

République Algérienne Démocratique Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf



*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Génétique Moléculaire Appliquée*

Spécialité : Génétique moléculaire et cellulaire **Option :** Biologie moléculaire

THESE

Présentée par

Monsieur BOULENOUAR Houssam

En vue de l'obtention du
Diplôme de DOCTORAT

Thème

***Caractérisation des déterminants génétiques du risque
Cardiovasculaire
Impact de polymorphismes du gène de l'APOE -Etude ISOR-***

Soutenue le / / 2014 devant la commission d'examen composée de:

<u>Qualité</u>	<u>Nom et Prénom</u>	<u>Grade</u>	<u>Etablissement d'origine</u>
Présidente	Mme SAIDI-MEHTAR Nadhira	Professeur	USTOMB (Oran)
Examineur	Mr. BOUDJEMA Abdellah	Professeur	USTOMB(Oran)
Examinatrice	Mme MESLI Farida	Professeur	Université d'Oran
Directrice de thèse	Mme MEDIENE-BENCHEKOR Sounnia	Professeur	Université d'Oran
Invitée d'honneur	Mme HOUTI Leila	Professeur	Université Djillali Liabès (Sidi Bel Abbès)
Invitée d'honneur	Mme MEROUFEL Djabaria Naima	Maitre de conférences	USTOMB(Oran)

*A Mes chers parents
A la mémoire de mon grand père
Aux personnes que j'aime*

Remerciements

*J'adresse mes vifs remerciements au **Pr. SAÏDI-MEHTAR Nadhira**; professeur en biologie moléculaire à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf- (USTO-MB); d'avoir accepté d'être présidente de ce jury. Assuré de l'intérêt que vous portez à ce travail, je reste convaincu que votre présence assurera de la valorisation et de la teneur à ce travail. Veuillez y trouver l'expression de ma très haute estime et mes remerciements les plus sincères.*

*Mes remerciements au **Pr. BOUDJEMA Abdellah**; professeur en biologie moléculaire à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf- (USTO-MB); d'avoir consacré du temps pour examiner ce travail. Je vous prie de croire en mon profond respect.*

*Je remercie également **Pr. MESLI Farida**; professeur à l'Université d'Oran ; d'avoir accepté avec une grande amabilité de faire partie de ce jury pour examiner cette thèse. Soyez assurée de ma profonde reconnaissance et de ma considération respectueuse.*

*Je remercie tout particulièrement ma directrice de thèse **Pr. MEDIENE-BENCHEKOR Sounnia**; Professeur à l'Université d'Oran ; pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral. Je lui suis reconnaissant pour sa patience, ses encouragements, sa sympathie et sa disponibilité à tout moment. Ses conseils, ses commentaires, ses corrections et ses qualités scientifiques ont été très précieux pour mener à bien ce travail. Enfin, j'ai été extrêmement sensible à ses qualités humaines, à sa rigueur, à son professionnalisme et à son ouverture d'esprit. Je suis infiniment heureux et honoré d'avoir fait ma thèse sous sa direction. Aucune expression de gratitude ne sera suffisante pour vous exprimer mon respect et ma reconnaissance.*

*Je remercie **Pr Houti Leïla**, Professeur en épidémiologie à l'université Djilali Liabès, Sidi-Bel-Abbès, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de bien vouloir participer à ce jury de soutenance. Je vous prie de recevoir l'expression de mes sincères remerciements.*

*Je remercie également **Dr MEROUFEL Naima Djabaria** Maître de Conférences en biologie moléculaire à l'université des sciences et de la technologie d'Oran-Mohamed Boudiaf- (USTO-MB), d'avoir accepté de participer à ce jury, mais aussi pour toute l'aide qu'elle a pu m'apporter durant la réalisation de cette thèse, veuillez croire en l'expression de ma très haute considération.*

*Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères à **Dr GOUMIDI Louisa** de m'avoir orienté et encouragé au cours de mon travail, également pour sa gentillesse, sa grande compétence et sa disponibilité continue. Merci d'avoir été toujours là. Elle a su me faire partager ses nombreuses connaissances, sa vision toujours claire et synthétique. Ma sincère gratitude et un grand respect vous sont personnellement adressés, pour m'avoir fait confiance, pour m'avoir beaucoup appris.*

*Je remercie chaleureusement **Dr MEIRHAEGHE Aline** de m'avoir permis de réaliser une grande partie de ce travail, au sein de son équipe, d'avoir partagé ses connaissances avec moi, je vous remercie pour votre aide et vos précieux conseils.*

*Ce travail est le résultat d'une collaboration avec l'unité INSERM 744 (France). Je tiens à remercier vivement Monsieur le professeur **AMOUYEL Philippe** pour m'avoir permis de réaliser la majeure partie expérimentale de génotypage dans son laboratoire.*

*Tous les membres de son Laboratoire pour leur grande disponibilité et l'ambiance conviviale qui m'a facilité le travail, je remercie tout particulièrement **Xavier HERMANT** pour son aide très précieuse, je remercie également **Julie DUMONT** et **Jean Charles LAMBERT** pour leurs précieux conseils.*

*Je remercie également toutes les personnes que j'ai eu l'occasion de connaître, durant des congrès ou des stages et qui sont devenus par la suite des amis: **Marion BOUVET, Sophie LECOMPTE, Anais MOUNIER, Florent LETRONNE, Ludovic BOYTARD, Mouna BENSASSI, Ikbel BAHRI, Adrien TRAENKLE, Ferhat AZOUANI** et tous les autres...*

Mes remerciements les plus sincères vont également à l'équipe du laboratoire de Génétique Moléculaire appliquée, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran (Mohamed BOUDIAF), à l'équipe pédagogique du département de GMA USTO, ainsi que mes amis(es). Vous m'avez apporté beaucoup de joie et de soutien. Vous avez été une équipe formidable avec laquelle j'ai partagé des moments extraordinaires.

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

Merci à tous ceux qui ont eu à guider mes pas depuis l'école primaire à l'Université...

A toutes et tous, un grand merci !

Merci 

Ce travail a été réalisé
au laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire
Université des Sciences et de la Technologie Mohamed Boudiaf Oran
dirigé par Mme le Professeur SAIDI-MEHTAR Nadhira
sous la direction du Professeur MEDIENE-BENCHEKOR Sounnia

et dans l'unité
d'épidémiologie et de santé publique
U744-INSERM- Institut Pasteur de Lille- Université Lille2
dirigée par le Professeur Philippe AMOUYEL
sous la co-direction des docteurs Aline MEIRHAEGHE et Louisa GOUMIDI

*Ce travail de thèse a bénéficié de l'appui financier
de projets nationaux de recherche et de projets de coopération*

Etude ISOR :

1. Projet de Recherche National (PNR) : Caractérisation des déterminants génétiques majeurs de la morbidité du syndrome de l'insulinorésistance à Oran. Organisme pilote : ANDRS. **Directrice** : Mediène Benchekor S. 2011-2013. **Jeune Chercheur**.
2. Projet de coopération DPGRF/INSERM : Caractérisation des déterminants génétiques du syndrome de l'insulinorésistance à Oran. **Directrices**: Mediène Benchekor S/ Meirhaeghe A, 2010-2012. **Jeune Chercheur**.
3. Projet de recherche national, ANDRS : Données Biologiques, Epidémiologiques, Cliniques et Génétiques sur le Syndrome d'Insulinorésistance. Directrice : Dr Medjaoui I. Code 02/07/01/01/076. 2003-2006,

Etude ECTOR :

4. Projet de recherche national, ANDRS : Recherche de marqueurs génétiques impliqués dans deux pathologies : les maladies cardio-vasculaires et auto-immunes. Directrice : Pr Benhamamouch S. Code 03/01/01/98. 1998-2002.
5. Projets DRS/INSERM : Etude des paramètres lipidémiques et lipoprotéïnémiques dans la population oranaise. Association avec les polymorphismes des gènes du métabolisme lipidique. Pr Benhamamouch S. /Pr Amouyel P. 1993-2000.

Résumé

Le gène de l'APOE joue un rôle important dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines. Dans ce travail, nous avons évalué, l'impact de polymorphismes du gène de l'APOE sur le bilan lipidique, et sur le risque cardiovasculaire dans la population oranaise.

Nous avons réalisé ce travail à partir de deux études épidémiologiques; l'étude ECTOR (N=193) menée entre 1994 et 1996; et l'étude transversale ISOR (N=787) réalisée entre 2007 et 2009.

Les résultats obtenus pour l'étude ECTOR ont montré l'effet protecteur de l'allèle $\epsilon 2$ sur les variables du bilan lipidique, notamment de total cholestérol ($p=0,001$), de LDL-cholestérol ($p=0,006$), et de ratio LDL Cholestérol/HDL Cholestérol ($p=0,04$). Aucun effet n'a été rapporté pour l'allèle $\epsilon 4$. Dans l'étude ISOR, aucune association significative n'a pu être détectée pour l'allèle $\epsilon 2$. En revanche, les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ ont des concentrations significativement plus élevées de triglycérides ($p=0,0002$), de cholestérol total ($p=0,009$), de LDL-cholestérol ($p=0,003$) et de rapport LDL-cholestérol/HDL-cholestérol ($p=0,001$) que les porteurs de l'allèle $\epsilon 3$. Le rs439401 a été significativement associé aux variations des concentrations de triglycérides ($p=0,006$), et au risque d'hypertension artérielle ($p=0,006$). Le rs4420638 confère une protection contre l'obésité ($p=0,005$). Les analyses haplotypiques et de déséquilibre de liaison confirment l'effet protecteur et délétère des allèles $\epsilon 2$ et $\epsilon 4$ sur le LDL-cholestérol, et montrent que l'allèle G du rs4420638 exerce un effet protecteur chez les sujets porteurs de l'allèle $\epsilon 4$.

Les résultats nous ont permis de montrer que (i) le polymorphisme epsilon a le même effet sur le bilan lipidique quelque soit la population, mais qu'il peut être sujet aux variations environnementales, notamment l'alimentation, (ii) le rs439401 constitue un facteur de risque génétique à la survenue de l'obésité et de l'hypertension artérielle, alors que le rs4420638 présente un effet protecteur sur l'obésité dans la population oranaise, (iii) l'allèle G du rs4420638 peut contrebalancer l'effet délétère de l'allèle $\epsilon 4$ sur les concentrations de LDL-cholestérol, (iiii) La population algérienne est différente des populations caucasiennes sur le plan génétique, en matière de déséquilibre de liaison des polymorphismes de l'APOE.

Mots clés : APOE, Polymorphisme génétique, Haplotype, Population Algérienne, Risque cardiovasculaire, Syndrome métabolique, Profil lipidique, Etude ISOR.

Abstract

The APOE gene plays an important role in lipid and lipoprotein metabolism. In this work, we evaluated the impact of APOE gene polymorphisms on the lipid profile, and cardiovascular risk in the Oran population.

We performed this work using two epidemiological studies; the ECTOR study (N=193), conducted between 1994 and 1996; and the ISOR cross-sectional study (N=787), conducted between 2007 and 2009.

The results obtained for the ECTOR study showed the protective effect of the $\epsilon 2$ allele on lipid variables, including total cholesterol ($p=0.001$), LDL-Cholesterol ($p=0.006$) and LDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratio ($p=0.04$). No effects have been reported for the $\epsilon 4$ allele. In the ISOR study, no significant association could be detected for the $\epsilon 2$ allele. However, $\epsilon 4$ allele carriers had significantly higher concentrations of triglycerides ($p=0.0002$), Total cholesterol ($p=0.009$), LDL-cholesterol ($p=0.003$) and LDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratio ($p=0.001$), than carriers of the $\epsilon 3$ allele. The rs439401 was significantly associated with variations in triglycerides concentrations ($p=0.006$) and the hypertension risk ($p=0.006$). The rs4420638 confers protection against obesity ($p=0.005$). Haplotype and linkage disequilibrium analyses confirm the protective and deleterious effects of $\epsilon 2$ and $\epsilon 4$ alleles on LDL-cholesterol, and show that the G allele of rs4420638 has a protective effect in $\epsilon 4$ carriers.

The results allowed us to show that (i) the epsilon polymorphism has the same effect on the lipid profile, regardless of the population, but may be subject to environmental variations, including food, (ii) the rs439401 was a genetic risk factor in the onset of obesity, and hypertension, while the rs4420638 showed a protective effect on obesity in the Oran population, (iii) the rs4420638 G allele could counterbalance the deleterious effect of the APOE $\epsilon 4$ allele on LDL-cholesterol levels, (iiii) The Algerian population is different from Caucasian populations genetically, for linkage disequilibrium between APOE polymorphisms.

Keywords: APOE, Genetic polymorphism, Haplotype, Algerian population, cardiovascular risk, Métabolic syndrome, lipid profile, ISOR Study.

الملخص

يلعب الجين APOE دورا هاما في عملية الاستقلاب الغذائي للدهون والبروتينات الدهنية. سعيانا في هـ هذه الدراسة لتقييم مدى تأثير تعدد أشكال النيوكليوتيدة للجين APOE على مستوى الدهون و خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية لدى سكان وهران.

لقد أنجز هـ هذا العمل من دراستين وبائييتين: الدراسة ECTOR (ن=193) أجريت بين عامي 1994 و 1996، و الدراسة المستعرضة ISOR (ن=787) التي أجريت بين عامي 2007 و 2009.

أظهرت نتائج الدراسة ECTOR التأثير الوقائي للأليل $\epsilon 2$ على تغيرات مستوى الدهون، بما في ذلك الكوليسترول الكلي ($p=0.001$)، الكوليسترول الضار LDL ($p=0.006$) ونسبة الكوليسترول LDL / الكوليسترول HDL ($p=0.04$). ان الأليل $\epsilon 4$ لا يوجد له أي تأثير. أما في الدراسة ISOR لم يتم الكشف عن أي تأثير للأليل $\epsilon 2$. في المقابل، مقارنة بحاملي الأليل $\epsilon 3$ ، الحاملين للأليل $\epsilon 4$ كانت لديهم مستويات أعلى بكثير من الدهون الثلاثية ($p=0.0002$)، الكوليسترول الكلي ($p=0.009$)، الكوليسترول LDL ($p=0.003$) ونسبة الكوليسترول LDL / الكوليسترول HDL ($p=0.001$). ان المتغير rs439401 مرتبط بشكل وثيق مع التغيرات في تركيز الدهون الثلاثية ($p=0.006$) وخطر ارتفاع ضغط الدم ($p=0.006$). المتغير rs4420638 يمنح حماية ضد السمنة ($p=0.005$). أكدت دراسة النمط الفردي و اختلال توازن الربط التأثير الوقائي و الضار للأليلات $\epsilon 2$ و $\epsilon 4$ على الكوليسترول LDL ، وتبين أن أليل G للمتغير rs4420638 له تأثير وقائي لدى حاملي الأليل $\epsilon 4$.

نتائج البحث بينت لنا أن (I) تعدد أشكال إبسيلون له نفس التأثير على تغيرات مستوى الدهون مهما كان أصل الشعوب، ولكن قد تكون عرضة للتغيرات البيئية، بما في ذلك الغذاء، (II) المتغير rs439401 عامل خطر وراثي لظهور البدانة وارتفاع ضغط الدم، في حين المتغير rs4420638 له تأثير وقائي على البدانة لدى سكان وهران، (III) الأليل G للمتغير rs4420638 قد يوازن الأثر الضار للأليل $\epsilon 4$ على تركيزات الكوليسترول LDL، (III) الشعب الجزائري يختلف عن شعوب القوقاز وراثيا في اختلال توازن الربط لمتغيرات الجين APOE.

الكلمات المفتاحية: APOE، تعدد أشكال النيوكليوتيدة، النمط الفردي، سكان الجزائر، مخاطر القلب والأوعية الدموية، متلازمة الأيض، الملف الشخصي الدهون، دراسة ISOR.

Production scientifique

Ce travail de thèse a donné lieu aux publications et communications suivantes:

Publications:

- 1- ***Boulenouar H**, Mediène-Benchekor S, Meroufel DN, Lardjam Hetraf SA, Ouhaïbi Djellouli H, Hermant X, Grenier-Boley B, Hamani Medjaoui I, Saidi Mehtar N, Amouyel P, Houti L, Meirhaeghe A, Goumidi L (2013) Impact of APOE gene polymorphisms on the lipid profile in an Algerian population. *Lipids in health and disease* 12: 155.
- 2- Lardjam-Hetraf SA, Mediène-Benchekor S, Ouhaïbi-Djellouli H, Meroufel DN, **Boulenouar H**, Hermant X, Hamani-Medjaoui I, Saidi-Mehtar N, Amouyel P, Houti L, Goumidi L, Meirhaeghe A (2014) Effects of established blood pressure loci on blood pressure values and hypertension risk in an Algerian population sample. *Journal of human hypertension*.

Communications internationales:

- 1- **Boulenouar H**, Mediène Benchekor S, Meroufel DN, Cotel D, Lardjam Hetraf SA, Ouhaïbi Djellouli H, Hermant X, Grenier-Boley B, Hamani Medjaoui I, Dallongeville J, Saidi Mehtar N, Amouyel P, Houti L, Meirhaeghe A, Goumidi L. "Comparative study of three APOE gene polymorphisms on lipid profile in population from Algeria and France". 5th Pan Arab Human Genetics Conference 2013 and Golden Helix symposium, 17-19 November 2013, Dubai, United Arab Emirates.
- 2- Meroufel DN, Ouhaïbi Djellouli H, Médiène Benchekor S, Hermant X, Grenier-Boley B, Lardjam Hetraf AS, **Boulenouar H**, Hamani Medjaoui I, Saidi Mehtar N, Amouyel P, Houti L, Goumidi L, Meirhaeghe A. "The rs198389 single-nucleotide polymorphism in the brain natriuretic peptide gene may be modestly associated with type 2 diabetes in the Algerian ISOR Study, search for functional variants". 5th Pan Arabs Human Genetics conference and 2013 Golden Helix symposium, 17-19 November 2013, Dubai, United Arab Emirates.

- 3- Medjaoui I, **Boulenouar H**, Mediene-Benchekor S, Ouhaibi H, Lardjam S, Triqui C, Mehtar N, Houti L, Medjaoui-Hamani I. “Donnés anthropométriques, glycémie et pressions artérielles dans la population Oranaise. Etude ISOR”. Congrès de la SFSP, 2-4 novembre 2011, Lille, France.
- 4- Meroufel D.N., Mediene Benchekor S, **Boulenouar H**, Lardjam-Hetraf A.S., Ouhaibi-Djellouli H., Triqui C., Saidi-Mehtar N., Hamani-Medjaoui I., Houti L. “Profil lipidique et lipoproteinique dans la population adulte oranaise. Étude ISOR”. 22-23 mai 2011, Congrès International de Nutrition, Hôtel Phoenix, Oran, Algérie.
- 5- **Boulenouar H**, Ouhaibi H, Lardjam AS, Meroufel D, Medjaoui I, Houti L, Mediene Benchekor S. “Characterization of Major Genetic Determinants of Metabolic Syndrome Morbidity in an Algerian Population”. 37ème Forum des jeunes chercheurs (Société Française de Biochimie et de Biologie Moléculaire), 14-17 décembre 2010 Centre Culturel St Thomas, Strasbourg, France.

* Publication présentée dans la thèse

Table des matières

Liste des figures	1
Liste des tableaux	2
Liste des annexes	4
Liste des abréviations	5
Introduction	7
Première partie : Revue bibliographique	
I. Maladies cardio-vasculaires.....	8
I.1. Etat des lieux de la santé publique en Algérie : la transition épidémiologique... ..	8
I.2. Importance des maladies cardio-vasculaires en Algérie.....	10
I.3. Physiopathologie de l'athérosclérose.....	11
I.4. Principaux facteurs environnementaux du risque cardio-vasculaire.....	13
I.4.1. Facteurs physiologiques.....	13
I.4.1.1. âge.....	13
I.4.1.2. Sexe.....	13
I.4.2. Facteurs liés au mode de vie.....	14
I.4.2.1. La consommation de tabac.....	14
I.4.2.2. La sédentarité.....	15
I.4.3. L'hypertension artérielle.....	15
I.4.4. Les lipides plasmatiques.....	17
I.4.4.1. Le cholestérol total et les fractions HDL et LDL.....	17
I.4.4.2. Les triglycérides.....	18
I.4.4.3. Les Apoprotéines et Lipoprotéines.....	18
I.4.5. Le Diabète.....	19
I.4.6. L'obésité et le tissu adipeux.....	20
I.4.7. Le syndrome métabolique.....	22
I.4.7.1. Définition du syndrome métabolique.....	22
I.4.7.2. Historique du concept.....	22
I.4.7.3. Les critères de diagnostic du syndrome métabolique.....	23
I.4.7.4. Syndrome métabolique et risque cardiovasculaire.....	24
I.4.8. Les antécédents familiaux	24
II. Base génétique des maladies cardiovasculaires (MCV).....	26
II.1. L'héritabilité de MCV.....	26
II.2. Gènes de susceptibilité au MCV.....	27
II.2.1. Etudes d'analyse de liaison et études d'associations gène-candidat ...	27
II.2.2. Etudes d'association génome entier ou "Genome Wide Association Studies".....	28
II.2.2.1. Etudes GWA sur les MCV.....	28
II.2.2.2. Etudes GWA sur les traits lipidiques.....	30
II.3. Apolipoprotéine E	34
II.3.1. Structure de l'Apolipoprotéine E	34
II.3.2. Rôle de l'Apolipoprotéine E	35
II.3.3. Le gène de l'APOE.....	36
II.3.4. Polymorphismes de l'APOE et impact sur le bilan lipidique.....	37
II.3.4.1. Polymorphisme epsilon de l'APOE (rs7412 et rs429358).....	37
II.3.4.2. Polymorphismes rs439401 et rs4420638.....	41

II.3.5. Etudes d'association impliquant le polymorphisme epsilon de l'APOE.....	42
II.3.5.1. Association entre le polymorphisme APOE epsilon et le diabète.....	42
II.3.5.2. Association entre le polymorphisme APOE epsilon et l'obésité.....	43
II.3.5.3. Association entre le polymorphisme APOE epsilon et le syndrome Métabolique	43
II.3.5.4. Association entre le polymorphisme APOE epsilon et l'Hypertension artérielle.....	44
II.3.5.5. Association entre le polymorphisme APOE epsilon et les maladies cardio-vasculaires (MCV).....	45
III- Stratégie d'étude des MCV.....	46
III. 1. Définition de facteur de risque cardiovasculaire.....	46
III. 2. Notion de Polymorphisme.....	47
III. 3. Déséquilibre de liaison.....	48
III. 4. Haplotypes.....	49
III. 5. Tag-SNPs.....	50
III. 6. Etudes d'analyse de liaison.....	51
III. 7. Etudes d'associations gène-candidat	52
III.7.1. Equilibre d'Hardy Weinberg	53
III.7.2. Analyses statistiques utilisées dans les études d'association	53
III.7.3. Facteurs de confusion et interactions.....	55
III.8. Analyses d'interaction gène-environnement dans les MCV.....	56
III.9. Limites liées aux études d'association	56
III.9.1. Problèmes d'ordre épidémiologique.....	57
III.9.2. Influence des facteurs environnementaux.....	58
III.9.3. Problèmes d'ordre statistique.....	58
III.10. Etudes d'association génome entier ou "Genome Wide Association Studies".....	59
III.11. Limites des analyses à haut débit.....	61

Deuxième partie : Travaux personnels

Contexte de l'étude.....	62
---------------------------------	-----------

Populations d'étude et méthodes

I. Populations étudiées.....	63
I.1. L'étude ECTOR.....	63
I.1.1. Recrutement des sujets.....	63
I.1.2. Prélèvements et variables mesurées.....	63
I.1.2.1. Variables anthropométriques et biologiques.....	63
I.1.2.2. Variables biochimiques.....	64
I.2. L'étude ISOR.....	64
I.2.1. Recrutement des sujets.....	64
I.2.2. Prélèvements et variables mesurées.....	65
I.2.2.1. Variables anthropométriques, comportementales et biologiques	65
I.2.2.2. Variables biochimiques.....	65

II. Génométypage.....	66
II.1. Restriction fragment length polymorphism (RFLP).....	66
II.2. Technologie KASPar.....	67
III. Analyses statistiques.....	68
III.1. Equilibre d'Hardy-Weinberg et distributions génotypiques.....	68
III.2. Effet des génotypes sur les paramètres étudiés.....	69
III.3. Analyses haplotypiques.....	69
IV. Critères de diagnostic des troubles cardio-métaboliques.....	70
IV.1 Critères de diagnostic du syndrome métabolique.....	70
IV.2. Critères de diagnostic du diabète de type 2 (DT2).....	71
IV.3. Critères de diagnostic de l'hypertension artérielle.....	71
IV.4. Critères de définition de l'obésité.....	71

Résultats

I. Impact du gène de l'APOE sur le bilan lipidique dans la population oranaise (Etude ECTOR).....	72
I.1. Caractéristiques de la population d'étude.....	72
I.2. Fréquences alléliques et génotypiques dans la population algérienne ECTOR...	73
I.3. Association entre le polymorphisme epsilon de l'APOE et les concentrations des lipides plasmatiques.....	75
I.3.1. Etude ECTOR.....	75
I.3.2. Etude ISOR.....	76
I.3.3. Analyses d'interaction.....	77
II. Association entre les polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE et les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population Oranaise (Etude ISOR).....	82
II.1. Fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE.....	82
II.2. Analyses d'association entre les polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE et les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population.....	83
II.3. Le déséquilibre de liaison et l'analyse haplotypique.....	87
II.3.1. Le déséquilibre de liaison.....	87
II.3.2. L'analyse Haplotypique.....	87
III. Impact du gène de l'APOE sur les paramètres Cardio-métaboliques dans la population Oranaise (Etude ISOR).....	89
III.1. Prévalence du syndrome métabolique et des principaux facteurs de risque cardiovasculaire dans la population oranaise.....	89
III.2. Polymorphisme epsilon de l'APOE et risque cardiovasculaire.....	90
III.3. Polymorphisme rs439401 de l'APOE et risque cardio-métabolique.....	90
III.4. Polymorphisme rs4420638 de l'APOE et risque cardio-métabolique.....	90

Discussion

I. Association du gène de l'APOE avec les concentrations du bilan lipidique dans la population Oranaise.....	94
--	----

I.1. Caractéristiques du bilan lipidique, anthropométrique et biologique dans la Population oranaise.....	94
I.2. Fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme epsilon de l'APOE dans la population Oranaise.....	96
I.3. Association du polymorphisme epsilon de l'APOE avec les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques.....	97
II. Analyses d'interaction.....	99
III. Association entre les polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE et les concentrations des lipides plasmatiques.....	100
III.1. Fréquences des allèles des polymorphismes rs439401 et rs4420638.....	100
III.2. Etudes d'association entre les polymorphismes rs439401 et rs4420638 et les concentrations du bilan lipidique.....	101
III.3. Analyse haplotypique.....	101
IV. Prévalence des principaux facteurs de risque cardiovasculaire dans la population Oranaise.....	102
IV.1. Prévalence du syndrome métabolique.....	102
IV.2. Prévalence du diabète de type 2.....	103
IV.3. Prévalence de l'hypertension artérielle.....	113
IV.4. Prévalence de l'obésité.....	103
IV. 5. Association des polymorphismes du gène de l'APOE avec le risque cardiovasculaire.....	111
Conclusion et perspectives.....	106
Références bibliographiques.....	108
Annexes.....	140

Liste des figures

Figure 01: Evolution de la structure par groupe d'âge et sexe de la population algérienne entre 1966 et 2002.....	9
Figure 02: Mortalité proportionnelle (% des décès totaux, tous âges confondus)	9
Figure 03: Structure de l'Apolipoprotéine humain.....	35
Figure 04: Distribution des fréquences de l'allèle $\epsilon 4$ dans le monde.....	38
Figure 05: Profil électrophorétique du polymorphisme epsilon/Hha I	39
Figure 06: Substitutions des nucléotides et des acides aminés distinguant les trois isoformes de l'APOE.....	41
Figure 07: Localisation des SNPs étudiés dans le cluster APOE/C1/C4.....	42
Figure 08: Principe de la construction de HapMap (d'après le projet HapMap).....	50
Figure 09: Principe d'une GWAS	60
Figure 10: Différentes étapes du génotypage par la méthode KASPar.....	68
Figure 11: Modèle de déséquilibre de liaison pour les SNPs APOE dans l'étude ISOR.....	87

Liste des tableaux

Tableau I: Evolution de l'espérance de vie à la naissance selon le sexe.....	8
Tableau II: Prévalence des principaux facteurs de risque.....	10
Tableau III: Classification de l'hypertension artérielle de l'adulte par la Société européenne d'hypertension (2007).....	16
Tableau IV: Critères de diagnostic du diabète et des troubles de la glycorégulation.....	20
Tableau V: Classification du surpoids et de l'obésité en fonction des valeurs de l'indice de masse corporelle (IMC).....	21
Tableau VI: Seuils définissant l'obésité selon la mesure du périmètre abdominal dans les différents groupes ethniques, selon les principales organisations.....	21
Tableau VII: Résumé des loci identifiés à partir des études GWA de IDM.....	30
Tableau VIII: Résumé des loci identifiés à partir des études GWA sur les traits Lipidiques.....	33
Tableau IX: Caractéristiques des participants de l'étude ECTOR en comparaison avec les hommes de l'étude ISOR.....	72
Tableau X: Caractéristiques des participants de l'étude ISOR.....	73
Tableau XIa: Distribution génotypiques et alléliques du polymorphisme epsilon de l'APOE.....	74
Tableau XIb: Distributions des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme epsilon de l'APOE dans l'étude ISOR.....	75
Tableau XII: Impact du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ECTOR.....	78
Tableau XIII: Impact du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ISOR.....	79
Tableau XIV : Impact du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ISOR chez les hommes et les femmes.....	80
Tableau XV : Impact du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les lipides plasmatiques et les pressions artérielles en fonctions de la population d'étude.....	81

Tableau XVI : Distributions des fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE dans l'étude ISOR.....	82
Tableau XVII: Impact des polymorphismes rs439401 et rs4420638 sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ISOR.....	84
Tableau XVIII : Impact du polymorphisme rs439401 sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ISOR chez les hommes et les femmes.....	85
Tableau XIX : Impact du polymorphisme rs4420638 sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ISOR chez les hommes et les femmes.....	86
Tableau XX : Valeurs de r^2 et de D' pour les polymorphismes de l'APOE dans l'échantillon ISOR.....	87
Tableau XXI : Effet des haplotypes de l'APOE sur les concentrations plasmatiques de LDL-cholestérol dans l'étude ISOR.....	88
Tableau XXII : Prévalence des différents troubles cardio-métaboliques dans la population ISOR.....	90
Tableau XXIII : Polymorphisme epsilon de l'APOE et risque cardiovasculaire.....	91
Tableau XXIV : Polymorphisme rs439401 et risque cardiovasculaire.....	92
Tableau XXV : Polymorphisme rs4420638 de l'APOE et risque cardio-métabolique.....	93

Liste des annexes

Annexe 01: Article.....148
Annexe 02: Questionnaire ISOR.....156

Liste des abréviations

ADA	American Diabetes Association
ADN	Acide désoxyribonucléique
AG	Acide gras
AHA	American Heart Association
ALFEDIAM	Association de Langue Française pour l'Etude du DIAbète et des maladies Métaboliques
ANAES	Agence Nationale d'Accréditation et d'évaluation en santé
ANCOVA	ANalysis of COVAriance
ANOVA	ANalysis Of VAriance
Apo	Apolipoprotéine
ApoE	Apolipoprotéine E
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
CM	Chylomicrons
CRP	Protéine C réactive
DDL	Degré de liberté
DL	Déséquilibre de Liaison
DT1	Diabète de Type 1
DT2	Diabète de Type 2
FID	Fédération Internationale du Diabète
FRET	Fluorescent Resonance Energy Transfer
GLM	Modèle linéaire généralisé
GWAS	Genome-Wide Association Study
HDL	High-Density Lipoprotein
HGPO	HyperGlycémie Provoquée par voie Orale
HOMA-B	HOmeostasie Model Assesment-b-cell function
HOMA-IR	HOmeostasie Model Assesment-Insulin Resistance
HTA	Hypertension artérielle
IDM	Infarctus du myocarde
IMC	Indice de masse corporelle
INSP	Instit National de Santé Publique
LDL	Lipoproteine de basse densité « low density lipoprotein »
LDLR	Récepteurs des lipoprotéines de basse densité
LEP	Leptine
LEPR	Récepteur de la leptine
LH	Lipase hépatique
LIPC	Gène de la lipase hépatique
LIPG	Gène de la lipase endothéliale
Lp(a)	Lipoprotéine (a)

LPL	Lipoprotéine lipase
LRP	LDL receptor related protein
LRT	Lipoprotéines riches en triglycérides «TRL: triglyceride rich lipoprotein »
MCV	Maladie cardio-vasculaire
NCEP/ATP III	Third Report of the National Cholesterol Education Programm/ Adult treatment Pannel
NHLBI	National Heart Lung and Blood Institute
NO	Nitric oxide
NOS3	Nitric oxide synthase 3
OMS	Organisation mondiale de la santé
OR	Odds Ratio
PAD	Pression Artérielle Diastolique
PAS	Pression Artérielle Systolique
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
RTH	Rapport tour de Taille/tour de Hanche
SM	Syndrome métabolique
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TG	Triglycéride
TNF	Tumor necrosis factor alpha
VLDL	Lipoproteins de très basse densité «very low density lipoprotein»
VNTR	Variable Number of Tandem Repeats
WHO	World Health Organization

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La fréquence des maladies cardiovasculaires est très variable selon les populations humaines. Cette variabilité est notamment géographique. Il existe en particulier un gradient européen nord-sud décroissant des maladies cardiovasculaires, parallèle à celui d'un certain nombre de facteurs de risque de ces pathologies, environnementaux et/ou génétiques.

Les pays du Maghreb sont considérés comme étant en pleine phase de transition épidémiologique, compte tenu du développement économique et de l'infrastructure sanitaire. Sur le plan de la santé publique, cette transition épidémiologique est caractérisée par une baisse des taux bruts de mortalité, une augmentation de l'espérance de vie, et une modification des causes de mortalité au profit des maladies chroniques non transmissibles, les maladies cardiovasculaires (MCV) en particulier.

En Algérie, les MCV tendent à se situer en première ligne du profil de morbidité, en effet selon l'OMS, les MCV rendent compte de 28% de la mortalité totale, de plus la population algérienne est exposée à un nombre de facteurs de risque cardiovasculaire, dont les hypertensions artérielles (HTA) avec une prévalence moyenne de 38% dans la population totale, le surpoids qui est présent chez 45.5% de la population et l'obésité chez 16%, l'élévation du taux de Cholestérol est présente chez 38.5% de la population et l'élévation du taux de glucose est reportée chez 8% (OMS, 2011).

À la lumière de ces résultats nous nous sommes intéressés aux déterminants génétiques du métabolisme lipidique, et en particulier au polymorphisme epsilon (rs7412 et rs429358) du gène de l'APOE connu pour avoir un impact sur le bilan lipidique. En effet l'allèle $\epsilon 2$ a un effet protecteur et l'allèle $\epsilon 4$ un effet délétère sur les concentrations des lipides plasmatiques. Les résultats obtenus dans un premiers temps, dans l'étude ECTOR, sont en accord avec ceux des populations caucasiennes, et rapportent un effet protecteur pour l'allèle $\epsilon 2$; mais pas d'effet pour l'allèle $\epsilon 4$. L'absence de l'effet de l'allèle $\epsilon 4$ sur le bilan lipidique peut être expliquée par le faible effectif de la population ECTOR mais aussi par les interactions gène/environnement, et particulièrement la composition en acides gras du régime alimentaire qui conditionne les concentrations de lipides plasmatiques, et notamment de cholestérol. Afin de vérifier ces hypothèses, nous avons analysé ensuite l'effet du polymorphisme epsilon de l'APOE, et des polymorphismes rs439401 et rs4420638 de ce gène sur les paramètres du bilan lipidique mais aussi sur le risque d'autres troubles cardio-métaboliques (syndrome métabolique, obésité, Hypertension artérielle et diabète de type 2) dans une étude plus large menée à Oran (Etude ISOR).

**PREMIÈRE PARTIE:
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

Chapitre I

Maladies Cardiovasculaires

I.1. Etat des lieux de la santé publique en Algérie : la Transition épidémiologique

Selon les chiffres de l’OMS (l’organisation mondiale de la santé), l’espérance de vie des algériens est passée de 67 ans en 1990 pour atteindre 73 ans en 2011 (71 ans pour les hommes et 74 ans pour les femmes), ceci est expliqué en partie par la diminution du taux de mortalité générale dans la population adulte, qui est passée de 182 en 1990 à 123 décès pour 1000 habitant en 2011 chez les hommes et de 160 à 100 chez les femmes en 2011, et de la mortalité néonatale qui a enregistré un net recul pour passer de 29 en 1990 à 17 décès pour 1000 naissance vivante en 2011 (OMS, 2013) (tableau I).

Tableau I: Evolution de l’espérance de vie à la naissance selon le sexe (Ministère de la santé et de la population, 2007).

Année	Hommes	Femmes	Ensemble
1970	52,6	52,8	52,6
1980	55,9	58,8	57,4
1985	62,7	64,2	63,6
1991	66,9	67,8	67,3
1996	66,8	68,4	67,7
2000	70,3	72,8	71,5
2008	70	72	71
2011	71	74	73

Ce qui s’est traduit par une modification de l’aspect de la pyramide des âges dans laquelle la proportion des populations les plus jeunes (moins de 15 ans) a enregistré une diminution progressive alors que celle des populations adultes est en nette augmentation (les 15–59 ans représentent 65% de la population et 7,1% ont 60 ans et plus en 2005, et pourrait atteindre 10% en 2015) ; ce qui a pour corollaire un vieillissement progressif de la population et l’augmentation du poids des maladies chroniques. (Ministère de la santé et de la population, 2007; OMS, 2010a) (Voir Figure 1). De plus, l’indice synthétique de fécondité par femme est passé de 4,7 en 1990 à 2,4 en 2008, et le taux de natalité brut par 1000 habitant a atteint 19,8 en 2011(OMS, 2013).

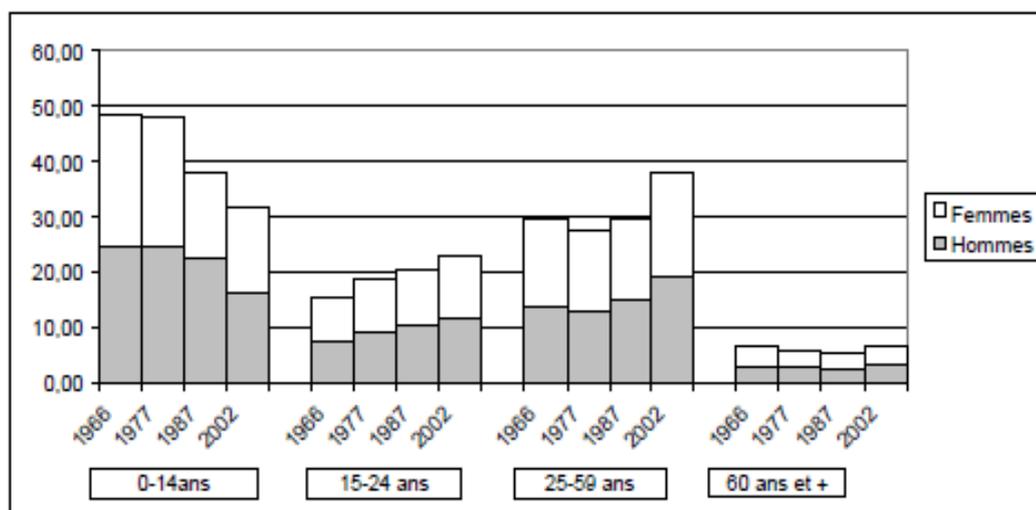


Figure 1: Evolution de la structure par groupe d'âge et sexe de la population algérienne entre 1966 et 2002 (Ministère de la santé et de la population, 2007).

Ces chiffres sont révélateurs d'une transition épidémiologique ou transition sanitaire que traverse l'Algérie depuis maintenant une vingtaine d'années. Le concept a été décrit pour la première fois par Omran au début des années 60 afin d'expliquer l'évolution de la situation épidémiologique et son interaction avec les facteurs démographiques, environnementaux et socio économiques constatées au cours des 18^{ème} et 19^{ème} siècles dans les pays occidentaux puis au 20^{ème} siècle dans les pays du sud. Au cours du temps, ce concept a évolué au vu des situations observées non prises en compte au départ.

Cette modification s'est traduite par l'accentuation de l'impact de ces maladies non transmissibles. En effet, les maladies transmissibles ont connu un net recule en faveur des maladies non transmissibles qui sont à l'origine actuellement de 63% des décès en Algérie (voir Figure 2) (OMS, 2011).

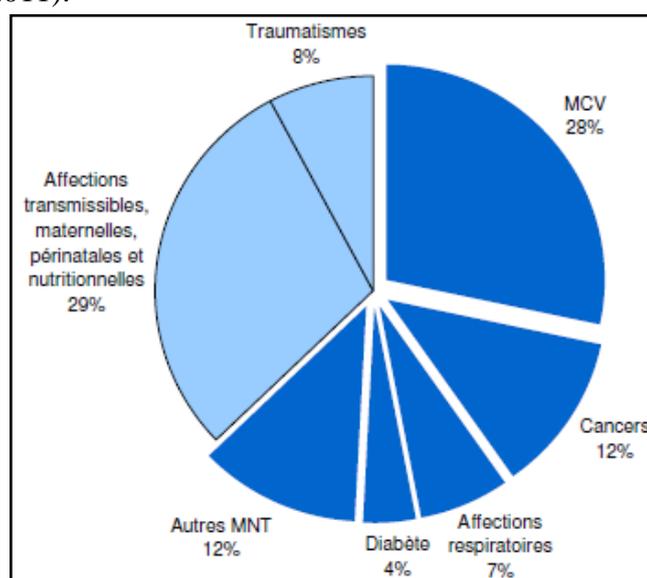


Figure 2: Mortalité proportionnelle (% des décès totaux, tous âges confondus) (OMS, 2011).

I.2. Importance des maladies cardio-vasculaires en Algérie

Les maladies cardiovasculaires (MCV) englobent tous les troubles et lésions du cœur et du système des vaisseaux sanguins dans tout le corps y compris le cerveau (accident vasculaire cérébral). Les maladies cardiovasculaires sont la principale cause de décès dans le monde. On estime à 17,3 millions le nombre de décès dus aux maladies cardiovasculaires dans le monde, ce qui représente 30% de tous les décès en 2008 (OMS, 2010b). Durant l'an 2000, les MCV étaient en cause dans 4.35 millions de décès soit 43% de la mortalité totale chez l'homme et 55% chez la femme en Europe (Graham et al, 2007; Petersen S, 2005). Aux Etats-Unis, les MCV ont été responsables d'un tiers des décès en 2007, soit environ 810.000 décès (Roger et al, 2011). Les MCV tendent à se situer en première ligne du profil de morbidité des Algériens, en effet selon l'OMS, les MCV rendent compte de 28% de la mortalité totale, de plus la population algérienne est exposée à un nombre de facteurs de risque cardiovasculaire, les hypertensions artérielles (HTA) constituent un risque majeur de cardiopathies. La prévalence moyenne des HTA se situe autour de 20% dans la population totale, 45,5% de la population est en surpoids et 16% présente une obésité, l'élévation du taux de Cholesterol est présent chez 38,5% de la population et l'élévation du taux de glucose est reporté chez 8% (OMS, 2011), la consommation de tabac est reporté chez 12,5% de la population générale et 24,8% de la population masculine, 39,2% de la population enregistre une activité physique insuffisante (Tableau 2).

Tableau II: Prévalence des principaux facteurs de risque (OMS, 2011).

Facteurs de risque comportementaux			
<i>Prévalence estimée 2008 (%)</i>	<i>hommes</i>	<i>femmes</i>	<i>total</i>
Consommation de tabac quotidienne actuelle	24.8	0.2	12.5
Activité physique insuffisante	30.8	47.6	39.2

Facteurs de risque métaboliques			
<i>Prévalence estimée 2008 (%)</i>	<i>hommes</i>	<i>femmes</i>	<i>total</i>
Hypertension	38.3	37.6	38.0
Elévation du taux de glucose	7.9	8.2	8.0
Surpoids	39.1	51.8	45.5
Obésité	9.6	22.4	16.0
Elévation du taux de cholestérol	36.6	40.5	38.5

I.3. Physiopathologie de l'athérosclérose

Différentes pathologies sont désignées par la terminologie de MCV, leur point commun est la physiopathologie liée à l'athérosclérose et responsable de mort prématurée.

Il peut s'agir de :

- maladies coronariennes (angor d'effort, angor instable, infarctus du myocarde, mort subite).
- accidents vasculaires cérébraux (hémorragiques ou ischémiques, transitoires ou constitués).
- pathologies vasculaires périphériques (artériopathie oblitérante des membres inférieurs, anévrisme aortique, insuffisance rénale par néphro-angiosclérose).
- insuffisance cardiaque.

Les accidents ischémiques aigus (mort subite, infarctus myocardique ou cérébral, angor instable) sont, dans la plus part des cas, la traduction clinique de la maladie athéromateuse, résultants d'une rupture ou une érosion de la plaque d'athérosclérose avec formation d'un thrombus obstruant la lumière vasculaire (Libby, 2001).

L'athérosclérose est considérée comme une maladie inflammatoire chronique touchant les vaisseaux sanguins. Elle est initiée et entretenue par l'excès de cholestérol LDL, conduisant à une accumulation de lipides et de cellules inflammatoires dans la paroi artérielle, et responsable de modifications anatomiques, biochimiques et fonctionnelles importantes du vaisseau. En général, les dépôts athéromateux se localisent dans les vaisseaux artériels de gros et moyen calibre. Ils se situent préférentiellement aux zones de turbulences hémodynamiques, c'est-à-dire au niveau des bifurcations et courbures artérielles.

La première étape dans la formation d'une plaque athéromateuse est l'infiltration de lipoprotéines plasmatiques dans la couche sous-endothéliale (intima). Ce processus a lieu lorsque l'endothélium est endommagé ou simplement fragilisé par une faible élasticité. Ce qui augmente sa perméabilité ainsi, les lipoprotéines peuvent pénétrer dans l'intima. Le déséquilibre des entrées et sorties de LDL peut aussi expliquer leur présence dans l'intima sans qu'il y est pour autant une quelconque fragilité de l'endothélium. Du fait de leur petite taille, les LDL « Low Density Lipoprotein », les Lp(a) « Lipoprotein a », s'infiltreraient facilement. Ce phénomène est en relation avec la quantité de cholestérol contenu dans les LDL plasmatique, plus particulièrement dans les LDL petites et denses. Même en l'absence de dépôts lipidiques vasculaires, l'hypercholestérolémie diminue la vasorelaxation artérielle ainsi que la libération de NO par l'endothélium qui libère en parallèle un puissant vasoconstricteur, l'endothéline-1 (Taner et al, 2001). L'effet synergique de la diminution de la libération de NO et de l'augmentation de la sécrétion d'endothéline-1 favorise les

phénomènes de vasospasme et la prolifération des cellules musculaires lisses qui participent à la formation de la plaque d'athérome. De plus, il est établi que la diminution de la libération de NO augmente le risque d'agrégation des plaquettes et donc le risque de thrombose (Duriez, 2004).

Cette étape d'infiltration est suivie d'une modification oxydative des acides gras contenus dans les LDL. Les cellules de l'intima sécrètent des cytokines, activant ainsi des cellules endothéliales sus-jacentes qui produisent des molécules d'adhésion qui à leur tour rameutent de nouveaux monocytes circulants qui vont devenir des macrophages et sécréter des cytokines. Les LDL oxydés (LDLox) seront reconnus par des récepteurs scavengers, tels que les récepteurs SR-B et CD36, exprimés par les macrophages, ou le récepteur Lox-1 (ou SR-E) exprimé par les cellules endothéliales. Cette interaction LDLox-récepteur permet l'internalisation des LDLox, dont la reconnaissance par les récepteurs scavengers des macrophages constitue l'étape clé d'une accumulation intracellulaire de cholestérol échappant à tout contrôle et conduisant à la formation de cellules spumeuses (Ross, 1999; Tuttolomondo et al, 2012).

A long terme, les cellules musculaires lisses de la média vont migrer vers l'intima, s'y multiplier et synthétiser une chape de protéines fibreuses qui recouvre le corps lipidique, sous l'effet de l'inflammation générée par les LDL oxydées ainsi que par l'activation des macrophages, des cellules endothéliales et des cellules musculaires lisses qui libèrent des cytokines et/ou des facteurs de croissance (Libby, 2012; Libby et al, 2002). Le volume de la plaque peut dépasser les capacités de remodelage de la paroi artérielle, produisant une sténose artérielle, cette plaque ne va pas se rompre, elle est dite « stable », la chape fibreuse protéique permettra au corps lipidique de résister aux agressions physiques (hémodynamiques) et chimiques (inflammation). Cependant, la chape fibreuse protéique risque d'être fragilisée à tout moment si processus inflammatoire augmente dans la plaque; c'est particulièrement le cas lorsque les macrophages et les cellules musculaires lisses libèrent des métalloprotéases qui digèrent les protéines de cette coque fibreuse protectrice et lorsque l'apoptose des cellules musculaires lisses est déclenchée par les cytokines sécrétées localement (Libby et al, 2002; Ross, 1999). Dans ce cas il y'a un risque de rupture de la plaque, ou d'érosion de son revêtement endothélial (plaque instable) et d'exposer ainsi les molécules de facteur tissulaire qu'elle contient au flux sanguin. Le facteur tissulaire entrainera une coagulation du sang formant ainsi un thrombus qui risque de provoquer une occlusion suffisante de la lumière artérielle pour déclencher des syndromes coronaires aigus (infarctus du myocarde, angor instable et mort subite), des accidents vasculaires cérébraux ischémiques et des ischémies

aiguës des membres inférieurs qui sont les principales manifestations de la maladie athéroscléreuse (Farb et al, 1996).

I.4. Principaux facteurs environnementaux du risque cardiovasculaire

Selon l’OMS, on peut regrouper les facteurs de risque des MCV issus des principales enquêtes [Etude de Framingham, et Etude MONICA] en deux catégories: les facteurs de risque «non modifiables» incluant l’âge, le sexe et l’hérédité, et les facteurs de risque «modifiables» tels que l’hypertension artérielle, l’hyperlipidémie, l’obésité, le diabète, le tabagisme, la consommation d’alcool, la sédentarité, et le déséquilibre alimentaire.

Plus de 200 facteurs de risque cardiovasculaire ont été identifiés jusque là depuis la publication des premiers résultats de l’étude Framingham en 1957 (Dawber et al, 1957). Cependant, une dizaine seulement rendent compte à eux seuls de la quasi-totalité du risque cardiovasculaire en population (Yusuf et al, 2004). L’association de plusieurs des ces Facteurs de risque cardiovasculaire, détermine des situations à haut risque cardiovasculaire. Ces principaux facteurs de risque cardiovasculaire sont :

I.4.1.Facteurs physiologiques

I.4.1.1. L’Age

L’âge constitue un des Facteurs de risque cardiovasculaire les plus importants. Il y’a une augmentation régulière de l’incidence de la maladie coronaire avec l’âge chez les deux sexes. Les manifestations cliniques de l’athérosclérose des manifestent généralement vers la quarantaine ou la cinquantaine chez l’homme et vers la soixantaine ou de la soixante dizaine chez la femme (Cambou et al, 1996), Chez les sujets de plus de 75 ans, les cardiopathies ischémiques représentent à elles seules, un tiers des causes de décès (Minino et al, 2007) chez les deux sexes. Bien que le vieillissement s’accompagne d’une modification d’autres facteurs de risque (HTA, élévation du taux de cholestérol, fréquence élevée du diabète en population), l’âge reste cependant un facteur de risque majeur et indépendant.

I.4.1.2. Le sexe

L’athérosclérose touche essentiellement les hommes, dans une même tranche d’âge, le risque de survenue d’un IDM est nettement plus élevé chez l’homme que chez la femme. En France, près de 80 % des infarctus du myocarde chez les sujets de moins de 65 ans, surviennent chez des hommes (Tunstall-Pedoe et al, 1999). Cette différence baisse après 65

ans. Ainsi le risque cardio-vasculaire d'une femme de 55 ans est à peu près équivalent à celui d'un homme de 45 ans cela correspond en pratique à un risque différé de 10 ans en faveur des femmes. Plusieurs travaux expérimentaux attribuent cette différence aux effets favorables des oestrogènes naturels chez la femme non ménopausée (sur la fonction endothéliale, les cellules musculaires lisses ou l'angiogénèse) (Miller & Duckles, 2008), les femmes semblent être protégées jusqu'à la ménopause (Ayanian & Epstein, 1991; Goldberg et al, 1993). En effet, les données de l'étude de Framingham montrent que, l'incidence des coronaropathies est nettement plus élevée chez les femmes ménopausées que chez celles qui ne le sont pas, en particulier en cas de ménopause précoce et ce quelle que soit la tranche d'âge considérée (Gordon et al, 1978). Une des explication est que le statut ménopausique a un impact sur les facteurs de risque cardiovasculaire, plus spécialement les facteurs lipidiques, ou la ménopause s'accompagne d'une augmentation des concentrations du cholestérol total et du LDL cholestérol et d'une baisse modérée du HDL cholestérol (Bonnet, 1997). De plus, plusieurs études ont montré que la triglycéridémie et la lipémie à jeun et en période postprandiale est significativement plus élevée chez les hommes que chez les femmes (Cohn et al, 1988), Cette différence entre les hommes et les femmes peut être due à une activité plus élevée de LPL chez les femmes, se traduisant par une capacité d'épuration plus élevée chez les femmes.

I.4.2.Facteurs liés au mode de vie

I.4.2.1. la consommation de tabac

La consommation de tabac représente un facteur de risque majeur. En 1994, la mortalité due au tabagisme représentait 50% des décès évitables dont la moitié sont d'origine cardio-vasculaire (Bartecchi et al, 1994). En 1998, la mortalité par maladie cardiovasculaire liée au tabagisme était estimée à 40 % chez l'homme et 11 % chez la femme (ANAES, 1998). Le tabagisme serait également à l'origine de plus de la moitié des IDM (Infarctus Du Myocarde) survenus chez le jeune sujet (Mahonen et al, 2004).

Le risque cardiovasculaire du tabac est lié à la durée de consommation et à la quantité quotidienne. Ainsi, il existe une relation étroite et progressive entre le nombre de cigarettes fumées par jour et le risque d'IDM, et ce quel que soit l'âge (Lacroix et al, 1991; Manson et al, 1992). Le risque est 9 fois plus élevé pour les plus «grand consommateurs» par comparaison aux non-fumeurs (Yusuf et al, 2004). Ce risque semble être plus important chez la femme que chez l'homme (Njolstad et al, 1996).

La prévention du risque du tabac par sevrage a un effet réversible sur le risque cardiovasculaire. En effet, le risque d'infarctus chez le coronarien sevré, diminue de 50 % après un an de sevrage et rejoint progressivement celui du coronarien non-fumeur (Manson et al, 1992; Wilson et al, 2000), ceci est expliqué par la disparition des effets thrombogènes qui représentent en réalité les effets délétères du tabac (Ambrose & Barua, 2004; Blann et al, 1998; Smith & Fischer, 2001).

I.4.2.2. La sédentarité

Les données épidémiologiques indiquent qu'un mode de vie sédentaire augmente la mortalité prématurée, et le risque cardio-vasculaire et coronarien (Powell et al, 1987; Rosengren & Wilhelmsen, 1997; Sandvik et al, 1993). Les sujets sédentaires ont un risque de mortalité 1,2 à 2 fois plus élevé que les sujets plus actifs. À l'inverse, la pratique d'une activité physique régulière, même modeste, a un effet protecteur vis-à-vis des MCV, Il existe une relation dose-réponse inverse entre le volume d'activité physique et le risque cardio-vasculaire (Blair et al, 1995; Rosengren & Wilhelmsen, 1997).

Les résultats obtenus lors d'un atelier d'expertise publiés en 1995 concernant des études de cohortes réalisées dans plusieurs pays, s'accordent sur un consensus que l'activité physique, indépendamment de l'âge et du sexe, est fortement et inversement associée au risque de mortalité cardio-vasculaire et au événements coronariens (Pate et al, 1995).

Chez les sujets coronariens notamment après un IDM, on estime que la mortalité cardio-vasculaire peut être réduite d'environ 20 à 25% par la participation à un programme de réadaptation (Oconnor et al, 1989). Les bénéfices physiologiques de l'activité physique passent à la fois par une action vasculaire antiathérogène (notamment au niveau endothélial) et par la modification de facteurs liés au risque vasculaire: l'augmentation du taux de HDL-cholestérol, la diminution du taux de LDL-cholestérol et des triglycérides, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline, perte de poids, et la réduction de la tension artérielle. La sédentarité a un effet inverse.

I.4.3. L'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle (HTA) est l'un des premiers et des plus étudiés facteurs de risque cardiovasculaire, elle est un facteur de risque majeur de maladies cardiovasculaires et rénales (Hajjar & Kotchen, 2003; Kearney et al, 2005). Dans 95% des cas, les causes de

l'HTA restent inconnues, il s'agit d'hypertension artérielle essentielle, seuls 5% des cas présentent des causes connues et correspondent à des patients dont la pathologie est responsable de cette hypertension il s'agit dans ce cas d'hypertension artérielle secondaire. L'augmentation de la pression artérielle systolique(PAS) et/ou diastolique (PAD) est un facteur de risque puissant et indépendant de coronaropathie et d'AVC (Kannel, 1996).

Cependant, l'âge et le sexe ont leurs influence sur l'HTA, car la pression artérielle augmente avec l'âge et elle est plus fréquente chez les hommes que chez les femmes, et la morbidité cardiovasculaire est plus élevée chez les hommes pour tous les niveaux tensionnels (Vokonas et al, 1988; Wenger et al, 1993).

L'association de l'HTA avec les complications cardiovasculaires est sans effet de seuil jusqu'à des valeurs de 110-115 mmHg pour la systolique et 70-75 mmHg pour la diastolique. Chaque accroissement de 20 mmHg de la systolique ou de 10 mmHg de la diastolique multiplie par un 2 le risque de décès cardiaque ou vasculo-cérébral (Macmahon et al, 1990). Chez les sujets de plus de 55 ans il y'a une association positive entre l'augmentation de la pression pulsée (qui correspond à la différence entre les PAS et PAD) et les complications cardiovasculaires (Lewington et al, 2002). Cependant, l'abaissement de la pression artérielle chez l'hypertendu réduit d'environ 16 % le risque d'infarctus (Gueyffier et al, 1997) et de 40% le risque d'AVC. Le tableau III représente la classification proposée en 2007 par la société européenne de cardiologie et la société européenne d'hypertension (Mancia et al, 2013).

Tableau III: Classification de l'hypertension artérielle de l'adulte par la Société européenne d'hypertension (2007)

Catégorie	PA* Systolique (mmHg)	PA* Diastolique (mmHg)
Optimale	< 120	< 80
Normale	120 – 129	80 – 84
Normale haute	130 –139	85 – 89
Stade 1	140 –159	90 – 99
Stade 2	160 - 179	100 - 109
Stade 3	>180	>110
Hypertension systolique isolée	>140	< 90

*PA : Pression Artérielle

I.4.4. Les lipides plasmatiques

Le lien physiopathologique entre les lipides plasmatiques et l'athérosclérose est plus facile à concevoir comparé aux autres facteurs de risque majeurs. Les particules lipidiques et leur métabolisme sont en effet des éléments clés de l'athérogénèse et de l'évolution de la plaque d'athérome (Stary et al, 1994).

Le risque cardiovasculaire lié aux lipides plasmatiques est évalué actuellement par dosages du cholestérol total, LDL-cholestérol, HDL-cholestérol et des triglycérides. Cependant, il est parfois utile de doser d'autres composantes lipoprotéiques dont le lien avec l'athérosclérose est établi.

1.4.4.1. Le cholestérol total et les fractions HDL et LDL

Les concentrations de cholestérol plasmatique, particulièrement de LDL-cholestérol présentent une association forte, linéaire et continue avec l'incidence des complications cardiovasculaires. Une augmentation de 1% de la concentration de LDL-cholestérol est associée à un accroissement de 2 à 3% du risque coronarien (Neaton et al, 1992). Cette association est fortement modifiée par les facteurs de risque cardiovasculaire associés (Neaton & Wentworth, 1992). L'efficacité des mesures de réduction des concentrations de cholestérol total et surtout de LDL-cholestérol sur la morbidité coronarienne est bien établie. L'usage des statines représente un bon exemple (Baigent et al, 2008; Robinson et al, 2005).

A l'inverse, une concentration abaissée de HDL-cholestérol est un facteur de risque indépendant et un taux élevé est un facteur protecteur de survenue d'une coronaropathie ou de récurrence (Abbott et al, 1988). Il est admis que son rôle protecteur vient essentiellement de sa capacité à épurer le cholestérol de la circulation par son intervention dans le transport inverse du cholestérol vers le foie (Choi et al, 2006). Les propriétés antiathérogènes du HDL cholestérol peuvent être expliquées également par d'autres effets vasculaires (anti-inflammatoires, antioxydants et anti-thrombotiques) qu'il pourrait exercer sur la fonction endothéliale. Les rapports Total cholestérol/HDL-cholestérol et LDL-cholestérol/HDL-cholestérol représentent un indice révélateur du risque artériel et surtout coronarien. Si le rapport Total cholestérol/HDL-cholestérol est supérieur à 4,85 et le rapport LDL-cholestérol/HDL-cholestérol supérieur à 3,55 le risque athérogène est statistiquement important.

I.4.4.2. Les Triglycerides

L'hypertriglycéridémie est également associée à un risque accru de MCV. Cependant, cette relation est moins forte que celle existant avec le cholestérol sanguin. Les hypertriglycéridémies modérées, s'accompagnent généralement d'un ensemble de modifications métaboliques telles qu'une faible concentration de HDL-cholestérol, un diabète, une insulino-résistance, une obésité abdominale et/ou une hypertension qui sont de puissants facteurs de risque ce qui rend difficile de considérer l'hypertriglycéridémie comme un facteur indépendant (Di Angelantonio et al, 2009; Hulley et al, 1980).

I.4.4.3. Les Apoprotéines et Lipoprotéines

Les apolipoprotéines sont des glycoprotéines qui permettent la circulation des lipides (insolubles en milieux aqueux) dans le sang. Plusieurs types d'apolipoprotéines existent dont certaines jouent un rôle dans le métabolisme des lipoprotéines à titre d'activateurs enzymatiques et de ligands pour divers récepteurs (ex LDL récepteur). Les taux plasmatiques de certaines apoprotéines et lipoprotéines sont associés au risque d'athérosclérose :

- L'apolipoprotéine B (ApoB) est l'apolipoprotéine essentielle de transport du LDL-cholestérol (et des VLDL), la concentration de l'ApoB reflète le taux de LDL-cholestérol. De ce fait, l'élévation du taux d'Apo B est un prédicteur positif du risque cardiovasculaire aussi puissant (voire meilleur) que le LDL (Thompson & Danesh, 2006).
- L'apoprotéine A1 (Apo A1) est l'apoprotéine principale du HDL-cholestérol. A l'instar du HDL-cholestérol, de faibles concentrations d'Apo A1 sont associées à un risque accru d'IDM (Walldius et al, 2001),
- Le rapport Apo B/Apo A1 est un des plus puissants indicateurs du risque coronarien. L'élévation de ce rapport est associée positivement au risque d'IDM (Yusuf et al, 2004),
- L'apoprotéine (a) est une composante structurale de la lipoprotéine (a) ou Lp (a). Elle est liée de façon covalente à l'Apo B (Hobbs & White, 1999). Son rôle physiopathologique est mal connu et son déterminisme génétique semble important (Austin et al, 1992). Les taux élevés de Lp(a) sont positivement associés au risque d'athérombose (Danesh et al, 2000; Scanu et al, 1991).

I.4.5. Le Diabète

Les décès chez les sujets diabétiques sont dus dans 75% des cas à des complications cardiovasculaires. Le risque de développer une atteinte athérombotique est multiplié par un facteur 2 voire 3 chez les sujets atteints d'un diabète de type 2 (Borchjohnsen & Kreiner, 1987). Dans le cas d'un diabète de type 1, le risque est multiplié par 7 par rapport à un sujet non diabétique du même âge malgré que la fréquence relative des complications cardiovasculaires soit moindre, (Laing et al, 2003). Par ailleurs, le diabète est non seulement un facteur de risque d'IDM mais aussi un facteur de moins bon pronostic post-infarctus chez les sujets ayant une coronaropathie (Aronson et al, 1997; Haffner et al, 1998).

Le lien physiopathologique entre le diabète et les complications cardiovasculaires n'est pas complètement élucidé, mais plusieurs anomalies d'ordre métabolique, vasculaire, ou liées à la coagulation, peuvent expliquer le risque élevé de ces complications chez le sujet diabétique:

- l'inflammation,
- la dysfonction endothéliale (Beckman et al, 2002),
- le stress oxydatif (déficit d'antioxydants, produits de la glycation et de la glyco-oxydation) responsable de l'oxydation des LDL-cholestérol, dont le rôle pathogénique apparaît important,
- les anomalies de la fonction plaquettaire et de la coagulation dont la résultante est une activation plaquettaire et un effet procoagulant (Kirpichnikov & Sowers, 2001),
- les troubles lipidiques: hypertriglycéridémie, HDL-cholestérol abaissé, LDL-cholestérol petites et denses, augmentation des remnants lipoprotéiques,
- l'hyperinsulinisme et l'insulinorésistance.

Contrairement à la pression artérielle et aux anomalies lipidiques, où l'efficacité des mesures de réduction de la tension artérielle et des concentrations lipidiques (notamment par l'usage des statines et des inhibiteurs de l'enzyme de conversion) a été démontrée (Ganda, 2002; Huang et al, 2001), les effets bénéfiques d'une baisse de la glycémie ou du taux d'hémoglobine glyquée sur la réduction des complications cardiovasculaires ne sont pas formellement établis (Conget & Gimenez, 2009), bien qu'un lien entre le niveau glycémique et les MCV ait été mis en évidence (Selvin et al, 2004)

Selon les critères de l'OMS (ces critères validés par les experts de l'Alfediam), le diagnostic et la classification du diabète reposent sur la mesure de la glycémie à jeun et de la

glycémie 2h après un test de charge orale de 75 mg de glucose (Alberti et al, 1998; Drouin et al, 1999). Ces critères sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV: Critères de diagnostic du diabète et des troubles de la glycorégulation (ALFEDIAM, 1999)

Statut glucométabolique	Critères de classification selon la glycémie mesurée sur plasma veineux exprimée en mmol/L (mg/dL)
Diabète	Glycémie à jeun $\geq 1,26$ (7,0) et/ou glycémie $\geq 2,00$ (11,1), 2h après HPGO*
Intolérance au glucose	Glycémie à jeun $\leq 1,26$ (7,0) (si mesurée) et glycémie $\geq 1,4$ (7,8) 2h après HPGO
Hyperglycémie modérée à jeun	Glycémie à jeun $\geq 1,10$ (6,1) et $< 1,26$ (7,0) et glycémie $< 1,4$ (7,8) 2h après HPGO (si mesurée)

* HPGO : hyperglycémie provoquée par voie orale. La charge de glucose sera de 75 g de glucose anhydre chez l'adulte et de 1.75 g par kilogramme chez l'enfant.

I.4.6. L'obésité et le tissu adipeux

L'obésité connaît une progression épidémique importante et présente un enjeu majeur à l'échelle planétaire (Barlow, 2007). On estime dans le monde, que 300 millions d'individus sont obèses, qu'environ 1 à 1,7 milliard (selon les critères retenus) sont en surpoids, et qu'un enfant sur 3 est en surpoids ou obèse. Bien que le lien entre l'obésité et les MCV soit établi depuis longue date, les mécanismes physiopathologiques sous-jacents n'ont été appréhendés que récemment et restent incomplètement élucidés.

L'obésité est souvent associée à plusieurs comorbidités telles que le diabète, l'hypertension artérielle, les dyslipidémies, l'insuffisance veineuse, ou les apnées du sommeil. Les parts respectives de l'obésité et des comorbidités associées dans l'augmentation du risque cardiovasculaire ne sont pas bien établies. Il est clairement démontré que le tissu adipeux viscéral est un organe actif et un marqueur de risque cardio-métabolique fort et indépendant (Despres et al, 1990; Yusuf et al, 2004). Les indices les plus utilisés actuellement pour apprécier le poids corporel sont :

- l'indice de masse corporelle (IMC) qui est le rapport poids/taille²
- le tour de taille
- le rapport tour de taille/tour de hanche

Des valeurs élevées de chacun de ces 3 indices sont associées au risque d'IDM (Yusuf et al, 2004). Cependant il existe quelques différences entre ces trois indices. L'IMC a pour avantage la simplicité et la fiabilité de son recueil, les deux derniers représentent un meilleur reflet de la masse adipeuse péri-viscérale mais le risque d'erreur de mesure est plus important. L'usage routinier combiné de l'IMC et du périmètre abdominal est recommandé pour l'appréciation du risque cardiovasculaire.

Selon l'OMS, l'obésité correspond à un IMC supérieur ou égal à 30 kg/m². Les tableaux V et VI montrent les définitions et classifications de l'obésité selon l'IMC et de l'obésité abdominale mesurée par le périmètre abdominal. Le périmètre abdominal doit être mesuré grâce à un mètre ruban placé autour de l'abdomen, à mi-distance entre la dernière côte et la crête iliaque supérieure. Le mètre ruban ne doit pas comprimer la peau et être parallèle au sol. La mesure doit être faite en fin d'expiration, chez un patient détendu.

Tableau V: Classification du surpoids et de l'obésité en fonction des valeurs de l'IMC (OMS, 1998)

Catégorie	IMC (kg/m ²)
IMC normal	18,5 - 24,9
Surpoids	25 - 29,9
Obésité de classe I	30 - 34,9
Obésité de classe II	35-39,9
Obésité de classe III	≥ 40

IMC : index de masse corporelle.

Tableau VI: Seuils définissant l'obésité selon la mesure du périmètre abdominal dans les différents groupes ethniques, selon les principales organisations

Population	Organisation	Seuil de périmètre abdominal	
		Hommes	Femmes
Caucasiens	IDF	≥94 cm	≥80 cm
	OMS, AHA/NHLBI (ATP III)	≥102 cm	≥88 cm
Asiatiques	IDF, OMS	≥90 cm	≥80 cm
Moyen-Orient, Méditerranéens	IDF	≥94 cm	≥80 cm
Afrique sub-saharienne	IDF	≥94 cm	≥80 cm
Amérique centrale et du sud	IDF	≥90 cm	≥80 cm

IDF : International Diabetes Federation; OMS: Organisation Mondiale de la Santé; AHA : American Heart Association ; NHLBI : American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute

I.4.7. Le syndrome métabolique

I.4.7.1. Définition du syndrome métabolique

Le Syndrome Métabolique (SM) est l'un des problèmes de santé publique, les plus préoccupants du 21^{ème} siècle. Le SM ne représente pas une maladie en soi, mais plutôt une association de facteurs prédisposant eux-mêmes à des maladies tels que le Diabète et les maladies cardiovasculaire, comme son nom l'indique le SM vient de « syndrome » qui se différencie de la maladie par l'absence de cause spécifique et qui se définit comme un ensemble de signe cliniques ou symptômes, qu'un patient présente au cours d'une maladie ou de circonstances cliniques d'écart à la norme mais pas forcément pathologiques et « métabolique » de métabolisme (du grec *meta* qui signifie "changement, participation" et *ballêin* qui signifie "lancer") définit l'ensemble des réactions biochimiques comprises dans la fonction de nutrition ; les principales voies du métabolisme énergétique sont les métabolismes lipidiques et glucidiques dont la régulation, permet le maintien de l'homéostasie par l'équilibre entre balance énergétique et apports nutritionnels.

La présence de ce syndrome chez un individu favorise le développement de plaques d'athérome et augmente ainsi fortement le risque cardiovasculaire d'où l'intérêt du dépistage des individus porteur de ce syndrome qui représente lui même une valeur diagnostique pour le diabète et les maladies cardiovasculaires.

I.4.7.2. Historique du concept

Le syndrome métabolique a été décrit pour la première fois en 1923 lorsque Kylin décrit un syndrome associant maladie de la goutte, hypertension artérielle et hyperglycémie (Kylin, 1923), depuis les études ont ajoutées à cela l'obésité, l'hypertriglycéridémie et l'hyperinsulinémie ; en effet, en 1985 modan met en évidence la relation entre syndrome métabolique et hyperinsulinémie et c'est en 1988 que Reaven utilisera le terme de syndrome X pour évoquer une association chez un même individu de plusieurs troubles métaboliques, incluant : hyperinsulinémie, intolérance au glucose, hypoHDLémie, hypertriglycéridémie et hypertension artérielle (Reaven, 1988), Reaven propose l'insulinorésistance comme le facteur sous-jacent et la place au cœur de ce qu'il a appelé syndrome X pour décrire cette constellation d'anomalies du métabolisme, Reaven n'a pas inclus l'obésité abdominale dans sa définition du syndrome métabolique (mais va finir par l'inclure quelques années plus tard), l'obésité est venue plus tard s'ajouter à la caractérisation de ce syndrome, lorsque Kaplan désigna le « Deadly quartet » associant obésité abdominale, intolérance au glucose,

hypertriglycémie et hypertension artérielle (Kaplan, 1989). En 1992, Haffner et al montrent que ce syndrome est corrélé à une augmentation des concentrations d'insuline qui précède l'apparition des différents désordres métaboliques. Il établit ainsi le lien entre syndrome X et insulino-résistance, le poussant à l'appeler: syndrome d'insulino-résistance.

L'augmentation de la prévalence mondiale de l'obésité et du diabète de type observée dans les années 90 a fait du syndrome métabolique le centre d'intérêt des recherches sur les MCV de part le fait qu'il regroupe les principaux facteurs de risque cardiovasculaire, l'intérêt pour le syndrome métabolique serait l'identification et la prise en charge d'individus à risque, et qui phénotypiquement, ne présentent aucun signe pathologique de MCV et pour lesquels, une modification du style de vie peut réduire ce risque cardiovasculaire.

Le syndrome métabolique est connu de nos jours sous plusieurs noms, syndrome d'insulino-résistance, syndrome X, syndrome cardiométabolique et ce n'est qu'en 1998 qu'il a été reconnu par l'OMS, les instances de santé américaines ont reconnu le syndrome métabolique en 2001

I.4.7.3. Les critères de diagnostic du syndrome métabolique

Depuis sa description pour la première fois en 1923 par Kylin, le syndrome métabolique a connu plusieurs définitions plus ou moins différentes les unes des autres, mais qui s'accordent sur les principales composantes du SM: l'obésité, l'insulino-résistance, la dyslipidémie et l'hypertension. Cependant, quelques questions sont revenues souvent pour tous les groupes d'étude qui ont tenté de définir les critères de diagnostic du SM: quel paramètre utiliser pour définir chaque phénotype, et quelle méthode utiliser pour le mesurer, quelle est la valeur seuil à appliquer pour définir l'anormalité ? et enfin quel poids donner à chacun des phénotypes dans le développement du syndrome métabolique ?

En 1988, Reaven se limite simplement à une description du syndrome X, sans proposer une définition qui soit assez claire pour permettre le diagnostic des personnes porteuses du syndrome (Haffner et al, 1992). Il faudra donc attendre 1999 pour que l'OMS publie la première définition officielle du SM, suivie par l'European Group for the study of Insulin Resistance (EGIR) en 1999 puis par le National Cholesterol Education Program-Third Adult Treatment Panel (NCEP ATP III) en 2001. L'American Association of Clinical Endocrinology (AACE) définit le SM de façon large et floue, dans un rapport rédigé en 2003 et dans lequel elle estime qu'aucune preuve scientifique ne permet de fixer des seuils précis. Plus récemment de nouvelles définitions sont apparues, il s'agit de celles de la Fédération

Internationale des Diabétiques (FID, 2006) et l'American Heart Association/National Heart, Lung and Blood Institute (AHA/NHLBI, 2006).

I.4.7.4. Syndrome métabolique et risque cardiovasculaire

Dès 1956, Vague suppose l'existence d'un lien entre hyperglycémie, hypertension artérielle, obésité abdominale, goutte, et athérosclérose (Vague, 1956). Plus tard, la relation entre le syndrome métabolique et l'hyperinsulinémie a été clairement mise en évidence par Modan (Modan et al. 1985). Mais ce n'est qu'en 1988 que Reaven place l'insulinorésistance au coeur de ce syndrome et lui donne le nom de syndrome X (Modan et al, 1985; Reaven, 1988). Depuis cette description, la totalité des études a montré que le risque relatif de MCV est associé au syndrome métabolique, bien que l'estimation de ce risque varie fortement d'une étude à une autre (Gami et al, 2007).

D'un point de vue moléculaire, l'insulinorésistance résulte de différentes anomalies qui affectent les cascades de phosphorylation induites par l'activation du récepteur à l'insuline. Ces anomalies peuvent intervenir à différents niveaux, elles peuvent affecter le récepteur de l'insuline lui-même ou alors les voies de signalisation en aval du récepteur. Il peut s'agir d'une inactivation des substrats du récepteur de l'insuline (IRS) par exemple (Draznin, 2006; Youngren, 2007). Cette inactivation du récepteur de l'insuline peut être due à des modifications post traductionnelles comprenant une phosphorylation de résidus sériques, mais aussi à la fixation de protéines inhibitrices telles que ENPP1/PC-1 (plasma cell antigen 1/phosphodiesterase 1/ectonucleotide pyrophosphatase) (Goldfine et al, 2008) ou des membres des familles de protéines SOCS et Grb (Youngren, 2007).

La sécrétion d'insuline à l'état basal permet l'obtention d'un taux constant d'insuline qui reflète la sensibilité à l'insuline. En effet, il a été montré que l'insulinémie à jeun est un bon marqueur d'insulinorésistance (Haffner et al, 1996).

I.4.8. Les antécédents familiaux

Une histoire familiale est rapporté chez un tiers des patients atteints de maladies cardiovasculaires ou IM (Mayer et al, 2007) . En fait, la Framingham Heart Study a rapporté que les antécédents familiaux est un facteur de risque de maladie cardiovasculaire qui est indépendant de tous les autres facteurs de risque testés (Murabito et al, 2005; Myers et al, 1990). En outre, la 2nd Northwick Park Heart Study (NPHS-II) a démontré que, même après

correction des facteurs de risque, la présence d'antécédents familiaux de maladie cardiovasculaire confère un risque 1,65 fois plus élevé ((Hawe et al, 2003); (Boer et al, 1999)). De même, une autre étude de près de 20 000 personnes rapporte que l'augmentation du risque de MCV attribué à une histoire familiale positive reste élevé (1,5 à 1,8 fois), même après ajustement pour les facteurs de risque (Andresdottir et al, 2002).

Chapitre II

Base génétique des maladies cardiovasculaires (MCV)

II.1. L'héritabilité de MCV

Les bases génétiques de la maladie cardiovasculaire sont complexes, il est estimé que la proportion de la variation phénotypique expliquée par des facteurs génétiques, est comprise entre 40% et 60% (Arking & Chakravarti, 2009). Bien que des études telle que INTERHEART (Yusuf et al, 2004) ont conclu que les facteurs de risque classiques expliquent la majorité des risques d'IDM, plusieurs de ces facteurs de risque de MCV sont sensiblement affectés par des facteurs génétiques telles que l'hypertension (HTA) (héritabilité 50-70%), l'hypercholestérolémie (héritabilité 40-60 %), et diabète de type 2 (héritabilité 40-80%) (Lusis, 2003; Pankow et al, 2001; Tournier-Lasserre, 2002). Curieusement, l'effet génétique des maladies cardiovasculaires persiste après correction des facteurs de risque qui abritent une composante génétique (Marenberg et al, 1994; Zdravkovic et al, 2002).

Une des meilleures façons de déterminer l'héritabilité d'un trait est la comparaison entre les jumeaux monozygotes et dizygotes. L'étude suédoise Swedish Twin study a indiqué que le risque pour un jumeau apparemment en bonne santé de mourir de maladies cardiovasculaires quand leur jumeau est mort de maladie cardiovasculaire avant l'âge de 55 ans était de 3,8 pour les jumeaux dizygotes, et de 8,1 pour les jumeaux monozygotes. Chez les femmes, l'écart est encore plus marquée, avec l'augmentation relative du risque quand un des jumeaux est mort de maladie cardiovasculaire avant l'âge de 65 ans étant de 2,6 pour les jumeaux dizygotes et 15,0 pour les jumeaux monozygotes (Marenberg et al, 1994).

Plusieurs troubles mendéliens causés par des mutations rares constituent un exemple de la base génétique des maladies cardiovasculaires. Peut-être l'exemple le plus frappant est l'hypercholestérolémie familiale (HF) (Goldstein & Brown, 1974), c'est une maladie autosomique codominante caractérisée par une concentration de LDL-cholestérol très élevée et associée à des MCV prématurées. Cependant, la cause de la grande majorité des cas de maladies cardiovasculaires, semble être multifactorielle et provoquée par l'effet des composants génétiques multiples ainsi que de l'environnement et des interactions gènes-environnement.

Par conséquent, le spectre allélique des maladies cardiovasculaires comprend un mélange complexe de variants communs et rares qui, ensemble, représentent son héritabilité génétique. Bien que de grands progrès aient été réalisés dans le traitement des maladies cardiovasculaires, elles restent la principale cause de décès dans le monde. Une fois les gènes de susceptibilité identifiés, de nouvelles voies de la maladie pourraient être impliqués ce qui nous orientera vers de nouvelles cibles pour le traitement préventif. En outre, démêler la base génétique des maladies cardiovasculaires est important dans la pratique clinique et contribuera à la prédiction de la maladie dans les familles atteintes de Maladies cardiovasculaires prématurées ou d'IDM.

Actuellement, les biomarqueurs connus tels que la troponine I et la troponine T pour l'IDM et le peptide natriurétique cérébral (BNP) pour l'insuffisance cardiaque, sont essentiellement d'une valeur diagnostique ou pronostique (Gerszten & Wang, 2008). Bien que les biomarqueurs de dépistage, comme la protéine C-réactive (CRP), le fibrinogène et l'homocystéine permettent la prédiction d'événements cardiovasculaires, des études ont montré qu'ils ne contribuent que modérément à la capacité des facteurs de risque classiques pour prédire des événements futurs (Wang et al, 2006). Les études actuelles pourraient identifier de nouveaux variants génétiques qui pourraient être soit biomarqueurs eux-mêmes ou pointent vers d'autres marqueurs pour des études supplémentaires. Cela pourrait se faire par des analyses d'association génétique que je vais présenter ultérieurement.

II.2. Gènes de susceptibilité au MCV

II.2.1. Etudes d'analyse de liaison et études d'associations gène-candidat

Récemment, il ya eu un énorme intérêt pour l'identification des variations dans le génome humain, notamment les polymorphismes nucléotidiques simples (SNP), qui modifient la susceptibilité à des traits complexes dans les populations comme les maladies cardiovasculaires (Altshuler et al, 2008). Ces études comparent généralement des personnes qui ont des traits lipidiques à haut risque ou une maladie cardiovasculaire, à des personnes saines dans des populations d'études de type cohorte ou dans des études familiales. Ces études d'association utilisent les notions de déséquilibre de liaison (LD) et de structure d'haplotypes du génome humain pour tester un ensemble de SNP qui rendent compte de la majeure partie de la variation à l'intérieur d'un locus ou sur l'ensemble du génome humain (Frazer et al, 2007).

Les études d'association des variants génétiques communs aux maladies cardiovasculaires ou aux phénotypes métaboliques choisissent des gènes candidats pour qui sont sélectionnés sur la base d'une preuve biologique (implication dans une voie métabolique) ou autres éléments de preuve génétique impliquant des régions qui ségrègent avec la maladie lors des études de liaison. Certains loci associés au traits lipides ont été identifiés en utilisant cette approche *LDLR*, *APOE*, *APOB*, *PCSK9*, *LCAT*, and *CETP* (Anand et al, 2009; Boekholdt et al, 2005; Eichner et al, 2002; Pare et al, 2007).

II.2.2. Etudes d'association génome entier ou "Genome Wide Association Studies"

II.2.2.1. Etudes GWA sur les MCV

La première grande étude d'association à haut débit a été réalisée par Ozaki (Ozaki et al, 2002). Pas moins de 65 671 SNP ont été testés chez 94 patients atteints d'IDM et 658 témoins dans une cohorte japonaise, cette étude a identifié des SNP associé à l'IDM dans le gène la lymphotoxine. Des études d'association ultérieures par le même groupe ont impliqué les gènes *LGALS2* (Ozaki et al, 2004) et *BRAP* dans populations asiatiques (Ozaki et al, 2009). Les premières études de GWA sur la maladie cardiovasculaire ont reportées de fortes associations entre SNPS situés dans la région 9p21 et l'IDM aigu et la maladie coronarienne. Dans la même année, trois GWA ont rapportées une association entre un locus situé sur le chromosome 9p21 et l'apparition précoce d'IDM (Helgadottir et al, 2007; McPherson et al, 2007; Samani et al, 2007). La région chromosomique identifiée ne contenait pas de gènes connus pour être associés à des facteurs de risque classiques de la maladie coronarienne, tels que les lipoprotéines plasmatiques, l'hypertension, ou le diabète. Cependant, les gènes à proximité (*CDKN2A CDKN2B*) codent pour des inhibiteurs de kinases cycline-dépendantes, qui sont impliqués dans l'apoptose et la fonction des cellules souches. D'autres régions identifiées inclus 2q36.3, 6q25.1 et 10q11.21 (Samani et al, 2007). Parmi les variantes découverts, ceux du locus à 10q11.21 situé en amont de la cytokine *CXCL12* (Samani et al, 2007), qui est impliqué dans plusieurs voies, y compris le développement cardiaque, l'activation plaquettaire et le recrutement de cellules souches (Abi-Younes et al, 2000; Tachibana et al, 1998). L'association avec 9p21 a été confirmé dans une étude qui a impliqué près de 23 000 personnes de neuf études européennes différentes (Samani et al, 2009). Cette étude a également confirmé les associations aux régions 10q11.21, 1p13.3, et 1q41, (Samani et al, 2009). Le SNP associés à un risque accru de maladie cardiovasculaire dans la région

1p13.3 a été associé à des concentrations plasmatiques plus élevée de total cholestérol et de LDL-cholestérol dans plusieurs études. Le signal de l'association à 1q41 se trouve dans la famille des gènes d'activité inhibitrice de mélanome, gène membre 3 (MIA3), qui semble jouer un rôle dans la croissance cellulaire ou l'inhibition. En outre, trois autres loci ont été identifiés par le consortium MIGen (Kathiresan et al, 2009a): 2q33 à proximité de *WDR12*, 6p24 à proximité de *PHACTR1*, and 21q22 à proximité de *MRPS6-SLC5A3-KCNE2*. Parmi ces gènes, le seul précédemment suspectée de jouer un rôle dans la maladie cardiaque est *KCNE2* qui code pour une sous-unité d'un canal potassique, dans lequel les mutations sont pensés pour provoquer des arythmies héréditaires (Abbott et al, 1999). Parmi les autres régions qui seraient associés aux MCV par des études GWA est la région du gène *SLC22A3-LPAL2-Lpa* (Tregouet et al, 2009). La région 3q22.3 qui contient le gène *MRDA* a également été identifiée et les résultats actuels suggèrent un rôle pour les *MRAS* dans la signalisation de l'adhérence, ce qui est important dans le processus athérosclérotique (Erdmann et al, 2009). La région 12q24.31 associé aux MCV comprend des variantes dans *HNF1A* et *C12orf43*. D'autres variants dans *HNF1A* causent le diabète et modifient les concentrations plasmatiques de CRP, un marqueur de risque de maladie cardio-vasculaire. Les études de RT-PCR ont montré que les *ARM* et *C12orf43* sont exprimés de manière ubiquitaire au niveau de l'aorte et du cœur chez la souris et chez l'humain (Erdmann et al, 2009). En outre, la région 15q22 a également été impliquée dans les MCV, elle comprend *SMAD3* qui est impliquée dans la signalisation cellulaire (Kathiresan et al, 2009a). Ensemble, ces variantes expliquent environ 20% de l'héritabilité de maladie cardiovasculaire/IDM (Ouweland & Bloodomics Cardiogenics, 2009), ce qui signifie qu'un nombre considérable d'allèles à risque reste à identifier. Les loci identifiés dans le cadre d'études de type GWA sur les maladies cardiovasculaires sont représentés dans le tableau VII.

Tableau VII: Résumé des loci identifiés à partir des études GWA de IDM.

Trait	Gene	Locus	Effet	P	N	Ref
IDM	BRAP	12q24	1.47	1 x 10 ⁻²⁴	7228	1
IDM	CDKN2A-CDKN2B	9p21	1.29	3 x 10 ⁻⁴⁴	25538	1
IDM	CELSR2-PSRC1-SORT1	1p13	1.19	8 x 10 ⁻¹²	25538	1
IDM	MIA3	1q41	1.14	1 x 10 ⁻⁹	25538	1
IDM	CXCL12	10q11	1.17	7 x 10 ⁻⁹	25538	1
IDM	MTHFD1L	6q25	1.09	2 x 10 ⁻⁵	25538	1
IDM	SMAD3	15q22	1.05	0.02	25538	1
IDM	Neant	2q36	0.95	0.005	25538	1
IDM	SLC5A3-MRPS6-KCNE2	21q22	1.2	6 x 10 ⁻¹¹	25538	1
IDM	PHACTR1	6q24	1.15	1 x 10 ⁻⁹	25538	1
IDM	WDR12	2q33	1.24	1 x 10 ⁻⁸	25538	1
IDM	LDLR	19p13	1.18	2 x 10 ⁻⁹	25538	1
IDM	PCSK9	1q32	1.12	10 x 10 ⁻⁹	25538	1
IDM /CAD	MRAS	3q22	1.15	7 x 10 ⁻¹³	40773	2
IDM /CAD	LPA	6q25	1.82	4 x 10 ⁻¹⁵	19262	3

Les résultats des études GWA de IDM: Infarctus Du Myocarde / CAD: Maladie coronarienne. Les résultats sont présentés par les associations génétiques les plus forts de l'étude avec la plus grande taille de l'échantillon. 1: Katherisan et al.(Kathiresan et al, 2009b). 2: Erdmann et al.(Erdmann et al, 2009). 3: Tregouet et al.(Tregouet et al, 2009).

II.2.2.2. GWAS sur les Traits lipidiques

Une meilleure compréhension des gènes impliqués dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines a été acquise grâce aux études d'association génome entier (GWA) sur les traits lipidiques, en particulier le LDL-cholestérol, HDL-cholestérol et Triglycéries, et de la maladie coronarienne et d'IDM à apparition précoce. La maladie coronarienne est une maladie hétérogène, causée par de nombreux facteurs de risque différents. Ainsi, l'étude des facteurs de risque, tels que les lipides, dans les études génétiques est très utile pour élucider les composantes génétiques de la maladie coronarienne.

Une des premières études GWA sur les lipides a été réalisée par "Diabetes Genetics Initiative" (DGI) (Saxena et al, 2007) qui a identifié un nouveau locus pour les triglycérides, protéine régulatrice de la glucokinase (GCKR), en examinant 386 731 SNP chez 1464 patients avec diabète de type 2 et 1467 témoins appariés avec la réplique sur 29 623 personnes de l'étude de la DGI, « Wellcome Trust Case-Control Consortium (WTCCC)/United Kingdom Type 2 Diabetes » (UKT2D) et « the Finland-United States Investigation of NIDDM Genetics » (FUSION). Il s'est avéré plus tard que ces premières études étaient de faible puissance en raison de la petite taille de l'effet de ces variantes.

Ainsi, les groupes de recherche ont formé de grands consortiums afin de combiner des ensembles de données GWA pour augmenter la taille de l'échantillon et d'effectuer de grandes

méta-analyses d'études. Deux études publiées simultanément montrent que, dans une étude GWA de 8816 personnes avec réplique sur plus de 10.000 personnes (Kathiresan et al, 2008);(Willer et al, 2008), 19 loci ont été associés avec soit LDL-cholestérol, HDL-cholestérol ou triglycérides. En particulier, les SNPs localisés dans les gènes: *CETP*, *LIPC*, *LPL*, *GALNT2*, *LIPG*, *ABCA1*, *MVK/MMAB*, *LCAT* et *GRIN3A* ont été associés avec le HDL-cholestérol, les SNPs dans le cluster *APOE/C1/C4*, *CELSR2/PSRC1/SORT1*, *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *NCAN/CILP2*, *B3GALT4*, *B4GALT4* ont été associés avec LDL-C, et les SNPs dans *GCKR*, *APOA5/A4/C3/A1*, *LPL*, *TRIB1*, *MLXIPL*, *ANGPTL3*, *NCAN/CILP2*, *LIPC*, *GALNT2* ont été associés avec les Triglycérides. Certaines associations observées résident dans des gènes connus de la voie lipidique tels que *LCAT*, *LDLR*, *APOB* and *PCSK9*, tandis que d'autres sont nouveaux (*CELSR2/PSRC1/SORT1*, *CILP2/PBX4*, *GALNT2*, *BCL7B/TBL2/MLXIPL*, *TRIB1* et *ANGPTL3/DOCK7/ATG4C*).

Les gènes identifiés à partir de ces études ont révélé de nouvelles connaissances biologiques dans la physiopathologie et la biologie du métabolisme des lipides et des lipoprotéines (Lusis & Pajukanta, 2008). En outre, Willer et al. ont montré que les variants génétiques qui ont influencé le LDL-cholestérol ont également contribué au risque de coronaropathie à un degré beaucoup plus élevé que les SNP associés au HDL-cholestérol et aux triglycérides (Willer et al, 2008). Cette approche, appelée randomisation mendélienne (Smith & Ebrahim, 2003), montre la causalité de LDL-cholestérol pour la maladie coronarienne parce que les génotypes d'une personne sont assignés au hasard à la méiose, éliminant ainsi les biais par des variables de confusion et réduisant les conclusions parasites dans épidémiologie observationnelle (Smith et al, 2007).

Récemment, deux études GWA de lipides dans plus de 17 000 personnes (Aulchenko et al, 2009; Kathiresan et al, 2009c) et une étude GWA de ~4000 personnes dans la population génétiquement et environnementalement homogène de la Finlande ont été publiés simultanément (Sabatti, et al., 2009). Sabatti et al. a travaillé sur une cohorte où tous les participants sont nés la même année, et des données longitudinales ont été recueillies sur plusieurs décennies (Sabatti et al, 2009). Ce qui a éliminé l'âge comme facteur de confusion potentiel et minimisé l'hétérogénéité dans les expositions environnementales entre les individus de la cohorte. Cette étude reproduit des découvertes antérieures et identifie de nouvelles associations avec HDL-cholestérol (*NR1H3*, chr17p13) et LDL-cholestérol (*AR*, *CRIL*). Kathiresan et al. rapportent des associations aux niveaux de 30 loci qui influencent le LDL-cholestérol, HDL-cholestérol et les triglycérides et identifient plusieurs signaux indépendants au niveau de plusieurs de ces loci en utilisant l'analyse conditionnelle de SNP

(Kathiresan et al, 2009c), qui consiste à ajuster pour le SNP d'un locus fortement associé et de tester l'association pour d'autre SNP dans la région. Cette analyse a montré que plusieurs SNP qui ne sont pas en LD avec d'autre dans le même locus peuvent contribuer de manière indépendante aux traits lipidiques. De plus, plusieurs des SNP associés étaient non-codants et impliqués dans l'expression des gènes dans le foie humain, ce qui suggère que la plupart des variantes génétiques présentent des rôles cis-régulateurs plutôt que des effets directs sur la structure de la protéine.

Aulchenko et al. ont identifié 22 loci, dont six nouveaux en combinant la cohorte de naissances du nord de la Finlande avec 15 autres cohortes et d'études familiales européennes (Aulchenko et al, 2009). Fait intéressant, des interactions sexe-spécifiques ont été révélés pour HMGCR, NCAN et LPL, ce qui suggère que les effets génétiques sur les traits lipidiques peuvent différer entre hommes et femmes. Cette étude a également construit des profils de risque génétiques basés sur toutes les variantes qui ont été identifiés et ont constaté que le score de risque ne prédit que de 3 - 5% de la variance totale de trait, ce qui compatible avec les effets de petite taille observées pour ces SNP. Un résumé des loci identifiés à partir de GWAS de lipides peut être trouvé dans le tableau VIII.

Tableau VIII: Résumé des loci identifiés à partir des études GWA sur les traits lipidiques.

Trait	Gene	Locus	Effect	P	N	Ref
LDL-C	ABCG8	2p21	0.15	2 x 10 ⁻²⁰	23456	1
LDL-C	TIMD4-HAVCR1	5q23	-0.07	1 x 10 ⁻¹¹	27280	1
LDL-C	MAFB	20q12	-0.06	4 x 10 ⁻⁹	28895	1
LDL-C	HNF1A	12q24	0.07	2 x 10 ⁻⁸	39340	1
HDL-C	FADS1-FADS2-FADS3	11q12	-0.09	2 x 10 ⁻¹²	40330	1
HDL-C	LCAT	16q22	0.07	9 x 10 ⁻¹³	31946	1
HDL-C	TTC39B	9p22	-0.09	3 x 10 ⁻¹⁰	40414	1
HDL-C	HNFA	20q13	-0.19	8 x 10 ⁻¹⁰	30714	1
HDL-C	PLTP	20q13	-0.07	4 x 10 ⁻⁹	40248	1
HDL-C	ANGPTL4	19p13	-0.12	1 x 10 ⁻⁸	35151	1
TG	FADS1-FADS2-FADS3	11q12	0.06	2 x 10 ⁻¹⁴	38846	1
TG	PLTP	20q13	0.07	7 x 10 ⁻¹¹	38561	1
TG	XKR6-AMAC1L2	8p23	-0.04	3 x 10 ⁻⁸	33336	1
LDL-C	CELSR2, PSRC1, SORT1	1p13	-0.23	2 x 10 ⁻⁴²	19648	1
LDL-C	APOB	2q24	-0.16	5 x 10 ⁻²⁹	19648	1
LDL-C	APOE-APOC1-APOC4-APOC2	19q13	0.29	4 x 10 ⁻²⁷	11881	1
LDL-C	LDLR	19q13	-0.26	2 x 10 ⁻²⁶	19648	1
LDL-C	HMGCR	5q13	0.07	8 x 10 ⁻¹²	19648	1
LDL-C	NCAN,CILP2,PBX4	19p13	-0.05	2 x 10 ⁻⁸	19648	1
LDL-C	PCSK9	1p32	-0.09	4 x 10 ⁻⁸	19629	1
HDL-C	CETP	16q13	0.25	4 x 10 ⁻⁷⁵	19794	1
HDL-C	LPL	8p21	0.23	2 x 10 ⁻³⁴	19794	1
HDL-C	LIPC	15q22	0.1	8 x 10 ⁻²³	19794	1
HDL-C	LIPG	18q21	-0.14	7 x 10 ⁻¹⁵	19785	1
HDL-C	APOA1-APOC3-APOA4-APOA5	11q23	-0.17	1 x 10 ⁻¹²	19794	1
HDL-C	MMAB, MVK	12q24	-0.07	1 x 10 ⁻¹⁰	19793	1
HDL-C	ABCA1	9q31	-0.08	1 x 10 ⁻⁹	19371	1
HDL-C	GALNT2	1q42	-0.05	4 x 10 ⁻⁸	19794	1
TG	APOA1-APOC3-APOA4-APOA5	11q23	0.3	4 x 10 ⁻⁶²	19840	1
TG	LPL	8p21	-0.25	2 x 10 ⁻⁴¹	19840	1
TG	GCKR	2p23	0.12	2 x 10 ⁻³¹	19840	1
TG	TRIB1	8q24	-0.11	3 x 10 ⁻¹⁹	19840	1
TG	MLXIPL	7q11	-0.16	3 x 10 ⁻¹⁵	19840	1
TG	APOB	2p24	-0.08	9 x 10 ⁻¹²	19840	1
TG	NCAN, CILP2, PBX4	19p13	-0.11	4 x 10 ⁻¹¹	19840	1
TG	ANGPTL3	1p31	-0.05	3 x 10 ⁻⁷	19834	1
TG		15q14	0.069	4 x 10 ⁻⁷	4526	2
HDL-C		17p13	0.052	2 x 10 ⁻⁷	4525	2
LDL-C	CR1L	1q32	0.1	2 x 10 ⁻⁷	4472	2
LDL-C	AR	Xq12	0.296	2 x 10 ⁻⁷	4518	2
HDL-C	NR1H3	11p11	0.04	4 x 10 ⁻⁸	4525	2
HDL-C	CTCF-PRMT8	16q22	-0.129	8 x 10 ⁻¹⁶	21412	3
LDL-C	DNAH11	7p15	0.089	6 x 10 ⁻⁹	17797	3

Table 1. Loci identifiés lors de GWAS sur LDL-cholestérol, HDL-cholestérol, et triglycérides- 1: Kathiresan et al. (Kathiresan et al, 2009c)2: Sabbatti et al. (Sabbatti et al, 2009)3: Aulchenko et al. (Aulchenko et al, 2009)

À ce jour, les études GWA de traits de lipides ont été réalisées principalement dans les populations européennes (Aulchenko et al, 2009; Kathiresan et al, 2008; Kathiresan et al, 2009c; Sabatti et al, 2009; Willer et al, 2008) tandis qu'une étude GWA pour les triglycérides a été effectuée dans les Sud-Asiatiques (Kooner et al, 2008). Certaines études ont examiné les SNP associés aux lipides et MCV identifiés dans les études GWA européennes sur d'autres populations ethniques. En particulier, (Nakayama et al, 2009) montre que les SNPs dans *MLXIPL*, *TRIB1* and *GALNT2* sont associés avec les TG, les SNPs dans *TRIB1* sont associés avec LDL-C mais les SNPs dans *CILP2* et *MMAB* ne sont associés à aucun trait lipidique dans un échantillon Japonais. Tai et al ont démontré l'association de SNPs dans les locis *TRIB1* et *GALNT2* avec le LDL-cholestérol et de SNP dans le locus *CILP2/PBX4* avec HDL-cholestérol dans une population malaise (Tai et al, 2009). Lanktree et al ont également montré des associations de SNP dans le *MLXIPL* et *ANGPTL3* avec les Triglycérides, des associations significatives ont été reportées également entre des SNPs dans *GALNT2* avec HDL-cholestérol, et les SNP dans *CELSR2/PSRC1/SORT1* avec LDL-cholestérol dans un échantillon multiethnique (Lanktree et al, 2009). Les SNPs dans la région 9p21 ont également été associés à l'IDM dans plusieurs groupes ethniques différents, dont les chinois (Ding et al, 2009); les sud Koreens (Shen et al, 2008) et les Hispaniques (Assimes et al, 2008).

II.3. Apolipoprotéine E

II.3.1 Structure de l'Apolipoprotéine E

L'apolipoprotéine E (APOE) est une glycoprotéine de 299 acides aminés, ayant un poids moléculaire de 34 kDa. Elle fut identifiée pour la première fois comme un constituant des VLDL (Very Low Density Lipoprotein) en 1973 par Shore et al (1973) (Shore & Shore, 1973) ; elle est présente également dans les résidus de chylomicrons et de HDL. L'APOE est synthétisée majoritairement au niveau du foie (60-80% de la production totale), mais elle est aussi produite par les surrénales, le rein, les cellules du système réticuloendothélial et le cerveau.

Le clivage à la thrombine révèle deux domaines structuraux correspondant à deux domaines fonctionnels (Aggerbeck et al, 1988; Wetterau et al, 1988); La partie N-terminale (1-191) (22 kDa) comporte quatre hélices α amphiphiles de 22 acides aminés arrangées de façon antiparallèle et un domaine riche en acides aminés basiques (lysine et arginine) qui représente un site de fixation à l'héparine (142-147) (Weisgraber et al, 1986; Wilson et al, 1991) et de liaison avec le récepteur LDL (141-155) (Innerarity et al, 1983; Weisgraber et al,

1983). Le domaine de charges positives formé des résidus basiques va interagir avec les charges négatives des récepteurs LDL. La partie C-terminale (216-299) (10 kDa) joue un rôle majeur dans le transport des lipides, grâce à un site de liaison aux lipides (244-272) (Weisgraber et al, 1990). La région située entre ces deux domaines fonctionnels a une structure non ordonnée, sensible au clivage protéasique. Bien qu'ils soient indépendants, ces deux domaines (N-terminal et C-terminal) peuvent avoir une influence sur les propriétés de l'autre (Figure 3).

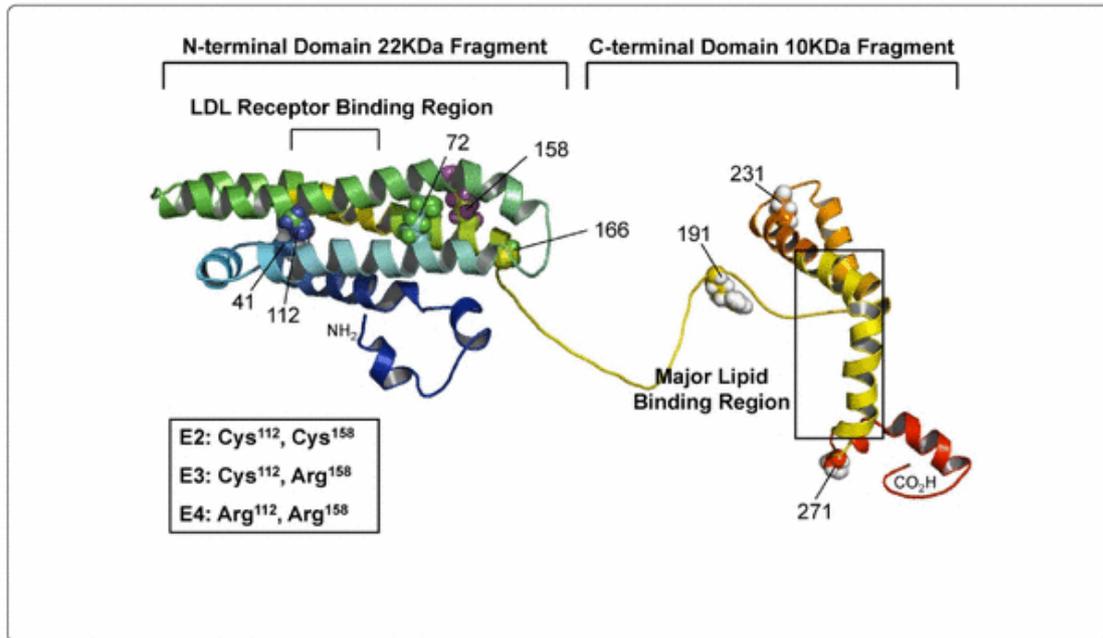


Figure 3: Structure de l'Apolipoprotéine humaine (Hsieh & Chou, 2011)

II.3.2. Rôle de l'Apolipoprotéine E

Son rôle principal est le transport du cholestérol, elle assure la liaison des lipoprotéines où elle se trouve aux récepteurs de haute-affinité (récepteurs de l'APO B/E) situés à la surface des cellules du foie et des autres tissus permettant ainsi l'internalisation de ces lipoprotéines et la libération de leur contenu en cholestérol à l'intérieur de la cellule. Elle permet aussi la liaison des résidus de chylomicrons et de VLDL à des récepteurs plus spécifiques (récepteurs de l'APOE) situés à la surface des cellules hépatiques afin d'éliminer ces résidus de la circulation plasmatique et les dégrader (Robitaille, 1994). Elle est aussi le ligand du LRP (LDL receptor-Related Protein) pour l'endocytose des TRL (Triglyceride-Rich Lipoproteins), facilitant la clairance hépatique des LDL, des TRL et leurs remnants. En effet, au niveau des intestins, les chylomicrons riches en triglycérides exogènes sont sécrétés par les entérocytes dans la circulation, sous l'action de la lipoprotéine lipase, ces triglycérides libèrent des acides

gras libres récupérés entre autre par les adipocytes. Les chylomicrons remnants résultants de l'action de la lipoprotéine lipase et contenant de l'APOB-48 et de l'APOE sont alors internalisés par les hépatocytes pour être dégradés via le récepteur des chylomicrons remnants.

Au niveau du foie, les TRL sont également hydrolysées par la lipoprotéine lipase et libèrent des acides gras libres. Les particules qui en résultent peuvent alors suivre deux voies métaboliques :

- 1- Etre internalisées suite à la reconnaissance des APOB et/ou APOE par les LDL-récepteurs ou par les récepteurs des chylomicrons au niveau du foie ou alors,
- 2- Devenir progressivement des LDL, le mécanisme étant régulé par l'APOE. Les LDL ne contenant plus que l'APOB-100, sont alors capturés par les LDL-récepteurs (Lambert, 1999)

Enfin, elle stimule l'activité de la lipase hépatique sur les particules HDL, favorisant ainsi le recyclage de particules HDL natives (Barrans et al, 1994; Thuren et al, 1992).

II.3.3.Le gène de l'APOE

Le gène de l'APOE est situé à l'extrémité centromérique d'un cluster contenant également l'Apo-CI et l'Apo-CII situé sur le chromosome 19 dans la région 13q2 (Myklebost & Rogne, 1988). C'est un petit gène de 3597 bp, composé de 4 exons et 3 introns, le premier exon est non codant, le second code pour un peptide signal, le troisième pour les 61 premiers acides aminés et le quatrième pour l'essentiel de la protéine mature, (Das et al. 1985). Son ARNm est constitué de 1163 nucléotides et conduit à une protéine de 317 acides aminés, après excision, la protéine mature obtenue est de 299 acides aminés, avec une masse moléculaire de 34 KDa.

Les régions régulatrices du gène de l'APOE sont peu connues, quatre séquences augmentant la transcription, ont été décrites au niveau du promoteur du gène (Jo et al, 1995; Paik et al, 1988). Ces séquences ne semblent pas contrôler la spécificité de l'expression tissulaire de ce gène. Ainsi, la séquence URE1 semble ne pas être sensible au type cellulaire. De la même manière, même si l'augmentation de la transcription liée aux séquences régulatrices URE2 et IRE1 pourraient différer en fonction du type cellulaire, ces séquences sont fonctionnelles dans toutes les lignées testées (Paik et al, 1988).

Les régions régulant la spécificité tissulaire de l'expression du gène de l'APOE, semblent se situer en aval du gène. Des éléments contrôlant l'expression hépatique ont été caractérisés, il

s'agit des régions (HCR.1 et HCR.2) localisées respectivement à 15 kb et 26 kb en aval du gène de l'APOE (Allan et al, 1997). Même si ces deux éléments sont nécessaires et suffisants pour l'expression dans le foie de l'APOE, il semblerait cependant, que l'élément HCR.1 soit le plus important. En effet, cette région contient une séquence consensus permettant de fixer le facteur de transcription HNF-5, spécifique à l'expression hépatique (Schachter et al, 1994) (Figure 2). Les séquences essentielles à l'expression de l'APOE au niveau cérébral sont peu connues, il semblerait toutefois qu'une région à 1.7kb en aval du gène de l'APOE (région ME-1) soit nécessaire à son expression cérébrale (Simonet et al, 1991).

II.3.4 Polymorphismes de l'APOE et impact sur le bilan lipidique

Il existe à ce jour plus de 194 SNPs répertoriés sur le gène de l'APOE, certains d'entre eux modifient la structure de la protéine, dont la plupart ont été mis en évidence dans des formes familiales d'hypercholestérolémie et sont donc rares, le plus connu étant le polymorphisme epsilon (rs7412 et rs429358), aux niveaux des codons 112 et 158 et permet de définir trois allèles majeurs du gène de l'APOE.

II.3.4.1 Polymorphisme epsilon de l'APOE (rs7412 et rs429358)

Utermann et al décrit en 1977 pour la première les trois isomorphes de l'APOE, qui diffèrent en fonction de leurs points isoélectriques déterminés par électrophorèse en gradient de pH (Utermann et al, 1977). Les isomorphes principaux E2, E3, E4, sont le produit des allèles ϵ_2 , ϵ_3 , ϵ_4 . La fréquence de ces allèles varie selon les populations (Figure 4). En particulier pour l'allèle ϵ_4 pour lequel elle varie d'environ 5% dans les populations d'Extrême-Orient jusqu'à 36,8% dans les populations de Polynésie. En Europe la fréquence de cet allèle suit un gradient Nord-Sud, allant de 0,22 en Finlande à 0,06 en Italie (Deiana et al, 1998; Ehnholm et al, 1986). Ce gradient Nord-Sud décroissant de la fréquence de l'APOE ϵ_4 est d'un intérêt particulier car il est parallèle aux taux de mortalité par maladie coronarienne (Schiele et al, 2000). Toutefois l'allèle ϵ_3 reste le plus fréquent (Hallman et al, 1991).

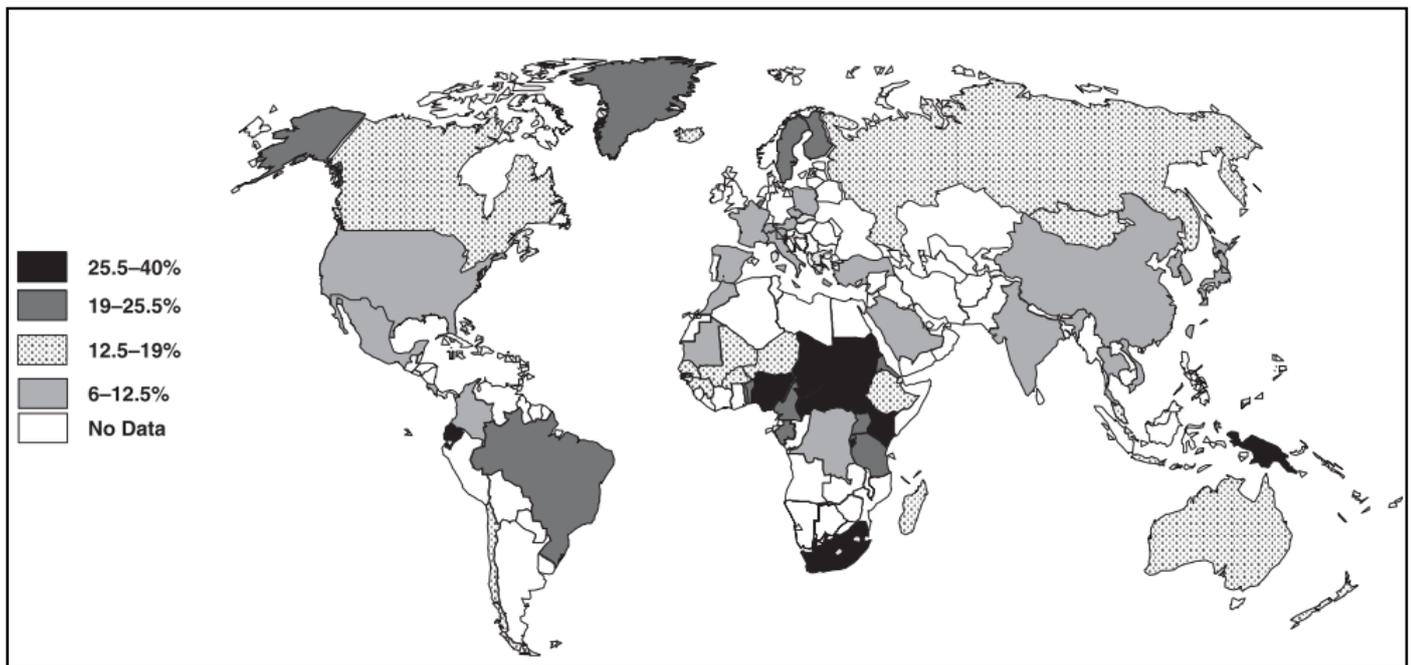
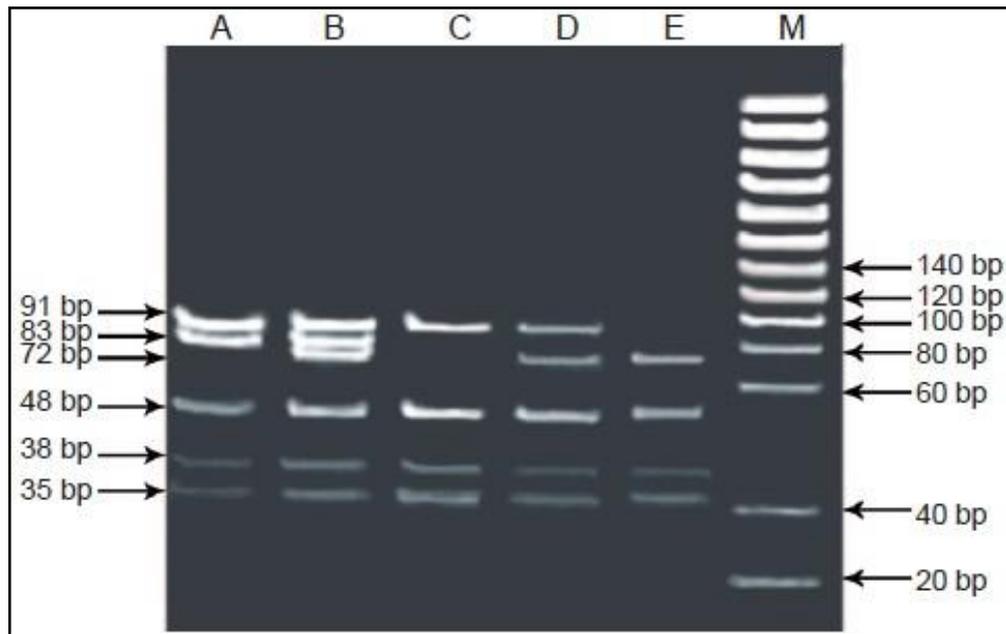


Figure 4: Distribution des fréquences de l'allèle ϵ_4 dans le monde (Singh et al, 2006).

Ces trois allèles peuvent donner six génotypes: trois génotypes homozygotes (ϵ_2/ϵ_2 , ϵ_3/ϵ_3 , ϵ_4/ϵ_4) et trois génotypes hétérozygotes (ϵ_3/ϵ_2 , ϵ_3/ϵ_4 , ϵ_2/ϵ_4). Le génotype le plus commun est ϵ_3/ϵ_3 ; Les différences entre les trois allèles résultent d'une transition de cytosine à thymine aux positions 112 et 158 conduisant à des modifications des sites de restriction HhaI (Appel et al, 1995; Hixson & Vernier, 1990) de telle sorte qu'un génotypage direct est possible par Polymerase Chain Reaction (PCR) suivi de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) (Hixson & Vernier, 1990) (Figure 5).



(A) $\epsilon 2/\epsilon 3$. (B) $\epsilon 2/\epsilon 4$. (C) $\epsilon 3/\epsilon 3$. (D) $\epsilon 3/\epsilon 4$. (E) $\epsilon 4/\epsilon 4$

Figure 5: Profil électrophorétique du polymorphisme epsilon/Hha I (Zhou et al, 2014)

Les formes E2 et E4 diffèrent chacune de la forme E3 par un seul acide aminé en position 112 ou 158, qui peut être occupé soit par une cystéine soit par une arginine. L'APOE2 comprend deux cystéines, l'APOE3 comprend une cystéine en position 112 et une arginine en position 158, et l'APOE4 deux arginines en positions 112 et 158 (Figure 6).

Beaucoup d'études se sont intéressées à l'étude de l'association entre le polymorphisme epsilon de l'APOE et les variant du bilan lipidique. Il est établi, quelque soit l'origine ethnique, que l'allèle $\epsilon 2$ exerce un effet protecteur alors que l'allèle $\epsilon 4$ exerce un effet délétère sur le bilan lipidique. L'allèle $\epsilon 4$ est associé à des concentrations de total cholestérol et de LDL-cholestérol plus élevés, alors que l'allèle APOE $\epsilon 2$ est associé à des effets opposés (Costanza et al, 2012; Wilson et al, 1994), l'inverse étant observé pour la triglycéridémie et ce, quelle que soit la population (Davignon et al, 1988; Hallman et al, 1991). Malgré la grande diversité ethnique de ces études, les associations relevées entre les concentrations de lipides plasmatiques et les génotypes de l'APOE se sont avérées être constantes, les génotypes s'ordonnent ainsi: $\epsilon 2/\epsilon 2 < \epsilon 3/\epsilon 2 < \epsilon 3/\epsilon 3 < \epsilon 4/\epsilon 2 < \epsilon 4/\epsilon 3 < \epsilon 4/\epsilon 4$, de la concentration la plus basse vers la concentration la plus élevée en cholestérol (Weisgraber et al, 1983).

Les populations maghrébines ne font pas exception, en effet les études sur la population tunisienne montrent le même effet des allèles du polymorphisme epsilon de l'APOE sur le bilan lipidique, (Bahri et al, 2008; Jemaa et al, 2006) (Bahri et al, 2008); (Jemaa et al, 2006). Les études sur la population marocaine sont en accord avec cela, l'allèle

$\epsilon 4$ est associé à des concentrations élevées de total et de LDL-cholestérol alors que l'allèle $\epsilon 2$ exerce l'effet inverse (Lahlali-Kacemi et al, 2002). Ceci confirme le fait, que le polymorphisme epsilon de l'APOE exerce le même effet sur le bilan lipidique, dans toutes les populations du monde, ce qui fait de ce polymorphisme un excellent marqueur de risque cardiovasculaire. Cependant, des différences significatives sont enregistrées entre les différentes populations. Cela suggère que l'effet de l'APOE sur les concentrations du cholestérol sanguin chez un individu, pourrait être influencé par des facteurs ethniques et environnementaux. Ces observations s'expliquent essentiellement par l'affinité différente de ces isoformes pour leurs récepteurs, ainsi l'APOE2 a une affinité diminuée aux LDL-récepteurs par rapport à l'isoforme APOE3, ce qui se traduit par un transfert ralenti des chylomicrons et VLDL remnants dans les hépatocytes et donc une accumulation de ces particules dans le plasma. Par ailleurs, l'APOE2 serait également associée à une altération de l'activité des lipases aboutissant à un défaut de conversion des VLDL en LDL et donc à une diminution de production de LDL, augmentant ainsi l'accumulation des VLDL (Chung & Segrest, 1983). Ces modifications ont pour conséquence, la déplétion du contenu intracellulaire en cholestérol et une stimulation de la synthèse des LDL-récepteurs, ce qui aboutit donc à accentuer la diminution de la concentration de LDL-cholestérol dans le compartiment plasmatique.

A l'opposé, l'APOE4 présente une affinité aux LDL-récepteurs similaire à celle observée pour l'APOE3 (Weisgraber et al, 1983), la conversion des VLDL en LDL est très rapide, ainsi, les chylomicrons et les VLDL sont catabolisés très efficacement.

De manière générale, l'allèle $\epsilon 4$ a un rôle athérogène bien établi. Cependant le rôle protecteur de l'allèle $\epsilon 2$ l'est moins, car l'effet de ce dernier est très sensible à l'environnement, particulièrement en ce qui concerne l'effet sur les trigycérides.

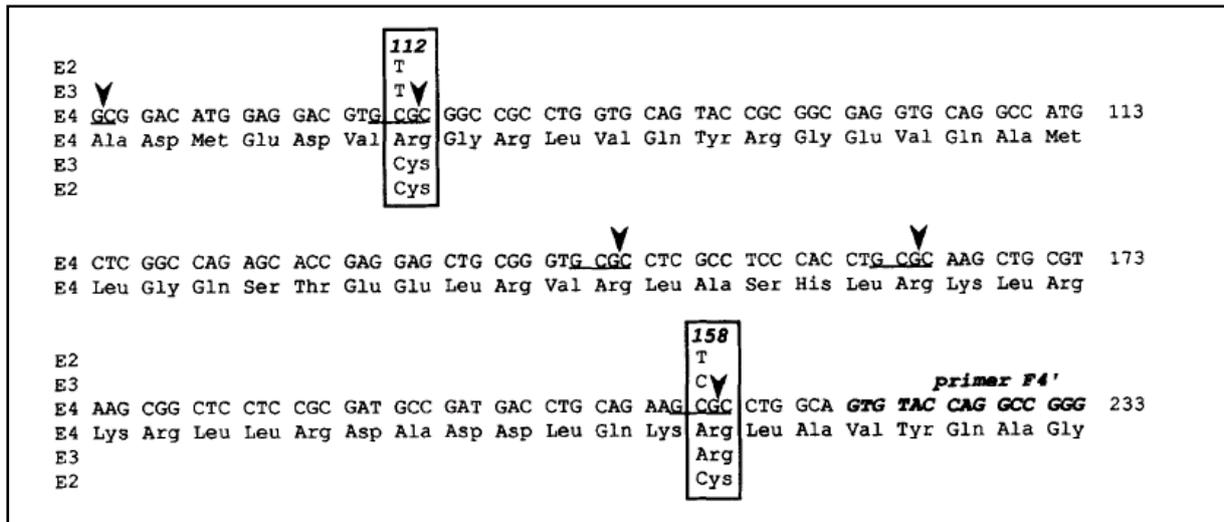


Figure 6: Substitutions des nucléotides et des acides aminés distinguant les trois isoformes de l'APOE (Hixson 1990).

II.3.4.2 Polymorphismes rs439401 et rs4420638

Les résultats de nombreuses GWAS (Genome Wide Association Studies) sur les traits lipidiques ont révélé un bon nombre de SNPs ayant un impact sur les paramètres du bilan lipidique parmi lesquels deux polymorphismes situés dans des régions non codantes et dont le rôle reste à élucider. Les résultats reportés dans des méta-analyses de GWA dans 16 cohortes européennes montrent que le rs439401 situé dans le cluster APOE/APOC1 (figure 7), en amont du gène APOC1 est associé à des concentrations élevées de triglycérides, et à de faibles concentrations de HDL-Cholestérol. La fréquence de l'allèle mineur varie 0.33 to 0.36 dans les populations européennes (Aulchenko et al, 2009; Teslovich et al, 2010).

Le rs4420638, situé à environ 14 kb en aval du locus de l'APOE (figure 7), dans le gène adjacent APOC1, montre une co-ségrégation avec l'APOE. La fréquence de l'allèle mineur est de 0.18 dans la population européenne (Kathiresan et al, 2008; Teslovich et al, 2010; Willer et al, 2008). Le rs4420638 n'est pas indépendant du rs429358. Il est estimé que l'association entre le rs4420638 à la maladie d'Alzheimer est due à sa proximité avec rs429358. Le rs4420638 est également associé à de faibles concentrations de HDL-cholestérol, à des concentrations élevées de cholestérol total et de LDL-cholestérol, ainsi qu'à des valeurs élevées de ratios Total-cholestérol/HDL-cholestérol et LDL-cholestérol/HDL-cholestérol.

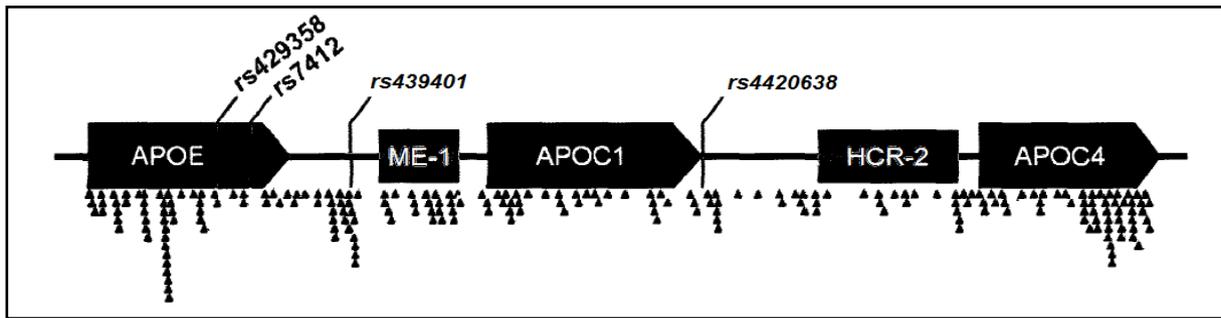


Figure 7: Localisation des SNPs étudiés dans le cluster APOE/C1/C4.

Les positions relatives des rs429358 (localisation chromosomique: 44908684), rs7412 (44908822), rs439401(44911194) et rs4420638 (44919689) sont indiquées dans le schéma. Les flèches indiquent l'orientation de la transcription des gènes de l'apolipoprotéine. Rectangles: régions amplificatrices. ME-une région amplificatrice contrôle l'expression de l'apolipoprotéine dans le système nerveux central et pourrait jouer un rôle dans la maladie d'Alzheimer. HCR-2 région activatrice contrôle l'expression dans les hépatocytes et pourrait affecter la physiologie des MCV.

II.3.5. Etudes d'association impliquant le polymorphisme epsilon de l'APOE

Outre son association avec les concentrations du bilan lipidique, décrite précédemment, le polymorphisme epsilon de l'APOE est associé à divers troubles cardiométabolique

II.3.5.1. Association entre le polymorphisme APOE epsilon et le diabète

De par son rôle important dans le métabolisme lipidique, le gène de l'APOE est un gène candidat pour le développement du diabète de type 2 (DT2). Une méta-analyse de 30 études incluant 5423 cas et 8197 témoins a montré que les sujets porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ présentaient un risque élevé de diabète de type 2 (OR=1,18, [1,02-1,35], $p=0,023$), ainsi l'allèle $\epsilon 2$ semble être un facteur de risque modéré pour le diabète de type 2 (Anthopoulos et al, 2010).

Une autre étude de type cas/témoin révèle en revanche une association de l'allèle $\epsilon 4$ avec un risque accru de DT2 (OR=2.04, IC à 95% [1.07-3.86], $p=0.029$). En étudiant l'effet combiné du génotype et de l'obésité ou le tabagisme, le risque de DT2 est 5 fois plus élevé chez les sujets de génotype $\epsilon 3\epsilon 4$ (OR=4,93, IC à 95% [1,74-13,98], $p=0,003$) (Chaudhary et al, 2012). Très peu d'études se sont intéressées à étudier l'association du polymorphisme epsilon de l'APOE et le diabète dans les populations arabes et Nord africaines, en effet seule une étude sur la population marocaine a exploré cette association. Cependant, aucune association significative n'a été retrouvée (Bennouar et al, 2004).

Une étude cas/témoins sur la population saoudienne rapporte une association significative entre l'allèle $\epsilon 4$ et la survenue du DT2, les sujets porteurs du génotype $\epsilon 4\epsilon 4$ présentent un OR

de 4.39 (IC à 95 % [2,16–8,92]; $p=0,0001$) (Alharbi et al, 2014). La population Algérienne n'ayant jamais bénéficié d'études de ce genre, il s'avère intéressant d'étudier l'association du polymorphisme epsilon avec le DT2 sur un échantillon de la population Algérienne.

II.3.5.2. Association entre le polymorphisme APOE epsilon et l'obésité

De nombreuses études se sont intéressées à analyser l'association entre le polymorphisme epsilon de l'APOE et l'obésité dans le monde. Cependant, ces études présentent des disparités concernant l'allèle associé au risque d'obésité. L'allèle $\epsilon 2$ semble être un excellent prédicteur d'obésité dans la population croate. En effet, l'étude menée par Zeljko et al révèle une association significative entre l'allèle $\epsilon 2$, et le risque non seulement d'obésité abdominale mesurée par le tour de taille (OR=3,30, IC à 95% [1,25-8,69], $p=0,016$), mais aussi de l'obésité définie par l'IMC (OR=3,55, IC à 95% [1,47-8,56]; $p=0,005$) (Zeljko et al, 2011). En revanche, lors d'une étude menée sur la population brésilienne, Alvim et al, rapportent une association significative entre l'allèle $\epsilon 4$ et le risque d'obésité ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$) (OR=1,35, IC à 95% [1,02-1,81], $p=0,04$) (Alvim et al, 2010), ces résultats, confirment les résultats publiés précédemment et qui rapportent également l'association entre l'allèle $\epsilon 4$ et le risque d'obésité (Carmo Martins et al, 2008; Kolovou et al, 2009).

L'obésité peut également moduler l'effet du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les concentrations de lipides et d'insuline. En effet, lors d'une analyse d'interaction, Marques-Vidal et al ont rapporté des interactions significatives ($p < 0,04$) entre l'APOE et les valeurs élevées d'IMC pour le Total cholestérol et LDL-cholestérol, et les concentrations d'insuline. Les résultats de cette études montrent que l'augmentation des concentrations de ces paramètres en association avec l'IMC est plus forte chez les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ (Marques-Vidal et al, 2003).

II.3.5.3. Association entre le polymorphisme APOE epsilon et le Syndrome Métabolique

Peu d'études ont analysé l'effet du polymorphisme epsilon sur le risque de syndrome métabolique. Une étude réalisée par Tao et al sur un échantillon de la population chinoise, composé de 937 hommes 1385 femmes, a révélé une association significative entre l'allèle $\epsilon 4$ et un risque élevé de syndrome métabolique (OR=1.75, IC à 95% [1.17-2.63] chez les hommes (Tao et al, 2011b). Les résultats de l'étude d'Olivieri et al sur la population italienne

révèlent une association significative entre l'allèle $\epsilon 4$ et le risque de syndrome métabolique (OR=2.08, IC à 95% [1.22–3.5]; $p=0.007$) (Olivieri et al, 2007).

En l'absence de données concernant notre population, nous avons jugé nécessaire de procéder à l'analyse de l'association entre le polymorphisme étudié et le risque de survenue du Syndrome métabolique dans la population Algérienne.

II.3.5.4. Association entre le polymorphisme APOE epsilon et l'Hypertension artérielle

Comme pour le SM, peu d'études se sont intéressées à étudier l'association du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les populations Nord africaines, aucune étude sur la population algérienne n'a été menée.

Niu et al ont réalisé une méta-analyse multiethnique qui a regroupé les résultats de six études sur un total de 1812 patients hypertendus et 1762 témoins, et ont rapporté une association significative entre l'allèle $\epsilon 4$ et l'hypertension (OR=1,79, IC à 95% [1,04- 1,19]; $p=0,04$). Les porteurs du génotype $\epsilon 4\epsilon 4$ présentent un risque deux fois plus élevé en comparaison avec les porteurs du génotype $\epsilon 3\epsilon 3$ (OR=1,97, IC à 95% [1,11- 3,52]; $p=0,02$) (Niu et al, 2009). Olivieri et al rapportent également une association significative entre l'allèle $\epsilon 4$ et le risque d'hypertension dans la population italienne (OR=1,71, IC à 95% [1,09–2,68], $p=0,020$) (Olivieri et al, 2007).

Les résultats d'une autre méta-analyse multiethnique, sur un échantillon constitué de 45 études, sur un total de 13940 cas et 16364 témoins, révèle une augmentation du risque d'hypertension chez les sujets porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ avec un OR de 1,39, (CI à 95% [1,12, 1,72]) (Stoumpos et al, 2013)

En revanche, une étude sur la population chinoise, rapporte que c'est l'allèle $\epsilon 2$ qui est associé à un risque accru d'hypertension (OR=1,60, IC à 95% [1,02- 2,52]; $p=0,02$), cette étude n'a pas révélé d'association entre l'allèle $\epsilon 4$ et le risque d'hypertension artérielle (Tao et al, 2011a).

Cependant, les résultats d'une étude menée sur un échantillon de 1406 sujets de la population brésilienne, n'a révélé aucune association avec l'hypertension artérielle (Fuzikawa et al, 2008).

Les résultats contrastés, et l'absence de données concernant les populations nord africaines, et spécialement algérienne, nous a poussé à analyser l'éventuelle association entre

le polymorphisme epsilon de l'APOE et le risque d'hypertension dans notre échantillon de la population algérienne.

II.3.5.5. Association entre le polymorphisme APOE epsilon et les maladies cardio-vasculaires (MCV)

Plusieurs études ont exploré l'association du polymorphisme epsilon de l'APOE et la survenue de maladies cardiovasculaires, il a été démontré que les individus porteurs de l'allèle ϵ_4 ont un plus grand risque de développer une maladie cardiovasculaire en comparaison avec les sujets porteurs du génotype commun ϵ_3/ϵ_3 .

Le rôle délétère de l'allèle ϵ_4 a été rapporté dans plusieurs études. En 2004, dans une méta-analyse, Song et al ont regroupé les résultats de 48 études sur des populations européennes, nord américaines et asiatiques, publiés entre 1966 et 2004. Les résultats obtenus montrent qu'en comparaison avec les porteurs du génotype $\epsilon_3\epsilon_3$, les porteur de l'allèle ϵ_4 , avaient un risque augmenté de 42% de développer une MCV (OR=1,42, IC à 95% [1,26-1,61], tandis que l'allèle ϵ_2 ne montrait aucun d'effet (OR=0,93; IC à 95% [0,83 to 1,05] (Song et al, 2004). Les résultats d'une autre méta-analyse réalisée à partir des résultats de 40 études, comprenant un total de 4564 cas de maladie coronarienne et 3985 témoins, montrent des associations significatives entre l'allèle ϵ_4 et le risque de maladie avec un risque triplé en comparant les porteurs du génotype $\epsilon_4\epsilon_4$ aux porteurs du génotype commun $\epsilon_3\epsilon_3$ (OR=2,89, IC à 95% [1,87-4,47], $p < 0,00001$), la comparaison des porteurs de l'allèle ϵ_4 aux porteurs de l'allèle ϵ_3 , montre un risque double attribué à l'allèle ϵ_4 (OR=2,11, IC à 95% [1,91-2,35], $p < 0,00001$) (Yin et al, 2013). Ces deux méta-analyses n'ont montré aucune association significative avec l'allèle ϵ_2 .

Le rôle protecteur de l'allèle ϵ_2 été clairement indiqué dans une méta-analyse montée par Bennet et al, l'allèle ϵ_2 exerce un effet «protecteur» sur la survenue de maladies cardio-vasculaires, l'étude rapporte un risque réduit de 20%, OR (OR=0,80, IC à 95% [0,70-0,90], dans cette étude les porteurs de l'allèle ϵ_4 avaient seulement un risque légèrement accru (Bennet et al, 2007).

Peu de données sont disponibles quant à l'association du polymorphisme epsilon de l'APOE avec les maladie cardiovasculaires dans les populations nord africaines, car seule une étude sur la population tunisienne a été réalisée, et a rapporté une association significative entre l'allèle ϵ_4 et la sévérité de la maladie coronarienne (Bahri et al, 2008).

Chapitre III

Stratégie d'étude des MCV

III.1. Définition de facteur de risque cardiovasculaire

Un facteur de risque cardiovasculaire est par définition un facteur dont l'exposition augmente le risque de survenue d'une MCV, alors que son absence diminue ce risque. Son importance est évaluée par la force de l'association avec la maladie (exprimée par le risque relatif observé chez les sujets exposés par rapport aux non exposés), on peut parler donc d'une notion de causalité entre le facteur et la maladie. Ceci signifie que le facteur de risque précède l'apparition de la maladie (notion d'antériorité) et que la correction du facteur, soit en l'éliminant ou en diminuant le niveau d'exposition doit permettre de réduire l'incidence de la maladie (notion de réversibilité). Il doit bien sûr être reconnu dans plusieurs populations différentes et offrir une explication physiopathologique plausible de la maladie.

Lorsque la relation de causalité directe n'existe pas, on parle alors de "marqueur de risque", témoin d'un processus (par exemple, l'élévation de la protéine C réactive "CRP"). Alors que si un lien de causalité directe existe entre l'agent et la maladie, il s'agit dans ce cas d'un authentique facteur de risque. Il existe en revanche une relation linéaire entre le risque cardio-vasculaire et les taux de cholestérol total et de LDL-cholestérol qui peut être mise en évidence lors l'hypercholestérolémie familiale. En effet on note chez les patients atteints de cette maladie autosomale dominante une augmentation jusqu'à 5 fois plus que la normale des taux plasmatiques de LDL-cholestérol, 85% de ces patients font un infarctus du myocarde à 60 ans (Soutar & Naoumova, 2007). Gotto et Grundy reportent que la réduction des taux de LDL-cholestérol dans la population générale induit une diminution de l'incidence de l'athérosclérose (Gotto & Grundy, 1999). Par contre, le HDL-cholestérol a un effet protecteur sur l'apparition de l'athérosclérose (Gordon et al, 1977).

Dans nos analyses, nous allons tenter d'identifier de nouveaux variants génétiques qui pourraient être des biomarqueurs eux-mêmes ou pointent vers d'autres marqueurs pour des études supplémentaires, pour cela nous allons réaliser des analyses d'association avec des polymorphismes génétiques connus pour être impliqués dans la voie métabolique des lipides en prenant en considération statistique, les principaux facteurs de risque cardio-vasculaire tels que les facteurs physiologiques (âge, sexe et statut ménopausique), les facteurs liés au mode de vie tabagisme, activité physique, alcool) ainsi que les facteurs de syndrome métabolique (insulinorésistance ou diabète de type 2, dyslipidémie, l'obésité, hypertension artérielle).

III.2. Notion de Polymorphisme

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

-Les polymorphismes de séquence qui peuvent être des mutations ponctuelles ne touchant qu'un seul nucléotide, ceux-ci sont dus le plus souvent à la substitution d'un seul nucléotide appelé SNP (Single Nucleotide Polymorphism) ou alors des insertions/Délétions d'une séquence nucléotidique ; ces polymorphisme peuvent être localisés le long du génome aussi bien sur les régions introniques ou exoniques que sur des les régions inter-géniques.

Les SNPs sont des variations ponctuelle de séquence, ce sont les polymorphismes les plus fréquents, en effet ils représentent 90% de la variation génétique chez l'homme. Les polymorphismes les plus faciles à mettre en évidence sont ceux localisés sur des sites de restriction, appelés également polymorphismes de restriction ou RFLP (Restriction Fragment Length polymorphism), et se traduisent par l'apparition ou la disparition de sites de restriction pour une endonucléase donnée. Les RFLP sont mis en évidence par digestion du génome par des enzymes de restriction, après amplification de la région encadrant le polymorphisme en question ; cependant il existe des SNP non localisé sur les sites de restriction et par conséquent plus difficiles à mettre en évidence, leurs mise en évidence repose sur des techniques basées sur l'hybridation telles que le séquençage ou les puces à ADN.

Il existe environ un SNP toutes les 300 paires de bases en moyenne. Cette abondance explique l'énorme intérêt que suscitent les SNP dans les études d'associations où ils sont notamment utilisés pour détecter des prédispositions individuelles à certaines maladies.

Les SNPs peuvent être non fonctionnels sans conséquence phénotypique, ou alors fonctionnels entraînent dans ce cas une diminution de la fonction d'une protéine si sa séquence d'acides aminés est changée ou l'expression d'un gène si ces SNPs sont localisés dans des régions impliquées dans des phénomènes tel l'épissage ou la fixation de facteurs de transcription.

L'ensemble des SNPs identifiés est référencé dans des bases de données publiques telles que celle du NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP), celle du projet HapMap (www.hapmap.org) et de CHIP *bioinformatics tools* (<http://snpper.chip.org>).

-les polymorphismes de répétition qui regroupent les minisatellites qui sont des répétition en tandem (de 3 à 30 fois) de séquence nucléotidique de (de 10 à 30 nucléotide), appelés également VNTR (Variable Number of Tandem Repeat). Les VNTR sont localisés préférentiellement dans les régions télomériques, leurs mise en évidence repose sur les techniques d'hybridation southern Blot et PCR (Jeffreys et al, 1985), et les microsatellites ou STR (Short Tandem Repeats) (Weber & May, 1989), qui sont des répétitions en tandem de motifs nucléotidiques (de 2 à 10 nucléotides) répétés de 10 à 60 fois, les plus fréquents sont des motifs (CA)_n ou (GT)_n . Les STR sont localisés dans les régions introniques ou inter-géniques et se répartissent de manière uniforme le long du génome, tous les 30 à 60 kb, et mis en évidence par technique PCR.

III.3. Déséquilibre de liaison

Le déséquilibre de liaison (DL) est un concept traduisant l'indépendance ou de la non-indépendance physique de deux loci lors de leur transmission aux gamètes, au cours de la méiose. Considérons deux loci bi-alléliques, A et B, d'allèles respectifs (A1 fréquent, A2 rare) et (B1 fréquent, B2 rare). Appelons pA1, pA2, pB1, pB2 les fréquences alléliques. La répartition des deux allèles sur un chromosome peut être (A1,B1), (A1,B2), (A2,B1) ou (A2,B2). Appelons pA1B1, la fréquence à laquelle on observe, dans une population, le chromosome porteur des allèles A1 et B1, de même pour p(A1B2), p(A2B1) et p(A2B2). Si l'on suppose que les allèles de chaque locus sont distribués au hasard, les fréquences théoriques des chromosomes doivent être :

$$pA1B1 = pA1 \times pB1$$

$$pA1B2 = pA1 \times pB2$$

$$pA2B1 = pA2 \times pB1$$

$$pA2B2 = pA2 \times pB2.$$

Si les fréquences observées de ces chromosomes ne diffèrent pas significativement de ces fréquences théoriques, les loci sont dits en équilibre de liaison. Cependant, il peut exister une différence entre les fréquences chromosomiques observées et les fréquences à l'équilibre. On définit alors le déséquilibre de liaison D comme la différence entre les fréquences chromosomiques observées et les fréquences théoriques à l'équilibre.

- Si $D > 0$, les allèles rares (ou fréquents) des deux loci sont préférentiellement associés ensemble.

- Si $D < 0$, l'allèle rare de l'un des loci est préférentiellement associé à l'allèle fréquent de l'autre locus.

La valeur maximale, ou minimale de D peut être calculée à partir des fréquences alléliques des loci A et B. Ainsi, concernant la valeur maximale de D (D_{max}), qui est la plus fréquemment utilisée, désignons par A celui des deux loci pour lequel la fréquence de l'allèle rare est la plus faible (i.e. $p_{A2} < p_{B2}$) :

- Si $D > 0$, $D_{max} = p_{A2} (1 - p_{B2}) = p_{A2} p_{B1}$

- Si $D < 0$, $D_{max} = p_{A2} (1 - p_{B1}) = p_{A2} p_{B2}$

Le DL est plus communément exprimé sous la forme de deux coefficients :

(i) le coefficient D' de Lewontin (1964), qui est égal au rapport D/D_{max} . D' est compris entre -1 et +1. Plus la valeur absolue de ce rapport est proche de 1, plus le DL est fort ; la valeur absolue 1 correspond à un déséquilibre complet,

(ii) le coefficient de corrélation entre les allèles, r^2 , qui est égal au rapport $(D)^2 / (p_{A1} \times p_{A2} \times p_{B1} \times p_{B2})$. La valeur 1 correspond ici à un déséquilibre parfait, signifiant non seulement que $D'=1$, mais aussi que les fréquences alléliques des deux loci sont strictement égales.

Dans le cas où $r^2=1$ entre 2 SNPs, l'information recueillie à partir de l'étude d'un des deux polymorphismes est strictement identique à celle qui serait fournie par l'étude du polymorphisme avec lequel il est en DL parfait. Dans nos études, nous avons considéré que le DL était parfait si $r^2 > 0,80$. Le DL diminue au cours des générations successives à cause des recombinaisons génétiques (crossing-over), d'autant plus lentement que les deux loci sont très proches sur le même chromosome : la force du DL exprime, sous certaines conditions, la proximité physique des deux loci.

III.4. Haplotype

La combinaison allélique de deux ou de plusieurs polymorphismes sur un même chromosome est appelée haplotype. Les fréquences haplotypiques ne peuvent être mesurées que dans le cadre d'études familiales. Cependant, il existe des modèles statistiques de maximum de vraisemblance qui permettent d'estimer les fréquences haplotypiques dans des populations d'individus non apparentés, à partir des fréquences génotypiques mesurées (Furihata et al, 2006); (Tregouet et al, 2004a). Ce qui permet d'évaluer l'impact d'une combinaison de polymorphismes sur un phénotype donné au lieu d'un seul polymorphisme.

La transmission des allèles de polymorphismes situés sur un chromosome et présentant un DL se fait en réalité par bloc haplotypique. Au sein d'un même bloc, la probabilité de

recombinaison est très faible. Ces blocs haplotypiques sont généralement séparés par des régions de faible DL représentant des hot spots (points chauds) de recombinaison méiotique. Ainsi, chaque bloc haplotypique, est défini par la combinaison de plusieurs polymorphismes dont le nombre est variable. Si un bloc haplotypique contient 5 SNPs et que ce bloc est associé à un phénotype, le SNP d'intérêt est potentiellement n'importe lequel de ces 5 SNPs.

III.5. Tag-SNPs

L'intérêt de l'identification des blocs haplotypiques réside dans le fait où ils permettent de réduire le nombre de polymorphismes à étudier, en effet, il existe une corrélation entre les polymorphismes d'un même bloc haplotypique, il est donc possible de sélectionner le ou les polymorphisme(s) les plus informatifs appelés Tag-SNP(s) qui représentent le mieux, l'information portée par le bloc haplotypique, (Figure 8) permettant de la sorte de réduire le nombre de SNP à étudier et donc le coût des génotypages sans perdre pour autant de l'information génétique.

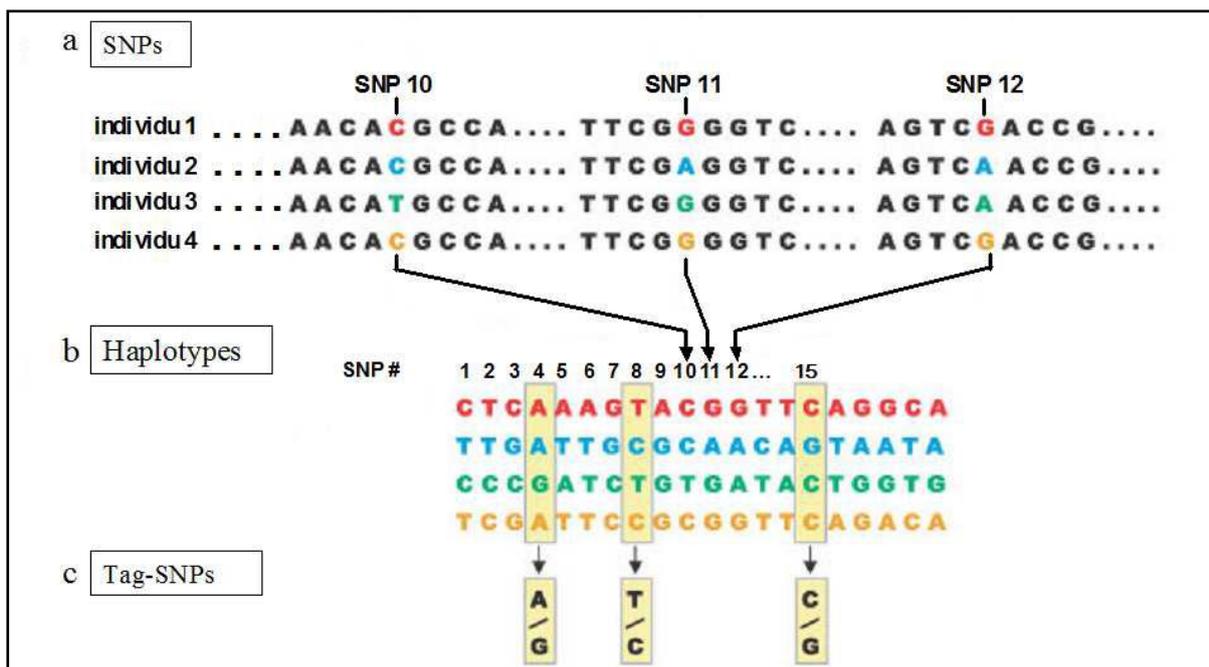


Figure 8: Principe de la construction de HapMap (d'après le projet HapMap).

La construction d'une carte de déséquilibre de liaison se fait en trois étapes. (a) Les polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs) sont identifiés dans les échantillons d'ADN provenant de nombreux individus. (b) Les SNPs adjacents qui sont hérités simultanément sont regroupés en haplotypes dont la fréquence dans la population excède un pour cent (1%). (c) Des SNPs marqueurs, au sein d'un haplotype, sont choisis pour constituer un identifiant unique de cet haplotype. En génotypant les trois SNPs marqueurs illustrés dans cette figure (SNPs 4, 8 et 15), il est possible de déterminer lequel des quatre haplotypes illustrés est porté par chaque individu.

Le consortium international HapMap s'est donné pour objectif de caractériser au mieux les profils de variation génétique et les blocs haplotypiques du génome humain. Pour cela, plusieurs milliers de SNPs ont été génotypés par séquençage de 30 trios (deux parents et un enfant) d'origine européenne, de 30 trios d'origine africaine, et de 90 individus asiatiques non apparentés

La fréquence des variations nucléotidiques ainsi que les valeurs de DL ont ensuite été calculées dans les différentes populations. Suite à l'analyse des blocs haplotypiques mis en évidence, on estime à 300 000 le nombre de tag-SNPs nécessaire pour couvrir les régions génomiques présentant un fort DL ($r^2 > 0,8$), et à 500 000 le nombre de SNPs supplémentaires pour couvrir les régions de plus faible DL (Wang et al, 2005). Une couverture optimale du génome entier nécessiterait donc au moins 800 000 SNPs.

III.6. Etudes d'analyse de liaison

L'étude de liaison est un moyen important d'identifier les gènes qui contribuent à l'apparition de maladies ou de phénotypes liés à des maladies. Contrairement aux études d'association, qui cherchent à identifier des variants génétiques particuliers associés au phénotype au niveau populationnel, l'étude de liaison teste la co-ségrégation entre un locus marqueur et un trait au sein des familles. En effet, le lien de parenté est requis afin d'effectuer des analyses de liaison. Les analyses de liaison se répartissent en deux catégories principales : paramétriques (basée sur un modèle) et non paramétrique (sans modèle car elles ne font aucune hypothèse a priori sur le mode héréditaire de la maladie) qui fait quelques hypothèses concernant le modèle étiologique sous-jacente de la distribution phénotypique.

La première méthode de liaison chez l'homme a été proposée par Morton en 1955 (Morton, 1955). Dans cet article, il a introduit la méthode des lod scores (et en même temps le concept de lod score) qui a été reconnue comme une étape importante dans la dissection génétique des traits humains. Cette méthode est encore en usage aujourd'hui et a connu un succès remarquable dans l'identification des gènes des maladies à transmission mendélienne. Toutefois, avant de procéder à la méthode des lod scores, la connaissance préalable du mode de transmission du trait est requise, toute erreur sur le mode de transmission entraîne une perte de puissance. Malheureusement, cette information n'est pas connue pour les traits complexes

La méthode d'analyse de liaison dite des sib-pair (ou de paires de germains atteints) de Haseman et Elston est un exemple classique et une analyse de liaison non paramétrique

largement utilisé. La méthode consiste à comparer, chez des paires de germains atteints de la même maladie, le nombre d'allèles du marqueur génétique transmis en même temps par le père et la mère. Si le marqueur étudié est proche, voire dans un gène de susceptibilité impliqué dans la maladie, les paires de germains malades présenteront un excès d'allèles du marqueur en commun: cet excès s'explique par la liaison (linkage) existant entre le locus marqueur et le locus impliqué dans la maladie (Feingold, 2005).

III.7. Etudes d'associations gène-candidat

L'utilisation des études d'association peut être très efficace pour mettre en évidence des effets restreints sur le risque de développer l'affection ou des interactions entre les facteurs étudiés (génétiques ou environnementaux). Ces études consistent à évaluer des associations statistiques entre les allèles d'un locus génique et un phénotype donné. Pour cela, on étudie la fréquence d'un polymorphisme génétique dans des échantillons de population composés de sujets non apparentés : un échantillon de sujets présentant le phénotype étudié (par exemple, une maladie) et un échantillon de sujets ne présentant pas le phénotype. Un test du χ^2 permet de tester la différence entre les effectifs génotypiques observés dans les deux groupes et ceux attendus sous l'hypothèse d'une indépendance entre la maladie et le polymorphisme étudié. On peut également rechercher une association entre le polymorphisme et des variables quantitatives comme, par exemple, les concentrations de lipides plasmatiques. L'association est alors recherchée par une analyse de variance comparant les moyennes du phénotype étudié entre groupes de génotypes.

La sur- ou sous-représentation statistiquement significative d'un allèle particulier dans l'un des deux groupes comparés suggère l'association de cet allèle avec la maladie. La force de l'association est alors estimée par le calcul de l'odds-ratio (OR) défini comme le rapport entre la proportion de sujets porteurs de l'allèle à risque chez les cas et la proportion de sujets porteurs de l'allèle à risque chez les témoins. Les calculs d'OR sont réalisés par des modèles de régression logistique ajustés sur les facteurs de risque conventionnels. Cet OR illustre l'augmentation (OR>1) ou la diminution (OR<1) du risque de survenue de la maladie chez les sujets porteurs de l'allèle rare par rapport aux sujets non porteurs.

III.7.1. Equilibre d'Hardy Weinberg

Il est nécessaire lors des études d'association, de vérifier que chaque polymorphisme testé respecte l'équilibre d'Hardy-Weinberg dans la population étudiée. Selon le principe défini en 1908 par Hardy et Weinberg, une population est dite en équilibre d'Hardy-Weinberg, si elle respecte trois règles essentielles, elle doit être de très grande taille, les mariages entre individus doivent se faire au hasard (panmixie), la population ne doit pas connaître ni migration, ni sélection naturelle, et les générations ne doivent pas se chevaucher. Ainsi, les fréquences alléliques et génotypiques restent stables au fil des générations. Dans cette hypothèse, la loi d'Hardy-Weinberg permet de calculer les fréquences alléliques à partir de la mesure des fréquences génotypiques et inversement.

Selon cette loi, si A et a sont les allèles d'un locus autosomique bi-allélique, de fréquence respective p et q (avec $p+q=1$), les trois génotypes possibles sont : AA, Aa et aa, et dont les fréquences sont respectivement p^2 , $2pq$ et q^2 . Une population dans laquelle la distribution génotypique observée est statistiquement compatible avec cette distribution théorique est dite en équilibre d'Hardy-Weinberg pour le locus considéré.

Pour vérifier qu'un polymorphisme respecte l'équilibre d'Hardy-Weinberg dans la population témoin, on utilise un test du χ^2 à 1 degré de liberté (ddl) qui permet de calculer l'écart entre les fréquences observées et les fréquences théoriques respectives des différents génotypes. Si cet écart est significatif, la distribution du polymorphisme dans la population n'est pas en équilibre d'Hardy-Weinberg. La raison la plus fréquente d'une déviation de l'équilibre d'Hardy Weinberg correspond à des erreurs de génotypage. Il peut également s'agir d'un biais de sélection de la population étudiée. En effet, la distribution d'un polymorphisme potentiellement impliqué dans des maladies modifiant la survie d'un individu peut ne pas respecter l'équilibre d'Hardy-Weinberg dans les populations les plus âgées.

III.7.2. Analyses statistiques utilisées dans les études d'association

Les études d'association réalisées dans des échantillons de population composés d'individus non apparentés consistent à évaluer des associations statistiques entre les génotypes d'un SNP et un phénotype donné en comparant les fréquences des génotypes entre un échantillon d'individus présentant le phénotype étudié (par exemple, une maladie) et un échantillon d'individus ne présentant pas le phénotype. Ce type d'analyse se formalise, le plus souvent, sous la forme d'un tableau croisé 2x3. Un test du χ^2 permet de tester la différence

entre les effectifs génotypiques observés dans les deux groupes et ceux attendus sous l'hypothèse d'une indépendance entre la maladie et le polymorphisme étudié. La surreprésentation statistiquement significative d'un génotype particulier dans l'un des deux groupes comparés suggère l'association de cet allèle avec la maladie. La force de l'association est alors estimée par le calcul de l'odds ratio (OR) défini comme le rapport entre la proportion d'individus porteurs de l'allèle mineur chez les cas et la proportion d'individus porteurs de l'allèle mineur chez les témoins. Les calculs d'OR sont réalisés par un modèle de régression logistique ajusté sur les facteurs de risque conventionnels de la maladie. Cet OR illustre l'augmentation (si $OR > 1$) ou la diminution (si $OR < 1$) du risque de survenue de la maladie chez les individus porteurs de l'allèle mineur par rapport aux individus non porteurs.

Les études d'association consistent également en la comparaison de la moyenne d'un phénotype (par exemple, le dosage d'une constante biologique ou un paramètre anthropométrique) entre les individus présentant les différents génotypes. Pour cela, l'approche statistique la plus fréquente est celle d'une analyse de variance (ANOVA) comparant les moyennes du phénotype étudié entre groupes de génotypes ou d'une analyse de covariance (ANCOVA) si l'analyse est ajustée sur les facteurs de confusion.

En général, ces tests sont considérés comme statistiquement significatifs lorsque la valeur de p calculée est $\leq 0,05$. Cette valeur correspond à un risque α , ou risque de première espèce, de 5% qui représente la probabilité de conclure à tort à une association. Notons qu'il existe aussi un risque β , ou risque de deuxième espèce, qui représente la probabilité d'exclure à tort une association. Aujourd'hui, avec la multiplication des études d'association comportant un très grand nombre de SNPs, une correction pour tests multiples est souvent requise. En effet, le fait d'augmenter le nombre de SNPs étudiés augmente le nombre de tests effectués et ainsi la probabilité de mettre en évidence un résultat significatif par hasard. Concrètement, si on effectue 100 tests indépendants avec un seuil de significativité à 0,05, statistiquement 5 tests apparaîtront comme significatifs par le seul fait du hasard (faux positifs). Une correction pour tests multiples consiste alors à modifier (ou corriger) le seuil de significativité pour considérer l'association comme significative. La correction pour test multiple la plus souvent utilisée est celle de Bonferroni qui consiste à diviser le seuil de significativité généralement admis à 0,05 par le nombre de tests effectués (Bland & Altman, 1995). Bien que cette correction soit connue pour être trop stricte et souvent inadaptée aux études de polymorphismes génétiques (Rice et al, 2008) (une correction trop stricte peut en effet entraîner le risque de rejeter une association alors qu'elle est réelle), elle est malgré tout souvent employée. La méthode de correction de Benjamini et Hochberg dite de FDR (false discovery rate) (Fernando et al,

2004) est également souvent utilisée dans les études d'association. Au lieu de contrôler le risque d'apparition de faux positifs dus au hasard (comme dans la correction de Bonferroni), cette correction contrôle la proportion de faux positifs à chaque seuil. Un seuil de FDR est déterminé par la distribution des valeurs de p observées. Cette correction est alors plus sensible et moins stricte que celle de Bonferroni.

III.7.3. Facteurs de confusion et interactions

Dans une étude d'association, la relation statistique observée entre un polymorphisme et un phénotype peut, en réalité, être en tout ou partie, expliquée par un facteur confondant (consommation de tabac, hypertension...). Pour être potentiellement confondante, une variable doit être associée à l'exposition (mutation par exemple), être associée à la maladie indépendamment de l'exposition et, donc, ne pas être un relais (étape intermédiaire) dans le processus physiopathologique entre l'exposition et la maladie. Les analyses stratifiées constituent une méthode permettant de contrôler la confusion, en évaluant l'association entre le facteur d'exposition et la maladie dans les catégories ou classes de la variable potentiellement confondante. Malheureusement, en posant rapidement le problème de la puissance statistique, l'analyse stratifiée n'est pas une méthode pratique pour contrôler simultanément plusieurs facteurs confondants. Une solution alternative consiste à recourir à l'analyse multivariée.

L'interaction, ou modification d'effet, qui se distingue de la confusion, constitue une information très intéressante. Certains facteurs de risque génétiques peuvent n'avoir d'effets que dans des contextes physiologiques (âge, sexe...), environnementaux (consommation de tabac, consommation d'alcool...) ou pathologiques (hypertension artérielle, dyslipidémies...) qu'il est intéressant de caractériser par des recherches d'interactions statistiques. Ces analyses d'interaction permettent, ainsi, d'identifier des sous-groupes à plus haut risque, avec des implications potentielles en termes de santé publique.

Le terme d'interaction est souvent source d'ambiguïté, l'interaction statistique se différenciant de l'interaction biologique, ou causale (Clayton & McKeigue, 2001). En terme statistique, il existe une interaction gène-environnement (ou gène-gène) lorsque l'effet de la mutation sur la maladie dépend de l'exposition à un facteur environnemental (ou de la présence d'une autre mutation génétique). Autrement dit, le taux d'incidence de la pathologie en présence des deux facteurs (gène/environnement ou gène/gène) diffère du taux d'incidence attendu résultant de leur effet individuel. Lorsque l'effet est supérieur à celui attendu, on parle d'interaction

positive ou synergique tandis que lorsqu'il est plus faible on parle d'interaction négative ou antagoniste. Ce concept statistique de l'interaction a été critiqué parce qu'il est arbitraire, modèle-dépendant, et ne tient pas compte de la notion d'interaction biologique (Greenland, 1993). L'interaction au sens biologique suppose la participation coordonnée de deux facteurs de risque dans un mécanisme étiologique commun, responsable du développement de la maladie (Rothman et al, 1980). En épidémiologie génétique, l'interprétation de l'existence d'une interaction s'appuie, le plus souvent, sur des considérations statistiques mais la validité du modèle doit idéalement reposer sur des connaissances biologiques (Clayton & McKeigue, 2001). Ceci est d'autant plus complexe que le même modèle statistique traduisant un risque de maladie peut refléter simultanément plusieurs mécanismes biologiques plus ou moins distincts. Enfin, l'une des limites à la recherche d'interaction réside à nouveau dans la puissance statistique nécessaire pour les détecter.

III.8. Analyses d'interaction gène-environnement dans les MCV

Contrairement aux maladies monogéniques qui sont causées par des anomalies génétiques rares et graves, les maladies complexes peuvent être modulées par des variants génétiques qui ont des effets modestes, et qui peuvent également être altérés par des facteurs environnementaux tels que le tabagisme, l'alimentation et le stress (Tiret, 2002). En effet, une meilleure caractérisation des interactions entre les facteurs environnementaux et génétiques contribue à la compréhension de la pathogenèse des maladies multifactorielles, y compris les maladies cardiovasculaires.

La composante environnementale peut inclure des facteurs démographiques comme l'âge, le sexe et le tabagisme, ou des pathologies telles que l'hypertension et le diabète sucré. L'importance de l'interaction entre la génétique et l'environnement dans les maladies cardiovasculaires a été mise en évidence dans plusieurs exemples. Il s'agit notamment des interactions entre le tabagisme et les génotypes $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ de l'apolipoprotéine E (Humphries et al, 2001; Talmud et al, 2005) et entre la consommation d'alcool et les génotypes $\Upsilon 1/\Upsilon 2$ de l'alcool déshydrogénase 3 (Djousse et al, 2005; Hines et al, 2001; Younis et al, 2005).

III.9. Limites liées aux études d'association

Les études d'association ont montré certaines limites dont la principale se résume dans la difficulté à reproduire dans d'autres populations les associations précédemment observées, en

effet, pour que l'effet retrouvé pour un gène ou un locus donné soit confirmé, il doit être reproduit dans plusieurs population, ce n'est pas toujours le cas.

Afin d'améliorer la reproductibilité des résultats il s'avère nécessaire d'améliorer la méthodologie de ces études.

III.9.1. Problèmes d'ordre épidémiologique

La constitution des échantillons de population représente l'une des limites principales à la comparabilité des résultats obtenus dans les études d'association. En effet, la qualité des populations étudiées conditionne les effets qui pourront être mesurés, et ce à cause des diagnostics posés. Les seuils pathologiques peuvent changer d'une société savante à une autre ou d'une population à une autre ce qui complique le diagnostic, Les tests cliniques actuellement utilisés pour poser un diagnostic de certaines pathologies, notamment les troubles métaboliques peuvent engendrer un certain pourcentage d'erreur. De ce fait, standardiser les procédures de diagnostic et favoriser le consensus sur les procédures de sélection et d'échantillonnage des sujets s'avèrent d'une importance capitale. Il est également nécessaire de travailler sur des échantillons de grande taille, pour des raisons de puissance statistique. De plus, afin bénéficier d'une puissance statistique suffisante, nombre de personnes devant être recrutées doit varier selon l'incidence de la maladie dans la population générale.

Les échantillons de cas et de témoins doivent être homogènes en matière de certaines variables telles l'âge et le sexe qui peuvent avoir une influence sur la maladie, ainsi que sur le plan génétique, vu que les analyses d'association vont mesurer la variation dans les fréquences entre cas et témoins. Les analyses d'association doivent refléter une éventuelle susceptibilité génétique par rapport à la maladie, donc il se pourrait qu'on obtienne des résultats faussement positifs (ou négatifs) si toute fois il y'a une différence de fond génétique entre les échantillons de cas et de contrôles. D'où l'importance de sélectionner des individus ayant la même origine ethnique par exemple. Cependant, il se peut qu'on observe des différences de fonds génétiques au sein de différentes populations ayant une même origine ethnique. Il est nécessaire alors de tenir compte de cette variabilité lors de la comparaison des études d'associations réalisées dans ces différentes populations.

Dans les études cas-témoins certain facteur échappent au contrôle ; en effet, lors de la constitution d'une population de cas, les malades peuvent présenter une certaine

hétérogénéité, notamment en matière de gravité de la maladie ou de son stade d'évolution. Lors de la constitution de la population témoins, un individu considéré comme sain au moment de l'échantillonnage peut facilement développer la maladie années plus tard.

III.9.2. Influence des facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux (alimentation, habitudes de vie, consommation de tabac, consommation d'alcool, prise de traitements médicamenteux...) dont la nature peut varier d'une population à l'autre, modulent l'effet des facteurs génétiques sur l'expression du phénotype dans le cadre des maladies multifactorielles. Cette diversité d'environnement entre les populations peut expliquer que les différences des résultats d'une population à une autre, de telle sorte qu'une association reportée dans une population donnée ne soit pas reproductible dans une autre, il est possible de faire recours à des modèles statistiques ajustés ou stratifiés afin de prendre en compte jusqu'à un certain point ces disparités.

Le suivi des personnes sur une longue période permet de s'assurer que les personnes considérées comme témoins n'ont pas fini par développer la maladie ce qui permet de résoudre certains problèmes précédemment évoqués d'où l'intérêt pour la mise en place d'études prospectives.

L'impact de facteurs environnementaux sur le risque de développer la pathologie peut être évalué grâce au questionnement des participants à l'étude sur leurs habitudes alimentaires et leur mode de vie. La durée de suivi nécessaire pour les études prospectives varie selon les maladies, elle peut être très longue selon la progression de la maladie.

III.9.3. Problèmes d'ordre statistique

Le risque génétique recherché lors des études de prédisposition génétique aux maladies multifactorielles peut être réparti entre plusieurs gènes dont chacun exerce un faible impact individuellement. La mise en évidence de cet impact n'est alors possible que dans des études présentant une puissance statistique suffisante, nécessaire à l'observation d'une association significative au sens statistique du terme ($p < 0,05$). La puissance statistique se définit alors comme la probabilité qu'à l'étude d'association de mettre en évidence une association significative entre un polymorphisme et la pathologie. La puissance statistique dépendra de l'importance de l'effet biologique du polymorphisme et des effectifs observés pour l'allèle rare, donc de la fréquence du polymorphisme. L'effet biologique et la fréquence du polymorphisme étant fixés, un gain de puissance statistique peut cependant être obtenu par

l'augmentation de la taille de la population initialement étudiée. Ainsi, pour une fréquence allélique donnée, on pourra augmenter le nombre de personnes porteuses de l'allèle rare et par conséquent améliorer la puissance statistique de l'étude.

Il apparaît difficile de mettre en place des études portant sur des échantillons de population aussi importants (plusieurs milliers de personnes). Cependant, des techniques statistiques, telles que la méta-analyse permettent alors de ré-analyser a posteriori les résultats de plusieurs études indépendantes.

Une méta-analyse est alors effectuée afin d'essayer de conclure quant à l'impact réel des polymorphismes étudiés. Le gain de puissance est important, mais ces stratégies se heurtent aux problèmes d'ordre épidémiologique que nous avons évoqués précédemment. Par ailleurs, il existe un biais de publication lié au fait que les études présentant des résultats positifs ont une probabilité plus importante d'être publiées (Colhoun et al, 2003).

II.10. Etudes d'association génome entier ou "Genome Wide Association Studies"

Au début des années 1990, deux projets internationaux ont fait leur apparition : le projet « génome humain » et le projet international « HapMap ». La mission du projet « génome humain » était d'établir le séquençage complet de l'ADN du génome humain [Venter et al. 2001].

Ces deux projets ont rendu possible la mise en place d'une nouvelle méthode d'étude d'association : les études pangénomiques ou GWA (Genome-Wide Association). Ce sont des études d'associations réalisées sur plusieurs milliers de SNPs, sélectionnés sans a priori et répartis sur l'ensemble du génome, et sur un trait phénotypique ou une maladie (Figure 9) (Billings & Florez, 2010).

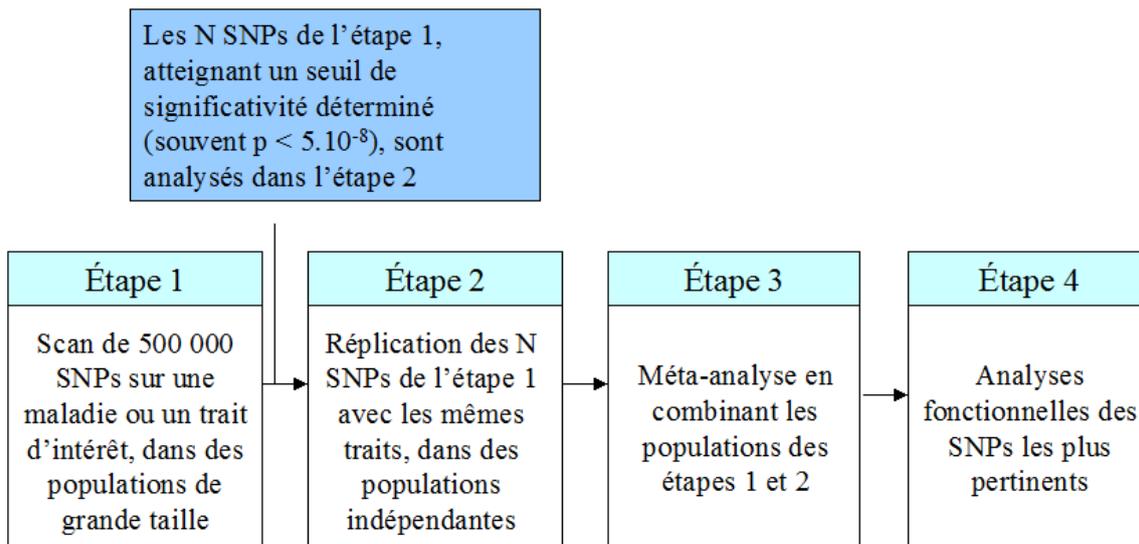


Figure 9: Principe d'une GWAS.

La découverte qu'un SNP particulier est présent à une fréquence plus importante chez les personnes malades que chez les personnes témoins suggère que ce SNP est associé à cette maladie. Afin de réduire le nombre de résultats faux-positifs, il est nécessaire d'appliquer une correction pour tests multiples, au vu du très grand nombre de SNPs testés ; la plus couramment utilisée est la correction de Bonferroni. Pour les GWAS, le seuil de significativité accepté, à l'heure actuelle, est de $p=5.10^{-8}$.

La réalisation d'une étude GWA se fait en plusieurs étapes (Figure 9). La première consiste en un scan de l'ensemble du génome, à l'aide de puces à ADN d'environ 500 000 SNPs, réalisé dans une ou plusieurs grandes cohortes. L'étape 2 est une étape de réplication des meilleurs SNPs (top SNPs) dans des échantillons indépendants, en se basant sur un certain seuil de significativité (dépendant du nombre de SNPs étudié), sur l'association connue entre le variant et la maladie et sur la plausibilité de l'association (Billings & Florez, 2010). Les SNPs répliqués avec succès sont ensuite métaanalysés dans les cohortes combinées des étapes 1 et 2. Pour finir, des analyses fonctionnelles peuvent être réalisées sur les SNPs les plus pertinents.

III.11. Limites des analyses à haut débit

En plus des limites inhérentes aux études d'association, les analyses à haut débit comportent des limites méthodologiques qui leur sont propres. Ces études s'appuient sur un nombre élevé de polymorphismes, augmentant alors le nombre de tests effectués. D'un point de vue statistique, ceci conduit à augmenter la probabilité de mettre en évidence un résultat significatif par hasard. Concrètement, si on effectue 100 tests indépendants avec un seuil de significativité à 0,05, statistiquement 5 tests apparaîtront comme significatifs par le seul fait du hasard. La probabilité d'effectuer une erreur de type 1 (affirmer qu'un effet existe alors que ce n'est pas le cas) est alors proportionnelle au nombre de tests effectués.

Pour pallier cet inconvénient, une correction pour test multiple peut être appliquée. Elle modifiera alors le seuil de significativité accepté pour considérer l'association comme significative, minimisant ainsi la probabilité d'effectuer une erreur de type 1. Une des corrections les plus souvent utilisées est la correction de Bonferroni (Bland & Altman, 1995). Le seuil de significativité couramment admis de 0,05 est alors divisé par le nombre de tests effectués. Concrètement, pour 1000 tests indépendants réalisés, le nouveau seuil de significativité admis sera de $0,05/1000$ soit $0,00005$. Dans le cadre des GWA portant sur l'analyse de 500 000 polymorphismes, le seuil de significativité admis peut alors atteindre 1×10^{-7} . Une telle significativité ne peut cependant être atteinte que dans le cas de l'observation d'un effet très important d'un polymorphisme ou grâce à l'étude d'un échantillon de population particulièrement grand.

Au final, par manque de puissance statistique et suite à une correction de Bonferroni, il devient alors possible de rejeter une association uniquement sur des considérations statistiques, constituant ce que l'on appelle une erreur de type 2. De plus, il est important de rappeler qu'une association significative entre un polymorphisme et la pathologie, quel que soit le seuil de significativité, ne préjuge en rien de l'importance de l'impact biologique du polymorphisme dans le processus physiopathologique.

En conclusion, devant la difficulté de répliquer les résultats issus d'études d'association, des critères dans la conduite de ces études ont été adoptés (éditorial *Nature Genetics* mai 1999). La réplification des associations précédemment observées dans des populations indépendantes est devenue un critère important. De plus, selon ces nouveaux critères de publications, les études d'association sont reconnues de qualité lorsqu'elles portent sur des échantillons de population de taille importante et mettent en évidence des associations avec des valeurs-p très faibles.

Deuxième partie

Travaux personnels

Contexte de l'étude

En Algérie, la manifestation de la transition épidémiologique est devenue évidente dès la fin des années 80 avec une nette régression des maladies dites du *programme de vaccination élargi*. Les maladies infectieuses ne figurent plus parmi les premières causes d'hospitalisation. Les quatre premières causes de décès sont désormais les maladies cardiovasculaires (MCV) (26,1%), les affections périnatales (13,5%), les cancers (9,5 %) et les traumatismes (8,6 %). Cependant, les habitudes de vie liées au contexte socio-économique demeurent différentes de celles observées dans les pays industrialisés, ce qui participe à conférer un niveau de risque contrasté de différentes pathologies telles que les dyslipidémies, l'hypertension artérielle et par conséquent les MCV. En effet, un bilan lipidique particulier été précédemment décrit dans la population oranaise, caractérisé par des valeurs inférieures de cholestérol total, de HDL et de LDL cholestérol en comparaison avec la population française et Irlandaise (Mediene et al, 1997), (Mediene-Benchekor et al, 2001).

De plus, il est maintenant établi que les facteurs génétiques contribueraient également à ces différences, de par l'implication de certains gènes dans diverses voie métaboliques, tel le gène de l'APOE qui est impliqué dans la régulation du métabolisme lipidique, et dont l'effet est modulé par des facteurs environnementaux, particulièrement la composition en acides gras du régime alimentaire qui conditionne les concentrations de lipides plasmatiques, et notamment de cholestérol; Ainsi, les effets génétiques peuvent être considérablement augmentés ou diminués et par conséquent, le niveau de risque aussi.

C'est dans ce sens, et à la lumière des résultats précédents, que nous nous sommes intéressés aux déterminants génétiques du bilan lipidique et en particulier aux polymorphismes epsilon (rs7412 et rs429358), rs419358 et rs4420638 du gène de l'APOE. Il s'agira de mettre en évidence l'impact de ces polymorphismes sur le bilan lipidique et sur la survenue des maladies cardiovasculaires dans la population oranaise en s'appuyant sur deux études épidémiologiques, ECTOR (Etude Cas/Témoins de l'infarctus du myocarde à Oran) et ISOR (InSulino résistance à Oran).

**Populations d'étude
Et
Méthodes**

I. Populations étudiées

Ce travail s'appuie sur deux études épidémiologiques réalisées à Oran.

I.1. L'étude ECTOR:

I.1.1. Recrutement des sujets

ECTOR (Etude Cas Témoins de l'infarctus du myocarde en ORanie) est une étude cas/témoin de l'infarctus du myocarde (IDM) chez les hommes réalisée entre 1994 et 1997, menée sur un total de 277 sujets: 83 cas et 194 témoins, hommes âgés de 25 à 64 ans, résidants à Oran et dont les parents et les grands parents sont nés à l'ouest du pays (Mediene-Benchekor et al, 2001).

L'échantillon de cas est constitué de 83 patients ayant survécu au moins trois mois à un IDM certain, recrutés principalement le service de cardiologie du CHU d'Oran, mais aussi auprès d'une clinique et de cabinets privés. L'échantillon des témoins a été constitué aléatoirement par tirage au sort de 600 adresses des ménages dans 12 districts de la commune d'Oran, à partir des données de l'Office National de Statistiques. Parmi les sujets possédant les critères d'inclusion à l'étude, 32% ont refusé de participer, et parmi les sujets ayant donné leur accord pour la participation à l'étude, 50% ne se sont pas présentés au CHU après convocation pour la collecte des prélèvements sanguins.

I.1.2. Prélèvements et variables mesurées

I.1.2.1. Variables anthropométriques et biologiques

Les sujets ont été contactés à leur domicile pour obtenir leur accord de participation à l'étude, puis un questionnaire a été rempli concernant leur histoire personnelle et familiale d'exposition aux risques cardiovasculaires, les sujets ont été strictement recrutés selon les critères de l'étude ECTIM (Parra et al, 1992).

Différentes mesures anthropométriques ont été réalisées (Taille, poids), ces mesures ont permis de calculer l'IMC selon l'équation de Quetelet, ainsi que la mesure de la pression artérielle, les valeurs la pression artérielle systolique et diastolique des PAS et PAD, ont été mesurées sur le bras droit sur un sujet en position assise, en utilisant un sphygmomanomètre à mercure norme. Les mesures ont été effectuées avant et après l'achèvement du questionnaire, avec un intervalle d'au moins 10 minutes. La valeur moyenne des deux lectures de tension artérielle a été prise en compte dans l'analyse finale.

1.1.2.2. Variables biochimiques

Deux échantillons de 15 ml de sang sont prélevés pour chaque sujet après une nuit de jeûne (12h), les prélèvements pour l'analyse de l'ADN ont été réalisés dans un tube EDTA disodique. Pour l'analyse biochimique Les prélèvements ont été réalisés sur des tubes Vacutainer avec gel séparateur, centrifugés à 3 000 t/min pendant 10 min, puis conservés stérilement à 4°C après ajout de 10 µl/ml de sérum d'un mélange contenant 0,16 mole/L de glutathion, 1,1 mole/L d'acide caproïque, 0,06 mole/L d'EDTA et 6.10^{-3} mole/L de chloramphénicol.

Le cholestérol et les triglycérides ont été mesurés dans le sérum par des méthodes enzymatiques (Boehringer Mannheim) adaptées à l'autoanalyseur Hitachi 717. Les niveaux de cholestérol des lipoprotéines de haute densité ont été mesurés après précipitation des chylomicrons, VLDL et LDL- cholestérol au phosphotungstate de sodium associé chlorure de magnésium, puis centrifugation (Boehringer Mannheim). Les concentrations de cholestérol des LDL ont été calculées par la formule de Friedwald (Friedewald et al, 1972)

$$\text{LDL-cholestérol (g/l)} = \text{cholestérol total (g/l)} - \text{HDL-cholestérol (g/l)} - \text{triglycérides (g/l)}/5$$

A partir de ces paramètres ont été réalisés les calculs du LDL-cholestérol et du rapport LDL-cholestérol/HDL-cholestérol.

L'ADN génomique a été extrait des globules blancs à l'aide du kit Stratagene ® (Agilent Technologies, Les Ulis, France), selon le protocole du fabricant.

1.2. L'étude ISOR

1.2.1. Recrutement des sujets

L'étude ISOR (InSulino-résistance à Oran) est une étude transversale réalisée sur des adultes résidants la ville d'Oran. Cette étude a pour but de caractériser les déterminants génétiques et environnementaux liés au métabolisme plasmatique des sucres et des lipides, et à d'autres aspects de la maladie cardiovasculaire (hypertension, obésité...).

L'étude réalisée entre 2007 et 2009 a été approuvée par le comité d'éthique de l'ANDRS (Agence Nationale pour le Développement de la Recherche en Santé). Un échantillon représentatif de 787 sujets répartis en 378 hommes et 409 femmes a été tiré au sort sur les listes des assurés sociaux de la ville d'Oran ont été retenus pour l'étude après un consentement éclairé.

1.2.2. Prélèvements et variables mesurées

1.2.2.1. Variables anthropométriques comportementales et biologiques

Un questionnaire couvrant les habitudes de vie (activité physique, consommation de tabac et d'alcool), les antécédents médicaux personnels et familiaux, la consommation actuelle de médicaments et les niveaux socio-économique et éducationnel a été complété durant un entretien. Les données anthropométriques ont également été enregistrées (voir annexe 2).

Le niveau d'activité physique a été défini en quartiles comme "nul", "faible", "moyen" et "haut" après sommation des scores d'exercice pour les activités sportives, la marche, le ménage et l'activité physique au travail.

En ce qui concerne l'usage du tabac, les participants ont été classés comme étant des fumeurs (personnes déclarant au moins une cigarette par jour) ou non-fumeurs. Dans le questionnaire de l'étude, les sujets devaient déclarer leur consommation hebdomadaire de vin, bière et spiritueux. Comme il y avait très peu de buveurs ($n=25$, 3,2%), cette variable n'a pas été prise en compte dans l'analyse finale.

Les mesures anthropométriques comprennent la taille, le poids, le tour de taille et le tour de hanche. Taille et poids sont mesurés sur des sujets pieds nus et vêtus légèrement. L'IMC a été calculé selon l'équation de Quetelet. Les valeurs de PAS et PAD ont été mesurées sur le bras droit sur un sujet en position assise, en utilisant un sphygmomanomètre à mercure standard. Les mesures ont été effectuées avant et après l'achèvement du questionnaire, avec un intervalle d'au moins 10 minutes. La valeur moyenne des deux lectures de tension artérielle a été prise en compte dans l'analyse finale.

1.2.2.2. Variables biochimiques

Après une nuit de jeûne (12h), deux échantillons de 15 ml de sang sont prélevés pour chaque sujet (dans un tube EDTA disodique pour analyse ultérieure de l'ADN et dans un tube héparine pour les tests de chimie clinique).

Un analyseur multi-canal et des kits spécialisés (Humastar ®, diagnostics humains, Wiesbaden, Allemagne) ont été utilisés pour la mesure colorimétrique et enzymatique du cholestérol (kit : cholestérol monostest avec la cholestérol estérase, cholestérol oxydase et peroxydase), des triglycérides (kit: peridochrom triglycérides avec le glycérol phosphate

oxydase et la peroxydase) et de glucose (kit : le glucose, la glucose oxydase et la peroxydase). Pour les participants ayant des concentrations de triglycérides inférieurs à 4,56 mM, les concentrations de LDL-cholestérol dans le plasma ont été calculées selon la formule de Friedewald. (Friedewald et al, 1972) $LDL\text{-cholestérol (g/l)} = \text{cholestérol total (g/l)} - HDL\text{-cholestérol (g/l)} - \text{triglycérides (g/l)}/5$

Les concentrations de cholestérol des lipoprotéines de haute densité ont été mesurées après précipitation des chylomicrons, VLDL et LDL-cholestérol au phosphotungstate sodium /chlorure de magnésium, puis centrifugation. Les concentrations plasmatiques d'insuline ont été mesurées par un test de micro-enzyme immunitaire fonctionnant sur un analyseur AxSYM (Abbott Laboratories , Abbott Park, Illinois , USA).

L'ADN génomique a été extrait des globules blancs à l'aide du kit Stratagene ® (Agilent Technologies, Les Ulis, France), selon le protocole du fabricant.

II. Génotypage

II.1. Restriction fragment length polymorphism (RFLP)

La technique de génotypage par RFLP a été utilisée afin de caractériser le polymorphisme epsilon de l'APOE (rs7412 et rs429358) dans les populations des études ECTOR et ISOR, elle est basée sur la différence des tailles des fragments générés après digestion du produit d'amplification par une enzyme de restriction.

La première étape consiste en l'amplification par PCR (Polymerase Chain Reaction) de la région d'ADN encadrant le SNP à partir de l'ADN génomique grâce à des amorces spécifiques (Dans notre cas : AmS:5'ACAGAATTCGCCCCGGCCTGGTACAC3' et AmAS:5'TAAGCTTGGCACGGCTGTCCAAGGA3'). On choisit ensuite une enzyme de restriction qui permet de discriminer les allèles. Pour éviter les erreurs de génotypage dues à une digestion incomplète, l'enzyme est ajoutée en excès et, si possible, choisie pour couper l'allèle fréquent du SNP ainsi qu'un autre site indépendant du SNP. Si le SNP ne modifie pas de site de restriction naturellement, il est possible de forcer l'existence d'un site de restriction en élaborant des amorces dégénérées. Dans notre cas l'enzyme (HhaI) coupe au niveau de trois sites constants ainsi que de deux autres polymorphes permettant ainsi de distinguer six génotypes possibles (Figure 5). Les produits de digestion sont ensuite déposés sur gel d'agarose ou d'acrylamide (selon la taille des fragments) et soumis à électrophorèse. Les fragments d'ADN sont révélés par du BET (bromure d'éthidium) et observés sous lampe UV.

Pour le polymorphisme epsilon de l'APOE, les fragments dont la taille varie entre 48pb et 91pb sont révélés sur un gel d'acrylamide à 8%.

II.2. Technologie KASPar

La technique de génotypage utilisée pour caractériser les trois polymorphismes étudiés (rs7412, rs429358, rs439401 et rs4420638) dans les études ISOR est la technologie KASPar (sous-traitée par Genoscreen et KBioscience, Hoddesdon, Royaume-Uni).

Ce système est basé sur la technique de FRET (Fluorescent Resonance Energy Transfer) homogène, qui permet la détection de SNPs sans étape de séparation, et sur la PCR (Polymerase Chain Reaction) compétitive spécifique d'allèle, qui permet d'avoir un fort pouvoir discriminatoire pour déterminer les allèles d'un locus particulier (Figure 10). Ce système utilise une Taq ADN polymérase sans activité exonucléase 3'-5' et permet le génotypage de SNP ou d'insertion/délétion. Les différentes étapes du génotypage par la méthode KASPar sont représentées dans la figure. Les sondes utilisées sont les suivantes :

rs429358:[GACATGGAGGACGTG[C/T]GCGGCCGCCTGGTGC],

rs7412:[GATGACCTGCAGAAG[C/T]GCCTGGCAGTGTACC],

rs439401:[GCCGGCACTCTCTTC[C/T]CCTCCCACCCCCTCA],

rs4420638: [TGCTACACTTTTCCT[A/G]GTGTGGTCTACCCGA]

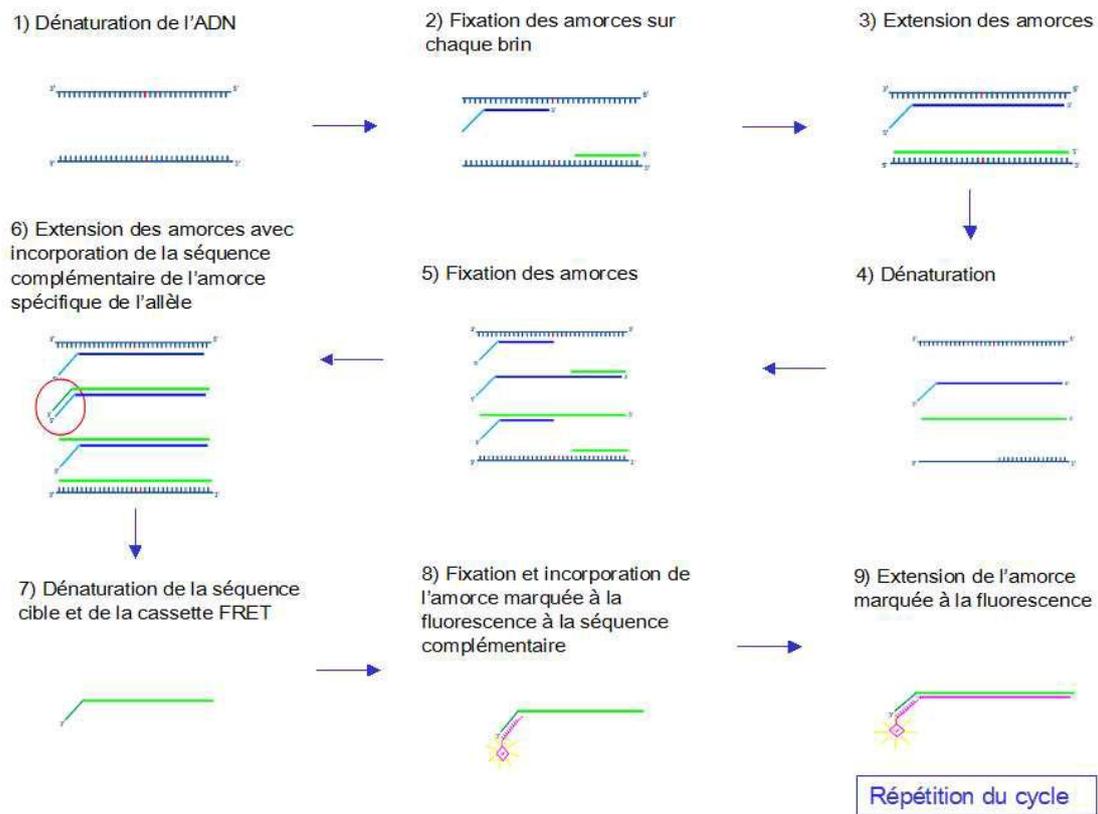


Figure 10: Différentes étapes du génotypage par la méthode KASPar.

III. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SAS 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)

III.1. Equilibre d'Hardy-Weinberg et distributions génotypiques

L'équilibre de Hardy-Weinberg a été testé pour les quatre SNP (rs7412, rs429358, rs439401 et rs4420638) en utilisant un test χ^2 avec un degré de liberté (1ddl). Un test χ^2 de Pearson a été utilisé pour comparer les distributions génotypiques et alléliques entre les groupes.

Lorsque la distribution d'une variable ne suit pas une loi normale, une transformation logarithmique a été utilisée pour obtenir une distribution normale. Cette transformation a été réalisée pour les valeurs de triglycérides, de glucose et d'insuline. Les moyennes estimées ont ensuite été reconverties pour la présentation dans les tableaux.

III.2.L'effet des génotypes sur les paramètres étudiés

L'approche statistique utilisée est celle de l'analyse de variance (ANOVA (ANalysis Of VAriance)) comparant les moyennes du phénotype étudié entre groupes de génotypes, lorsque l'analyse est ajustée sur les facteurs de confusion nous avons procédé à une analyse de covariance (ANCOVA).

Les comparaisons entre les groupes de moyennes ont été réalisées avec (i) un modèle linéaire général comparant les porteurs d' $\epsilon 2$ (sujets $\epsilon 2\epsilon 2$ et $\epsilon 2\epsilon 3$) ou d' $\epsilon 4$ (sujets $\epsilon 4\epsilon 4$ et $\epsilon 4\epsilon 3$) avec les porteurs d' $\epsilon 3$ (homozygotes $\epsilon 3\epsilon 3$) pour le polymorphisme de l'APOE epsilon et (ii) un modèle additif pour les polymorphismes rs439401 et rs4420638. Les sujets de génotype $\epsilon 2\epsilon 4$ (n=3 dans ISOR) ont été exclus des analyses à cause des effets biologiques opposés possibles des allèles $\epsilon 2$ et $\epsilon 4$.

Pour l'étude des variables anthropométriques, les variables de confusion sont l'âge, le tabagisme et l'activité physique. Pour les variables biologiques et biochimiques, les variables de confusion sont l'âge, l'IMC, le tabagisme et l'activité physique. Pour les polymorphismes rs439401 et rs4420638, les données ont été ajustées également en tenant compte du polymorphisme epsilon APOE.

Après correction de Bonferroni, seules les associations ayant une valeur de p non corrigée inférieure à 0,017 ont été considérées comme statistiquement significative (soit 0,05 divisé par le nombre de polymorphismes considérés).

Les modèles linéaires généraux ont été utilisés pour étudier les interactions potentielles en ajoutant une interaction ((sexe ou IMC) x polymorphisme) afin de vérifier si l'effet du génotype sur les paramètres étudiés pouvait être différent selon le sexe et selon l'IMC.

L'interaction avec l'environnement changeant entre les deux échantillons a été testée pour le polymorphisme epsilon en ajoutant une commande SNP*population d'étude dans le modèle GLM.

III.3.Analyses haplotypiques

Les fréquences haplotypiques provenant de tous les polymorphismes étudiés ont été estimées indépendamment du phénotype. Une analyse des haplotypes en deux étapes a été réalisée. Tout d'abord, afin de réduire la dimension des haplotypes et sélectionner la configuration la plus informative des haplotypes parcimonieux pour la prévision de la variabilité phénotypique, nous avons appliqué le modèle de maximum de vraisemblance pour toutes les combinaisons possible 1 à k-loci des polymorphismes qui pourraient découler des 4

SNPs l'APOE. Le Critère d'Information d'Akaike (AIC) a été calculé pour chaque modèle (y compris un modèle sans polymorphismes) (Akaike, 1974; Tregouet & Garelle, 2007; Tregouet et al, 2004b). Toutes les valeurs AIC ont été rééchelonnées en soustrayant la plus petite valeur AIC obtenue pour l'ensemble des modèles. Selon une règle dérivée par une vaste simulation Monte Carlo, tous les modèles avec un AIC rééchelonné ≤ 2 peuvent être considérés comme «équivalent» au modèle avec le plus bas AIC. Le plus parcimonieux de ce dernier (ce qui correspond à la configuration minimale haplotype) a été sélectionné. Deuxièmement, l'analyse des haplotypes a été effectuée en utilisant le logiciel THESIAS (<http://ecgene.net/genecanvas>) (Tregouet & Garelle, 2007). L'analyse des haplotypes a été ajustée pour l'âge, le sexe, l'IMC, le tabagisme et le niveau d'activité physique.

Des analyses de régression logistique multivariées ont été utilisées pour calculer les odds ratios pour SM NCEP, le diabète de type 2 (DT2), l'hypertension artérielle (HTA), l'obésité (Obes) et le taux élevé de triglycérides et ont été ajustés pour l'âge, le sexe, le niveau d'activité physique et le tabagisme.

La contribution des trois SNP sur le syndrome métabolique défini selon le NCEP ATPIII, le diabète de type 2, l'hypertension artérielle, l'obésité et le taux élevé de triglycérides a été évaluée par analyse de régression logistique. Les odds ratios (OR) ajustés pour l'âge, le sexe, l'activité physique et le tabagisme et les intervalles de confiance à 95% (IC) sont également représentés.

IV. Critères de diagnostic des troubles cardio-métaboliques

IV.1. Critères de diagnostic du syndrome métabolique

Dans la présente étude, nous avons adopté la définition du syndrome métabolique selon les critères du NCEP-ATPIII (National Cholesterol Education Program- Adult Treatment Panel III) (Alberti et al, 2005), le syndrome métabolique est diagnostiqué quand un sujet présente trois ou plusieurs des facteurs de risque suivants:

- L'obésité abdominale: tour de taille > 102/88 cm (hommes/femmes);
- Les triglycérides $\geq 1,50$ g / l (1,69 mmol/l);
- HDL-cholestérol < 0,40/0.50 g / l (1,04/1,29 mmol/l) (hommes/femmes);
- La pression artérielle $\geq 130/85$ mmHg;
- Glycémie à jeun $\geq 1,10$ g / l (6,1 mmol/l).

IV.2.Critères de diagnostic du diabète de type 2 (DT2)

La définition adoptée dans la présente étude est celle de l'American Diabetes Association (ADA) (Gavin et al, 1997) :

1. Glycémie plasmatique à jeun $\geq 1,26$ g/l (7 mmol/l) à deux reprises après 8 h de jeûne
2. Glycémie occasionnelle ≥ 2 g/l (11,1mmol/l) en présence des symptômes d'hyperglycémie (polyurie, polydipsie, perte de poids inexplicée)
3. Glycémie à 2 heures ≥ 2 g/l après une charge orale de 75 g de glucose au cours d'une HGPO

Ou diabétiques déclarés sous traitement incluant antidiabétiques oraux et / ou insuline

IV.3.Critères de diagnostic de l'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle (HTA) a été définie selon les critères de l'OMS (Chalmers et al, 1999) pression artérielle systolique moyenne supérieure à 140mm Hg et/ou pression artérielle diastolique moyenne supérieure à 90 mmHg) et/ou de traitement courant auto-déclarée pour l'hypertension avec des médicaments antihypertenseurs.

VI.4.Critères de définition de l'obésité

L'indice de masse corporelle (IMC) est calculé selon l'équation de Quetelet. Un sujet est considéré en tant qu'obèse s'il présente un IMC supérieur ou égal à 30 kg / m².

Résultats

I. Impact de polymorphismes du gène de l'APOE sur le Bilan lipidique dans la population oranaise (Etude ECTOR)

I.1. Caractéristiques générales des populations d'étude

Les caractéristiques de la population de l'étude ECTOR sont résumées dans le Tableau IX. Les différents paramètres ont été comparés avec ceux obtenus vingt ans plus tard chez les hommes de l'étude ISOR. Des différences significatives entre les deux groupes ont été observées. En effet, les hommes de l'étude ISOR présentent des valeurs plus élevées de poids ($p < 0.01$), de tour de taille ($p < 10^{-15}$), d'IMC ($p < 0.01$), de total cholestérol ($p < 0,001$) et de HDL-cholestérol ($p < 0,0001$) et des valeurs plus basses du rapport LDL-Cholestérol/HDL-Cholestérol ($p < 0,0001$), de PAS ($p = 0,02$) et de PAD ($p < 0,001$) que celles obtenues dans l'étude ECTOR.

Tableau IX: Caractéristiques des participants de l'étude ECTOR en comparaison avec les hommes de l'étude ISOR.

	ISOR Hommes	ECTOR	P
Age (année)	44,98± 10,89	43,61±12,84	Ns
Taille (cm)	172,83±6,38	172,14±6,61	Ns
Poids (kg)	73,53±14,20	69,77±11,95	<0,01
Tour de taille (cm)	89,11±11,53	86,56±11,73	<10⁻¹⁵
Rapport taille/hanches	0,90±0,07	0,84±0,19	0,23
IMC (kg/m ²)	24,56±4,21	23,51±3,68	<0,01
Total cholestérol (mmol/L)	4,45±0,76	4,19±0,96	<0,001
HDL-cholestérol (mmol/L)	1,27±0,30	0,96±0,26	<0,0001
LDL-cholestérol (mmol/L)	2,64±0,73	2,68±0,83	ns
Triglycérides (mmol/L)	1,21±0,55	1,21±0,58	ns
LDL-Cholestérol/HDL-Cholestérol	2,25±0,95	3,04±1,40	<0,0001
PAS Systolic (mmHg)	125,37±17,69	129,13±18,37	0,02
PAD Diastolic (mmHg)	77,72±9,74	84,92±32,37	<0,0001

Les valeurs représentent les moyennes ± Ecart type

Le tableau 1 détaille les caractéristiques de la population étudiée, les paramètres d'âge, d'IMC et des lipides plasmatiques sont représentée sous forme de moyenne ± Ecart type,

PAS : Pression Artérielle Systolique, PAD: Pression Artérielle Diastolique, IMC: Indice de Masse Corporelle

Les caractéristiques de base des participants à l'étude ISOR sont résumées dans le tableau X. Nous avons observé des différences anthropométriques et cliniques significatives entre les hommes et les femmes de l'étude ISOR. Comparés aux femmes les hommes de

l'étude ISOR sont plus âgés ($p=0.01$) et ont des valeurs de taille ($p<0.001$), de poids ($p<0.001$), de tour de taille ($p<0.01$), de rapport tour de taille/tour de hanche ($p<0.0001$), de glucose ($p=0.001$), de triglycérides ($p=0.04$), de PAS ($p=0.01$) et de PAD ($p=0.02$) plus élevées. Cependant, les femmes présentent des valeurs d'IMC ($p<10^{-15}$) et d'insuline ($p<10^{-8}$) significativement plus élevées que celles enregistrées chez les hommes.

Tableau X: Caractéristiques des participants de l'étude ISOR.

	Total ISOR	ISOR Hommes	ISOR Femmes	<i>p</i>
Age (année)	43,96±10,12	44,98± 10,89	43,03± 9,26	0,01
Taille (cm)	165,46±9,63	172,83±6,38	165,35±9,62	<0,001
Poids (kg)	71,35±14,60	73,53±14,20	71,30±14,63	<0,001
Tour de taille (cm)	87,71±12,35	89,11±11,53	86,42± 12,95	0,002
Rapport taille/hanches	0,86 ±0,09	0,90±0,07	0,83± 0,09	<0,0001
IMC (kg/m ²)	26,11±5,15	24,56±4,21	27,53± 5,52	<10⁻¹⁵
Total cholestérol (mmol/L)	4,44±0,92	4,45±0,76	4,45±1,03	ns
HDL-cholestérol (mmol/L)	1,25±0,31	1,27±0,30	1,23±0,32	ns
LDL-cholestérol (mmol/L)	2,67±0,88	2,64±0,73	2,72± 0,98	ns
Triglycérides (mmol/L)	1,16±0,51	1,21±0,55	1,14± 0,48	0,04
LDL-Cholestérol/HDL-Cholestérol	2,34±1,59	2,25±0,95	2,21±1,40	ns
PAS Systolic (mmHg)	123,65±18,12	125,37±17,69	122,07± 18,40	0,01
PAD Diastolic (mmHg)	76,86±9,90	77,72±9,74	76,07± 9,99	0,02
Glucose à jeun (mmol/L)	0,96±0,33	0,99± 0,33	0,94± 0,33	0,001
Insuline à jeun (μIU/mL)	8,44±6,54	7,14± 5,93	9,64± 6,84	<10⁻⁸

Les valeurs représentent les moyennes ± Ecart type

Le tableau 1 détaille les caractéristiques de la population étudiée, les paramètres d'âge, d'IMC et des lipides plasmatiques sont représentée sous forme de moyenne ± Ecart type,

PAS : Pression Artérielle Systolique, PAD: Pression Artérielle Diastolique, IMC: Indice de Masse Corporelle

I.2. Fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme epsilon de l'APOE dans la population algérienne ECTOR

Les fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme epsilon de l'APOE sont présentées dans les Tableaux XIa et XIb. Les distributions ne présentent pas de déviation de l'équilibre de Hardy-Weinberg. Nous avons comparé les distributions des génotypes et des allèles du polymorphisme epsilon entre les études ISOR et ECTOR (Tableau XIa), les fréquences génotypiques des deux études ne présentent pas de différences significatives ($p=0,11$). Les fréquences des allèles ϵ_2 , ϵ_3 et ϵ_4 sont respectivement de 5%, 85% et 10% dans l'étude ISOR et 7,2%, 80,5% et 12,3% dans l'étude ECTOR ($p=0,23$). Nous avons également

réalisé une comparaison entre la population masculine de l'étude ISOR et l'étude ECTOR (qui est composée exclusivement d'hommes), aucune différence significative de distribution génotypique et allélique du polymorphisme Epsilon n'a pu être observée entre les deux groupes ($p=0,57$) et ($p=0,67$) respectivement (Tableau XIa).

Nous avons également comparé les distributions génotypiques et alléliques entre hommes et femmes de l'étude ISOR, ces distributions ne présentent aucune différence significative entre les deux sexes ($p=0,19$) et ($p=0,12$) respectivement (Tableau XIb).

Tableau XIa : Distribution génotypiques et alléliques du polymorphisme epsilon de l'APOE

Polymorphisme Epsilon	Génotypes	ECTOR	ISOR (Total)	ISOR (Hommes)
		n (%)	n (%)	n (%)
	$\epsilon 2/\epsilon 2$	1(0,9%)	3 (0,4%)	2 (0,6%)
	$\epsilon 2/\epsilon 3$	13(11,0%)	64 (8,7%)	34 (9,5%)
	$\epsilon 2/\epsilon 4$	2(1,7%)	3 (0,4%)	3 (0,8%)
	$\epsilon 3/\epsilon 3$	75(63,5%)	525 (71,8%)	245(68,2%)
	$\epsilon 3/\epsilon 4$	27(22,9%)	124 (16,9%)	69 (19,2%)
	$\epsilon 4/\epsilon 4$	0(0,0%)	13 (1,8%)	6 (1,7%)
	p^a	$p=0,11$		
	p^b	$p=0,57$		
	Fréquences alléliques			
	$\epsilon 2$	17(7,2%)	73 (5%)	41(5,7%)
	$\epsilon 3$	190(80,5%)	1238 (84,6%)	593(82,6%)
	$\epsilon 4$	29(12,3%)	153 (10,4%)	84(11,7%)
	p^a	$p=0,23$		
	p^b	$p=0,67$		

p^a : comparaison entre la population ISOR Totale et la population ECTOR

p^b : comparaison entre les hommes de la population ISOR et la population ECTOR

Tableau XIb. Distributions des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme epsilon de l'APOE dans l'étude ISOR.

		Total n (%)	Hommes n (%)	Femmes n (%)
Epsilon	Génotypes			
	ε2/ε2	3 (0,4%)	2 (0,6%)	1 (0,3%)
	ε2/ε3	64 (8,7%)	34 (9,5%)	30 (8,0%)
	ε2/ε4	3 (0,4%)	3 (0,8%)	0 (0,0%)
	ε3/ε3	525 (71,8%)	245(68,2%)	280(75,1%)
	ε3/ε4	124 (16,9%)	69 (19,2%)	55 (14,7%)
	ε4/ε4	13 (1,8%)	6 (1,7%)	7 (1,9%)
	pEHW	0,07		
	<i>p</i>	0,19		
	Fréquences alléliques			
	ε2	73 (5%)	41(5,7%)	32(4,3%)
	ε3	1238 (84,6%)	593(82,6%)	645(86,5%)
	ε4	153 (10,4%)	84(11,7%)	69(9,2%)
<i>p</i>	0,12			

H-W: équilibre de Hardy-Weinberg

I.3. Association entre le polymorphisme epsilon de l'APOE et les concentrations des lipides plasmatiques et les valeurs des mesures anthropométriques et biologiques

Les mesures anthropométriques concernant, la taille, le poids, le tour des hanches et le tour de taille, les valeurs calculées de rapport tour de taille/tour des hanches et d'IMC ainsi que les concentrations plasmatiques de total cholestérol, de triglycérides, de LDL-cholestérol, et de HDL-cholestérol, et les prises de PAS et PAD sont comparées entre les groupes de génotypes; les porteurs de l'allèle ε2 (ε2ε2, et ε2 ε3) et les porteurs de l'allèle ε4 (ε4ε4 et ε3ε4) sont comparés avec les porteurs de l'allèle fréquent ε3 (ε3ε3).

I.3.1. Etude ECTOR

L'étude ECTOR nous permet d'analyser l'impact du gène de l'APOE sur les principaux indicateurs anthropométriques, biochimiques et biologiques du risque cardiovasculaire dans la population oranaise des années 90. Après recrutement des participants à l'étude, trois sujets, sous traitement hypolipémiant, ont été exclus des analyses; les résultats sont présentés dans le tableau XII.

Des différences significatives de concentrations de total cholestérol ($p < 0,001$) et de LDL-Cholestérol ($p < 0,001$) ont été mesurées entre les groupes de génotypes. Ces différences

restent significatives après ajustement sur les covariables (Age, IMC, Diabète, consommation de tabac et d'alcool), elles sont dues essentiellement à la présence de l'allèle $\epsilon 2$ qui est associé à des concentrations réduites de total cholestérol ($p=0,01$) et de LDL-cholestérol ($p=0,006$) et des valeurs plus basses de ratio LDL-cholestérol/HDL-cholestérol ($p=0,04$). Fait intéressant, aucune différence dans les concentrations plasmatiques de lipides n'est associée à l'allèle $\epsilon 4$. Aucune association significative n'a été retrouvée entre les génotypes de l'allèle epsilon et les variations des valeurs anthropométriques ou biologiques dans l'étude ECTOR.

I.3.2 Etude ISOR

L'étude ISOR nous permet de suivre l'évolution des valeurs des principaux indicateurs du risque cardiovasculaire dans la population oranaise sur les vingt ans qui séparent les deux études, et de mesurer l'impact du gène de l'APOE dans la population oranaise en comparaison avec son impact sur ces mêmes paramètres vingt ans plutôt.

Dans l'étude ISOR, aucune association significative avec les paramètres étudiés n'a pu être détectée lorsque l'on compare les porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ avec les porteurs de l'allèle $\epsilon 3$. Cependant, les porteurs de l'allèle $\epsilon 2$ semblent présenter des valeurs de poids et d'IMC plus élevées en comparaison avec les porteurs de l'allèle $\epsilon 3$, avec des valeurs p proches des seuils significatifs ($p=0,05$ et $p=0,02$ respectivement).

En revanche, les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ ont montré des concentrations significativement plus élevées de triglycérides plasmatiques ($p=0,0002$), de cholestérol total ($p=0,009$), de LDL-cholestérol ($p=0,003$) et de rapport LDL-cholestérol/HDL-cholestérol ($p=0,001$) en comparaison avec les porteurs de l'allèle $\epsilon 3$ (tableau XIII).

En analysant les résultats des associations chez les hommes et les femmes séparément, on remarque que l'effet reporté sur les triglycérides n'est retrouvé que chez les femmes. A l'inverse l'effet sur les concentrations de total cholestérol, LDL cholestérol et le rapport LDL-cholestérol/HDL-cholestérol n'est retrouvé que chez les hommes (tableau XIV).

Le sexe, le statut ménopausique chez les femmes (Etude ISOR) et l'utilisation de médicaments hypolipémiants pourraient modifier considérablement les concentrations des lipides plasmatiques, nous avons pris en compte ces facteurs de confusion et étudié les associations entre les polymorphismes APOE et les lipides plasmatiques, chez les hommes et les femmes séparément et dans le groupe des femmes non ménopausées. Toutes les associations précédemment décrites ont été reproduites dans chaque groupe, ce qui signifie

que le sexe, le statut ménopausique et les traitements hypolipémiants n'ont pas d'influence notable sur les associations

I.3.3. Analyses d'interaction

Nous avons voulu déterminer si les associations décrites précédemment pouvaient être influencées différemment dans les études ECTOR et ISOR (Tableau XV). L'analyse d'interaction montre que le polymorphisme epsilon de l'APOE a le même effet sur les paramètres lipidiques et biologiques quelle que soit l'étude, avec des valeurs de p variant de 0,06 à 0,95 pour les différents modèles statistiques utilisés. Cependant, nous avons enregistré une différence significative dans l'effet du polymorphisme epsilon sur les valeurs de PAD entre les deux études, pour le modèle comparant les 3 groupes de génotypes ($p < 0,001$), et en comparant les sujets $\epsilon 4\epsilon 4 + \epsilon 4\epsilon 3$ avec les sujets $\epsilon 3\epsilon 3$ ($p < 0,01$).

Tableau XII: impact du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ECTOR

	$\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 3$	$\epsilon 4\epsilon 4+\epsilon 3\epsilon 4$	<i>P</i>	<i>p^a</i>	<i>p^b</i>
	14	81	28			
Taille (cm)	172,71±5,43	172,30±7,16	170,61±4,79	0,40	0,98	0,19
Poids (kg)	68,14±10,62	71,38±12,54	68,73±9,10	0,34	0,42	0,51
Tour de taille (cm)	84,23±9,79	87,39±11,97	86,44±11,83	0,64	0,50	0,51
Tour des hanches (cm)	97,23±7,10	98,19±7,63	96,44±5,64	0,51	0,50	0,53
IMC (kg/m ²)	22,79±3,07	24,01±3,74	23,64±3,27	0,42	0,36	0,98
Rapport taille/hanches	0,86±0,05	0,85±0,17	0,84±0,18	0,28	0,81	0,19
Triglycérides (mmol/L)	1,18±0,72	1,30±0,56	1,34±0,71	0,94	0,91	0,65
Total cholestérol (mmol/L)	3,64±0,95	4,49±0,98	4,27±0,79	<0,001	0,01	0,53
HDL-cholestérol (mmol/L)	0,92±0,24	0,96±0,26	0,88±0,24	0,30	0,76	0,15
LDL-cholestérol (mmol/L)	2,18±0,77	2,95±0,81	2,78±0,75	<0,001	0,006	0,63
LDL-Cholestérol/HDL-Cholestérol	2,56±1,22	3,32±1,35	3,53±1,80	0,10	0,04	0,29
PAS Systolic (mmHg)	124,73±16,10	130,57±17,08	128,96±21,00	0,90	0,63	0,99
PAD Diastolic (mmHg)	76,41±12,07	83,84±11,63	98,83±81,93	0,11	0,14	0,07

Les valeurs représentent les moyennes ± SD. PAS: pression artérielle systolique; PAD: pression artérielle diastolique.

p : *p* de comparaison entre les trois groupes de génotypes non ajusté ;

p^a: valeurs de *p* obtenues en comparant les sujets $\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$ avec les sujets $\epsilon 3\epsilon 3$

p^b: valeurs de *p* obtenues en comparant les sujets $\epsilon 3\epsilon 4+\epsilon 4\epsilon 4$ avec les sujets $\epsilon 3\epsilon 3$

p^a et *p^b* ajustés sur l'âge et le statut tabagisme pour les variables anthropométriques.

p ajustés sur l'âge, l'IMC et le statut tabagisme pour les variables biochimiques.

Tableau XIII: impact du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ISOR

	$\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 3$	$\epsilon 4\epsilon 4+\epsilon 4\epsilon 3$	p^a	p^b
N	67	522	137		
Poids (kg)	74,6 ± 17,9	71,0 ± 14,2	70,7 ± 13,6	0,05	0,6
Tour de Taille (cm)	89,4 ± 13,3	87,6 ± 12,5	87,4 ± 11,6	0,33	0,81
Tour des Hanches (cm)	103,0 ± 10,6	101,9 ± 9,7	101,0 ± 9,3	0,16	0,6
IMC (kg/m ²)	27,3 ± 6,2	26,1 ± 5,1	25,5 ± 4,5	0,02	0,42
Rapport taille/hanches	0,87 ± 0,08	0,86 ± 0,09	0,87 ± 0,08	0,93	0,71
Glucose à jeun (mmol/L)*	4,98 ± 1,28	5,04 ± 1,30	5,20 ± 1,53	0,23	0,25
Insuline à jeun (μIU/mL)*	9,18 ± 6,65	7,95 ± 5,48	8,65 ± 8,31	0,76	0,35
Triglycerides (mmol/L) [†]	1,34 ± 0,78	1,09 ± 0,44	1,24 ± 0,48	0,1	0,0002
Total cholesterol (mmol/L) [†]	4,25 ± 0,95	4,41 ± 0,86	4,63 ± 1,11	0,1	0,009
HDL-cholesterol (mmol/L) [†]	1,27 ± 0,34	1,26 ± 0,30	1,22 ± 0,32	0,4	0,06
LDL-cholesterol (mmol/L) [†]	2,47 ± 0,85	2,64 ± 0,82	2,88 ± 1,05	0,06	0,003
LDL-cholesterol /HDL-cholesterol ratio [†]	2,14 ± 1,07	2,25 ± 1,00	2,55 ± 1,23	0,18	0,001
PAS (mmHg) ^{††}	122,6 ± 16,3	120,6 ± 14,8	122,7 ± 17,8	0,95	0,13
PAD (mmHg) ^{††}	75,5 ± 8,8	76,6 ± 9,8	76,3 ± 11,1	0,83	0,38

Les valeurs représentent les moyennes ± SD. PAS: pression artérielle systolique; PAD: pression artérielle diastolique.

p ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme pour les variables anthropométriques.

p ajustés sur l'âge, le sexe, l'IMC, l'activité physique, le statut tabagisme pour les variables biochimiques.

p^a : valeurs de p obtenues en comparant les sujets $\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$ avec les sujets $\epsilon 3\epsilon 3$.

p^b : valeurs de p obtenues en comparant les sujets $\epsilon 4\epsilon 4+\epsilon 4\epsilon 3$ avec les sujets $\epsilon 3\epsilon 3$.

*les sujets traités pour le diabète ont été exclus (n=54).

[†] les sujets traités avec des hypolipémiants ont été exclus (n=36).

^{††} les sujets traités pour l'hypertension ont été exclus (n=89).

Tableau XIV: Impact du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ISOR chez les hommes et les femmes

	Total				Hommes				Femmes			
	$\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 3$	$\epsilon 4\epsilon 4+\epsilon 4\epsilon 3$	<i>p</i>	$\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 3$	$\epsilon 4\epsilon 4+\epsilon 4\epsilon 3$	$\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$	<i>p</i>	$\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 3$	$\epsilon 4\epsilon 4+\epsilon 4\epsilon 3$
N	67	522	137		36	243	75		31	279	62	
Poids(kg)	74,62±17,89	71,01±14,23	70,69±13,63	0,1	73,56 ±17,31	73,95 ±13,87	72,57 ±13,39	0,57	75,85±18,76	68,45 ±14,05	68,42±13,69	0,04
Tour de taille (cm)	89,37±13,26	87,60 ±12,51	87,45 ±11,63	0,57	88,79 ±13,40	89,64 ±11,55	88,10 ±10,76	0,51	90,03±13,29	85,82±13,05	86,66±12,65	0,46
Tour des hanches (cm)	103,01±10,56	101,92±9,69	101,05±9,30	0,3	98,73±8,17	99,34 ±7,94	98,86±7,90	0,84	107,99±10,93	104,17±10,49	103,66±10,20	0,13
IMC (kg/m ²)	27,27±6,20	26,11±5,07	25,48±4,50	0,04	24,95 ±5,00	24,69 ±4,18	24,31±3,83	0,52	29,95±6,45	27,35 ±5,45	26,89 ±4,86	0,06
Rapport taille/hanches	0,87 ±0,08	0,86 ±0,09	0,87±0,08	0,94	0,90±0,07	0,90±0,07	0,89 ±0,06	0,51	0,83 ± 0,08	0,82 ±0,10	0,84 ±0,09	0,48
Triglycerides (mmol/L)	1,34 ±0,77	1,12±0,46	1,25±0,48	0,002	1,26±0,67	1,17 ±0,50	1,29 ±0,56	0,14	1,43±0,86	1,07±0,42	1,20±0,38	0,001
Total cholesterol (mmol/L)	4,25 ±0,93	4,42 ±0,87	4,62 ±1,09	0,006	4,09±0,85	4,45 ±0,74	4,57±0,75	0,004	4,43±1,00	4,39±0,97	4,68±1,40	0,10
HDL-cholesterol (mmol/L)	1,29±0,35	1,26± 0,30	1,22±0,32	0,07	1,31±0,35	1,27±0,29	1,26±0,31	0,58	1,26±0,36	1,25±0,31	1,17±0,32	0,08
LDL-cholesterol (mmol/L)	2,47±0,84	2,65±0,83	2,87± 1,04	0,001	2,28±0,32	2,64±0,72	2,75± 0,70	0,005	2,63± 0,84	2,67± 0,92	3,01± 1,33	0,02
LDL-cholesterol /HDL-cholesterol ratio	2,11± 1,07	2,27± 1,02	2,53 ± 1,21	0,0005	1,98± 1,07	2,23± 0,93	2,34± 0,87	0,007	2,26 ±1,07	2,30 ± 1,09	2,76 ±1,50	0,03
Glucose (mmol/L)	5,34±2,00	5,31± 1,78	5,54± 2,07	0,20	5,03±0,96	5,56±2,00	5,54±1,68	0,16	5,69±2,72	5,10±1,54	5,55±2,48	0,20
Insulin (µIU/mL)	9,38±7,22	8,22± 6,01	8,88±8,39	0,47	7,31± 5,71	6,77±4,93	8,39±8,57	0,29	11,78± 8,11	9,49±6,56	9,48± 8,20	0,92
PAS (mmHg)	124,10± 16,60	123,44± 18,03	125,68± 20,29	0,12	123,68± 17,35	125,59± 18,29	125,39± 17,01	0,68	124,60±15,97	121,56±17,62	126,03±23,81	0,06
PAD (mmHg)	77,60± 9,56	76,77± 9,63	77,42± 11,49	0,51	76,15± 9,83	78,22± 9,82	76,79± 10,16	0,4	79,27± 9,11	75,51± 9,29	78,19± 12,96	0,06

p ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme pour les variables anthropométriques.

p ajustés sur l'âge, le sexe, l'IMC, l'activité physique, le statut tabagisme pour les variables biochimiques.

Tableau XV: Impact du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les lipides plasmatiques et les pressions artérielles en fonctions de la population d'étude

	ECTOR			ISOR			<i>p</i> 3 groupes	<i>p</i> ε2	<i>p</i> ε4
	ε2ε2+ε2ε3	ε3ε3	ε4ε4+ε4ε3	ε2ε2+ε2ε3	ε3ε3	ε4ε4+ε4ε3			
PAS (mm Hg)	124,73±16,10	130,57±17,08	128,96±21,00	122.6 ± 16.3	120.6 ± 14.8	122.7 ± 17.8	0,81	0,95	0,9
PAD (mm Hg)	76,41±12,07	83,84±11,63	98,83±81,93	75.5 ± 8.8	76.6 ± 9.8	76.3 ± 11.1	<0,001	0,34	<0,01
Total cholestérol (mmol/l)	3,64±0,95	4,49±0,98	4,27±0,79	4.25 ± 0.95	4.41 ± 0.86	4.63 ± 1.11	0,06	0,15	0,1
Triglycérides (mmol/l)	1,18±0,72	1,30±0,56	1,34±0,71	1.34 ± 0.78	1.09 ± 0.44	1.24 ± 0.48	0,29	0,65	0,28
HDL-cholestérol (mmol/l)	0,92±0,24	0,96±0,26	0,88±0,24	1.27 ± 0.34	1.26 ± 0.30	1.22 ± 0.32	0,65	0,4	0,45
LDL-cholestérol (mmol/l)	2,18±0,77	2,95±0,81	2,78±0,75	2.47 ± 0.85	2.64 ± 0.82	2.88 ± 1.05	0,07	0,17	0,15
LDL-cholesterol (mmol/l) /HDL-cholesterol ratio	2,56±1,22	3,32±1,35	3,53±1,80	2.14 ± 1.07	2.25 ± 1.00	2.55 ± 1.23	0,57	0,74	0,77

p 3 groupes: valeur de *p* obtenue en comparant l'effet des trois génotypes simultanément.

p ε2 : valeur de *p* obtenue en comparant les sujets ε2ε2+ε2ε3 avec les sujets ε3ε3.

p ε4 : valeur de *p* obtenue en comparant les sujets ε4ε4+ε4ε3 avec les sujets ε3ε3.

II. Association entre les polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE et les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population

II.1. Fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE

Les fréquences génotypiques et alléliques des polymorphismes de l'APOE ont été déterminés (tableau XVI). Les fréquences des allèles mineurs (allèle T) du rs439401, et (allèle G) du rs4420638 sont de 38% et 11% respectivement dans l'ensemble de la population. Aucune différence hommes femmes n'est enregistrée.

Tableau XVI: Distributions des fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE dans l'étude ISOR.

		Total n (%)	Hommes n (%)	Femmes n (%)
rs439401	Génotypes			
	CC	288 (39,02%)	140 (39,00%)	148(39,05%)
	CT	335 (45,39%)	163 (45,40%)	172(45,38%)
	TT	115(15,58%)	56 (15,60%)	59 (15,57%)
	pEHW	0,28		
	P	0,99		
	Fréquences alléliques			
	C	911(0,62%)	443(0,62%)	468(0,62%)
	T	565(0,38%)	275(0,38%)	290(0,38%)
	P	0,98		
rs4420638	Génotypes			
	AA	596 (78,94%)	289 (78,96%)	307(78,92%)
	AG	149 (19,74%)	70 (19,13%)	79 (20,31%)
	GG	10(1,32%)	7 (1,91%)	3 (0,77%)
	pEHW	0,84		
	P	0,37		
	Fréquences alléliques			
	A	1341(0,89%)	648(0,89%)	693(0,89%)
	G	169(0,11%)	84(0,11%)	85(0,11%)
	P	0,73		

H-W: équilibre de Hardy-Weinberg

II.2. Analyses d'association entre les polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE et les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population

Les associations entre les polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE et les phénotypes anthropométriques (poids, tour de taille et des hanches et de l'IMC), les paramètres biochimiques (concentrations de glucose, d'insuline à jeun de triglycérides du plasma, de cholestérol total, le HDL-cholestérol et le LDL-cholestérol) et les phénotypes cliniques (PAS et PAD) sont présentés dans les Tableaux (XVII-XIX).

Aucune association significative n'a été détectée entre le SNP rs4420638 et les paramètres étudiés dans l'étude ISOR (tableau XVII). Cependant, l'allèle G semble être associé à des valeurs inférieures des indicateurs de l'obésité dans la population oranaise. Les valeurs de p se rapprochent mais restent en dessous des seuils statistiquement significatifs (poids $p=0.04$, tour de taille $p=0,07$, tour de hanches $p=0,04$, IMC $p=0.08$)

En revanche, l'allèle T du rs439401 est significativement associé à des concentrations basses de triglycérides plasmatiques ($p=0,005$) (tableau XVII). Cette association a disparu après ajustement supplémentaire sur le polymorphisme epsilon de l'APOE ($p=0,25$).

L'analyse des résultats hommes/femmes séparément confirme les résultats précédents. Mis à part une association avec les concentrations de triglycérides, aucune association significative n'a été reportée, ni chez les hommes ni chez les femmes (tableaux XVIII et XIX).

Comme précédemment, nous avons pris en compte ces facteurs de confusion et étudié les associations entre les polymorphismes APOE et les lipides plasmatiques, chez les hommes et les femmes séparément et dans le groupe des femmes non ménopausées. Toutes les associations précédemment décrites ont été reproduites dans chaque groupe, ce qui signifie que le sexe, le statut ménopausique et les traitements hypolipémiantes n'ont pas d'influence notable sur les associations présentées.

Tableau XVII: Impact des polymorphismes rs439401 et rs4420638 sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ISOR.

	rs439401					rs4420638				
	CC	CT	TT	<i>p</i>	<i>p</i> ¹	AA	AG	GG	<i>p</i>	<i>p</i> ¹
N	288	335	115			596	149	10		
Poids (kg)	71.6 ± 14.5	71.5 ± 15.0	70.8 ± 13.6	0.87	0.68	71.7 ± 14.9	69.4 ± 13.4	67.7 ± 5.9	0.04	0.04
Tour de taille(cm)	88.1 ± 12.6	87.7 ± 12.2	87.4 ± 12.4	0.83	0.66	88.0 ± 12.5	86.7 ± 11.9	83.5 ± 11.2	0.11	0.07
Tour des hanches(cm)	102.2 ± 10.0	102.0 ± 10.00	101.3 ± 9.1	0.56	0.45	102.2 ± 9.9	100.8 ± 9.3	97.0 ± 6.2	0.04	0.04
IMC(kg/m ²)	26.0 ± 5.2	26.3 ± 5.1	26.0 ± 4.9	0.65	0.79	26.2 ± 5.2	25.4 ± 4.6	24.5 ± 2.9	0.05	0.08
Rapport taille/hanches	0.86 ± 0.08	0.86 ± 0.10	0.86 ± 0.08	0.83	0.92	0.86 ± 0.08	0.86 ± 0.11	0.86 ± 0.11	0.99	0.64
Glucose à jeun (mmol/L)*	5.04 ± 1.20	5.10 ± 1.52	5.06 ± 1.14	0.69	0.48	5.03 ± 1.26	5.20 ± 1.60	5.03 ± 0.70	0.18	0.34
Insuline à jeun (µIU/mL)*	8.02 ± 6.09	8.57 ± 6.53	7.58 ± 5.62	0.72	0.7	8.07 ± 5.62	8.75 ± 8.28	6.61 ± 2.89	0.31	0.58
Triglycerides (mmol/L) [†]	1.20 ± 0.51	1.14 ± 0.50	1.07 ± 0.47	0.005	0.25	1.14 ± 0.49	1.19 ± 0.55	1.21 ± 0.41	0.06	0.89
Total cholestérol (mmol/L) [†]	4.50 ± 1.02	4.42 ± 0.86	4.35 ± 0.82	0.14	0.42	4.44 ± 0.90	4.43 ± 0.98	4.51 ± 1.02	0.76	0.42
HDL-cholestérol (mmol/L) [†]	1.24 ± 0.31	1.26 ± 0.33	1.27 ± 0.27	0.29	0.41	1.25 ± 0.30	1.27 ± 0.34	1.17 ± 0.24	0.82	0.55
LDL-cholestérol (mmol/L) [†]	2.74 ± 0.97	2.66 ± 0.82	2.58 ± 0.82	0.11	0.31	2.69 ± 0.87	2.64 ± 0.88	2.78 ± 0.88	0.94	0.20
LDL-cholestérol /HDL-cholestérol ratio [†]	2.39 ± 1.15	2.38 ± 2.12	2.17 ± 0.88	0.31	0.19	2.37 ± 1.76	2.25 ± 1.02	2.36 ± 0.52	0.65	0.09
PAS (mmHg) ^{††}	121.4 ± 16.4	120.9 ± 14.8	121.1 ± 15.1	0.66	0.44	120.9 ± 14.8	121.0 ± 17.6	128.1 ± 18.9	0.36	0.51
PAD (mmHg) ^{††}	75.4 ± 10.1	75.9 ± 8.7	76.4 ± 8.6	0.14	0.09	75.7 ± 9.0	75.7 ± 10.1	78.1 ± 12.2	0.56	0.58

Les valeurs représentent les moyennes ± SD. PAS: pression artérielle systolique; PAD: pression artérielle diastolique.

p ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme pour les variables anthropométriques.

p ajustés sur l'âge, le sexe, l'IMC, l'activité physique, le statut tabagisme pour les variables biochimiques.

*p*¹ valeurs de *p* obtenues avec ajustement supplémentaire sur l'APOE epsilon.

*les sujets traités pour le diabète ont été exclus (n=54).

[†] les sujets traités avec des hypolipémiants ont été exclus (n=36).

^{††} les sujets traités pour l'hypertension ont été exclus (n=89).

Tableau XIII: Impact du polymorphisme rs439401 sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ISOR chez les hommes et les femmes.

rs439401	Total						Hommes						Femmes					
	11 (CC)	12 (CT)	22 (TT)	<i>p</i>	<i>P</i> _{add}	<i>P</i> _{add*}	11 (CC)	12 (CT)	22 (TT)	<i>p</i>	<i>P</i> _{add}	<i>P</i> _{add*}	11 (CC)	12 (CT)	22 (TT)	<i>p</i>	<i>P</i> _{add}	<i>P</i> _{add*}
N	288	335	115				140	163	56				148	172	59			
Poids (kg)	71,59±14,54	71,52±15,02	70,79±13,59	0,91	0,87	0,83	72,92±14,93	74,30±14,29	73,48±12,38	0,28	0,23	0,8	70,34±14,09	68,88±15,25	68,23±14,28	0,81	0,52	0,42
Tour de taille (cm)	88,09±12,61	87,73±12,23	87,39±12,37	0,98	0,83	0,85	88,72±11,85	89,94±11,31	88,82±11,81	0,41	0,35	0,96	87,51±13,31	85,63±12,72	86,04±12,84	0,85	0,7	0,58
Tour des hanches (cm)	102,20±10,00	101,97±9,99	101,30±9,11	0,76	0,56	0,64	98,55 ±8,34	99,54±7,96	99,13±7,70	0,2	0,18	0,48	105,63±10,24	104,28±11,13	103,36±9,91	0,44	0,21	0,14
IMC (kg/m ²)	26,00±5,22	26,27±5,08	25,96±4,87	0,64	0,65	0,79	24,27±4,38	24,97±4,14	24,45±3,99	0,12	0,18	0,5	27,64 ±5,43	27,49±5,57	27,40 ±5,22	0,95	0,83	0,94
Rapport taille/hanches	0,86 ±0,08	0,86 ±0,10	0,86±0,08	0,95	0,83	0,96	0,90±0,07	0,90±0,06	0,89 ±0,07	0,93	0,97	0,45	0,83 ± 0,08	0,82 ± 0,10	0,83 ±0,09	0,67	0,37	0,39
Triglycerides (mmol/L)	1,21±0,50	1,16±0,53	1,10±0,49	0,04	0,01	0,49	1,26± 0,57	1,19± 0,53	1,16±0,53	0,12	0,05	0,4	1,16± 0,43	1,14± 0,52	1,04±0,46	0,12	0,08	0,12
Total cholestérol (mmol/L)	4,51±1,02	4,42±0,85	4,39±0,86	0,39	0,21	0,68	4,49± 0,80	4,36± 0,71	4,59±0,83	0,07	0,91	0,12	4,53±1,19	4,48± 0,97	4,20±0,85	0,12	0,07	0,12
HDL-cholestérol (mmol/L)	1,24±0,30	1,25±0,33	1,26±0,27	0,62	0,36	0,72	1,27± 0,32	1,25± 0,31	1,29±0,25	0,81	0,49	0,71	1,21± 0,29	1,26± 0,35	1,24±0,30	0,35	0,49	0,35
LDL-cholestérol (mmol/L)	2,74±0,96	2,65±0,82	2,65±0,80	0,41	0,27	0,63	2,67± 0,77	2,57± 0,68	2,76±0,80	0,22	0,9	0,34	2,80± 1,12	2,72± 0,93	2,55±0,79	0,28	0,11	0,28
LDL-cholestérol /HDL-cholestérol ratio	2,38± 1,13	2,38± 2,10	2,25 ± 1,00	0,62	0,39	0,79	2,29± 1,03	2,21± 0,89	2,27± 0,97	0,72	0,75	0,75	2,46 ± 1,22	2,54 ±2,79	2,22 ±1,03	0,59	0,32	0,56
Glucose à jeun (mmol/L)	5,22±1,60	5,42±2,02	5,55±2,06	0,13	0,03	0,02	5,33± 1,46	5,62± 2,10	5,66±2,11	0,50	0,18	0,56	0,92±0,31	0,94±0,35	0,98±0,37	0,17	0,06	0,22
Insuline à jeun (µIU/mL)	8,14± 6,19	8,86±7,01	8,01±6,46	0,33	0,99	0,45	6,66±4,98	7,79± 7,12	6,59±4,11	0,63	0,21	0,62	9,54±6,88	9,88± 6,77	9,36± 7,89	0,56	0,74	0,57
PAS (mmHg)	123,15±17,82	124,51±19,28	124,14±17,2	0,56	0,29	0,4	122,86±14,6	127,51± 19,9	126,84±18,67	0,16	0,06	0,17	123,42±20,46	121,67±18,27	121,58±15,5	0,99	0,92	0,93
PAD (mmHg)	76,14± 10,27	77,28± 9,67	78,13± 9,46	0,07	0,02	0,04	76,65± 9,79	78,40± 9,66	79,40±10,24	0,13	0,04	0,26	75,67± 10,72	76,22± 9,59	76,93± 8,56	0,32	0,14	0,4

Les valeurs de *p* ont été ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme,

p add obtenu pour le modèle additif.

p add* obtenu pour le modèle additif avec ajustement supplémentaire sur l'APOE Epsilon

Tableau XIX: Impact du polymorphisme rs4420638 sur les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques dans la population ISOR chez les hommes et les femmes.

rs4420638	Total						Hommes						Femmes					
	11	12	22	<i>p</i>	<i>P</i> add	<i>P</i> add*	11	12	22	<i>p</i>	<i>P</i> add	<i>P</i> add*	11	12	22	<i>p</i>	<i>P</i> add	<i>P</i> add*
N	596 (AA)	149 (AG)	10 (GG)				289	70	7				307	79	3			
Poids (kg)	71,72±14,92	69,38±13,42	67,72±5,94	0,15	0,05	0,04	73,99±14,53	72,64±13,38	67,33±6,56	0,26	0,10	0,12	69,59±14,98	66,49±12,86	68,63±5,26	0,18	0,08	0,07
Tour de taille (cm)	87,98±12,51	86,66±11,92	83,47±11,20	0,33	0,09	0,14	89,58±11,68	88,59±10,72	82,71±12,94	0,24	0,10	0,14	86,48±13,09	84,95±12,71	85,23±7,41	0,54	0,31	0,28
Tour des hanches (cm)	102,16±9,89	100,80±9,33	97,02±6,22	0,13	0,05	0,05	99,31 ±8,17	98,77±7,70	93,80±4,13	0,21	0,10	0,17	104,82±10,61	102,61±10,28	104,53±1,36	0,19	0,09	0,07
IMC (kg/m ²)	26,22±5,21	25,42±4,59	24,46±2,88	0,14	0,10	0,04	24,72±4,32	24,18±3,90	23,68±2,80	0,28	0,15	0,12	27,63 ±5,58	26,52±4,89	26,29 ±2,57	0,18	0,07	0,07
Rapport taille/hanches	0,86 ±0,08	0,86 ±0,11	0,86±0,11	0,93	0,70	0,92	0,90±0,07	0,90±0,06	0,88±0,12	0,57	0,29	0,30	0,82 ± 0,08	0,83 ± 0,13	0,82 ±0,08	0,78	0,49	0,48
Triglycérides (mmol/L)	1,16± 0,51	1,21±0,56	1,21±0,41	0,11	0,05	0,90	1,20±0,54	1,29±0,60	1,19± 0,47	0,15	0,07	0,86	1,12± 0,47	1,47± 0,51	1,27±0,31	0,55	0,32	0,59
Total cholestérol (mmol/L)	4,45± 0,91	4,44±0,98	4,51±1,02	0,90	0,74	0,66	4,43±0,74	4,50±0,87	4,63± 0,78	0,47	0,23	0,82	4,47± 1,04	4,39± 1,06	4,23± 1,63	0,95	0,76	0,58
HDL-cholestérol (mmol/L)	1,25± 0,31	1,26±0,33	1,17±0,24	0,71	0,61	0,64	1,26±0,30	1,27±0,31	1,21± 0,22	0,92	0,61	0,88	1,24± 0,31	1,25± 0,35	1,08±0,29	0,81	0,87	0,63
LDL-cholestérol (mmol/L)	2,69± 0,88	2,66±0,89	2,78±0,88	0,84	0,92	0,40	2,62±0,71	2,67±0,85	2,88± 0,66	0,55	0,32	0,70	2,75± 1,01	2,65± 0,93	2,57±1,44	0,89	0,63	0,37
LDL-cholestérol /HDL-cholestérol ratio	2,38± 1,74	2,28± 1,03	2,36 ± 0,52	0,70	0,92	0,31	2,23± 0,93	2,31± 1,10	2,39± 0,47	0,64	0,19	0,53	2,51 ± 2,25	2,25 ±0,98	2,29 ±0,72	0,90	0,72	0,53
Glycémie	5,33± 1,83	5,55±2,11	5,02±0,70	0,19	0,18	0,25	5,47± 1,80	5,73± 2,19	5,03± 0,72	0,32	0,44	0,27	5,19± 1,86	5,40± 2,04	5,00± 0,81	0,48	0,28	0,68
Insulin (µIU/mL)	8,32± 6,15	9,01±8,29	6,61±2,89	0,39	0,18	0,95	7,08±5,44	7,68± 8,05	5,61±2,27	0,95	0,80	0,52	9,50±6,55	10,17± 8,38	8,93± 3,23	0,18	0,07	0,36
PAS (mmHg)	123,83±18,21	122,83±18,52	132,75±23,23	0,10	0,36	0,13	126,28±18,73	122,06± 12,88	130,71±22,44	0,12	0,47	0,12	121,53±17,42	123,51±22,42	137,50±29,47	0,02	0,03	0,09
PAD (mmHg)	77,16± 9,87	75,74± 9,74	80,25± 13,46	0,17	0,83	0,19	78,43± 10,01	75,43± 8,00	80,36±13,10	0,04	0,19	0,14	75,96± 9,60	76,01± 11,10	80,00± 17,32	0,42	0,34	0,66

Les valeurs de *p* ont été ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme,
p add obtenu pour le modèle additif.
p add* obtenu pour le modèle additif avec ajustement supplémentaire sur l'APOE Epsilon

II.3. Le déséquilibre de liaison et l'analyse haplotypique

II.3.1. Le déséquilibre de liaison

Nous avons évalué, dans l'étude ISOR, le déséquilibre de liaison (DL) entre les polymorphismes epsilon de l'APOE (rs429358 et rs7412), le rs439401 et le rs4420638. Les rs439401 et rs4420638 SNPs ne sont pas en DL avec le polymorphisme epsilon de l'APOE ($r^2 < 0,16$) (Tableau XX) (Figure 11).

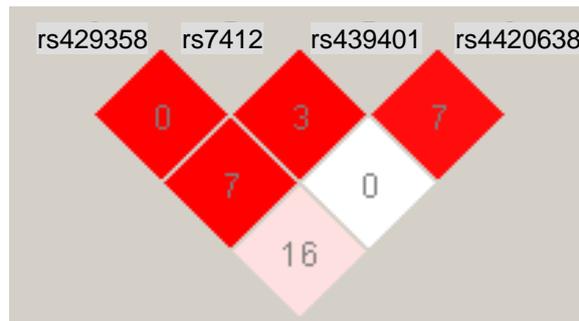


Figure 11: Modèle de déséquilibre de liaison (D' en couleur, r^2 valeurs) pour les SNPs APOE dans l'étude ISOR.

Les SNPs avec les valeurs élevées de D' sont indiqués en rouge et celles avec des valeurs basses de D' sont représentés en blanc. Les valeurs de r^2 sont indiquées dans les carrés.

Tableau XX: Valeurs de r^2 et de D' pour les polymorphismes de l'APOE dans l'échantillon ISOR

	D'				
	rs429358	rs7412	rs439401	rs4420638	
r^2	rs429358	-	100	100	43
rs7412	1	-	100	35	
rs439401	7	3	-	97	
rs4420638	16	0	8	-	

II.3.2. l'analyse Haplotypique

Nous avons exploré les effets des haplotypes des SNPs epsilon (rs429358 et rs7412), rs439401 et rs4420638 sur les concentrations plasmatiques de LDL-cholestérol dans l'étude ISOR. Tout d'abord, nous avons sélectionné la configuration haplotypique la plus informative. Le meilleur modèle haplotypique inclus les polymorphismes APOE epsilon et le rs4420638 ($p=0,002$, avec 4 ddl). Nous avons ensuite procédé à des analyses d'haplotypes pour l'APOE

epsilon et le rs4420638 (Logiciel THESIAS (Tregouet & Garelle, 2007)). Cinq haplotypes ont été déduits ($\epsilon 3A$, $\epsilon 3G$, $\epsilon 4A$, $\epsilon 4G$ and $\epsilon 2A$) (tableau XXI). Le test pour l'effet global d'haplotype est significatif ($p=0,002$).

En comparaison avec l'haplotype le plus fréquent (haplotype de référence) $\epsilon 3A$, l'haplotype $\epsilon 4A$ est associé à des niveaux plus élevés de LDL-cholestérol (Δ [95%CI]=+0,35 [0,18-0,51] mmol/L, $p=0,0001$), tandis que l'haplotype $\epsilon 2A$ est associé à des niveaux plus bas de LDL-cholestérol (Δ [95%CI]=-0,20 [-0,41— -0,01] mmol/L, $p=0,05$), ce qui confirme les effets délétères et protecteurs des allèles $\epsilon 4$ et $\epsilon 2$ respectivement. L'haplotype $\epsilon 3G$ est associé à des niveaux de LDL-cholestérol similaires (Δ [95% intervalle de confiance (CI)]=0.02 [-0,17— +0,21] mmol/L, $p=0,74$) en comparaison avec les porteurs de l'haplotype $\epsilon 3A$; ce résultat suggère que l'allèle G du rs4420638 n'a pas d'effet dans un fond $\epsilon 3$. Fait intéressant et contrairement à ce que nous avons observé pour l'haplotype $\epsilon 4A$, l'haplotype $\epsilon 4G$ n'est pas associé à des niveaux plus élevés de LDL-cholestérol, par rapport à l'haplotype de référence $\epsilon 3A$ (Δ [95%CI]= -0,05 [-0,27—-0,17] mmol/L, $p=0,81$). Par conséquent, l'allèle G du SNP rs4420638 peut avoir contrebalancé l'effet délétère de l'allèle $\epsilon 4$. Les résultats sont détaillés dans le tableau XXI. Des résultats haplotypiques similaires ont été obtenus pour les valeurs de total cholestérol.

Tableau XXI: Effet des haplotypes de l'APOE sur les concentrations plasmatiques de LDL-cholestérol dans l'étude ISOR.

rs429358/rs7412/rs4420638	Haplotypes		Fréquences	Effet de l'Haplotype [95% IC] (mmol/L)	p
		ϵ /rs4420638			
TCA	$\epsilon 3A$	0,784	reference	-	
TCG	$\epsilon 3G$	0,061	0,02 [-0,17 - 0,21]	0,74	
CCA	$\epsilon 4A$	0,054	0,35 [0,18 - 0,51]	0,0001	
CCG	$\epsilon 4G$	0,051	-0,05 [-0,27 - 0,17]	0,81	
TTA	$\epsilon 2A$	0,05	-0,20 [-0,41 - 0,01]	0,05	

Les polymorphismes sont classés en fonction de leur position dans la séquence génomique.

Les valeurs sont la différence des moyennes [95% IC] en comparaison avec l'haplotype de référence $\epsilon 3A$ (moyenne [95% IC]=1.33 [1,29-1,37] mmol/L) en utilisant le logiciel Thesias.

III. Impact du gène de l'APOE sur les principaux facteurs de risque cardiovasculaires

La plupart des facteurs de risque des maladies cardiovasculaires (Syndrome métabolique, diabète, obésité, hypertension artérielle...) sont maintenant connus. Ces facteurs de risque sont modifiables ou susceptibles d'être prévenus. C'est pourquoi la mise en place de stratégies de prévention à l'échelle des populations fournirait un bénéfice potentiel considérable. Pour cela, il est nécessaire d'identifier les cibles de prévention primaire et/ou secondaire les mieux adaptées à chaque population par la mesure du niveau d'exposition de ces populations aux différents facteurs de risque et la mesure de leur impact dans ces populations.

La contribution des trois SNPs du gène APOE sur le syndrome métabolique défini selon les critères du NCEP ATP III, diabète de type 2, l'hypertension artérielle, et l'obésité a été évaluée par analyse de régression logistique. Les odds ratios (OR) ajustés pour l'âge, le sexe, l'activité physique et le tabagisme et les intervalles de confiance à 95% (IC) sont présentés dans les tableaux XXIII à XXV.

III. 1. Prévalence du syndrome métabolique et des principaux facteurs de risque cardiovasculaire dans la population oranaise

Au-delà de l'impact du gène de l'APOE sur bilan lipidique, notre étude a également permis de mesurer la prévalence des facteurs de risque conventionnels de maladie coronaire dans la population oranaise. Ces données concernant la population oranaise sont présentées dans le tableau XXII.

Le diabète touche 10,58% de la population. La distribution des prévalences selon le sexe ne présente aucune différence significative ($p=0,39$), elle est de 11,57% chez les hommes et de 9,67% les femmes.

La prévalence de l'obésité dans la population générale est de 21,19%. Elle touche plus les femmes (32,52%) que les hommes (8,99%), avec une différence significative dans la distribution des prévalences entre hommes et femmes ($p<0,0001$).

La prévalence du syndrome métabolique dans la population oranaise est de 20,03%, la distribution de cette pathologie est également significativement différente entre les deux sexes ($p<0,0001$). En effet, elle touche plus de femmes que d'hommes; 25,87% des femmes présentent un syndrome métabolique tandis que 13,71% des hommes en sont atteints.

L'hypertension artérielle touche 23.10% de la population d'étude. La pathologie est présente chez 21,16% des hommes et 19,56% des femmes, la distribution des prévalences chez les hommes et les femmes ne présente aucune différence significative ($p=0,57$).

Tableau XXII: prévalence des différents troubles cardio-métaboliques dans la population ISOR.

	Population Totale (756) N(%)	Hommes (363) N(%)	Femmes (393) N(%)	<i>P</i>
DT2	80(10,58%)	42(11,57%)	38(9,67%)	0,40
Obésité	167(21,19%)	34(8,99%)	133(32,52%)	<0,0001
SM	155(20,03%)	51(13,71%)	104(25,87%)	<0,0001
HTA	182(23,10%)	80(21,16%)	80(19,56%)	0,58

DT2: Diabète de type 2, SM : Syndrome métabolique, HTA : Hypertension Artérielle.

III. 2. Polymorphisme epsilon de l'APOE et risque cardiovasculaire

Aucune association significative n'a été reportée entre les génotypes du polymorphisme epsilon et les principaux facteurs de risque cardiovasculaires étudiés, avec des valeurs de p comprises entre 0,04 et 0,92 (Tableau XXIII).

III. 3. Polymorphisme rs439401 et risque cardio-métabolique

Dans l'étude ISOR, le rs439401 a montré une association significative avec l'HTA. L'allèle T confère un risque élevé d'HTA avec un odds ratio (OR) de 1,46 (IC 95% [1,12-1,9], $p=0,006$). Aucunes associations avec l'obésité et le SM n'ont été détectées dans l'étude ISOR (tableau XXIV).

III. 4. Polymorphisme rs4420638 et risque cardio-métabolique

L'analyse en régression logistique a montré que le polymorphisme rs4420638 est significativement associé à l'obésité dans la population générale. L'allèle G confère une protection contre l'obésité, l'OR obtenu est de 0,48 (IC à 95% [0,29-0,81], $p=0,005$), (tableau

XXV). Aucuns effets du polymorphisme rs4420638 sur le DT2, le SM et l'HTA n'ont été détectés dans l'étude ISOR.

Les associations décrites pour les rs439401 et rs4420638 sont restées significatives même après ajustement sur le polymorphisme APOE epsilon.

Tableau XXIII: polymorphisme epsilon de l'APOE et risque cardiovasculaire

APOE ε	ISOR		
	APOE3	APOE2	APOE4
DT2	455/58	52/6	116/12
Non/oui	1,00 (ref)	0,87 (0,34-2,22)	0,84 (0,42-1,68)
OR(95% IC)			
<i>P</i>		0,77	0,63
Obésité	414/111	47/20	115/22
Non/oui	1,00 (ref)	1,88 (1,01-3,51)	0,80 (0,48-1,37)
OR(95% IC)			
<i>P</i>		0,04	0,41
SM	424/96	48/18	108/28
Non/oui	1,00 (ref)	1,74 (0,92-3,32)	1,29 (0,78-2,14)
OR(95% IC)			
<i>p</i>		0,09	0,33
HTA	413/112	54/13	110/27
Non/oui	1,00 (ref)	1,18 (0,63-2,20)	0,97 (0,60-1,59)
OR(95% IC)			
<i>p</i>		0,60	0,92

DT2: Diabète de type 2, SM : Syndrome métabolique, HTA : Hypertension Artérielle.
p ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme

Tableau XXIV: polymorphisme rs439401 et risque cardiovasculaire

rs439401	Allèle majeur/ Allèle mineur	Génotypes (N)		ISOR	OR* [95% IC]
		<i>p</i>		OR [95% IC]	<i>p</i>
DT2	C/T	Témoins	Cas	CT vs CC :	1,47 [1,03-2,09] <i>p</i> =0,03
		CC (254) CT (285) TT (95)	CC(22) CT (38) TT (16)	1,57[0,88-2,79] <i>p</i> =0,13 TT vs CC : 2,12[1,02-4,39] <i>p</i> =0,04	
Obésité	C/T	<i>p</i> = 0,13		CA vs CC :	1,16 [0,89-1,51] <i>p</i> =0,27
		CC (233) CT (262) TT (89)	CC(57) CT (74) TT (26)	1,27(0,84-1,92) <i>p</i> =0,26 AA vs CC : 1,34[0,76-2,35] <i>p</i> =0,31	
SM	C/T	<i>p</i> = 0,71		AT vs AA:	1,06[0,80-1,40] <i>p</i> =0,69
		CC (228) CT (265) TT (90)	CC(56) CT (65) TT (24)	1,04[0,68-1,59] <i>p</i> =0,87 TT vs AA: 1,13[0,64-2,02] <i>p</i> =0,67	
HTA	C/T	<i>p</i> =0,95		CT vs CC :	1,46[1,12-1,90] <i>p</i>=0,006
		CC (241) CT (262) TT (86)	CC(49) CT (74) TT (29)	1,46[0,95-2,26] <i>p</i> =0,09 TT vs CC : 1,90[1,07-3,36] <i>p</i> =0,03	
		<i>p</i> =0,11			

DT2: Diabète de type 2, SM : Syndrome métabolique, HTA : Hypertension Artérielle.

OR ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme,

OR* obtenu pour le modèle additif,

Tableau XXV: polymorphisme rs4420638 de l'APOE et risque cardio-métabolique

rs4420638	Allèle majeur/ Allèle mineur	ISOR			
		Genotypes (N)		OR [95% IC]	OR* [95% IC]
		<i>P</i>		<i>P</i>	<i>p</i>
DT2	A/G	Témoins	Cas	AG vs AA :	0,99[0,56-1,75] <i>p</i> =0,98
		AA (515)	AA (63)	1,20[0,65-2,22]	
		AG(124)	AG(16)	<i>p</i> =0,56	
		<hr/> <i>p</i> = 0,56 <hr/>			
Obésité	A/G	AA (463)	AA(136)	AG vs AA :	0,48[0,29-0,79] <i>p</i>=0,004
		AG(128)	AG(21)	0,51[0,30-0,85]	
		GG (10)	GG (0)	<i>p</i>=0,01	
		<hr/> <i>p</i> = 0,02 <hr/>			
SM	A/G	AA (473)	AA (117)	AG vs AA :	1,10[0,71-1,70] <i>p</i> =0,66
		AG(118)	AG(27)	0,93[0,57-1,53]	
		GG (7)	GG (3)	<i>p</i> =0,78	
		<hr/> <i>p</i> = 0,68 <hr/>			
HTA	A/G	AA (469)	AA (254)	AG vs AA :	0,73[0,47-1,14] <i>p</i> =0,17
		AG(128)	AG(285)	0,56[0,33-0,96]	
		GG (7)	GG (95)	<i>p</i> =0,03	
		<hr/> <i>p</i> = 0,09 <hr/>			
				GG vs AA:	
				2,24[0,51-9,84]	
				<i>p</i> =0,29	

DT2: Diabète de type 2, SM : Syndrome métabolique, HTA : Hypertension Artérielle.

OR ajustés sur l'âge, le sexe, l'activité physique, le statut tabagisme,

OR* obtenu pour le modèle additif,

Discussion

Compte tenu du rôle déterminant de l'APOE dans le métabolisme des lipoprotéines, nous avons évalué l'effet de différents polymorphismes génétiques de ce gène sur les concentrations des lipides plasmatiques. En effet, il a été démontré par différents auteurs une association entre ces polymorphismes et des variations significatives des paramètres du bilan lipidique. Cependant, les distributions alléliques de ces polymorphismes révèlent une très grande disparité selon les populations. De plus, leur effet sur le métabolisme des lipides est sujet à variation, ce qui pourrait être dû à leurs interactions avec des facteurs environnementaux. La population algérienne n'ayant jamais bénéficié, à notre connaissance, de ce type d'exploration il nous a semblé important de réaliser cette étude d'épidémiologie génétique.

I. Association du gène de l'APOE avec les concentrations du bilan lipidique dans la population Oranaise

I.1. Caractéristiques du bilan lipidique, anthropométrique et biologique dans la population oranaise

Le bilan lipidique permet d'évaluer les concentrations des différentes fractions lipidiques présentes dans le sang afin d'évaluer le risque athérogène d'un patient et de prendre les mesures préventives (habitudes alimentaires, hygiène de vie) ou thérapeutiques adaptées. Différents paramètres peuvent être dosés lors de l'établissement d'un bilan lipidique, dans la présente étude, le cholestérol total, le LDL-cholestérol, le HDL-cholestérol, et les triglycérides ont été systématiquement dosés et le rapport LDL-cholestérol/HDL-cholestérol a été calculé. Les paramètres anthropométriques, essentiellement les indicateurs d'obésité (taille, Poids, tour de taille, tour des hanches) ont été mesurés et ont permis de calculer l'IMC et le rapport tour de taille/tour des hanches. Enfin, les PAS et PAD ont été enregistrées.

Les deux études réalisées à 20 ans d'intervalle, montrent des valeurs de triglycérides identiques (1,21 mmol/l). Les concentrations de LDL-cholestérol ne présentent pas de différences significatives entre les études ISOR et ECTOR. Cependant, des différences significatives ont été enregistrées pour les concentrations de cholestérol total et de HDL-cholestérol ($p < 0,001$) avec des valeurs supérieures dans l'étude ISOR.

Le rapport LDL-cholestérol/HDL-cholestérol est différent significativement dans les deux études, la moyenne du rapport a connu une nette diminution dans l'étude ISOR (2,25) en comparaison avec l'étude ECTOR (3,04) ($p < 0,001$). Cette variation est due à l'augmentation

significative de la concentration du HDL-cholestérol. Cette valeur, reste largement en dessous du seuil pathologique de 3,55 pour lequel le risque athérogène est statistiquement important.

Ainsi, les concentrations de total cholestérol et de HDL-cholestérol ont connu une augmentation au cours des 20 dernières années, elles sont significativement plus élevées dans l'étude ISOR, en comparaison avec l'étude ECTOR ($p < 0,001$). Cependant, le rapport LDL-cholestérol/HDL-cholestérol a connu une diminution dans l'étude ISOR en comparaison avec l'étude ECTOR. A ce titre, la population oranaise semble être actuellement moins exposée au risque athérogène associé aux concentrations des paramètres lipidiques.

Les valeurs de PAS et PAD enregistrées dans la population de l'étude ISOR sont différentes significativement en comparaison avec la population de l'étude ECTOR ($p = 0,02$ et $p < 0,001$ respectivement), elles sont inférieures chez les sujets de l'étude ISOR. Le lien entre niveau tensionnel et risque cardiovasculaire est continu, il n'y a pas de seuil individualisé en dessous duquel le risque peut être considéré comme nul. Ainsi le risque cardiovasculaire augmente d'une manière continue avec l'augmentation de la pression artérielle. La population oranaise semble ainsi moins exposée au risque lié au niveau tensionnel qu'il y a 20 ans.

Les valeurs mesurées des indicateurs d'obésité ont connu une augmentation significative au cours des vingt dernières années dans la population Oranaise ($p < 10^{-15}$ et $p < 0,01$ respectivement). En effet, la moyenne de tour de taille est passée de 86,56 cm dans l'étude ECTOR à 89,11 cm dans l'étude ISOR, de la même manière, la moyenne de l'IMC est passée de 23,51 kg/m² dans l'étude ECTOR à 24,56 kg/m² dans l'étude ISOR.

Au sein même de la population de l'étude ISOR, des différences significatives ont été enregistrées entre hommes et femmes dans les paramètres anthropométriques. Les hommes présentent des valeurs supérieures de tour de taille ($p = 0,002$) et inférieures d'IMC ($p < 10^{-15}$) en comparaison avec les femmes. Des différences significatives ont été enregistrées également entre les hommes et les femmes de l'étude ISOR, dans le bilan lipidique et biologique. En effet, les femmes présentent des valeurs inférieures à celles des hommes de concentrations de triglycérides ($p = 0,04$) et de glycémie à jeun ($p = 0,001$), de PAS ($p = 0,01$) et de PAD ($p = 0,02$); et des concentrations supérieures d'insuline à jeun ($p < 10^{-8}$).

Les concentrations du bilan lipidique sont supérieures dans la population algérienne, à celles enregistrées dans la population tunisienne (Bahri et al, 2008), mais elles restent cependant inférieures à celle observées dans les populations caucasiennes (Lopes et al, 2007). Ceci confirme les résultats publiés précédemment sur la population oranaise et qui ont également montré que les concentrations plasmatiques des paramètres lipidiques sont systématiquement inférieures chez les sujets algériens que chez les individus français

(Mediene et al, 1997). Ceci peut s'expliquer par les différences dans le régime alimentaire entre la population oranaise et les autres populations caucasiennes.

Pour un facteur de risque donné, la fréquence de ce facteur de risque est étroitement dépendante du seuil retenu pour sa définition. Les seuils classiquement pris en compte sont ceux définis par les sociétés savantes sur la base d'études épidémiologiques réalisées dans des populations de pays industrialisés. Elles s'appuient, le plus souvent, sur les concentrations plasmatiques absolues de cholestérol total, de LDL-cholestérol et de HDL-cholestérol.

Nos résultats, obtenus dans deux études sur la population algérienne présentent des concentrations lipidiques inférieures à celles reportées dans les populations caucasiennes, ceci montre qu'il est difficile de définir des valeurs seuils applicables à toute population, ce qui soulève le problème de la pertinence des valeurs seuils sur la population oranaise. Ainsi, l'utilisation des recommandations des sociétés savantes, sans adaptation préalable aux spécificités de la population algérienne, conduirait, à tort, à écarter une grande part de la population de toute prise en charge d'une dyslipidémie potentiellement athérogène.

Exprimés en ratios, les effets des variations des concentrations de lipides sont de meilleurs marqueurs du risque cardiovasculaire que la valeur absolue de ces concentrations. Il semble donc que ces ratios soient des indicateurs pertinents du risque cardiovasculaire quelle que soit l'origine ethnique de la population étudiée. Le ratio LDL-cholestérol/HDL-cholestérol, qui constitue un indice révélateur du risque artériel et surtout coronarien et les recommandations qui en tiendraient compte, seraient, en revanche, facilement transposable d'une population à une autre, sans adaptation préalable, ce qui n'est pas le cas des recommandations actuelles appuyées sur les concentrations plasmatiques absolues des lipides (Mediene-Benchekor et al, 2001).

I.2. Fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme epsilon de l'APOE dans la population Oranaise

Le polymorphisme epsilon de l'APOE défini par une double substitution en position 112 et 158, est un excellent indicateur génétique de la dyslipidémie à travers le monde. A l'heure actuelle il est le polymorphisme le plus étudié en association avec les variations du bilan lipidique.

Les études ECTOR et ISOR présentent des valeurs similaires de fréquences génotypiques et alléliques. En effet, la fréquence de l'allèle ϵ_4 dans la population de l'étude ECTOR est de 0,12 ; dans la population de l'étude ISOR, la fréquence est de 0,10 dans la

population totale, et de 0,12 chez les hommes. Ces valeurs sont équivalentes à celles observées dans la population française (Luc et al, 1994), mais sont plus élevées que la fréquence observée dans les populations grecque (Schiele et al, 2000), espagnole (Gomez-Coronado et al, 1999), marocaine (Lahlali-Kacemi et al, 2002) et tunisienne (Jemaa et al, 2006). Ces valeurs placent donc l'Algérie dans la continuité du gradient décroissant de fréquences de l'allèle $\epsilon 4$, observé dans la population européenne.

Plusieurs études ont souligné l'hétérogénéité des fréquences alléliques des polymorphismes de l'APOE dans le monde entier et particulièrement le polymorphisme epsilon (Davignon et al, 1988; Hallman et al, 1991; Liberopoulos et al, 2004; Schiele et al, 2000; Tan et al, 2003; Tired et al, 1994).

Comparé aux populations Caucasiennes, différentes populations asiatiques ont montré des fréquences réduites des allèles $\epsilon 2$ et $\epsilon 4$ (Eto et al, 1986; Evans et al, 1993; Wang et al, 1987). Inversement, les populations d'Europe du Nord ont montré des fréquences remarquablement élevées de l'allèle APOE $\epsilon 4$ (Ehnholm et al, 1986; Gerdes et al, 1992). Par conséquent, dans l'hémisphère Nord, la fréquence de l'allèle $\epsilon 4$ suit un gradient Nord du Sud, allant de plus de 0,20 en Suède et en Finlande à moins de 0,07 en Grèce et en Italie. Ce gradient Nord-Sud décroissant de la fréquence de l'APOE $\epsilon 4$ est d'un intérêt particulier car il est parallèle aux taux de mortalité par maladie coronarienne (Schiele et al, 2000). En Algérie, en tant que pays d'Afrique du Nord, la fréquence de l'allèle APOE $\epsilon 4$ est comparable à celle observée dans les pays du sud de l'Europe.

I.3. Association du polymorphisme epsilon de l'APOE avec les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques

L'association entre le polymorphisme epsilon de l'APOE et les paramètres anthropométriques, biochimiques et biologiques a été évaluée à deux reprises dans la population oranaise, dans l'étude ECTOR puis vingt ans après, dans l'étude ISOR. Aucune association significative n'a été retrouvée entre le polymorphisme epsilon de l'APOE et les paramètres anthropométriques et biologique dans les deux études, le polymorphisme epsilon semble ne pas avoir d'effet sur les variations de ces paramètres.

Dans l'étude ECTOR, l'allèle $\epsilon 2$ est associé à des valeurs inférieures de total cholestérol ($p=0,01$), de LDL-cholestérol ($p=0,006$) et de rapport LDL-cholestérol/HDL-cholestérol ($p=0,04$), ceci est en accord avec plusieurs études qui ont rapporté l'association de l'allèle $\epsilon 2$ avec des concentrations de total et/ou de LDL-cholestérol plus basses comparées avec les

homozygotes $\epsilon_3\epsilon_3$. L'allèle ϵ_2 exerce ainsi un effet protecteur sur les concentrations des lipides plasmatiques (Bahri et al, 2008; Barbagallo et al, 2001). Cependant, aucune association significative n'a été observée entre l'allèle ϵ_4 et les variations de concentrations du bilan lipidique. Ceci est en accord avec des résultats reportés précédemment lors d'une étude sur la population de l'île d'Ustica en Italie sur un échantillon de 576 sujets de la population générale et qui montrent l'effet protecteur de l'allèle ϵ_2 mais pas l'effet délétère de l'allèle ϵ_4 sur les concentrations du bilan lipidique (Bahri et al, 2008; Barbagallo et al, 2001). Cependant, la plupart des études rapportent à la fois l'effet protecteur de l'allèle ϵ_2 et l'effet délétère de l'allèle ϵ_4 (Hallman et al, 1991; Howard et al, 1998; Xhignesse et al, 1991). D'autres études n'ont rapporté aucun effet du polymorphisme epsilon de l'APOE sur les variations du bilan lipidique (Pitsavos et al, 2005).

Dans l'étude ISOR, et contrairement à l'étude ECTOR, l'effet protecteur de l'allèle ϵ_2 n'est pas retrouvé, il n'est significativement pas associé à des variations des concentrations des lipidiqes plasmatiques ($0,06 \leq p \leq 0,18$). Cela est probablement dû au trop faible nombre de porteurs de l'allèle ϵ_2 ($n=67$). Seuls les porteurs de l'allèle ϵ_4 ont montré un effet délétère sur le bilan lipidique et présentent une association significative avec des concentrations plus élevées de total cholestérol ($p=0,009$), de LDL-cholestérol ($p=0,003$) et de ratio LDL-cholestérol/HDL-cholestérol ($p=0,001$). L'allèle ϵ_4 est de plus, associé, à des concentrations plus élevées de triglycérides, comme précédemment observé par Kofler et al dans une étude réalisée au Royaume-Uni (Kofler et al, 2012). L'isoforme ϵ_4 de l'APOE (qui se lie préférentiellement à VLDL) peut interférer avec l'activité de la lipase plasmatique ou avec le système d'élimination des triglycérides, ce qui se traduit par une lipolyse ou une clairance retardée des triglycérides plasmatiques chez les sujets de phénotype $\epsilon_4\epsilon_3$ (Dallongeville et al, 1992). Par conséquent, nos résultats sont cohérents avec les études antérieures (Hallman et al, 1991; Howard et al, 1998; Wilson et al, 1993; Xhignesse et al, 1991)

Contrairement aux études précédentes dans des populations de différentes ethnies (Alvim et al, 2010; Kofler et al, 2012; Liang et al, 2013; Medina-Urrutia et al, 2004) mais en cohérence avec d'autres études chez des sujets tunisiens (Bahri et al, 2008; Jemaa et al, 2006), nous n'avons détecté, aucune association significative entre le polymorphisme epsilon APOE et les concentrations de HDL-cholestérol, dans l'étude ISOR. D'autres études sur des échantillons de la population algérienne sont donc nécessaires pour conclure.

En analysant les hommes et les femmes séparément dans la population de l'étude ISOR, on remarque que les effets observés sur le total-cholestérol, LDL-cholestérol et le ratio LDL-cholestérol/HDL-cholestérol sont portés exclusivement par les hommes. Cependant,

l'effet observé sur les concentrations de triglycérides est porté par les femmes, ceci est en accord avec des résultats rapportés par Shin et al sur la population coréenne, où l'allèle $\epsilon 4$ est associé à des concentration élevées de triglycérides uniquement chez les femmes (Shin et al, 2005).

Le polymorphisme epsilon semble donc exercer des effets différents dans les deux populations d'étude.

II. Analyses d'interaction

Les analyses d'interaction entre le polymorphisme étudié, et la population d'étude montrent des valeurs de p comprises entre 0,06 et 0,77 pour les paramètres lipidiques, ce qui suggère que le polymorphisme epsilon exerce le même effet sur les paramètres lipidiques dans les deux études (ECTOR et ISOR).

Le fait que seul l'effet protecteur de l'allèle $\epsilon 2$ soit observé dans la population de l'étude ECTOR, et l'effet délétère de l'allèle $\epsilon 4$ dans la population de l'étude ISOR peut s'expliquer par le changement du mode de vie, essentiellement le changement des habitudes alimentaires que l'Algérie a connu ces dernières années. En effet, un apport de plus en plus important de lipides dans l'alimentation a été constaté. Selon Karamanos et al, les acides gras représentent actuellement 34,5% de l'apport énergétique journalier en Algérie, cette valeur atteint 35,2% en milieu urbain (Karamanos et al, 2002) ce qui dépasse les recommandations de l'OMS (15-30%) et de la DNSG (Diabetes and Nutrition Study Group of the EASD) (<30%).

La sédentarisation de la population due notamment à l'amélioration des moyens de transport peut également expliquer nos résultats. Ces hypothèses sont confortées par les valeurs des indicateurs d'obésité obtenues dans les deux études. En effet, dans l'étude ISOR une augmentation significative des valeurs de poids ($p=0,003$), de tour de taille ($p<0,001$), et de rapport taille/hanches ($p=0,006$) est enregistrée en comparaison avec l'étude ECTOR. L'augmentation la plus importante concerne la valeur de tour de taille, révélatrice de l'obésité abdominale, et dont le tissu adipeux viscéral exerce un rôle important dans le maintien de l'homéostasie glucidique et lipidique par la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires qui contribuent notamment à l'insulinorésistance.

A la lumière de ces résultats et en tenant compte des hypothèses précédentes, on peut dire que l'effet délétère de l'allèle $\epsilon 4$ dans la population oranaise s'est exprimé en présence d'un

régime alimentaire riche en acide gras, qui a également contribué à l'évolution des indicateurs de l'obésité.

L'effet du régime alimentaire a été précédemment décrit par Cobbaert et al, qui a analysé l'interaction du polymorphisme epsilon de l'APOE entre des échantillons de populations de deux régions de Belgique, avec des apports nutritionnels en acides gras différents. Un effet significativement différent du polymorphisme epsilon sur les variations de concentrations de cholestérol entre les deux régions a été retrouvé, indiquant que l'effet du polymorphisme epsilon de l'APOE serait modulé par les différents environnements (Cobbaert & Mulder, 1998).

Les analyses d'interaction montrent que le polymorphisme epsilon de l'APOE exerce des effets différents sur la PAD dans les deux études ($p < 0,01$ pour l'allèle $\epsilon 4$). En effet, une différence significative dans la distribution des moyennes des PAD est enregistrée entre les deux études ECTOR et ISOR ($p = 0,02$). Cependant, les analyses d'association n'ont montré aucune association significative entre les allèles de l'epsilon et les variations de PAD dans les deux études, sachant que le polymorphisme de l'APOE n'intervient pas directement dans la régulation de la pression artérielle. L'effet peut être dû aux variations des concentrations de LDL-cholestérol, car il a été démontré que les concentrations de LDL-cholestérol peuvent altérer la relaxation vasculaire endothélium-dépendante chez des sujets présentant une hypertension essentielle (Panza et al, 1990). De manière générale, la distribution homogène des génotypes entre les deux échantillons, exclut la possibilité d'un effet attribué à une différence de distribution des génotypes.

III. Association entre les polymorphismes rs439401 et rs4420638 de l'APOE et les concentrations des lipides plasmatiques.

III.1. Fréquences des allèles des polymorphismes rs439401 et rs4420638

La fréquence de l'allèle mineur du SNP rs439401 (situé dans le cluster *APOE/APOC1*) est de 0,38 dans l'étude ISOR. Des fréquences similaires ont été rapportées dans la littérature et varient de 0,33 à 0,36 (Kring et al, 2010; Teslovich et al, 2010).

En ce qui concerne le SNP rs4420638 (situé à 14 kb en aval du locus de l'*APOE* dans le gène adjacent *APOC1*), la fréquence de l'allèle mineur (0,11) est nettement plus faible que la valeur observée dans des populations européennes (0,17) (Barber et al, 2010; Teslovich et al, 2010; Willer et al, 2009).

III.2. Etudes d'association entre les polymorphismes rs439401 et rs4420638 et les concentrations du bilan lipidique

Dans l'étude ISOR, nous avons trouvé une association significative entre le SNP rs439401 et les concentrations de triglycérides. Cette association a déjà été observée dans des études de type GWAS sur des populations européennes (Aulchenko et al, 2009; Teslovich et al, 2010). Cependant, cette association a disparu après ajustement supplémentaire sur le polymorphisme epsilon APOE, ce qui suggère que l'effet de rs439401 était porté par le polymorphisme epsilon lui-même.

Le rs4420638 qui a été associé à des variations de concentration de triglycérides, de total Cholestérol et de LDL-cholestérol lors de précédentes études sur les populations européennes (Pendergrass et al, 2013), ne présente aucune association significative avec les paramètres étudiés dans notre population. Ces résultats contrastés, pourraient s'expliquer par les différences dans la structure de LD du rs4420638 avec le polymorphisme epsilon APOE entre les populations algérienne et européenne: $D'=0$ et 16 avec rs7412 et rs429358, respectivement dans l'étude ISOR contre $D' = 66$ et $- 69$ avec rs7412 et rs429358, respectivement dans le panel EUR de la base de données 1000 Génomes (<http://browser.1000genomes.org>, Décembre 2012). Par conséquent, l'effet du SNP rs4420638 pourrait être principalement dû au polymorphisme epsilon dans les échantillons européens, mais indépendant dans l'étude ISOR. Ce résultat doit être analysé dans d'autres populations d'Afrique du Nord. L'analyse hommes/femmes ne montre aucune association supplémentaire.

III.3. Analyse Haplotypique

L'analyse des haplotypes a été effectuée afin de mieux comprendre les informations fournies par l'analyse individuelle des SNPs. Cette analyse a montré qu'en ce qui concerne les concentrations de LDL-cholestérol (ou de cholestérol total), le polymorphisme rs4420638 pourrait contrebalancer l'effet délétère de l'allèle epsilon 4, et que le meilleur modèle haplotypique inclus les polymorphismes epsilon et rs4420638 dans l'étude ISOR.

Nous concluons que, malgré les différences entre les populations (en termes de caractéristiques des sujets, la fréquence des allèles mineurs et les déséquilibres de liaison des SNPs), l'impact de l'allèle $\epsilon 4$ sur le profil lipidique plasmatique est similaire dans toutes les populations. Il est à noter que l'allèle A du rs4420638 peut exercer un effet protecteur dans les populations d'Afrique du Nord indépendamment du polymorphisme epsilon de l'APOE. Afin

de confirmer ces hypothèses, des répliques de ces travaux dans des études plus vastes, avec des effectifs plus importants sont nécessaires.

IV. Association du gène de l'APOE avec le risque cardiovasculaire et prévalence des principaux facteurs de risque cardiovasculaire dans la population Oranaise

IV.1. Prévalence du syndrome métabolique

La prévalence du syndrome métabolique selon la définition du NCEP ATP III est de 20,03% chez les sujets l'étude ISOR. En Algérie, peu de données sont disponibles quant à la prévalence de ce syndrome. Des études antérieures sur la population algérienne ont enregistré une prévalence de 17,4%, dans la population de Tlemcen (Yahia-Berrouiguet et al, 2009) et de 26,33% dans l'étude TAHINA (TAHINA, Novembre 2007). Au Maghreb, la prévalence du syndrome métabolique est de 28,35% chez les tunisiens (Belfki et al, 2013) et 18% chez les marocains (Rostom et al, 2013). En Europe, la prévalence du syndrome métabolique connaît une grande disparité selon la région et selon la définition. En France, elle varie entre 15% et 25% dans la population adulte (Meirhaeghe et al, 2005), et elle est de 23% dans la population des Etats Unis d'Amérique (Robitaille, 1994)

Les résultats obtenus dans notre population montrent que la prévalence du syndrome métabolique est plus élevée chez les femmes que chez les hommes (25,87% contre 13,71% - $p < 0,001$), ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus précédemment sur les populations maghrébines et qui montrent également une prévalence plus élevée chez les femmes, (32,7% vs 17,37%) chez les algériens, et (36,1% vs 20,6%) chez les tunisiens (Belfki et al, 2013; TAHINA, Novembre 2007).

Une étude regroupant 12 cohortes de 10 pays européens, montre une prévalence de 24,3%, ou le syndrome métabolique est présent chez 23,9% des hommes et 24,6% des femmes ($p < 0,001$) (Scuteri et al, 2014)

Nos résultats comme ceux de l'étude TAHINA montrent, que la prévalence du syndrome métabolique en Algérie se situe dans un gradient décroissant d'Est en Ouest, allant de 28,35% chez les Tunisiens à 18% chez les Marocains.

IV.2. Prévalence du Diabète de type 2

Le diabète touche 10,58% des sujets de l'étude ISOR, cette prévalence est inférieure à celle enregistrée par Bouki Hacène et al dans une population de l'Ouest Algérien (16,4%) (Boukli Hacene & Meguenni, 2007). Une étude précédente réalisée sur 7656 individus issus de la régions de Tlemcen dans l'extrême ouest algérien montre une prévalence de 10,5% et où les hommes semblent plus touchés que les femmes (15,8% vs 7,5%), avec une prévalence plus élevée en milieu urbain (Zaoui et al, 2007). La prévalence du diabète Algérie n'a cessé d'augmenter ces vingt dernières années: 2,1% à Alger en 1992 (Bezzaoucha et al 1992), 6% en 1994 dans l'étude ECTOR, 8,7% en 1995 (Kemali et al 1995) et 8,2 % au Sud-Est du pays en 2001 (Malek et al 2001). Nos résultats se rapprochent de ceux observés dans certains pays arabes comme le Qatar, 9,4%, Koweït, 8,0% (Asfour et al, 1995), Egypte, 13,5% (Herman et al, 1995), dépassent les prévalences du Maroc, 6,6% (Tazi et al, 2003), mais restent en dessous des résultats observés en Tunisie, 15,1% (Ben Romdhane et al, 2014)

IV.3. Prévalence de l'hypertension artérielle

Dans l'étude ISOR, l'hypertension artérielle touche 23,10% des sujets. Cette prévalence est inférieure à celles retrouvées dans d'autres études sur la population algérienne. En effet, la prévalence de l'hypertension dans la population Oranaise en 1994, était de 40,5% dans l'étude ECTOR. Boukli Hacene et al rapportent une prévalence de 32,7% dans une étude menée sur un échantillon de la population de Tlemcen (Boukli Hacene & Meguenni, 2007). Une étude menée sur un échantillon de population du Sahara algérien montre une prévalence de 44%, avec des différences selon le sexe et la couleur de peau (Temmar et al., 2007). Cependant, nos résultats montrent une prévalence supérieure à celle enregistrée dans l'étude STEPS Algérie et qui montre une prévalence dans la population générale de 10,8% (STEPS Mostaganem, 2003).

En général, la prévalence de l'hypertension artérielle varie dans les populations arabes, de 18% en Jordanie, 33,6% au Maroc pour atteindre 79,8% en Syrie (Tailakh et al, 2014; Tazi et al, 2003)

IV.4. Prévalence de l'obésité

La prévalence de l'obésité est de 21.19% dans la population de l'étude ISOR, elle est significativement plus élevée chez les femmes (32,52%) que chez les hommes (8,99%)

($p < 0,0001$). Ces résultats sont en accord avec ceux d'études précédentes sur la population de l'Ouest Algérien, en effet, Boukli Hacène et al rapportent une prévalence de 19,2% de l'obésité dans la population de Tlemcen (27,9% pour les femmes et 10,5% pour les hommes). L'enquête STEPS et, plusieurs études tunisiennes rapportent également des différences significatives selon le sexe (BenAlaya et al, 2002; Bonita et al, 2001). Les résultats de l'étude ECTOR sur des hommes de la population oranaise des années 90 rapportent une prévalence de 6%, on peut remarquer que la prévalence de l'obésité a augmenté durant la dernière décennie dans la population masculine oranaise.

En Europe la prévalence de l'obésité varie de 5,1% à 32,4%, elle suit un gradient Ouest/Est/Sud (Berghoefer et al, 2008). Au Maghreb, cette prévalence semble suivre un gradient décroissant Est/Ouest allant de 29,6% en Tunisie (Atek et al, 2013), à 14,9% au Maroc (El Rhazi et al, 2011), en passant par l'Algérie (21,9%).

IV.5. Association des polymorphismes du gène de l'APOE avec le risque cardiovasculaire

La prévalence des différents facteurs de risque cardiovasculaire a connu une diminution en Europe, grâce aux politiques de prévention menée en santé publique. Cependant, ces facteurs de risque sont en nette augmentation en Algérie et dans les pays en développement et sont considérés comme un problème majeur de santé publique. Le rôle de l'APOE comme régulateur du métabolisme des lipides, évoque la possibilité que la variabilité génétique de ce gène puisse être un facteur de risque pour le développement de troubles métaboliques. En effet, nous avons décrit précédemment une association entre le gène APOE et la dyslipidémie dans la population Algérienne, puis nous avons examiné l'association entre les polymorphismes du gène APOE (epsilon, rs439401 et rs4420638) et le risque de syndrome métabolique, de diabète de type 2, d'hypertension et d'obésité dans l'étude ISOR.

Dans cette étude, nous n'avons trouvé aucune association entre les trois polymorphismes du gène APOE et le syndrome métabolique dans la population algérienne. Cependant, certains facteurs de risque cardiovasculaire étaient significativement associés avec les génotypes des polymorphismes du gène de l'APOE.

Les résultats de la régression logistique ont montré que l'allèle ϵ_2 augmente le risque d'obésité de 88% OR=1,88 (IC 95% [1,01- 3,51], $p = 0,43$) dans l'étude ISOR. Des résultats similaires ont été observé dans une étude dans la population de la minorité rom de la Croatie (Zeljko et al, 2011).

Il est possible que les interactions gène-nutrition soient responsables de l'association observée entre l'allèle $\epsilon 2$ et l'obésité. En effet, les changements des habitudes alimentaires opérés durant cette dernière décennie, seraient responsables de l'augmentation de la prévalence de l'obésité, en interaction avec l'allèle $\epsilon 2$ (Boer et al, 1997; Talmud, 2007).

Les polymorphismes rs439401 et rs4420638 ont été associés lors d'études de type GWAS à des variations dans les concentrations des lipides plasmatiques, mais peu d'études se sont intéressées à analyser l'impact de ces polymorphismes sur les traits métaboliques et cardiovasculaires.

Nos résultats sur la population Oranaise rapportent, pour la première fois, que l'allèle T du polymorphisme rs439401 augmente le risque de diabète de type2 (OR 1,47, 95% IC [1,03-2,09] $p=0,03$) et d'hypertension artérielle (OR 1,46, 95% IC [1,12-1,90] $p=0,006$). Aucun résultat similaire n'a été reporté. On retrouve dans la littérature que l'allèle T du rs439401, est significativement associé à des variations d'IMC, de concentration d'insuline, de tour de taille et de concentration de triglycérides. Le génotype TT est positivement associé à une augmentation dans les valeurs de ces paramètres uniquement chez des individus psychologiquement stressés (Kring et al., 2011). Nos résultats sont peut-être révélateurs d'un état de stress de la population, résultant des changements opérés dans la population algérienne durant les deux dernières décennies, particulièrement avec la crise de sécurité qu'a connu le pays. Ces hypothèses nécessitent des investigations sur un échantillon plus large et dans lequel, le niveau de stress doit être mesuré avec précision.

L'allèle G du rs4420638 semble conférer un effet protecteur contre l'obésité (OR 0,48, 95% IC [0,29-0,79] $p=0,004$), là encore aucune étude ne s'est intéressée à mesurer l'association entre le polymorphisme rs4420638 et l'obésité.

Le fait que le rs4420638 soit en faible déséquilibre de liaison avec le polymorphisme epsilon dans notre population, confère à celle-ci un avantage sur les populations européennes, où ces deux polymorphismes sont en fort déséquilibre de liaison. Ainsi, l'étude de l'impact du rs4420638 serait indépendante de l'effet du polymorphisme epsilon, ce qui rend notre population très intéressante d'un point de vue génétique pour les analyses d'association impliquant le polymorphisme rs4420638.

Conclusion et perspectives

En conclusion, durant ces travaux de thèse nous avons pu déterminer les caractéristiques générales de la population Oranaise, en matière de bilan lipidique et biochimique, biologique et anthropométrique. Ces résultats ont permis de constater que le bilan lipidique a évolué favorablement alors que les indicateurs de l'obésité ont augmenté durant les vingt dernières années reflétant ainsi les changements opérés dans le mode de vie des Algériens, notamment en alimentation, devenue de plus en plus riche en acides gras, mais aussi une sédentarisation de la population, due à l'amélioration des moyens de transport. Nous avons également déterminé les prévalences du syndrome métabolique et des principaux troubles cardiovasculaires dans la population algérienne.

Par la suite, nous avons caractérisé les trois polymorphismes du gène de l'APOE, pour la première fois dans la population algérienne, et analysé l'impact de ces trois polymorphismes sur les paramètres du bilan lipidique ainsi que sur le syndrome métabolique et le risque cardiovasculaire. Les études de liaison indiquent que la population algérienne est différente des populations caucasiennes sur le plan génétique, en matière de déséquilibre de liaison entre les polymorphismes de l'APOE.

Après avoir réalisé les études d'association nous avons pu confirmer que l'effet du polymorphisme epsilon de l'APOE reste le même quelle que soit la population, mais qu'il peut être sujet aux variations environnementales, notamment l'alimentation. De plus, les variations observées des concentrations du bilan lipidique sont dues essentiellement au polymorphisme epsilon.

Les résultats de la régression logistique ont permis ensuite de constater que le rs439401 constituait un facteur de risque génétique à la survenue de l'obésité et l'hypertension artérielle dans la population algérienne, alors que le rs4420638 présentait un effet protecteur sur l'obésité dans la population Oranaise.

Notre étude représente la première étude de ce genre à explorer l'effet de ces trois polymorphismes simultanément, ainsi nous avons pu rapporter et pour la première fois, que l'allèle G du rs4420638 pouvait contrebalancer l'effet délétère de l'allèle $\epsilon 4$ sur les concentrations de LDL-cholestérol. Ces résultats restent à confirmer sur d'autres échantillons de la population algérienne.

Les résultats de cette étude devraient permettre dans le futur une meilleure prévention de la dyslipidémie, du syndrome métabolique et des maladies cardiovasculaires, grâce à une prise en charge précoce, personnalisée et ainsi, mieux adaptée.

Hormis les acquis sur le plan scientifique, cette étude nous a permis sur le plan technique d'acquérir des compétences dans le domaine de l'épidémiologie génétique, ces

connaissances pourraient toutefois être exploitées lors d'études futures, sur d'autres pathologies et/ou d'autres populations.

Références Bibliographiques

-A-

Abbott GW, Sesti F, Splawski I, Buck ME, Lehmann WH, Timothy KW, Keating MT, Goldstein SAN (1999) MiRP1 forms I-Kr potassium channels with HERG and is associated with cardiac arrhythmia. *Cell* **97**: 175-187

Abbott RD, Wilson PWF, Kannel WB, Castelli WP (1988) High-density lipoprotein cholesterol, total cholesterol screening, and myocardial-infarction - The FRAMINGHAM-Study. *Arteriosclerosis* **8**: 207-211

Abi-Younes S, Sauty A, Mach F, Sukhova GK, Libby P, Luster AD (2000) The stromal cell-derived factor-1 chemokine is a potent platelet agonist highly expressed in atherosclerotic plaques. *Circulation Research* **86**: 131-138

Aggerbeck LP, Wetterau JR, Weisgraber KH, Wu CS, Lindgren FT (1988) Human apolipoprotein E3 in aqueous solution. II. Properties of the amino- and carboxyl-terminal domains. *The Journal of biological chemistry* **263**: 6249-6258

Akaike H (1974) New look at statistical-model identification. *IEEE Trans Autom Control* **AC19**: 716-723

Alberti K, Zimmet P, Shaw J (2005) The metabolic syndrome - a new worldwide definition. *Lancet* **366**: 1059-1062

Alberti K, Zimmet PZ, Consultation WHO (1998) Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus - Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine* **15**: 539-553

Alharbi KK, Khan IA, Syed R (2014) Association of apolipoprotein e polymorphism with type 2 diabetes mellitus in a saudi population. *DNA and cell biology* **33**: 637-641

Allan CM, Taylor S, Taylor JM (1997) Two hepatic enhancers, HCR.1 and HCR.2, coordinate the liver expression of the entire human apolipoprotein E/C-I/C-IV/C-II gene cluster. *The Journal of biological chemistry* **272**: 29113-29119

Altshuler D, Daly MJ, Lander ES (2008) Genetic Mapping in Human Disease. *Science* **322**: 881-888

Alvim RO, Freitas SR, Ferreira NE, Santos PC, Cunha RS, Mill JG, Krieger JE, Pereira AC (2010) APOE polymorphism is associated with lipid profile, but not with arterial stiffness in the general population. *Lipids in health and disease* **9**: 128

Ambrose JA, Barua RS (2004) The pathophysiology of cigarette C-V smoking and cardiovascular disease - An update. *Journal of the American College of Cardiology* **43**: 1731-1737

ANAES (1998). Arrêt de la consommation de tabac. *Conférence de consensus 8-9 octobre 1998. Paris.*

Anand SS, Xie C, Pare G, Montpetit A, Rangarajan S, McQueen MJ, Cordell HJ, Keavney B, Yusuf S, Hudson TJ, Engert JC, Investigators I (2009) Genetic Variants Associated With Myocardial Infarction Risk Factors in Over 8000 Individuals From Five Ethnic Groups The INTERHEART Genetics Study. *Circulation-Cardiovascular Genetics* **2**: 16-U36

Andresdottir MB, Sigurdsson G, Sigvaldason H, Gudnason V (2002) Fifteen percent of myocardial infarctions and coronary revascularizations explained by family history unrelated to conventional risk factors - The Reykjavik Cohort Study. *European Heart Journal* **23**: 1655-1663

Anthopoulos PG, Hamodrakas SJ, Bagos PG (2010) Apolipoprotein E polymorphisms and type 2 diabetes: A meta-analysis of 30 studies including 5423 cases and 8197 controls. *Molecular Genetics and Metabolism* **100**: 283-291

Appel E, Eisenberg S, Roitelman J (1995) Improved PCR amplification/HhaI restriction for unambiguous determination of apolipoprotein E alleles. *Clin Chem* **41**: 187-190

Arking DE, Chakravarti A (2009) Understanding cardiovascular disease through the lens of genome-wide association studies. *Trends in Genetics* **25**: 387-394

Aronson D, Rayfield EJ, Chesebro JH (1997) Mechanisms determining course and outcome of diabetic patients who have had acute myocardial infarction. *Ann Intern Med* **126**: 296-306

Asfour MG, Lambourne A, Soliman A, AlBehlani S, AlAsfoor D, Bold A, Mahtab H, King H (1995) High prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the Sultanate of Oman: Results of the 1991 national survey. *Diabetic Medicine* **12**: 1122-1125

Assimes TL, Knowles JW, Basu A, Iribarren C, Southwick A, Tang H, Absher D, Li J, Fair JM, Rubin GD, Sidney S, Fortmann SP, Go AS, Hlatky MA, Myers RM, Risch N, Quertermous T (2008) Susceptibility locus for clinical and subclinical coronary artery disease at chromosome 9p21 in the multi-ethnic ADVANCE study. *Human molecular genetics* **17**: 2320-2328

Atek M, Traissac P, El Ati J, Laid Y, Aounallah-Skhiri H, Eymard-Duvernay S, Mezimeche N, Bougatef S, Beji C, Boutekdjiret L, Martin-Prevel Y, Lebcir H, Gartner A, Kolsteren P,

Delpeuch F, Ben Romdhane H, Maire B (2013) Obesity and Association with Area of Residence, Gender and Socio-Economic Factors in Algerian and Tunisian Adults. *PloS one* **8**

Aulchenko YS, Ripatti S, Lindqvist I, Boomsma D, Heid IM, Pramstaller PP, Penninx BWJH, Janssens ACJW, Wilson JF, Spector T, Martin NG, Pedersen NL, Kyvik KO, Kaprio J, Hofman A, Freimer NB, Jarvelin M-R, Gyllensten U, Campbell H, Rudan I, Johansson A, Marroni F, Hayward C, Vitart V, Jonasson I, Pattaro C, Wright A, Hastie N, Pichler I, Hicks AA, Falchi M, Willemsen G, Hottenga J-J, de Geus EJC, Montgomery GW, Whitfield J, Magnusson P, Saharinen J, Perola M, Silander K, Isaacs A, Sijbrands EJG, Uitterlinden AG, Witteman JCM, Oostra BA, Elliott P, Ruukonen A, Sabatti C, Gieger C, Meitinger T, Kronenberg F, Doering A, Wichmann HE, Smit JH, McCarthy MI, van Duijn CM, Peltonen L, Engage C (2009) Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nature genetics* **41**: 47-55

Austin MA, Sandholzer C, Selby JV, Newman B, Krauss RM, Utermann G (1992) Lipoprotein(a) in women twins - heritability and relationship to Apolipoprotein(A) phenotypes. *American Journal of Human Genetics* **51**: 829-840

Ayanian JZ, Epstein AM (1991) Differences in the use of procedures between women and men hospitalized for coronary heart-disease. *N Engl J Med* **325**: 221-225

-B-

Bahri R, Esteban E, Moral P, Hassine M, Ben Hamda K, Chaabani H (2008) Apolipoprotein gene polymorphisms and plasma levels in healthy Tunisians and patients with coronary artery disease. *Lipids in health and disease* **7**

Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, Kirby A, Sourjina T, Peto R, Collins R, Simes J (2008) Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90 056 participants in 14 randomised controlled trials of statins (vol 366, pg 1267, 2005). *Lancet* **371**: 2084-2084

Barbagallo CM, Polizzi F, Severino M, Rizzo M, Vivona N, Onorato F, Caldarella R, Cefalu AB, Noto D, Notarbartolo A, Aversa MR (2001) ApoE polymorphism in a small Mediterranean island: relationships with plasma lipids, lipoproteins and LDL particle size. *European journal of epidemiology* **17**: 707-713

Barber MJ, Mangravite LM, Hyde CL, Chasman DI, Smith JD, McCarty CA, Li X, Wilke RA, Rieder MJ, Williams PT, Ridker PM, Chatterjee A, Rotter JI, Nickerson DA, Stephens M, Krauss RM (2010) Genome-Wide Association of Lipid-Lowering Response to Statins in Combined Study Populations. *PloS one* **5**

Barlow SE (2007) Expert committee recommendations regarding the prevention, assessment, and treatment of child and adolescent overweight and obesity: Summary report. *Pediatrics* **120**: S164-S192

Barrans A, Collet X, Barbaras R, Jaspard B, Manent J, Vieu C, Chap H, Perret B (1994) Hepatic lipase induces the formation of pre-beta 1 high density lipoprotein (HDL) from triacylglycerol-rich HDL2. A study comparing liver perfusion to in vitro incubation with lipases. *The Journal of biological chemistry* **269**: 11572-11577

Bartecchi CE, Mackenzie TD, Schrier RW (1994) The human costs of tobacco use *N Engl J Med* **330**: 907-912

Beckman JA, Creager MA, Libby P (2002) Diabetes and atherosclerosis - Epidemiology, pathophysiology, and management. *Jama-Journal of the American Medical Association* **287**: 2570-2581

Belfki H, Ben Ali S, Aounallah-Skhiri H, Traissac P, Bougatef S, Maire B, Delpeuch F, Achour N, Ben Romdhane H (2013) Prevalence and determinants of the metabolic syndrome among Tunisian adults: results of the Transition and Health Impact in North Africa (TAHINA) project. *Public Health Nutrition* **16**: 582-590

Ben Romdhane H, Ben Ali S, Aissi W, Traissac P, Aounallah-Skhiri H, Bougatef S, Maire B, Delpeuch F, Achour N (2014) Prevalence of diabetes in Northern African countries: the case of Tunisia. *Bmc Public Health* **14**

BenAlaya N, BenRomdhane H, Delpeuch F (2002) Modèle causal des cardiopathies ischémiques en Tunisie. *Options Méditerranéennes, Sér B* **41**: 95-118

Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, Keavney B, Collins R, Wiman B, de Faire U, Danesh J (2007) Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *Jama-Journal of the American Medical Association* **298**: 1300-1311

Bennouar N, Allami A, Laraqui A, Azeddoug H, El-Kadiri N, Benkouka F, Bendriss A, Ghannam R, Benomar A, Fellat S, Benomar M (2004) [Apolipoprotein E and angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms as risk factors of coronary disease]. *Ann Biol Clin (Paris)* **62**: 295-304

Bergthoefler A, Pischon T, Reinhold T, Apovian CM, Sharma AM, Willich SN (2008) Obesity prevalence from a European perspective: a systematic review. *Bmc Public Health* **8**

Billings LK, Florez JC (2010) The genetics of type 2 diabetes: what have we learned from GWAS? In *Year in Diabetes and Obesity*, Powers AC, Ahima RS (eds), Vol. 1212, pp 59-77.

Blair SN, Kohl HW, Barlow CE, Paffenbarger RS, Gibbons LW, Macera CA (1995) Changes in physical-fitness and all-cause mortality - a prospective-study of healthy and unhealthy men. *Jama-Journal of the American Medical Association* **273**: 1093-1098

Bland JM, Altman DG (1995) Multiple significance tests: the Bonferroni method. *Bmj* **310**: 170

Blann AD, Kirkpatrick U, Devine C, Naser S, McCollum CN (1998) The influence of acute smoking on leucocytes, platelets and the endothelium. *Atherosclerosis* **141**: 133-139

Boekholdt SM, Sacks FM, Jukema JW, Shepherd J, Freeman DJ, McMahon AD, Cambien F, Nicaud V, de Grooth GJ, Talmud PJ, Humphries SE, Miller GJ, Eiriksdottir G, Gudnason V, Kauma H, Kakko S, Savolainen MJ, Arca M, Montali A, Liu S, Lanz HJ, Zwinderman AH, Kuivenhoven JA, Kastelein JJP (2005) Cholesteryl ester transfer protein TaqIB variant, high-density lipoprotein cholesterol levels, cardiovascular risk, and efficacy of pravastatin treatment - Individual patient meta-analysis of 13,677 subjects. *Circulation* **111**: 278-287

Boer JM, Ehnholm C, Menzel HJ, Havekes LM, Rosseneu M, O'Reilly DS, Tiret L (1997) Interactions between lifestyle-related factors and the ApoE polymorphism on plasma lipids and apolipoproteins. The EARS Study. European Atherosclerosis Research Study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **17**: 1675-1681

Boer JMA, Feskens EJM, Verschuren WMM, Seidell JC, Kromhout D (1999) The joint impact of family history of myocardial infarction and other risk factors on 12-year coronary heart disease mortality. *Epidemiology* **10**: 767-770

Bonita R, De Courten M, Dwyer T, Jamrozik K, Winkelmann R (2001) Surveillance of risk factors for noncommunicable diseases : The WHO STEPwise approach. Summary. Geneva : World Health Organization (WHO). *World Health Organization (WHO)*

Bonnet J (1997) Athérosclérose et plaque d'athérome. *EMC Cardiologie* (**11-605-A-10**)

Borchjohnsen K, Kreiner S (1987) Proteinuria-value as predictor of cardiovascular mortality in insulin-dependent diabetes-mellitus. *British Medical Journal* **294**: 1651-1654

Boukli Hacene L, Meguenni K (2007) Cardiovascular risk factors in Tlemcen (Algeria). *Sante (Montrouge, France)* **17**: 153-158

-C-

Cambou JP, Ferrieres J, Ruidavets JB, Ducimetiere P (1996) Epidemiology on the European and French scales in myocardial infarction: Results of the MONICA project. *Arch Mal Coeur Vaiss* **89**: 13-18

Carmo Martins M, Lima Faleiro L, Rodrigues MO, Albergaria I, Fonseca A (2008) [Influence of the APOE genotypes in some atherosclerotic risk factors]. *Acta medica portuguesa* **21**: 433-440

Chalmers J, MacMahon S, Mancia G, Whitworth J, Beilin L, Hansson L, Neal B, Rodgers A, Mhurchu CN, Clark T, Guidelines Subcommittee W-I (1999) 1999 World Health Organization International Society of Hypertension guidelines for the management of hypertension. *Journal of hypertension* **17**: 151-183

Chaudhary R, Likidlilid A, Peerapatdit T, Tresukosol D, Srisuma S, Ratanamaneechat S, Sriratanasathavorn C (2012) Apolipoprotein E gene polymorphism: effects on plasma lipids and risk of type 2 diabetes and coronary artery disease. *Cardiovascular Diabetology* **11**

Choi BG, Vilahur G, Yadegar D, Viles-Gonzalez JF, Badimon JJ (2006) The role of high-density lipoprotein cholesterol in the prevention and possible treatment of cardiovascular diseases. *Current Molecular Medicine* **6**: 571-587

Chung BH, Segrest JP (1983) Resistance of a very low density lipoprotein subpopulation from familial dysbetalipoproteinemia to in vitro lipolytic conversion to the low density lipoprotein density fraction. *Journal of lipid research* **24**: 1148-1159

Clayton D, McKeigue PM (2001) Epidemiological methods for studying genes and environmental factors in complex diseases. *Lancet* **358**: 1356-1360

Cobbaert C, Mulder P (1998) Regional serum cholesterol differences in Belgium: do genetically determined cardiovascular risk factors contribute? *International Journal of Epidemiology* **27**: 605-613

Cohn JS, McNamara JR, Cohn SD, Ordovas JM, Schaefer EJ (1988) Postprandial plasma-lipoprotein changes in human-subjects of different ages. *Journal of lipid research* **29**: 469-479

Colhoun HM, McKeigue PM, Smith GD (2003) Problems of reporting genetic associations with complex outcomes. *Lancet* **361**: 865-872

Conget I, Gimenez M (2009) Glucose Control and Cardiovascular Disease Is it important? No. *Diabetes care* **32**: S334-S336

Costanza MC, Beer-Borst S, James RW, Gaspoz J-M, Morabia A (2012) Consistency between cross-sectional and longitudinal SNP: blood lipid associations. *European journal of epidemiology* **27**: 131-138

-D-

Dallongeville J, Lussiercacan S, Davignon J (1992) Modulation of plasma triglyceride levels by APOE phenotype - a meta-analysis. *Journal of lipid research* **33**: 447-454

Danesh J, Collins R, Peto R (2000) Lipoprotein(a) and coronary heart disease - Meta-analysis of prospective studies. *Circulation* **102**: 1082-1085

Davignon J, Gregg RE, Sing CF (1988) Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* **8**: 1-21

Dawber TR, Moore FE, Mann GV (1957) Coronary heart disease in the Framingham study. *American journal of public health and the nation's health* **47**: 4-24

Deiana L, Pes GM, Carru C, Errigo A, Pettinato S, Carcassi C, Baggio G, Contu L (1998) Lack of influence of apolipoprotein E4 on lipoprotein levels in the island population of Sardinia. *European journal of clinical investigation* **28**: 290-294

Despres JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Nadeau A, Bouchard C (1990) Regional distribution of body-fat, plasma-lipoproteins, and cardiovascular-disease. *Arteriosclerosis* **10**: 497-511

Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, Wood AM, Lewington S, Sattar N, Packard CJ, Collins R, Thompson SG, Danesh J, Emerging Risk Factors C (2009) Major Lipids, Apolipoproteins, and Risk of Vascular Disease. *Jama-Journal of the American Medical Association* **302**: 1993-2000

Ding H, Xu Y, Wang X, Wang Q, Zhang L, Tu Y, Yan J, Wang W, Hui R, Wang C-Y, Wang DW (2009) 9p21 is a Shared Susceptibility Locus Strongly for Coronary Artery Disease and Weakly for Ischemic Stroke in Chinese Han Population. *Circulation-Cardiovascular Genetics* **2**: 338-U391

Djousse L, Levy D, Herbert AG, Wilson PWF, D'Agostino RB, Cupples LA, Karamohamed S, Ellison RC (2005) Influence of alcohol dehydrogenase 1C polymorphism on the alcohol-

cardiovascular disease association (from the Framingham Offspring Study). *American Journal of Cardiology* **96**: 227-232

Draznin B (2006) Molecular mechanisms of insulin resistance: Serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and increased expression of p85 alpha - The two sides of a coin. *Diabetes* **55**: 2392-2397

Drouin P, Blicke JF, Charbonnel B, Eschwege E, Guillausseau PJ, Plouin PF, Daninos JM, Balarac N, Sauvanet JP (1999) Diagnosis and classification of diabetes mellitus: the new criteria. *Diabetes Metab* **25**: 72-83

Duriez P (2004) Mechanisms of atheroma plaque formation. *Rev Med Interne* **25**: S3-S6

-E-

Ehnholm C, Lukka M, Kuusi T, Nikkila E, Utermann G (1986) Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations. *Journal of lipid research* **27**: 227-235

Eichner JE, Dunn ST, Perveen G, Thompson DM, Stewart KE, Stroehla BC (2002) Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: A HuGE review. *American Journal of Epidemiology* **155**: 487-495

El Rhazi K, Nejari C, Zidouh A, Bakkali R, Berraho M, Gateau PB (2011) Prevalence of obesity and associated sociodemographic and lifestyle factors in Morocco. *Public Health Nutrition* **14**: 160-167

Erdmann J, Grosshennig A, Braund PS, Koenig IR, Hengstenberg C, Hall AS, Linsel-Nitschke P, Kathiresan S, Wright B, Tregouet D-A, Cambien F, Bruse P, Aherrahrou Z, Wagner AK, Stark K, Schwartz SM, Salomaa V, Elosua R, Melander O, Voight BF, O'Donnell CJ, Peltonen L, Siscovick DS, Altshuler D, Merlini PA, Peyvandi F, Bernardinelli L, Ardisino D, Schillert A, Blankenberg S, Zeller T, Wild P, Schwarz DF, Tiret L, Perret C, Schreiber S, El Mokhtari NE, Schaefer A, Maerz W, Renner W, Bugert P, Klueter H, Schrezenmeir J, Rubin D, Ball SG, Balmforth AJ, Wichmann HE, Meitinger T, Fischer M, Meisinger C, Baumert J, Peters A, Ouwehand WH, Deloukas P, Thompson JR, Ziegler A, Samani NJ, Schunkert H, Italian Atherosclerosis T, Myocardial Infarction Genetics C, Wellcome Trust Case Control C, Cardiogenics C (2009) New susceptibility locus for coronary artery disease on chromosome 3q22.3. *Nature genetics* **41**: 280-282

Eto M, Watanabe K, Ishii K (1986) A racial difference in apolipoprotein E allele frequencies between the Japanese and Caucasian populations. *Clinical genetics* **30**: 422-427

Evans AE, Zhang W, Moreel JF, Bard JM, Ricard S, Poirier O, Tiret L, Fruchart JC, Cambien F (1993) Polymorphisms of the apolipoprotein B and E genes and their relationship to plasma lipid variables in healthy Chinese men. *Human genetics* **92**: 191-197

-F-

Farb A, Burke AP, Tang AL, Liang YH, Mannan P, Smialek J, Virmani R (1996) Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core - A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation* **93**: 1354-1363

Feingold J (2005) [Multifactorial diseases: a nightmare for the geneticist]. *Medecine sciences : M/S* **21**: 927-933

Fernando RL, Nettleton D, Southey BR, Dekkers JC, Rothschild MF, Soller M (2004) Controlling the proportion of false positives in multiple dependent tests. *Genetics* **166**: 611-619

Frazer KA, Ballinger DG, Cox DR, Hinds DA, Stuve LL, Gibbs RA, Belmont JW, Boudreau A, Hardenbol P, Leal SM, Pasternak S, Wheeler DA, Willis TD, Yu F, Yang H, Zeng C, Gao Y, Hu H, Hu W, Li C, Lin W, Liu S, Pan H, Tang X, Wang J, Wang W, Yu J, Zhang B, Zhang Q, Zhao H, Zhao H, Zhou J, Gabriel SB, Barry R, Blumenstiel B, Camargo A, Defelice M, Faggart M, Goyette M, Gupta S, Moore J, Nguyen H, Onofrio RC, Parkin M, Roy J, Stahl E, Winchester E, Ziaugra L, Altshuler D, Shen Y, Yao Z, Huang W, Chu X, He Y, Jin L, Liu Y, Shen Y, Sun W, Wang H, Wang Y, Wang Y, Xiong X, Xu L, Waye MMY, Tsui SKW, Wong JT-F, Galver LM, Fan J-B, Gunderson K, Murray SS, Oliphant AR, Chee MS, Montpetit A, Chagnon F, Ferretti V, Leboeuf M, Olivier J-F, Phillips MS, Roumy S, Sallee C, Verner A, Hudson TJ, Kwok P-Y, Cai D, Koboldt DC, Miller RD, Pawlikowska L, Taillon-Miller P, Xiao M, Tsui L-C, Mak W, Song YQ, Tam PKH, Nakamura Y, Kawaguchi T, Kitamoto T, Morizono T, Nagashima A, Ohnishi Y, Sekine A, Tanaka T, Tsunoda T, Deloukas P, Bird CP, Delgado M, Dermitzakis ET, Gwilliam R, Hunt S, Morrison J, Powell D, Stranger BE, Whittaker P, Bentley DR, Daly MJ, de Bakker PIW, Barrett J, Chretien YR, Maller J, McCarroll S, Patterson N, Pe'er I, Price A, Purcell S, Richter DJ, Sabeti P, Saxena R, Schaffner SF, Sham PC, Varilly P, Altshuler D, Stein LD, Krishnan L, Smith AV, Tello-Ruiz MK, Thorisson GA, Chakravarti A, Chen PE, Cutler DJ, Kashuk CS, Lin S, Abecasis GR, Guan W, Li Y, Munro HM, Qin ZS, Thomas DJ, McVean G, Auton A, Bottolo L, Cardin N, Eyheramendy S, Freeman C, Marchini J, Myers S, Spencer C, Stephens M, Donnelly P, Cardon LR, Clarke G, Evans DM, Morris AP, Weir BS, Tsunoda T, Johnson TA, Mullikin JC, Sherry ST, Feolo M, Skol A, Int HapMap C (2007) A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* **449**: 851-U853

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* **18**: 499-502

Furihata S, Ito T, Kamatani N (2006) Test of association between haplotypes and phenotypes in case-control studies: examination of validity of the application of an algorithm for samples from cohort or clinical trials to case-control samples using simulated and real data. *Genetics* **174**: 1505-1516

Fuzikawa AK, Peixoto SV, Taufer M, Moriguchi EH, Lima-Costa MF (2008) Association of ApoE polymorphisms with prevalent hypertension in 1406 older adults: the Bambui Health Aging Study (BHAS). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **41**: 89-94

-G-

Gami AS, Witt BJ, Howard DE, Erwin PJ, Gami LA, Somers VK, Montori VM (2007) Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death - A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Journal of the American College of Cardiology* **49**: 403-414

Ganda OP (2002) Review: interventions that lower cholesterol levels or blood pressure in diabetic patients prevent cardiovascular disease. *ACP journal club* **137**: 3-3

Gavin JR, Alberti K, Davidson MB, DeFronzo RA, Drash A, Gabbe SG, Genuth S, Harris MI, Kahn R, Keen H, Knowler WC, Lebovitz H, Maclaren NK, Palmer JP, Raskin P, Rizza RA, Stern MP (1997) Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes care* **20**: 1183-1197

Gerdes LU, Klausen IC, Sihm I, Faergeman O (1992) Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 other study populations around the world. *Genetic epidemiology* **9**: 155-167

Gerszten RE, Wang TJ (2008) The search for new cardiovascular biomarkers. *Nature* **451**: 949-952

Goldberg RJ, Gorak EJ, Yarzebski J, Hosmer DW, Dalen P, Gore JM, Alpert JS, Dalen JE (1993) A community-wide perspective of sex-differences and temporal trends in the incidence and survival rates after acute myocardial-infarction and out of hospital deaths caused by Coronary Heart Disease. *Circulation* **87**: 1947-1953

Goldfine ID, Maddux BA, Youngren JF, Reaven G, Accili D, Trischitta V, Vigneri R, Frittitta L (2008) The role of membrane glycoprotein plasma cell antigen 1 ectonucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase 1 in the pathogenesis of insulin resistance and related abnormalities. *Endocr Rev* **29**: 62-75

Goldstein JL, Brown MS (1974) Binding and degradation of low-density lipoproteins by cultured human fibroblasts - comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia. *Journal of Biological Chemistry* **249**: 5153-5162

Gomez-Coronado D, Alvarez JJ, Entrala A, Olmos JM, Herrera E, Lasuncion MA (1999) Apolipoprotein E polymorphism in men and women from a Spanish population: allele frequencies and influence on plasma lipids and apolipoproteins. *Atherosclerosis* **147**: 167-176

Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR (1977) High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *The American journal of medicine* **62**: 707-714

Gordon T, Kannel WB, Hjortland MC, McNamara PM (1978) Menopause and coronary heart-disease - FRAMINGHAM Study. *Ann Intern Med* **89**: 157-161

Gotto AM, Jr., Grundy SM (1999) Lowering LDL cholesterol: questions from recent meta-analyses and subset analyses of clinical trial DataIssues from the Interdisciplinary Council on Reducing the Risk for Coronary Heart Disease, ninth Council meeting. *Circulation* **99**: E1-7

Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, Cifkova R, Dallongeville J, De Backer G, Ebrahim S, Gjelsvik B, Herrmann-Lingen C, Hoes A, Humphries S, Knapton M, Perk J, Priori SG, Pyorala K, Reiner Z, Ruilope L, Sans-Menendez S, Reimer WSO, Weissbergh P, Wood D, Yarnell J, Zamorano JL (2007) European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Full text. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **14**: S1-S113

Greenland S (1993) Basic problems in interaction assessment. *Environmental health perspectives* **101 Suppl 4**: 59-66

Gueyffier F, Boutitie F, Boissel JP, Pocock S, Coope J, Cutler J, Ekblom T, Fagard R, Friedman L, Perry M, Prineas R, Schron E (1997) Effect of antihypertensive drug treatment on cardiovascular outcomes in women and men - A meta-analysis of individual patient data from randomized, controlled trials. *Ann Intern Med* **126**: 761-&

-H-

Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M (1998) Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* **339**: 229-234

Haffner SM, Miettinen H, Gaskill SP, Stern MP (1996) Decreased insulin action and insulin secretion predict the development of impaired glucose tolerance. *Diabetologia* **39**: 1201-1207

Haffner SM, Valdez RA, Hazuda HP, Mitchell BD, Morales PA, Stern MP (1992) Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (Syndrome-X). *Diabetes* **41**: 715-722

Hajjar I, Kotchen TA (2003) Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the United States, 1988-2000. *Jama-Journal of the American Medical Association* **290**: 199-206

Hallman DM, Boerwinkle E, Saha N, Sandholzer C, Menzel HJ, Csazar A, Utermann G (1991) The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet* **49**: 338-349

Hawe E, Talmud PJ, Miller GJ, Humphries SE (2003) Family history is a coronary heart disease risk factor in the second Northwick Park Heart Study. *Annals of Human Genetics* **67**: 97-106

Helgadottir A, Thorleifsson G, Manolescu A, Gretarsdottir S, Blondal T, Jonasdottir A, Jonasdottir A, Sigurdsson A, Baker A, Palsson A, Masson G, Gudbjartsson DF, Magnusson KP, Andersen K, Levey AI, Backman VM, Matthiasdottir S, Jonsdottir T, Palsson S, Einarsdottir H, Gunnarsdottir S, Gylfason A, Vaccarino V, Hooper WC, Reilly MP, Granger CB, Austin H, Rader DJ, Shah SH, Quyyumi AA, Gulcher JR, Thorgeirsson G, Thorsteinsdottir U, Kong A, Stefansson K (2007) A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science* **316**: 1491-1493

Herman WH, Ali MA, Aubert RE, Engelgau MM, Kenny SJ, Gunter EW, Malarcher AM, Brechner RJ, Wetterhall SF, DeStefano F, Thompson TJ, Smith PJ, Badran A, Sous ES, Habib M, Hegazy M, abdelShakour S, Ibrahim AS, elBehairy AEM (1995) Diabetes mellitus in Egypt: Risk factors and prevalence. *Diabetic Medicine* **12**: 1126-1131

Hines LM, Stampfer MJ, Ma J, Gaziano JM, Ridker PM, Hankinson SE, Sacks F, Rimm EB, Hunter DJ (2001) Genetic variation in alcohol dehydrogenase and the beneficial effect of moderate alcohol consumption on myocardial infarction. *N Engl J Med* **344**: 549-555

Hixson JE, Vernier DT (1990) Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *Journal of lipid research* **31**: 545-548

Hobbs HH, White AL (1999) Lipoprotein(a): intrigues and insights. *Current Opinion in Lipidology* **10**: 225-236

Howard BV, Gidding SS, Liu K (1998) Association of apolipoprotein E phenotype with plasma lipoproteins in African-American and white young adults - The CARDIA Study. *American Journal of Epidemiology* **148**: 859-868

Hsieh YH, Chou CY (2011) Structural and functional characterization of human apolipoprotein E 72-166 peptides in both aqueous and lipid environments. *Journal of biomedical science* **18**: 4

Huang ES, Meigs JB, Singer DE (2001) The effect of interventions to prevent cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Medicine* **111**: 633-642

Hulley SB, Rosenman RH, Bawol RD, Brand RJ (1980) Epidemiology as a guide to clinical decisions - the association between triglyceride and coronary heart-disease. *N Engl J Med* **302**: 1383-1389

Humphries SE, Talmud PJ, Hawe E, Bolla M, Day INM, Miller GJ (2001) Apolipoprotein E4 and coronary heart disease in middle-aged men who smoke: a prospective study. *Lancet* **358**: 115-119

-I-

Innerarity TL, Friedlander EJ, Rall SC, Jr., Weisgraber KH, Mahley RW (1983) The receptor-binding domain of human apolipoprotein E. Binding of apolipoprotein E fragments. *The Journal of biological chemistry* **258**: 12341-12347

-J-

Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL (1985) Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature* **314**: 67-73

Jemaa R, Elasmi M, Naouali C, Feki M, Kallel A, Souissi M, Sanhaji H, Hadj Taieb S, Souheil O, Kaabachi N (2006) Apolipoprotein E polymorphism in the Tunisian population: frequency and effect on lipid parameters. *Clinical biochemistry* **39**: 816-820

Jo DW, Leren TP, Yang ZY, Chung YH, Taylor JM, Paik YK (1995) Characterization of an upstream regulatory element of the human apolipoprotein E gene, and purification of its binding protein from the human placenta. *Journal of biochemistry* **117**: 915-922

-K-

Kannel WB (1996) Blood pressure as a cardiovascular risk factor - Prevention and treatment. *Jama-Journal of the American Medical Association* **275**: 1571-1576

Kaplan NM (1989) The deadly quartet - Upper-Body Obesity, Glucose-Intolerance, Hypertriglyceridemia, and Hypertension. *Archives of Internal Medicine* **149**: 1514-1520

Karamanos B, Thanopoulou A, Angelico F, Assaad-Khalil S, Barbato A, Del Ben M, Dimitrijevic-Sreckovic V, Djordjevic P, Gallotti C, Katsilambros N, Migdalis I, Mrabet M, Petkova M, Roussi D, Tenconi MT (2002) Nutritional habits in the Mediterranean basin. The macronutrient composition of diet and its relation with the traditional Mediterranean diet. Multi-centre study of the Mediterranean Group for the Study of Diabetes (MGSD). *European journal of clinical nutrition* **56**: 983-991

Kathiresan S, Altschuler D, Anand S, Ardissino D, Asselta R, Ball SG, Balmforth AJ, Berger K, Berglund G, Bernardi F, Bernardinelli L, Berzuini C, Braund PS, Burnett M-S, Burt N, Cambien F, Casari G, Celli P, Chen Z, Corrocher R, Daly MJ, Deloukas P, Devaney J, Do R, Duga S, Elosua R, Engert JC, Epstein SE, Erdmann J, Ferrario M, Fetsiveau R, Fischer M, Friedlander Y, Gabriel SB, Galli M, Gianniny L, Girelli D, Grosshennig A, Guiducci C, Hakonarson HH, Hall AS, Havulinna AS, Hengstenberg C, Hirschhorn JN, Holm H, Hude A, Kent KM, Konig IR, Korn JM, Li M, Lieb W, Lindsay JM, Linsel-Nitschke P, Lucas G, MacRae CA, Mannucci PM, Marrugat J, Martinelli N, Marziliano N, Matthai W, McCarroll SA, McKeown PP, Meigs JB, Melander O, Merlini PA, Mirel D, Morgan T, Musunuru K, Nathan DM, Nemesh J, O'Donnell CJ, Olivieri O, Ouwehand W, Parkin M, Patterson CC, Peltonen L, Peyvandi F, Piazza A, Pichard AD, Preuss M, Purcell S, Qasim A, Rader DJ, Ramos R, Reilly MP, Ribichini F, Rossi M, Sala J, Salomaa V, Samani NJ, Satler L, Scheffold T, Scholz M, Schreiber S, Schunkert H, Schwartz SM, Siscovick DS, Spertus JA, Spreafico M, Stark K, Stefansson K, Stoll M, Subirana I, Surti A, Thompson JR, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Tubaro M, Voight BF, Waksman R, Wichmann HE, Wilensky R, Williams G, Wright BJ, Xie C, Yee J, Ziegler A, Zoncin P, Myocardial Infarction Genetics C (2009a) Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with single nucleotide polymorphisms and copy number variants. *Nature genetics* **41**: 334-341

Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, Surti A, Burt NP, Rieder MJ, Cooper GM, Roos C, Voight BF, Havulinna AS, Wahlstrand B, Hedner T, Corella D, Tai ES, Ordovas JM, Berglund G, Vartiainen E, Jousilahti P, Hedblad B, Taskinen M-R, Newton-Cheh C, Salomaa V, Peltonen L, Groop L, Altschuler DM, Orho-Melander M (2008) Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans. *Nature genetics* **40**: 189-197

Kathiresan S, Voight BF, Purcell S, Musunuru K, Ardissino D, Mannucci PM, Anand S, Engert JC, Samani NJ, Schunkert H, Erdmann J, Reilly MP, Rader DJ, Morgan T, Spertus JA, Stoll M, Girelli D, McKeown PP, Patterson CC, Siscovick DS, O'Donnell CJ, Elosua R, Peltonen L, Salomaa V, Schwartz SM, Melander O, Altschuler D, Ardissino D, Merlini PA, Berzuini C, Bernardinelli L, Peyvandi F, Tubaro M, Celli P, Ferrario M, Fetsiveau R, Marziliano N, Casari G, Galli M, Ribichini F, Rossi M, Bernardi F, Zoncin P, Piazza A, Mannucci PM, Schwartz SM, Siscovick DS, Yee J, Friedlander Y, Elosua R, Marrugat J, Lucas G, Subirana I, Sala J, Ramos R, Kathiresan S, Meigs JB, Williams G, Nathan DM, MacRae CA, O'Donnell CJ, Salomaa V, Havulinna AS, Peltonen L, Melander O, Berglund G,

Voight BF, Kathiresan S, Hirschhorn JN, Asselta R, Duga S, Spreafico M, Musunuru K, Daly MJ, Purcell S, Voight BF, Purcell S, Nemes J, Korn JM, McCarroll SA, Schwartz SM, Yee J, Kathiresan S, Lucas G, Subirana I, Elosua R, Surti A, Guiducci C, Gianniny L, Mirel D, Parkin M, Burt N, Gabriel SB, Samani NJ, Thompson JR, Braund PS, Wright BJ, Balmforth AJ, Ball SG, Hall AS, Schunkert H, Erdmann J, Linsel-Nitschke P, Lieb W, Ziegler A, König I, Hengstenberg C, Fischer M, Stark K, Grosshennig A, Preuss M, Wichmann HE, Schreiber S, Schunkert H, Samani NJ, Erdmann J, Ouwehand W, Hengstenberg C, Deloukas P, Scholz M, Cambien F, Reilly MP, Li M, Chen Z, Wilensky R, Matthai W, Qasim A, Hakonarson HH, Devaney J, Burnett M-S, Pichard AD, Kent KM, Satler L, Lindsay JM, Waksman R, Knouff CW, Waterworth DM, Walker MC, Mooser V, Epstein SE, Rader DJ, Scheffold T, Berger K, Stoll M, Hage A, Girelli D, Martinelli N, Olivieri O, Corrocher R, Morgan T, Spertus JA, McKeown P, Patterson CC, Schunkert H, Erdmann E, Linsel-Nitschke P, Lieb W, Ziegler A, König IR, Hengstenberg C, Fischer M, Stark K, Grosshennig A, Preuss M, Wichmann HE, Schreiber S, Holm H, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Stefansson K, Engert JC, Do R, Xie C, Anand S, Kathiresan S, Ardissino D, Mannucci PM, Siscovick D, O'Donnell CJ, Samani NJ, Melander O, Elosua R, Peltonen L, Salomaa V, Schwartz SM, Altshuler D, Myocardial Infarction Genetics C, Wellcome Trust Case Control C (2009b) Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with single nucleotide polymorphisms and copy number variants. *Nature genetics* **41**: 334-341

Kathiresan S, Willer CJ, Peloso GM, Demissie S, Musunuru K, Schadt EE, Kaplan L, Bennett D, Li Y, Tanaka T, Voight BF, Bonnycastle LL, Jackson AU, Crawford G, Surti A, Guiducci C, Burt NP, Parish S, Clarke R, Zelenika D, Kubalanza KA, Morken MA, Scott LJ, Stringham HM, Galan P, Swift AJ, Kuusisto J, Bergman RN, Sundvall J, Laakso M, Ferrucci L, Scheet P, Sanna S, Uda M, Yang Q, Lunetta KL, Dupuis J, de Bakker PIW, O'Donnell CJ, Chambers JC, Kooner JS, Hercberg S, Meneton P, Lakatta EG, Scuteri A, Schlessinger D, Tuomilehto J, Collins FS, Groop L, Altshuler D, Collins R, Lathrop GM, Melander O, Salomaa V, Peltonen L, Orho-Melander M, Ordovas JM, Boehnke M, Abecasis GR, Mohlke KL, Cupples LA (2009c) Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nature genetics* **41**: 56-65

Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J (2005) Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* **365**: 217-223

Kirpichnikov D, Sowers JR (2001) Diabetes mellitus and diabetes-associated vascular disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism* **12**: 225-230

Kofler BM, Miles EA, Curtis P, Armah CK, Tricon S, Grew J, Napper FL, Farrell L, Lietz G, Packard CJ, Caslake MJ, Mathers JC, Williams CM, Calder PC, Minihane AM (2012) Apolipoprotein E genotype and the cardiovascular disease risk phenotype: Impact of sex and adiposity (the FINGEN study). *Atherosclerosis* **221**: 467-470

Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Kostakou P, Giannakopoulou V, Mihas C, Hatzigeorgiou G, Vasiliadis IK, Mikhailidis DP, Cokkinos DV (2009) Apolipoprotein E gene polymorphism and obesity status in middle-aged men with coronary heart disease. *In vivo* **23**: 33-39

Kooner JS, Chambers JC, Aguilar-Salinas CA, Hinds DA, Hyde CL, Warnes GR, Gomez Perez FJ, Frazer KA, Elliott P, Scott J, Milos PM, Cox DR, Thompson JF (2008) Genome-wide scan identifies variation in MLXIPL associated with plasma triglycerides. *Nature genetics* **40**: 149-151

Kring SII, Brummett BH, Barefoot J, Garrett ME, Ashley-Koch AE, Boyle SH, Siegler IC, Sorensen TIA, Williams RB (2010) Impact of Psychological Stress on the Associations Between Apolipoprotein E Variants and Metabolic Traits: Findings in an American Sample of Caregivers and Controls. *Psychosomatic Medicine* **72**: 427-433

Kylin E (1923) Studien ueber das Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämiesyndrom. . *Zentralblatt fuer Innere Medizin* **44**: 105-127

-L-

Lacroix AZ, Lang J, Scherr P, Wallace RB, Cornoni-Huntley J, Berkman L, Curb JD, Evans D, Hennekens CH (1991) Smoking and mortality among older men and women in 3 communities. *N Engl J Med* **324**: 1619-1625

Lahlali-Kacemi N, Bamou Y, Guedira A, Hassani M, Visvikis S, Siest G, Alami N, Kabbaj O, Lahrichi M (2002) [Apolipoprotein E polymorphism in a Moroccan population: allele frequency and relation to plasma lipid concentrations]. *Ann Biol Clin (Paris)* **60**: 73-78

Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD, Burden AC, Morris A, Waugh NR, Gatling W, Bingley PJ, Patterson CC (2003) Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia* **46**: 760-765

Lambert JC (1999) Recherche de déterminants génétiques susceptibles de moduler l'impact de l'apolipoprotéine E dans la maladie d'Alzheimer. PhD Thesis, Université Lille 1, Université Lille 1

Lanktree MB, Anand SS, Yusuf S, Hegele RA, Investigators S (2009) Replication of genetic associations with plasma lipoprotein traits in a multiethnic sample. *Journal of lipid research* **50**: 1487-1496

Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R, Prospective Studies C (2002) Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* **360**: 1903-1913

Liang S, Steffen LM, Steffen BT, Guan W, Weir NL, Rich SS, Manichaikul A, Vargas JD, Tsai MY (2013) APOE genotype modifies the association between plasma omega-3 fatty acids and plasma lipids in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis* **228**: 181-187

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

Libby P (2012) Inflammation in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **32**: 2045-2051

Libby P, Ridker PM, Maseri A (2002) Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* **105**: 1135-1143

Liberopoulos E, Miltiados G, Hatzivassiliou M, Ayrton N, Bairaktari E, Cariolou M, Elisaf M (2004) Apolipoprotein E polymorphism in northwestern Greece: Frequency and effect on lipid parameters. *Annals of Clinical and Laboratory Science* **34**: 347-354

Lopes PA, Gaspar G, Napoleao P, Santos MC, Pavao ML, Viegas-Crespo AM (2007) Comparison of apolipoprotein E polymorphism and other atherosclerotic risk factors in two Portuguese populations - the influence of insularity. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **50**: 803-813

Luc G, Bard JM, Arveiler D, Evans A, Cambou JP, Bingham A, Amouyel P, Schaffer P, Ruidavets JB, Cambien F, et al. (1994) Impact of apolipoprotein E polymorphism on lipoproteins and risk of myocardial infarction. The ECTIM Study. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology / American Heart Association* **14**: 1412-1419

Lusis AJ (2003) Genetic factors in cardiovascular disease: 10 questions. *Trends in Cardiovascular Medicine* **13**: 309-316

Lusis AJ, Pajukanta P (2008) A treasure trove for lipoprotein biology. *Nature genetics* **40**: 129-130

-M-

Macmahon S, Peto R, Cutler J, Collins R, Sorlie P, Neaton J, Abbott R, Godwin J, Dyer A, Stamler J (1990) Blood-pressure, stroke, and coronary heart-disease .1. Prolonged differences in blood-pressure - prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet* **335**: 765-774

Mahonen MS, McElduff P, Dobson AJ, Kuulasmaa KA, Evans AE, Project WM (2004) Current smoking and the risk of non-fatal myocardial infarction in the WHO MONICA Project populations. *Tobacco control* **13**: 244-250

Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Bohm M, Christiaens T, Cifkova R, De Backer G, Dominiczak A, Galderisi M, Grobbee DE, Jaarsma T, Kirchhof P, Kjeldsen SE, Laurent S, Manolis AJ, Nilsson PM, Ruilope LM, Schmieder RE, Sirnes PA, Sleight P, Viigimaa M, Waeber B, Zannad F (2013) 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of hypertension* **31**: 1281-1357

Manson JE, Tosteson H, Ridker PM, Satterfield S, Hebert P, Oconnor GT, Buring JE, Hennekens CH (1992) Medical progress - the primary prevention of myocardial-infarction. *N Engl J Med* **326**: 1406-1416

Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, Defaire U (1994) Genetic susceptibility to death from coronary heart-disease in a study of twins. *N Engl J Med* **330**: 1041-1046

Marques-Vidal P, Bongard V, Ruidavets JB, Fauvel J, Hanaire-Broutin H, Perret B, Ferrieres J (2003) Obesity and alcohol modulate the effect of apolipoprotein e polymorphism on lipids and insulin. *Obesity Research* **11**: 1200-1206

Mayer B, Erdmann J, Schunkert H (2007) Genetics and heritability of coronary artery disease and myocardial infarction. *Clinical Research in Cardiology* **96**: 1-7

McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, Stewart AFR, Roberts R, Cox DR, Hinds DA, Pennacchio LA, Tybjaerg-Hansen A, Folsom AR, Boerwinkle E, Hobbs HH, Cohen JC (2007) A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science* **316**: 1488-1491

Mediene-Benchekor S, Brousseau T, Richard F, Benhamamouch S, Amouyel P, group Es (2001) Blood lipid concentrations and risk of myocardial infarction. *Lancet* **358**: 1064-1065

Mediene S, Clavey V, Bard JM, Medjaoui I, Fruchart JC, Benhamamouch S (1997) Serum lipids and lipoproteins in two populations from Lille (France) and Oran (Algeria). *Annales De Biologie Clinique* **55**: 577-582

Medina-Urrutia AX, Cardoso-Saldana GC, Zamora-Gonzalez J, Liria YK, Posadas-Romero C (2004) Apolipoprotein E polymorphism is related to plasma lipids and apolipoproteins in Mexican adolescents. *Human biology* **76**: 605-614

Meirhaeghe A, Cottel D, Amouyel P, Dallongeville J (2005) Association between peroxisome proliferator-activated receptor gamma haplotypes and the metabolic syndrome in French men and women. *Diabetes* **54**: 3043-3048

Miller VM, Duckles SP (2008) Vascular actions of estrogens: Functional implications. *Pharmacol Rev* **60**: 210-241

Minino AM, Heron MP, Murphy SL, Kochanek KD, Centers for Disease C, Prevention National Center for Health Statistics National Vital Statistics S (2007) Deaths: final data for 2004. *National vital statistics reports : from the Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics, National Vital Statistics System* **55**: 1-119

Ministère de la santé et de la population radep. (2007) l'état de santé des algériennes et des algériens. In population Mdlsedl (ed.), alger, p. 88.

Modan M, Halkin H, Almog S, Lusky A, Eshkol A, Shefi M, Shitrit A, Fuchs Z (1985) Hyperinsulinemia - a link between hypertension obesity and glucose-intolerance. *J Clin Invest* **75**: 809-817

Morton NE (1955) Sequential tests for the detection of linkage. *Am J Hum Genet* **7**: 277-318

Murabito JM, Pencina MJ, Nam BH, D'Agostino RB, Wang TJ, Lloyd-Jones D, Wilson PWF, O'Donnell CJ (2005) Sibling cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults. *Jama-Journal of the American Medical Association* **294**: 3117-3123

Myers RH, Kiely DK, Cupples LA, Kannel WB (1990) Parental history is an independent risk factor for coronary-artery disease - The FRAMINGHAM-Study. *American Heart Journal* **120**: 963-969

Myklebost O, Rogne S (1988) A physical map of the apolipoprotein gene cluster on human chromosome 19. *Human genetics* **78**: 244-247

-N-

Nakayama K, Bayasgalan T, Yamanaka K, Kumada M, Gotoh T, Utsumi N, Yanagisawa Y, Okayama M, Kajii E, Ishibashi S, Iwamoto S, Jichi Community Genetics T (2009) Large scale replication analysis of loci associated with lipid concentrations in a Japanese population. *Journal of Medical Genetics* **46**: 370-374

Neaton JD, Blackburn H, Jacobs D, Kuller L, Lee DJ, Sherwin R, Shih J, Stamler J, Wentworth D (1992) Serum-cholesterol level and mortality findings for men screened in the multiple risk factor intervention trial. *Archives of Internal Medicine* **152**: 1490-1500

Neaton JD, Wentworth D (1992) Serum-cholesterol, blood-pressure, cigarette-smoking, and death from coronary heart-disease - overall findings and differences by age for 316099 white men. *Archives of Internal Medicine* **152**: 56-64

Niu W, Qi Y, Qian Y, Gao P, Zhu D (2009) The relationship between apolipoprotein E epsilon 2/epsilon 3/epsilon 4 polymorphisms and hypertension: a meta-analysis of six studies comprising 1812 cases and 1762 controls. *Hypertension Research* **32**: 1060-1066

Njolstad I, Arnesen E, LundLarsen PG (1996) Smoking, serum lipids, blood pressure, and sex differences in myocardial infarction - A 12-year follow-up of the Finnmark study. *Circulation* **93**: 450-456

-O-

Oconnor GT, Buring JE, Yusuf S, Goldhaber SZ, Olmstead EM, Paffenbarger RS, Hennekens CH (1989) An overview of randomized trials of rehabilitation with exercise after myocardial-infarction. *Circulation* **80**: 234-244

Olivieri O, Martinelli N, Bassi A, Trabetti E, Girelli D, Pizzolo F, Friso S, Pignatti PF, Corrocher R (2007) ApoE epsilon 2/epsilon 3/epsilon 4 polymorphism, ApoC-III/ApoE ratio and metabolic syndrome. *Clinical and experimental medicine* **7**: 164-172

OMS (2010a) Fiche d'information des Statistiques sanitaires, OMS 2010 *statistiques sanitaires mondiales Algérie 2010*

OMS. (2010b) Rapport sur la situation mondiale des maladies non transmissibles 2010- Résumé d'orientation.

OMS. (2011) MNT Profils de pays. OMS, Vol. Algérie 2011.

OMS. (2013) Statistiques sanitaires mondiales. Organisation mondiale de la santé, p. 168.

Ouwehand WH, Bloodomics Cardiogenics C (2009) The discovery of genes implicated in myocardial infarction. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* **7**: 305-307

Ozaki K, Inoue K, Sato H, Iida A, Ohnishi Y, Sekine A, Sato H, Odashiro K, Nobuyoshi M, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T (2004) Functional variation in LGALS2 confers risk of myocardial infarction and regulates lymphotoxin-alpha secretion in vitro. *Nature* **429**: 72-75

Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, Sekine A, Yamada R, Tsunoda T, Sato H, Sato H, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T (2002) Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nature genetics* **32**: 650-654

Ozaki K, Sato H, Inoue K, Tsunoda T, Sakata Y, Mizuno H, Lin T-H, Miyamoto Y, Aoki A, Onouchi Y, Sheu S-H, Ikegawa S, Odashiro K, Nobuyoshi M, Juo S-HH, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T (2009) SNPs in BRAP associated with risk of myocardial infarction in Asian populations. *Nature genetics* **41**: 329-333

-P-

Paik YK, Chang DJ, Reardon CA, Walker MD, Taxman E, Taylor JM (1988) Identification and characterization of transcriptional regulatory regions associated with expression of the human apolipoprotein E gene. *The Journal of biological chemistry* **263**: 13340-13349

Pankow JS, Folsom AR, Cushman M, Borecki IB, Hopkins PN, Eckfeldt JH, Tracy RP (2001) Familial and genetic determinants of systemic markers of inflammation: the NHLBI family heart study. *Atherosclerosis* **154**: 681-689

Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE (1990) Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with Essential-Hypertension. *N Engl J Med* **323**: 22-27

Pare G, Serre D, Brisson D, Anand SS, Montpetit A, Tremblay G, Engert JC, Hudson TJ, Gaudet D (2007) Genetic analysis of 103 candidate genes for coronary artery disease and associated phenotypes in a founder population reveals a new association between endothelin-1 and high-density lipoprotein cholesterol. *American Journal of Human Genetics* **80**: 673-682

Parra HJ, Arveiler D, Evans AE, Cambou JP, Amouyel P, Bingham A, McMaster D, Schaffer P, Dousteblazy P, Luc G, Richard JL, Ducimetiere P, Fruchart JC, Cambien F (1992) A CASE CONTROL STUDY OF LIPOPROTEIN PARTICLES IN 2 POPULATIONS AT CONTRASTING RISK FOR CORONARY HEART-DISEASE - THE ECTIM STUDY. *Arterioscler Thromb* **12**: 701-707

Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA, Bouchard C, Buchner D, Ettinger W, Heath GW, King AC, Kriska A, Leon AS, Marcus BH, Morris J, Paffenbarger RS, Patrick K, Pollock ML, Rippe JM, Sallis J, Wilmore JH (1995) Physical-activity and public-health - a recommendation from the centers-for-disease-control-and-prevention and the american-college-of-sports-medicine. *Jama-Journal of the American Medical Association* **273**: 402-407

Pendergrass SA, Brown-Gentry K, Dudek S, Frase A, Torstenson ES, Goodloe R, Ambite JL, Avery CL, Buyske S, Buzkova P, Deelman E, Fesinmeyer MD, Haiman CA, Heiss G, Hindorff LA, Hsu C-N, Jackson RD, Kooperberg C, Le Marchand L, Lin Y, Matisse TC, Monroe KR, Moreland L, Park SL, Reiner A, Wallace R, Wilkens LR, Crawford DC, Ritchie

MD (2013) Phenome-Wide Association Study (PheWAS) for Detection of Pleiotropy within the Population Architecture using Genomics and Epidemiology (PAGE) Network. *PLoS Genetics* **9**

Petersen S PV, Rayner M, Leal J, Luengo-fernández, Gray A . (2005) European cardiovascular disease statistics. **2005 edition**

Pitsavos C, Choumerianou DM, Skoumas J, Maumus S, Stefanadis C, Dedoussis GVZ, Visvikis-Siest S (2005) Apolipoprotein E polymorphism is not associated with lipid levels and coronary artery disease in Greek patients with familial hypercholesterolaemia. *Clinical and experimental medicine* **5**: 196-201

Powell KE, Thompson PD, Caspersen CJ, Kendrick JS (1987) Physical-activity and the incidence of coronary heart-disease. *Annu Rev Public Health* **8**: 253-287

-R-

Reaven GM (1988) Role of insulin resistance in human-disease. *Diabetes* **37**: 1595-1607

Rice TK, Schork NJ, Rao DC (2008) Methods for handling multiple testing. *Advances in genetics* **60**: 293-308

Robinson JG, Smith B, Maheshwari N, Schrott H (2005) Pleiotropic effects of statins: Benefit beyond cholesterol reduction? A meta-regression analysis. *Journal of the American College of Cardiology* **46**: 1855-1862

Robitaille N (1994) Polymorphisme de l'apolipoprotéine E au sein de la population du lac St-Jean Chibougamau. Maitrise en Médecine Expérimentale Thesis, Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi

Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, Camethon MR, Dai S, de Simone G, Ford ES, Fox CS, Fullerton HJ, Gillespie C, Greenlund KJ, Hailpern SM, Heit JA, Ho PM, Howard VJ, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Makuc DM, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, McDermott MM, Meigs JB, Moy CS, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Rosamond WD, Sorlie PD, Stafford RS, Turan TN, Turner MB, Wong ND, Wylie-Rosett J, American Heart Assoc Stat C, Stroke Stat S (2011) Heart Disease and Stroke Statistics-2011 Update A Report From the American Heart Association. *Circulation* **123**: E18-E209

Rosengren A, Wilhelmsen L (1997) Physical activity protects against coronary death and deaths from all causes in middle aged men - Evidence from a 20-year follow-up of the primary prevention study in Goteborg. *Annals of epidemiology* **7**: 69-75

Ross R (1999) Atherosclerosis - An inflammatory disease - Reply. *N Engl J Med* **340**: 1929-1929

Rostom S, Mengat M, Lahlou R, Hari A, Bahiri R, Hajjaj-Hassouni N (2013) Metabolic syndrome in rheumatoid arthritis: case control study. *Bmc Musculoskeletal Disorders* **14**

Rothman KJ, Greenland S, Walker AM (1980) Concepts of interaction. *Am J Epidemiol* **112**: 467-470

-S-

Sabatti C, Service SK, Hartikainen A-L, Pouta A, Ripatti S, Brodsky J, Jones CG, Zaitlen NA, Varilo T, Kaakinen M, Sovio U, Ruokonen A, Laitinen J, Jakkula E, Coin L, Hoggart C, Collins A, Turunen H, Gabriel S, Elliot P, McCarthy MI, Daly MJ, Jarvelin M-R, Freimer NB, Peltonen L (2009) Genome-wide association analysis of metabolic traits in a birth cohort from a founder population. *Nature genetics* **41**: 35-46

Samani NJ, Deloukas P, Erdmann J, Hengstenberg C, Kuulasmaa K, McGinnis R, Schunkert H, Soranzo N, Thompson J, Tiret L, Ziegler A, Coronary Artery Disease C (2009) Large scale association analysis of novel genetic loci for coronary artery disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **29**: 774-780

Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, Dixon RJ, Meitinger T, Braund P, Wichmann HE, Barrett JH, Koenig IR, Stevens SE, Szymczak S, Tregouet D-A, Iles MM, Pahlke F, Pollard H, Lieb W, Cambien F, Fischer M, Ouwehand W, Blankenberg S, Balmforth AJ, Baessler A, Ball SG, Strom TM, Braenne I, Gieger C, Deloukas P, Tobin MD, Ziegler A, Thompson JR, Schunkert H, WTCCC, Cardiogenics C (2007) Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med* **357**: 443-453

Sandvik L, Erikssen J, Thaulow E, Erikssen G, Mundal R, Rodahl K (1993) Physical-fitness as a predictor of mortality among healthy, middle-aged Norwegian men. *N Engl J Med* **328**: 533-537

Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, Burt NP, de Bakker PIW, Chen H, Roix JJ, Kathiresan S, Hirschhorn JN, Daly MJ, Hughes TE, Groop L, Altshuler D, Almgren P, Florez JC, Meyer J, Ardlie K, Bostrom KB, Isomaa B, Lettre G, Lindblad U, Lyon HN, Melander O, Newton-Cheh C, Nilsson P, Orho-Melander M, Rastam L, Speliotes EK, Taskinen M-R, Tuomi T, Guiducci C, Berglund A, Carlson J, Gianniny L, Hackett R, Hall L, Holmkvist J, Laurila E, Sjoegren M, Sterner M, Surti A, Svensson M, Svensson M, Tewhey R, Blumenstiel B, Parkin M, DeFelice M, Barry R, Brodeur W, Camarata J, Chia N, Fava M, Gibbons J, Handsaker B, Healy C, Nguyen K, Gates C, Sougnez C, Gage D, Nizzari M, Gabriel SB, Chirn G-W, Ma Q,

Parikh H, Richardson D, Ricke D, Purcell S, Diabet Genetics Initiative Broad I, Novartis Inst BioMedical R (2007) Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* **316**: 1331-1336

Scanu AM, Lawn RM, Berg K (1991) Lipoprotein(A) and Atherosclerosis. *Ann Intern Med* **115**: 209-218

Schachter F, Faure-Delanef L, Guenot F, Rouger H, Froguel P, Lesueur-Ginot L, Cohen D (1994) Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. *Nature genetics* **6**: 29-32

Schiele F, De Bacquer D, Vincent-Viry M, Beisiegel U, Ehnholm C, Evans A, Kafatos A, Martins MC, Sans S, Sass C, Visvikis S, De Backer G, Siest G (2000) Apolipoprotein E serum concentration and polymorphism in six European countries: the ApoEurope Project. *Atherosclerosis* **152**: 475-488

Scuteri A, Laurent S, Cucca F, Cockcroft J, Cunha PG, Manas LR, Raso FU, Muiesan ML, Ryliskyte L, Rietzschel E, Strait J, Vlachopoulos C, Volzke H, Lakatta EG, Nilsson PM, for the Metabolic S, Arteries Research C (2014) Metabolic syndrome across Europe: different clusters of risk factors. *European journal of preventive cardiology*

Selvin E, Marinopoulos S, Berkenblit G, Rami T, Brancati FL, Powe NR, Golden SH (2004) Meta-analysis: Glycosylated hemoglobin and cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Ann Intern Med* **141**: 421-431

Shen G-Q, Li L, Rao S, Abdullah KG, Ban JM, Lee B-S, Park JE, Wang QK (2008) Four SNPs on chromosome 9p21 in a South Korean population implicate a genetic locus that confers high cross-race risk for development of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **28**: 360-365

Shin MH, Kim HN, Cui LH, Kweon SS, Park KS, Heo H, Nam HS, Jeong SK, Chung EK, Choi JS (2005) The effect of apolipoprotein E polymorphism on lipid levels in Korean adults. *Journal of Korean Medical Science* **20**: 361-366

Shore VG, Shore B (1973) Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins. Separation of species differing in protein components. *Biochemistry* **12**: 502-507

Simonet WS, Bucay N, Pitas RE, Lauer SJ, Taylor JM (1991) Multiple tissue-specific elements control the apolipoprotein E/C-I gene locus in transgenic mice. *The Journal of biological chemistry* **266**: 8651-8654

Singh PP, Singh M, Mastana SS (2006) APOE distribution in world populations with new data from India and the UK. *Annals of human biology* **33**: 279-308

Smith CJ, Fischer TH (2001) Particulate and vapor phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis* **158**: 257-267

Smith GD, Ebrahim S (2003) 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? *International Journal of Epidemiology* **32**: 1-22

Smith GD, Lawlor DA, Harbord R, Timpson N, Day I, Ebrahim S (2007) Clustered environments and randomized genes: A fundamental distinction between conventional and genetic epidemiology. *Plos Medicine* **4**: 1985-1992

Song Y, Stampfer M, Liu S (2004) Meta-analysis: Apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* **141**: 137-147

Soutar AK, Naoumova RP (2007) Mechanisms of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nature clinical practice Cardiovascular medicine* **4**: 214-225

Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Rosenfeld ME, Schaffer SA, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW (1994) A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis - A report from the committee on vascular-lesions of the council on arteriosclerosis, American-Heart-Association. *Arterioscler Thromb* **14**: 840-856

Stoumpos S, Hamodrakas SJ, Anthopoulos PG, Bagos PG (2013) The association between apolipoprotein E gene polymorphisms and essential hypertension: a meta-analysis of 45 studies including 13,940 cases and 16,364 controls. *Journal of human hypertension* **27**: 245-255

-T-

Tachibana K, Hirota S, Iizasa H, Yoshida H, Kawabata K, Kataoka Y, Kitamura Y, Matsushima K, Yoshida N, Nishikawa S, Kishimoto T, Nagasawa T (1998) The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. *Nature* **393**: 591-594

TAHINA THIINA (Novembre 2007) Transition épidémiologique et système de santé. Enquête nationale santé. *Institut National de la santé publique, Alger*

Tai ES, Sim XL, Ong TH, Wong TY, Saw SM, Aung T, Kathiresan S, Orho-Melander M, Ordovas JM, Tan JT, Seielstad M (2009) Polymorphisms at newly identified lipid-associated loci are associated with blood lipids and cardiovascular disease in an Asian Malay population. *Journal of lipid research* **50**: 514-520

Tailakh A, Evangelista LS, Menten JC, Pike NA, Phillips LR, Morisky DE (2014) Hypertension prevalence, awareness, and control in Arab countries: A systematic review. *Nursing & Health Sciences* **16**: 126-130

Talmud PJ (2007) Gene-environment interaction and its impact on coronary heart disease risk. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases* **17**: 148-152

Talmud PJ, Stephens JW, Hawe E, Demissie S, Cupples LA, Hurel SJ, Humphries SE, Ordovas JM (2005) The significant increase in cardiovascular disease risk in APOE epsilon 4 carriers is evident only in men who smoke: Potential relationship between reduced antioxidant status and ApoE4. *Annals of Human Genetics* **69**: 613-622

Tan CE, Tai ES, Tan CS, Chia KS, Lee J, Chew SK, Ordovas JM (2003) APOE polymorphism and lipid profile in three ethnic groups in the Singapore population. *Atherosclerosis* **170**: 253-260

Taner CB, Severson SR, Best PJM, Lerman A, Miller VM (2001) Treatment with endothelin-receptor antagonists increases NOS activity in hypercholesterolemia. *Journal of applied physiology* **90**: 816-820

Tao MH, Liu JW, LaMonte MJ, Liu J, Wang L, He Y, Li XY, Wang LN, Ye L (2011a) Different associations of apolipoprotein E polymorphism with metabolic syndrome by sex in an elderly Chinese population. *Metabolism-Clinical and Experimental* **60**: 1488-1496

Tao MH, Liu JW, LaMonte MJ, Liu J, Wang L, He Y, Li XY, Wang LN, Ye L (2011b) Different associations of apolipoprotein E polymorphism with metabolic syndrome by sex in an elderly Chinese population. *Metabolism: clinical and experimental* **60**: 1488-1496

Tazi MA, Abir-Khalil S, Chaouki N, Cherqaoui S, Lahmouz F, Srairi JE, Mahjour J (2003) Prevalence of the main cardiovascular risk factors in Morocco: results of a National Survey, 2000. *Journal of hypertension* **21**: 897-903

Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Koseki M, Pirruccello JP, Ripatti S, Chasman DI, Willer CJ, Johansen CT, Fouchier SW, Isaacs A, Peloso GM, Barbalic M, Ricketts SL, Bis JC, Aulchenko YS, Thorleifsson G, Feitosa MF, Chambers J, Orho-Melander M, Melander O, Johnson T, Li X, Guo X, Li M, Cho YS, Go MJ, Kim YJ, Lee J-Y, Park T, Kim K, Sim X, Ong RT-H, Croteau-Chonka DC, Lange LA, Smith

JD, Song K, Zhao JH, Yuan X, Luan Ja, Lamina C, Ziegler A, Zhang W, Zee RYL, Wright AF, Wittman JCM, Wilson JF, Willemsen G, Wichmann HE, Whitfield JB, Waterworth DM, Wareham NJ, Waeber G, Vollenweider P, Voight BF, Vitart V, Uitterlinden AG, Uda M, Tuomilehto J, Thompson JR, Tanaka T, Surakka I, Stringham HM, Spector TD, Soranzo N, Smit JH, Sinisalo J, Silander K, Sijbrands EJG, Scuteri A, Scott J, Schlessinger D, Sanna S, Salomaa V, Saharinen J, Sabatti C, Ruokonen A, Rudan I, Rose LM, Roberts R, Rieder M, Psaty BM, Pramstaller PP, Pichler I, Perola M, Penninx BWJH, Pedersen NL, Pattaro C, Parker AN, Pare G, Oostra BA, O'Donnell CJ, Nieminen MS, Nickerson DA, Montgomery GW, Meitinger T, McPherson R, McCarthy MI, McArdle W, Masson D, Martin NG, Marroni F, Mangino M, Magnusson PKE, Lucas G, Luben R, Loos RJF, Lokki M-L, Lettre G, Langenberg C, Launer LJ, Lakatta EG, Laaksonen R, Kyvik KO, Kronenberg F, Koenig IR, Khaw K-T, Kaprio J, Kaplan LM, Johansson A, Jarvelin M-R, Janssens ACJW, Ingelsson E, Igi W, Hovingh GK, Hottenga J-J, Hofman A, Hicks AA, Hengstenberg C, Heid IM, Hayward C, Havulinna AS, Hastie ND, Harris TB, Haritunians T, Hall AS, Gyllenstein U, Guiducci C, Groop LC, Gonzalez E, Gieger C, Freimer NB, Ferrucci L, Erdmann J, Elliott P, Ejebe KG, Doering A, Dominiczak AF, Demissie S, Deloukas P, de Geus EJC, de Faire U, Crawford G, Collins FS, Chen Y-di, Caulfield MJ, Campbell H, Burt NP, Bonnycastle LL, Boomsma DI, Boekholdt SM, Bergman RN, Barroso I, Bandinelli S, Ballantyne CM, Assimes TL, Quertermous T, Altshuler D, Seielstad M, Wong TY, Tai ES, Feranil AB, Kuzawa CW, Adair LS, Taylor HA, Jr., Borecki IB, Gabriel SB, Wilson JG, Holm H, Thorsteinsdottir U, Gudnason V, Krauss RM, Mohlke KL, Ordovas JM, Munroe PB, Kooner JS, Tall AR, Hegele RA, Kastelein JJP, Schadt EE, Rotter JJ, Boerwinkle E, Strachan DP, Mooser V, Stefansson K, Reilly MP, Samani NJ, Schunkert H, Cupples LA, Sandhu MS, Ridker PM, Rader DJ, van Duijn CM, Peltonen L, Abecasis GR, Boehnke M, Kathiresan S (2010) Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature* **466**: 707-713

Thompson A, Danesh J (2006) Associations between apolipoprotein B, apolipoprotein AI, the apolipoprotein B/AI ratio and coronary heart disease: a literature-based meta-analysis of prospective studies. *Journal of Internal Medicine* **259**: 481-492

Thuren T, Weisgraber KH, Sisson P, Waite M (1992) Role of apolipoprotein E in hepatic lipase catalyzed hydrolysis of phospholipid in high-density lipoproteins. *Biochemistry* **31**: 2332-2338

Tiret L (2002) Gene-environment interaction: a central concept in multifactorial diseases. *The Proceedings of the Nutrition Society* **61**: 457-463

Tiret L, de Knijff P, Menzel HJ, Ehnholm C, Nicaud V, Havekes LM (1994) ApoE polymorphism and predisposition to coronary heart disease in youths of different European populations. The EARS Study. European Atherosclerosis Research Study. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology / American Heart Association* **14**: 1617-1624

Tournier-Lasserre E (2002) New players in the genetics of stroke. *N Engl J Med* **347**: 1711-1712

Tregouet D-A, Koenig IR, Erdmann J, Munteanu A, Braund PS, Hall AS, Grosshennig A, Linsel-Nitschke P, Perret C, DeSuremain M, Meitinger T, Wright BJ, Preuss M, Balmforth AJ, Ball SG, Meisinger C, Germain C, Evans A, Arveiler D, Luc G, Ruidavets J-B, Morrison C, van der Harst P, Schreiber S, Neureuther K, Schaefer A, Bugert P, El Mokhtari NE, Schrezenmeir J, Stark K, Rubin D, Wichmann HE, Hengstenberg C, Ouwehand W, Ziegler A, Tiret L, Thompson JR, Cambien F, Schunkert H, Samani NJ, Wellcome Trust Case Control C, Cardiogenics C (2009) Genome-wide haplotype association study identifies the SLC22A3-LPAL2-LPA gene cluster as a risk locus for coronary artery disease. *Nature genetics* **41**: 283-285

Tregouet DA, Escolano S, Tiret L, Mallet A, Golmard JL (2004a) A new algorithm for haplotype-based association analysis: the Stochastic-EM algorithm. *Ann Hum Genet* **68**: 165-177

Tregouet DA, Garelle V (2007) A new JAVA interface implementation of THESIAS: testing haplotype effects in association studies. *Bioinformatics* **23**: 1038-1039

Tregouet DA, Ricard S, Nicaud V, Arnould I, Soubigou S, Rosier M, Duverger N, Poirier O, Mace S, Kee F, Morrison C, Deneffe P, Tiret L, Evans A, Deleuze JF, Cambien F (2004b) In-depth haplotype analysis of ABCA1 gene polymorphisms in relation to plasma ApoA1 levels and myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **24**: 775-781

Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P, Project WM (1999) Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA Project populations. *Lancet* **353**: 1547-1557

Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Pecoraro R, Arnao V, Pinto A, Licata G (2012) Atherosclerosis as an Inflammatory Disease. *Curr Pharm Design* **18**: 4266-4288

-U-

Utermann G, Hees M, Steinmetz A (1977) Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. *Nature* **269**: 604-607

-V-

Vague J (1956) The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *The American journal of clinical nutrition* **4**: 20-34

Vokonas PS, Kannel WB, Cupples LA (1988) Epidemiology and risk of hypertension in the elderly - The FRAMINGHAM-Study. *Journal of hypertension* **6**: S3-S9

-W-

Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E (2001) High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet* **358**: 2026-2033

Wang KQ, He JL, Xie YH (1987) Studies on human apolipoprotein E genetic isoforms and their phenotypes among the Chinese population. *Proceedings of the Chinese Academy of Medical Sciences and the Peking Union Medical College = Chung-kuo i hsueh k'o hsueh yuan, Chung-kuo hsieh ho i k'o ta hsueh hsueh pao* **2**: 133-139

Wang TJ, Gona P, Larson MG, Tofler GH, Levy D, Newton-Cheh C, Jacques PF, Rifai N, Selhub J, Robins SJ, Benjamin EJ, D'Agostino RB, Vasan RS (2006) Multiple biomarkers for the prediction of first major cardiovascular events and death. *N Engl J Med* **355**: 2631-2639

Wang WY, Barratt BJ, Clayton DG, Todd JA (2005) Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nature reviews Genetics* **6**: 109-118

Weber JL, May PE (1989) Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* **44**: 388-396

Weisgraber KH, Innerarity TL, Harder KJ, Mahley RW, Milne RW, Marcel YL, Sparrow JT (1983) The receptor-binding domain of human apolipoprotein E. Monoclonal antibody inhibition of binding. *The Journal of biological chemistry* **258**: 12348-12354

Weisgraber KH, Mahley RW, Kowal RC, Herz J, Goldstein JL, Brown MS (1990) Apolipoprotein C-I modulates the interaction of apolipoprotein E with beta-migrating very low density lipoproteins (beta-VLDL) and inhibits binding of beta-VLDL to low density lipoprotein receptor-related protein. *The Journal of biological chemistry* **265**: 22453-22459

Weisgraber KH, Rall SC, Jr., Mahley RW, Milne RW, Marcel YL, Sparrow JT (1986) Human apolipoprotein E. Determination of the heparin binding sites of apolipoprotein E3. *The Journal of biological chemistry* **261**: 2068-2076

Wenger NK, Speroff L, Packard B (1993) Cardiovascular health and disease in women. *N Engl J Med* **329**: 247-256

Wetterau JR, Aggerbeck LP, Rall SC, Jr., Weisgraber KH (1988) Human apolipoprotein E3 in aqueous solution. I. Evidence for two structural domains. *The Journal of biological chemistry* **263**: 6240-6248

Willer CJ, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R, Heath SC, Timpson NJ, Najjar SS, Stringham HM, Strait J, Duren WL, Maschio A, Busonero F, Mulas A, Albai G, Swift AJ, Morken MA, Narisu N, Bennett D, Parish S, Shen H, Galan P, Meneton P, Hercberg S, Zelenika D, Chen W-M, Li Y, Scott LJ, Scheet PA, Sundvall J, Watanabe RM, Nagaraja R, Ebrahim S, Lawlor DA, Ben-Shlomo Y, Davey-Smith G, Shuldiner AR, Collins R, Bergman RN, Uda M, Tuomilehto J, Cao A, Collins FS, Lakatta E, Lathrop GM, Boehnke M, Schlessinger D, Mohlke KL, Abecasis GR (2008) Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nature genetics* **40**: 161-169

Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJJ, Li S, Lindgren CM, Heid IM, Berndt SI, Elliott AL, Jackson AU, Lamina C, Lettre G, Lim N, Lyon HN, McCarroll SA, Papadakis K, Qi L, Randall JC, Roccasecca RM, Sanna S, Scheet P, Weedon MN, Wheeler E, Zhao JH, Jacobs LC, Prokopenko I, Soranzo N, Tanaka T, Timpson NJ, Almgren P, Bennett A, Bergman RN, Bingham SA, Bonnycastle LL, Brown M, Burt NLP, Chines P, Coin L, Collins FS, Connell JM, Cooper C, Smith GD, Dennison EM, Deodhar P, Elliott P, Erdos MR, Estrada K, Evans DM, Gianniny L, Gieger C, Gillson CJ, Guiducci C, Hackett R, Hadley D, Hall AS, Havulinna AS, Hebebrand J, Hofman A, Isomaa B, Jacobs KB, Johnson T, Jousilahti P, Jovanovic Z, Khaw K-T, Kraft P, Kuokkanen M, Kuusisto J, Laitinen J, Lakatta EG, Luan J, Luben RN, Mangino M, McArdle WL, Meitinger T, Mulas A, Munroe PB, Narisu N, Ness AR, Northstone K, O'Rahilly S, Purmann C, Rees MG, Ridderstrale M, Ring SM, Rivadeneira F, Ruokonen A, Sandhu MS, Saramies J, Scott LJ, Scuteri A, Silander K, Sims MA, Song K, Stephens J, Stevens S, Stringham HM, Tung YCL, Valle TT, Van Duijn CM, Vimalaswaran KS, Vollenweider P, Waeber G, Wallace C, Watanabe RM, Waterworth DM, Watkins N, Witteman JCM, Zeggini E, Zhai G, Zillikens MC, Altshuler D, Caulfield MJ, Chanock SJ, Farooqi IS, Ferrucci L, Guralnik JM, Hattersley AT, Hu FB, Jarvelin M-R, Laakso M, Mooser V, Ong KK, Ouwehand WH, Salomaa V, Samani NJ, Spector TD, Tuomi T, Tuomilehto J, Uda M, Uitterlinden AG, Wareham NJ, Deloukas P, Frayling TM, Groop LC, Hayes RB, Hunter DJ, Mohlke KL, Peltonen L, Schlessinger D, Strachan DP, Wichmann HE, McCarthy MI, Boehnke M, Barroso I, Abecasis GR, Hirschhorn JN, Wellcome Trust Case C, Giant C (2009) Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nature genetics* **41**: 25-34

Wilson C, Wardell MR, Weisgraber KH, Mahley RW, Agard DA (1991) Three-dimensional structure of the LDL receptor-binding domain of human apolipoprotein E. *Science* **252**: 1817-1822

Wilson HM, Patel JC, Russell D, Skinner ER (1993) Alterations in the concentration of an Apolipoprotein E-containing subfraction of plasma high-density-lipoprotein in coronary heart-disease. *Clinica Chimica Acta* **220**: 175-187

Wilson K, Gibson N, Willan A, Cook D (2000) Effect of smoking cessation on mortality after myocardial infarction - Meta-analysis of cohort studies. *Archives of Internal Medicine* **160**: 939-944

Wilson PWF, Myers RH, Larson MG, Ordovas JM, Wolf PA, Schaefer EJ (1994) Apolipoprotein-E alleles, dyslipidemia, and coronary-heart-disease - The FRAMINGHAM offspring Study. *Jama-Journal of the American Medical Association* **272**: 1666-1671

-X-

Xhignesse M, Lussiercacan S, Sing CF, Kessling AM, Davignon J (1991) Influence of common variants of Apolipoprotein-E on measure of lipid metabolism in a sample selected for health. *Arterioscler Thromb* **11**: 1100-1110

-Y-

Yahia-Berrouiguet A, Benyoucef M, Meguenni K, Brouri M (2009) Enquête sur la prévalence des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires à Tlemcen (Algérie). *MÉDECINE DES MALADIES MÉTABOLIQUES* **3**: 313-319

Yin Y-W, Sun Q-Q, Zhang B-B, Hu A-M, Liu H-L, Wang Q, Hou Z-Z (2013) Association between Apolipoprotein E Gene Polymorphism and the Risk of Coronary Artery Disease in Chinese Population: Evidence from a Meta-Analysis of 40 Studies. *PloS one* **8**

Youngren JF (2007) Regulation of insulin receptor function. *Cell Mol Life Sci* **64**: 873-891

Younis J, Cooper JA, Miller GJ, Humphries SE, Talmud PJ (2005) Genetic variation in alcohol dehydrogenase 1C and the beneficial effect of alcohol intake on coronary heart disease risk in the Second Northwick Park Heart Study. *Atherosclerosis* **180**: 225-232

Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanus F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Liu LS, Investigators IS (2004) Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* **364**: 937-952

-Z-

Zaoui S, Biemont C, Meguenni K (2007) Epidemiology of diabetes in urban and rural regions of Tlemcen (Western Algeria). *Sante (Montrouge, France)* **17**: 15-21

Zdravkovic S, Wienke A, Pedersen NL, Marenberg ME, Yashin AI, De Faire U (2002) Heritability of death from coronary heart disease: a 36-year follow-up of 20 966 Swedish twins. *Journal of Internal Medicine* **252**: 247-254

Zeljko HM, Skaric-Juric T, Narancic NS, Tomas Z, Baresic A, Salihovic MP, Starcevic B, Janicijevic B (2011) E2 allele of the Apolipoprotein E gene polymorphism is predictive for obesity status in Roma minority population of Croatia. *Lipids in health and disease* **10**

Zhou Q, Peng D, Yuan X, Lv Z, Pang S, Jiang W, Yang C, Shi X, Pang G, Yang Y, Xie H, Zhang W, Hu C, Yang Z (2014) APOE and APOC1 gene polymorphisms are associated with cognitive impairment progression in Chinese patients with late-onset Alzheimer's disease. *Neural regeneration research* **9**: 653-660

Annexes

Annexe 01: Article

Boulenouar et al. *Lipids in Health and Disease* 2013, **12**:155
<http://www.lipidworld.com/content/12/1/155>



RESEARCH

Open Access

Impact of *APOE* gene polymorphisms on the lipid profile in an Algerian population

Houssam Boulenouar¹, Sounnia Mediene Benchechor^{1,2}, Djabaria Naïma Meroufel¹, Sarah Aicha Lardjam Hetraf¹, Hadjira Ouhaïbi Djellouli^{1,2}, Xavier Hermant³, Benjamin Grenier-Boley³, Imane Hamani Medjaoui⁴, Nadhira Saidi Mehtar¹, Philippe Amouyel³, Leïla Houti^{1,5,6}, Aline Meirhaeghe³ and Louisa Goumidi^{3*}

Abstract

Background: The importance of apolipoprotein E (*APOE*) in lipid and lipoprotein metabolism is well established. However, the impact of *APOE* polymorphisms has never been investigated in an Algerian population. This study assessed, for the first time, the relationships between three *APOE* polymorphisms (epsilon, rs439401, rs4420638) and plasma lipid concentrations in a general population sample from Algeria.

Methods: The association analysis was performed in the ISOR study, a representative sample of the population living in Oran (787 subjects aged between 30 and 64). Polymorphisms were considered both individually and as haplotypes.

Results: In the ISOR sample, *APOE* ε4 allele carriers had higher plasma triglyceride ($p=0.0002$), total cholesterol ($p=0.009$) and LDL-cholesterol ($p=0.003$) levels than ε3 allele carriers. No significant associations were detected for the rs4420638 and rs439401 SNPs. Linkage disequilibrium and haplotype analyses confirmed the respectively deleterious and protective impacts of the ε4 and ε2 alleles on LDL-cholesterol levels and showed that the G allele of the rs4420638 polymorphism may exert a protective effect on LDL-cholesterol levels in subjects bearing the *APOE* epsilon 4 allele.

Conclusion: Our results showed that (i) the *APOE* epsilon polymorphism has the expected impact on the plasma lipid profile and (ii) the rs4420638 G allele may counterbalance the deleterious effect of the ε4 allele on LDL-cholesterol levels in an Algerian population.

Keywords: *APOE*, Polymorphism, Algerian population, Lipid parameters, Cardiovascular risk, General population sample, North Africa

Background

Dyslipidemia (defined by elevated levels of fasting and post-prandial plasma triglyceride-rich lipoproteins, abnormally low high-density lipoprotein (HDL) levels and elevated low-density lipoprotein (LDL) concentrations) is associated with atherosclerosis and coronary heart disease (CHD) [1,2]. Coronary artery disease is a major cause of morbidity and mortality in both industrialized countries and developing countries, such as Algeria [3,4]. It has been estimated that there were 7.3 million deaths worldwide from ischemic heart disease in 2008 (12.4% of

all mortality). Furthermore, it is predicted that CHD will still be the leading cause of death in 2020 [5,6].

Commonly studied intermediate traits associated with CHD include plasma levels of cholesterol (total cholesterol, LDL-cholesterol and HDL-cholesterol), body mass index (BMI) and blood pressure. These traits are influenced by a combination of genetic [7] and environmental factors (such as diet, alcohol and physical activity) [8-10].

The results of several meta-analyses have firmly established that the apolipoprotein E (*APOE*) epsilon polymorphism (defined by the rs7412 and rs429358 single nucleotide polymorphisms (SNPs)) is a genetic risk factor for CHD [11-14]. Indeed, *APOE* has an important role in the metabolism of lipoproteins and is a ligand for LDL-cholesterol and *APOE* receptors [15]. The epsilon

* Correspondence: louisagoumidi@pasteur-lille.fr

³INSERM, U744; Institut Pasteur de Lille, Université Lille Nord de France, Lille, France

Full list of author information is available at the end of the article



polymorphism in the *APOE* gene leads to the generation of *APOE2*, *APOE3* and *APOE4* isoforms, which are coded by three codominant alleles (designated as $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ and $\epsilon 4$). The three isoforms differ by an amino acid substitution at position 112 or position 158 in the 299-amino-acid peptide chain [16]. The isoforms interact differently with specific lipoprotein receptors and thus influence plasma cholesterol concentrations [17]. The *APOE* $\epsilon 4$ allele is associated with higher total and LDL-cholesterol levels and a higher risk of CHD, whereas the *APOE* $\epsilon 2$ allele is associated with the opposite (i.e. protective) effects in Caucasian populations [18-21].

Furthermore, two other *APOE* polymorphisms have been found to display associations with various metabolic traits. Firstly, the rs439401 SNP was associated with higher plasma triglyceride and lower plasma HDL-cholesterol concentrations in a meta-analysis of genome-wide association studies (GWAS) in 16 European cohorts [22]. Secondly, the rs4420638 SNP is reportedly associated with lower plasma HDL-cholesterol levels, higher total cholesterol and LDL-cholesterol levels and higher total cholesterol/HDL-cholesterol and LDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratios [14,23-25].

Very few studies have investigated putative associations between the *APOE* epsilon polymorphism and plasma lipid levels in North African populations. Indeed, only two studies (in Moroccan and Tunisian populations) reported that the *APOE* $\epsilon 4$ allele is associated with higher plasma concentrations of total cholesterol and LDL-cholesterol, whereas the *APOE* $\epsilon 2$ allele shows the opposite association [26-28]. However, no data for the rs439401 and rs4420638 polymorphisms in these populations are available.

To the best of our knowledge, the relationship between *APOE* polymorphisms and plasma lipid and lipoprotein concentrations in an Algerian population has never previously been studied. We therefore decided to assess the relationships between *APOE* epsilon, rs439401 and rs4420638 polymorphisms and plasma lipid concentrations in a population sample from the city of Oran in north-west Algeria, the ISOR study.

Results

Genotype and allele distributions

The allele and genotype distributions of the *APOE* polymorphisms are presented in Table 1. There was no evidence of significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium in any distributions.

Linkage disequilibrium

We evaluated the linkage disequilibrium (LD) between the *APOE* epsilon (rs429358 and rs7412), rs439401 and rs4420638 polymorphisms (Figure 1). The rs439401 and rs4420638 SNPs were not in LD with the *APOE* epsilon

Table 1 Genotype distributions of the *APOE* polymorphisms in the ISOR study

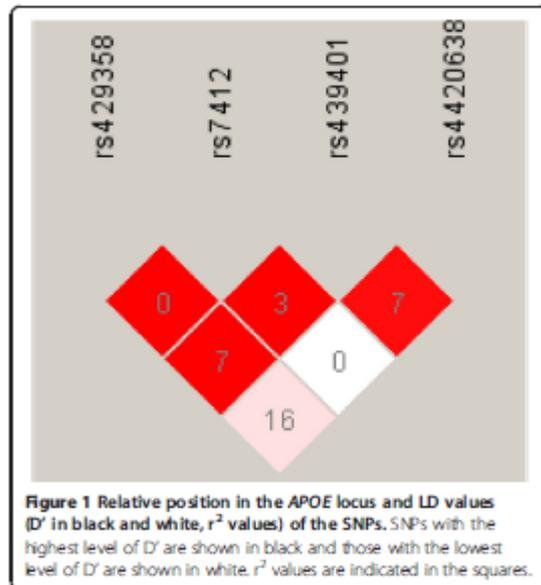
Polymorphism		n	(%)
Epsilon	Genotype		
	$\epsilon 2/\epsilon 2$	3	(0.4)
	$\epsilon 2/\epsilon 3$	64	(8.7)
	$\epsilon 2/\epsilon 4$	3	(0.4)
	$\epsilon 3/\epsilon 3$	525	(71.8)
	$\epsilon 3/\epsilon 4$	124	(16.9)
	$\epsilon 4/\epsilon 4$	13	(1.8)
	Total	732	
	pH-W	0.07	
	Allele		
$\epsilon 2$	73	(5.0)	
$\epsilon 3$	1238	(84.6)	
$\epsilon 4$	153	(10.4)	
rs439401	Genotype		
	CC	288	(39.0)
	CT	335	(45.4)
	TT	115	(15.6)
	Total	738	
	pH-W	0.28	
	Allele		
C	911	(61.7)	
T	565	(38.3)	
rs4420638	Genotype		
	AA	596	(78.9)
	AG	149	(19.8)
	GG	10	(1.3)
	Total	755	
	pH-W	0.84	
	Allele		
A	1341	(88.8)	
G	169	(11.2)	

HW: Hardy-Weinberg equilibrium.

polymorphism ($r^2 < 0.16$). So the analysis of all polymorphisms was investigated.

Association studies

The various associations between the three *APOE* polymorphisms and the anthropometric phenotypes (weight, waist and hip circumferences and BMI), biochemical phenotypes (glucose, insulin, fasting plasma triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol levels) and clinical phenotypes (SBP and DBP) were assessed (Tables 2-3).



The APOE epsilon polymorphism

No significant association could be detected when comparing $\epsilon 2$ allele carriers with $\epsilon 3$ allele carriers (Table 2). In contrast, $\epsilon 4$ allele carriers had significantly higher mean plasma triglyceride ($p=0.0002$), mean plasma total cholesterol ($p=0.009$), mean LDL-cholesterol ($p=0.003$) levels and LDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratio ($p=0.001$) than $\epsilon 3$ allele carriers did (Table 2).

The rs4420638 and rs439401 polymorphisms

No significant associations were detected for the rs4420638 SNP in the ISOR study (Table 3). In contrast, the T allele of rs439401 was significantly associated with lower plasma triglyceride levels ($p=0.005$) (Table 3). This association disappeared after further adjustment for the APOE epsilon polymorphism ($p=0.25$).

Gene-environment analyses

As gender, menopausal status in women and lipid-lowering drugs use may significantly impact plasma lipid levels, we took into account these confounders and investigated associations between the APOE polymorphisms and plasma lipids, in men and women separately and in the non-menopausal women group. All previously described associations were replicated in each group, meaning that gender

Table 2 Association between the APOE epsilon polymorphism and anthropometric, biochemical and clinical parameters in the ISOR study

	$\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 3$	$\epsilon 3\epsilon 4+\epsilon 4\epsilon 4$	p^a	p^b
n	67	522	137		
Weight (kg)	74.6 ± 17.9	71.0 ± 14.2	70.7 ± 13.6	0.05	0.6
Waist (cm)	89.4 ± 13.3	87.6 ± 12.5	87.4 ± 11.6	0.33	0.81
Hip (cm)	103.0 ± 10.6	101.9 ± 9.7	101.0 ± 9.3	0.16	0.6
BMI (kg/m ²)	27.3 ± 6.2	26.1 ± 5.1	25.5 ± 4.5	0.02	0.42
Waist-to-hip ratio	0.87 ± 0.08	0.86 ± 0.09	0.87 ± 0.08	0.93	0.71
Fasting glucose (mmol/L)*	4.98 ± 1.28	5.04 ± 1.30	5.20 ± 1.53	0.23	0.25
Fasting insulin (μIU/mL)*	9.18 ± 6.65	7.95 ± 5.48	8.65 ± 8.31	0.76	0.35
Triglycerides (mmol/L) [†]	1.34 ± 0.78	1.09 ± 0.44	1.24 ± 0.48	0.10	0.0002
Total cholesterol (mmol/L) [†]	4.25 ± 0.95	4.41 ± 0.86	4.63 ± 1.11	0.10	0.009
HDL-cholesterol (mmol/L) [†]	1.27 ± 0.34	1.26 ± 0.30	1.22 ± 0.32	0.40	0.06
LDL-cholesterol (mmol/L) [†]	2.47 ± 0.85	2.64 ± 0.82	2.88 ± 1.05	0.06	0.003
LDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratio [†]	2.14 ± 1.07	2.25 ± 1.00	2.55 ± 1.23	0.18	0.001
SBP (mmHg) ^{††}	122.6 ± 16.3	120.6 ± 14.8	122.7 ± 17.8	0.95	0.13
DBP (mmHg) ^{††}	75.5 ± 8.8	76.6 ± 9.8	76.3 ± 11.1	0.83	0.38

Data are expressed as the mean ± SD. SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure.

p values were adjusted for age, gender, smoking status and physical activity for anthropometric variables.

p^a: p values were adjusted for age, gender, BMI, smoking status and physical activity for biological and biochemical variables.

p^b: p values obtained when comparing $\epsilon 2\epsilon 2+\epsilon 2\epsilon 3$ subjects with $\epsilon 3\epsilon 3$ subjects.

p^c: p values obtained when comparing $\epsilon 3\epsilon 4+\epsilon 4\epsilon 4$ subjects with $\epsilon 3\epsilon 3$ subjects.

*subjects treated for diabetes were excluded (n=54).

[†]subjects treated with lipid-lowering drugs were excluded (n=36).

^{††}subjects treated for hypertension were excluded (n=89).

Table 3 Association between the APOE rs439401 and rs4420638 SNPs and anthropometric, biochemical and clinical parameters in the ISOR study

	rs439401					rs4420638				
	CC	CT	TT	p ¹	p ²	AA	AG	GG	p ¹	p ²
n	288	335	115			596	149	10		
Weight (kg)	71.6 ± 14.5	71.5 ± 15.0	70.8 ± 13.6	0.87	0.68	71.7 ± 14.9	69.4 ± 13.4	67.7 ± 5.9	0.04	0.04
Waist (cm)	88.1 ± 12.6	87.7 ± 12.2	87.4 ± 12.4	0.83	0.66	88.0 ± 12.5	86.7 ± 11.9	83.5 ± 11.2	0.11	0.07
Hip (cm)	102.2 ± 10.0	102.0 ± 10.00	101.3 ± 9.1	0.56	0.45	102.2 ± 9.9	100.8 ± 9.3	97.0 ± 6.2	0.04	0.04
BMI (kg/m ²)	26.0 ± 5.2	26.3 ± 5.1	26.0 ± 4.9	0.65	0.79	26.2 ± 5.2	25.4 ± 4.6	24.5 ± 2.9	0.05	0.08
Waist-to-hip ratio	0.86 ± 0.08	0.86 ± 0.10	0.86 ± 0.08	0.83	0.92	0.86 ± 0.08	0.86 ± 0.11	0.86 ± 0.11	0.99	0.64
Fasting glucose (mmol/L)*	5.04 ± 1.20	5.10 ± 1.52	5.06 ± 1.14	0.69	0.48	5.03 ± 1.26	5.20 ± 1.60	5.03 ± 0.70	0.18	0.34
Fasting insulin (μU/mL)*	8.02 ± 6.09	8.57 ± 6.53	7.58 ± 5.62	0.72	0.7	8.07 ± 5.62	8.75 ± 8.28	6.61 ± 2.89	0.31	0.58
Triglycerides (mmol/L) [†]	1.20 ± 0.51	1.14 ± 0.50	1.07 ± 0.47	0.005	0.25	1.14 ± 0.49	1.19 ± 0.55	1.21 ± 0.41	0.06	0.89
Total cholesterol (mmol/L) [†]	4.50 ± 1.02	4.42 ± 0.86	4.35 ± 0.82	0.14	0.42	4.44 ± 0.90	4.43 ± 0.98	4.51 ± 1.02	0.76	0.42
HDL-cholesterol (mmol/L) [†]	1.24 ± 0.31	1.26 ± 0.33	1.27 ± 0.27	0.29	0.41	1.25 ± 0.30	1.27 ± 0.34	1.17 ± 0.24	0.82	0.55
LDL-cholesterol (mmol/L) [†]	2.74 ± 0.97	2.66 ± 0.82	2.58 ± 0.82	0.11	0.31	2.69 ± 0.87	2.64 ± 0.88	2.78 ± 0.88	0.94	0.20
LDL-cholesterol/HDL-cholesterol ratio [†]	2.39 ± 1.15	2.38 ± 2.12	2.17 ± 0.88	0.31	0.19	2.37 ± 1.76	2.25 ± 1.02	2.36 ± 0.52	0.65	0.09
SBP (mmHg) ^{††}	121.4 ± 16.4	120.9 ± 14.8	121.1 ± 15.1	0.66	0.44	120.9 ± 14.8	121.0 ± 17.6	128.1 ± 18.9	0.36	0.51
DBP (mmHg) ^{††}	75.4 ± 10.1	75.9 ± 8.7	76.4 ± 8.6	0.14	0.09	75.7 ± 9.0	75.7 ± 10.1	78.1 ± 12.2	0.56	0.58

Data are expressed as the mean ± SD. SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure.

p¹: p values were adjusted for age, gender, smoking status and physical activity for anthropometric variables. p values were adjusted for age, gender, BMI, smoking status and physical activity for biological and biochemical variables.

p²: as above and additionally for APOE epsilon status.

*subjects treated for diabetes were excluded (n=54).

[†]subjects treated with lipid-lowering drugs were excluded (n=36).

^{††}subjects treated for hypertension were excluded (n=89).

and menopausal status had no notable influence on the present associations (data not shown).

Haplotype analysis

We explored the haplotype effects of the APOE epsilon (rs429358 and rs7412) and the rs439401 and rs4420638 SNPs on plasma LDL-cholesterol levels. First, we selected the most informative haplotype configuration. The best haplotype model included the APOE epsilon and the rs4420638 polymorphisms ($p=0.002$, with 4 d.f.). We then performed haplotype analysis (using Thesias [29]) for the APOE epsilon and rs4420638. Five haplotypes were inferred (ε3A, ε3G, ε4A, ε4G and ε2A) (Table 4). The test for an overall haplotype effect was significant ($p=0.002$).

When compared with the most frequent (reference) ε3A haplotype, the ε4A haplotype was associated with higher LDL-cholesterol levels (Δ [95% CI]=+0.35 [0.18 – 0.51] mmol/L, $p=0.0001$), whereas the ε2A haplotype was associated with lower LDL-cholesterol levels (Δ [95% CI]=-0.20 [-0.41 – -0.01] mmol/L, $p=0.05$), confirming the respectively deleterious and protective impacts of the ε4 and ε2 alleles. The ε3G haplotype was associated with similar LDL-cholesterol levels (Δ [95% confidence interval (CI)]=0.02 [-0.17 – +0.21] mmol/L, $p=0.74$) compared with carriers of the ε3A haplotype; this result suggests that the rs4420638 G allele does not have an effect in an ε3 background. Interestingly and contrarily to what we observed for the ε4A haplotype, the ε4G haplotype was not associated with higher LDL-cholesterol levels, relative to

Table 4 Effect of the APOE haplotypes on plasma LDL-cholesterol levels in the ISOR study

Haplotypes		Frequency	Haplotype effect [95% CI] (mmol/L)	p
rs429358/rs7412/rs4420638	ε/rs4420638			
TCA	ε3A	0.784	reference	-
TCC	ε3G	0.061	0.02 [-0.17 – 0.21]	0.74
CCA	ε4A	0.054	0.35 [0.18 – 0.51]	0.0001
CCG	ε4G	0.051	-0.05 [-0.27 – 0.17]	0.81
TTA	ε2A	0.050	-0.20 [-0.41 – -0.01]	0.05

Polymorphisms are ordered according to their position in the genomic sequence.

Values are the difference in means [95% CI] when compared with the ε3A reference haplotype (mean [95% CI]=1.33 [1.29 – 1.37] mmol/L) using Thesias software.

the reference $\epsilon 3A$ haplotype (Δ [95% CI] = -0.05 [-0.27 - -0.17] mmol/L, $p=0.81$). Hence, the G allele of the rs4420638 SNP may have counterbalanced the deleterious effect of the $\epsilon 4$ allele.

Similar haplotype results were obtained for plasma total cholesterol levels (data not shown).

Discussion

The importance of APOE in lipid and lipoprotein metabolism is well established. However the impact of APOE polymorphisms has never been investigated in an Algerian population. So in this study, we assessed the relationship between three APOE polymorphisms (epsilon, rs439401 and rs4420638) and metabolic trait variations in a population from Oran, Algeria, the ISOR study. To the best of our knowledge, this was the first study to characterize associations of the three above-mentioned APOE gene polymorphisms with anthropometric, biochemical and clinical parameters in an Algerian population.

The frequency of the $\epsilon 4$ allele in Europe parallels the incidence of CHD and other diseases [11,30,31]. It follows a north-to-south gradient and ranges from more than 0.22 in Finland and Greenland [32-34] to less than 0.07 in Greece and Italy [35-37]. In our study, the $\epsilon 4$ allele frequency (0.10) was similar to values observed in other North African populations (around 0.10 in Moroccan populations [26,38] and around 0.08 in Tunisian populations [27,28]).

The minor allele frequency of the rs439401 SNP (located within the APOE/APOC1 cluster) was 0.38 in the ISOR study. Similar frequencies have been reported in the literature and range from 0.33 to 0.36 [14,39].

For the rs4420638 SNP (situated lying 14 kb downstream of the APOE locus in the adjacent APOC1 gene), the minor allele frequency (0.11) was markedly lower than the value observed in European samples [14,24,40].

In the ISOR study, the $\epsilon 2$ allele was not significantly associated with plasma lipid variations ($0.06 \leq p \leq 0.18$). This is probably due to too few of $\epsilon 2$ carriers ($n=67$). Only the $\epsilon 4$ allele showed an association with higher levels of total cholesterol and LDL-cholesterol. Furthermore, the $\epsilon 4$ allele was associated with higher concentrations of triglycerides, as previously observed by Kofler *et al.* in a study performed in the United Kingdom [41]. The APOE $\epsilon 4$ isoform (which binds preferentially to VLDLs) can interfere with plasma lipase activity or with the triglyceride removal system; this results in delayed lipolysis or clearance of plasma triglycerides in subjects bearing the $\epsilon 4/\epsilon 3$ phenotype [18]. Therefore, our results are consistent with previous studies [42-45]. In contrast with previous studies in multi-ethnic populations [41,46-48] but consistently with other studies in Tunisian subjects [27,28], we did not detect significant associations between the APOE epsilon polymorphism and HDL-cholesterol

levels in the ISOR sample. Other studies conducted in Arab population samples are therefore needed to conclude.

Despite the deleterious effect of the $\epsilon 4$ allele on lipid parameters observed in the ISOR study, the lipid concentrations did not reach abnormal threshold values. A case-control study on the risk of myocardial infarction conducted in Oran in 2001 also showed that plasma concentrations of all lipid parameters were systematically lower in Algerian subjects than in Irish and French individuals [49].

We found significant association between the rs439401 SNP and triglyceride concentrations. This association has previously been observed in European GWAS of blood lipid levels [14,22]. However, this association disappeared after further adjustment for the APOE epsilon polymorphism, suggesting that the effect of rs439401 was overshadowed by the epsilon polymorphism.

In the ISOR study, the rs4420638 SNP was not significantly associated with any metabolic traits, contrary to what has been previously described [50]. These discrepancies could be explained by differences in the LD structure between rs4420638 and the APOE epsilon polymorphism in the Algerian and European populations ($D'=0$ and +16 with rs7412 and rs429358, respectively in the ISOR study versus $D'=+66$ and -69 with rs7412 and rs429358, respectively in the EUR panel of the 1000 Genomes database (December 2012 release, <http://browser.1000genomes.org>). Therefore the effect of the rs4420638 SNP could be mainly due to the epsilon polymorphism in European samples but be independent in the ISOR study. This result should be investigated in other North-African populations.

Haplotype analysis was performed to better understand the information provided by the individual SNP analysis. This analysis showed that regarding plasma LDL-cholesterol (or total cholesterol) levels, the rs4420638 polymorphism could counterbalance the deleterious effect of the epsilon 4 allele.

Conclusion

We showed that the impact of the APOE $\epsilon 4$ allele on the plasma lipid profile is similar in an Algerian population to what is known in other countries. It is noteworthy that the rs4420638 G allele could counterbalance the deleterious effect of the APOE $\epsilon 4$ allele on LDL-cholesterol levels in a North African population. Replications in larger studies are required.

Methods

Subjects

The ISOR (Insulino-résistance à Oran) study

The ISOR study was performed between 2007 and 2009. The study's objectives and procedures were approved by the independent ethics committee at the Algerian National

Agency for the Development of Health Research. The ISOR study was a population-based, cross-sectional study of a representative sample of 787 subjects (378 men and 409 women, aged between 30 and 64) recruited within the city of Oran. Subjects were selected at random from social security rolls. All subjects consented freely to participation in the study. A questionnaire on lifestyle (physical activity, tobacco use and alcohol intake), personal and family medical histories, current medication and socio-economic and educational levels was completed during a face-to-face interview. Anthropometric data were also recorded.

The level of physical activity was defined in quartiles as "none", "low", "medium" and "high" after summing exercise scores for sporting activities, walking, housework and physical activity at work.

In terms of tobacco use, participants were categorized as either smokers (i.e. individuals reporting at least one cigarette per day) or non-smokers. In the study questionnaire, subjects were asked to report their weekly consumption of wine, beer, and spirits. As there were very few drinkers ($n=25$, 3.2%), this variable was not taken into account in the final analysis.

The anthropometric measurements included height, body weight, waist circumference and hip circumference. Height and weight were measured while the subject was barefoot and lightly dressed. The BMI was calculated according to the Quetelet equation. Systolic and diastolic blood pressure values (SBP and DBP, respectively) were measured on the right arm with the subject in the sitting position, using a standard mercury sphygmomanometer. Measurements were made before and after completion of the questionnaire, with an interval of at least 10 minutes. The mean value of the blood pressure readings was considered in the final analysis.

After a 12 h overnight fast, two 15 ml blood samples were collected for each subject (in a disodium EDTA tube for subsequent DNA analysis and in a heparin tube for clinical chemistry tests).

A multichannel analyzer and dedicated kits (Humastar[®], HUMAN Diagnostics, Wiesbaden, Germany) were used for the colorimetric, enzymatic measurement of cholesterol (kit: monoteest cholesterol with cholesterol esterase, cholesterol oxidase and peroxidase), triglycerides (kit: peridochrom triglyceride with glycerol phosphate oxidase and peroxidase) and glucose (kit: glucose, glucose oxidase and peroxidase). Plasma LDL-cholesterol levels were calculated according to the Friedwald equation. High-density lipoprotein cholesterol levels were measured after sodium phosphotungstate/magnesium chloride precipitation of chylomicrons and VLDL and LDL-cholesterol and then centrifugation. Plasma insulin levels were measured in a microparticle enzyme immune assay running on an AxSYM analyzer (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, USA).

Genomic DNA was extracted from white blood cells by using the Stratagene[®] kit (Agilent Technologies, Les Ulis, France), according to the manufacturer's protocol.

Genotyping

The *APOE* SNPs (rs429358, rs7412, rs439401 and rs4420638) were genotyped using KASPar technology (KBioscience, Hoddesdon, UK) with the following probes: rs429358: [GACATGGAGGACGTG[C/T]GCGGCCGCC TGGTGCC], rs7412: [GATGACCTGCAGAAG[C/T]GCC TGGCAGTGTACC], rs439401: [GCCGGCACTCTCTTC [C/T]CCTCCCACCCCTCA], rs4420638: [TGCTACAC TTTTCCT[A/G]GTGTGGTCTACCCGA]. The genotyping success rates ranged from 93% to 96%.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed with SAS 9.1 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). The Hardy-Weinberg equilibrium was tested using a χ^2 test with one degree of freedom (d.f.).

Intergroup comparisons of means were performed with (i) a general linear model comparing $\epsilon 2$ carriers ($\epsilon 2\epsilon 2$ and $\epsilon 2\epsilon 3$ subjects) or $\epsilon 4$ carriers ($\epsilon 4\epsilon 4$ and $\epsilon 4\epsilon 3$ subjects) with $\epsilon 3$ carriers ($\epsilon 3\epsilon 3$ homozygotes) for the *APOE* epsilon polymorphism and (ii) an additive model for the rs439401 and rs4420638 polymorphisms. Subjects with the $\epsilon 2\epsilon 4$ genotype ($n=3$) were excluded from the analyses because of the possible opposing biological effects of the $\epsilon 2$ and $\epsilon 4$ alleles.

Data on triglycerides, glucose and insulin levels were log-transformed to obtain normal distributions. Estimated means were subsequently back-transformed for presentation in the tables.

For anthropometric variables, the confounding variables were age, gender, smoking status and physical activity. For biological and biochemical variables, the confounding variables were age, gender, BMI, smoking status and physical activity. For the rs439401 and rs4420638 polymorphisms, data were further adjusted for the *APOE* epsilon polymorphism coded in three genotypes as follows: $\epsilon 2$ carriers ($\epsilon 2\epsilon 2$ and $\epsilon 2\epsilon 3$ subjects); $\epsilon 4$ carriers ($\epsilon 4\epsilon 4$ and $\epsilon 4\epsilon 3$ subjects) and $\epsilon 3$ carriers ($\epsilon 3\epsilon 3$ subjects).

After Bonferroni correction, only associations with an uncorrected p value below 0.017 were considered to be statistically significant (i.e. 0.05 divided by the number of polymorphisms considered).

General linear models were used to investigate potential interactions by adding an interaction ((gender or BMI) \times polymorphism) term.

Linkage disequilibrium figure and values were calculated with Haploview 4.2 (<http://www.broadinstitute.org/scientific-community/science/programs/medical-and-population-genetics/haploview/haploview>).

Haplotype frequencies derived from all studied polymorphisms were estimated independently of phenotype. A two-step haplotype analysis was performed. Firstly, in order to reduce the haplotype dimension and select the most informative, parsimonious haplotype configuration for the prediction of phenotypic variability, we applied the maximum likelihood model to all the possible 1 to k -loci combinations of polymorphisms that could be derived from the 4 *APOE* SNPs with the GridHaplo software [51]. Akaike's information criterion (AIC) was calculated for each model (including a model with no polymorphisms) [52]. All AIC values were rescaled by subtracting the smallest AIC value obtained for the whole set of models. According to a rule derived by extensive Monte Carlo simulation, all models with a rescaled AIC ≤ 2 can be considered to be "equivalent" to the model with the lowest min AIC. The most parsimonious of the latter (corresponding to the minimal haplotype configuration) was selected. Secondly, haplotype analyses were performed using the Thesias software package (<http://ecgene.net/genecanvas>) [29]. Haplotype analyses were adjusted for age, gender, BMI, smoking status and physical activity level.

Abbreviations

AIC: Akaike's information criterion; APOE: Apolipoprotein E; BMI: Body mass index; CHD: Coronary heart disease; DBP: Diastolic blood pressure; DNA: Deoxyribonucleic acid; d.f.: Degree of freedom; GWAS: Genome-wide association studies; HDL: High-density lipoprotein; ISOR: Insulino-résistance à ORAN; LD: Linkage disequilibrium; LDL: Low-density lipoprotein; SBP: Systolic blood pressure; SNP: Single nucleotide polymorphism; VLDL: Very low-density lipoprotein.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

SMB, LH, NSM, PA, AM and LG designed research; SMB, LH, IMH, AM and LG conducted research; HOD, SJH, IMH, SMB and LH participated in the recruitment of subjects; LG built the database with the support of BGG; XH, DNM and HB performed the DNA extraction under the supervision of LG; HB and LG performed the statistical analyses; HB, SMB, AM and LG interpreted the results. IMH assayed biochemical parameters; HB wrote the paper under the supervision of SMB, AM and LG; HB, SMB, AM and LG had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

The ISOR project was funded through a collaboration agreement between the Direction de la Post-Graduation et de la Recherche-Formation (DPCRIF) (Algeria) and the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) (France). The work in France was also part-funded by INSERM. The work in Algeria was also part-funded by the Algerian National Agency for the Development of Health Research (ANDRS) and a grant from the Projets Nationaux de Recherche (PNR) program run by the Algerian Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique/Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique (DGRSDT/MESRS).

Author details

¹Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire, Université des Sciences et de Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, Oran, Algeria. ²Département de Biotechnologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'Oran, Oran, Algeria. ³INSERM, U744; Institut Pasteur de Lille, Université Lille

Nord de France, Lille, France. ⁴Caisse Nationale des Assurances Sociales des travailleurs salariés, Clinique Spécialisée en Orthopédie et Rééducation des Victimes des Accidents de Travail, Oran, Algeria. ⁵Faculté de Médecine, Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, Sidi Bel Abbes, Algeria. ⁶Laboratoire des Systèmes d'Information en Santé, Université d'Oran, Oran, Algeria.

Received: 27 August 2013 Accepted: 21 October 2013

Published: 25 October 2013

References

- Davignon J, Gregg RE, Sing CF: Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1988, **81**:21.
- Eichner JE, Dunn ST, Pevee G, Thompson DM, Stewart KE, Stroehla BC: Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2002, **155**:487-495.
- Institut National de Santé Publique: *Transition épidémiologique et système de santé. Synthèse de l'enquête morbidité*. Alger: INSP Ed:Projet TA-HNA; 2002.
- Mackay JMG: *The Atlas of Heart Disease and Stroke*. Geneva: World Health Organization; 2004.
- World Health Organization (WHO): *The World Health Report 2008*. 2013. Available from: URL: http://www.who.int/whr/2008/whr08_en.pdf.
- Murray CJ, Lopez AD: Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997, **349**:1498-1504.
- Watkins H, Farrell M: Genetic susceptibility to coronary artery disease: from promise to progress. *Nat Rev Genet* 2006, **7**:163-173.
- Ginsberg HN, Kris-Etherton P, Dennis B, Elmer PJ, Eshwar A, Lefevre M, Pearson T, Rohm P, Ramakrishnan R, Reed R, et al: Effects of reducing dietary saturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in healthy subjects: the DELTA Study, protocol 1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998, **18**:441-449.
- Savolainen MJ, Kesäniemi YA: Effects of alcohol on lipoproteins in relation to coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 1995, **6**:243-250.
- Gielen S, Schuler G, Hambrecht R: Exercise training in coronary artery disease and coronary vasomotion. *Circulation* 2001, **103**:E1-E6.
- Wilson PW, Schaefer EJ, Larson MG, Ordovas JM: Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996, **16**:1250-1255.
- Song Y, Stampfer MJ, Liu S: Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2004, **141**:137-147.
- Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlborn A, Kearney B, Collins R, Wiman B, de Faire U, et al: Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA* 2007, **298**:1300-1311.
- Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Kosilek M, Pirruccello JP, Ripatti S, Chasman DI, Willer CJ, et al: Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature* 2010, **466**:707-713.
- Anoop S, Misra A, Meena K, Luthra K: Apolipoprotein E polymorphism in cerebrovascular & coronary heart diseases. *Indian J Med Res* 2010, **132**:363-378.
- Das HK, McPherson J, Bruns GA, Karathanasis SK, Breslow JL: Isolation, characterization, and mapping to chromosome 19 of the human apolipoprotein E gene. *J Biol Chem* 1985, **260**:6240-6247.
- Siest G, Pillo T, Regis-Bailly A, Leininger-Muller B, Steinmetz J, Gáltesu MM, Visvikis S: Apolipoprotein E: an important gene and protein to follow in laboratory medicine. *Clin Chem* 1995, **41**:1068-1086.
- Dallongeville J, Lussier-Cacan S, Davignon J: Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: a meta-analysis. *J Lipid Res* 1992, **33**:447-454.
- Wilson PW, Myers RH, Larson MG, Ordovas JM, Wolf PA, Schaefer EJ: Apolipoprotein E alleles, dyslipidemia, and coronary heart disease. The Framingham Offspring Study. *JAMA* 1994, **272**:1666-1671.
- Costanza MC, Beer-Borst S, James RW, Gaspoz JM, Morabia A: Consistency between cross-sectional and longitudinal SNP: blood lipid associations. *Eur J Epidemiol* 2012, **27**:131-138.
- Petkeviciene J, Smalinskiene A, Lulsiene DI, Jureniene K, Ramazauskiene V, Klumbiene J, Lesauskaite V: Associations between apolipoprotein E genotype, diet, body mass index, and serum lipids in Lithuanian adult population. *PLoS One* 2012, **7**:e41525.

22. Aulchenko YS, Ripatti S, Lindqvist J, Boomsma DI, Hed JM, Pramstaller PP, Penninx BW, Janssens AC, Wilson JF, Spector T, et al: **Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts.** *Nat Genet* 2009, **41**:47-55.
23. Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, Surti A, Burt NP, Rieder MJ, Cooper GM, Roos C, Voight BF, Hawilla AS, et al: **Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans.** *Nat Genet* 2008, **40**:189-197.
24. Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJ, Li S, Lindgren CM, Heid IM, Berndt SJ, Elliott AL, Jackson AU, Lamina C, et al: **Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation.** *Nat Genet* 2009, **41**:25-34.
25. Liu Y, Zhou D, Zhang Z, Song Y, Zhang D, Zhao T, Chen Z, Sun Y, Zhang D, Yang Y, et al: **Effects of genetic variants on lipid parameters and dyslipidemia in a Chinese population.** *J Lipid Res* 2011, **52**:354-360.
26. Lahjal-Kacemi N, Bamou Y, Guedra A, Hassani M, Visvikis S, Siest G, Alami N, Kabaj O, Lahrichi M: **Apolipoprotein E polymorphism in a Moroccan population: allele frequency and relation to plasma lipid concentrations.** *Ann Biol Clin (Paris)* 2002, **60**:73-78.
27. Jmaa R, Elami M, Naouali C, Feki M, Kallel A, Souissi M, Sanhaji H, Hadj TS, Souheil O, Kaabachi N: **Apolipoprotein E polymorphism in the Tunisian population: frequency and effect on lipid parameters.** *Clin Biochem* 2006, **39**:816-820.
28. Bahi R, Esteban E, Moral P, Hassine M, Ben Hamda K, Chabani H: **Apolipoprotein gene polymorphisms and plasma levels in healthy Tunisians and patients with coronary artery disease.** *Lipids Health Dis* 2008, **7**:46.
29. Tregouet DA, Gardle V: **A new JAVA interface implementation of THESIAS: testing haplotype effects in association studies.** *Bioinformatics* 2007, **23**:1038-1039.
30. Schiele F, De Bacquer D, Vincent-Viry M, Beisiegel U, Ehrholm C, Evans A, Kafatos A, Martins MC, Sans S, Sassi C, et al: **Apolipoprotein E serum concentration and polymorphism in six European countries: the ApoEurope Project.** *Atherosclerosis* 2000, **152**:475-488.
31. Kosunen O, Talaieiniemi S, Lehtavirta M, Heinonen O, Heiskanen S, Mannema A, Paljarvi L, Ryyanen M, Reikkinen PJ Sr, Soininen H: **Relation of coronary atherosclerosis and apolipoprotein E genotypes in Alzheimer patients.** *Stroke* 1995, **26**:743-748.
32. Gedes LU: **The common polymorphism of apolipoprotein E: geographical aspects and new pathophysiological relations.** *Clin Chem Lab Med* 2003, **41**:628-631.
33. Ehrholm C, Luikka M, Kuusi T, Nikkila E, Utermann G: **Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations.** *J Lipid Res* 1986, **27**:227-235.
34. de Knijff P, Johansen LG, Rosseneu M, Frants RR, Jespersen J, Havelles LM: **Lipoprotein profile of a Greenland Inuit population. Influence of anthropometric variables, Apo E and A4 polymorphism, and lifestyle.** *Arterioscler Thromb* 1992, **12**:1371-1379.
35. Skavounou E, Economou-Petersen E, Karadima G, Panas M, Avramopoulos D, Varsou A, Vassilopoulos D, Petersen MB: **Apolipoprotein E polymorphism in the Greek population.** *Clin Genet* 1997, **52**:216-218.
36. Deiana L, Pes GM, Caru C, Emigo A, Pettinato S, Caracci C, Baggio G, Contu I: **Lack of influence of apolipoprotein E4 on lipoprotein levels in the island population of Sardinia.** *Eur J Clin Invest* 1998, **28**:290-294.
37. Barboglio CM, Polizzi F, Severino M, Rizzo M, Vivona N, Onorato F, Caldiella R, Cefalu AB, Noto D, Notarbartolo A, et al: **ApoE polymorphism in a small Mediterranean island: relationships with plasma lipids, lipoproteins and LDL particle size.** *Eur J Epidemiol* 2001, **17**:707-713.
38. Vahery N, Esteban E, Kandil M, Moral P: **APO E polymorphism in Spanish and Moroccan populations.** *Clin Genet* 1997, **51**:354-356.
39. King SJ, Brummett BH, Barefoot J, Ganett ME, Ashley-Koch AE, Boyle SH, Siegler IC, Sorensen TI, Williams RB: **Impact of psychological stress on the associations between apolipoprotein E variants and metabolic traits: findings in an American sample of caregivers and controls.** *Psychosom Med* 2010, **72**:427-433.
40. Barber MJ, Mangarite LM, Hyde CL, Chasman DJ, Smith JD, McCarty CA, Li X, Wilke RA, Rieder MJ, Williams PT, et al: **Genome-wide association of lipid-lowering response to statins in combined study populations.** *PLoS One* 2010, **5**:e9761.
41. Koller BM, Miles EA, Curtis P, Amah CK, Tricon S, Grew J, Napper R, Farrell L, Lietz G, Packard CJ, et al: **Apolipoprotein E genotype and the cardiovascular disease risk phenotype: impact of sex and adiposity (the FINGEN study).** *Atherosclerosis* 2012, **221**:67-70.
42. Hallman DM, Boerwinkle E, Saha N, Sandholzer C, Menzel HI, Csazar A, Utermann G: **The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations.** *Am J Hum Genet* 1991, **49**:338-349.
43. Xhignesse M, Lussier-Cacan S, Sing CF, Kessling AM, Davignon J: **Influences of common variants of apolipoprotein E on measures of lipid metabolism in a sample selected for health.** *Arterioscler Thromb* 1991, **11**:1100-1110.
44. Howard BV, Gidding SS, Liu K: **Association of apolipoprotein E phenotype with plasma lipoproteins in African-American and white young adults. The CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in Young Adults.** *Am J Epidemiol* 1998, **148**:859-868.
45. Wilson HM, Patel JC, Russell D, Skinner ER: **Alterations in the concentration of an apolipoprotein E-containing subfraction of plasma high density lipoprotein in coronary heart disease.** *Clin Chim Acta* 1993, **220**:175-187.
46. Avim RO, Freitas SR, Ferreira NE, Santos PC, Cunha RS, Mill JG, Krieger JE, Pereira AC: **APOE polymorphism is associated with lipid profile, but not with arterial stiffness in the general population.** *Lipids Health Dis* 2010, **9**:128.
47. Medina-Urrutia AX, Cardoso-Saldana GC, Zamora-Gonzalez J, Liria YK, Posadas-Romero C: **Apolipoprotein E polymorphism is related to plasma lipids and apolipoproteins in Mexican adolescents.** *Hum Biol* 2004, **76**:605-614.
48. Liang S, Steffen LM, Steffen BT, Guan W, Weir NL, Rich SS, Marichaluk A, Vargas JD, Tsai MY: **APOE genotype modifies the association between plasma omega-3 fatty acids and plasma lipids in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA).** *Atherosclerosis* 2013, **228**:181-187.
49. Mediene-Bencheikr S, Brousseau T, Richard F, Benhamouch S, Amouyel P: **Blood lipid concentrations and risk of myocardial infarction.** *Lancet* 2001, **358**:1064-1066.
50. Pendergrass SA, Brown-Gentry K, Dudek S, Fraze A, Tonstensen ES, Goodloe R, Ambite JL, Avery CL, Buyske S, Bukova P, et al: **Phenome-Wide Association Study (PheWAS) for Detection of Pleiotropy within the Population Architecture using Genomics and Epidemiology (PAGE) Network.** *PLoS Genet* 2013, **9**:e1003087.
51. Tregouet DA, König IR, Erdmann J, Munteanu A, Braund PS, Hall AS, Grosshennig A, Linsel-Nitschke P, Perret C, DeSurremain M, et al: **Genome-wide haplotype association study identifies the SLC22A3-LPAL2-LPA gene cluster as a risk locus for coronary artery disease.** *Nat Genet* 2009, **41**:283-285.
52. Akaike H: **A new look at the statistical model identification.** *IEEE Transactions on Automated Control* 1974, **19**:716-723.

doi:10.1186/1476-511X-12-155

Cite this article as: Boulenouar et al: Impact of APOE gene polymorphisms on the lipid profile in an Algerian population. *Lipids in Health and Disease* 2013, **12**:155.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

		veuf(ve)	3	
		séparé(e)/divorcé	4	
		(e)	5	
		autre		

D8	Si votre père est vivant, quel est son âge ?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
D9	Si votre père est décédé, quel âge avait-il au moment de son décès ?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
D10	Précisez la cause de son décès				
D11	Si votre mère est vivante, quel est son âge ?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
D11	Si votre mère est décédée, quel âge avait-elle au moment de son décès ?		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
D12	Précisez la cause de son décès				
D13	Vos parents sont-ils cousins ?	oui	1		<input type="checkbox"/>
		non	2		

Éléments socioprofessionnels				
S1	Quel est votre niveau d'instruction ?	aucune instruction	1	<input type="checkbox"/>
		primaire ou coranique	2	
		moyen	3	
		secondaire	4	
		Formation	5	
		professionnelle école sup, université	6	
S2	Travaillez-vous actuellement ?	oui	1	<input type="checkbox"/>
		non	2	
S3	Si oui, quel métier exercez-vous ?			<input type="checkbox"/>
	Dans quelle entreprise ?			
S4	Laquelle des catégories suivantes décrit le mieux votre activité professionnelle ?	employé de l'état	1	<input type="checkbox"/>
		employé dans le privé	2	
		indépendant	3	
S5	Quel est votre horaire de travail ?	journée normale	1	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
		journée continue	2	
		3x8	3	
		de nuit	4	
		à mi-temps	5	
		sans horaire fixe	6	
		occasionnel	7	
		système quart	8	
		un jour sur deux	9	
		autre (préciser)	10	
S6	Si actuellement, vous ne travaillez pas, vous êtes :	étudiant, apprenti en formation professionnelle	1	<input type="checkbox"/>
		au foyer	2	
		retraité(e)	3	
		Chômeur	4	
		Invalide	5	
		Autre (préciser)	6	
S7	Vous estimez que le revenu global de votre ménage est :	bon	1	<input type="checkbox"/>
		moyen	2	
		insuffisant	3	

Pour les femmes				
Combien avez-vous eu de :				
F1	- grossesses (noter 0 si aucun)			<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
F2	- fausses couches ou avortements spontanés ? (noter 0 si aucun)			<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
F3	- enfants mort-nés ? (noter 0 si aucun)			<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
F4	- enfants prématurés ? (noter 0 si aucun)			
F5	Avez-vous eu un enfant de poids de	oui	1	<input type="checkbox"/>

	naissance égal ou supérieur à 4 kg ?	Non	2	
F6	Prenez-vous la pilule?	Oui	1	<input type="checkbox"/>
		Non	2	
F7	Noter le nom de la pilule			
F9	Etes-vous ménopausée ?	Oui	1	<input type="checkbox"/>
		Non	2	
		ne sait pas	3	
F10	Si oui, âge à la ménopause			<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
F11	Suivez-vous un traitement hormonal pour la ménopause ?	oui	1	<input type="checkbox"/>
		Non	2	

Antécédents personnels				
Avez-vous les maladies suivantes :				
AP1	Hypertension artérielle	oui	1	<input type="checkbox"/>
		non	2	
		ne sait pas	3	
AP2	- Si oui, année du diagnostic			<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
AP3	- Année de première prise de trt anti-HTA			<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
AP4	- Traitement médical actuel	oui	1	<input type="checkbox"/>
		non	2	
AP5	- Si oui, quel est votre traitement?			
AP6	Diabète	oui	1	<input type="checkbox"/>
		non	2	
		ne sait pas	3	
AP7	- Si oui, année du diagnostic			<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
AP8	- Circonstances de découverte	signes cliniques	1	<input type="checkbox"/>
		pendant une grossesse	2	
		lors d'un bilan systématique	3	
		à cause de complications	2	
AP9	- Traitement actuel	régime	1	<input type="checkbox"/>
		régime + trt anti-diabétique oral	2	
		Insuline + trt anti-diabétique oral	3	
		Insuline	4	
AP10	- Si oui, quel est votre traitement?			
Maladies cardio-vasculaires				
AP11	- Angine de poitrine	oui	1	<input type="checkbox"/>
		non	2	
		ne sait pas	3	
AP12	- Infarctus	oui	1	<input type="checkbox"/>
		non	2	
		ne sait pas	3	
AP13	- Accident vasculaire cérébral	oui	1	<input type="checkbox"/>
		non	2	
		ne sait pas	3	

AP14	- Artérite des membres inférieurs	oui non ne sait pas	1 2 3	<input type="checkbox"/>
AP15	Si vous avez une de ces maladies, quel est votre traitement ?			
Avez-vous déjà présenté d'autres maladies ?				
AP16	- Augmentation des graisses du sang (cholestérol, triglycérides)	oui non ne sait pas	1 2 3	
AP17	Si oui, quel est votre traitement ?			
AP14	- Troubles actuels du comportement alimentaire	non anorexie boulimie	1 2 3	<input type="checkbox"/>
AP15	- Pratiquez-vous le grignotage entre les repas?	oui non	1 2	<input type="checkbox"/>
AP16	- Pathologie ophtalmologique (préciser laquelle, dans le cas contraire noter 0)			<input type="checkbox"/>
AP17	- Autre maladie (préciser laquelle, dans le cas contraire noter 0)			<input type="checkbox"/>

Antécédents familiaux (noter chaque case par +, - ou ne sait pas (nsp))							
	Diabète	HTA	Graisses dans le sang	AVC	Infarctus autre	Obésité	Mort subite
Père							
Mère							
Frères/soeurs							
Grands parents paternels							
Grands parents maternels							
Oncles/tantes paternels							
Oncles/tantes maternels							

1ère mesure de la pression artérielle (position assise)			
PA1	Mesure 1 Pression artérielle systolique (mm Hg)		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
PA2	Pression artérielle diastolique (mm Hg)		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

Nous allons maintenant vous poser des questions sur plusieurs comportements relatifs à la santé. Cela inclut des choses comme effectuer une activité physique, manger ou fumer.

Consommation de tabac			
T1	Fumez-vous actuellement ?	oui 1 non 2	<input type="checkbox"/>
T2	Si oui, combien de cigarettes fumez-vous par jour ?		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
T3	Dans l'heure qui suit votre lever, combien de cigarettes fumez-vous ?		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
T4	Si vous fumez du tabac, combien de paquets fumez-vous par semaine ?		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
T5	Depuis combien d'années fumez-vous ?		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Si vous ne fumez pas actuellement			
T6	Avez-vous fumé de façon régulière à un moment quelconque de votre vie ?	Oui 1 Non 2	<input type="checkbox"/>
Si vous avez fumé de façon régulière à un moment quelconque de votre vie :			
T7	Combien fumiez-vous de cigarettes par jour ?		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
T8	Pendant combien d'années avez-vous fumé ?		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
T9	Depuis combien d'années avez-vous cessé de fumer ?		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

Si Non, aller à la prochaine section*

Activité physique			
P1	Pratiquez-vous une activité sportive seul(e) ou dans un club ?	jamais 1 moins d'une fois/semaine 2 1-2 fois/semaine 3 plus de 2 fois/semaine 4	<input type="checkbox"/>
P2	Avez-vous pratiqué une (des) activités sportives sur une longue durée dans le passé ?	oui 1 non 2	<input type="checkbox"/>
P3	Votre activité physique habituelle à la maison (tâches ménagères, entretien) est-elle ?	faible 1 modérée 2 importante 3 intensive 4	<input type="checkbox"/>
P4	Si vous travaillez, votre activité physique habituelle au travail est-elle ?	faible 1 modérée 2 importante 3 intensive 4	<input type="checkbox"/>
P5	Effectuez-vous des trajets à pied ?	oui 1 non 2	<input type="checkbox"/>
P6	Habituellement, combien de jours par semaine effectuez-vous ces trajets à pied ?	nombre de jours/semaine	<input type="checkbox"/>
P7	Habituellement, quelle est la durée de votre marche ?	moins de 10 minutes d'affilée 1 de 10 à 30 minutes d'affilée 2 plus de 30 minutes d'affilée 3	<input type="checkbox"/>

ALIMENTATION Au cours des 7 jours qui viennent de s'écouler, combien de fois, par jour ou par semaine, avez-vous consommé les aliments suivants ?															
Groupes d'aliments	Nombre de fois par semaine								Nombre de fois par jour						
	<1	1	2	3	4	5	6	Code	1	2	3	4	5	>5	Code
Pain	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Couscous, pâtes, riz, autres cereals (frik, maïs, dchicha..)	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Pomme de terre, patate douce	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Légumes secs : fèves, haricots secs, pois chiche, pois cases, lentilles	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Fruits crus ou cuits	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Légumes crus ou cuits	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Lait, fromage, yaourt, lben, rayeb...	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Poisson : frais, surgelé ou conserve	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Viande rouge (bœuf, mouton)	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Volaille, lapin	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Œufs	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Cacahuètes, pistaches, amandes...	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Fruits secs (dates, figues sèches, pruneaux..)	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Desserts, sucreries, gâteaux, lemonade	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Huile d'olive	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Huile (autre que huile d'olive)	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_
Beurre, margarine, smen, crème fraîche, khlii	<input type="checkbox"/> ₀	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_	<input type="checkbox"/> ₁	<input type="checkbox"/> ₂	<input type="checkbox"/> ₃	<input type="checkbox"/> ₄	<input type="checkbox"/> ₅	<input type="checkbox"/> ₆	/_/_

Consommation d'eau				
EA1	Combien buvez-vous d'eau par jour ?	Rien ou très peu moins d'1 litre 1 litre Plus d'1 litre Plus d'1 litre 1/2	1 2 3 4 5	<input type="checkbox"/>

Consommation d'alcool				
AL1	Consommez-vous du vin et des boissons alcoolisées ? (Si Non, aller à la Section Suivante*)	Oui Non	1 2	<input type="checkbox"/>
AL2	Durant les douze derniers mois, à quelle fréquence avez-vous bu au moins une boisson alcoolisée?	5 jours ou plus/semaine 1 à 4 jours /semaine 1 à 3 jours/mois Moins d'1 fois/mois	1 2 3 4	<input type="checkbox"/>
AL3	Quand vous buvez de l'alcool, combien de verres prenez-vous en moyenne par jour?	Nombre de verres Ne Sait Pas (77)		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

Etat de santé				
ES1	Compte tenu de votre âge, estimez-vous que votre état de santé est globalement ?	bon moyen mauvais	1 2 3	<input type="checkbox"/>
ES2	Un évènement grave vous a-t-il affecté, lors des derniers mois ? (divorce, séparation, décès d'un proche, perte d'emploi, accident, maladie,...)	oui non	1 2	<input type="checkbox"/>
ES3	Vous sentez-vous fatigué dès le réveil ?	oui non	1 2	<input type="checkbox"/>
ES4	Vous estimez-vous surmené?	oui non	1 2	<input type="checkbox"/>
ES5	Votre entourage vous fait-il remarquer que vous êtes trop nerveux ?	oui non	1 2	<input type="checkbox"/>
ES6	Vous levez-vous la nuit plusieurs fois pour uriner (2-3 fois)?	oui non	1 2	<input type="checkbox"/>

Variations de poids (Section V)		
V1	Quel a été votre poids minimum	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
	Quel a été votre poids maximum	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

Traitements médicamenteux

Si vous prenez régulièrement d'autres médicaments depuis un mois ou plus, que vous n'avez pas cités, précisez les (n'oubliez pas : aspirine,...)

.....

.....

.....

2 ^{ème} mesure de la pression artérielle (<i>position assise</i>)		
PA3	Pression artérielle systolique (mm Hg)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
PA4	Pression artérielle diastolique (mm Hg)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

Mesures anthropométriques		
M1	Taille (en centimètres)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
M2	Poids (en kilogrammes)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
M3	Tour de taille (en centimètres)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
M4	Tour de hanche (en centimètres)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

Résumé

Le gène de l'APOE joue un rôle important dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines. Dans ce travail, nous avons évalué, l'impact de polymorphismes du gène de l'APOE sur le bilan lipidique, et sur le risque cardiovasculaire dans la population oranaise.

Nous avons réalisé ce travail à partir de deux études épidémiologiques; l'étude ECTOR (N=193) menée entre 1994 et 1996; et l'étude transversale ISOR (N=787) réalisée entre 2007 et 2009.

Les résultats obtenus pour l'étude ECTOR ont montré l'effet protecteur de l'allèle $\epsilon 2$ sur les variables du bilan lipidique, notamment de total cholestérol ($p=0,001$), de LDL-cholestérol ($p=0,006$), et de ratio LDL Cholestérol/HDL Cholestérol ($p=0,04$). Aucun effet n'a été rapporté pour l'allèle $\epsilon 4$. Dans l'étude ISOR, aucune association significative n'a pu être détectée pour l'allèle $\epsilon 2$. En revanche, les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ ont des concentrations significativement plus élevées de triglycérides ($p=0,0002$), de cholestérol total ($p=0,009$), de LDL-cholestérol ($p=0,003$) et de rapport LDL-cholestérol/HDL-cholestérol ($p=0,001$) que les porteurs de l'allèle $\epsilon 3$. Le rs439401 a été significativement associé aux variations des concentrations de triglycérides ($p=0,006$), et au risque d'hypertension artérielle ($p=0,006$). Le rs4420638 confère une protection contre l'obésité ($p=0,005$). Les analyses haplotypiques et de déséquilibre de liaison confirment l'effet protecteur et délétère des allèles $\epsilon 2$ et $\epsilon 4$ sur le LDL-cholestérol, et montrent que l'allèle G du rs4420638 exerce un effet protecteur chez les sujets porteurs de l'allèle $\epsilon 4$.

Les résultats nous ont permis de montrer que (i) le polymorphisme epsilon a le même effet sur le bilan lipidique quelque soit la population, mais qu'il peut être sujet aux variations environnementales, notamment l'alimentation, (ii) le rs439401 constitue un facteur de risque génétique à la survenue de l'obésité et de l'hypertension artérielle, alors que le rs4420638 présente un effet protecteur sur l'obésité dans la population oranaise, (iii) l'allèle G du rs4420638 peut contrebalancer l'effet délétère de l'allèle $\epsilon 4$ sur les concentrations de LDL-cholestérol, (iiii) La population algérienne est différente des populations caucasiennes sur le plan génétique, en matière de déséquilibre de liaison des polymorphismes de l'APOE.

Mots clés : APOE, Polymorphisme génétique, Haplotype, Population Algérienne, Risque cardiovasculaire, Syndrome métabolique, Profil lipidique, Etude ISOR.