans la circulation sanguine (151) mais il n'est pas démontré que les neurones contribuent à l'élaboration du stock de cholestérol cérébral. la raison pour la qu'elle les neurones choisissent d'importer le cholestérol plutôt que de le synthétiser réside probablement dans le coût logistique élevé de la synthèse des stérols, qui nécessite une batterie d'enzymes consommant l'énergie en grande quantité.

D'une manière générale, les neurones récupèrent le cholestérol grâce à deux voies différentes, soit par l'endocytose de lipoprotéines se liant à des récepteurs des LDL, soit

par le transfert direct des lipoprotéines vers la membrane plasmique via des récepteurs des HDL (151).

## **2. Les lipoprotéines :**

### **2. 1. Structure générale des lipoprotéines :**

Les lipides sont des molécules hydrophobes, sont véhiculés à travers les divers compartiments extracellulaires de l'organisme (plasma, lymphe et liquide interstitiel) au sein d'édifices macromoléculaires complexes : les lipoprotéines (152).

Ces lipoprotéines sont des macromolécules sphériques de haute masse moléculaire et de diamètre variables (jusqu'à 1000nm) constituées de deux parties. Le cœur lipidique hydrophobe, constitué d'esters de cholestérol et de triglycérides, recouvert d'une enveloppe amphiphile dont les constituants principaux sont les lipides les plus polaires, les phospholipides, le cholestérol non-estérifié et des protéines spécifiques (apolipoprotéines). Ces dernières confèrent à chaque édifice lipoprotéique ses propriétés fonctionnelles et son devenir métabolique (153).

La cohésion de ses édifices dont les masses moléculaires peuvent atteindre plusieurs millions est assurée par des liaisons ioniques entre groupement électriquement chargés unissant les fractions protéiniques et les phospholipides, à l'opposé, les phospholipides sont unis au cholestérol par des forces de type vanderwaals. On peut donc considérer la fraction phospholipidique comme un trait d'union entre les protéines et le cholestérol et les triglycérides (154). Le sang transporte ainsi plusieurs classes de lipides sous forme de lipoprotéines qui sont subdivisées en plusieurs sous-groupes distincts sur la base de caractéristiques physico-chimiques (taille et densité) chaque classe est caractérisée par la proportion des différents lipides ainsi que par la nature des apoprotéines, et sont classées en fonction de :

**-Leurs Mobilité électrophorétique:** L'électrophorèse de zone a été la première technique permettant une classification des lipoprotéines plasmatique en 4 fractions (155)

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

**-En fonction leurs densité :** leurs comportement à l'ultracentrifugation de flottation L'ultracentrifugation : (156). Si l'on a permis d'isoler différentes classes de lipoprotéin (154):

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

**-Classification selon la taille :**

Il existe une relation inverse entre la taille et la densité des lipoprotéines. L'électrophorèse dans un gel réticulé dont la taille des pores diminue depuis le point de dépôt, permet de séparer 4 classes des lipoprotéines en fonction de leur taille qui correspondent approximativement aux classes séparées par ultracentrifugation.

**-En fonction de leur fraction protéique :**

Dépend de la nature de l'apolipopreines présente dans leurs structure 184 peuvent être divisées en deux groupes

- lipoprotéines simples ou primaires qui contiennent une seule apolipoprotéine. Ex : LpAI, LpB ...
- lipoprotéines complexes qui contiennent deux ou plusieurs apolipoprotéines Ex : Une particule contenant les apoB, CIII, et E et sera désignée par LpB:CIII:E.

### **3. Les apolipoproteines :**

Ce sont la partie protéique situées à la périphérie des lipoprotéines, considérées comme la partie intelligente de la molécule, elles se caractérisent par une structure secondaire à base d'hélice  $\alpha$  amphiphiles, cette hélice a des faces polaires et non polaires qui interagissent avec les solvants et le milieu hydrophobe à la surface de la lipoprotéine (152) elles sont dénommées par une lettre de l'alphabet (ABCDE...) (154) selon la nomenclature d'Alaupovic suivie d'un chiffre romain (I II III...) lorsqu'il existe de modification électrophorétique au sein de la même famille d'apolipoproteine.

ces divers classes de lipoprotéines différent par leurs structure et leur propriété, les apo A,C, et E sont échangeables, alors que les apo B48 et B100 ne le sont pas, ces dernières constituent l'armature fixe des lipoproteines de grandes tailles , chylomicrons, VLDL,IDL et LDL (156). Tableau 2 en annexe.

Les ApoA sont principalement associées aux HDL, les ApoB aux LDL et les ApoC aux VLDL et HDL. En fait, cette nomenclature a considérablement évolué en raison de la découverte de nouvelles apolipoprotéines et de profils de distribution spécifiques au sein des lipoprotéines plasmatiques (157). annexe tableau3.

Par exemple, alors que les apolipoprotéines A-I et A-II se localisent quasi-exclusivement dans les HDL, l'apolipoprotéine A-IV peut aussi s'associer aux lipoprotéines riches en triglycérides ; les apolipoprotéines B se localisent non seulement dans les LDL, mais également dans les VLDL et les chylomicrons : les apoE, comme les apoC, ne sont pas associées à un seul type de lipoprotéines, mais se retrouvent à la fois dans le VLDL et les HDL (158).

Indépendamment de leurs propriétés physicochimiques, stabilisatrices de l'édifice lipoprotéique, ainsi que leur rôle dans l'assemblage et la sécrétion des lipoprotéines, c'est grâce à leurs interactions avec les systèmes enzymatiques et les récepteurs membranaires qu'ils dirigent le transport de chaque classe de lipoprotéines vers le site où elles seront dégradées (157).

#### **4. Métabolisme des lipides et lipoprotéines :**

Le métabolisme des lipoprotéines est complexe et fait intervenir de nombreux récepteurs et enzymes. Trois voies essentielles ont été décrites ;

##### **4.1 Voie exogène (entéro-hépatique) :**

Une fois ingérés, Les lipides alimentaires acides gras et cholestérol sont hydrolysés dans le petit intestin et absorbés par les entérocytes, le cholestérol sera transformé en esters de cholestérol par une enzyme spécifique localisée dans le réticulum endoplasmique l'acyl coenzyme A cholestérol- acyltransferase (ACAT) (158), et sera intégré dans des lipoprotéines de grande taille: les chylomicrons dont le cœur hydrophobe est constitué pour une large part de triglycérides, L'apport alimentaire quotidien en lipides est d'environ 100 g de triglycérides et de 0,2 à 0,5 g de cholestérol. Les chylomicrons transportent donc surtout des triglycérides (159).

Au niveau du réticulum endoplasmique des entérocytes, les chylomicrons contiennent déjà l'apoB48 essentielle à leur assemblage ; une fois secrétés dans la circulation sanguine, Les chylomicrons peuvent alors se lier très rapidement à la lipoprotéine lipase (LPL), enzyme lipolytique ancrée à l'endothélium des capillaires sanguins de nombreux tissus périphériques (tissu adipeux, cœur, muscle squelettique, cerveau) (160) qui va hydrolyser leurs triglycérides en acides gras libres non estérifiés,

qui seront captés par la cellule adipeuse et reconstitués en triglycérides (graisses de réserve); les muscles peuvent aussi les utiliser comme source d'énergie.

En plus de l'apolipoprotéine B48 qui ne peut pas s'échanger librement entre les lipoprotéines circulantes, les chylomicrons natifs contiennent les apolipoprotéines A-I, A-II et A-IV. Ils acquièrent rapidement des apolipoprotéines C et E provenant des HDL (161).

Au cours de l'hydrolyse des triglycérides par la lipoprotéine lipase, dont le cofacteur est l'apolipoprotéine C-II, des acides gras non estérifiés sont libérés et rapidement captés par les tissus. De plus, les apolipoprotéines A (en particulier l'apolipoprotéine A-I) et C vont se dissocier, contribuant ainsi à l'émergence de nouvelles particules HDL naissantes, riches en protéines et pauvres en lipides, constitue une étape clé d'une autre voie de transport des lipides, celle qui permet le retour du cholestérol excédentaire des tissus périphériques vers le foie.

Plusieurs tissus périphériques, principalement le cœur, le muscle squelettique et le tissu adipeux, internalisent directement une partie des particules résiduelles de chylomicron avant qu'elles ne soient prises en charge par le foie (162).

Finalement, les particules résiduelles non captées, ayant perdu une large part de leurs triglycérides et de leurs apolipoprotéines mineures, sont catabolisées par les hépatocytes par l'intermédiaire d'une endocytose récepteur dépendante. Le cholestérol libéré sera alors principalement intégré dans de nouvelles lipoprotéines synthétisées par le foie (VLDL) ou excrété dans les canalicules biliaires, sous forme native ou dérivée (163).

Les chylomicrons transportent donc les triglycérides alimentaires au tissu périphériques pour y être stockés (tissu adipeux), ou dégradés à des fins énergétiques (muscle strié), de même que le cholestérol alimentaire au foie contribue au transport entéro-hépatique des lipides. Ils sont présents dans la circulation sanguine environ une heure après un repas et disparaissent normalement, ainsi que leurs résidus, huit heures après l'ingestion alimentaire. Lors d'un prélèvement sanguin effectué après 12 heures de jeûne, les chylomicrons sont donc normalement absents (163).

#### **4.2. Transport des lipides du foie vers les tissus périphériques voie endogène d'apport :**

Quelques heures suivant un repas, lorsque la quantité de CM en circulation est faible, les besoins en TG des tissus périphériques sont assurés par les lipides synthétisés par le foie à partir du glycérol et des acides gras libérés par le tissu adipeux ou produits sur place ou transitant par celui-ci, mis en circulation sous forme de VLDL(159).

Ainsi Les VLDL synthétisées et sécrétées par le foie initient une nouvelle voie de transport des lipides, dite endogène puisqu'elle permet leur transport du foie vers les tissus périphériques.

L'apolipoprotéine B100 est essentielle à l'assemblage des lipoprotéines riches en triglycérides dans le foie elle est intégrée aux VLDL hépatiques. À noter que le foie est le site majeur de synthèse des apolipoprotéines C et E qui constituent une fraction non négligeable des apolipoprotéines associées aux particules VLDL naissantes(159).

Après sécrétion dans le compartiment intravasculaire, les VLDL hépatiques, comme les chylomicrons, subissent l'action de la lipoprotéine lipase endothéliale qui hydrolyse les triglycérides. Les acides gras ainsi libérés sont distribués aux tissus et serviront alors comme source d'énergie (152).

La réduction progressive du coeur hydrophobe de la particule VLDL s'accompagne du transfert de phospholipides et d'apolipoprotéines C aux HDL, les VLDL peuvent acquérir des esters de cholestérol générés initialement dans les HDL plasmatique (131).

Une lipoprotéine de densité intermédiaire (IDL), se retrouve relativement enrichie en cholestérol estérifié. Une partie des VLDL et des IDL sont catabolisées par le récepteur des VLDL, surtout présent dans les muscles et le tissu adipeux (164).

La diminution du contenu en triglycérides conduit à la formation des lipoprotéines de densité faible ou LDL. Celles-ci, dont le cholestérol constitue environ 70 % de la cholestérolémie totale, À la différence des VLDL et IDL, les LDL contiennent en surface uniquement l'apolipoprotéine B100 (165). Tout au long de la cascade VLDL-IDL-LDL, les lipoprotéines peuvent être retirées de la circulation par interaction avec des récepteurs cellulaires spécifiques, localisés soit au niveau des hépatocytes (récepteur des LDL, récepteur LRP), soit au niveau des tissus périphériques (récepteur des LDL, récepteur des VLDL, récepteur LRP récepteur ER2 à l'apolipoprotéine E, mégaline). La reconnaissance des lipoprotéines par leurs récepteurs cellulaires peut se faire par l'apolipoprotéine E (cas des VLDL), ou par l'apolipoprotéine B100 (cas des IDL et LDL) (130) (152).

### **4.3. Transport des lipides des tissus périphériques vers le foie : voie de retour**

Alors que les tissus périphériques peuvent acquérir du cholestérol, soit par synthèse de novo, soit par le biais de l'endocytose et de l'hydrolyse des lipoprotéines contenant l'apolipoprotéine B, ils sont en revanche pour la plupart incapables de le cataboliser (130)

Le foie est le principal organe capable d'éliminer le cholestérol excédentaire de l'organisme dans la bile, où le cholestérol peut être excrété sous sa forme native, ou après transformation en acide biliaire. Le cholestérol doit donc être ramené au foie par une voie métabolique spécifique : la voie de retour ou transport reverse du cholestérol (166)

Selon les modèles développés jusqu'à maintenant, les HDL captent le cholestérol libre des cellules périphériques pour les transporter au foie où ils seront catabolisés. Ce transport pourrait se faire de façon directe (via les HDL), mais aussi de manière indirecte, par l'entremise des VLDL et des IDL (167).

Ce sont les préβHDL "naissantes" ou "immatures", qui proviennent du foie et de l'intestin, qui constituent les accepteurs initiaux du cholestérol cellulaire. , Elles sont constituées, principalement l'apolipoprotéine A-I, associées avec quelques molécules de phospholipides. Ces particules pauvres en lipides ont une forme discoïdale (en raison de l'absence de composés lipidiques neutres du cœur, une densité élevée (comprise entre 1.21 et 1,25 g/ml) et une mobilité électrophorétique (de type préβ) qui les distingue des particules HDL (de type α). (168)

Le cholestérol libre des surfaces cellulaires est capté par des HDL "naissantes" et estérifié par la LCAT, une enzyme activée par l'apo-A-I; ces esters de cholestérol migrent vers le cœur hydrophobe de la particule (169). Les HDL deviennent alors sphériques. Avec l'ajout de phospholipides, de cholestérol et d'apoprotéines issus de la lipolyse des chylomicrons et des VLDL, les préβ HDL se transforment en αHDL, enrichies en esters de cholestérol.

Ce cholestérol estérifié peut suivre deux voies métaboliques: soit transférés aux lipoprotéines plus légères en échange de triglycérides des VLDL par l'action de la CETP. Soit ils demeurent nichés au sein de la particule HDL porteuse jusqu'à leur prise en charge par les tissus cibles, notamment le foie ou un tissu stéroïdogénique auquel il donnera son cholestérol. Après avoir livré ses EC, les HDL se retrouve à nouveau en circulation et redevient disponible pour recevoir des EC (170).

Dans le foie, le cholestérol sera transformé en sels biliaires ou sera directement excrété dans la bile, alors que dans les tissus stéroïdogéniques, il sera transformé en hormones stéroïdiennes

## **5. les lipides et la maladie d'Alzheimer :**

Le lien entre le métabolisme lipidique et risque de maladie d'Alzheimer est extrêmement controversé. Différentes études récentes ont montré que le traitement par les

statines, molécules utilisées comme hypolipémiants, pourrait avoir un effet protecteur vis-à-vis de la maladie d'Alzheimer (171).

Les études épidémiologiques suggèrent que les patients MA présentent un profil lipidique plasmatique avec des taux élevés de cholestérol totale, et de cholestérol-LDL (172) et des taux bas de cholestérol-HDL (173).

En effet la machinerie génératrice de l'APP est hautement sensible aux petites modifications et altérations des niveaux des lipides et surtout du cholestérol (174). D'après plusieurs études des taux élevés de cholestérol plasmatique peut contribuer dans la pathogenèse de la MA. Les mécanismes par lesquels le cholestérol affecte la production de la protéine amyloïde et son métabolisme n'est pas entièrement élucidés.

### **5.1. Le cholestérol et le métabolisme de l'AB :**

Les études utilisant des modèles animaux, montrent une forte connexion entre les niveaux du cholestérol plasmatique et la génération de la protéine amyloïde.

Les premières preuves expérimentales ont été publiées par Sparks et ses collaborateurs en 1994 (174) ils ont montré que l'alimentation des lapins avec un régime riche en cholestérol pendant 8 semaines provoque l'accumulation intracellulaire des A $\beta$  dans les neurones de l'hippocampe. Depuis ces résultats ont été répliqués dans plusieurs autres études.

Les souris transgéniques exprimant la mutation suédoise de l'APP montrent aussi une accélération de la déposition de la protéine amyloïde dans le cerveau en réponse à une alimentation riche en cholestérol (176) (177).

D'autres rapports montrent qu'une alimentation riche en cholestérol augmente les niveaux du cholestérol dans le plasma et le CNS chez les souris transgéniques exprimant les mutations familiales APP<sub>K670N,M671</sub>, et PS1<sub>M146V</sub> (177).

En plus des études sur les animaux, de fortes preuves biochimiques supportent le rôle direct du cholestérol intracellulaire dans la génération et la déposition de la protéine amyloïde, les changements dans les propriétés membranaires, incluant sa rigidité et sa fluidité, ont été suggérés pour influencer la capacité de la membrane à lier des protéines et des enzymes, incluant les secrétases.

Une grande quantité de cholestérol dans les domaines membranaires (lipid raft), qui sont les régions membranaires où sont localisés ses enzymes, facilite la liaison de la  $\beta$  et  $\gamma$  secrétase avec leurs substrats l'APP dans une configuration optimum, et de ce fait promouvoir le clivage pathogénique indésirable du précurseur amyloïde (178).

La réduction des taux du cholestérol cellulaire semble inhiber l'activité de BACE (179), la  $\gamma$  secrétase réside aussi dans les lipides raft et le clivage par la  $\gamma$ -secrétase semble aussi être affecté par leur contenu en cholestérol (180). Au contraire la  $\alpha$ -secrétase réside plutôt dans des domaines membranaires riches en phospholipides et montrent une diminution de son activité quand le cholestérol cellulaire est augmenté, aussi la réduction du cholestérol neuronale via les traitements par les statines diminue la quantité de l'AB sécrétée par les neurones probablement en diminuant l'activité de l'AB secrétase, et en augmentant la quantité de l'APPs sécrétés par les neurones.

Au niveau des membranes neuronales et gliales, le cholestérol est distribué asymétriquement au niveau des deux feuillets membranaires. Le feuillet externe contient plus de 85% du cholestérol membranaire. Cette distribution différentielle du cholestérol membranaire au niveau des deux feuillets est nécessaire pour le fonctionnement physiologique normal (181). Le vieillissement ainsi que le génotype apoE4 sont parmi les facteurs causant la diminution du ratio entre le cholestérol du feuillet interne et externe (182). Certaines statines peuvent augmenter ce ratio en diminuant le cholestérol du feuillet externe (183). Une directe association causale entre une forte concentration du cholestérol du feuillet externe, et l'augmentation de la production de l'A $\beta$  n'a pas encore été établie.

Il a été montré, que c'est la distribution intracellulaire du cholestérol, plutôt que des niveaux du cholestérol qui régule le métabolisme de l'APP et la génération de l'A $\beta$ , le cholestérol cellulaire est stocké soit sous forme de cholestérol libre au niveau de la membrane, soit sous forme d'ester de cholestérol ou sous forme de gouttelettes cytoplasmiques. C'est une enzyme qui se trouve dans le réticulum endoplasmique acyl-coenzyme A cholestérol acyltransferase (ACAT) qui catalyse la formation d'ester de cholestérol à partir du cholestérol, et des longues chaînes d'AG, ainsi l'ACAT contrôle l'équilibre entre ces deux formes du cholestérol cellulaire (183).

Des résultats prouvent que cet équilibre régule la génération de l'A $\beta$ , l'augmentation sélective de l'ester de cholestérol augmente sa génération. Un inhibiteur compétitif de l'ACAT dans plusieurs lignées cellulaires et neurones primaires réduit la biosynthèse de l'ester de cholestérol et la génération de l'A $\beta$ , augmente la concentration du cholestérol libre. Des résultats similaires ont été obtenus avec des agents qui bloquent l'acheminement du cholestérol libre à l'ACAT.

## **5.2. La phosphorylation de la protéine tau et les dégénérescences neurofibrillaires:**

Le rôle de l'homéostasie du cholestérol dans la phosphorylation de la protéine tau et la formation des dégénérescences neurofibrillaires n'est pas encore bien défini, le cholestérol peut avoir un effet direct ou indirect dans la production des dégénérescences.

L'injection A $\beta$ 42 dans le cortex des souris cause une augmentation significative dans l'hyper phosphorylation de la protéine tau (184).

L'observation des similitudes entre l'MA et la maladie de pick type C1 qui est une maladie neurodégénérative héréditaire de l'enfance et d'adolescence avec une désorganisation du transport intracellulaire du cholestérol comme un premier déficit amenant à une accumulation intracellulaire du cholestérol dans les cellules, incluant les neurones dans le CNS (185).

Malgré que les manifestations cliniques et pathologiques des deux maladies sont différentes, la formation des dégénérescences neurofibrillaires, et l'influence du génotype de l'APOE sur le développement de la maladie(186), ainsi que la surexpression de la flotillin 1 (une protéine associée aux domaines membranaires riches en cholestérol) dans les lysosomes des neurones présentant des dégénérescences à partir du cortex des patients MA (187) laisse suggérer que le cholestérol peut être impliqué dans la formation des dégénérescences (188).

Les déficiences dans l'homéostasie du cholestérol peut être à l'origine des dégénérescences synaptiques de la MA et la maladie de pick type C1 (189), mais l'inhibition du cholestérol des neurones en cultures, augmente la phosphorylation de la protéine tau. Ces observations apparemment paradoxales restent à expliquer.

### **5.3. Les gènes du métabolisme du cholestérol:**

Plus de 50 gènes ont été rapportés comme facteurs de susceptibilité de la MA, plusieurs d'entre eux jouent un rôle important dans le transport et le métabolisme du cholestérol (190)

#### **CYP46A1**

L'élimination du cholestérol du cerveau vers le sang est cruciale pour le métabolisme du cholestérol (191) et la conversion du cholestérol en 24S-hydroxycholestérol et catalysé par le 24S-hydroxylase(CYP46), le criblage de ce gène a permit la détection de deux polymorphismes dans les exons 2 et 3, l'allèle c du polymorphisme IVS3+43C!T été associé a une augmentation du risque de MA.

#### **ABCA1**

Le polymorphisme dans le ABCA1 peut être associé avec 33% des diminutions des concentrations du cholestérol totale dans le CSF, et ils retardent l'âge de début de l'MA de près de 1-7 ans. Récemment divers polymorphismes sur ABCA1 ont été associés aux formes précoces et tardives de la MA (192).

### **LRP1**

Des études génétiques d'association entre le LRP1 et l'MA ont donné des résultats contradictoires (193).

.

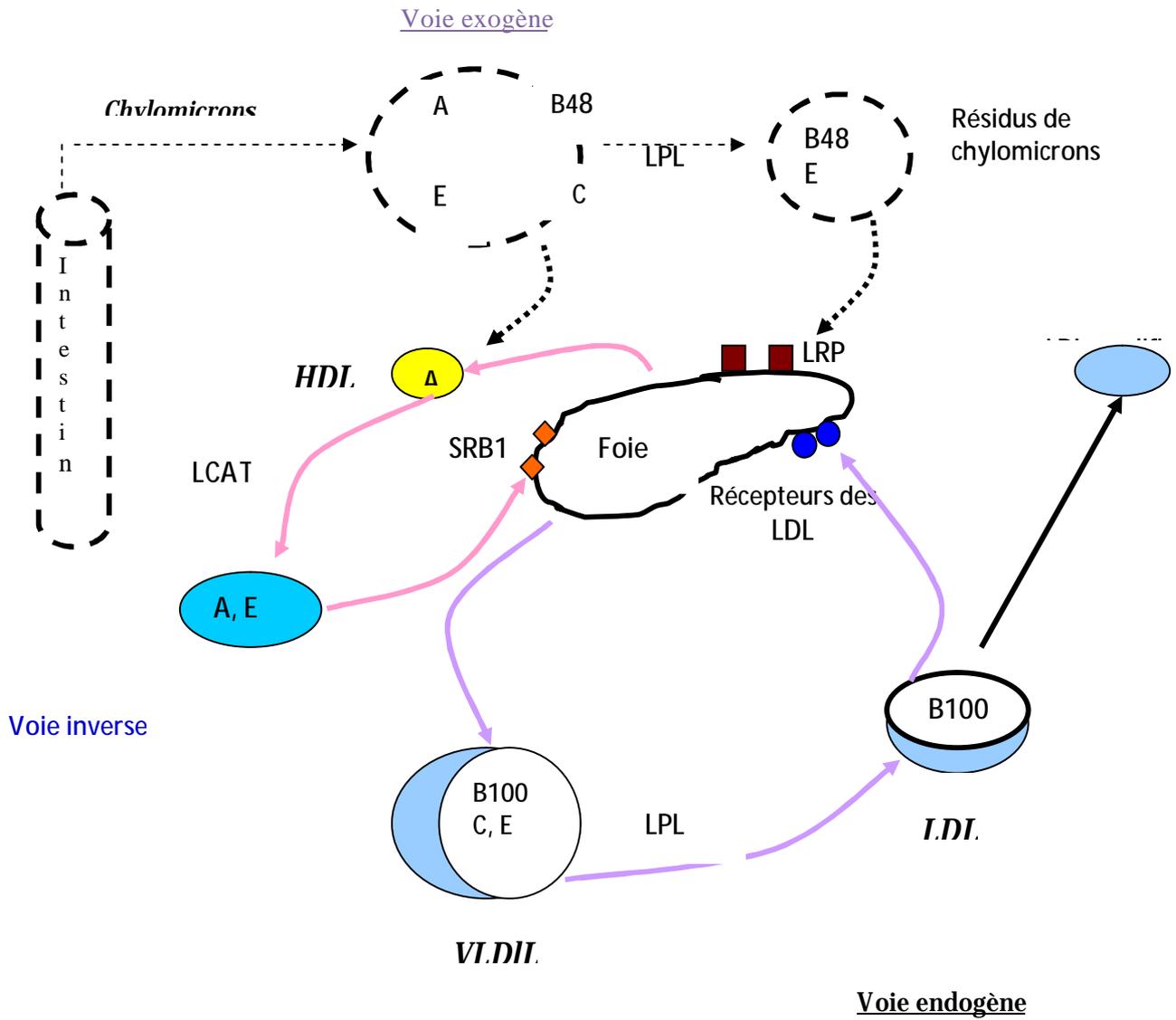


Fig. (11) Schéma général du métabolisme des lipoprotéines

## **METHODOLOGIE :**

L'étude que nous avons entreprise est transversale de type cas témoins ; elle a duré deux ans, et a porté sur deux types de populations :

Une population témoin et une population malade.

Les malades : il s'agit d'un échantillon de la population nord Constantinoise présentant une maladie d'Alzheimer diagnostiquée, et intéressant les deux sexes.

Le recrutement des malades ont été effectués au niveau de :

- service de neurologie CHU de Constantine.
- En consultation privée (Skikda, Constantine).

Les témoins : sujets sains des deux sexes présentant un âge supérieur à 60 ans, ayant été recruté au niveau de la maison de retraite de Constantine (Hamma Bouziane) et de Skikda.

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

Critère d'inclusion :

- Ø les sujets présentant une MA probable ou possible retenues au niveau du service de Neurologie du CHU de Constantine ou en consultation privée.

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

Critère d'exclusion :

- Ø Les patients présentant une autre forme de démence voir une démence vasculaire ou tumorale sont exclus de cette étude.

## **1. le prélèvement :**

Les prélèvements ont été effectués sur des sujets à jeun d'au moins dix heures, pour la réalisation d'un bilan lipidique.

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction d'ADN nécessite l'utilisation des tubes avec un anticoagulant EDTA qui est un chélateur ou un inhibiteur de l'action des enzymes DNase ou nucléase (194).

## **2. Le questionnaire :**

Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer probable ou possible est confirmé pour chacun de nos malades par le médecin neurologue. Tous les sujets de notre étude ont subi une évaluation cognitive via le test de l'MMSE modifié (annexe 4), un score est attribué pour chaque malade.

Un interrogatoire du patient est mené par nous même ou par le médecin consultant. Questionnaire (annexe 5).

### **2.1. Enregistrement :**

Tous les prélèvements sont étiquetés soigneusement, et le sang prélevé est acheminé directement au laboratoire pour l'analyser.

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

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

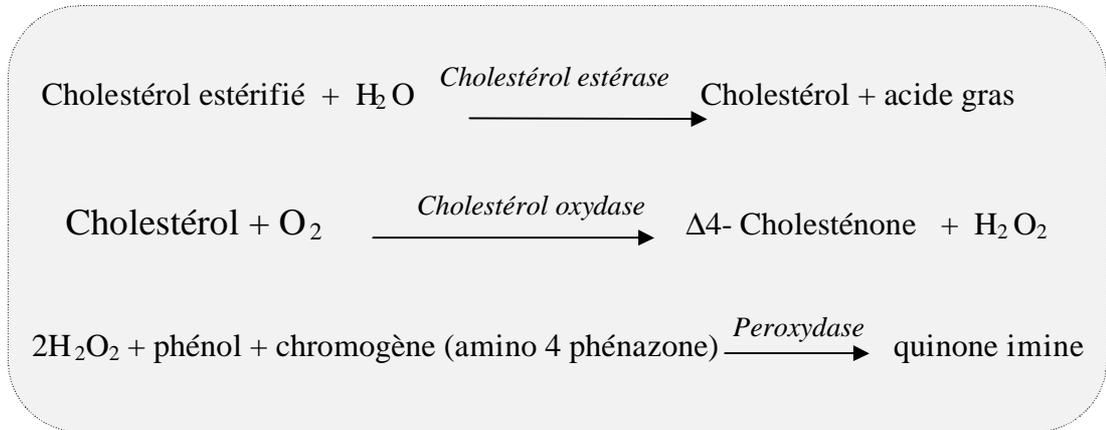
Le cholestérol, les triglycérides et le cholestérol –HDL ont été dosés le jour même du prélèvement.

### **3.1. Dosage du cholestérol :**

Le cholestérol peut être dosé par différentes méthodes, dont les plus anciennes sont colorimétriques, actuellement la totalité des laboratoires utilisent des méthodes enzymatiques.

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).

**Réaction :**



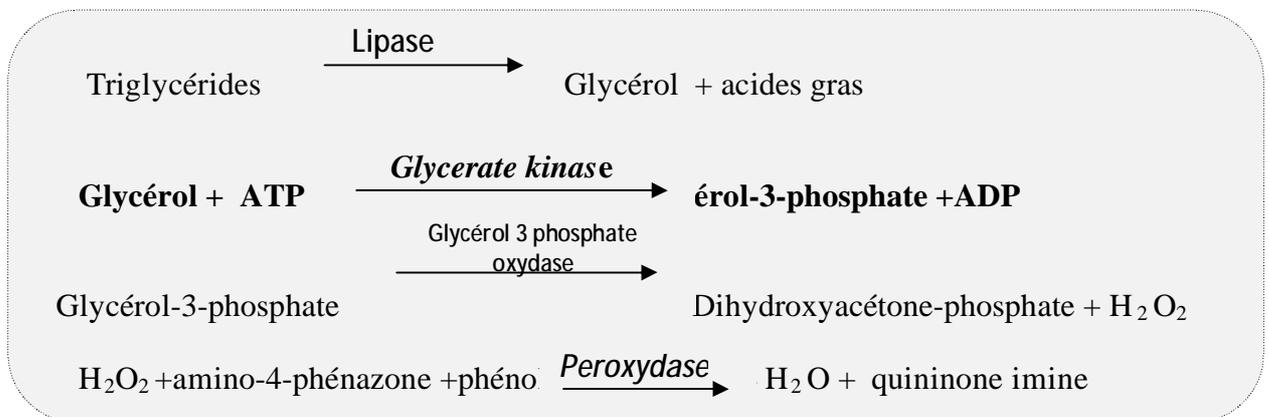
L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm, est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon du sérum.3.2.

**3.2. 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.

**Principe :**

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



L'intensité de la coloration de la quinone imine mesuré à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité de triglycérides contenue dans l'échantillon du sérum (195).

### **3.3. Le cholestérol HDL :**

#### **Principe :**

Le dosage du HDL cholestérol s'est effectué après précipitation des chylomicrons, des VLDL et des LDL par le phosphotungstate associé au chlorure de magnésium (ref .T01-2801-56, 6.5 ml).

Le HDL cholestérol est alors dosé dans le surnageant résultant de la centrifugation du précipité par la même technique enzymatique que le cholestérol total. (196)

### **3.4. Cholestérol LDL :**

Le cholestérol LDL est calculé grâce à la formule de Friedewald (1972) (197), à condition que les TG soient inférieurs à 3.5 g/l (4mmol/l).

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

## **4. Extraction de l'ADN :**

### **4.1. Introduction :**

La plupart des études génétiques nécessitent la disposition d'échantillons d'acide nucléique, les leucocytes sanguins représentent la source majeure d'ADN. Les autres sources cellulaires peuvent être des biopsies (biopsie de villosités choriales..) ou des cultures de cellules (amniocytes, fibroblastes, lignées lymphoblastiques...) (194).

De très nombreux procédés d'extraction des acides nucléiques ont été décrits, et des kits sont actuellement proposés par un certain nombre d'industriels. 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 des méthodes de biologie moléculaire utilisées ultérieurement (PCR)... (194).

Quelle que soit la méthode d'extraction des acides nucléiques utilisée à partir du sang fraîchement recueilli ou décongelé, le sang doit être initialement vigoureusement mélangé à une solution hypotonique pour faire éclater les globules rouges, la méthode d'extraction employée dans notre étude est une méthode utilisant un solvant inorganique, NaCl (197).

### **4.2. Etape d'extraction d'ADN :**

L'extraction d'ADN s'effectue en plusieurs étapes :

#### **4.2.1. Préparation des leucocytes.**

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

Le lysat est centrifugé pendant 15 min à 3900 g (3800 rpm) et, après élimination du surnageant, le culot cellulaire contenant les leucocytes est repris dans une solution TE 20 :5 dans un volume total de 25ml.

On le laisse dans la glace pendant 10 minutes. Une deuxième centrifugation dans les mêmes conditions que la première fois et le culot obtenu des leucocytes par une deuxième aspiration du surnageant est utilisé pour l'extraction de l'ADN. (On peut s'arrêter à ce niveau le culot des leucocytes est conservé dans un tube nunc de 1.5ml avec du TE 10 :1 à - 20°).

#### **4.2.2. Extraction de l'ADN :**

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

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

### **Solubilisation**

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

### **4.2.3. Détermination de la pureté et la concentration de l'ADN :**

#### **4.2.3.1. Détermination de la pureté :**

La pureté de l'ADN est essentielle pour une action efficace des enzymes de restriction utilisée 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 réextraction de la pelote de l'ADN afin d'obtenir la pureté souhaitée. Les ADN purs sont conservés à + 4°C jusqu'à utilisation.

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 distillé (10 µl de l'ADN solubilisé dans 990 µl de l'eau stérile).
- Les DO sont lus à 260 (des acides nucléiques) et 280nm (longueur d'onde d'absorption 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 260nm/do280nm, 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 :  $DO_{260}/DO_{280} > 2$ .

#### 4.2.3.2. Détermination de la concentration de l'ADN :

La concentration de l'ADN est estimée par spectrophotométrie à 260 nm sachant que : 1 unité de  $DO_{260 \text{ nm}}$  = 50 µg/ ml d'ADN

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

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

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

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

#### Exemple :

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

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

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

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

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

La concentration 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 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. 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 (polymerase chain reaction) et contrôle de PCR sur gel d'agarose
- la digestion du produit de PCR par l'enzyme de restriction Hha I.
- la séparation des produits de digestion par migration électrophorétique sur gel de polyacrylamide et distinction des différents génotypes par transillumination sous UV.

### **5.1. Amplification d'ADN par réaction de polymérisation (PCR)**

#### **5.1.1 Introduction :**

La Polymerase Chain Reaction (PCR) est une technique de biologie moléculaire mise au point en 1985 par Kary Mullis et développé par Henri A et ses collaborateurs de la compagnie CETUS (Californie, USA) en 1985 (194).

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

#### **5.1.2. Principe de la PCR.**

La Polymerase Chain Reaction permet l'amplification d'un segment d'ADN compris entre deux régions de séquences connues par un procédé d'extension d'amorce. Elle consiste à utiliser deux amorces oligonucléotidiques de synthèse de 20 à 25 nucléotides complémentaires des extrémités 3' des deux brins d'ADN encadrant la séquence à amplifier. Une de ces amorces est une copie du brin codant et l'autre, une copie du brin non codant. Sous l'action d'une enzyme (Taq polymérase), chaque amorce est

allongée dans le sens 5' 3' d'une séquence exactement complémentaire du brin recopié. La répétition des cycles aboutit à une amplification exponentielle de la séquence cible considérée.

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

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

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

### **5.2. Préparation du milieu réactionnel (ou mix) de PCR :**

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

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

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

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

### **5.3. Condition d'amplification :**

**Pour un volume total de 75 ul**

- . DNA **2 mL / à 250 ng / mL**
- . REACTIF COMMUN (Mix) :
  1. Tampon de Taq 10X 7,5 ul
  2. DMSO 7.5 ul
  3. Mix d NTP 25mM (au 1/10) 6 ul (200uM)
  4. Taq polymérase 2,5 u 0,5 ul
  5. Mg CL<sub>2</sub> 50mM 3 ul
  6. OG sol. mère 0,93mM 1,2 ul (0,6uM)

- |    |                              |               |
|----|------------------------------|---------------|
| 7. | OD sol .mère 1,1mM           | 1 ul (0,6 uM) |
| 8. | H <sub>2</sub> O q.s.p 65 ul | 70 ul         |

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

### Cycles PCR

5' à 94°C

3' à 65°C

.	50s à 72°C	} 30 cycles
.	50s à 94°C	
.	50s à 65°C	

5' à 72 °C

10' à 10° C

### 5.4. Contrôle de La taille des fragments amplifiés :

La taille des fragments amplifiés a été contrôlée par électrophorèse sur un gel d'agarose additionné de Bromure d'Ethidium fig (12).

10 à 15 µl de la solution d'ADN amplifié ont été déposés dans chaque puits d'un gel d'agarose à 1.5 % soumis à une migration sous un courant de 90 volts pendant 1 h. Cette analyse permet, d'observer si une éventuelle contamination de l'ADN survenue au cours de la PCR.

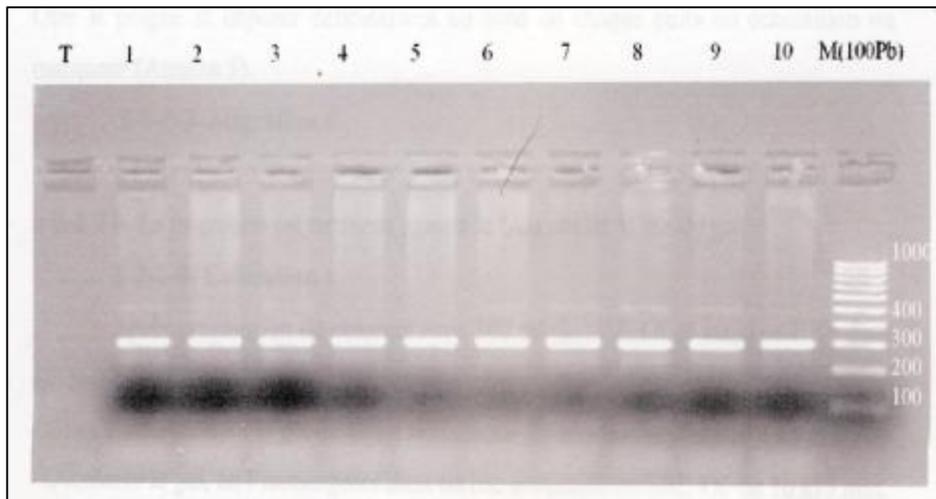


Figure 12 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose 1.5% des fragments amplifiés (292pb) par PCR du gène Apo E.

### 6. La digestion du produit de PCR :

Les trois allèles communs de l'apolipoprotéine E diffèrent par la nature des acides aminés en position 112, et 158 : Les codons variables des locus 112 et 158 sont TGC quand ils codent pour une cystéine ou CGC quand il code pour une arginine. L'amplification par PCR du fragment de 292pb encadrant ces positions, suivie d'une digestion enzymatique par Hha1 qui a pour site de coupure les séquences GCGC .Son action n'est possible que lorsque des arginines figurent en 112 ou 158 parce que celles-ci sont ici codées par la séquence CGC et que ces deux locus sont précédés tous les deux d'un codon se termine par G.

Ils existent par ailleurs sept sites constants de clivages par Hha1 dans le segment amplifié. La coupure par l'enzyme génère donc des fragments constants et des fragments de taille variable en paires de bases caractéristiques selon les allèles (fig 13).

Chacun des isoformes de l'Apo E se distingue par une combinaison unique de polymorphisme des longueurs de fragments de restriction (RFLP) issus du clivage par HhaI et Possédant différentes tailles (Figure 5).

Chaque allèle a un site de coupure spécifique. L'allèleε2 (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 ε4 (Arg112, Arg158), se distingue par la présence du codon CGC en position 158, par conséquent, l'enzyme agit à ce niveau et libère deux segments d'ADN 48 et 35 pb, un fragment 72 pb issu de clivage à la position 112.

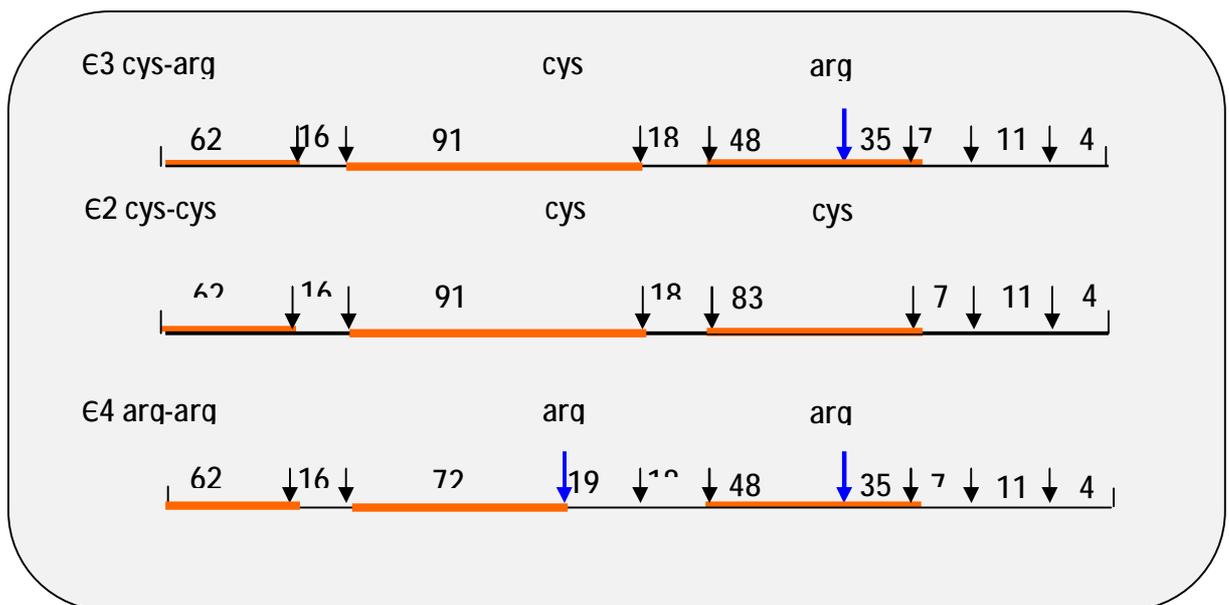


Figure 13 : Digestion par Hha I des trois allèles

## 6.1. Clivage des produits de PCR :

Les manipulations se font sur la glace :

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

§ Tampon	} 2.5 ul	X (n +1)	
§ Hha I (10 unités)			1 ul
§ H <sub>2</sub> O qsp10ul			6.5 ul

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

## 6.2. Electrophorèse des fragments de restriction :

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

### 6.2.1 Préparation d'un gel d'acrylamide 10% :

Pour un gel de 70 ml

- Acryl 30% 23.8 ml
- TBE 10X 7 ml
- H<sub>2</sub>O 38.5 ml

Pendant que les réactifs se remettent à température ambiante

- . On Prépare le persulfate d'ammonium à 10% (0.01g dans 100 ul H<sub>2</sub>O)
- . On Monte le support de gel
- . Addition de persulfate d'ammonium et de temed juste avant de couler le gel
  - 50 ul de persulfate/10ml (350 ul)
  - 10 ul de temed /10ml (70 ul)
- . On homogénéise, et on coule immédiatement en versant le contenu de bûcher entre les plaques de verre en ayant soin de ne pas faire de bulle et on place le peigne afin de former les puits, on laisse polymériser à température ambiante 1h. à 1h 30min.

### 6.2.2. Dépôts des échantillons :

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

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

### Coloration :

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

- On glisse délicatement le gel de façon horizontale dans le bac pendant 10 à 15 min.
- On visualise le gel aux UV et prendre une photo.

### 6.5. 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.

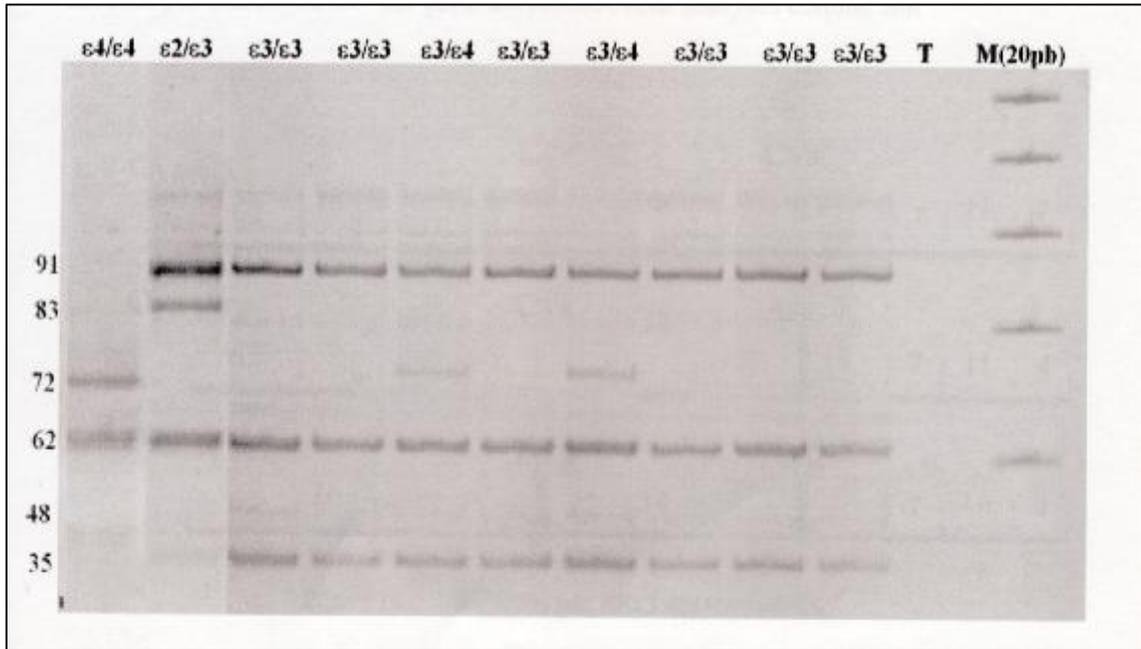
Les petits fragments de 35 pb sont très difficiles à visualiser sur le gel sous UV. Quant à ceux de 19,18, 16, 11,7 et 4 pb, sont élués dans le tampon lors de la migration électrophorétique.

Chaque fragment d'ADN est visible sous forme d'une bande dont la position sur le gel d'acrylamide dépend de sa taille, une combinaison de bandes étant caractéristique de chaque génotype (Tableau 5, figure 14).

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

<b>E3/E3</b>	<b>E3/E2</b>	<b>E4/E2</b>	<b>E2/E2</b>	<b>E3/E4</b>	<b>E4/E4</b>
91	91	91	91	91	-
-	83	83	83	-	-
-	-	72	-	72	72
62	62	62	62	62	62
48	48	48	-	48	48
35	35	35	-	35	35

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



## 7. Analyse statistique :

Les résultats 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 utilisées dans cette étude. (198)

### 7.1. Statistique descriptive :

Dans cette étude nous avons utilisé:

Les variables quantitatives sont décrites par la moyenne  $\pm$  1 écart type.

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

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

$n_a$  et  $n_b$  sont les tailles de deux échantillons  
 $\varepsilon$  = écart réduit  
 $sa^2/n_a$  et  $sb^2/n_b$  variances de la moyenne dans le groupe A et B

La valeur  $\varepsilon$  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  $p_2$ ).

### 7.2. Tests de comparaison de variances :

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

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

### 7.3 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 permettent l'utilisation de méthodes statistiques plus simples. Le test utilisé dans ces conditions est le  $\chi^2$ . (198)

### 7.4. 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

$$OR = a * d / b * c$$

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 est formulée 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 Khi carré  $\chi^2$  sont données : les valeurs de p sont données pour un degré de liberté.

- Le test du  $\chi^2$  sans correction :

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

- Le test du  $\chi^2$  de Mantel- Haenszel :

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

- La correction de Yates :

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

- 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.

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

### 7.6. Choix de la "p value " :

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

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

## Résultats et discussion

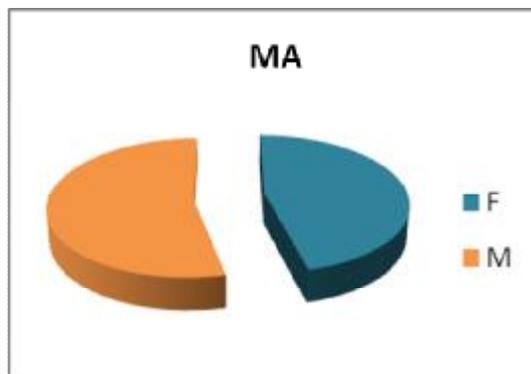
### 1. Répartition des sujets selon la pathologie et le sexe :

Cette étude cas témoin regroupe 114 sujets dont 60 témoins et 54 patients remplissant les critères du diagnostic de M.A probable. Répartis comme suit:

- 60 Témoins dont 30 Femmes et 30 Hommes.
- 54 M.A dont 25 Femmes et 29 Hommes.

**Tableau 6 : répartition des sujets selon la pathologie et le sexe**

	F	M	Total
ALZ	25	29	54
Témoins	30	30	60
Total	55	59	114



**Figure 15 : répartition des malades selon le sexe**

Dans notre étude on ne retrouve pas de prédominance d'un sexe par rapport à un autre, ce résultat ne concorde pas avec la plupart des données de la littérature.

Selon plusieurs études, Les femmes ont un risque plus élevé de développer une maladie d'Alzheimer que les hommes (199). Dans l'étude Paquid, l'incidence de la maladie d'Alzheimer était, avant 80 ans, plus élevée chez les hommes que chez les femmes, alors que c'est l'inverse après 80 ans (200).

Cette différence d'incidence en fonction du sexe pourrait être expliquée par des différences biologiques et hormonales, notamment un possible effet des oestrogènes. Plusieurs études ont montré que la prise de traitement hormono-substitutifs de la ménopause semblait être associée à une réduction de plus de 50% du risque de la maladie d'Alzheimer. L'espérance de vie, plus élevée chez les femmes que chez les hommes, pourrait également expliquer les résultats observés.

Il faut noter que dans certains pays comme les États-Unis où cet écart d'espérance de vie entre hommes et femmes est moindre, l'incidence de la maladie d'Alzheimer ne varie pas selon le sexe (201).

## 2. Répartition par tranche d'âge :

Les malades et les témoins sont classés en tranche d'âge de 10 ans sauf pour les plus de 90 ans qui sont classés en une seule tranche.

**Tableau 7: Répartition des malades et témoins par tranche d'âge**

	<i>ALZ</i>	<i>T</i>
<i>50-59</i>	<i>4</i>	<i>17</i>
<i>60-69</i>	<i>11</i>	<i>17</i>
<i>70-79</i>	<i>27</i>	<i>16</i>
<i>80-89</i>	<i>11</i>	<i>6</i>
<i>&gt;=90</i>	<i>1</i>	<i>2</i>

Notre étude montre une prévalence de la MA avoisinant les 7 % dans la population âgée de moins de 65 ans ; elle augmente avec l'âge, la moitié (50%) de nos malades se trouve dans la tranche d'âge 70 -79 ans, suivi de la tranche d'âge 60-69 et 80-89 ans avec des taux de 20.37%.

L'âge moyen des sujets MA est de  $73,47 \pm 7,61$  légèrement supérieur à celui des témoins qui est de  $67,17 \pm 10,84$ . (tableau 8)

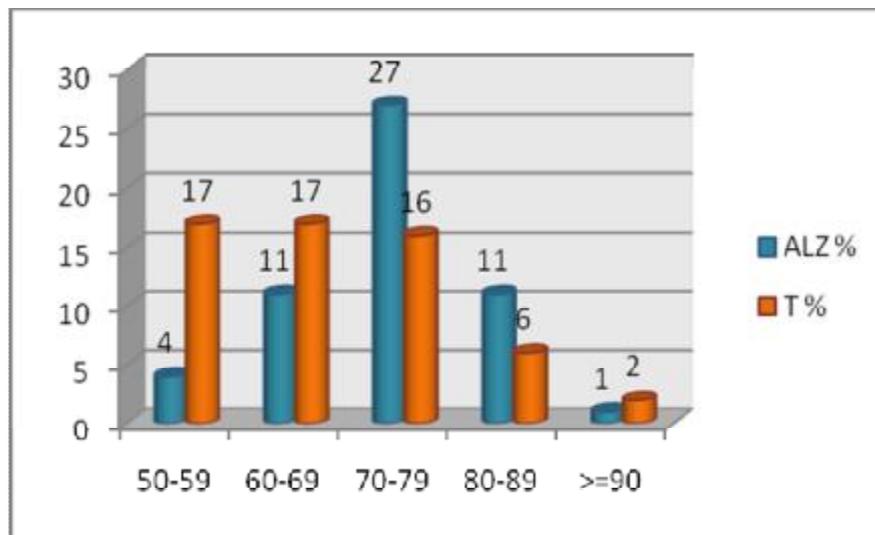
**Tableau 8 : les Moyennes d'âge dans les groupes malades et témoins**

	F	M	Moyennes
ALZ	74,68 ± 6,7	72,4 ± 8,29	73,47 ± 7,61
Témoins	68,26 ± 12,2	66 ± 9,27	67,17 ± 10,84

L'âge est sans conteste le principal facteur de risque de la MA, qui n'apparaît pas tant que la personne n'a pas atteint un âge adulte minimal généralement 65 ans.

Dans notre étude l'âge semble être lié à une augmentation exponentielle de la fréquence de la maladie, elle atteint un pic dans la tranche d'âge de 70-79 ans (figure 16).

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



**Figure 16: Répartition des malades et témoins en tranche d'âge**

Ces hypothèses ; suggérant que, passé un certain âge, cette croissance exponentielle se stabiliserait, restent à discuter, dans la mesure où, au-delà de 85 ans, les effectifs des études sont faibles (202)

Dans l'étude coopérative européenne, le groupe de recherche EURODEM a rassemblé les résultats obtenus entre 1980 et 1990, sur 8 cohortes de sujets de plus de 65

ans (203) incluant des résultats obtenus sur la population française (étude PAQUID) (204). La fréquence des démences augmente avec l'âge, passant de moins de 2 % entre 65 et 69 ans à plus de 30 % après 90 ans.

Plusieurs études sont menées pour expliquer, comment l'âge favorise-t-il la neurodégénérescence, une augmentation marquée dans la production des radicaux libres, peut prédisposer pour les désordres apparentés à l'âge (205) (206).

### 3. MMSE et L'évaluation du statut cognitif et du stade de la démence :

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

Ce test est sensible surtout aux troubles des fonctions cognitives rencontrés dans les démences et en particulier dans la maladie d'Alzheimer. Il évalue les fonctions cognitives suivantes: l'orientation spatio-temporelle, la mémoire immédiate, la concentration et le calcul mental, la mémoire de fixation (long terme), le langage et les habiletés visuoconstructives (207).

Les auteurs du test (Folstein et al, 1975) ont proposé comme limite inférieure de la normalité le score de 24/30: un score < 24 signale la présence probable d'un syndrome démentiel. Cette limite est abaissée pour les niveaux socioculturels bas. (207)

**Tableau 9: Evaluation du statut cognitif et du stade de la démence**

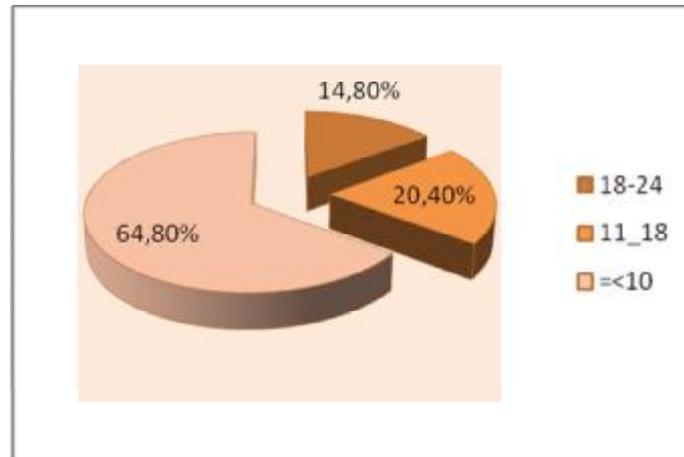
Score	ALZ	%
18-24	8	14,8
11-18	11	20,4
=<10	35	64,8

En pratique, nous optons pour l'attitude suivante:

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

– MMSE < 24: haute probabilité de la présence d'un syndrome démentiel.

Le score global reflète une performance dont l'interprétation nécessite de prendre en compte l'âge du sujet, l'état affectif mais surtout le niveau culturel (208)



**Figure 17 : Evaluation du statut cognitif et du stade de la démence**

Dans notre étude tous les témoins ont un score supérieur à 27, considérées comme cognitivement normaux ne présentant aucune forme de démence. Alors que tous nos malades ont un score inférieur à 24, et présentant des formes plus au moins avancées de démence. 64,8 % sont touchés par une démence sévère; 20.4% par une démence modérée et 14.8% sont déments légers (209).

#### **4. Etude génétique de l'APOE :**

L'étude génétique du polymorphisme de l'Apo E a concerné les 60 témoins et 54 malades,

##### **4.1. Répartition des fréquences alléliques dans la population d'étude :**

Le tableau montre que la répartition des allèles de l'apoE est inégale sur l'ensemble des deux groupes.

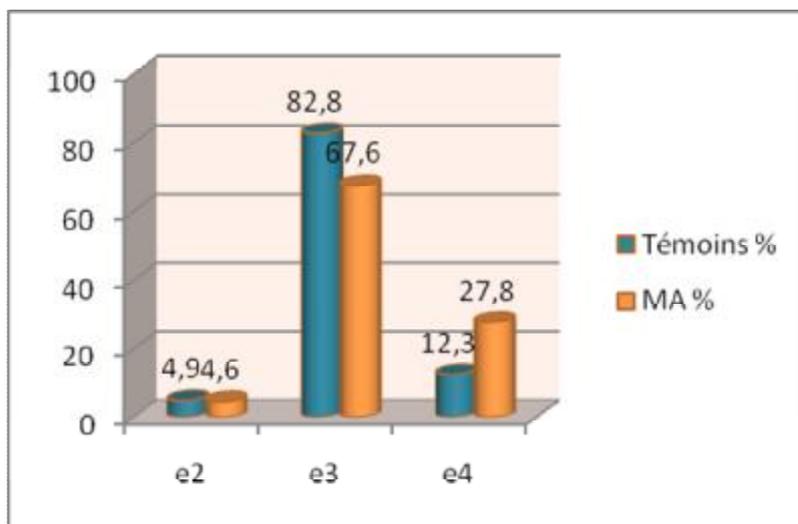
**Tableau 10 : Fréquences alléliques de l'Apo E dans le groupe témoin et malade.**

	ε2		ε3		ε4	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
<b>Témoins</b>	3	<b>4,9</b>	50	<b>82,8</b>	7	<b>12,3</b>
<b>ad</b>	2	<b>4,6</b>	36	<b>67,6</b>	16	<b>27,80</b>

Nos résultats montrent la prédominance de l'allèleε3 dans le groupe témoin avec une fréquence de (82,8%), suivie de ε4 (12.3%) et ε2 (4.9%) (Tableau 11). Ce résultat est

compatible avec une étude récente sur la population constantinoise qui montre la prédominance de l'allèle  $\epsilon_3$  réalisé par khodja et al (212).

Cette tendance comparée aux données de la littérature, montre qu'elle est semblable aux résultats présentés par des études, Française, Espagnol, italienne, Finlandaise, et sur des populations marocaines et tunisienne (210) (211) (312).



**Figure 18 : Répartition des fréquences alléliques dans les deux groupes**

Nos résultats cependant, sont sensiblement différents de ceux rapportées dans les populations japonaises, Américaine (Boston), Iranaise (Tehran), et colombiennes (213).

Ainsi La répartition des allèles de l'apo E est inégale sur l'ensemble de la population mondiale. Cette observation souligne l'importance de l'endroit géographique et le fond ethnique des sujets dans l'étude des génotypes d'APOE et leur association avec la MA.

Dans notre étude, la fréquence de l'allèle  $\epsilon_4$  est de 27.80 % deux fois plus élevé dans le groupe malade que dans le groupe témoins (12.3 %), présentant une variation de 15.5%. Son augmentation est le résultat d'une baisse de la fréquence alléliques  $\epsilon_2$  et  $\epsilon_3$  dans le groupe M.A.

La fréquence de l'allèle  $\epsilon_4$  est augmenté dans les formes tardives de la MA dans différents pays d'Europe (213), au Etats-Unis (214) et au japon. (215). Dans toutes ces études la fréquence de l'  $\epsilon_4$  varie entre 0.10-0.18 dans la population générale, alors qu'elle est fortement augmentée entre 0.24- 0.52 chez les sujets atteints de MA. (Tableau 11)

En Europe de l'ouest, la fréquence de l'  $\epsilon_4$  chez les groupes MA et dans la population générale suit un gradient décroissant nord-sud allant des pays du nord avec des

prévalences de 0.2, à une prévalence de 0.1 dans les pays du bassin méditerranéen (Espagne et Italie) (216) (217). Par conséquent la fréquence de l'allèle $\epsilon 3$  augmente du nord au sud pour atteindre une fréquence maximale de l'ordre de (0.849–0.898) au tour des pays du bassin méditerranéen (218) (219).

**Tableau 11 : Fréquences alléliques de l'Apo E dans différentes études dans le monde.**  
(216) (217) (218) (219).

	n	Fréquences alléliques		
		$\epsilon 2$	$\epsilon 3$	$\epsilon 4$
<b>Finland</b>				
AD cases	109	0.07	0.72	0.21
Controls	188	0.08	0.83	0.09
<b>France</b>				
AD cases	675	0.04	0.61	0.35
Controls	657	0.07	0.82	0.11
<b>Spain</b>				
AD cases	116	0.03	0.60	0.37
Controls	133	0.05	0.88	0.07
<b>Minnesota, USA</b>				
AD cases	296	0.04	0.62	0.34
Controls	463	0.10	0.78	0.12
<b>Colombie</b>				
Cas MA	61	0.02	0.60	0.36
Témoins	61	0.02	0.89	0.08
<b>Japon</b>				
Cas MA	72	0.02	0.67	0.31
Témoins	83	0.03	0.90	0.07
<b>Sud de l'Italie</b>				
Cas MA	173	0.03	0.69	0.28
<b>Iran</b>				
Cas MA	105	0.0095	0.78	0.21
Témoins	129	0.027	0.91	0.06

Cette augmentation de la fréquence de l'allèle $\epsilon 4$  dans les groupes MA nous permet de suggérer une association entre cet allèle et la maladie dans notre étude.

Il est important de signaler que notre étude ne retrouve pas de différence dans la fréquence de l'allèle  $\epsilon_2$  entre sujets malades et témoins.

#### 4.2. Les fréquences génotypiques de l'Apo E :

Le tableau montre la comparaison des fréquences génotypiques entre les témoins et les sujets d'Alzheimer.

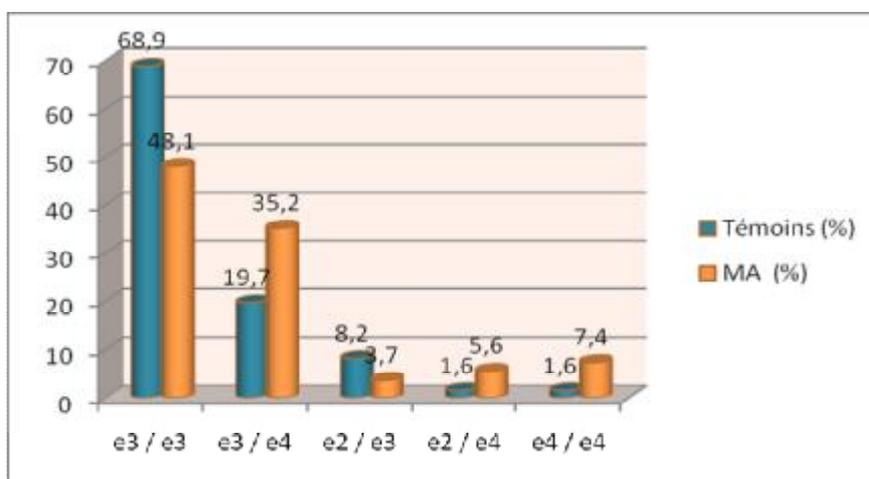
**Tableau 12 : Répartition des fréquences génotypiques dans les deux groupes**

	Témoins		ALZ	
	<i>n</i>	(%)	<i>N</i>	(%)
e3 / e3	42	68,9	26	48,1
e3 / e4	12	19,7	19	35,2
e2 / e3	5	8,2	2	3,7
e2 / e4	1	1,6	3	5,6
e4 / e4	1	1,6	4	7,4
<b>Total</b>	<b>61</b>	<b>100</b>	<b>54</b>	<b>100</b>

La distribution génotypique de ce gène indique que  $\epsilon_3/\epsilon_3$  est le génotype dominant dans le groupe témoin et dans le groupe malade, avec une fréquence de 68.9% et 48.1% respectivement, ces résultats concordent avec ceux retrouvés dans toutes les études réalisées à travers le monde.

Ainsi la prévalence du génotype  $\epsilon_3/\epsilon_3$  est de (66.7%) Framingham (USA), (62.2%) Allemagne, (64.3%) France, (71.1%) Japon, (70,8%) Chine, (71%) en Arabie Saoudite, (69%) au Liban, (65.2%) en Hongrie, (69.84%) au Portugal, (83.1%) au Mexique, (58.7%) en Finlande, (72.1%) au Japon, (88.2%) en Grèce. (72.1%) Soudan, (67.3%) Maroc, et (71.2%) en Tunisie (222) (223) (224).

La figure 19 montre que la distribution des fréquences génotypiques de l'apoE varie significativement entre malades et témoins.



**Figure 19: Répartition des fréquences génotypiques dans les deux groupes.**

Dans le groupe témoin le génotype  $\epsilon 3/\epsilon 3$  et suivi des génotypes  $\epsilon 4/\epsilon 3$  (19,7%) et  $\epsilon 2/\epsilon 3$  8,2% ; alors que les génotypes  $\epsilon 2 / \epsilon 4$  et  $\epsilon 4 / \epsilon 4$  ne sont présent que chez 3.2% de la totalité des témoins.

En revanche dans le groupe malade les fréquences génotypiques présentent un ordre décroissant différent de celui des témoins, le génotype  $\epsilon 3/\epsilon 3$  le plus fréquent, suivi des génotypes  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (35,2%),  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (7,4%),  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (45,6%) et  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (3,7%).

On constate que le génotype  $\epsilon 3/\epsilon 4$  est plus fréquent dans le groupe malade, il est augmenté de 15.7% par rapport aux témoins. Le génotype  $\epsilon 4/\epsilon 4$  est également plus important chez les malades, il est augmenté de 5.8%. De même le génotype  $\epsilon 2 / \epsilon 4$  et plus important chez les malades.

Alors que dans les deux groupes on n'a pas trouvé des porteurs du génotype  $\epsilon 2 / \epsilon 2$  ; cependant les porteurs du génotype  $\epsilon 2 / \epsilon 3$  sont plus nombreux dans le groupe témoins que dans le groupe malade.

On remarque que le nombre de malade augmente avec la présence de l'allèle  $\epsilon 4$ , ainsi, seulement 3.7% des malades présentent des génotypes  $\epsilon 2/\epsilon 3$ , alors que 48% présentent au moins une seul copie de l' $\epsilon 4$ , suggérant une association entre cet allèle et la MA.

Nos résultats sont en accord avec toutes les études, démontrant une association directe ou indirecte du polymorphisme de l'apoE avec la MA dans différents groupes ethniques à travers le monde.

Nos résultats concordent avec ceux d'Alan Roses et col, 1993 qui ont été les premiers à suggérer que l'allèle  $\epsilon 4$  avait une forte association avec la maladie d'Alzheimer (225).

Schmechel D et col ont montré que la fréquence de l'allèle  $\epsilon 4$  atteignait 40 % dans une population de patients atteints de formes familiales tardives de la maladie (226). Cet association a été confirmée par de très nombreuses études cliniques et épidémiologiques, étendue aux formes sporadiques tardives ainsi qu'à certaines formes précoces (220), (221).

Saunders et col ont présenté des données cliniques concernant l'association de l'apoE à l'MA, suggérant que (65%) de l'MA peut être attribué à la présence de l'allèle  $\epsilon 4$ , et le risque de l'MA est plus faible chez les sujets ayant le génotype  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (227).

Dans cette même étude 23% de cas de MA était attribué à l'absence de l'allèle  $\epsilon 2$ . Suggérant l'effet protecteur de l' $\epsilon 2$ .

Après la découverte de l'association de l'allèleε4 avec la maladie d'Alzheimer, la question s'est posée de savoir si cette association était spécifique de cette maladie où pouvait être retrouvée dans d'autres types de démence.

Les études d'association du gène de l'apoE avec d'autres maladies neurodégénératives ont alors conduit à suggérer que l'allèleε4 est essentiellement associé à des affections présentant une amyloïdogénèse telles que les démences à corps de Lewy. A l'inverse, les maladies principalement caractérisées par une dégénérescence neurofibrillaire (la paralysie supranucléaire progressive ou les démences fronto-temporales) (228) ne sont pas associées à l'allèleε4.

#### 4.3. Influence des fréquences génotypiques et alléliques sur La MA :

**Tableau 13 : Calcul des odds ratio des sujets malades ayant un allèle ε4, ε2, ε3/ε4 et ε2/ε3 par rapport aux témoins ayant un génotype 3/3.**

	Odds ratio	c <sup>2</sup>	P
ε4 vs ε3/ε3	<b>3.23</b> (1.37 < OR < 7.71*)	8,13	0,003
		8,12	0,003
		7,56	0,005
ε2 vs ε3/ε3	<b>0.96</b> (0.22 < OR < 4.15*)	0,25	0,61
		0,25	0,61
		0,12	0,72
ε3/ε4 vs ε3/ε3	<b>2.56</b> (1.27 < OR < 3.01*)	10,3	0,03
		10,28	0,03
		9,63	0,04
ε2/ε3 vs ε3/ε3	<b>0.65</b> (1.27 < OR < 3.01*)	1,67	0,196
		1,66	0,197
		1,25	0,262

\* : Limites de confiance selon Cornfield à 95%

Le calcul des Odds ratio montre que les porteurs de l'allèle ε4 présentent une association significative (p<0.01) vis-à-vis de la survenue de la maladie d'Alzheimer.

Le risque moyen de développer une M.A chez les individus porteurs de l'allèleε4 par rapport à ceux portant l'allèle ε3, est élevé, chez les sujets (homozygotes) avec un OR de 3.23 et les sujets E3/E4 avec un OR de 2.56.

La contribution du polymorphisme du gène de l'apo E dans la MA est suffisamment documenté et largement étudié, et l'allèle  $\epsilon 4$  été fortement associé à la MA dans toutes les études effectuées à travers le monde.

Nos résultats concordent avec toutes ces études, dont une méta-analyse menée par Rubinsztein et Easton (1999) qui a porté sur 3 390 patients de plus de 65 ans. Le risque relatif (OR) de la maladie d'Alzheimer associé à l'allèle  $\epsilon 4$ , calculé par rapport aux sujets homozygotes  $\epsilon 3/\epsilon 3$  était de (3.18), l'OR des sujets porteurs de deux allèles était de (11.57) (229).

Une autre méta-analyse de Farrer et col (1997) qui a regroupé 47 études portant sur 5939 malades et 8746 témoins, chez les sujets caucasien, le risque de MA était significativement augmenté, les génotypes  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (OR=2.6, 95% CI=1.6-4.0),  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (OR=3.2, 95% CI=2.8-3.8), et  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (OR=14.9, 95% CI= 10.8-20.6); alors que la valeur des ORs diminuée pour les génotype  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (OR=0.6, 95% CI=0.2-2.0) et  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (OR=0.6, 95% CI=0.5-0.8) (230).

De nombreuses études ont confirmé cette association entre l'allèle  $\epsilon 4$  et la MA ainsi dans les études de Brousseau T et coll (231) et Higgins GA et col (232), le risque de maladie d'Alzheimer lié à l'allèle  $\epsilon 4$  de l'apolipoprotéine E est augmenté d'un facteur 4 à 10.

Strittmatter et Roses (233) ont établi que le génotype de l'Apo E est associé au risque de développer une MA, Les sujets porteurs d'un allèle  $\epsilon 4$  auraient un risque relatif de MA de 1,84 et les sujets homozygotes  $\epsilon 4$  un risque de 3,3 par rapport aux sujets qui ne sont pas porteurs de cet allèle.

Kivipelto et al. , dans une cohorte finlandaise, ont constaté que l'ApoE4 était un facteur de risque indépendant de la maladie d'Alzheimer (MA), même après ajustement des facteurs de risques vasculaires (OR 2,3 ; IC 95%: 1,1- 4,1) (234).

D'autres études ont été faites en fonction de l'âge de début et la présence de l'allèle  $\epsilon 4$ . Ainsi, Castelli et al (235) dans une étude cas témoins de cent patients présentant des troubles mnésiques liés à l'âge. Les patients homozygotes pour l'allèle  $\epsilon 4$  présentent un âge de survenue des troubles plus précoce que les autres patients.

D'autres études, comme celle de Corder et ces collaborateurs (236), ont montré que la présence de l'allèle  $\epsilon 4$  baisse considérablement l'âge de début de la maladie, ainsi le début est plus précoce pour les porteurs du génotype  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (50% avec âge de début de

66 ans), puis  $\epsilon 3/4$  (50% de 73 ans) et  $\epsilon 3/3$  (50% de 86 ans), et ceux de  $\epsilon 2/\epsilon 4$  ont un âge encore plus tardif. Des données contradictoires ont été publiées sur l'influence de l'allèle  $\epsilon 4$  sur l'âge de début de la maladie.

En admettant un mode de transmission autosomique dominant, Rao *et al.* ont suggéré que, dans des formes familiales tardives, la pénétrance des génotypes incluant l'allèle  $\epsilon 4$  est complète chez les femmes et de l'ordre de 62 à 65 % chez les hommes (237). Cette différence est aussi observée pour les formes sporadiques puisque le risque associé à l'allèle  $\epsilon 4$  est supérieur (de l'ordre de 2 fois) pour les femmes par rapport aux hommes (238).

Dans notre étude 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 la MA. Ainsi que la fréquence de l'allèle  $\epsilon 2$  dans notre groupe MA est de 4.6% ne diffère pas du groupe contrôle qui est de 4.9%.

L'effet protecteur de  $\epsilon 2$  n'est pas évident dans notre population d'étude. Nos résultats sont en accord avec les données obtenues en Espagne, Iran, Turquie, et Italie. Ainsi que l'effet protecteur de  $\epsilon 2$  est moins évident dans l'est de l'Asie (210) (239).

L'allèle  $\epsilon 4$  était établi comme un important facteur de susceptibilité pour la MA dans plusieurs groupes ethniques, mais sa contribution dans la maladie d'Alzheimer n'est pas la même dans ces différents groupes (240).

L'impact de l'allèle  $\epsilon 4$  est plus élevé chez les Japonais mais beaucoup plus faible pour d'autres ethnies, voire difficilement observable par exemple dans des populations afro-américaines. Chez les africains du sud de Sahara, des études ont montré une absence d'association de l'allèle  $\epsilon 4$  avec la MA. (Tableau 14).

**Tableau 14 : Estimation de l'impact des différents génotypes du gène codant pour l'APOE en fonction de l'origine ethnique sur le risque de développer la maladie d'Alzheimer (241)**

	Populations Afro-Américaines		Populations Hispaniques		Populations japonaises		Populations caucasiennes	
	OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%
$\epsilon 2/\epsilon 2$	2,4	[0,3-22,7]	2,6	[0,2-33,3]	1,1	[0,1-17,2]	0,6	[0,2-2,0]
$\epsilon 2/\epsilon 3$	0,6	[0,4-1,7]	0,6	[0,3-1,3]	0,9	[0,4-2,5]	0,6	[0,5-0,8]
$\epsilon 3/\epsilon 3$	1	Reference	1	Référence	1	reference	1	reference
$\epsilon 2/\epsilon 4$	1,8	[0,4-8,1]	3,2	[0,9-11,6]	2,4	[0,4-15,4]	2,6	[1,6-4,0]
$\epsilon 3/\epsilon 4$	1,1	[0,7-1,8]	2,2	[1,3-3,4]	5,6	[3,9-8,0]	3,2	[2,8-3,8]
$\epsilon 4/\epsilon 4$	<b>5,7</b>	[2,3-14,1]	2,2	[0,7-6,7]	<b>33,1</b>	[13,6-80,5]	14,9	[10,8-20,6]

OR : Odds ratio ; IC 95 % : intervalle de confiance à 95 % . \* :  $\epsilon 3/\epsilon 3$  est pris comme référence.

Ces variations sont probablement expliquées à la fois par un patrimoine génétique et des facteurs environnementaux différents, qui sont mal documentés (241).

#### 4.4. Répartition selon le nombre de copies :

**Tableau 15 : répartition selon le nombre de copies de l'apoE**

	ALZ	T	%ALZ	%T	OR
<b>0</b>	28	<b>47</b>	33,3	<b>55,3</b>	
<b>1</b>	24	<b>18</b>	28,6	<b>21,1</b>	<b>2,24*</b> [0,97-5,21]
<b>1+2</b>	28	<b>19</b>	33,3	<b>22,4</b>	<b>2,47*</b> [1,10-5,61]
<b>2</b>	4	<b>1</b>	4,8	<b>1,2</b>	<b>6,71*</b> [0,65-116]

\* :  $p < 0.05$

Après ajustement du sexe et de l'âge, les OR des sujets avec une ou deux copies de l'allèle  $\epsilon 4$  étaient de (2.47), Les OR des sujets hétérozygotes de (2.24), et des homozygotes de 6.71.

Ainsi le risque est plus élevé pour les sujets porteurs de deux allèles  $\epsilon 4$  que pour les porteurs d'un seul allèle. Indiquant qu'il existe un effet-dose, associé à cet allèle.

Cette effet-dose, est retrouvé dans plusieurs études, dans lesquelles le risque de développer la MA est augmenté de 2 à 3 fois pour les porteurs d'un allèle  $\epsilon 4$  est de l'ordre de 10 à 15 fois pour les porteurs de deux allèles  $\epsilon 4$  (242).

Plusieurs études ont prouvés que l'expression des allèles du gène apoE n'est pas similaire chez les patients et les témoins. Chez les malades de génotype  $\epsilon 3/\epsilon 4$ , on note une augmentation relative de l'expression de l'allèle  $\epsilon 4$  par rapport à l'allèle  $\epsilon 3$ , de l'ordre de 1,5 fois supérieure à ce qui est observé chez les témoins de même génotype (141).

Ces observations indiquent qu'outre les variations qualitatives du gène de l'apoE, des variations quantitatives de l'expression des allèles de l'apoE représenteraient aussi un déterminant.

Selon plusieurs études la maladie apparaît plus tôt chez les sujets porteurs de deux allèles  $\epsilon 4$  (âge moyen de début de la maladie = 75 ans) que chez ceux qui n'en possèdent qu'un (80 ans) ou aucun (85 ans). Le risque associé à l'allèle  $\epsilon 4$  est moins important avant 60 ans et après 80 ans (242).

Cet impact de  $\epsilon 4$  sur la MA ne semble apparent qu'entre 40 et 90 ans et diminuerait après 70 ans. Cet allèle n'aurait aucun impact sur le risque de développer l'affection pour des individus d'âge très avancé, même si la pénétrance du génotype  $\epsilon 4/\epsilon 4$  semble complète à 90 ans (241).

Dans une étude néerlandaise (Rotterdam Study) (243) Les relations entre démence et athérosclérose viennent d'être étudiées suggérant un phénomène d'interaction entre athérosclérose et Apo E dans la maladie d'Alzheimer. Le risque de maladie d'Alzheimer est multiplié par 4 chez les sujets porteurs d'au moins un allèle  $\epsilon 4$  et ayant une athérosclérose, alors que le risque associé à chacun de ces éléments considéré séparément est faible (244).

Le profil cognitif en fonction du statut de l'apo E a fait lui aussi l'objet de plusieurs études chez les patients souffrant de MA, mais aussi chez les sujets cognitivement normaux.

Parmi ces études celle de Lehtovirta *et coll.* En 1996 (245), qui ont mis en évidence une détérioration mnésique plus importante chez les sujets homozygotes  $\epsilon 4$ , qui contraste avec des fonctions verbales mieux préservées et ce quel que soit l'âge de survenue des troubles. Ce qui est en faveur d'une préservation relative du fonctionnement frontal.

Smith *et coll.* se sont aussi intéressés à l'influence du génotype de l'apoE sur le «phénotype » cognitif de patients souffrant de MA et de DCL (246). Ils mettent en

évidence une relation entre la présence de l'allèle $\epsilon 4$  et l'importance de la détérioration mnésique chez ces patients souffrant de MA et de DCL. Ils concluent à une possible répartition des lésions cérébrales variable en fonction du statut de l'apoE.

Néanmoins, la présence de l'allèle $\epsilon 4$  serait un facteur de risque des démences de type frontal (247). Pourtant, la distribution des apolipoprotéines E dans le cortex cérébral des patients souffrant de MA serait très hétérogène, avec des concentrations maximales dans le cervelet et des concentrations minimales dans le cortex frontal.

Corder et col ; Growdon et col ; Kurz et col ; Blacker et col ; Murphy et col, on constaté que le phénotype de la MA ne diffère pas entre les porteurs et les non porteurs de l' $\epsilon 4$ , d'autres retrouvent que les sujets porteurs de  $\epsilon 4$  auraient, à âge de début égal, une évolution clinique plus lente et moins grave que les non-porteurs (242). Ce résultat doit être confirmé dans des études prospectives sur des cas incidents de la maladie d'Alzheimer.

Ainsi l'allèle $\epsilon 4$  est un facteur de risque majeur de la MA. Mais la similitude clinique et cognitive entre porteurs et non porteurs de l' $\epsilon 4$  indique l'influence d'autres facteurs génétique et environnemental dans le phénotype de la MA.

## **5. Etude des autres facteurs de risque :**

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

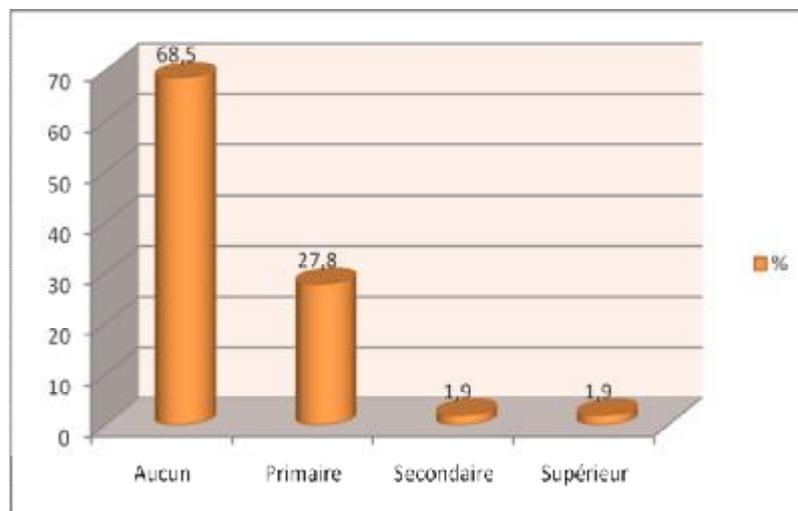
### **5.1. Le niveau d'étude :**

68% de nos malades sont des analphabètes suivi par (27,8 %) avec un niveau primaire, et seulement (3.8%) avec des niveaux secondaires et supérieurs, ces résultats montrent que le niveau d'éducation semble jouer un rôle important dans le risque de survenue de la MA. Les personnes n'ayant pas poursuivi une longue scolarité (Analphabète, Primaire) ont plus de risques d'être atteints.

**Tableau 16 : représentant du nombre et du % des malades selon leur niveau d'étude.**

	ALZ	%
Aucun	37	68,5
Primaire	15	27,8
Secondaire	1	1,9
Supérieur	1	1,9

La plus part des études trouvent qu'un niveau d'éducation élevé paraît un facteur protecteur tout comme certaines activités sociales et de loisirs. Ainsi, les activités qui nécessitent la planification des tâches et l'initiative (jardiner, voyager, bricoler, tricoter) paraissent associées à un risque moindre de démence alors qu'aucun lien n'a pu être mis en évidence pour les activités comme la lecture, les jeux de société ou la garde de jeunes enfants. L'activité physique permettrait également de réduire les risques de développer la maladie d'Alzheimer (248).



**Figure 20 : répartition des malades selon leur niveau d'étude.**

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

symptômes cliniques de la maladie pourraient apparaître plus précocement chez les personnes ayant un bas niveau d'étude.

Dans l'étude Paquid, il a été montré que ce qui différenciait les sujets était l'obtention ou non du certificat d'études primaires, et les sujets n'ayant pas atteint ce niveau présentaient un risque accru de développer une démence (RR = 1,83) et/ou une maladie d'Alzheimer (RR = 1,81) (248).

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

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

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

## 5.2. Les traumatismes crâniens :

Parmi nos malades, 11 sujets soit (20.4%) présentent des antécédents de traumatismes crâniens.

**Tableau 17: représentant la fréquence des traumatismes crâniens chez les malades.**

	<i>ALZ</i>	%
<b>TC</b>	<i>11</i>	<b>20,4</b>

L'association entre démence et traumatisme crânien est largement controversée. Plusieurs études ont mis en évidence un risque augmenté de maladie d'Alzheimer chez les sujets ayant des antécédents de traumatismes crâniens (249), d'autres n'ont pas retrouvé cette association (250).

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

En 1995, R.Mayeux et coll. (251) ont montré qu'un antécédent de traumatisme crânien ne serait facteur que chez les porteurs de l'allèle E4, la superproduction de protéine

B amyloïde et d'interleukine 1 après un traumatisme crânien pouvant être le mécanisme biologique de cette association.

En revanche, dans une étude publiée en 1997 (252), le phénotype de l'Apo E ne modifie pas le risque de maladie d'Alzheimer associé aux antécédents de traumatisme crânien

Et les résultats obtenus à partir des données d'incidence en population des études Eurodem et de Rotterdam (253), n'ont pas retrouvé d'association significative entre traumatisme crânien et risque de maladie d'Alzheimer ou de démence, ni d'interaction entre traumatisme crânien et apolipoprotéine E (254).

La taille de notre échantillon et les résultats que nous avons obtenue ne nous permet pas de suggérer une association entre traumatisme crânien et la survenue de la MA.

### 5.3. Dépression :

Parmi nos 54 malades 39.6% présentent des antécédents de dépression. Résultats qui nous permet d'envisager que des antécédents de dépression peuvent augmenter le risque de la MA.

**Tableau 18: représentant la fréquence de la dépression chez les malades.**

	<i>ALZ</i>	%
<b>Dépression</b>	<i>21</i>	<b>39.6%</b>

Cette association entre dépression et Alzheimer est confirmée par plusieurs études avec un risque relatif de 1,16 à 3,50 pour les études cas-témoins et de 1,08 à 3,20 pour les études de cohorte (255).

Mais Selon Tony Jorm (255) qui a publié une remarquable revue de la littérature sur l'association entre dépression et démence.

Même si cette association est confirmée par cette revue l'auteur pose le problème de l'interprétation de cette association. Selon lui, 6 hypothèses sont envisageables :

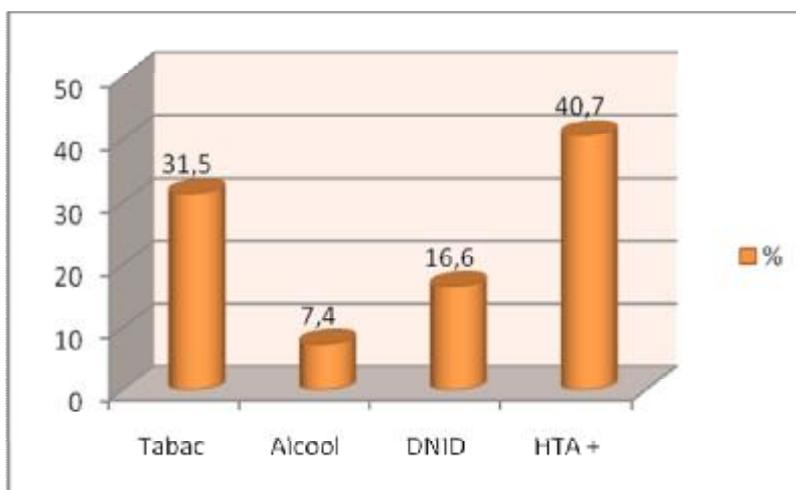
- (1) les traitements antidépresseurs sont des facteurs de risque de démence ;
- (2) la démence et la dépression ont des facteurs de risque communs ;
- (3) la dépression est un syndrome prodromique de la démence ;
- (4) la dépression est réactionnelle à des troubles cognitifs précoces ;

(5) la dépression abaisse le niveau de détection de la démence (cognitif ou fonctionnel) (6) la dépression est un facteur causal de la démence.

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

#### 5.4. Etude des facteurs de risque vasculaires dans la MA :

On connaît maintenant l'importance grandissante des facteurs vasculaires dans la maladie d'Alzheimer.



**Figure 21 : fréquences des facteurs de risque vasculaire.**

Casserly et Topol ont mis en évidence que la maladie d'Alzheimer et l'athérosclérose ont en commun des origines génétiques et des facteurs de risques environnementaux, comme l'Apo E, l'hyperhomocystéinémie, le diabète, l'hypertension, le tabagisme, l'inflammation, l'augmentation de la masse grasse et l'obésité (256).

Une étude longitudinale suivant 1138 sujets âgés initialement non déments a montré que les patients présentant des facteurs de risque cardiovasculaires comme le diabète, l'hypertension, les pathologies cardiaques et le tabagisme sur une période de plus de 5,5 ans étaient plus à risque de développer une maladie d'Alzheimer. Avec un seul facteur de risque vasculaire, le risque relatif était de 1,7 (IC 95%: 1,1-2,4) et ce résultat augmentait avec le nombre de facteurs de risques cardiovasculaires : 2,6 (IC 95%: 1,6-3,9) pour deux facteurs de risque et 3,4 (IC 95: 2,1-5,7) pour trois ou plus.

Alagiakrishnan K et col dans leur revue de la littérature ont souligné le lien probable entre la prise en charge adaptée des facteurs de risque cardiovasculaires et la prévention ou le ralentissement de la progression de la démence (257).

#### **5.4.1. Le tabagisme et l'alcool:**

Le tableau montre la fréquence des alcooliques et des fumeurs malades

**Tableau 19 : représentant la fréquence des fumeurs et alcooliques chez les malades.**

	<i>ALZ</i>	%
<b>Tabac</b>	<i>17</i>	<b>31.5%</b>
<b>Alcool</b>	<i>4</i>	<b>7.4%</b>

##### **5.4.1.1. Le tabagisme :**

Dans notre groupe malade les fumeurs sont en nombre de 17 soit 31.5 % seulement contre 68.5% de non fumeurs. Ces résultats paraissent en accord avec différentes études épidémiologiques semblent attribuer au tabagisme un rôle protecteur vis-à-vis de la maladie d'Alzheimer. Plusieurs études cas témoins ont observées que le risque de maladie d'Alzheimer semble être réduit chez les fumeurs.

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

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

Pour ce facteur, qui est prédictif de mortalité, l'emploi du terme " protecteur " doit rester très réservé (258).

##### **5.4.1.2. Alcool :**

Dans cette étude, 4 malades (7.4%) seulement étaient des consommateurs d'alcool contre 93% qui n'ont jamais consommé.

Nos résultats semblent concorder avec plusieurs études qui trouvent que des consommations modérées d'alcool sont reconnues comme protectrices contre la maladie d'Alzheimer.

Un tel effet a été mis en évidence pour les démences et la maladie d'Alzheimer dans l'étude PAQUID. Une consommation modérée de vin (2 à 4 verres de vin par jour) est associée à un risque moindre (259).

Les données de l'étude Paquid ont été analysées une seconde fois par un épidémiologiste américain reconnu (260) en tenant compte de tous les facteurs d'ajustement possibles inclus dans les données de la cohorte, en particulier les performances cognitives initiales, ainsi que de la technique d'échantillonnage : les résultats se sont révélés identiques.

Dans une autre population française de 60 à 70 ans (étude EVA), dont les sujets sont indemnes de toute démence, une consommation modérée d'alcool est associée à de meilleures performances cognitives, uniquement dans la population féminine (261).

Ces résultats ont été confirmés par la cohorte de Rotterdam, et il semble que ce soit non la consommation de vin mais plutôt celle d'alcool qui intervienne (262).

Dans d'autres études comme celle des chercheurs du Mount Sinai Hôpital de Miami Beach (États-Unis) qui se sont penchés sur 938 personnes de plus de 60 ans chez qui venait d'être diagnostiquée une probable maladie d'Alzheimer. Ils ont ensuite interrogé la famille (conjoint, enfants) pour évaluer la consommation de tabac et d'alcool au cours de la vie. Ils ont ainsi pu observer que les buveurs réguliers (au moins trois verres par jour) souffraient d'une maladie d'Alzheimer en moyenne 4,8 ans plus tôt que ceux qui ne buvaient pas ou peu. De même les gros fumeurs (plus d'un paquet de cigarettes par jour) étaient atteints de la maladie 2,3 ans plus tôt que les non-fumeurs. Pour ceux qui avaient l'allèle e4 apolipoprotéine E, la maladie commençait 3 ans avant les autres (263).

Quant à ceux à la fois, fumeurs, buveurs, et porteurs de l'allèle e4, ils développaient la maladie 8,5 ans plus tôt que ceux qui échappaient à ces trois facteurs de risque. Les personnes qui étaient dans le premier cas de figure ont été atteintes d'Alzheimer à 68,5 ans, contre 77 ans pour les seconds (263).

Selon plusieurs auteurs la consommation d'alcool, aiguë ou chronique, interfère avec le fonctionnement cérébral. En dehors des états confusionnels liés aux intoxications aiguës ou au sevrage, l'intoxication éthylique chronique est responsable de nombreux syndromes neuropsychiatriques : déficits cognitifs d'intensité variable pouvant réaliser un tableau démentiel, encéphalopathie de Wernicke, syndrome de Korsakoff, maladie de Marchiafava Bignami et atrophie cérébelleuse (264).

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

#### 5.4. 2. Le diabète :

Notre étude révèle que 16.6 % des malades sont diabétiques.

**Tableau 20: la fréquence du diabète chez les malades.**

	<i>ALZ</i>	%
<b>DNID</b>	9	<b>16.6%</b>
<b>Normal</b>	45	<b>83.4%</b>

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

Des produits terminaux de glycation ont été détectés dans les plaques séniles extracellulaires qui contiennent des agrégats de protéines amyloïdes et dans les enchevêtrements neurofibrillaires à l'intérieur du cytoplasme des neurones (265).

Dans la Rotterdam study qui a porté sur plus de 6 000 personnes âgées de 55 à 99 ans, (262), Le DNID double pratiquement le risque de maladie d'Alzheimer.

La Honolulu-Asia Aging study a également mis en évidence que le diabète était associé à la maladie d'Alzheimer et que cette association était particulièrement forte avec les patients porteurs de l'allèle e4 de l'apolipoprotéine E (266).

Jusqu'à présent, il n'a pas été mis clairement en évidence que les traitements du diabète puissent diminuer l'incidence de la maladie d'Alzheimer. Deux études d'intervention ont néanmoins suggéré qu'une prise en charge optimale de la glycémie pouvait améliorer les fonctions cognitives de patients diabétiques (267).

Quant à notre étude la taille de l'échantillon et le résultat que nous avons obtenue (16% de diabétiques) ne permet de conclure un lien de causalité entre diabète et MA.

#### 5.4.3. L'hypertension artérielle (HTA):

Parmi nos 54 malades (40.7 %) sont hypertendus.

**Tableau 21 : représentant la fréquence de l'HTA chez les malades.**

	<i>ALZ</i>	%
<b>HTA +</b>	22	<b>40.7%</b>
<b>HTA-</b>	32	<b>59.3%</b>

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

Une étude récente menée chez 700 sujets âgés présentant déjà une maladie d'Alzheimer indique une aggravation plus importante des troubles cognitifs chez les hypertendus que chez les normo-tendus (Odds ratio = 1,6, IC 95 % = 1,0-2,7) (268).

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

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

Dans l'étude de Framingham (268), les fonctions cognitives sont corrélées de façon négative aux valeurs initiales de pression artérielle systolique et diastolique mesurées 12 à 14 ans plus tôt.

La *Honolulu-Asia Aging Study* (269) retrouve une augmentation significative du déclin cognitif après 25 ans de suivi (RR = 2,45, IC 95 % = 1,42-4,25) chez les hypertendus en comparaison aux normo-tendus.

Des données similaires ont été notées dans la cohorte d'Uppsala (270) : les fonctions cognitives évaluées à l'âge de 70 ans sont moins bonnes chez les patients dont les pressions artérielles sont élevées à l'âge de 50 ans.

En France, l'étude EVA (271) a montré un risque de déclin cognitif augmenté par 2,8 (IC 95 % = 1,6-5,0) chez des hypertendus âgés au terme d'un suivi de seulement 4 ans.

Un travail récent portant sur une analyse de 10963 sujets de la cohorte ARIC (272) a retrouvé la même corrélation entre la présence d'une hypertension artérielle et la survenue d'une altération cognitive 6 ans plus tard.

L'hypertension expose non seulement au risque de déclin cognitif, mais aussi au risque de démence toutes causes confondues. Une relation est retrouvée entre la pression artérielle mesurée à l'âge de 70 ans et l'incidence de la démence (vasculaire ou Alzheimer) 9 à 15 ans plus tard (273).

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

Une récente étude franco australienne suivant 1241 sujets âgés hypertendus, a montré que le traitement anti-hypertenseur était associé à un risque plus faible de MA (OR-0,58 ; IC 95% 0,42-0,81). Les inhibiteurs calciques notamment étaient associés à une diminution du risque d'apparition d'une MA (274)

Dans notre étude (40.7%) de nos malades sont hypertendus, ce résultat nous permet de suggérer une corrélation entre HTA et la MA.

## 6. Etude du Profil lipidique :

Le tableau montre la différence des moyennes des différents paramètres lipidiques entre le groupe MA et la population témoin dans les deux sexes séparément.

**Tableau 22 : Comparaison des Moyennes des paramètres lipidiques dans l'Alzheimer et chez les témoins.**

<i>CHOL</i>	<b>Hommes</b>		<b>Femmes</b>	
	Témoins	<i>ALZ</i>	Témoins	<i>ALZ</i>
<b>Chol</b>	1,75 ± 0,37	<b>1,91 ± 0,37*</b>	1,82 ± 0,39	1,87 ± 0,39
<b>TG</b>	1,17 ± 0,57	<b>1,29 ± 0,72</b>	1,19 ± 0,67	<b>1,22 ± 0,37</b>
<b>C-HDL</b>	0,44 ± 0,07	<b>0,37 ± 0,08*</b>	0,47 ± 0,08	<b>0,42 ± 0,08*</b>
<b>C-LDL</b>	1,10 ± 0,32	<b>1,22 ± 0,29*</b>	1,15 ± 0,34	<b>1,14 ± 0,34</b>

Le lien entre marqueurs biologiques du métabolisme lipidique et risque de maladie d'Alzheimer est controversé.

Pendant les 15 dernières années, plusieurs études épidémiologiques suggère que des taux élevé de cholestérol plasmatique peut contribuer dans la pathogenèse de la MA, ainsi, les individus ayant des taux élevé de cholestérol plasmatique, sont plus susceptible de développer l'MA.

Le profil lipidique générale des malades de notre étude concorde avec celui de plusieurs études, dans lesquelles les patients MA ont des taux élevée de cholestérol total plasmatique, et du cholestérol-LDL (172), avec de bas niveaux d'HDL (173), en comparaison avec des témoins du même âge.

Ce profil métabolique (des taux élevés de cholestérol plasmatique et du cholestérol LDL, et des taux bas du cholestérol HDL) et communément trouvé chez les patients avec l'athérosclérose (173).

### **6.1. Le cholestérol :**

Nos résultats montre une augmentation modeste du taux de cholestérol chez les hommes MA par rapport aux témoins, on remarque qu'il y a une différence significative ( $p < 0.05$ ) chez les hommes alors qu'on ne retrouve pas cette différence chez les femmes.

L'association entre le taux de cholestérol total et la MA reste incertaine et demeure un sujet de controverse, elle est faible dans certaines études et n'est pas évidente dans d'autres. De ce fait nos résultats sont compatibles avec certaines données bibliographiques et ne le sont pas avec d'autres.

Des taux élevée de cholestérol été associé à l'augmentation du risque de MA dans différentes études prospectives et cas témoins.

Ainsi la légère augmentation du cholestérol total que nous avons retrouvé et compatible avec plusieurs études, dont celle de Marwan N. et col, qui ont étudiés le profil lipidique chez 167 malade MA et 27 témoins non déments, le profil été caractérisé par une augmentation légère du cholestérol total, des LDL et des TG. (275).

Une autre étude récente réalisée en 2006 par K. Hall et col ; sur une population nigérienne, a retrouvé qu'une augmentation des taux du cholestérol total et des LDL était associé à l'augmentation du risque de l'MA indépendamment du polymorphisme de l'ApoE (276).

Une étude de G. Lesser en 2001 sur une cohorte de personnes d'âge très avancé résident à une maison de retraite académique, suivit pendant une période de 7 ans et demi, et autopsié après leurs décès, les personnes avec les taux les plus élevée de cholestérol présentaient un diagnostic positive de MA certaine en post-mortem (277).

La plupart des autres études qui ont associée le CT à la MA, ont constaté que c'était plutôt les taux élevées du CT pendant l'âge moyen et mûr de la vie qui augmentait le risque de développement de la MA ultérieurement.

Ainsi dans une enquête récente, qui s'est penchée sur 9 752 hommes et femmes qui ont bénéficié d'un bilan de santé entre 1964 et 1973, à l'âge de 40-45 ans et ont ensuite été suivis jusqu'en 1994. Entre 1994 et 2007, 504 personnes de ce groupe ont été touchés par la maladie d'Alzheimer et 162 d'une démence vasculaire. Les résultats montrent que ceux

ayant eu en milieu de vie, les taux les plus élevés de cholestérol ont 50 % de risque en plus d'être atteint en vieillissant de la maladie d'Alzheimer par rapport à ceux ayant le taux le plus faible (306).

Kivipelto M et al, dans une étude prospective, ont mis en évidence que les sujets présentant une pression artérielle systolique élevée ( $\geq 160$  mmHg) ou un taux sérique de cholestérol augmenté ( $\geq 6,5$  mmol/l) à l'âge mûr ont une probabilité significativement plus élevée de développer ultérieurement une MA, et ce même après ajustement de l'âge, de l'indice de masse corporelle, du niveau socioculturel, des événements cardio-vasculaires et de la consommation d'alcool ou de tabac, par rapport aux sujets ayant une pression systolique normale (OR 2,3 ; IC 95% 1,0-5,5) ou un taux de cholestérol normal (OR 2,1 ; IC 95% 1,0-4,4). Les patients présentant ces deux facteurs de risque au cours de l'âge mûr avaient un risque plus élevé de développer une MA que ceux ayant uniquement l'un des deux (OR 3,5 ; IC 95% 1,6-7,9) (278).

Une autre étude finlandaise rétrospective a retrouvée cette association entre les taux élevés de TC à l'âge mûr et l'augmentation du risque de MA à un âge plus avancé (279).

Les concentrations plasmatiques élevées de cholestérol ne sont associées que de façon inconstante au risque d'apparition d'une démence et de la MA (280).

Une méta-analyse récente de sept études épidémiologiques a montré que la prise d'hypolipémiants, considérés de façon globale quelle que soit la nature pharmacologique de la molécule, n'était pas significativement associée à une diminution du risque d'apparition d'une démence (282). De plus, il a été suggéré que la réduction du cholestérol plasmatique, par régime et/ou médicament hypolipémiant, était associée à des troubles psychologiques tels que la dépression ou l'agressivité, pouvant altérer les performances cognitives (283). En revanche, la prise de statines représente un facteur protecteur significatif vis-à-vis du risque d'apparition d'une démence RR = 0,43 [IC95 % 0,31–0,62] (284).

Deux études observationnelles ont rapporté un effet protecteur des statines sur l'incidence de la MA. L'une était une analyse transversale (284), et l'autre une étude de type cas-témoin nichée dans une cohorte. Les statines modifient le métabolisme du cholestérol et diminuent également le taux de A bêta (peptide bêta amyloïde) dans le liquide céphalo-rachidien (LCR).

Une étude allemande randomisée, contre placebo, a évalué l'effet d'une prise quotidienne de 80 mg de simvastatine sur 26 semaines chez des patients atteints de MA. Elle a mis en évidence une diminution significative du taux de A-béta 40 dans le LCR des

patients atteints d'une MA à un stade modérée. Cette réduction de l'Abéta était corrélée à la diminution de 24S hydroxycholestérol. Ces modifications n'étaient pas retrouvées chez les patients aux stades plus sévères de la maladie (284).

Cette association entre l'hypercholestérolémie et la MA, n'a pas été retrouvée dans l'étude cohorte de Framingham en 2003 (286) et par la Honolulu– Asia Aging Study (287).

En même temps, des études complètement contradictoires de celle qui vient d'être citée trouvent que des taux élevés de cholestérol étaient associés à une réduction du risque de la MA.

Les données de la ILSA (the Italian Longitudinal Study on Aging), qui a étudié une population de 2963 déments aucune association entre le TC et la progression vers la démence n'a été trouvée chez les sujets présentant un DCL. Néanmoins dans cette étude multivariée, des niveaux élevés d'éducation et des taux élevés de cholestérol paraissent avoir un effet protecteur (279). Ces résultats étaient confirmés par de nombreuses autres études prospectives, dans lesquelles une association inverse mais légèrement significative a été retrouvée, indépendamment du génotype de l'apoE (289).

Ainsi une étude de cohorte prospective et randomisée menée sur 4316 participants de plus de 65 ans des taux élevés de cholestérol total a été associée à la diminution de l'incidence de MA après ajustement du génotype de l'apoE et les facteurs cardiovasculaires (290).

Une autre étude de cohorte de Mielke et al (2005), a trouvé qu'une augmentation des taux du TC à 70, 75 et 79 ans était associée avec une réduction du risque de démence entre 79 et 88 ans, ainsi des taux élevés de cholestérol à l'âge avancé ont été associés avec la réduction du risque de démence (291).

Il y a quelques pistes épidémiologiques mais cependant peu de preuves cliniques sur le fait qu'un taux sanguin de cholestérol bas puisse retarder l'apparition d'une MA.

Mais d'après ces quatre dernières études il est probable que des taux élevés de cholestérol puissent avoir un rôle protecteur contre les démences et les DCL, alors que la plupart des études expérimentales montrent que des taux élevés de cholestérol accélèrent la production de l'AB dans MA en modifiant le métabolisme de l'APP et en favorisant son clivage par la bêta sécrétase (292).

Il paraît improbable que les mécanismes associés à la protection contre le déclin cognitif soit en relation avec la cascade amyloïde.

En effet le cholestérol est une molécule essentielle pour plusieurs processus biologiques ainsi elle peut avoir plusieurs effets bénéfiques comme son rôle de précurseur des hormones stéroïdiennes (œstrogène, androgènes et vitamine D) et de maintien de l'intégrité structurale et la modulation de la fluidité des membranes cellulaires, ainsi qu'il est un élément essentiel pour le maintien de l'intégrité synaptique et la neurotransmission (293). Tous ces processus sont compromis avec l'âge, et il a été montré qu'ils sont perturbés pendant la MA. De plus, les études *in vitro* ont suggéré que le cholestérol agit comme un anti-oxydant ainsi il peut avoir un effet protecteur pendant la pathogenèse des démences (294), probablement en captant les pro-oxydants pour créer l'oxystérols, qui sont moins toxiques que les radicaux libres.

## **6.2. Les HDL:**

Notre étude montre une légère diminution des taux des HDL ( $p < 0.05$ ), chez les deux sexes par rapport aux témoins.

Nos résultats sont en accord avec plusieurs études, comme celle de Merched A et coll, qui ont noté que la diminution des HDL sériques a été corrélée avec la sévérité de la MA, et que des taux élevés de cholestérol HDL ont été associés à une diminution significative du risque de démence, ces résultats ont été confirmés par l'étude PAQUID en France (295).

Dans une autre étude de Henrike Wolf, en étudiant des patients de 75-85 ans, des taux bas de cholestérol HDL ont été fortement associés à une atrophie globale et hippocampique, et un plus grand risque de démence, indépendamment des lésions cérébrovasculaires. Ces résultats reflètent le rôle central des HDL comme des transporteurs des lipides dans le cerveau. Des taux sériques élevés peuvent paraître protecteurs contre les démences et la MA. (296).

Nos résultats tendent à confirmer celle de plusieurs autres études épidémiologiques, montrant une association entre des taux bas de cholestérol HDL et MA. Mais Les rapports associant l'HDL au risque de MA sont inconsistants.

Ainsi Dans une large étude prospective de cohorte de G. Li et coll, les taux de cholestérol ont été obtenus pendant une période de 5 ans avant l'apparition des démences, les résultats ont confirmé une importante association entre des taux élevés de TC et d'HDL à l'âge mur et l'apparition d'une démence ou une MA (297).

L'étude de Honolulu (Asia Aging Study) (298) a montré que des taux élevés de HDL à l'âge moyen entre (45 à 60 ans) ou à l'âge mûr, étaient associés à l'augmentation de la

densité des plaques neutritiques et des dégénérescences neurofibrillaires chez des hommes américano-asiatiques.

Une étude de Marwan Sabbagh et col de 2004, qui ont examiné le profil lipidique de 153 sujets MA, a montré qu'une augmentation significative des taux des HDL, et des taux plus bas de TG et de TC été significativement associé a la MA (299).

### **6.3. Les LDL:**

Nos résultats montent une légère augmentation des taux du cholestérol-LDL  $p < 0.05$  par rapport aux témoins et uniquement chez les hommes.

Le rôle et la relation entre les taux d'LDL et la MA non pas était parfaitement clarifié, plusieurs groupes ont montré qu'une augmentation des LDL était associé a l'augmentation du risque de MA. D'autres ont obtenue des résultats variables.

Ainsi nos résultats sont en accord avec plusieurs études, comme celle de Yu-Min Kuo qui, dans une analyse du profil lipidique, et du polymorphisme de l'apoE de 64 malades MA confirmé par le diagnostic de certitude en post mortem, et 36 contrôles, les individus avaient des taux significativement élevé de l'LDL ( $R < 0.006$ ), comparé au contrôles. Cet association été indépendante du génotype de l'apoE.

L'étude de Jeremy M. Silverman qui ont étudiés 226 résident d'une maison de retraite, l'analyse a trouvée que les sujets MA avait des taux significativement plus élevé d'LDL  $p < 0.05$  par rapport au sujets présentant d'autres type de démences, et par rapport au sujets non déments (300).

Plusieurs autres travaux ont confirmés que des taux élevés des LDL été associé a l'augmentation du risque de MA comme celle de Lehtonen and Luutonen (301). Lesser et al 2001(302).

Une étude de Romas et al., 1999 (303) rétrospective de 2 ans, ne retrouve pas d'association entre LDL, HDL et MA. Une autre étude rétrospective de 7 ans ne retrouve pas aussi d'association entre des taux d'LDL et la MA (304) (305).

D'autres études comme celle de Caramelli et al en 1999; Bonarek et col en 2000 n'ont pas trouvés d'association, et deux études additionnelles de Scacchi et al, 1998 Czyzewski et col 2001, ont rapportés une association inverse entre le cholestérol LDL et MA, les patients avaient des taux bas d'LDL comparé aux témoins avec des démences vasculaires et d'autres non déments (306).

#### **6.4. Les triglycérides:**

Dans notre étude aucune différence entre les niveaux des triglycérides plasmatiques n'est observée entre malades et témoins.

Nos résultats concordent avec plusieurs études, comme celle Adunsky et coll., 2002; Merched et coll., 2000; Reitz et coll., 2004; Romas et coll., 1999; Suryadevara et coll., 2003; Yoshitake et coll., 1995) qui ne retrouvent aucune association entre les taux des triglycérides et la MA (306).

Alors que des taux élevés de triglycérides ont été rapportés dans quelques études de patients MA. (Étude de Cankurtaran et coll 2005 et Sabbagh et coll 2004) (307).

Dans une étude de H. U. Kotter l'examen de 75 patients souffrant d'une forme précoce de MA comparé à une population souffrant de démence vasculaires n'a pas trouvé de différence de TC entre MA et les DV et le groupe contrôle. Alors que des taux élevés de triglycérides ont été fortement associés à la démence vasculaire chez les hommes, ces résultats supportent des études ultérieures associant les TG avec les démences vasculaires chez les hommes (308).

Dans Une récente étude de Braydon L et coll de 2006, qui ont mesuré les taux plasmatiques de cholestérol et de triglycérides chez 3 modèles de souris transgéniques présentant la MA, les taux de CT n'étaient pas significativement différents entre les souris sauvages et mutées. Alors qu'une augmentation considérable des VLDL précède la déposition du peptide amyloïde dans deux modèles de ces souris MA présentant des taux élevés de peptide amyloïde sérique (309).

Ainsi La relation entre le profil lipidique et la MA n'est pas encore parfaitement clarifiée, les différents groupes de recherche à travers le monde ont obtenus des résultats variables et le plus souvent complètement contradictoires. La fluctuation des résultats peut être due à la difficulté de diagnostic de démence et la variation des moyennes d'âges des différentes cohortes. Le tableau (annexe 07) résume quelques autres études.

Malgré que toutes ces études sont contradictoires, il apparaît de plus en plus évident que l'élévation du taux de cholestérol, particulièrement sous sa forme LDL peut augmenter le risque et influencer l'expression de l'MA (311).

Un grand nombre d'études, effectuées sur plusieurs populations à travers le monde ont tenté d'investiguer l'influence du génotype de l'apoE sur le statut lipidique sérique et le risque de la démence, et ont donné des résultats fluctuants et très controversés.

## Conclusion :

Le gène de l'apolipoprotéine E constitue le seul facteur de susceptibilité génétique reconnu, la première étude réalisée en 1993 a montré que la fréquence de l'allèle  $\epsilon 4$  atteignait 40 % dans une population de patients atteints de formes familiales tardives de la maladie. Dès lors, cette association a été confirmée par de très nombreuses études, étendue aux formes sporadiques tardives ainsi qu'à certaines formes précoces et finalement complétée par la mise en évidence d'un effet protecteur de l'allèle  $\epsilon 2$ .

Dans la présente étude les fréquences alléliques ont été déterminées sur un échantillon de 114 personnes réparties en 2 groupes. Un groupe de 60 témoins d'âge moyen de 67,17, et 54 patients remplissant les critères du diagnostic de M.A probable, d'âge moyen de 73,47.

Nos résultats montrent la prédominance de l'allèle  $\epsilon 3$  dans le groupe témoin et le groupe malade avec des fréquences de 82,8% et 67,6 % respectivement. Cette tendance est en accord avec les résultats trouvés dans les autres populations. La fréquence de l'allèle  $\epsilon 4$  dans notre étude est deux fois plus élevée dans le groupe malade (27.80 %) que dans le groupe témoins (12.3 %) présentant une variation de 15.5%. En Europe de l'ouest, la fréquence de l' $\epsilon 4$  chez les groupes MA et dans la population générale suit un gradient décroissant nord-sud allant des pays du nord avec des prévalences de 0.2, à une prévalence de 0.1 dans les pays du bassin méditerranéen (Espagne et Italie.)

Des études ont montré également que les sujets porteurs d'un allèle  $\epsilon 4$  auraient un risque relatif de MA de 1,84 et les sujets homozygotes  $\epsilon 4$  un risque de 3,3 par rapport aux sujets qui ne sont pas porteurs de cet allèle. Nous retrouvons cette tendance dans notre étude avec des OR de 3.23 chez les sujets homozygotes  $\epsilon 4/\epsilon 4$  et des OR de 2.56 chez les hétérozygotes  $\epsilon 3/\epsilon 4$ . En revanche le rôle protecteur de cet allèle  $\epsilon 2$  dans la maladie n'est pas évident et reste à démontrer.

Nos résultats montrent une légère augmentation des taux des TC, des LDL, et une légère diminution des taux des HDL chez les malades par rapport aux témoins. Ces résultats concordent avec certaines études effectuées à travers le monde, mais les arguments prouvant le lien entre le profil lipidique sérique et la maladie d'Alzheimer sont encore fragmentaires et controversés.

On a examiné dans cette étude l'association entre la maladie et autres facteurs de risque, l'HTA, le diabète, niveau d'étude, les antécédents de traumatismes crâniens, la consommation d'alcool et le tabagisme.

Ces facteurs de risques ne peuvent en aucun cas être assimilés directement à des causes de la maladie, vu que certains patients ne présentent aucun de ces facteurs.

Les individus porteurs d'au moins un allèle  $\epsilon 4$  ne développent pas systématiquement la maladie. D'autres facteurs environnementaux et/ou probablement génétiques doivent moduler de façon importante le risque associé à cet allèle.

Le lien fort entre l'allèle epsilon4 de l'APOE et de la maladie d'Alzheimer a amené certains chercheurs à proposer l'utilisation de ce marqueur dans le dépistage de la maladie d'Alzheimer.

Le génotype de l'apo E, peut être considéré comme un complément au diagnostic clinique de la MA chez les sujets déments, chez lesquels la découverte d'un allèle epsilon4 à une valeur prédictive positive de 94 à 98 %. Son intérêt est plus grand au début de la maladie d'Alzheimer, lorsque le diagnostic clinique est moins sûr. Dans ce cas, la découverte d'un allèle epsilon4 ajoute au moins 5 à 10 % de sûreté au diagnostic.

En attendant la découverte de marqueurs biologiques prédictifs de la survenue de la maladie, une meilleure connaissance de ses facteurs permet de mieux identifier les sujets à risque, qui, dès lors, pourront bénéficier plus précocement des investigations diagnostiques et de la mise en route d'un traitement symptomatique.

La confirmation de liens spécifiques entre déterminants vasculaires et maladie d'Alzheimer permettrait peut-être l'extension de procédures de traitement et de prévention des maladies cardiovasculaires aux démences. Les effets apparemment protecteurs des anti-inflammatoires non stéroïdiens et des thérapeutiques hormono-substitutives chez la femme nécessitent une attention particulière dans la mesure où ils pourraient, à l'échelle d'une population, réduire l'impact du fléau qui risquent de constituer les démences

Les principaux facteurs de risque de MA, l'âge et la possession de l'allèle  $\epsilon 4$  du gène de l'apolipoprotéine E, sont des facteurs de prédisposition qui n'offrent aucune possibilité de prévention. Il importe donc d'identifier des facteurs environnementaux modulant le vieillissement cérébral et le risque de MA, sur lesquels il serait possible d'agir.

Avant la survenue du stade de démence irréversible, le déclin cognitif progressif va se manifester par des déficiences cognitives légères qui atteignent environ 15 à 20 % de la population âgée de 65 ans et plus, mais qui représentent un état instable encore potentiellement réversible dans son évolution naturelle ou grâce à la mise en place d'une prévention secondaire.

Une stratégie de prévention devrait viser à éviter ou retarder la survenue du passage vers la démence et à favoriser le retour à une cognition normale chez des sujets au stade MCI

La connaissance des différents facteurs de risque de cette maladie reste donc primordiale dans le but non seulement de mieux comprendre la pathogénie de la maladie mais aussi de la prévenir afin d'en diminuer l'incidence.

## Références bibliographiques

- 1- **ANKRI J**, Epidémiologie des démences et de la maladie d'Alzheimer.*BEH*, (2006), 5-6, 42-44.
- 2- **ALPEROVITCH A, BERR C**. Les facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer. Approche épidémiologique, *Compt Rend Acad Med Paris* (1996) ; 1673-1685.
- 3- **HOFMAN A, ROCCA WA, BRAYNE C**. The prevalence of dementia in Europe: a collaborative study of 1980-1990 findings. Eurodem Prevalence Research Group. *Int J Epidemiol* (1991); 20: 736-48.
- 4- **ANNE-SOPHIE RIGAUD, FRANÇOISE FORETTE**. Maladie d'Alzheimer : vision d'ensemble, aspects cliniques, facteurs de risque et prévention. *Medecine/science* (2002) ; 18 : 689-96.
- 5- **A. BRICE, D.-F. SCHORDERET**. Traité de neurologie, neurogénétique affections hérédo dégénératives. Doin (1999) ; 23 .29.
- 6- **P. AMOUYEL**. Epidémiologie des maladies neurodégénératives : l'exemple des démences, *Annales de Biologie Clinique*. Mai - Juin (2000). Volume 58, Numéro 3, 345-9,
- 7- **K. ALAGIAKRISHNAN**, prise en charge des facteurs de risque vasculaires et prévention de la maladie d'Alzheimer, *maladie d'Alzheimer et déclin cognitif 2007*.vol 12 page 55,
- 8- **MAURER K, YOLK S, GERBALDO H**. Auguste D and Alzheimer's disease. *Lancet* (1997) 349: 1546–1549
- 9- **BERRIOS GE**. Alzheimer's disease: a conceptual history. *International Journal of Geriatric Psychiatry* (1990) 5: 355–365.
- 10- Images dans son **contexte original**, sur la page **[archimede.bibl.ulaval.ca/.../ch01.html](http://archimede.bibl.ulaval.ca/.../ch01.html)**.
- 11- **JJ HAUW, B. DUBOIS, M. VERNY, CH. DUYCKAERTS**. La maladie d'Alzheimer. *Pathologie Science*, Eds John Libbey Eurotext. (1997). 162.
- 12- **GUERIoT-MILANDRE C, SEMPRESZ C, PONCET M**. Aspects cliniques et diagnostic de la maladie d'Alzheimer. *médecine thérapeutique* (1997) ; 3 : 343-52.
- 13- **COUDERC.A** la recherche de marqueurs biologiques de la maladie d'Alzheimer, *Annales de Biologie Clinique*. Septembre - Octobre (2000), *Revue générale*. Volume 58, Numéro 5, 581-93.
- 14- **FORSTL H, KURZ A**. Clinical features of Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiat Clin Neurosci* (1999); 249:288–90.

- 15- **LEBERT F, PASQUIER F.** Signes et symptômes comportementaux et psychologiques de la démence. *Encycl Méd Chir (Elsevier Paris) Neurologie* (1999), 17-057, A35, 7 p.
- 16- **BIANCHETTI A, TRABUCCH M.** Clinical aspects of Alzheimer's disease. *Aging (Milano)* (2001); 13:221–30.
- 17- **LECHOWSKI, B. FORETTE, L. TEILLET.** Démarche diagnostique devant un syndrome démentiel. *La revue de médecine interne* 25 (2004) 363–375.
- 18- **GELDMACHER DS, WHITEHOUSE PJ.** Differential diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurology* (1997) ; 48 (suppl 5).
- 19- **SIMCHOWICZ, T.** Histologische Studien uber der senile Demenz. Nissl-Alzheimer Histologische histopathologische. *Arbeiten* (1911), 267–444.
- 20- **KIDD, M.** Paired helical filaments in electron microscopy of Alzheimer's disease. *Nature* (1963), 192–193.
- 21- **DIVRY, P.** Etude histochimique des plaques séniles. *J. Neurol. Psychiatry* 27(1927), 643–657.
- 22- **DELAÈRE P, DUYNCKAERTS C, HE Y, PIETTE F, HAUW JJ.** Subtypes and differential laminar distributions of  $\beta$ A4 deposits in Alzheimer's disease: relationship with the intellectual status of 26 cases. *Acta Neuropathol (Berl)* (1991) ; 81 : 328-35
- 23- **GLENNER, G. G. AND WONG, C. W.** Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterisation of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (1984) 120, 885–890
- 24- **ALLSOP, D., LANDON, M., AND KIDD, M.** The isolation and amino acid composition of senile plaque core amyloid. *Brain Res* (1983). 259, 348–352.
- 25- **ALLSOP, D., LANDON, M., KIDD, M., LOWE, J. S., REYNOLDS G. P., AND GARDNER, A.** Monoclonal antibodies raised against a subsequence of senile plaque core protein react with plaque cores, plaque periphery and cerebrovascular amyloid in Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* (1986) 68, 252–256
- 26- **JOACHIM CL, DUFFY LK, MORRIS JH, SELKOE DJ.** Protein chemical and immunocytochemical studies of meningoarterial  $\beta$ -amyloid protein in Alzheimer's disease and normal aging. *Brain Res* (1988) ; 474 : 100-11
- 27- **GRUNDKE-IQBAL, I, IQBAL, K., TUNG, Y. C., QUINLAN, M., WISNIEWSKI, H. M., AND BINDER, L. I.** Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1986) 83, 4913–4917.

- 28- **KOSIK , K. S., JOACHIM, C. L., AND SELKOE, D. J.** Microtubule-associated protein tau is a major antigenic component of paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1986) 83, 4044–4048.
- 29- **TERRY RD, MASLIAH E, SALMON DP, ET AL.** Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann Neurol* 1991; 30: 572-80.
- 30- **ESIRI MM, HYMAN BT, BEYREUTHER K, MASTERS CI.** Ageing and dementia. In: Graham DI, Lantos P, eds. *Greenfield's neuropathology*. New York: Arnold, (1997), 153-234.
- 31- **CHARTIER-HARLIN, M.C., CRAWFORD, F., HOULDEN, H., WARREN, A., HUGHES, D., FIDANI, L., GOATE, A., ROSSOR, M., ROQUES, P., HARDY, J .** Early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the beta-amyloid precursor protein gene. *Natur* (1991) e 353, 844-846
- 32- **ANNAERT, W., DE STROOPER, B.** A cell biological perspective on Alzheimer's disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* (2002) 18, 25-51.
- 33- **YOSHIKAI, S., SASAKI, H., DOH-URA, K., FURUYA, H., SAKAKI, Y. ,** Genomic organization of the human amyloid beta-protein precursor gene. *Gene* (1991) 87, 257–263.
- 34- **HUNG AY AND SELKOE DJ.** Selective ectodomain phosphorylation and regulated cleavage of b-amyloid precursor protein. *EMBO* (1994).J 13: 534–542,.
- 35- **WEIDEMANN A, KONIG G, BUNKE D, FISCHER P, SALBAUM JM, MASTERS CL, AND BEYREUTHER K.** Identification, biogenesis and localization of precursors of Alzheimer's disease A4 amyloid protein. *Cell* (1989). 57: 115–126.
- 36- **KANG, J., MU'LLER-HILL, B.,** Differential splicing of Alzheimer's disease amyloid A4 precursor RNA in rat tissues—preA4 (695) messenger RNA is predominantly produced in rat and human brain. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* (1990). 166, 1192–1200.
- 37- **KANG, J., LEMAIRE, H.G., UNTERBECK, A., SALBAUM, J.M., MASTERS, C.L., GRZESCHIK, K.H., MULTHAUP, G., BEYREUTHER, K., MULLER-HILL, B.** The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* (1987) 325, 733-736.
- 38- **EVIN, G., WEIDEMANN, A.** Biogenesis and metabolism of Alzheimer's disease Abeta amyloid peptides. *Peptides* (2002) 23, 1285 1297.
- 39- **ESCH, F. S., KEIM, P. S., BEATTIE, E. C., BLACHER, R. W., CULWELL, A. R., OLSERDORF, T.** Cleavage of amyloid peptide during constitutive processing of its precursor. *Science* 248, (1990) 1122 1124.
- 40- **ANDERSON, J. P., ESCH, F. S., KEIM, P. S., SAMBAMURTI, K., LIEBERBERG, I., AND ROBAKIS, N. K.** Exact cleavage site of Alzheimer amyloid precursor in neuronal PC-12 cells. *Neurosci. Lett.* (1991)128, 126–128.

- 41- **VASSAR, R., BENNETT, B.D., BABU-KHAN, S., KAHN, S., MENDIAZ, E.A., DENIS, P., TEFLOW, D.B.** Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursorprotein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* (1999) 286, 735-741.
- 42- **SEUBERT, P., OLTERSODORF, T., LEE, M. G., BARBOUR, R., BLOMQUIST, C., DAVIS, D. L.** Secretion of beta-amyloid precursor protein cleaved at the amino terminus of the B-amyloid peptide. *Nature* (1993) 361, 260–263.
- 43- **JOACHIM CL, SELKOE DJ.** The seminal role of B-amyloid in the pathogenesis of Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, (1992), 6, 7–34.
- 44- **HARDY J, SELKOE DJ.** The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, (2002), 297, 353–356.
- 45- **EIKELENBOOM, P., ZHAN, S. S., VAN GOOL, W. A., AND ALLSOP, D.** Inflammatory mechanisms in Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol. Sci.* (1994) 15, 447-450.
- 46- **SHEARMAN, M. S., RAGAL, C. L., & IVERSEN, L. L.** Inhibition of PC12 cell redox activity is a specific, early indicator of the mechanism of beta-amyloid-mediated cell death. *Proceedings of the National Academy of Science* (1994). USA, 91, 1470– 1474.
- 47- **LIN H, BHATIA R, LAL R.** Amyloid beta protein forms ion channels: implications for Alzheimer's disease pathophysiology. *Faseb J*, (2001), 15, 2433-44.
- 48- **PIKE CJ, BURDICK D, WALENCEWICZ AJ, GLABE CG, AND COTMAN CW.** Neurodegeneration induced by b-amyloid peptides in vitro: the role of peptide assembly state. *J Neurosci* (1993).13: 1676–1687.
- 49- **LOVELL, M. A., ROBERTSON, J. D., TEESDALE, W. J., CAMPBELL, J. L., & MARKESBERY, W. R. COPPER,** iron and zinc in Alzheimer's disease senile plaques. *Journal of the Neurological Sciences* (1998). 158, 47–52.
- 50- **OPAZO, C., HUANG, X., CHERNY, R. A., MOIR, R. D., ROHER, A. E., WHITE, A. R., ET AL.** Metalloenzyme-like activity of Alzheimer's disease beta-amyloid. Cu-dependent catalytic conversion of dopamine, cholesterol, and biological reducing agents to neurotoxic H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Journal of Biological Chemistry*, (2002). 277, 40302–40308.
- 51- **R.P. TUCKER,** The roles of microtubule-associated proteins in brain morphogenesis: a review, *Brain Res. Brain Res. Rev.* 15 (1990), pp. 101–120.
- 52- **A. ANDREADIS, J.A. BRODERICK AND K.S. KOSIK,** Relative exon affinities and suboptimal splice site signals lead to non-equivalence of two cassette exons, *Nucleic Acids Res.* 23 (1995), pp. 3585–3593.

- 53- **G. LEE, R.L. NEVE AND K.S. KOSIK**, The microtubule binding domain of tau protein, *Neuron* 2 (1989), pp. 1615–1624.
- 54- **N. HIROKAWA, Y. SHIOMURA AND S. OKABE**, Tau proteins: the molecular structure and mode of binding on microtubules, *J. Cell. Biol.* 107(1988), pp. 1449–1459.
- 55- **M. GOEDERT AND R. JAKES**, Expression of separate isoforms of human tau protein: correlation with the tau pattern in brain and effects on tubulin polymerization, *EMBO J.* 9 (1990), pp. 4225–4230.
- 56- **LOVESTONE S, REYNOLDS CH.** The phosphorylation of tau: a critical stage in neurodevelopment and neurodegenerative processes. *Neuroscience* 1997 ; 78 : 309-24.
- 57- **BUEE L, BUSSIERE T, BUEE- SCHERRER V, DELACOURTE A, HOF PR.** Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Rev* (2000) ; 33 : 95-130.
- 58- **HAASS C, GRUNBERG J, CAPELL A.** Proteolytic processing of Alzheimer's disease associated proteins. *J Neural Transm Suppl* (1998) ; 53 : 159-67.
- 59- **A. ROCCHI , S. PELLEGRINI , G. SICILIANO , L. MURRI ,** Causative and susceptibility genes for Alzheimer's disease: a review.
- 60- **KUOPION YLIOPISTO**, molecular genetics of alzheimer's disease, *Neurologian klinikan julkaisusarja*, (1998), No 44.
- 61- **L. GOVAERTS, J. SCHOENEN, D. BOUHY ,** pathogénie de la maladie d'alzheimer :les mécanismes moléculaires et cellulaires, *Rev Med Liege* (2007); 62 : 4 : 209-215.
- 62- **TOTOWA, NJ**, Alzheimer's Disease: Methods and Protocols, Edited by: N. M. Hooper © Humana Press Inc., *Methods in Molecular Medicine*, Vol. 32.
- 63- **TAKAHASHI, M., TSUJIOKA, Y., YAMADA, T., TSUBOI, Y., OKADA, H., YAMAMOTO, T., LIPOSITS, Z.** Glycosylation of microtubule-associated protein tau in Alzheimer's disease brain. *Acta Neuropathol (Berl)* (1999) 97, 635-641.
- 64- **GOATE, A., CHARTIER-HARLIN, M. C., MULLAN, M., BROWN, J., CRAWFORD, F., FIDANI, L.** Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* (1991) 349, 704–706.
- 65- **LONDON CL, ASHALL F, GOATE AM:** Exploring the etiology of Alzheimer's disease using molecular genetics. *JAMA* (1997) 277:825-831,.
- 66- **KOVACS, D. M., H. J. FAUSETT.** Alzheimer-associated presenilins 1 and 2: neuronal expression in brain and localization to intracellular membranes in mammalian cells. *Nat Med* (1996). 2(2): 224-9.

- 67- **SHERRINGTON, R., E. I. ROGAEV**. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* (1995) 375(6534): 754-60
- 68- **WALTER, J., A. CAPELL**. The Alzheimer's disease-associated presenilins. (1996).
- 69- **PODLISNY, M. B., M. CITRON**. Presenilin proteins undergo heterogeneous endoproteolysis between Thr291 and Ala299 and occur as stable N- and C-terminal fragments in normal and Alzheimer brain tissue. *Neurobiol Dis* (1997) 3(4): 325-3
- 70- **YU, YU, G., F. CHEN**. The presenilin 1 protein is a component of a high molecular weight intracellular complex that contains beta-catenin. *J Biol Chem* (1998) 273(26): 16470-5.
- 71- **VAN GASSEN G, ANNAERT W, VAN BROEKHOVEN C**. Binding partners of Alzheimer's disease proteins: are they physiologically relevant? *Neurobiol Dis* (2000) ; 7 : 135-51.
- 72- **SHERRINGTON R, FROELICH S, SORBI S, CAMPION D, CHI H, ROGAEVA EA, LEVESQUE G, ROGAEV EI, LIN C, LIANG Y, ST GEORGE-HYSLOP PH** : Alzheimer's disease associated with mutations in presenilin 2 is rare and variably penetrant. *Hum Mol Genet* (1996) 5:985-988,
- 73- **LEVITAN, D., J. LEE**. PS1 N- and C-terminal fragments form a complex that functions in APP processing and Notch signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2001) 98(21): 12186-90.
- 74- **Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, Romano DM, Oshima J, Pettigell WH, Yu C, Jondro PD, Schmidt SD, Wang K, Crowley AC, Fu Y-H, Guenette Sy, Galas D, Nemens E, Wijsman EM, Bird TD, Schellenberg GD, Tanzi RE**: Candidate gene for.
- 75- **.F. GIRARD**, que sait-on de la maladie d'alzheimer ?, septembre 2000.
- 76- **JEAN-JACQUES HAUW, MARIE-ANNE COLLE, CHARLES DUYCKAERTS**, Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer
- 77- **FORBES W.. HILL G.**, Is exposure to aluminium a risk factor for the development of Alzheimer disease? Yes, *Arch. Neurol.* 55 (1998) 740-741.
- 78- **COPELAND J.. DARTIGUES J.** Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease: results from EURODEM pooled analyses. EURODEM Incidence Research Group and Work Groups. *European Studies of Dementia, Neurology* 52 (1999) 78-84.
- 79- **CRUTS M, HENDRIKS L, VAN BROECKHOVEN C**. The presenilin genes: a new gene family involved in Alzheimer's disease pathology. *Hum Mol Genet* (1996).5:1449-1455.
- 80- **B. OLAISEN, P. TEISBERG AND T. GEDDE-DAHL JR.** The locus for apolipoprotein E (apoE) is linked to the complement component C3 (C3) locus on

chromosome 19 in man Human Genetics Human Genetics 1982 Volume 62, Number 3 / décembre.

- 81- **MARIJKE SMIT<sup>1</sup>, ELLIEN VAN DER KOOIJ-MEIJIS, RUNE R. FRANTS, LOUIS HAVEKES AND EDUARD C. KLASSEN** Apolipoprotein gene cluster on chromosome 19. Human Genetics. (1988) Volume 78.
- 82- **RALL, ME WERNETTE-HAMMOND, SJ LAUER, A CORSINI, D WALKER, JM TAYLOR AND SC RALL JR.** Glycosylation of human apolipoprotein E. The carbohydrate attachment site is threonine 194. J. Biol. Chem. (1989). Vol. 264, Issue 15, 9094-9101, 05.
- 83- **MAHLEY RW** Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. Science (1988) 240(4852): 622-630.
- 84- **VI ZANNIS, P W JUST, AND J L BRESLOW**, Human apolipoprotein E isoprotein subclasses are genetically determined. Am J Hum Genet. (1981); 33(1): 11–24.
- 85- **WILSON C., WARDELL M. R., WEISGRABER K. H., MAHLEY R. W., AND AGARD D. A.** Three-dimensional structure of the LDL receptor binding domain of human apolipoprotein E. Science (1991) 252, 1817–1822.
- 86- **JE HIXSON AND DT VERNIER.** Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI, Journal of Lipid Research, (1990) .Vol 31, 545-548.
- 87- **JL BRESLOW, J MCPHERSON, AL NUSSBAUM, HW WILLIAMS, F LOFQUIST-KAHL, SK KARATHANASIS AND VI ZANNIS** Identification and DNA sequence of a human apolipoprotein E cDNA clone J. Biol. Chem., (1982) Vol. 257, Issue 24, 14639-14641, 12.
- 88- **YADONG HUANG, KARL H. WEISGRABER, LENNART MUCKE ROBERT W. MAHLEY** Apolipoprotein E Diversity of cellular origins, structural and biophysical properties, and effects in Alzheimer's disease, Journal of Molecular Neuroscience, (2004) Volume 23, Number 3 .
- 89- **DONG L. M., WILSON C., WARDELL M. R., SIMMONS T., MAHLEY R. W., WEISGRABER K. H., AND AGARD D. A.** Human apolipoprotein E. Role of arginine 61 in mediating the lipoprotein preferences of the E3 and E4 isoforms. J. Biol. Chem. (1994) 269, 22358–22365.
- 90- **DONG L. M., WILSON C., WARDELL M. R., SIMMONS T., MAHLEY R. W., WEISGRABER K. H., AND AGARD D. A.** Human apolipoprotein E. Role of arginine 61 in mediating the lipoprotein preferences of the E3 and E4 isoforms. J. Biol. Chem. (1994) 269, 22358–22365.
- 91- **DONG L. M. AND WEISGRABER K. H.** Human apolipoprotein E4 domain interaction: arginine 61 and glutamic acid 255 interact to direct the preference for very low density lipoproteins. J. Biol. Chem (1996). 271, 19053–19057.

- 92- **NAKAI M, KAWAMATA T, TANIGUCHI T, MAEDA K, TANAKA C.** Expression of apolipoprotein E mRNA in rat microglia. *Neurosci Lett.* (1996) Jun 14;211(1):41-4.
- 93- **GOVAERTS, J. SCHOENEN, D. BOUHY.** pathogenie de la maladie d'alzheimer : les mecanismes moleculaires et cellulaires. *Rev Med Liege* (2007) ; 62 : 4 : 209-215.
- 94- **J K BOYLES, R E PITAS, E WILSON, R W MAHLEY, AND J M TAYLOR.** Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system. *J Clin Invest.* (1985) October; 76(4): 1501–1513.
- 95- **RONALD B. DEMATTOS, ROBERT P. BRENDZA, JOHN E. HEUSER, MALCA KIERSON, JOHN R. CIRRITO, JOHN FRYER, PATRICK M. SULLIVAN, ANNE M. FAGAN, XIANLIN HAN AND DAVID M. HOLTZMAN,** Purification and characterization of astrocyte-secreted apolipoprotein E and J-containing lipoproteins from wild-type and human apoE transgenic mice, *Neurochemistry International* Volume 39, Issues 5-6, November-December (2001), Pages 415-425.
- 96- **D M HOLTZMAN, R E PITAS, J KILBRIDGE, B NATHAN, R W MAHLEY, G BU, AND A L SCHWARTZ.** Low density lipoprotein receptor-related protein mediates apolipoprotein E-dependent neurite outgrowth in a central nervous system-derived neuronal cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A.* (1995) October 10; 92(21): 9480–9484.
- 97- **GUILLAUME, DANIEL; BERTRAND, PHILIPPE; DEA, DORIS, DAVIGNON, JEAN; POIRIER, JUDES.** Apolipoprotein E and Low-Density Lipoprotein Binding and Internalization in Primary Cultures of Rat Astrocytes: Isoform-Specific Alterations. *Journal of Neurochemistry* June (1996). 66(6):2410-2418.
- 98- **NARITA, MASAOKI; BU, GUOJUN; HOLTZMAN, DAVID M.; SCHWARTZ, ALAN L.** The Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein, a Multifunctional Apolipoprotein E Receptor, Modulates Hippocampal Neurite Development. *Journal of Neurochemistry.* February (1997).68(2):587-595.
- 99- **RC KOWAL, J HERZ, KH WEISGRABER, RW MAHLEY, MS BROWN AND JL GOLDSTEIN.** Opposing effects of apolipoproteins E and C on lipoprotein binding to low density lipoprotein receptor-related protein, *J. Biol. Chem.*, Jun, (1990) Vol. 265, Issue 18, 10771-10779.
- 100- **M J IGNATIUS, P J GEBICKE-HÄRTER, J H SKENE, J W SCHILLING, K H WEISGRABER, R W MAHLEY, AND E M SHOOTER,** Expression of apolipoprotein E during nerve degeneration and regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* (1986) February; 83(4): 1125–1129.
- 101- **BP NATHAN, S BELLOSTA, DA SANAN, KH WEISGRABER, RW MAHLEY, AND RE PITAS** Differential effects of apolipoproteins E3 and E4 on neuronal growth in vitro. *Science,* Vol 264, (1994).Issue 5160, 850-852.

- 102- **BRITTO P.NATHAN KUNG-CHING CHANG , STEFANO BELLOSTA, ELLEN BRISCH ,&NBS**P, The Inhibitory Effect of Apolipoprotein E4 on Neurite Outgrowth Is Associated with Microtubule Depolymerization. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc. Volume 270, (1995).Number 34, Issue of August 25, pp. 19791-19799.
- 103- **MARQUES MA, TOLAR M, HARMONY JA, CRUTCHER KA.** A thrombin cleavage fragment of apolipoprotein E exhibits isoform-specific neurotoxicity. *Neuroreport.* (1996) Nov 4;7(15-17):2529-32.
- 104- **NAMBA Y., TOMONAGA M., KAWASAKI H., OTOMO E., AND IKEDA K.** Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Res.* (1991) 541, 163–166.
- 105- **WISNIEWSKI T. AND FRANGIONE B.** Apolipoprotein E: a pathological chaperone protein in patients with cerebral and systemic amyloid. *Neurosci. Lett.* (1992) 135, 235–238.
- 106- **D. E. SCHMECHEL, A. M. SAUNDERS, W. J. STRITTMATTER, B. J. CRAIN, C. M. HULETTE, S. H. JOO, M. A. PERICAK-VANCE, D. GOLDGABER AND A. D. ROSES.** Increased Amyloid  $\beta$ -Peptide Deposition in Cerebral Cortex as a Consequence of Apolipoprotein E Genotype in Late-Onset Alzheimer Disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 90, No. 20 (1993), pp. 9649-9653.
- 107- **BEFFERT, J. POIRIER.** Apolipoprotein E, Plaques, Tangles and Cholinergic Dysfunction in Alzheimer's Diseasea Volume 777 *Bioartificial Organs: Science, Medicine, and Technology* (1996) Page 166-174.
- 108- **NASLUND J., THYBERG J., TJENBERG L. O., WERNSTEDT C., KARLSTROM A. R., BOGDANOVIC N., GANDY S. E., LANNFELT L., TERENIUS L., AND NORDSTEDT C.** Characterization of stable complexes involving apolipoprotein E and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease brain. *Neuron* (1995) 15, 219–228.
- 109- **WISNIEWSKI ET AL, W J STRITTMATTER, AND A D ROSES .** Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Annual Review of Neuroscience.* (1996) Vol. 19: 53-77.
- 110- **STRITTMATTER W. J., SAUNDERS A., SCHMECHEL D., PERICAK-VANCE M., ENGLHILD J., SALVESEN O. S., AND ROSES A. D.** Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1993) 90, 1977–1981.
- 111- **THOMAS WISNIEWSKI, JORGE GHISO AND BLAS FRANGIONE.** Biology of A $\beta$  Amyloid in Alzheimer's Disease *Neurobiology of Disease* (1997), Volume 4, Issue 5, Pages 313-328
- 112- **JIANYI MA,ANN YEE,H.BRYAN BREWER JR,SAUMYA DAS & HUNTINGTON POTTER;** Amyloid-associated proteins  $\alpha_1$ -antichymotrypsin and apolipoprotein E

promote assembly of Alzheimer $\beta$ -protein into filaments. *Nature* (2002)372, 92 - 94.  
doi:10.1038/372092.

- 113- **BALES KR, VERINA T, DODEL RC.** Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid beta-peptide deposition. *Nat Genet* (1997); 17: 263-4.
- 114- **ZHOU Z., SMITH J. D., GREENGARD P., AND GANDY S.** Alzheimer amyloid-b peptide forms denaturant-resistant complex with type E3 but not type E4 isoform of native apolipoprotein E. *Mol. (1996) Med.*2, 175–180.
- 115- **ALESHKOV S., ABRAHAM C. R., AND ZANNIS V. I.** Interaction of nascent apoE2, apoE3, and apoE4 isoforms expressed in mammalian cells with amyloid peptide b (1– 40). Relevance to Alzheimer's disease. *Biochemistry* (1997)36, 10571–10580.
- 116- **F M LAFERLA, J C TRONCOSO, D K STRICKLAND, C H KAWAS, AND G JAY.** Neuronal cell death in Alzheimer's disease correlates with apoE uptake and intracellular A $\beta$  stabilization. *J Clin Invest.* (1997) July 15; 100(2): 310–320.
- 117- **HOLTZMAN DM, BALES KR, TENKOVA T.** Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* (2000); 97: 2892-7.
- 118- **UCHIHARA T, DUYNCKAERTS C, HE Y.** ApoE immunoreactivity and microglial cells in Alzheimer's disease brain. *Neurosci Lett* (1995) ; 195 : 5-8.
- 119- **ALESHKOV S, ABRAHAM CR, ZANNIS VI.** Interaction of nascent ApoE2, ApoE3, and ApoE4 isoforms expressed in mammalian cells with amyloid peptide beta (1-40). Relevance to Alzheimer's disease. *Biochemistry* (1997); 36: 10571-80.
- 120- **PUTTFARCKEN, PAMELA S.; MANELLI, ARLENE M.; FALDUTO, MICHAEL T.; GETZ, GODFREY S. LADU, MARY JO,** Effect of Apolipoprotein E on Neurite Outgrowth and [beta]-Amyloid-Induced Toxicity in Developing Rat Primary Hippocampal Cultures. *Journal of Neurochemistry.* (1997) 68(2):760-769, February.
- 121- **MASAAKI MIYATA, JONATHAN D. SMITH:** Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and  $\beta$ -amyloid peptides, *nature genetics.* Volume 14 number 1 p 55.
- 122- **STRITTMATTER W. J., SAUNDERS A. M., GOEDERT M., WEISGRABER K. H., LI-MING DONG, SCHMECHEL D., ROSES A. D.,** isoform-specific interactions of apolipoprotein e with microtubule-associated protein tau : implications for alzheimer disease, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* (1994), vol. 91, n<sup>o</sup>23, pp. 11183-11186.
- 123- **LYNNE M. FLEMING, KARL H. WEISGRABER, WARREN J. STRITTMATTER, JUAN C. TRONCOSO AND GAIL V. W. JOHNSON.** Differential Binding of Apolipoprotein E Isoforms to Tau and Other cytoskeletal Proteins. *Experimental Neurology* (1996) Volume 138, Issue 2, p 252-260.

- 124- **E. H. CORDER, A. M. SAUNDERS, N. J. RISCH, W. J. STRITTMATTER, D. E. SCHMECHEL, P. C. GASKELL JR., J. B. RIMMLER, P. A. LOCKE, P. M. CONNEALLY, K. E. SCHMADER; G. W. SMALL, A. D. ROSES, J. L. HAINES & M. A. PERICAK-VANCE** protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease *Nature Genetics* (1994) 7, 180 – 184.
- 125- **LAMBERT JC, PEREZ-TUR J, DUPIRE MJ.** Distortion of allelic expression of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* (1997); 6: 2151-4.
- 126- **BULLIDO MJ, ARTIGA MJ, RECUERO M.** A polymorphism in the regulatory region of APOE associated with risk for Alzheimer's dementia. *Nat Genet* (1998) ; 18 : 69-71.
- 127- **ARTIGA MJ, BULLIDO MJ, SASTRE I.** Allelic polymorphisms in the transcriptional regulatory region of apolipoprotein E gene. *FEBS Lett* (1998) ; 421 : 105-8.
- 128- **LAMBERT JC, BROUSSEAU T, DEFOSSE V.** Independent association of an APOE gene promoter polymorphism with increased risk of myocardial infarction and decreased APOE plasma concentrations-the ECTIM study. *Hum Mol Genet* (2000) ; 9 : 57-61.
- 129- **LAMBERT JC, MANN D, GOUMIDI L.** Effect of the APOE promoter polymorphisms on cerebral amyloid peptide deposition in Alzheimer's disease. *Lancet* (2001); 357: 608-9.
- 130- **LUBERT STRYER.** université de standford, la biochimie, Médecine- science 1997 Flammarion.
- 131- Guy linder, abrégé de biochimie alimentaire, 4ème édition 1999, Masson.
- 132- **ADLERSBERG, D.,** Inborn errors of lipid metabolism; clinical, genetic, and chemical aspects, *AMA. Arch Pathol*, (1955); 60:481-492.
- 133- **BROWN, M. S., KOVANEN, P. T., AND GOLDSTEIN, J. L. ,** Regulation of plasma cholesterol by lipoprotein receptors, *Science*, (1981); 212:628-635.
- 134- **HOBBS, H. H., BROWN, M. S., AND GOLDSTEIN, J. L. ,** Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia, *Hum Mutat*, (1992); 1:445-66.
- 135- **HEIZMANN, C., KIRCHGESSNER, T., KWITEROVICH, P. O., LADIAS, J. A., DERBY, C., ANTONARAKIS, S. E., AND LUSIS, A. J.,** DNA polymorphism haplotypes of the human lipoprotein lipase gene: possible association with high density lipoprotein levels , *Hum. Genet.*, (1991); 86:578-584.

- 136-**BURDGE GC, FINNEGAN YE, MINIHANE AM, WILLIAMS CM, WOOTTON SA.** Effect of altered dietary n-3 fatty acid intake upon plasma lipid fatty acid composition, conversion of [13C] alpha-linolenic acid to longer-chain fatty acids and partitioning towards beta-oxidation in older men. *Br J Nutr* (2003) ; 90 : 311-21.
- 137-**MUSKIET FA, FOKKEMA MR, SCHAAFSMA A, BOERSMA ER, CRAWFORD MA.** Is docosahexaenoic acid (DHA) essential? Lessons from DHA status regulation, our ancient diet, epidemiology and randomized controlled trials. *J Nutr* (2004) ; 134 : 183-6.
- 138-**KRIS-ETHERTON PM, HARRIS WS, APPEL LJ.** For the nutrition committee. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* (2002) ; 106 : 2747-57.
- 139-**FLOYD RA.** Neuroinflammatory processes are important in neurodegenerative diseases: a hypothesis to explain the increased formation of reactive oxygen and nitrogen species as major factors involved in neurodegenerative disease development. *Free Radic Biol Med* (1999); 26 : 1346-55.
- 140-**ALESSANDRI JM, GUESNET P, VANCASSEL S.** Polyunsaturated fatty acids in the central nervous system: evolution of concepts and nutritional implications throughout life. *Reprod Nutr Dev* (2004) ; 44 : 509-38.
- 141-**MANN RK, BEACHY PA.** Cholesterol modification of proteins. *Biochim Biophys Acta* (2000); 1529: 188-202.
- 142-**VANIER MT.** Lipid changes in Niemann-Pick disease type C brain: personal experience and review of the literature. *Neurochem Res* (1999); 24: 481-9-
- 143-**DANIK M, CHAMPAGNE D, PETIT-TURCOTTE C, BEFFERT U, POIRIER J.** Brain lipoprotein metabolism and its relation to neurodegenerative disease. *Crit Rev Neurobiol* (1999); 13: 357-407.
- 144-**MAUCH DH, NÄGLER K, SCHUMACHER S.** CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science* (2001); 294: 1354-7.
- 145-**NÄGLER K, MAUCH DH, PFRIEGER FW.** Glia-derived signals induce synapse formation in neurones of the rat central nervous system. *J Physiol* (2001); 533: 665-79.
- 146-**LANG T, BRUNS D, WENZEL D.** SNAREs are concentrated in cholesterol-dependent clusters that define docking and fusion sites for exocytosis. *EMBO J* (2001); 20: 2202-13.
- 147-**BRECKENRIDGE WC, MORGAN IG, ZANETTA JP, VINCENDON G.** Adult rat brain synaptic vesicles. II. Lipid composition. *Biochim Biophys Acta* (1973); 320: 681-6.

- 148-**KLOPFENSTEIN DR, TOMISHIGE M, STUURMAN N, VALE RD.** Role of phosphatidylinositol (4, 5) bisphosphate organization in membrane transport by the Unc104 kinesin motor. *Cell* (2002); 109: 347-58.
- 149-**BECHER A, WHITE JH, MCILHINNEY RA.** The gamma-aminobutyric acid receptor B, but not the metabotropic glutamate receptor type-1, associates with lipid rafts in the rat cerebellum. *J Neurochem* (2001); 79: 787-95.
- 150-**MAUCH DH, NÄGLER K, SCHUMACHER S.** CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science* (2001); 294: 1354-7.
- 151-**DIETSCHY JM, TURLEY SD.** Cholesterol metabolism in the brain. *Curr Opin Lipidol* (2001); 12: 105-12.
- 152-**J.G VOET**, biochimie, sep (2005), 2<sup>ème</sup> édition de boeck.
- 153-**GOTTO A.M. JR, POWNALL H.J., HAVEL RJ.** Introduction to the plasma lipoproteins. *Methods Enzymol*, (1986) ; 128 :3-41
- 154- **DANIEL RICHARD**, les lipids et la cellule adipeuse, édition Nathan université philippe valet.
- 155-**L. DOUSTE-BLAZY & F. MENDY** dir., Biologie des lipides chez l'homme : de la physiologie à la pathologie, (1988) Éd. médicales internationales, Paris.
- 156-**GOFMAN J.W., LINDGREN RT., ELLIOTT H.** Ultracentrifugal studies of lipoproteins in human serum. *J Biol Chem*, 1949; 179: 973.
- 157-**CHAPMAN M.J.** Animal lipoproteins: chemistry, structure, and comparative aspects. *J Lipid Res*, (1980) ; 21 : 789-853.
- 158-**NORUM K.R., BERG T., HELGERUD P, DREVON C.A.** Transport of cholesterol. *Physiol Rev*, (1983) ; 63 :1343-1419.
- 159-**JEAN-FRANÇOIS TOUSSAINT, MARIE-PAULE JACOB, LAURENT LAGROST, JOHN CHAPMAN**, Lipoprotéines et métabolisme lipidique Tiré de : « L'athérosclérose - Physiologie, diagnostics, thérapeutiques », , Sous l'égide de la Société Française d'Athérosclérose.
- 160-**ZECHNER R.** The tissue-specific expression of lipoprotein lipase: implications for energy and lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol*, (1997) ; 8:77-88
- 161-**NORUM K.R., BERG T., HELGERUD P, DREVON C.A.** Transportof cholesterol. *Physiol Rev*, (1983); 63:1343-1419.
- 162-**HUSSAIN M.M., STRICKLAND D.K., BAKILLAH A.** The mammalian low-density lipoprotein receptor family. *Ann Rev Nutr*, 1999 ;19: 141-172.
- 163-**LAGROST, L., GAMBERT, P., DANGREMONT, V., ATHIAS, A., AND LALLEMANT, C.** Role of cholesteryl ester transfer protein (CETP) in the HDL conversion process as evidenced by using anti-CETP monoclonal antibodies , *J.Lipid Res.*, 1990; 31:1569-1575.

- 164-SHELNESS G.S. SELLERS J.A. Very-low-density lipoprotein assembly and secretion. *Curr Opin Lipidol*, (2001); 12: 151-157.
- 165-GUSTAFSON A., ALAUPOVIC P., FURMAN R.H. Studies of the composition and structure of serum lipoproteins. Separation and characterization of phospholipid-protein residues obtained by partial delipidization of very low density lipoproteins of human serum. *Biochemistry*, (1966); 5: 632-40.
- 166-ROTHBLAT G.H., BAMBERGER M., PHILLIPS M.C. Reverse cholesterol transport. *Methods Enzymol*, (1986) ; 129: 628-644.
- 167-LAGROST L., GAMBERT P, LALLEMANT C. Combined effects of lipid transfers and lipolysis on gradient gel patterns of human plasma LDL. *Arterioscler Thromb*, (1994); 14 :1327-1336.
- 168-PACKARD, C. J. AND SHEPHERD, J., Physiology of the lipoprotein transport system: an overview of lipoprotein metabolism, London : Arnold, Hodder Headline Group, (1999) 17-30.
- 169-JONAS A. Lecithin cholesterol acyltransferase. *Biochim Biophys Acta*, (2000) ; 1529 : 245-256.
- 170-EISENBERG, S., LONDON: ARNOLD, HODDER HEADLINE GROUP, High density lipoprotein metabolism, (1999) 71-85.
- 171-NOTKOLA, I.M., SULKAVA, R., PEKKANEN, J., ERKINJUNTTI, T., EHNHOLM, C., KIVINEN, P., TUOMILEHTO, J., NISSINEN, A., Serum total cholesterol, apolipoprotein E e4 allele, and Alzheimer's disease. *Neuroepidemiology* (1998) .17, 14–20.
- 172-JARVIK,G.P. interaction of apolipoprotein E genotype, total cholesterol level, and sex in prediction of alzheimer disease in case control study. *Neurobiology* (1995). 45, 1092 -1096.
- 173-FERNANDES, M.A. Effect of apolipoprotein E on blood lipid composition and membrane platelet fluidity in Alzheimer disease.*biochim.biophys. acta*. (1999) 1454, 89-96.
- 174-M. VAZQUEZ, M. MERLOS, T. ADZET, J.C. LAGUNA, Influence of lipid profile and fatty acid composition on the oxidation behavior of rat and guinea pig low density lipoprotein, *Comp. Biochem. Physiol., B Biochem. Mol. Biol.* (1998) 119 311–316.
- 175-L.M. REFOLO, M.A. PAPPOLLA, B. MALESTER, J. LAFRANCOIS, T. BRYANT- THOMAS, R. WANG, G.S. TINT, K. SAMBAMURTI, K. DUFF, Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model, *Neurobiol. Dis.* (2000) 7 321–331.
- 176-LUCHSINGER JA, MAYEUX R. Dietary factors and Alzheimer's disease *Lancet Neurol* (2004); 3: 579–87.

- 177- Images dans son **contexte original**, sur la page:  
<http://www.alzheimer-adna.com/APP/APPsplice.html>
- 178-**WAHRLE S, DAS P, NYBORG AC.** Cholesterol-dependent gammasecretase activity in buoyant cholesterol-rich membrane microdomains. *Neurobiol Dis* (2002); 9: 11–23
- 179-**CORDY, J.M., HUSSAIN, I., DINGWALL, C., HOOPER, N.M., AND TURNER, A.J.** (2003). Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 11735–11740.
- 180-**WAHRLE, S., DAS, P., NYBORG, A.C., MCLENDON, C., SHOJI, M., KAWARABAYASHI, T., YOUNKIN, L.H., YOUNKIN, S.G., AND GOLDE, T.E.** Neurobiol. Dis. (2002). 9, 11–23.
- 181-**GIBSON WOOD W, ECKERT GP, IGBAVBOA U, MULLER WE.** Amyloid beta-protein interactions with membranes and cholesterol: causes or casualties of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* (2003); 1610: 281–90.
- 182-**IGBAVBOA U, AVDULOV NA, SCHROEDER F, WOOD WG.** Increasing age alters transbilayer fluidity and cholesterol asymmetry in synaptic plasma membranes of mice. *J Neurochem* (1996); 66: 1717–25.
- 183-**HAYASHI H, IGBAVBOA U, HAMANAKA H.** Cholesterol is increased in the exofacial leaflet of synaptic plasma membranes of human apolipoprotein E4 knock-in mice. *Neuroreport* (2002); 13: 383–86.
- 184-**ZOU K, KIM D, KAKIO A.** Amyloid beta-protein (A $\beta$ )<sub>1-40</sub> protects neurons from damage induced by A $\beta$ <sub>1-42</sub> in culture and in rat brain. *J Neurochem* (2003); 87: 609–19.
- 185-**PENTCHEV PG, BLANCHETTE-MACKIE EJ, DAWIDOWICZ EA.** The NP-C gene: a key to pathways of intracellular cholesterol transport.
- 186-**SPILLANTINI MG, TOLNAY M, LOVE S, GOEDERT M.** Microtubule-associated protein tau, heparan sulphate and alpha-synuclein in several neurodegenerative diseases with dementia. *Acta Neuropathol (Berl)* (1999); 97: 585–94.
- 187-**GIRARDOT N, ALLINQUANT B, LANGUI D.** Accumulation of flotillin-1 in tangle-bearing neurones of Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* (2003); 29: 451–61.
- 188-**AUER IA, SCHMIDT ML, LEE VM.** Paired helical filament tau (PHFtau) in Niemann-Pick type C disease is similar to PHFtau in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* (1995); 90: 547–51.
- 189-**KOUDINOV AR, KOUDINOVA NV.** Cholesterol homeostasis failure as a unifying cause of synaptic degeneration. *J Neurol Sci* (2005); 229–230: 233–40.
- 190-**WOLLMER MA, STREFFER JR, LUTJOHANN D.** ABCA1 modulates CSF cholesterol levels and influences the age at onset of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* (2003); 24: 421–26.

- 191-**LUND EG, GUILYARDO JM, RUSSELL DW.** cDNA cloning of cholesterol 24-hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA.* (1999).96, 7238-43.
- 192-**KATZOV H, CHALMERS K, PALMGREN J.** Genetic variants of BCA1 modify Alzheimer disease risk and quantitative traits related to beta-amyloid metabolism. *Hum Mutat* (2004); 23.
- 193-**CAUSEVIC M, RAMOZ N, HAROUTUNIAN V, DAVIS KL, BUXBAUM JD.** Lack of association between the levels of the low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) and either Alzheimer dementia or LRP exon 3 genotype. *J Neuropathol Exp Neurol* (2003); 62: 999–1005.
- 194-**MICHELLE CUSSENOT,** principes des techniques de biologie moléculaire, édition Denis TAGU. (1999).
- 195-**MASSON D, MAINARD F, AUGET J.L, CHIVOT L.** effet of precipitation and centrifugation conditions on high density lipoproteincholestérol measured with phosphotungstate-magnesium reagent. *Clin.chem.* (1992) 38/1:148.
- 196-**LIPPI U, GRAZIANI M.S, SCHINELLA M.** The freidewald formula: statistical acrobatics? *CLIN. CHEM.* 51986° 32/ 5/ 909-910.
- 197-**T. BIENVENU, C. MONIER.** Les thechniques d'extraction d'ADN à partir d'un échantillon sanguin. *Ann, biol. Clin* (1999). 57.77 -84.
- 198-**BOSTON, P., DENNIS, M.S., JAGGER, C.** Factors associated with vascular dementia in an elderly community population. *Int. J. Psychiatry* (1999).14, 761–766.
- 199-**FRATIGLIONI L, LAUNER LJ, ANDERSEN K.** Incidence of dementia and major subtypes in Europe: a collaborative study of population-based cohorts. *Neurology* (2000); 54 (suppl 5): S10-5.
- 200-**LETENNEUR L, GILLERON V, COMMENGES D, HELMER C, ORGOGOZO JM, DARTIGUES JF.** Are sex and educational level independent predictors of dementia and Alzheimer's disease? Incidence data from the PAQUID project. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* (1999); 66: 177-83.
- 201-**EDLAND SD, ROCCA W, PETERSEN RC, CHA RH, KOKMEN E.** The incidence of Alzheimer's disease does not vary by gender in Rochester, MN. *Neurobiol Aging* (2000); 21: S203.
- 202-**RITCHIE K, KILDEA D.** Is senile dementia « age-related » or « ageing-related »? Evidence from meta-analysis of dementia prevalence in the oldest old. *Lancet* (1995) ; 346 : 931-4.
- 203-**LETENNEUR L, GILLERON V, COMMENGES D, HELMER C, ORGOGOZO JM, DARTIGUES JF.** Are sex and educational level independent predictors of dementia and Alzheimer's disease?

- 204-**STERN RG, MOHS RC, DAVIDSON M.** A longitudinal study of Alzheimer's disease: measurement, rate, and predictors of cognitive deterioration. *Am J Psychiatry* (1994) ; 151 : 3906.
- 205-**CORTOPASSI, G.A., WONG, A.,** Mitochondria in organismal ageing and degeneration. *Biochimica et Biophysica Acta* (1999).1410, 183–193.
- 206-**CHUN SHI A,B, KAIHUA GUO A, DAVID T. YEW B, ZHIBING YAO A, E. LUCY FORSTER B, HUAQIAO WANG A, JIE XU A,** Effects of ageing and Alzheimer's disease on mitochondrial function of human platelets. *Experimental Gerontology* xxx (2008).
- 207-**A. IVANOIU**1. sémiologie de la maladie d'alzheimer et des démences non-alzheimer évaluation des troubles démentiels. 122: S110-S131, 2003. S110.
- 208-**DEROUESNE C. ; POITRENEAU J. ; HUGONOT L. ; KALAFAT M. ; DUBOIS B. ; LAURENT B. ;** mini-mental state examination (mmse). a practical tool for evaluating cognitive status (1999), vol. 28, n°21, pp. 1141-1148.
- 209-**American Psychiatric Association.** Critères diagnostiques (Traduction française par J.D. Guelfi et col.). Masson, (2000), Paris.
- 210- **ASAD VAISI RAYGANI,** Association between apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer disease in Tehran, Iran, *Neuroscience Letters* (2005) 375 1–6.
- 211-**SANDRO SORBI,** ApoE allele frequencies in Italian sporadic and familial Alzheimer's disease, Volume 177, Issues 1-2 , 15 August (1994), Pages 100-102.
- 212-**Khodja Djamel. Ouldjaouai.A, abadi.A, C.Benlatreche. Etude du polymorphisme de l'apoprotéine E dans la population constantinoise et dans les maladies cardiovasculaires 2007.**
- 213-**L. DEIANA, G.M. PES, C. CARRU, A. ERRIGO, S. PETTINATO, C. CARCASSI, G. BAGGIO, L. CONTU,** Lack of influence of apolipoprotein E4 on lipoprotein levels in the island population of Sardinia, *Eur. J. Clin. Invest.* 28 (1998) 290–294. G.B.
- 214-**SAUNDERS, A.M., STRITTMATTER, W.J., SCHMECHEL, D., ST. GEORGE-HYSLOP, P.H., PERICAK-VANCE, M.A., JOO, S.H., ROSI, B.L., GUSELLA, J.F., CRAPPER-MACLACHLAN, D.R., ALBERTS, M.J., HULETTE, C., CRAIN, B., GOLDGABER, D. AND ROSES, A.D.,** Association of apolipoprotein E allele e4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease, *Neurology*, 43 (1993) 1467-1472.
- 215-**L. G.B. FRISONI, S. GOVONI, C. GEROLDI, A. BIANCHETTI, L. CALABRESI, G. FRANCESCHINI, M. TRABUCCHI,** Gene dose of the  $\epsilon_4$  allele of apolipoprotein E and disease progression in sporadic late-onset Alzheimer's disease, *Ann. Neurol.* 37 (1995) 596–604.
- 216-**R.M. CORBO, R. SCACCHI, L. MUREDDU, G. MULAS, G. ALFANO,** Apolipoprotein E polymorphism in Italy investigated in native plasma by simple

polyacrylamide gel isoelectric focusing technique. Comparison with frequency data of other European populations, *Ann. Hum. Genet.* 59 (1995) 197–209.

- 217-**L.U. GERDES, I.C. KLAUSEN, I. SIHM, O. FAERGEMAN**, Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 other study populations around the world, *Genet. Epidemiol.* 9 (1992) 155–167.
- 218-**R.M. CORBO, R. SCACCHI**, Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is APOE4 a 'thrifty' allele? *Ann. Hum. Genet.* 63 (1999) 301–310.
- 219- Images dans son **contexte original**, sur la page  
<http://ist.inserm.fr/BASIS/medsci/fqmb/medsci/DDD/7117.pdf>
- 220-**CHARTIER-HARLIN, M.-C., PARFITT, M., LEGRAIN, S., PEREZ-TUR, J., BROUSSEAU, T., EVANS, A., BERR, C., VIDAL, O., ROQUES, P., GOURLET, V., FRUCHART, J-C., DELACOURTE, A., ROSSOR, M. AND AMOUYEL, P.**, Apolipoprotein E, e4 allele as a major risk factor for sporadic early and late-onset forms of Alzheimer's disease: analysis of the 19q13.2 chromosomal region, *Human Mol. Genet.*, 3 (1994) 569- 574.
- 221-**FUKUDA, R., NAGATA, K., ISSE, K., UEKI, A. AND KAZAMATSURI, H.**, Association of apolipoprotein E4 with sporadic Alzheimer's disease is more pronounced in early onset type, *Neurosci. Left.*, 175 (1994) 74-76.
- 222-**LAN CHEN, MB, LARRY BAUM, PHD**, Apolipoprotein E Genotype and Its Pathological Correlation in Chinese Alzheimer's disease With Late Onset.
- 223-**G. Friedman a, Ruth Gabizon b**, Apolipoprotein EE4 allele, a risk factor for late onset nonfamilial Alzheimer's disease among Israeli Jews, *Gerontology and Geriatrics* 24 (1997) 175-181.
- 224-**MYRON F. WEINER, GLORIA VEGA, RICHARD C. RISSER**, Apolipoprotein Ee4, Other Risk Factors, and Course of Alzheimer's Disease.
- 225-**ROSES, A. D.; HAINES, J. L.; PERICAK-VANCE, M. A.** Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* (1993).261:921-923.
- 226-**STRITTMATTER WJ, SAUNDERS AM, SCHMECHEL D**, et al. Apolipoprotein E: highavidity binding to betaamyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* (1993); 90 : 1977-81.
- 227- **H. CORDER, A. M. SAUNDERS, N. J. RISCH, W. J. STRITTMATTER , D. E. SCHMECHEL, P. C. GASKELL JR., J. B. RIMMLER, P. A. LOCKE, P. M. CONNEALLY, K. E. SCHMADER, G. W. SMALL, A. D. ROSES, J. L. HAINES & M. A. PERICAK-VANCE** Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease,*E. nature genetics* 7, 180 - 184 (1994) doi:10.1038/ng0694-180.
- 228-**HARDY J.** Apolipoprotein E in the genetics and epidemiology of Alzheimer's disease. *Am J Med Genet* (1995); 60: 456-60.

- 229-**RUBINSZTEIN DC, EASTON DF.** Apolipoprotein E genetic variation and Alzheimer's disease. a meta-analysis.. *Dement Geriatr Cogn Disord.* (2000) Jul-Aug; 11(4):238.
- 230-**FARRER LA, CUPPLES LA, HAINES JL, HYMAN B, KUKULL WA, MAYEUX R, MYERS RH, PERICAK-VANCE MA, RISCH N, VAN DUIJN CM** Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. *APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium.*
- 231-**BROUSSEAU T, LEGRAIN S, BERR C, GOURLET V, VIDAL O, AMOUYEL P .** Confirmation of the epsilon 4 allèle of the apolipoprotein E gene as a risk factor for late-onset Alzheimer's disease. *Neurology* (1994) ; 44 : 342-344.
- 232-**HIGGINS GA, LARGE CH, RUPNIAK HT, BARNES JC.** Apolipoprotein E and Alzheimer's disease: a review of recent studies. *Pharmacol Biochem Behav* (1997); 56: 675-685 , 18 .
- 233-**REBECK GW, PERLS TT, WEST HL, SODHI P, LIPSITZ LA, HYMAN BT.** Reduced apolipoprotein epsilon 4 allele frequency in the oldest old Alzheimer's patients and cognitively normal individuals. *Neurology* (1994) ; 44 : 1513-6.
- 234-**MILA KIVIPEITO, EEVA-LIISA HELKALA, MIKKO P.LAAKSO, TUOMO HANNINEN, MERJA HALLIKAINEN, KARI ALHAINEN.** Apolipoprotein E4 allele, elevated midlife total cholesterol level, and high midlife systolic blood pressure are independent risk factors for late- life Alzheimer's disease. *Ann Intern Med* (2002); 137:149-155.
- 235-**CASTELLI RJ, GRAFF-RADFORD NR, REIMAN EM, WEAVER A, OSBORNE D, LUCAS J.** *Neurobiology* (1999) ; 53 : 201-7.
- 236-**CORDER EH, SAUNDERS AM, STRITTMATTER WJ, SCHMECHEL DE, GASKELL PC, SMALL GW.** Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* (1993);261:921.
- 237-**BICKEBOLLER H, CAMPION D, BRICE A.** Apolipoprotein E and Alzheimer disease: genotype-specific risks by age and sex. *Am J Hum Genet* (1997); 60 : 439-46.
- 238-**MARIE- CHARTIER-HARLIN MC, PARFITT M, LEGRAIN S.** Apolipoprotein E, epsilon 4 allele as a major risk factor for sporadic early and lateonset forms of Alzheimer's disease: analysis of the 19q13.2 chromosomal region. *Hum Mol Genet* (1994); 3 : 569-74.
- 239-**KI WOONG KIMA, JIN HYEONG JHOO,** Association between apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease in Koreans, *Neuroscience Letters* 277 (1999) 145-148.
- 240-**FARRER, L.A., CUPPLES, L.A., HAINES, J.L., HYMAN, B., KUKULL, W.A., MAYEUX, R., MYERS, R.H., PERICAK-VANCE, M.A., RISCH, N. AND VAN DUIJN, C.M.,** Effects of age, sex, and ethnicity on the association between

- apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *J. Am. Assoc.*, 278 (1997) 1349-1356.
- 241-**MARIE-CHRISTINE CHARTIER-HARLIN, LOUISA ARARIA-GOUMIDI, JEAN-CHARLES LAMBERT** Les formes tardives de la maladie d'Alzheimer : de la génétique à la biologie médecine/sciences (2002) ; 18 : 709-16.
- 242-**C.BERR**, épidémiologie de la maladie d'alzheimer, le concours médical – 06-06-98-120-22.
- 243- **HOFMAN A, OTT A, BRETELER MM**. Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam Study *Lancet* (1997) ; 349 : 151-154 .
- 244-**HIGGINS GA, LARGE CH, RUPNIAK HT, BARNES JC** . Apolipoprotein E and Alzheimer's disease : a review of recent.
- 245-**LEHTOVIRTA M, SOÏNINEN H, HELISALMI S, MANNERMAA A**. Clinical and neuropsychological characteristics in familial and sporadic Alzheimer's disease: relation to apolipoprotein E polymorphism. *Neurology* (1996) ; 46 : 413-9.
- 246- **PIRTTILA T, SOÏNINEN H, HEININEN O, LEHTIMAKI T**. Apolipoprotein E levels in brains from Alzheimer disease patients and controls. *Brain Res* (1996) ; 722 : 71-7.
- 247- **STEVENS M, VAN DUIJN CM, DE KNIFF P**. Apolipoprotein E gene and sporadic frontal lobe dementia. *Neurology* 1997 ; 48 :1526-9.
- 248-**STERN RG, MOHS RC, DAVIDSON M**. A longitudinal study of Alzheimer's disease: measurement, rate, and predictors of cognitive deterioration. *Am J Psychiatry* (1994) ; 151 : 390-6.
- 249-Images dans son **contexte original**, sur la page  
[http://www.atgen.com.uy/english/images/graficaq\\_apoe.gif](http://www.atgen.com.uy/english/images/graficaq_apoe.gif)
- 250-**LI G, SHEN Y, LI Y, CHEN C,ZHAU Y, SILVERMAN J. A**. casecontrol study of Alzheimer's disease in China. *Neurology* (1992); 42: 1481-8.
- 251-**MAYEUX R, OTTMAN R, MAESTRE G**. Synergistic effects of traumatic head injury and apolipoprotein-epsilon 4 in patients with Alzheimer's disease . *Neurology* (1995) ; 45 : 555-557.
- 252-**O'MEARA SE, KUKULL WA, SHEPPARD L I**. Head injury and risk of Alzheimer's disease by apolipoprotein E genotype . *Am J Epidemiol* (1997); 146 : 373-384 .
- 253- D. Zekry, D. Zekry, J.J. Hauw and G. Gold, Mixed dementia: epidemiology, diagnosis, and treatment, *J. Am. Geriatr. Soc.* 50 (2002), pp. 1431–1438.

- 254-**MAYEUX R, OTTMAN R, TANG M.** Genetic susceptibility and head injury as risk factors for Alzheimer's disease among community-dwelling elderly persons and their first-degree relatives. *Ann Neurol* (1993) ; 33 : 494-501.
- 255-**JORM AF.** Is depression a risk factor for dementia or cognitive decline: a review. *Gerontology* (2000) ; 46 : 219-27.
- 256-**CASSERLY I, TOPOL E.** Convergence of atherosclerosis and Alzheimer's disease: inflammation, cholesterol and misfolded proteins. *Lancet* (2004); 363: 1139- 1146.
- 257- **ALAGIAKRISHNAN K, MCCRACKEN P, FELDMAN H.** Treating vascular risk factors and maintaining vascular health: Is this the way towards successful cognitive ageing and preventing cognitive decline? *Postgrad Med J* (2006); 82 (964): 101- 5.
- 258-**RIGGS JE.** Smoking and Alzheimer's disease. Protective effect or differential survival bias. *Lancet* (1993) ; 342 : 793-794.
- 259-**OOGOGOZZO JM, DARTIGUES JF, LAFONT S.** Wine consumption and dementia in the elderly : a prospective community based study in the Bordeaux area. *Rev Neurol* (1997); 153 : 185-192.
- 260-**LEMESHOW S, LETENNEUR L, DARTIGUES JF, LAFONT S, OOGOGOZZO JM, COMMENGES D.** Illustration of analysis taking into account complex survey considerations: the association between wine consumption and dementia in the Paquid study. *Am J Epidemiol* (1998); 148: 298-306.
- 261-**DUFOUIL C, DUCIMETIÈRE P, ALPEROVITCH A FOR THE EVA STUDY GROUP.** Sex differences for association between alcohol consumption and cognitive performance. *Am J Epidemiol* (1997) ; 146 : 405-412.
- 262-**RUITENBERG A, SWIETEN JC, HOFMAN A, BRETELER MMB.** Alcohol consumption and risk of dementia: results from the Rotterdam study. *Neurobiol Aging* (2000) ; 21 : 1129.
- 263-**M.M. BRETELER,** Vascular risk factors for Alzheimer's disease: an epidemiologic perspective, *Neurobiol. Aging* 21 (2003), pp. 153–160.
- 264-**AMIRA PIERUCCI LAGHA,** Christian Derouesné, alcool et vieillissement, *Psychologie & NeuroPsychiatrie du vieillissement*. Décembre (2003) Volume 1, Numéro 4, 237-49.
- 265-**J. FREY,** Y a-t-il du sucre dans l'Alzheimer ? *Annales de Biologie Clinique*. Volume 59, Numéro 3, 253-7, Mai - Juin (2001), Revues générales.
- 266-**PEILA R. RODRIGUEZ BL, LAUNER LJ.** Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: the Honolulu- Asia aging study. *Diabetes* (2002); 51: 1256- 1262.

- 267-**GRADMAN TJ, LAWS A, THOMPSON LW, REAVEN GM.** Verbal learning and/or memory improves with glycemic control in older subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Geriatr Soc* (1993);41:1305-1312.
- 268-**ELIAS M.F., WOLF P.A., D'AGOSTINO R.B., COBB J., WHITE L.R.** "Untreated blood pressure level is inversely related to cognitive functioning: the Framingham Study". *Am J Epidemiol*, (1993) ; 138 : 353-64.
- 269-**LAUNER J., MASAKI K., PETROVITCH H., FOLEY D., HAVLIK R.J.** "The association between midlife blood pressure levels and late-life cognitive function. The Honolulu-Asia Aging Study". *JAMA*, (1995); 274: 1846-51.
- 270-**KILANDER L., NYMAN H., BOBERG M., HANSSON L., LITHELL H.** "Hypertension is related to cognitive impairment: a 20-year follow-up of 999 men". *Hypertension*, (1998); 31: 780-6.
- 271-**TZOURIO C., DUFOUIL C., DUCIMETIERE P., ALPEROVITCH A.** "Cognitive decline in individuals with high blood pressure: a longitudinal study in the elderly. EVA Study Group. *Epidemiology of Vascular Aging*". *Neurology*, (1999); 53: 1948-52.
- 272-**KNOPMAN D., BOLAND L.L., MOSLEY T., HOWARD G., LIAO D., SZKLO M., MCGOVERN P., FOLSOM A.R.,** Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. "Cardiovascular risk factors and cognitive decline in middle-aged adults". *Neurology*, (2001) ; 56 : 42-8.
- 273-**SKOOG I., LERNFELT B., LANDAHL S.** "15-year longitudinal study of blood pressure and dementia". *Lancet*, (1996) ; 347 : 1141-5.
- 274-M.M. Breteler, Vascular risk factors for Alzheimer's disease: an epidemiologic perspective, *Neurobiol. Aging* 21 (2000), pp. 153–160.
- 275-**MARWAN N. SABBAGH , JOANNE CEIMO , H. REZA ZAHIRI , WILLIAM V. GAUL , D. LARRY** Sparks the lipid profilin the alzheimer's desease. 1 Sun Health Research Institute, Sun City, AZ, USA; 2Midwestern University, Glendale, AZ, USA; SAdvanced Cardiology Group, Sun City, AZ, USA.
- 276-**K. HALL, PHD; J. MURRELL, PHD; A. OGUNNIYI, MBCHB, FMCP, FWACP; PHD; O. GUREJE, MBBS, MSC, PHD; J. DICKENS, MD; R. EVANS, MD; V. SMITH-GAMBLE, MD; F.W. UNVERZAGT, PHD; J. SHEN, MS; AND H. HENDRIE, MB, CHB, DSC Y.** Cholesterol, APOE genotype, and Alzheimer disease An epidemiologic study of Nigerian Yoruba, *NEUROLOGY* (2006);66:223–227.
- 277-**G. LESSER, K. KANDIAH, L.S. LIBOW, A. LIKOUREZOS, B. BREUER, D. MARIN, R. MOHS, V. HAROUTUNIAN, R. NEUFELD BRONX.** Elevated Serum Total and LDL Cholesterol in Very Old Patients with Alzheimer's Disease Veterans Affairs Medical Center, Bronx, N.Y., USA (2001).vo12.
- 278-**MILA KIVIPELTO, EEVA-LIISA HELKALA, MIKKO P LAAKSO, TUOMO HANNINEN, MERJA HALLIKAIMEN, KARI ALHAINEN, HILKKA SOININEN, JAAKKO TUOMILEHTO AND AULIKKI NISSIMEN.** Midlife vascular risk

- factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal population based study. *BMJ* (2001); 322:1447-1451.
- 279-**KUUSISTO, J., KOIVISTO, K., MYKKANEN, L., HELKALA, E.L., VANHANEN, M., HANNINEN, T., KERVINEN, K., KESANIEMI, Y.A., RIEKKINEN, P.J., LAAKSO, M.**. Association between features of the insulin resistance syndrome and Alzheimer's disease independently of apolipoprotein E4 phenotype: cross sectional population based study. *BMJ* (1997). 315, 1045–1049.
- 280-**AGATHE RAYNAUD-SIMON**, Nutrition, démences vasculaires et maladie d'Alzheimer, Volume 18, Issue 4, December (2004), Pages 181-188.
- 281-**RENVALL M.J, SPINDLER A.A** et al. Nutritional status of free-living Alzheimer's patients. *Am J Med Sci* (1989);298(1) : 20-7.
- 282-**J.S. GOODWIN, J.M. GOODWIN AND P.J. GARRY**, Association between nutritional status and cognitive functioning in a healthy elderly population,*Jama* 249 (1983), pp. 2917–2921.
- 283-**CHRISTIANE REITZ, MD; MING-XIN TANG, PHD; JOSE LUCHSINGER, MD; RICHARD MAYEUX, MD** Arch Relation of Plasma Lipids to Alzheimer Disease and Vascular Dementia *Neurol.* (2004);61:705-714.
- 284-**WOLOZIN B, WELLMAN W, ROUSSEAU P, CELESIA G.G AND SIEGEL G .** Decreased prevalence of Alzheimer's disease associated with 3- hydroxy-3methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Arch. Neurol.*(2000); 57(10):1439-43.
- 285-**SIMONS M, SCHWARZLER F, LUTJOHANN D, VON BERGMANN K, BEYREUTHER K, DICHGANS J, WORMSTALL H, HARTMANN T, SCHULZ JB.** Treatment with simvastatin in normocholesterolemic patients with Alzheimer's disease: A 26-week randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Ann Neurol* (2002) Sep;52(3):346- 50.
- 286-**TAN ZS, SESHADRI S, BEISER A, WILSON PW, KIEL DP, TOCCO M** et al. Plasma total cholesterol level as a risk factor for Alzheimer disease: the Framingham Study. *Arch Intern Med* (2003).163: 1053–1057.
- 287- Images dans son **contexte original**, sur la page <http://www.bmsf.unsw.edu.au/images/ApoE.gif>
- 288-**SOLFRIZZI, V., PANZA, F., COLACICCO, A.M., D'INTRONO, A., CAPURSO, C., TORRES, F., GRIGOLETTO, F., MAGGI, S., DEL PARIGI, A., REIMAN, E.M., CASELLI, R.J., SCAFATO, E., FARCHI, G., CAPURSO, A.**, for the Italian Longitudinal Study on Aging Working Group, (2004). Vascular risk factors, incidence of MCI, and rates of progression to dementia. *Neurology* 63, 1882–1891
- 289-**ROMAS, S.N., TANG, M.X., BERGLUND, L., MAYEUX, R.** , APOE genotype, plasma lipids, lipoproteins, and AD in community elderly. *Neurology* 1999. 53, 517–521. Panza, F., D'Introno, A., Colacicco, A.M., Capurso, C., Pichichero, G.,

- Capurso, S.A., Capurso, A., Solfrizzi, V., (2006). Lipid metabolism in cognitive decline and dementia. *Brain Res. Brain Res.* 51, 275–292.
- 290-**CHRISTIANE REITZ, MD; MING-XIN TANG, PHD; JOSE LUCHSINGER, MD; RICHARD MAYEUX, MD** Arch Relation of Plasma Lipids to Alzheimer Disease and Vascular Dementia *Neurol.* (2004);61:705-714.
- 291-**MIELKE, M.M., ZANDI, P.P., SJOGREN, M., GUSTAFSON, D., OSTLING, S., STEEN, B., SKOOG, I.**, (2005). High total cholesterol levels in late life associated with a reduced risk of dementia. *Neurology* 64, 1689–1695.
- 292-**SIMONS, M., KELLER, P., DE STROOPER, B., BEYREUTHER, K., DOTTI, C.G., SIMONS, K.**, (1998). Cholesterol depletion inhibits the generation of beta-amyloid in hippocampal neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95 (11), 6460–6464.
- 293-**KOUDINOV, A.R., KOUDINOVA, N.V.**, (2001). Essential role for cholesterol in synaptic plasticity and neuronal degeneration. *FASEB J.* 15, 1858–1860.
- 294- **VATASSERY, G.T., SMITH, W.E., QUACH, H.T., LAI, J.C.** In vitro oxidation of vitamin E, vitamin C, thiols and cholesterol in rat brain mitochondria incubated with free radicals. *Neurochem. Int.* (1995) 26, 527–535.
- 295-**BONAREK M, BARBERGER-GATEAU P, LETENNEUR L, DESCHAMPS V, IRON A, DUBROCA B, DARTIGUES JF.** Relationships between cholesterol, apolipoprotein E polymorphism and dementia: a cross-sectional analysis from the PAQUID study. *Neuroepidemiology* (2000);19:141–8.
- 296-**HENRIKE WOLF, ANKE HENSEL, THOMAS ARENDT, MIIA KIVIPELTO, BENGT WINBLAD, HERMANN-JOSEF GERTZ. KAROLINSKA INSTITUTER, NEUROTEC, STOCKHOLM, SWEDEN;** association between serum hdl cholesterol and hippocampal volume. a link to alzheimer's disease? Universitiit Leipzig, Department of Psychiatry, Leipzig, Germany; 3 Universitiit Leipzig, Paul Flechsig Institute for Brain Research, Leipzig, German.y.
- 297-**LI, MD, PHD; J.B. SHOFER, MS; W.A. KUKULL, PHD; . TSUANG, MD; J.C.S. BREITNER, MD, MPH; W. MCCORMICK, MD, MPH; J.D. BOWEN, MD; L. TERI, PHD; G.D. SCHELLENBERG, PHD; AND E.B. LARSON, MD, MPH.** Serum cholesterol and risk of Alzheimer disease A community-based cohort study G.
- 298-**KALMIJN, S., FOLEY, D., WHITE, L., BURCHFIEL, C.M., CURB, J.D., PETROVITCH, H., ROSS, G.W., HAVLIK, R.J., LAUNER, L.J., .** Metabolic cardiovascular syndrome and risk of dementia in Japanese–American elderly men. The Honolulu–Asia aging study. *Arterioscler., Thromb., Vasc. Biol* (2000). 20, 2255–2260.
- 299-**MARWAN SABBAGH, H. REZA ZAHIRI, JOANNE CEIMO, KIMBAL COOPER, WILLIAM GAUL, DONALD CONNOR, D. LARRY SPARKS** .Is there a characteristic lipid profile in Alzheimer's disease? *Journal of Alzheimer's disease* Volume 6, Number 6/2004 585-589.

- 300-**GERSHON T. LESSER, MICHAL SCHNAIDER BEERI1, MICHAEL A. RAPP, LESLIE S. LIBOW, DUSHANT P. PUROHIT1, CHAIM TARSHISH, VAHRAM HAROUTUNIAN.** serum total and LDL cholesterol are associated with alzheimer's disease neuropathological diagnosis in the very old, USA; 2Jewish Home and Hospital, New York, NY.
- 301-**LEHTONEN, A., LUUTONEN, S.,** High-density lipoprotein cholesterol levels of very old people in the diagnosis of dementia. *Age Ageing* (1986) 15, 267–270.
- 302-**LESSER, G., KANDIAH, K., LIBOW, L.S., LIKOUREZOS, A., BREUER, B., MARIN, D.,MOHS, R., HAROUTUNIAN, V., NEUFELD, R.,** Elevated serum total and LDL cholesterol in very old patients with Alzheimer's disease. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* (2001). 12, 138–145.
- 303-**ROMAS, S.N., TANG, M.X., BERGLUND, L., MAYEUX, R.,** APOE genotype, plasma lipids, lipoproteins, and AD in community elderly. *Neurology* (1999). 53, 517–521.
- 304-**G., KANDIAH, K., LIBOW, L.S., LIKOUREZOS, A., BREUER, B., MARIN, D.,MOHS, R., HAROUTUNIAN, V., NEUFELD, R.,** Elevated serum total and LDL cholesterol in very old patients with Alzheimer's disease. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* (2001). 12, 138–14
- 305-**THE HISAYAMA STUDY.** Incidence and risk factors of vascular dementia and Alzheimer's disease in a defined elderly Japanese population:. *Neurology* 45, 1161–1168.
- 306- **FRANCESCO PANZAA, ALESSIA D'INTRONO, ANNA MARIA COLACICCO, CRISTIANO CAPURSOB, GIANFRANCO PICCHICHERO,** Lipid metabolism in cognitive decline and dementia, *Brain research reviews* 51(2006) 275-292.
- 307-**FRANCESCO PANZA,** Serum total cholesterol as a biomarker for Alzheimer's disease: Mid-life or late-life determinations?, *Experimental Gerontology* 41 (2006) 805–806.
- 308-**U. KOTTER, IH. HAMPEL AND H. J. MeLLER.** Total serum cholesterol and triglycerides in patients with Alzheimer's disease and healthy controls. H. M6ller Psychiatric Hospital, Ludwig Maximilian-University, Munich, Nussbaumstr. 7, 80336 Munich, Germany.
- 309-**BRAYDON L. BURGESS,A SEAN A. MCISAAC,C MIRANDA VAN ECK,D MICHAEL R. HAYDEN,C WILLIAM VAN NOSTRAND,E PETER ST. GEORGE-HYSLOP,B DAVID WESTAWAY,B AND CHERYL L. WELLINGTONA,** Elevated plasma triglyceride levels precede amyloid deposition in Alzheimer's disease mouse models with abundant A $\beta$  in plasma Received 2 March 2006.
- 310- **FRANCESCO PANZA , VINCENZO SOLFRIZZI , ALESSIA D'INTRONO , ANNA M ,** Higher total cholesterol, cognitive decline, and dementia, *Neurobiology of Aging* (2008).

- 311-**YU-MIN KUO, MARK R. EMMERLING, CHARLES L. BISGAIER, ARNOLD D. ESSENBURG, HEATHER C. LAMPERT, DENISE DRUMM, AND ALEX E. ROHER**, biochemical and biophysical research communications (1998) 252, 711–715.
- 312-**ROSA ADROER, PILAR SANTACRU**, Apolipoprotein E4 allele frequency in Spanish Alzheimer and control cases, Neuroscience Letters 189 (1995) 182-186.

**Annexe 1 : Différents récepteurs cellulaires des lipoprotéines (189)**

Nom	Famille	Principaux tissus	Type de lipoprotéines concernées	Ligand
LDLR LDL-receptor	LDL-receptor	Foie, muscle, cerveau, coeur	LDL, VLDL, VLDL remnants, chylomicron remnants	ApoB100, apoE
LRP LDL-receptor related protein	LDL-receptor	Foie, cerveau, poumon	VLDL, VLDL remnants, chylomicron remnants	apoE
VLDLR VLDL-receptor	LDL-receptor	muscle, cœur, tissu adipeux	VLDL, VLDL remnants, chylomicron remnants	apoE
ER2 ApoE-receptor	LDL-receptor	Cerveau, placenta	VLDL, VLDL remnants, chylomicron remnants	apoE
Mégaline Chylomicrons, Cubiline	LDL-receptor	Rein, intestin, placenta	HDL, LDL, VLDL	apoE, B100, AI
	-	Rein, intestin, placenta	HDL	apoAI
SR-AI/AII Scavenger receptor type AI/AII	Scavenger receptor class A	Macrophages, endothélium	LDLoxydé, LDL acétylées	polyanions
SR-BI Scavenger receptor type BI	Scavenger receptor class B	Foie, tissue stéroïdogènes	HDL, VLDL, LDL	apoAI, B
CD36 Glycoprotein IV	Scavenger receptor class B	Monocytes endothélium, plaquettes, adipocytes, CML	LDL modérément oxydées	-
SREC scavenger receptor expressed by endothelium cells	-	Cellules endothéliales	LDL oxydé, LDL acétylées	-
LOXI lectin-like oxidised LDL receptor	Lectin	Macrophages, cellules endothéliales	LDL oxydé,	-
B48R ApoB48receptor	-	Macrophages, endothelium	Chylomicrons, Chylomicron remnants	ApoB48

**Annexe 2 : Identité, expression tissulaire, distribution plasmatique et fonction des principales apolipoprotéines (189)**

Nom	Poids moléculaire	Tissu	Distribution	Fonction
ApoA1	28000	Foie, intestin	Chylo, HDL	Structurelle : activateur physiologique de la LCAT; efflux de cholestérol
ApoAII	17000	Foie, (intestin)	HDL	Structurelle : activateur inhibiteur de la HL ; efflux de cholestérol
ApoAIV	46000	Foie, intestin	Chylo. HDL	Transport reverse du cholestérol : activateur de la LCAT : métabolisme des lipoprotéines riche en TG
ApoAV		foie		métabolisme des lipoprotéines riche en TG
ApoB100	55000	foie	VLDL, IDL, LDL	Structurelle : synthèse et sécrétion des VLDL ; ligand du récepteur LDLR
ApoB48	275000	intestin	chylomicrons	Structurelle : synthèse et sécrétion des chylomicrons; ligand du récepteur B48R
apoCI	63000	foie	Chylomicrons, VLDL, HDL	Inhibiteur de la CETP activateur de la LCAT, inhibiteur de la liaison aux LDLR, LRP, et VLDLR
apoCII	88000	Foie(intestin)	Chylomicrons, VLDL, HDL	Activateur de la LPL
apoCIII	88000	Foie (intestin)	Chylomicrons, VLDL, HDL	Inhibiteur de la LPL inhibiteur de la captation hépatique des lipoprotéines riche en TG
apoD	33000	Foie, intestin, rate, pancréas, cerveau, surrénale, rein	HDL, LDL, VLDL	Transport reverse du cholestérol ( ?)
ApoE	38000	Foie, macrophage, cerveau	Chylo, VLDL, IDL, HDL	Ligand des récepteurs LDLR et LRP
Apo( a)	300000 à 800000	Foie	Lp (a)	

**Annexe 3 : Caractéristiques physiques et chimiques des lipoprotéines plasmatiques humaines (189)**

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

**Annexe 4 : Mini mental state examination de FOLSTEIN Modifié**  
(niveau de scolarisation élémentaire ou non scolarisé)

Nom :

Date :

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

**ORIENTATION :**

Quelle est la date d'aujourd'hui ?

Temporelle :

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

sous total : /

5

Questions alternatives :

- Nom de l'actuel Président de la République ?

Spatiale :

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

sous total : /

5

**APPRENTISSAGE :**

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

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

sous total : /

3

**ATTENTION ET CALCUL :**

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

14. 20-2 (18) noté 0 ou 1
15. 18-2 (16)
16. 16-2 (14)

17. 14-2 (12)  
18. 12-2 (10)

sous total : / 5

Question alternative :

Comptez à rebours à partir de 10.

Epreuve interférentielle

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

**RAPPEL :**

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

19. Café – thé

noté 0 ou 1

20. fleur

21. Porte

sous total : / 3

**LANGAGE :**

22. Montrer un stylo. Quel est le nom de cet objet ?

noté 0 ou 1

23. Montrer une montre. Quel est le nom de cet objet ?

24. Ecoutez bien et répétez après moi :

“ Ni Le Ken, koun, ouala belek ”

25. Posez une feuille de papier sur le bureau, la montrez au sujet en lui disant “ écoutez bien et faites ce que je vais vous dire : prenez cette feuille avec la main droite

26. Pliez-la en deux

27. Et jetez la par terre

28. Donnez 5 noms d'animaux / fruits.

29. Empan chiffré à l'envers 4 – 2 - 7.

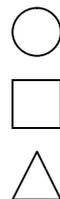
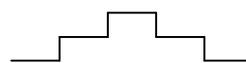
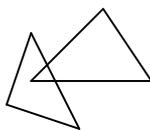
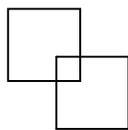
sous total : / 8

Questions alternatives :

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

**PRAXIES CONSTRUCTIVES :**

30. Tendre au sujet une feuille de papier et lui demander :  
“ voulez vous recopier ce dessin ”



Epreuves alternatives :

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

/30





**Annexe 7 : Tableau résumant quelques études associant le profil lipidique et la MA (306)**

(307) (310)

Référence	Sujets	diagnostic	Résultats
Jarvik et al. (1995)	206 cas MA 276 témoins	MA	Le début de la MA et plus précoce chez ceux qui sont porteurs de l'allèle e4 et des taux élevée CT.
Kuusisto et al. (1997)	980 personnes âgées de 69 à 78 ans (349 hommes, 631 femmes), De l'ouest de Finlande ; 46 cas MA	MA	Des taux bas de CT était associés a l'augmentation du risque de développement de l'MA ultérieurement Indépendamment du génotype de l'apoE
Notkola et al. (1998)	444 hommes, de 70–89 ans, Survivant d'une cohorte finlandaise d'étude de 7 pays	L'Incidence de MA	Des taux élevé de cholestérol pendant le jeune age ou l'age mure augmente le risque de développé l'MA pendant un age plus avancé
Boston et al. (1999)	222 cas MA 34 DV	MA	Aucune différence dans les taux de CT n'a été retrouvée
Romas et al. (1999)	140 témoins 1449 sujets caucasien, afro-américain et Hispanique Residents a new-work Agées 75.8 + 6.4	MA	Des taux bas de CT sont associé avec l'augmentation de l'incidence de l'MA, indépendamment du génotype de l'apoE
Evans et al. (2000)	524 sujets Afro–Américains ayant un age supérieur a 65 ans	Démence	L'augmentation des taux du CT été associé avec l'augmentation du risque de l'MA dans le groupe non porteurs de l'allèle e4. Aucune association n'as été retrouvé chez les porteur de l'e4.
Kivipelto et al. (2001a)	1449 sujets âgés de 65 à 79 ans	Incidence De démence, De la MA, et de DV	L'augmentation des taux de TC et la pression artérielle pendant l'age moyen et particulièrement la combinaison de ces deux facteurs augmente le risque de l'MA
Bonarek et al. (2000)	Etude cas témoin de 334 français âgées tous de plus de 73 ans et qui ont participé l'étude PAQUID 37 cas déments	Incident MA	Aucune augmentation du TC n'a été détectée Et l'augmentation des taux du HDL-C été associée a une diminution significative du

	297 non déments		risque de démence indépendamment du risque de l'apoe
Kalmijn et al. (2000)	3734 (80%) âgés de 71 à 93 ans ayant participé dans une étude de cohorte 8006 personnes d'origine américano-japonaise	MA	Après ajustement du sexe de l'âge du niveau d'éducation, de l'DCL, aucune association n'as été retrouvée entre les taux des TG et du cholestérol totale et la MA
Kivipelto et al. (2002)	1449 sujets Agés de 65 à 79 ans	Incidence de la MA	Des taux élevée de TC et l'augmentation de la pression artérielle pendant l'âge moyen augmenté le risque de développement de la MA pendant l'âge adulte Indépendamment du statut de l'apoe
Solfrizzi et al. (2002)	61 cas MA 63 témoins	MA	Des taux bas de TC et les concentration sérique de l'apolipoprotéine A était fortement associé avec l'augmentation du risque de l'MA indépendamment de l'apoE et du sexe.
Tan et al. (2003)	1026 sujets de l'étude Framingham d'âge moyen de 78.1 + 5.3 ans	Incidence MA	Le CT été pas associé au risqué de l'MA
Reitz et al. (2004)	4316 personnes assistées médicalement, âgées plus de 65 ans et résidant au nord de Manhattan, New York	Incidence MA	Des taux élevée de TC était associés a une diminution de l'incidence de l'MA après ajustement de l'apoE et les facteurs vasculaires.
Dufouil et al. (2005)	Une étude de cohorte De 9294 sujets sélectionnés dans trois villes françaises Bordeaux, Dijon, Montpellier	Incidence de la démence de la MA et des DV	Des taux élevée de cholestérol été associée l'augmentation des risque de démence mais de pas de la MA
Mielke et al. (2005)	Un totale de 392 individus, 166 hommes et 226 femmes de 70 ans résidant à Göteborg in	Incidence de démence	Dans cette étude longitudinal de 18 ans une association entre des taux élevé de cholestérol et la diminution du risque de l'MA été observé.

## Résumé :

L'apoprotéine E (apoE) joue un rôle important dans le métabolisme des lipoprotéines plasmatique comme ligand des récepteurs de la plupart des lipoprotéines. L'objectif de cette étude est d'explorer l'impacte du polymorphisme de l'apoE et du profil lipidique sur la maladie d'Alzheimer dans un échantillon de la population nord Constantinoise

Les fréquences alléliques de l'apoprotéine E dans notre groupe témoin sont  $\epsilon 3$  (82,8),  $\epsilon 4$  (12,3%) et  $\epsilon 2$  (4,9%), le génotype  $\epsilon 3/\epsilon 3$  est le plus fréquent (68,9%) suivie par  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (19,7%),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (8,2%) et moins fréquent pour les génotypes  $\epsilon 2/\epsilon 4$ ,  $\epsilon 4/\epsilon 4$ , et  $\epsilon 2/\epsilon 2$ . Les génotype  $\epsilon 3/\epsilon 4$  et  $\epsilon 4/\epsilon 4$  sont fortement exprimés chez les MA (35,2) et (7,4) respectivement.

Le cholestérol et le C-LDL sont légèrement augmentés alors que les taux de HDL sont légèrement diminués chez les hommes et les femmes. Aucun changement dans les taux des TG entre malades et témoins n'est observé.

Les porteurs de l'allèle  $\epsilon 4$  et  $\epsilon 3/\epsilon 4$  présentent une association significative vis-à-vis de la survenue de l'MA comparativement aux sujet porteurs  $\epsilon 3/\epsilon 3$  avec odds ratio 3.23 [95% CI, 1.37 – 7.71]  $p < 0.01$  et 2.56 [95% CI, 1.27 – 3.01]  $p < 0.01$  respectivement.

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 la MA.

Ces résultats mettent en évidence, l'effet délétère de l'allèle  $\epsilon 4$  et sa contribution comme facteur de risque dans la MA. Alors que l'effet protecteur de l'allèle  $\epsilon 2$  et moins évident.

**Mots clés :** ApoE, polymorphisme, maladie d'Alzheimer, lipoprotéines, cholestérol.

# Summary

The Apolipoprotein E (ApoE) plays an important role in the plasma mutation of lipoprotein as ligand of receptors of the most of lipoproteins. The main of this study is to explore the impact of the polymorphism of the ApoE and lipid profil on the Alzheimer's disease (AD) in a sample of Constantine population.

The ApoE frequencies in the control group were  $\epsilon_3$  (82, 8%),  $\epsilon_4$  (12, 55) and  $\epsilon_2$  (4.8%). The genotype  $\epsilon_3/\epsilon_3$  are the most frequent (68%) followed by  $\epsilon_3/\epsilon_4$  (19,7%),  $\epsilon_2/\epsilon_3$  (8,2%) and less frequent for genotypes  $\epsilon_2/\epsilon_4$ ,  $\epsilon_4/\epsilon_4$  and  $\epsilon_2/\epsilon_2$ . The genotype  $\epsilon_3/\epsilon_4$  and  $\epsilon_4/\epsilon_4$  are more expressed in AD subjects with frequencies of (35,2%) and (7,2%) respectively. Cholesterol and LDL-cholesterol were softly decreased, whereas C-HDL was decreased in Men and women. No change was observed in the TG levels.

The carriers of allele  $\epsilon_4$  and  $\epsilon_3/\epsilon_4$  subjects compared with  $\epsilon_3/\epsilon_3$  are associated with an increasing incidence of AD with (odds-ratio) 3.23 [95% CI 1, 37-7, 71]  $p < 0, 01$  and 2, 56 [95%, CI 1, 27-3.01]  $p < 0, 01$ , respectively.

The subjects having  $\epsilon_2$  doesn't present a significant difference with homozygote  $\epsilon_3/\epsilon_3$  with regard to its implication in the AD.

These results put in evidence the deleterious effect of the allele  $\epsilon_4$  and its contribution as risk factor in the AD, whereas the protective effect of the allele  $\epsilon_2$  is less evident.

**Key world:** ApoE, polymorphism, Alzheimer disease, lipoprotein, cholesterol.

## ملخص

البروتين الشحمي يلعب دورا هاما في استقلاب البروتينات المصلية كمخالب لأغلب للمستقبلات للبروتينات الشحمية الهدف من هذه الدراسة هو تحديد الأنماط الوراثية عن التغيير الجيني للبروتين وتعيين الأثر الناتج عن تركيز الدسم المصلية في مرض الزهيمر عند عينة من سكان ApoE الشحمي قسنطينة

82,8(، ε4 3 %) أو وضحت نتائج الدراسة إن توزيع نسب الأليلات في العينة الشاهدة هي كالتالي  
(24,9 ε, 12,3)

19,4 للنمطين ε3 / ε4 يتواجد بكثافة في العينات المدروسة متبوعا بـ ε3 النمط الوراثي يتواجدان في العينة المرضية بنسبة أكثر منها في العينة الغير المصابة ε2/ε4 و ε3/ε4 الوراثةيين و الكلسترول الكلي في ارتفاع طفيف LDL تركيز الكلسترول 7,4 على التوالي . 35,2% و % بنسبة في انخفاض طفيف عن الرجال و النساء HDL عند الصفة المصابة ، بينما أن نسب الكلسترول المصابين. لم يلاحظ أي تغيير في تركيز الجليسير ايدات الثلاثية.

يعتبرون اكثر إصابة بمرض الزهيمر بالمقارنة للحاملين للنمط ε3/ε4 و ε4 الحاملين للاليلات . بنسبة 3,23 و 2,56 على التوالي(odds ratio) وذلك الارتفاع ε3ε3 الوراثةيين

لا يمثلون اختلافا ذو دلالة مقارنة للحاملين للنمط الوراثةيين المتجانس ε2 الحاملين لإليل  
فيما يخص الإصابة بالزهيمر. ε3 / ε3

على مرض الزهيمر . حيث ε4 والاليل ApoE هذه الدراسة تؤكد اثر الجيني للبروتين الشحمي كعاملا حاميا منها غير موجود . ε2 ان اثر

الكلمات الدالة : التغيير الجيني ،مرض الزهيمر ،كلسترول ،البروتينات الشحمة.

<p align="center"><b>NOM : AMARI</b> <b>PRENOM : HANANE</b></p>	<p align="center"><b>DATE DE SOUTENANCE :</b></p>
<p align="center"><b>TITRE : L'Association entre le polymorphisme de l'apoE, le profil lipidique sérique et la maladie d'Alzheimer.</b></p>	
<p align="center"><b>NATURE DU DIPLOME:</b> magister en génétiques des pathologies humaines</p>	
<p><b>Résumé :</b></p> <p>L'apoprotéine E (apoE) joue un rôle important dans le métabolisme des lipoprotéines plasmatique comme ligand des récepteurs de la plupart des lipoprotéines. L'objectif de cette étude est d'explorer l'impact du polymorphisme de l'apoE et du profil lipidique sur la maladie d'Alzheimer dans un échantillon de la population nord Constantinoise.</p> <p>Les fréquences alléliques de l'apoprotéine E dans notre groupe témoin sont <math>\epsilon_3</math> (82,8), <math>\epsilon_4</math> (12,3%) et <math>\epsilon_2</math> (4,9%), le génotype <math>\epsilon_3/\epsilon_3</math> est le plus fréquent (68,9%) suivie par <math>\epsilon_3/\epsilon_4</math> (19,7%), <math>\epsilon_2/\epsilon_3</math> (8,2%) et moins fréquent pour les génotypes <math>\epsilon_2/\epsilon_4</math>, <math>\epsilon_4/\epsilon_4</math>, et <math>\epsilon_2/\epsilon_2</math>. Les génotypes <math>\epsilon_3/\epsilon_4</math> et <math>\epsilon_4/\epsilon_4</math> sont fortement exprimés chez les MA (35,2) et (7,4) respectivement.</p> <p>Le cholestérol et le C-LDL sont légèrement augmentés alors que les taux de HDL sont légèrement diminués chez les hommes et les femmes. Aucun changement des taux des TG entre malades et témoins n'est observé.</p> <p>Les porteurs de l'allèle <math>\epsilon_4</math> et <math>\epsilon_3/\epsilon_4</math> présentent une association significative vis-à-vis de la survenue de l'MA comparativement aux sujets <math>\epsilon_3/\epsilon_3</math> avec odds ratio 3.23 [95% CI, 1.37 – 7.71] <math>p &lt; 0.01</math> est 2.56 [95% CI, 1.27 – 3.01] <math>p &lt; 0.01</math> respectivement.</p> <p>Les sujets ayant l'allèle <math>\epsilon_2</math> ne présentent pas de différence significative par rapport aux homozygotes <math>\epsilon_3/\epsilon_3</math> en ce qui concerne son implication dans la MA.</p> <p>Ces résultats mettent en évidence, l'effet délétère de l'allèle <math>\epsilon_4</math> et sa contribution comme facteur de risque dans la MA. Alors que l'effet protecteur de l'allèle <math>\epsilon_2</math> est moins évident.</p>	
<p><b>Mots clés :</b> ApoE, polymorphisme, maladie d'Alzheimer, lipoprotéines, cholestérol.</p>	
<p align="center"><b>Laboratoire de biologie et génétique moléculaire, université Mentouri Constantine</b></p>	