

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université M'hamed Bougara de Boumerdès



Faculté des Sciences

Département de Biologie

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : biologie cellulaire et moléculaire

Spécialité : Génétique

THEME

**IMPACT DU POLYMORPHISME P268S SUR LA
NEUROINFLAMMATION LIEE A LA MALADIE D'ALZHEIMER**

Encadré par :

Pr MESBAH AMROUN H

Mlle AIT ABDESSELAM K

Présenté par :

HAMOUMI Zina

TAMOURT Massissilia

Soutenu le Samedi 02/06/2016 devant le jury composé de :

Président : Dr MESSAOUDENE D.

MCB (UMBB)

Examineur : ZEBBOUDJ A.

MAB (UMBB)

Promotrice : Pr MESBAH AMROUN H.

Professeur (FSB/USTHB)

Co-promotrice : Mlle AIT ABDESSELAM K.

Doctorante (FSB/USTHB)

Promotion 2015/2016

Remerciements

Notre premier remerciement va à ALLAH soubhanou qui nous guide et nous ouvre les portes de la connaissance.

Nous tenons, en premier lieu, à exprimer nos sincères et profonds remerciements à *Mme le Professeur TOUIL-BOUKOFFA. C.*, directrice du laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire (LBCM) et de l'équipe : Cytokines NO Synthase ; Immunité et pathogénie à la faculté des sciences biologiques (FSB, USTHB), de nous avoir accueilli dans de son laboratoire, pour sa disponibilité et sa grande gentillesse. Nous lui présentant notre gratitude de nous avoir accompagné durant nos trois années de spécialité.

Nos remerciements les plus sincères, vont vers *Mme MESBAH-AMROUN. H.*, professeur à l'USTHB, pour l'honneur qui nous a été fait de l'avoir en tant que promotrice de notre travail. Ces quelques lignes ne suffisent certainement pas à témoigner nos vifs et sincères remerciements à notre promotrice à laquelle on a un profond respect, pour sa modestie, sa patience, ses précieux conseils et pour les facilités qu'elle nous a accordées.

Notre gratitude la plus sincère va à notre Co-promotrice *Mlle AIT ABDESSELAM. K.*, qui grâce à elle, nous avons eu le grand privilège de bénéficier durant ces quelques mois de formation de ses judicieux conseils, de sa disponibilité, sa sympathie, et de sa simplicité exemplaire. Sa grande connaissance dans le domaine, ainsi que son expérience, ont joué un rôle important dans la conception de ce travail.

Nos remerciements les plus chaleureux vont au Docteur *MESSAOUDENE. D.* qui a consenti à présider notre travail, avec la spontanéité et la gentillesse qui le caractérisent.

Nous remercions infiniment Mr le Docteur *ZEBBOUDJ. A.* d'avoir fait l'honneur d'examiner notre modeste travail.

Nous remercions tous ceux qui ont contribué à notre formation, nos enseignants de l'UMBB, qu'ils trouvent ici le témoignage de notre gratitude.

En fin, nous remercions tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce travail.

Dédicace :

Avec tout respect et Amour

Je dédie ce modeste travail à:

Yemma, la source de la tendresse.

Vava, qui m'a appris que la patience est le Secret du succès.

**« Vava, Yemma à vous deux, Les personnes les plus chers à mes yeux, Que Dieu vous garde tout près
de nous»**

Mes frères : Saker, Mokrane, Dai et Malek

Mes sœurs : Djamila et Khoukha

Mes belles sœurs : Djamila et Zahira

Mes nièces: Delina , Kenza ,Melissa,Maria et Lina

Mes neveux: Rafik, Chachenak, Dilem Hicham ,Abdou et Youyou

Ma tante « Titi», Mes cousins et cousines

Mon binôme « Sissi »

Toutes mes chères copines

Tous mes camarades

Tous mes enseignants.

M^{lle} AIT ABDESSELAM. K : je vous adresse toute ma gratitude, pour votre patience, votre disponibilité,
et surtout pour vos judicieux conseils.

Lina

Dédicace:

Avec tout respect et Amour

Je dédie ce modeste travail à :

A Mes très chers parents :

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut vos efforts, fournis jour et nuit, pour mon éducation et mon bien être.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux, tant formulés, et le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorde : santé, longue vie et bonheur et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

Papa, Maman je vous aime !!! Sachez que je vous suis très reconnaissante

A Mes chers et adorables frères et sœur

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

A M_r et M_{me} ADDAR

Veillez accepter l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien, encouragements et affection. J'espère que vous trouverez dans la dédicace de ce travail le témoignage de mes sentiments sincères et mes vœux de santé et de bonheur

A tous les membres de ma famille, grands et petits.

A mon cher binôme ZINA

Pour les moments inoubliables passés ensemble durant nos années d'études à Boumerdes.

A mes chers amis(es):

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

A M^{lle} AIT ABDESSELAM. K

Je vous adresse toute ma gratitude pour votre disponibilité « malgré vos obligations professionnelles ». Vos conseils pertinents et précieux nous ont beaucoup aidé à améliorer la qualité de ce travail. , vos encouragements inlassables, votre amabilité, et votre gentillesse méritent toute admiration.

A tous mes camarades de la promo Génétique de l'UMBB

A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

Massissilia

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale.....1

Chapitre I : Rappels bibliographiques

I.	La maladie d'Alzheimer	3
1.	Introduction.....	3
2.	Causes et facteurs de risques.....	3
2.1.	Prédisposition génétique à la MA.....	4
3.1.1	Gènes impliqués dans la forme familiales de la MA.....	4
3.1.2	Gènes impliqués dans la forme sporadique de la MA.....	7
2.2.	Facteurs environnementaux.....	10
3.	Diagnostic de la MA.....	10
4.	Traitement de la MA.....	11
5.	La physiopathologie de la MA.....	12
5.1	Les plaques séniles.....	12
5.2	Les enchevêtrement neurofibrillaires.....	13
5.3.	Les atteintes des systèmes des neurotransmetteurs.....	14
5.4.	Le stress oxydatif.....	14
5.5.	La neuroinflammation.....	14
5.5.1.	Les cellules impliquées dans la neuroinflammation.....	15
5.5.2.	Les médiateurs moléculaires de la neuroinflammation.....	16
II.	NOD2/CARD15	18
1.	Définition.....	18
2.	Les cellules exprimant le NOD2	18
3.	La structure du récepteur NOD2.....	19

4. Les voies de signalisations du NOD2.....	19
5. NOD2/CARD15 en pathologies humaines.....	20
6. Le polymorphisme P268S.....	21

Chapitre II : Matériels et méthodes

I. Matériels	22
1. Matériel biologique.....	22
II. Méthodes	23
1. Extraction de l'ADN génomique aux solvants organiques.....	23
2. Contrôle de la qualité de l'ADN génomiques par électrophorèse sur gel d'agarose ...	24
3. Amplification du gène d'intérêt par PCR.....	25
4. PCR- RFLP.....	26
5. Analyse des produits de digestion enzymatique par électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 12%.....	26
6. Dosage de NO par la méthode de Griess modifiée.....	27
7. Analyse statistique.....	28

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Résultats	30
1. Analyse des données cliniques des patients MA.....	30
1.1.Répartition des patients selon l'âge et l'origine de la MA.....	30
1.2.Répartition des patients selon le sexe.....	30
1.3.Répartition des patients selon les maladies associées.....	31
2. Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose de l'ADN génomique.....	31
3. Résultats de l'électrophorèse sur gel d'agarose des produits PCR.....	32
4. Résultats de l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide des produits de digestion ...	32
5. Analyse des fréquences génotypiques et alléliques.....	33
5.1.Analyse des fréquences génotypiques.....	33
5.2.Analyse des fréquences alléliques.....	34
6. Analyse des concentrations de NO.....	35
II. Discussion	36

Chapitre IV : Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives.....	42
Références bibliographiques	43

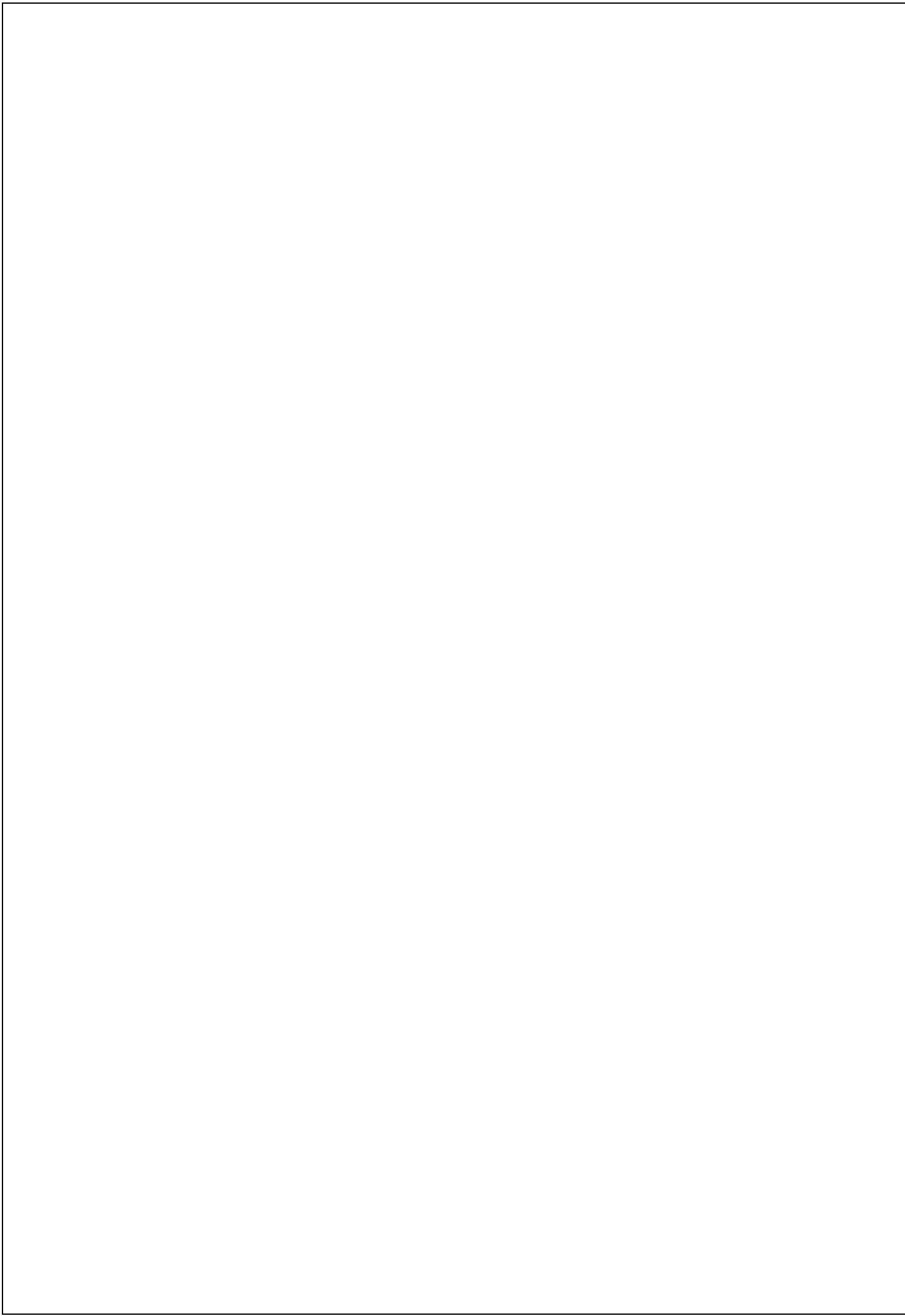
LISTE DES FIGURES

Figure 01: Structure de la protéine APP	5
Figure 02 : Les plaques séniles avec coloration classique et une méthode d'immunohistochimie	12
Figure 03 : les deux voies métaboliques principales de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP).....	13
Figure 04 : les dégénérescences neurofibrillaires avec coloration classique ; et une méthode d'immunohistochimie.....	14
Figure 05 : Schéma illustratif du double rôle de la neuroinflammation dans la MA.....	15
Figure 06 : Schéma représentatif du gène NOD2/CARD15.....	18
Figure 07: Schéma représentatif de la structure de NOD2.....	19
Figure 08 : Localisation du polymorphisme P268 au niveau du gène CARD15 et la protéine NOD2.....	21
Figure 09: Diagramme représentatif de pourcentage de sexe féminin et masculin des patients atteints de la MA.....	30
Figure 10: Diagramme représentatif de pourcentages de maladies associées à la MA : l'hypertension artérielle (HTA), diabète de type 2 (DT) et autres.....	31

Figure 11: profils de migration des ADN génomiques extraits au phénol-chloroforme chez les sujets étudiés.....	31
Figure 12: résultats d'électrophorèse sur gel d'agarose à 1% des produits PCRdes sujets étudiés.....	32
Figure 13 : résultats d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 12% des produits de digestion par l'enzyme BamHI.....	32
Figure 14: Histogramme représentatif des fréquences génotypiques CC, CT dans des cohortes de patients de la MA et de témoins.....	33
Figure 15: Histogramme représentatif des fréquences alléliques C et T dans des cohortes de patients atteints de la MA et de témoins.....	35
Figure 16 : histogramme représentatif des concentrations du NO dans une cohorte de patients atteints de MA et des témoins.....	35

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : répartition des sujets intégrés à l'étude.....	22
Tableau II : Conditions réactionnelles de la PCR pour le polymorphisme du gène NOD2/CARD15.....	25
Tableau III : Répartition des patients intégrés à l'étude en fonction de l'origine de la MA...	30
Tableau IV: résultats de la comparaison des fréquences génotypiques entre les cohortes en utilisant le test de Khi-2.....	34
Tableau V: Résultats de comparaison des fréquences alléliques entre cohortes en utilisant le test de Khi-2.....	35
Tableau VI: fréquences des génotypes CT et TT du variant P268S dans différentes populations.....	40
Tableau VII: fréquences du variant P268S dans différentes populations.....	41



Abréviations

1007fs : 1007 frame-shift

802 C>T : 802 cytosine > thymine

A β : Béta amyloïde

A

APP : Protéine précurseur de l'amyloïde

APOE : Apolipoprotéine E

AA : Acides aminés

B

BHE : Barrière hémato encéphalique

BET : Bromure d'éthidium

C

C : Cytosine

CARD: Caspase recruitment domain

CLRs: C-type lectin receptors

COX-2 : Cyclo- oxygénase 2

D

DAMPs: Danger-associated molecular patterns

DNF : Dégénérescence neurofibrillaires

DT2 : Diabète de type2

G

G908R : Glycine 908 Arginine

E

eNOS : NOS endothéliale

EDTA: Ethylène Diamine Tétra-Acétique

H

HD: Helix domaines

HTA : Hypertension artérielle

I

IL-1 β : Interleukine 1 beta

IL-6 : Interleukine 6

iNOS : NOS inductible

IRM : Imagerie à résonance magnétique

L

LCR : Liquide céphalo-rachidien

LLR : Leucin rich repeat

LPS: Lipolysaccharides

M

MA : Maladie d'Alzheimer

MC : Maladie de Crohn

MMSE : Mini Mental State Examination

MP: Maladie de Parkinson

N

NBD: Nucleotide-binding-domain

NLRs: NOD-like receptors

nNOS : NOS neuronale

N O: monoxyde d'azote

NOD: Nucleotide-binding oligomerization domain

NOD2: Nucleotide-binding
oligomerization domain 2

P

P268S: Proline 268 Serine

PAMPs: Pathogen-associated molecular
patterns

PCR : Polymérase Chain Reaction

PHF : Pairs helical filaments

PK : Protéinase K

PRR : Pattern Recognition Receptors

PS : Plaques séniles

PSA: Persulfate d'ammonium

PSEN1 : Préséniline 1

PSEN2 : Préséniline 2

O

OR: Odds ratio

R

RFLP: Restriction Fragment Length
Polymorphism

RLRS: Retinoic acid-inducible gene-1-like
receptors

S

SDS : Sodium dodecyl sulfate

SNC: Système nerveux central

SNP: Single nucleotide polymorphism

T

Tau: Tubuline associated unit

TEMED: Tetramethylethylenediamine

TGF- β : Transforming growth factor beta

TLRs: Toll-like receptors

TNF α : Tumor necrosis factor- α

U

UV: Ultra-violets

W

WH: Winged helix

INTRODUCTION

Introduction :

La maladie d'Alzheimer (MA), la cause la plus fréquente de démence chez les personnes âgées, est une maladie dégénérative qui engendre un déclin progressif et irréversible des facultés cognitives et de la mémoire [Fischer et al., 2008].

En raison du vieillissement de la population et de l'allongement de l'espérance de vie, la MA est devenue un problème majeur de santé publique. Son coût global pour la société, déjà très élevé, ne devrait cesser de s'alourdir car sa prévalence croît d'une manière exponentielle avec l'âge [Brookmeyer et al., 2007].

Bien que la forme sporadique de la MA soit la plus répandue, avec un âge d'apparition tardif (65ans), il existe une forme familiale rare, caractérisée par un âge d'apparition précoce et une évolution rapide [Campion et al., 1999].

Etant une maladie multifactorielle très hétérogène, la physiopathologie de la MA est considérée comme étant très complexe, reliant des caractéristiques biochimiques et immunologiques. Cependant son élément déclencheur demeure inconnu à ce jour. Plusieurs hypothèses ont été émises, dans le but d'expliquer l'origine de la MA, parmi celles-ci : l'hypothèse amyloïdogénique et l'hypothèse inflammatoire. Cette dernière repose sur le fait que la neuroinflammation soit l'élément déclencheur des différents processus caractéristiques de la MA [Meraz-Rios et al., 2013 ; Cameron & Landerth., 2010].

Dans le but de soutenir cette hypothèse, de nombreuses études ont exploré les polymorphismes des gènes des récepteurs de l'immunité innée, essentiellement les récepteurs Toll (TLR), et leur impact sur le déclenchement et l'évolution de la maladie [Tahara et al., 2006 ; Cameron & Landerth., 2010].

Dans notre étude nous nous sommes intéressés au récepteur NOD2, un récepteur cytosolique, reconnaissant des motifs microbiens intracellulaires et des signaux de danger endogènes [Inohara et al., 2005]. Le gène NOD2/CARD15 présente des polymorphismes génétiques de type SNP (Single Nucleotide Polymorphism) associés à plusieurs maladies inflammatoires dont la maladie de Crohn [Long et al., 2014] et le syndrome de Blau [Chamaillard et al., 2003].

Récemment, le SNP c.802.C/T (P268S) du gène NOD2/CARD15 a été identifié comme étant associé quant à lui à des maladies neurologiques telles que la maladie de Parkinson [Ma et al., 2013] , et les troubles bipolaires [Oliveira et al., 2014].

Au vu de ces données, nous avons exploré le polymorphisme P268S du gène NOD2/CARD15, dans une cohorte de patients Algériens atteints de la MA, afin de déterminer sa fréquence allélique et d'étudier son impact sur la neuroinflammation liée à la MA.

Pour cela notre démarche expérimentale a été la suivante :

- Constitution d'un échantillonnage de 30 sujets (15 patients et 15 témoins).
- Prélèvement de sang total après obtention de leur consentement libre et éclairé.
- Extraction de l'ADN génomique en vue de constituer une banque d'ADN.
- Analyse du polymorphisme P268S du gène NOD2/CARD15 par PCR-RFLP.
- Détermination des fréquences alléliques et génotypiques.
- Un dosage du NO par la méthode de Griess modifiée.
- Analyse statistiques des résultats obtenus.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. La maladie d'Alzheimer :

1. Introduction :

La maladie d'Alzheimer (MA), la cause la plus fréquente de démence chez les personnes âgées, est une maladie neurodégénérative caractérisée par la perte progressive et irréversible de la mémoire et des fonctions cognitives [Delacourte et al., 2007 ; Fischer., 2008]. Elle fut initialement décrite par le psychiatre Allemand Alois Alzheimer en 1906 [NC Berchtold et CW Cotman., 1998].

Le nombre de personnes atteintes de la MA, en 2006, était de 26,6 millions. Ce nombre pourrait quadrupler d'ici 2050 [Brookmeyer et al., 2007]. La prévalence peut varier de 5,8% chez les personnes âgées de 65 ans, elle double tous les quatre ans pour atteindre 25% à l'âge de 80 ans [Lobo et al., 2000]. La plus forte prévalence est féminine [Kawas et al., 2000].

La MA se présente sous deux formes :

1 - Une forme familiale qui représente moins de 5% des cas [Campion et al., 1999], causée par une mutation qui survient sur l'un des trois gènes suivants: le gène de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP), le gène de la Préséniline 1 (PSEN1), le gène de la Préséniline 2 (PSEN2). Dans ces formes, la maladie ségrège selon le mode autosomique dominant [Goate et al., 1991; Levy-Lahad et al., 1995].

2 - Une forme sporadique c'est la forme la plus courante. Elle représente 95% des cas de la MA [Campion et al., 1999]. De nombreux facteurs génétiques et environnementaux y sont impliqués dont l'âge, l'alimentation, le gène de l'ApoE [Hall et al., 2006].

2. Causes et facteurs de risque de la MA :

L'étiologie de la MA est complexe et hétérogène, toutefois il est clairement établi que l'âge constitue le premier facteur de risque de survenue de la maladie, mais il n'est cependant pas l'unique paramètre à considérer. En effet, l'âge auquel les premières manifestations cliniques de la MA apparaissent sont conditionnées par la présence conjointes de facteurs génétiques et environnementaux.

2.1. Prédisposition génétique à la maladie d'Alzheimer :

la génétique est considérée comme étant le second facteur de risque, après le vieillissement, de développer la MA [Gatz et al., 2006].

Deux catégories de facteurs génétiques sont toutefois à considérer. On distingue d'une part des mutations sur les gènes impliqués dans la forme familiale de MA et d'autre part des mutations sur les gènes de prédisposition à la forme sporadique de la MA.

2.1.1. Gènes impliqués dans la forme familiale de la maladie d'Alzheimer :

Les gènes impliqués dans la genèse de la MA ont été identifiés grâce à des études d'analyse de liaison génétique et au clonage positionnel effectués au sein de familles contenant de multiples cas de MA. Des mutations majoritairement faux-sens ont été répertoriées sur le gène de la Préséniline 1 (PSEN1), le gène de la Préséniline 2 (PSEN2), et le gène de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP).

Ces mutations sont causales de la MA et suivent un mode de transmission autosomique dominant à pénétrance complète [Govaerts et al., 2007].

a- Le gène de l'APP :

Le gène de l'APP fut le premier gène identifié intervenant dans les formes autosomiques dominantes de la MA familiale. Il se situe sur le bras long du chromosome 21 et comporte 19 exons qui codent pour une protéine transmembranaire, dont la forme la plus longue comporte 770 acides aminés contenant la séquence correspondant au peptide A β (figure 05).

Les recherches se sont focalisées sur le chromosome 21 en raison de la forte prévalence de la MA chez les personnes atteintes du Syndrome de Down (SD), également appelé trisomie 21. Plus de 30 mutations responsables de l'apparition d'une forme familiale de la MA ont été répertoriées dans le gène codant pour la protéine APP (à proximité des exons 16 et 17 qui codent pour le peptide A β). Il s'agit principalement de mutations faux-sens qui interviennent pour la plupart près du site de clivage des α , β ou γ -sécrétases [Bagyinszky et al., 2014].

Les mutations à proximité du site de clivage par la α -sécrétase (Glu693Gly, Glu693del, Glu693Lys, Asp694Asn) pourraient changer le processing de l'APP, diminuer l'efficacité de l'activité α -sécrétase, favorisant ainsi la voie amyloïdogénique ainsi qu'elles pourraient augmenter la capacité d'oligomérisation du peptide A β [Nilsberth et al., 2001 ; Miravalle et al., 2000].

Les mutations situées à proximité du site de clivage par la β -sécrétase induisent plutôt une augmentation de la production totale du peptide A β (figure 05) [Citron et al., 1992]. Les mutations à proximité du site de clivage de la γ -sécrétase, entre les résidus 714 à 717, conduisent à une augmentation du rapport A β 42/A β 40 soit en favorisant la production du peptide A β 42, soit en diminuant celle du peptide A β 40 [De Jonghe et al., 2001]. L'augmentation de ce rapport pourrait induire le processus de fibrillogénèse et la formation des plaques caractéristiques de la MA [Mukherjee et al., 2001].

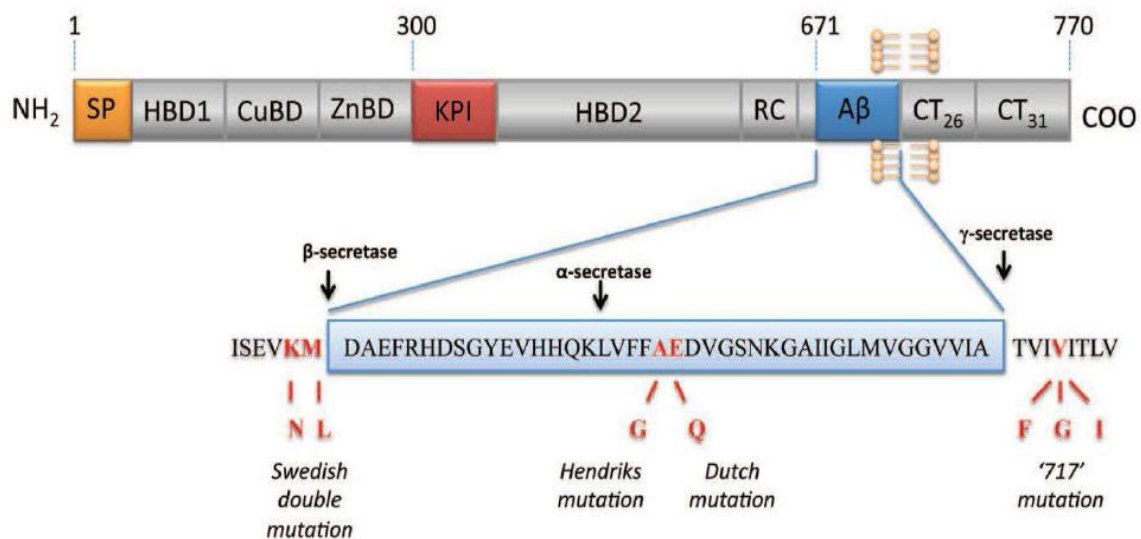


Figure 01 : Structure de la protéine APP

L'APP est une protéine transmembranaire ayant un domaine extracellulaire sphérique. Les segments extracellulaires sont illustrés en bleu. La partie transmembranaire est composée essentiellement de d'une séquence codant le peptide A β (rouge). Les AA composant le peptide A β et les régions de clivage de l'APP sont montrés en incluant la position et l'AA impliqué dans les différentes mutations de l'APP [Zhou *et al.*, 2011]

b- Gène de la Préséniline 1 :

En 1995, un nouveau gène fut identifié et associé au développement d'une forme familiale de la MA, et en raison du caractère précoce des manifestations de la maladie au sein de 120 familles, ce gène a été appelé Préséniline 1 (PSEN1) [Sherrington et al., 1995].

Le gène de la PSEN1 est composé de 12 exons dont 10 sont codants (exons 3-12). Le cadre de lecture code une protéine de 467 AA comportant 7 domaines transmembranaires [Lendon et al., 1997 ; Kovacs et al., 1996]. Cette protéine est transcrite dans le système nerveux central, essentiellement dans les neurones où elle se retrouve dans le corps cellulaire, les dendrites et les cellules gliales ; elle appartient à des complexes gamma-sécrétase, lesquels participent à la synthèse du peptide amyloïde par le clivage de l'APP [De Strooper, 2003].

A ce jour, 185 mutations de PSEN1 ont été identifiées chez plus de 400 familles, faisant de PSEN1 la cause principale des formes familiales de la MA (près de 80%). Les mutations retrouvées sur ce gène sont principalement des substitutions ou de petites insertions/délétions [Sherrington et al., 1995 ; Rogaev et al., 1995].

Il en résulte une perte d'activité plus ou moins sévère du complexe γ -sécrétase, favorisant la libération du peptide A β 42 au détriment de l'A β 40. [Chávez-Gutiérrez et al., 2012]. Les formes familiales causées par certaines mutations du gène PSEN1 sont beaucoup plus agressives que celles causées par les mutations du gène de l'APP [Keller et al., 2010 ; Lai et al., 2003].

c- Gène de la Préséniline 2 :

Le gène de la Préséniline 2 (PSEN2), situé en position 1q31-42, a été isolé à l'aide d'une sonde PSEN1. Il a été identifié grâce à sa forte homologie de séquence (67%) avec le gène de PSEN1 [Cruts et al., 1996]. La protéine PSEN2 est composée de 475 acide aminée, avec 6 à 8 domaines transmembranaires, et présente des fonctions biologiques similaires à la PSEN1.

Les mutations du PSEN2 sont rares et à pénétrance incomplète. Trois mutations faux sens ont été décrites dans le gène de PSEN2 [Slegers et al., 2004]. Elles sont présentes essentiellement dans un isolat ethnique particulier, celui des «Allemands de la Volga» et sont associées à une forme familiale précoce de la MA avec un début de la maladie qui semble être plus tardif que dans les formes associées à une mutation de PSEN1 [Bird DT et al., 2008 ; Campion et al 1999].

2.1.2. Gènes impliqués dans la forme sporadique de la maladie d'Alzheimer :

A côté des gènes qui interviennent dans les formes autosomiques dominantes de MA, un quatrième gène a été identifié. Dans ces cas, le déterminisme n'est pas mendélien et le gène est considéré comme facteur de risque de la MA.

D'autres variant de gènes impliqué dans le métabolisme lipidique, la réponse inflammatoire, et l'endocytose ont été aussi identifiés à travers des études de cas-témoins ou GWAS (Genome-wide association studies) [Lambert et al., 2013].

a. Le gène de l'Apolipoprotéine E :

Le gène de l'apolipoprotéine (Apo E) est situé sur le chromosome 19. Ce gène de 3,7 kb code un ARNm d'une longueur de 1163 Nucléotides [Marijke et al ., 1988]. Il comporte 4 exons et 3 introns. Le premier exon est non codant, le deuxième exon code pour un peptide signal (18 acides aminés), le troisième exon pour les 61 premiers acides aminés et le quatrième pour l'essentiel de la protéine mature [Marijke et al ., 1988 ;Olaisen et al., 1989].

La protéine Apo E est une glycoprotéine de 34 kDa (299 AA) qui agit comme transporteur de cholestérol [Mahlay et al., 1988]. Elle existe sous trois isoformes principales E2, E3, E4, produits des allèles $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ respectivement. La fréquence des allèles varie selon les populations, toutefois l'isoforme E3 reste la plus fréquente. Ces trois isoformes peuvent donner six génotypes: trois génotypes homozygotes (E2/E2, E3/E3, E4/E4) et trois génotypes hétérozygotes (E3/E2, E3/E4, E2/E4), le génotype le plus commun est E3/E3.

Des études immuno-histochimiques des cerveaux de patients atteints de la MA ont montré la présence d'Apo E dans les dépôts amyloïdes extracellulaires, ainsi que les dépôts vasculaires,

dans les astrocytes et dans quelques neurones contenant ou non des DNF [Marques et al., 1996].

Les études génétiques ont montrés que l'Apo E4 est l'un des principaux facteurs de risque favorisant l'apparition de la forme sporadique de la MA, ceci en favorisant les dépôts amyloïdes [Hannequin et coll., 1998].

Une personne possédant un allèle APOE4 a 2 à 3 fois plus de chances de développer la MA tandis qu'avoir les 2 copies mène à une augmentation jusqu'à 5 fois [Kuusisto et al., 1994]. De plus, chaque allèle hérité diminue l'âge moyen de l'apparition de la maladie par environ 8 ans [Corder et al., 1993; Reitz and Mayeux, 2014].

Cependant il faut souligner que la présence de l'allèle E4 n'est ni indispensable (des individus non porteurs et l'allèle E4 peuvent être atteints) ni suffisante (des individus porteur de l'allèle E4 peuvent ne pas être atteints même à un âge très avancé) pour développer la MA [Corder et al., 1993].

L'ApoE4 est un facteur de risque génétique dont le déterminisme est différent de celui des mutations dominantes précédemment évoquées. En ce qui concerne l'allèle E3, il ne semble pas avoir un impact majeur tandis que l'allèle E2 serait protecteur vis-à-vis de la MA [Corder et al., 1994 ; Liu et al., 2013].

b. Gènes identifiés par les études GWAS :

L'utilisation des dernières technologies de pointe permettant l'étude d'association pangénomique (GWAS) a mené à l'identification de différentes variations génétiques associées à la MA. Bien que le risque relatif à ces mutations soit faible, la modification de ces gènes demeure pour autant pertinente et nous offre de meilleures pistes de compréhension des mécanismes sous-jacents à la maladie [Reitz and Mayeux., 2014].

Les principaux gènes ressortant des analyses GWAS peuvent être associés à une ou plusieurs des fonctions cellulaires : la réponse immunitaire, la régulation du processing de l'APP, la régulation de la protéine Tau, la migration cellulaire, le transport/métabolisme lipidique et l'endocytose [Hollingworth et al., 2011; Naj et al., 2011].

De nombreux gènes de l'immunité, identifiés par des études GWAS, ont été impliqués dans la forme sporadique de la MA, dont :

❖ Le récepteur du complément 1:

Le récepteur du complément 1 (CR1), code pour la protéine CR1. Ce gène CR1 se situe au niveau du locus 1q32 et code pour 4 isoformes. Il est exprimé sur la majorité des cellules phagocytaires (monocytes, macrophages, polynucléaires neutrophiles et éosinophiles) [Liu et al., 2009].

Les études GWAS ont permis l'identification de différents SNPs au niveau du gène CR1 chez des patients atteints de la forme sporadique de la MA [Lambert et al., 2009].

Le polymorphisme rs6656401 est fortement associé au risque de développer la MA tandis que le SNP rs3818361 a été associé au risque de développer une MA chez les porteurs du gène ApoE4.

❖ TLR2 :

Plusieurs polymorphismes, au niveau du gène codant pour le TLR2, ont été associés au risque du développement d'une MA sporadique, dont le polymorphisme dû à une mutation de type délétion en position -174 jusqu'à -196, au niveau du gène qui code pour le TLR2 chez la population Chinoise [Yu et al., 2011]. Une étude a montré que le peptide A β se lie au TLR2 des cellules microgliales pour induire leur activation dans les cultures cellulaires murines [Jana et al., 2008]. En outre, il a été montré que le récepteur du peptide A β , le Formyl Peptide Receptor 2 (FPR2), est régulé positivement par la coopération entre le récepteur TLR2 et NOD2 dans une lignée murine de cellules microgliales [Chen et al., 2008].

❖ TLR4 :

Des polymorphismes au niveau du gène TLR4 sont associés à la MA : le polymorphisme Asp299Gly chez la population Italienne [Minoretti et al., 2006], et le polymorphisme TLR4/11367 chez la population chinoise [Wang et al., 2006], qui induisent une forte production de cytokines pro-inflammatoires.

Une autre étude in Vitro a montré que la liaison du peptide A β aux cellules microgliales, est médiée par le TLR4, ce qui augmente la capacité phagocytaire de ces cellules [Tahara et al., 2006].

2.2. Facteurs environnementaux :

1. Facteurs de risques :

La pénétrance incomplète des différents facteurs de risque génétiques mentionnés précédemment, met en évidence l'importance de l'histoire du patient et de son environnement dans les formes sporadiques de la MA.

Les études épidémiologiques et expérimentales ont permis d'identifier certains éléments favorisant l'apparition de cette pathologie. Les principaux facteurs impliqués sont : l'âge [Breggi et al., 1982], le sexe (les femmes sont plus touchées que les hommes) [Tang et al., 1996], des carences en vitamines B₁₂ et B₅ [Zandi *et al.*, 2004], le diabète de type 2 [Fei et al., 2013], les traumatismes crâniens [Mayeux et al., 1993], l'hypertension artérielle [Li et al., 2010], les métaux lourds (Aluminium) [Martyn et al., 1989], et l'hypercholestérolémie [Shobab *et al.*, 2005].

2. Facteurs protecteurs :

L'alimentation : c'est une composante étiologique importante de la MA. Le risque de développer la maladie est fonction de la qualité nutritionnelle. Une alimentation riche en sucre/ graisse est ainsi la cause de dyslipidémies et favorisent la MA.

A l'inverse, un régime de type méditerranéen (riche en fruits, légumes, céréales, huile d'olive et pauvre en viande et produits laitiers) est associé à un risque plus faible de développer la MA et à un déclin cognitif plus lent, ce qui peut être expliqué par la quantité importante des vitamines A, C et E ou encore des acides gras polyinsaturés retrouvés [Lourida et al., 2013].

3. Diagnostic de la MA :

Le diagnostic de la MA ne peut être établi avec certitude qu'après la mort en procédant à une autopsie du cerveau [Carrette et al., 2003]. Cependant, il a été démontré que l'utilisation d'une combinaison d'outils rend le diagnostic de la MA probable [Ballard et al., 2011; Mucke, 2009] et ceci en se basant sur :

3.1 Les examens cliniques :

Les examens cliniques permettent à l'aide de tests neuropsychologiques et neurologiques, d'évaluer les déficits cognitifs ainsi que l'amnésie chez les patients atteints de la MA:

- Mini Mental State Examination (MMSE) [Folstein et al., 1975]
- Le Physical Self-Maintenance Scale (PSMS) pour évaluer l'autonomie de la personne
- Le test de l'horloge (Clock Drawing Test) pour évaluer les capacités Visio-spatiales [Brodaty et al., 1997] .

L'atrophie du cerveau est mise en évidence par des techniques d'imagerie, telle que l'imagerie par résonnance magnétique (IRM) [Fortin et al, 2010]

3.2 Les examens biologiques :

Toutes les perturbations de l'état de santé, non liées directement à la maladie d'Alzheimer, peuvent favoriser la confusion mentale, la désorientation. Des tests sanguins sont recommandés dans le but de dépister toutes pathologies pouvant entraîner des troubles cognitifs : un hémogramme, un bilan thyroïdien et rénal, une glycémie, un dosage de la vitamine B12, de folates, ionogramme, et une sérologie syphilitique et VIH [Schenk et al., 2004 ; Davou et al., 1999].

Un dosage des marqueurs peut être effectué (A β 42 et protéine Tau totale (t-Tau) et phosphorylée) dans le LCR [Ewers et al., 2008 ; ANDREASEN et al., 2001].

4. Le traitement :

A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement curatif de la MA. En effet, il existe un traitement symptomatique basé sur l'utilisation des inhibiteurs de l'acétylcholine estérase (Domipézile/Aricept) : ces médicaments favorisent la transmission de l'influx nerveux dans les synapses en inhibant la dégradation de l'acétyle choline, qui est un neurotransmetteur, ou des antagonistes des récepteurs du glutamate (Mémantine) [Kavirajan et al., 2009].

5. La physiopathologie de la maladie d'Alzheimer :

La MA est une maladie multifactorielle et très hétérogène, ce qui fait que sa physiopathologie est considérée comme étant complexe. Elle présente des caractéristiques anatomopathologiques, biochimiques et immunologiques.

5.1 Les plaques séniles :

Ce sont des dépôts extracellulaires et insolubles constitués d'un peptide composé de 39 à 42 acides aminés (AA), le peptide bêta amyloïde ($A\beta$), et qui se forment le plus souvent dans le néocortex (figure 01). Ce peptide provient d'un clivage anormal d'une glycoprotéine membranaire appelée «Amyloïd Precursor Protein» (APP).

L'APP est une glycoprotéine transmembranaire très répandue dans l'organisme, jouant plusieurs rôles dans différents types cellulaires et dans le système nerveux central (SNC), en particulier. C'est une molécule d'interaction cellule-cellule [Govaerts et al., 2007].

L' $A\beta$ résulte d'un clivage protéolytique de l'APP, ce processus est catalysé par un complexe enzymatique, les sécrétases α , β et γ et suit deux voies différentes (figure 02):

- Une voie amyloïdogénique faisant intervenir la β et γ sécrétase et conduit à la production du peptide $A\beta$ [Citron et al., 1996].
- Une voie dite non amyloïdogénique faisant intervenir la α et la γ sécrétase conduisant à la formation d'un peptide différent du peptide $A\beta$ [Masters et al., 2006].

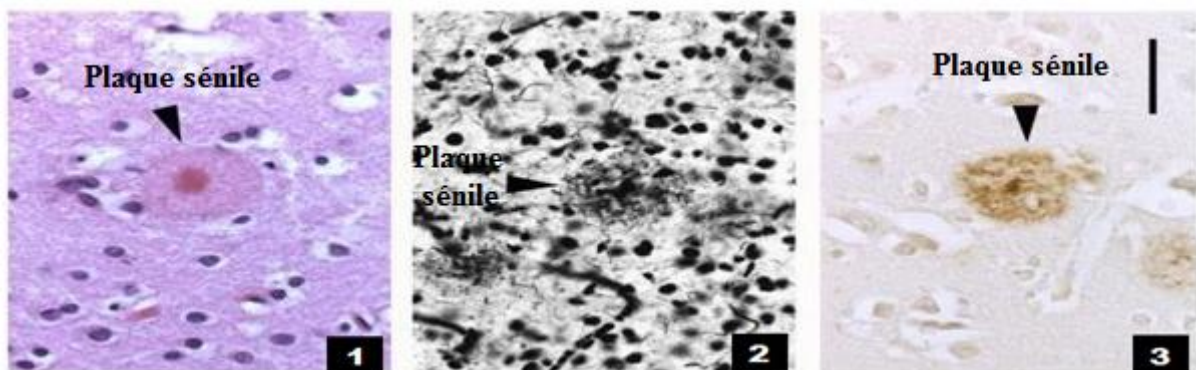


Figure 02: Les plaques séniles avec coloration classique (1 : Hématoxyline-éosine, 2 : Imprégnation argentine) et une méthode d'immunohistochimie (3 : Anti-amyloïde β avec l'anticorps 4G8) [Eniko et al., 2011].

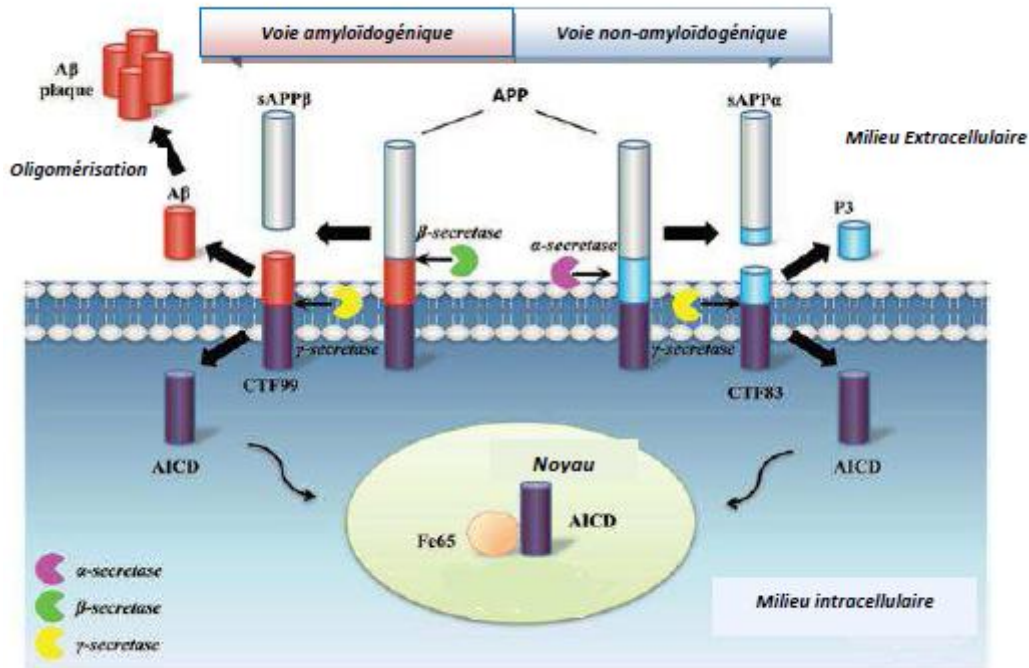


Figure 03 : les deux voies métaboliques principales de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) [Zhou et al.,2011].

5.2. Les enchevêtrements neurofibrillaires :

Les enchevêtrements neurofibrillaires correspondent à l'accumulation de la protéine Tau (Tubuline associated unit) hyperphosphorylée dans le cytosol des neurones sous forme de filaments appariés en hélice PHF (Pairs Helical Filaments) (figure 03) [Vermersch et al., 1992].

La protéine Tau s'associe aux microtubules, structures filamenteuses du cytosquelette, qui servent au transport intracellulaire des organites et à l'organisation spatiale de la cellule [Govaerts et al., 2007].

Au cours de la MA, la protéine Tau est anormalement phosphorylée ce qui provoque la dépolymérisation des microtubules. Les protéines Tau s'enroulent alors l'une autour de l'autre pour former des PHF. L'accumulation de ces PHF dans le corps neuronale perturbe la stabilité des microtubules, comprime le neurone, l'endommage et provoque éventuellement sa mort [Alonso et al., 2001].

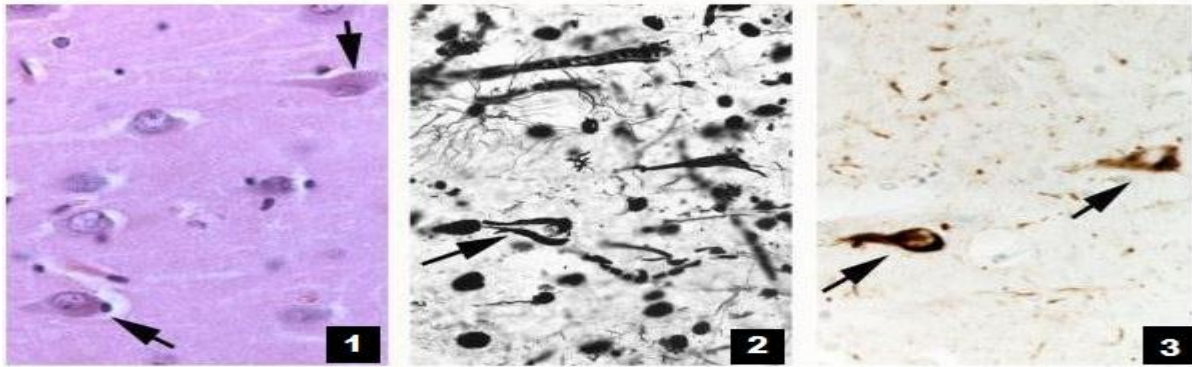


Figure 04 : les dégénérescences neurofibrillaires avec coloration classique (1 : Hématoxyline-éosine, 2 : Imprégnation argentine) ; et une méthode d'immunohistochimie (3 : Anti-Tau immunohistochimie avec l'anticorps AT-8) [Eniko et al., 2011].

5.3. Atteinte du système des neurotransmetteurs :

La MA est caractérisée par l'altération des systèmes de neurotransmetteurs principalement le système cholinergique et glutamatergique [Whitehouse et al., 1986 ; Snyder et al., 2005].

5.4. Le stress oxydatif :

Le stress oxydatif est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'une cellule ou d'un organisme [Gella & Durany, 2009]. Au cours de la MA il pourrait être dû à des dysfonctionnements mitochondriaux et au peptide A β , aussi capable de générer des radicaux libres, ce qui induit l'apoptose neuronale [Cetin, 2013].

5.5. La neuroinflammation :

Le système nerveux central (SNC) est considéré comme un site immunitaire privilégié [Brain et al., 2010], grâce à la présence de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Toutefois, le SNC possède son propre système de défense qui élimine tout agent pathogène menaçant son intégrité [Lacroix et al., 1998].

La neuroinflammation est une réponse immunitaire localisée au niveau du SNC caractérisée par l'activation des cellules gliales (microgliales et astrocytes) et une production de molécules inflammatoires [Gendelman et al., 2002].

La neuroinflammation dans la MA peut exercer à la fois un effet bénéfique à travers l'activité phagocytaire des cellules microgliales dans le but d'éliminer le peptide A β [Tansey et al., 2009], et un effet néfaste à travers la production de médiateurs inflammatoires à l'origine de la neurodégénérescence (figure 04) [Meraz-Rios et al., 2013].

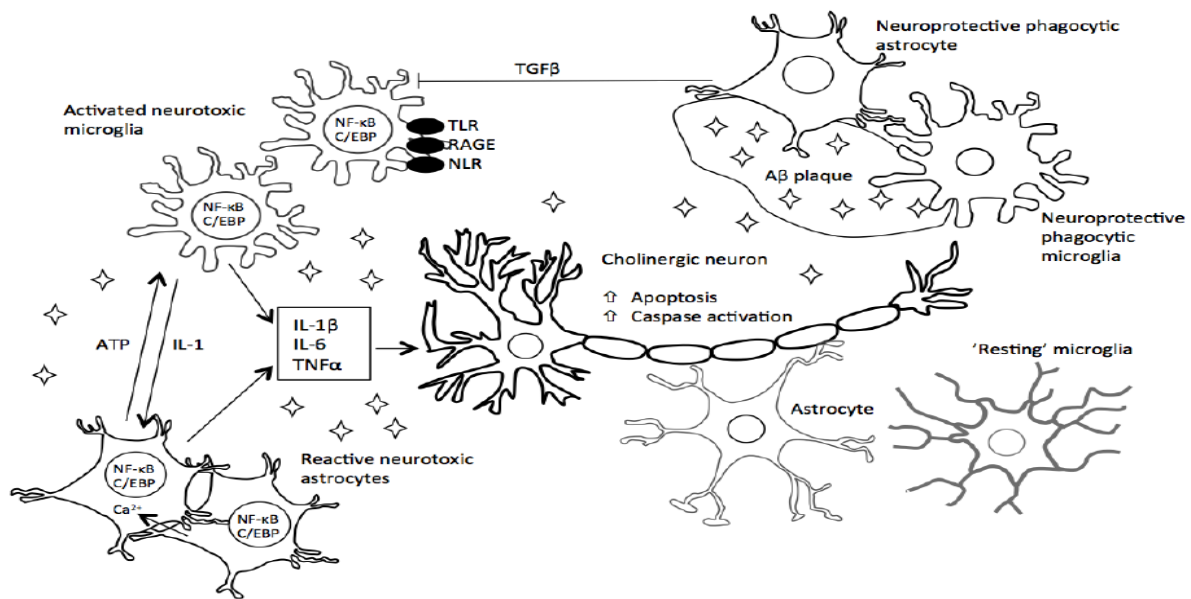


Figure 05 : Schéma illustratif du double rôle de la neuroinflammation dans la MA [Ramberg V., 2011].

5.5.1. Les cellules impliquées dans la neuroinflammation :

a- Les cellules microgliales :

Les microglies sont les macrophages résidents du SNC [Beschorner et al., 2002]. La reconnaissance des pathogènes se fait via des récepteurs spécifiques induisant la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 1 beta (IL-1 β), l'interleukine 6 (IL-6), et le tumor necrosis factor- α (TNF- α), des chimiokines, des radicaux libres, du monoxyde d'azote (NO) et le transforming growth factor beta (TGF- β) [Zhang et al., 2005 ; Elkabes et al., 1996 ; Doens et al, 2014]. L'activation des microglies contribue largement à la perte neuronale observée chez les personnes atteintes de la MA [Herms et al., 2010].

b- Astrocytes:

Les astrocytes sont des cellules gliales du SNC, décrites comme des cellules qui assurent plusieurs fonctions dont le métabolisme énergétique du système nerveux. Ils ont un rôle dans la production de neurotransmetteurs, participent à la transmission nerveuse, le maintien de la balance ionique du milieu extracellulaire et le maintien de l'intégrité du cerveau [Oberheim et al., 2012]. Dans la MA les astrocytes deviennent réactifs et adoptent un phénotype immunitaire caractérisé par la production de cytokines telles que le $\text{TNF-}\alpha$ et l' $\text{IL-1}\beta$. Ils sont aussi capables de sécréter des chimiokines et de produire du NO en surexprimant la NO synthase inductible (iNOS) et participent ainsi aux lésions cérébrales secondaires. [Dong et al., 2001].

c- Les neurones :

Les neurones assurent avec les cellules gliales l'homéostasie du cerveau ainsi que la transmission de l'influx nerveux [Chaput., 2012]. Ils sont également capables d'induire la production de médiateurs de l'inflammation conduisant à leurs mort : L' $\text{IL-1}\beta$, l' IL-6 , $\text{TNF-}\alpha$ [Natarajan & Bright, 2002 ; Aloisi et al., 1992].

5.5.2. Les médiateurs moléculaires de la neuro-inflammation :**a- Les cytokines :**

Après une infection cérébrale, les cellules immunitaires, les neurones et les autres cellules gliales produisent rapidement des cytokines. L'étude des variations de concentrations des différentes cytokines après une agression a permis de mettre en évidence deux grands groupes de cytokines sur différents modèles : l' $\text{IL-1}\beta$ et le $\text{TNF-}\alpha$ aggravent les lésions cérébrales tandis que l' IL-10 et le transforming growth factor ($\text{TGF-}\beta$) ont un potentiel Neuro-protecteur [Basu et al., 2005].

b- Les chimiokines :

Ce sont des polypeptides jouant un rôle dans la communication intracellulaire et le recrutement des cellules de l'inflammation. Leur expression favorise l'infiltration leucocytaire suite à une neuroinflammation [Chen et al., 2003].

Par ailleurs, les chimiokines sont capables de modifier la perméabilité de la BHE en altérant les protéines des jonctions serrées [Stamatovic et al., 2005].

c- Le complément :

Le système du complément joue un rôle important dans la reconnaissance et l'élimination de pathogènes. Mais son activation à des degrés excessifs peut causer des dommages tissulaires sévères.

Il pourrait être impliqué dans l'évolution des désordres neurodégénératifs comme la MA où on retrouve le complexe d'attaque membranaire (CAM) autour des PS et les DNF [Benard *et al.*, 2004]. L'activation du système du complément semble être impliquée dans l'apoptose neuronale [Van Muiswinkel *et al.*, 1996].

d- Monoxyde d'azote (NO) :

Le NO est une molécule qui participe à la régulation du tonus vasculaire, la communication neuronale et la défense immunitaire. Celle-ci est synthétisée par les NO synthases : la NOS endothéliale (eNOS), la NOS neuronale (nNOS) et la NOS inducible (iNOS) [Han et al., 2002].

Le monoxyde d'azote est produit par les cellules microgliales consécutivement à un traitement par le peptide A β [Lue *et al.*, 2001] ou par des cytokines activatrices [Meda *et al.*, 1995]. Les cellules microgliales provenant d'individus atteints de MA produisent de grandes quantités de NO après stimulation comparativement aux cellules microgliales provenant de sujets âgés non déments [Lue *et al.*, 2001]. La synthèse du NO au cours du développement de la MA pourrait également contribuer à la formation des DNFs [Saez et al., 2004].

II. NOD2/CARD15 :

1. Définition :

Nucleotide-binding-oligomerization-domain 2 (NOD2) est un récepteur intracellulaire appartenant à la famille des NOD-Like-Receptor (NLR) [Inohara et al., 2005]. La protéine NOD2 est composée de 1040 acides aminés, son poids moléculaire est de 115.1 kDa. Elle est codée par le gène NOD2/CARD15 (caspase recruitment domain 15) situé sur le locus IBD1 localisé sur le chromosome 16 en position 16q12-21. Ce gène est composé de 39475 pb et contient 12 exons et 11 introns (**Figure 6**) [Ogura et al., 2001 ; Hugot et al., 1996]. NOD2 contribue à la détection des bactéries intracellulaires et à leur destruction. Il reconnaît le muramyl-dipeptide [Liu et al., 2013].

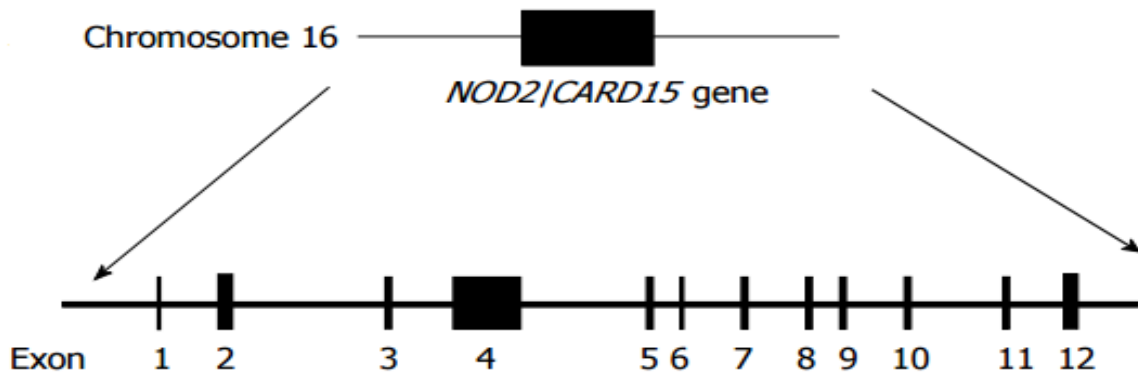


Figure 06 : Schéma représentatif du gène NOD2/CARD15 :Le gène NOD2/CARD15 est localisé au niveau du chromosome 16. Il comporte 12 exons [Yao et al., 2013].

2. Les cellules exprimant le récepteur NOD2 :

Le récepteur NOD2 est exprimé par les macrophages, les cellules de paneth [Ogura et al., 2001], les cellules dendritiques [Tada et al., 2005] , les kératinocytes [Voss et al., 2006], les cellules épithéliales intestinales [Hisamatsu et al., 2003], les cellules épithéliales pulmonaires, les cellules de l'épithélium buccal [Uehara et al., 2003] , les ostéoblastes [Marriott et al., 2005] ainsi que les cellules microgliales [Streka & Marriott., 2006] les neurones et les astrocytes [Streka et al., 2006].

3. La structure du récepteur NOD2 :

La protéine NOD2 comprend 3 domaines (**Figure3**):

- **Domaine Leucin-Rich-Repeats (LRR)** : domaine de reconnaissance LRR [Tanabe et al., 2004], situé à l'extrémité C-terminale [Borzutzky et al., 2010]
- **Domaine NOD** : domaine central responsable de l'oligomérisation du récepteur. Il est composé d'un domaine NBD (Nucleotide Binding Domain), un domaine WH (Winged Helix) et deux domaines HD (Helix domains) HD1 et HD2 [Hu et al., 2013].
- **Domaine CARD** : Domaine effecteur situé à l'extrémité N-terminale, qui permet le recrutement des protéines adaptatrices via une interaction homotypique CARD-CARD, conduisant à l'activation d'une cascade de signalisation spécifique [Inhala et al., 2005].

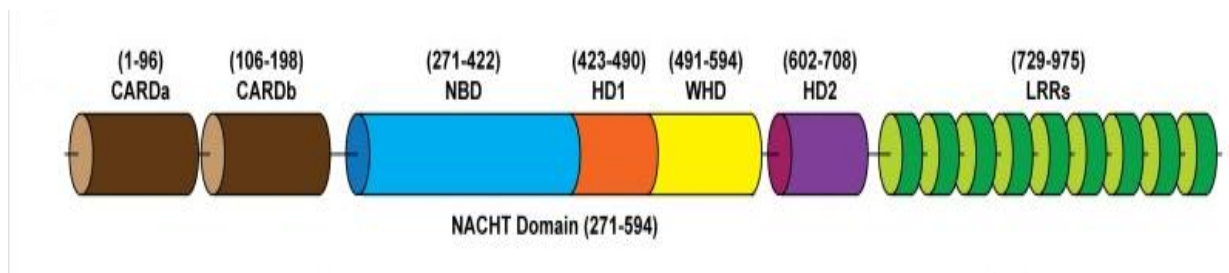


Figure 07: Schéma représentatif de la structure de NOD2 : La protéine NOD2 comporte 3 domaines : Domaine de reconnaissance des LRR (vert), domaine NOD composé d'un domaine NBD (bleu), un domaine WHD (jaune) et deux domaines HD : HD1 (orange), et HD2 (violet) [Caruso et al., 2014].

4. Voies de signalisations de NOD2 :

NOD2 reconnaît le muramyl dipeptide (MDP), un composant du peptidoglycane de la paroi des bactéries Gram positif et négatif [Inohara et al., 2005]. Il peut reconnaître aussi l'ARN simple brin viral [Sabbah et al., 2009]. Selon le type du ligand reconnu, on distingue deux voies de signalisation par rapport au recrutement ou non de la protéine adaptatrice Receptor interacting protein 2 (RIP2) :

Les voies dépendantes des RIP2 (la voie d'activation du NFκB (Nuclear Factor-kappa B) et la voie des MAPK (Mitogen activated protein kinase)) [Burns et al., 2004 ; Karin et al., 1995], et les voies indépendantes de RIP2 (la voie antivirale indépendante de RIP2 et la voie de l'autophagie)[Correa et al., 2012 ; Travassos et al., 2010]

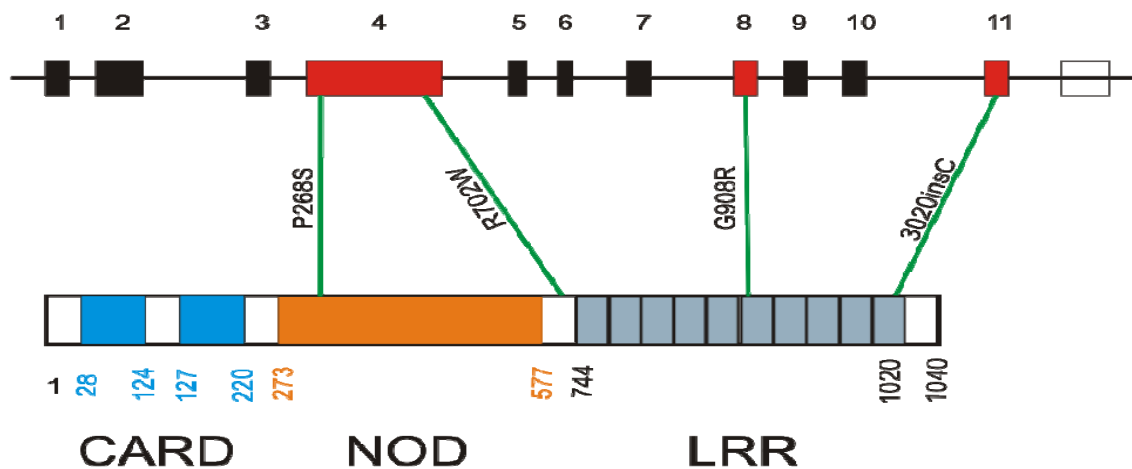
5. NOD2/CARD15 en pathologies humaine:

Vu le rôle pivot qu'exerce NOD2 dans la reconnaissance de pathogènes et l'activation d'une réponse immunitaire adéquate, de nombreuses études ont mis l'accent sur l'implication de ce récepteur dans diverses pathologies dont:

- **La maladie de Crohn** : trois variants communs du ce gène (1007fs, G908R et R702W, ont été associés à la maladie de Crohn (MC), conduisant à une perte de fonction de la protéine [Ahmad et al., 2002, Lesage et al., 2002, Chamaillard et al., 2003].
- **Le Syndrome de Blau** : trois variants de NOD2 ont été identifiés dans cette pathologie, trois mutations faux-sens R334Q, R334W, L469F conduisant à un gain de fonction de la protéine [Miceli et al., 2001 ; Chamaillard et al., 2003].
- **Maladie de parkinson** : Le variant P268S situé entre le domaine NOD et le domaine CARD du récepteur a été trouvé chez des patients chinois atteints de la maladie de Parkinson (MP). Il a été suggérée que ce polymorphisme était un facteur de risque pour la forme sporadique de la maladie [Ma et al., 2013].
- **Troubles bipolaire** : chez la population caucasienne, le variant P268S confère une protection contre les troubles bipolaires contrairement à la MP [Oliveira et al., 2014]

6. Le polymorphisme P268S :

P268S (rs2066842) est une mutation faux-sens ponctuelle de type substitution entre deux bases pyrimidiques, qui consiste en le remplacement d'une Cytosine (C) par une Thymine (T) en position 802 (c.802 C>T), au niveau de l'exon 4, tandis qu'au niveau protéique, il y a remplacement de l'AA commun Proline (P) par l'AA rare Serine (S) au niveau du codon 268. Ce polymorphisme est situé dans la région entre le domaine NBD et le domaine CARD, par conséquent il influence la flexibilité de cette région (Figure 08) [Nakagome et al., 2012].



- **Figure 08 :** Localisation du polymorphisme P268 au niveau du gène CARD15 et la protéine NOD2 [Chalmers-watson, 2008].

MATERIEL ET METHODES

Matériels et méthodes :

Ce travail a été réalisé au sein de l'équipe « Cytokines et NO-synthase » du professeur C. Touil-Boukoffa (LBCM - FSB - USTHB), en collaboration avec le service de neurologie du CHU Frantz FANON de Blida.

I. Matériel :

I.1. Matériel biologique :

- **Echantillonnage :**

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une étude cas-témoins. 30 prélèvements sanguins ont été effectués sur des sujets volontaires. Tous les participants ou leurs tuteurs ont signé un consentement libre et éclairé, selon la déclaration d'Helsinki (ATRSS), après qu'ils aient été informés des objectifs de l'étude et du devenir de leurs prélèvements. Pour les besoins de l'étude, 15 prélèvements sur des patients atteints de la MA, pris en charge au niveau du service de neurologie du CHU Frantz FANON de Blida, ainsi que 15 sujets sains indemnes de toutes pathologies et ne présentant aucun antécédent familial pour des maladies auto-immunes et/ou inflammatoires, ont été effectués.

Tableau I : répartition des sujets intégrés à l'étude.

	Catégories des sujets		
	Patients MA		Témoins
Nombre	15		15
Sexe ratio F/H	0,875		0,2
Moyenne d'âge des patients	77		56,46
Origine de la maladie	MA Sporadique	MA familiale	
	12	3	

Prélèvements sanguins :

Des prélèvements sanguins ont été effectués sur des tubes de 5ml avec anticoagulant (EDTA). Après centrifugation le plasma a été récupéré et conservé à – 20°C, et le culot a été utilisé pour l'extraction de l'ADN génomique et l'analyse moléculaire.

- **Réactifs biologiques :**

Protéinase K (PK) : La protéinase K est une enzyme serine protéase d'origine fongique *Tritirachium album*, utilisée essentiellement pour digérer les protéines associés à l'ADN et inactiver les nucléases qui pourraient dégrader l'ADN.

Taq polymérase : la Taq polymérase est une enzyme (ADN polymérase) isolée à partir d'une bactérie thermophile *Termus aquaticus*, Elle présente une activité optimale à une température de 72-74°C.

Enzyme de restriction BamHI: c'est une endonucléase de restriction isolée à partir de la souche bactérienne *Bacillus amyloliquefaciens*.

II. Méthodes :

II.1. Extraction d'ADN génomique aux solvants organiques :

Principe :

Le principe est basé sur la solubilité différentielle des acides nucléiques entre deux phases non miscibles. Le lysat cellulaire est traité en premier lieu par du phénol: un puissant agent déprotéinisant, dans lequel les acides nucléiques ne sont pas solubles. En deuxième lieu, une extraction au chloroforme est réalisée pour éliminer toute trace de phénol et pour compléter l'extraction phénolique en dénaturant les protéines et en aidant à la séparation des phases aqueuses et organiques. A la fin, les acides nucléiques sont précipités et mis en solution.

Mode opératoire :

➤ Lyse des hématies :

Le sang total est centrifugé dans le but de séparer le plasma des éléments figurés du sang. Le culot cellulaire obtenu est ensuite lavé avec une solution de lyse des globules rouges (SLR). Le surnageant est éliminé et le culot de leucocytes est récupéré pour l'extraction de l'ADN génomique.

➤ Lyse des leucocytes :

Le culot obtenu est re-suspendu dans une solution de lyse des globules blancs (SLB) en présence de SDS et de protéinase K. Les tubes sont incubés toute la nuit à 37°C.

➤ **Extraction d'ADN au phénol-chloroforme :**

Après incubation, le lysat cellulaire est récupéré et traité au phénol, puis centrifugé. Une extraction au chloroforme est réalisée afin d'éliminer les traces de phénol résiduelles. Après ajout du chloroforme, les tubes sont centrifugés.

Les acides nucléiques sont précipités en ajoutant du NaCl et de l'éthanol pur. L'ADN forme des filaments blanchâtres visibles à l'œil nu, qui sont récupérés. Après lavage avec l'éthanol 70%, l'ADN est re-suspendu dans un volume adéquat de tampon, et conservé à -20°C jusqu'à utilisation ultérieure.

II.2. Contrôle de la qualité d'ADN génomique par électrophorèse sur gel d'agarose :

Principe :

L'électrophorèse est une technique qui consiste à faire migrer des molécules chargées dans un gel soumis à un champ électrique. Dans le cas des acides nucléiques, lorsque le champ électrique traverse le gel, les groupes phosphate chargés négativement leur confèrent un rapport uniforme entre la charge et la masse. Par conséquent, la vitesse de la migration à travers le gel ainsi que la distance parcourue est inversement proportionnelle à la taille des acides nucléiques présents dans le gel. La distance de migration dépend aussi de la concentration en agarose du gel et de l'intensité du courant électrique appliqué.

Mode opératoire :

Une électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8% est réalisée dans le but de vérifier la bonne qualité de l'ADN extrait.

On prépare un gel d'agarose à 0,8% en présence de Bromure d'Ethidium (BET), un agent intercalant, qui permet de révéler l'ADN après exposition aux rayons ultra-violets (UV).

La migration se fait à un voltage de 1-5V/cm de gel durant 40min, et l'ADN est visualisé sous lumière UV. Les profils apparaissent sous forme d'une bande unique de taille majeure, témoignant d'une bonne qualité d'ADN extrait.

L'analyse moléculaire a été effectuée sur 13 patients atteints de la MA et 14 témoins.

II.3. Amplification du gène d'intérêt par PCR (polymérase Chain Reaction) :

Principe :

C'est une technique d'amplification *in vitro* d'une région spécifique d'un gène donné, en imposant des cycles thermiques (dénaturation, hybridation, élongation) à un mélange réactionnel contenant une ADN polymérase thermostable (Taq polymérase), une matrice d'ADN (échantillon à analyser), et un couple d'amorces sélectionnées pour leur spécificité vis-à-vis de la séquence d'intérêt. Pour se faire, une série de réactions permettant la réplication d'une matrice d'ADN double brin est répétée en boucle. Ainsi, au cours de la réaction PCR, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant, l'amplification est donc exponentielle.

Mode opératoire :

La PCR visant à amplifier un fragment d'intérêt du gène NOD2/CARD15 contenant la mutation étudiée, est réalisée à l'aide d'un couple d'amorces (sens et anti sens). La réaction d'amplification est réalisée à partir d'une quantité d'ADN génomique, précédemment extrait. Une fois le mélange réactionnel préparé, la PCR est réalisée en suivant un programme d'amplification spécifique (**tableau 02**)

Tableau II : Conditions réactionnelles de la PCR pour le polymorphisme du gène NOD2/CARD15.

Position	NOD2/CARD15		Type de polymorphisme
Amorces (5'3')	F : AGCCCATTTGTCTGGTTAGGT R : ACAGTGTCCGCATCGTCAT		SNP : rs2066842 c.802C>T p. P268S
Etape 01	Dénaturation initiale	T (°C) 94°C	Nombre de cycles
Etape 02	Dénaturation	94°C	35 cycles
	Hybridation	59°C	
	Elongation	72°C	
	Elongation finale	72°C	

Les produits amplifiés sont analysés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1% comme décrit précédemment.

II.4. PCR- RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisme):

Principe :

La RFLP est une technique basée sur la présence ou l'absence d'un site de restriction pour une enzyme donnée.

Le produit de PCR est ensuite digéré par l'enzyme de restriction BamHI qui coupe au niveau du site de restriction suivant : 5'...GGATCC...3'



Après digestion on obtiendra différentes longueurs et un nombre différent de fragments de restriction selon le nombre de sites présents.

Mode opératoire :

Les produits de PCR sont soumis à une digestion enzymatique pendant 1h- 4h à 37°C. La digestion enzymatique est réalisée selon les recommandations du fabricant.

II.5. Analyse des produits de digestion enzymatique par électrophorèse sur gel de polyacrylamide 10% :

Principe :

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide est une technique consistant à faire migrer des fragments d'acides nucléiques dans un gel de polyacrylamide, sous l'influence d'un champ électrique, permettant ainsi leur séparation. Le polyacrylamide est un gel finement réticulé, que l'on obtient en mélangeant de l'acrylamide qui polymérise en donnant des chaînes linéaires, et du bis-acrylamide qui forme des ponts entre les chaînes ; on obtient ainsi un réseau, dont les mailles sont de taille variable en fonction des proportions d'acrylamide et de bis-acrylamide utilisées ; le gel obtenu forme des tunnels par où passent les molécules à séparer (agit comme un tamis moléculaire). Les petites molécules se déplacent plus rapidement que les grandes.

Mode opératoire :

Le gel de polyacrylamide 10% est préparé à partir d'une solution mère d'acrylamide et de bis-acrylamide. La polymérisation se fait grâce à des agents polymérisant : Persulfates d'ammonium (PSA) et le tetramethylenediamine (TEMED), qui deviennent des anions hyperactifs en présence de lumière.

Les plaques de verre contenant le gel polymérisé sont placées dans une cuve d'électrophorèse. Le tampon de migration approprié recouvre le gel. Le produit de digestion est déposé dans chaque puits. La migration est réalisée à un voltage de 1-5V/cm de gel, pendant 1h.

Puis le gel est placé dans une solution contenant du BET et le gel est visualisé sous UV. La taille des fragments d'ADN sera estimée par rapport à un marqueur de poids moléculaire nous permettant ainsi de déduire le génotype de chaque individu.

II.6. Dosage NO par la méthode de Griess modifiée (TOUIL-BOUKOFFA et al, 1998) :**Principe :**

Le NO est une molécule instable, son dosage plasmatique se fait par l'intermédiaire du métabolite physiologiquement stable: les nitrites résiduelles (NO₂-), à partir de sérums de témoins et de patients MA récupérés précédemment.

Les teneurs en nitrites sont évaluées selon la méthode de Griess modifiée. Cette quantification des nitrites se fait par dosage colorimétrique à $\lambda = 543$ nm par le biais du réactif de Griess.

Mode opératoire :

Le dosage de nitrites s'effectue sur des sérums de témoins et de patients MA en prenant un volume adéquat de sérum auquel est ajouté le réactif (Griess B et A) et de l'eau distillée. Après incubation pendant 20min à température ambiante dans l'obscurité, et centrifugation à 4000 rpm pendant 5min. une lecture du DO à $\lambda = 543$ est effectuée.

Ce dosage a été effectué pour 10 patients atteints de la MA sans aucune maladie associée, et 5 témoins ne souffrant d'aucune maladie.

II.7. Analyse statistique :

L'analyse statistique basée sur la comparaison des fréquences génotypiques et alléliques entre les témoins et les patients MA est réalisée par le test de Khi-2 en utilisant le logiciel *GraphPad Prism 7.00*. La comparaison des taux du NO entre le groupe témoins et patients est réalisée grâce au T test (Student) en utilisant le logiciel *GraphPad Prism 7.00*.

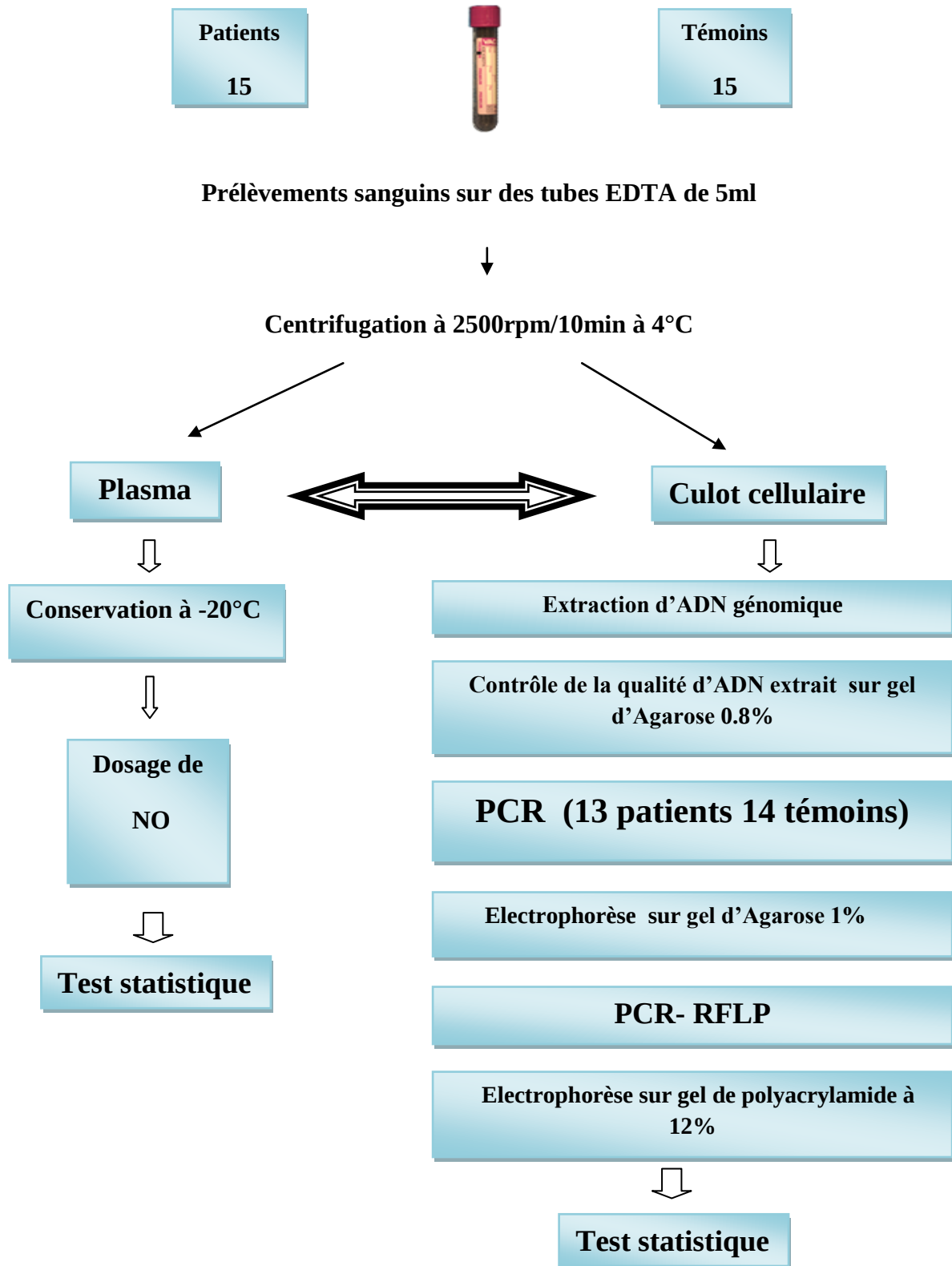


Schéma représentatif de la démarche expérimentale

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats :

I.1. Répartition des données cliniques des patients MA :

I.1.1. Répartition des patients selon l'âge et l'origine de la MA :

Tableau III : Répartition des patients intégrés à l'étude en fonction de l'origine de la MA.

Origine de la MA	Catégorie de patients MA	
	MA sporadique	MA familiale
Nombre	12 (80%)	3 (20%)
Moyenne d'âge d'apparition	76.5 ± 5.82	61 ± 4.94

- ❖ Nos résultats montrent que 80% des patients atteints de la MA dans notre cohorte, sont des cas sporadiques (figure 09). Quant au 20% restants, ce sont des cas de MA de forme familiale.

I.1.2. Répartition des patients selon le sexe :

- ❖ La répartition des patients selon le sexe montre une légère prédominance masculine de la MA car la cohorte étudiée comporte plus d'hommes (53%) que de femmes (47%) avec un sexe ratio (F/H) de 0.875 (figure 10).

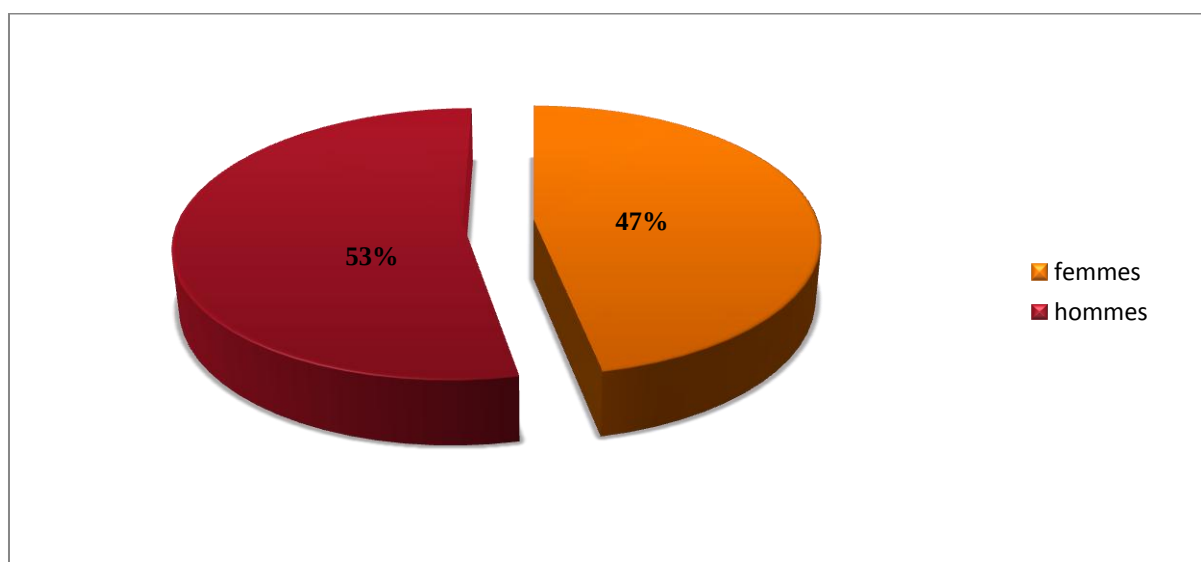


Figure 10: Diagramme représentatif de pourcentage de sexe féminin et masculin des patients atteints de la MA

I.1.3. Répartition des patients selon les maladies associées :

- ❖ L'analyse des données cliniques des 15 patients atteints de la MA, a montré que 33,4% de ses derniers souffrent d'autres maladies outre la MA (figure11).
- ❖ Dans ces 33,4% nous avons :
 - 6,7% atteints de la MA et de HTA
 - 6,7% atteints de MA et de DT2
 - 13,3% atteints de MA et de HTA et DT2
 - 6,7% atteints de MA et d'une gastrite chronique

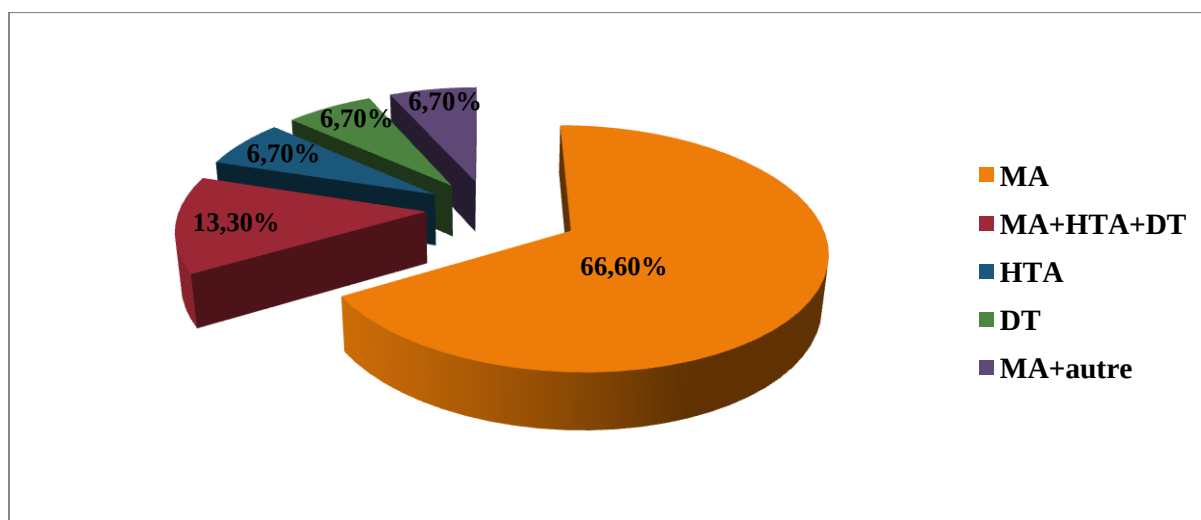


Figure 11: Diagramme représentatif de pourcentages de maladies associées à la MA : l'hypertension artérielle (HTA), diabète de type 2 (DT) et autres.

I.2. Résultats de l'extraction d'ADN génomique :

Après l'extraction de l'ADN génomique, une électrophorèse sur gel d'agarose a été réalisée afin de vérifier la qualité d'ADN extrait chez les groupes de témoins et de patients MA.

- ❖ Les résultats d'électrophorèse sur gel d'agarose (figur 12) ont montrés clairement que l'ADN extrait n'est pas dégradé, et donc de bonne qualité.

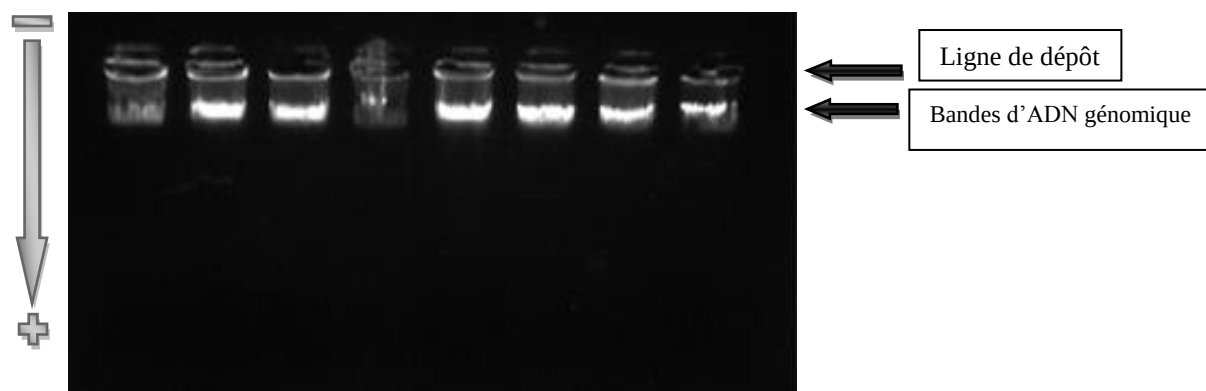


Figure 12: profils de migration des ADN génomiques extraits au phénol-chloroforme chez les sujets étudiés.

I.3. Résultats d'électrophorèse sur gel d'agarose à 1% des produits PCR :

Les produits PCR sont analysés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1% afin de vérifier si la réaction d'amplification s'est bien déroulée.

- ❖ Les profils électrophorétiques présentent une bande unique ce qui témoigne de la bonne qualité de l'ADN amplifié dans les deux groupes (figure 13).

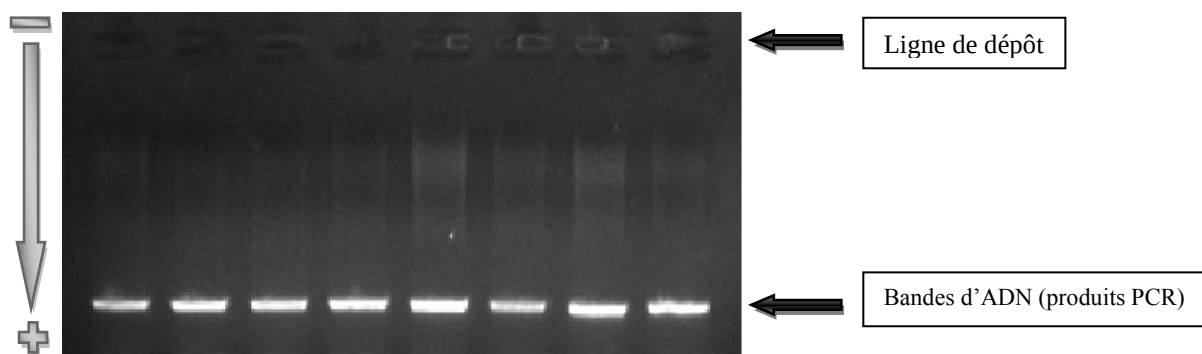


Figure 13: résultats d'électrophorèse sur gel d'agarose à 1% des produits PCRdes sujets étudiés.

I.4.Résultats d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide 12% des produits de digestion :

Une digestion enzymatique des produits PCR a été réalisée en utilisant l'enzyme BamHI qui coupe au niveau du SNP C802T. les produits de digestion sont soumis à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 12%, les résultats sont représentés dans la figure 14.

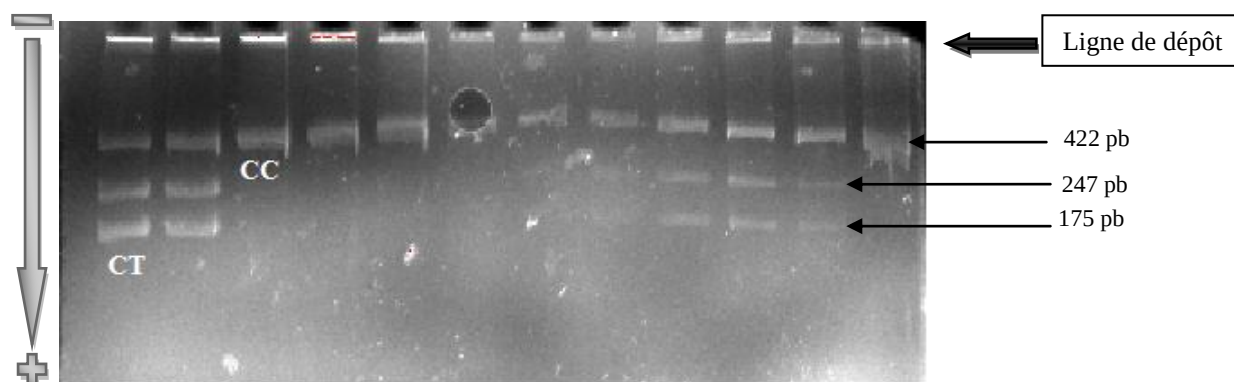


Figure 14 : résultats d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide à 12% des produits de digestion par l'enzyme BamHI.

CC : Génotype homozygote sauvage présentant un profil de restriction à une bande (422pb).

CT : Génotype hétérozygote muté présentant un profil à trois bandes (422pb+ 247pb+ 175pb)

I.5. Analyse des fréquences génotypiques et alléliques :

Le génotypage du gène CARD15/NOD2 a été effectué sur un groupe de témoins (N=15) et un groupe de patients MA (N=15), en calculant les fréquences génotypiques et alléliques. Les résultats sont représentés dans les tableaux II et III

I.5.1. Analyse des fréquences génotypiques :

Tableau IV: résultats de la comparaison des fréquences génotypiques entre les cohortes en utilisant le test de Khi-2.

Mutation P268S	Fréquences génotypiques				
	CC		CT		P
Témoins (N= 13)	7/14	(50%)	7/14	(50%)	0 /14 (0%)
Patients (N=14)	3/13	(23%)	10/13	(77%)	0/13 (0%)
					0,2365

- ❖ Le génotype homozygote sauvage (CC) est plus fréquent chez les témoins (50%) que chez les patients MA (23%) mais cette différence n'est pas statistiquement significative.
- ❖ Le génotype hétérozygote muté (CT) est plus fréquent chez les patients MA (77%) que chez les témoins (50%). Cette différence est cependant statistiquement non significative.
- ❖ Le génotype homozygote muté (TT) est absent chez les témoins et les patients MA de la cohorte étudié.

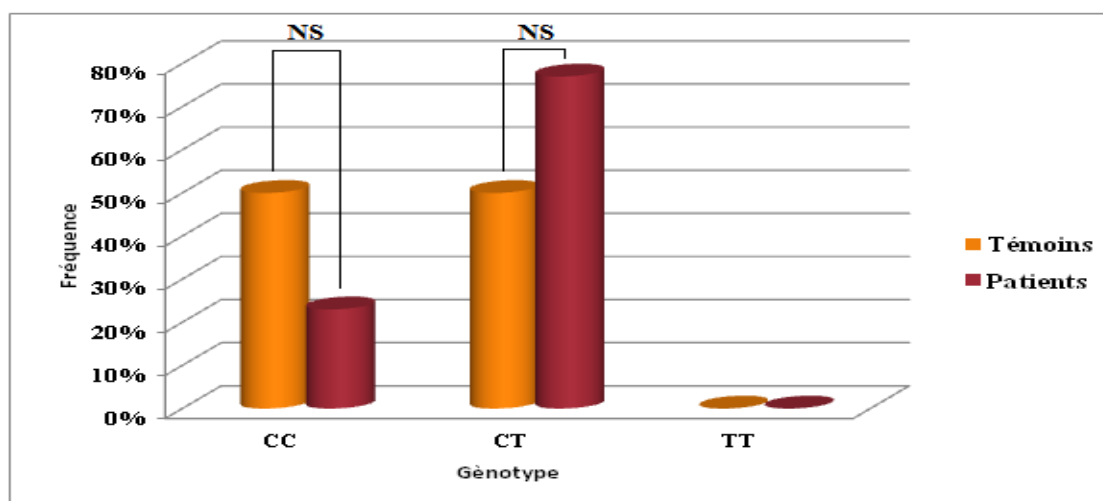


Figure 15: Histogramme représentatif des fréquences génotypiques CC, CT dans des cohortes de patients de la MA et de témoins.

I.5.2. Analyse des fréquences alléliques :

Tableau V: Résultats de comparaison des fréquences alléliques entre cohortes en utilisant le test de Khi-2.

Mutation P268S	Fréquences alléliques			
	C	T	P	OR
MA (N= 14)	16/26 (61,54%)	10/26 (38,46%)	0,3821	1,875
Témoins (N=13)	21/28 (75%)	7/28 (25%)		

- ❖ Nos résultats concernant les fréquences alléliques indiquent la présence de l'allèle muté (T) dans la population algérienne (25%).
- ❖ Nos résultats montrent également que l'allèle sauvage (C) est plus fréquent que l'allèle muté (T) chez les témoins et chez les patients.

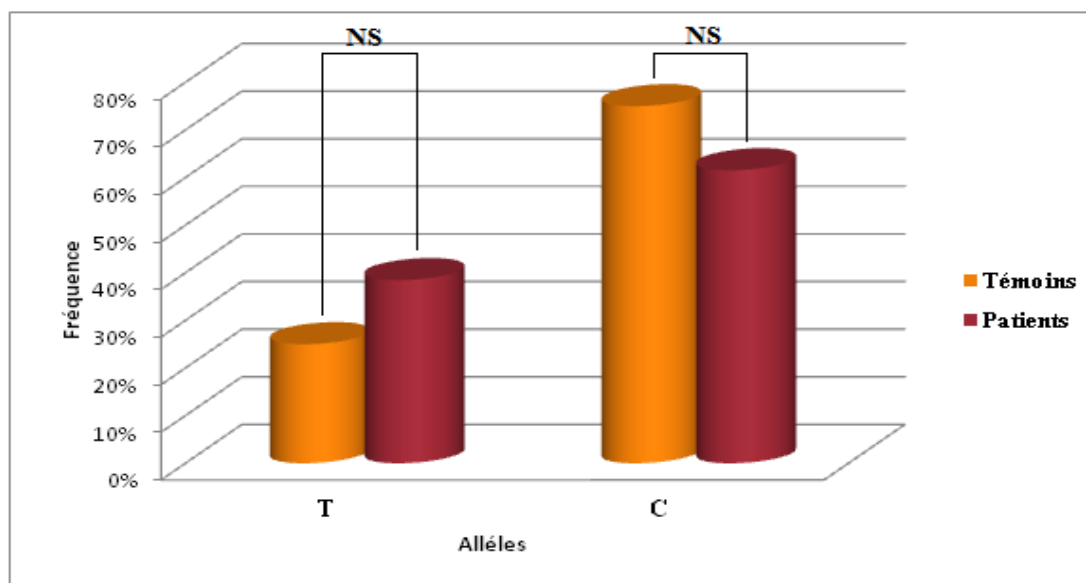


Figure 16: Histogramme représentatif des fréquences alléliques C et T dans des cohortes de patients atteints de la MA et de témoins.

I.6. Analyse des concentrations de NO:

- ❖ Nos résultats concernant les dosages de NO montrent que la concentration en NO est plus élevée chez les patients MA que chez les témoins mais cette différence n'est statistiquement pas significative.

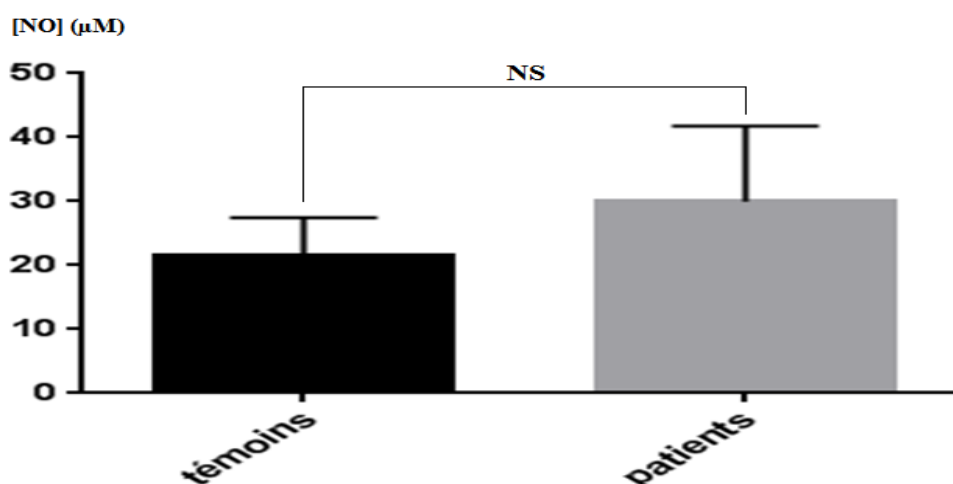


Figure 17 : Histogramme représentatif des concentrations du NO dans une cohorte de patients atteints de MA et des témoins.

II. Discussion :

La maladie d'Alzheimer (MA) est une affection neurodégénérative qui engendre un déclin progressif et irréversible de la mémoire et des fonctions cognitives. C'est la forme de démence la plus fréquente chez les personnes âgées.

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche sur la susceptibilité génétique de la population algérienne à la MA. Dans ce travail, nous avons analysé 15 échantillons de patients atteints de MA, ainsi que 15 échantillons de témoins.

L'analyse des dossiers des patients MA, montre que ces derniers ont une moyenne d'âge de 74 ans, ce qui est en accord avec la littérature qui considère l'âge comme un facteur de risque principal de la MA [Breggi et al., 1982 ; Jack et al, 2013].

80% des cas de patients atteints de la MA sont sporadiques, avec une moyenne d'âge d'apparition de $(76,5 \pm 5.82)$ ans, ce qui concorde avec les études de Campion et al., 1999 et Tanzi et al., 2013, qui indiquent que la forme sporadique est prédominante et que son apparition est tardive (> 65 ans). Par ailleurs, 20% des cas présentent une MA avec une moyenne d'âge d'apparition précoce (61 ± 4.91) ans et présentant des antécédents familiaux. Ces 20% ne peuvent pas être considérés comme une forme familiale de la maladie, parce que outre les caractéristiques cliniques, une étude moléculaire des gènes APP, PSEN1 et PSEN2 est nécessaire pour poser le diagnostic de la forme familiale.

L'analyse des données cliniques des patients révèle une légère prédominance masculine (Sexe ratio F/H= 0,875), ce qui ne concorde pas avec la littérature [Seo et al., 2009 ; Tang et al., 1996 ; Brookmeyer et al., 1998 ; Fratiglioni et al., 1997], et pourrait être dû à la taille de notre échantillon. En effet, il a été montré que le risque de développer une MA est plus élevé chez les femmes que chez les hommes. Ceci pourraient s'expliquer par le fait que les hormones sexuelles, notamment les œstrogènes diminueraient la production du peptide A β , stimuleraient l'activité cholinergique, réduiraient le stress oxydatif lié aux dommages cellulaires et protégeraient des dommages vasculaires [Skoog et al., 1999].

L'apparition de la MA serait corrélée à la diminution des taux d'œstrogènes associée à la ménopause chez la femme. En outre, une diminution de la prévalence de la maladie a pu être observée chez les femmes sous thérapie hormonale lors de la ménopause [Atwood et al., 2005]. La différence de longévité entre hommes et femmes, pourrait aussi expliquer ce phénomène [Vina & Loret, 2010]. Cependant, aucun mécanisme de susceptibilité à la MA lié au sexe n'a été identifié à ce jour.

L'analyse des dossiers médicaux des patients MA a révélé que 33,4% de ces derniers ont des maladies associées.

Nous avons remarqué une forte association entre la MA et l'hypertension artérielle (MA+HTA= 6,7%), cette dernière est considérée comme étant un facteur de risque important de la MA, ce qui est en accord avec la littérature [Li et al., 2010 ; Vogel et al, 2006 ; Williams et al., 2010]. L'HTA exerce une action délétère sur le cerveau. Au cours de la MA, la structure et les fonctions cérébro-vasculaires sont altérées [Ladecola., 2004]. De plus, des troubles de la microcirculation cérébrale pourraient aussi altérer le fonctionnement de la barrière hémato-encéphalique, affecter la clearance du peptide A β et augmenter le clivage de l'APP par la voie amyloïdogénique conduisant à une accumulation des protéines A β favorisant ainsi la formation des plaques séniles [Pasquier, 1997].

Nos résultats montrent également, l'association de la MA au diabète de type 2 (DT2) chez 6,7% des patients, confirmant ainsi que le DT2 est aussi un facteur de risque de la MA, ce qui est en accord avec la littérature [Hanon et al., 2011 ; Fei et al., 2013]. Il a été montré qu'une même enzyme clive l'insuline et le peptide A β . Lors d'un DT2, des taux élevés d'insuline sont produits dans le but de réduire le taux de glycémie. Ces fortes concentrations d'insuline favorisent sa liaison avec l'enzyme, provoquant une accumulation du peptide A β [Gasparini & Xu., 2003].

Enfin, il a été observé chez les diabétiques, une réduction de la synthèse d'Acétyl choline pouvant être à l'origine d'une altération des fonctions cognitives [Qiu., 2006].

Le gène NOD2/CARD15 code pour la protéine NOD2, qui est un récepteur intracellulaire de l'immunité innée. Plusieurs polymorphismes associés à ce gène ont été décrits et sont impliqués dans plusieurs pathologies.

Le polymorphisme P268S (rs2066842), est une mutation faux-sens ponctuelle de type substitution entre deux bases pyrimidiques, qui consiste en le remplacement d'une Cytosine (C) par une Thymine (T) en position 802 (c.802 C>T), au niveau de l'exon 4. Tandis qu'au niveau protéique, il y a remplacement de l'acide aminé commun Proline (P) par l'acide aminé rare Serine (S) au niveau du codon 268 [Nakagome et al., 2012].

Notre étude a portée sur l'analyse du polymorphisme P268S associé au gène NOD2/CARD15. L'analyse moléculaire par PCR-RFLP a permis d'analyser 27 sujets (13 patients MA et 14 sujets sains) et de déterminer les fréquences génotypiques et alléliques de ce SNP. Nous avons dans un premiers temps, répondu à la question concernant la présence ou l'absence du polymorphisme P268S (allèle T) dans la population algérienne.

Nos résultats montrent l'absence totale du génotype homozygote muté TT chez les patients MA ainsi que, chez les témoins (dans notre cohorte). Ce génotype a été décrit comme étant rare. En effet, plusieurs études ont rapporté des fréquences relativement faibles chez différentes populations, quel que soit le groupe considéré (Témoins ou patient). Nos résultats sont en accord avec les études effectués au sein de la population Chinoise où une absence totale de ce génotype a aussi été observée chez les témoins et les patients atteints de MC et de MP [Long et al., 2014 ; Ma et al., 2013].

Par ailleurs, on a observé la présence du génotype hétérozygote CT (77% chez les patients MA et 50% chez les témoins). D'après Marrani et al., 2015 la fréquence génotypique CT est de 68% chez les patients atteints d'uvéite et de 40% chez les témoins chez la population Italienne. D'autres études ont montrés une fréquence génotypique de 3,4% chez les patients atteints de MP et l'absence totale de ce génotype chez les témoins au sein de la population Chinoise [MA et al., 2013].

Tableau VI: fréquences des génotypes CT et TT du variant P268S dans différentes populations

Population	Algérie (notre cohorte)		Italie		Chine	
	Témoins	Patients	Témoins	Patients	Témoins	Patients
Fréquence du génotype TT	00%	00%	4%	8%	00%	00%
Fréquence du génotype CT	50%	77%	40%	68%	00%	3,4%
Référence			Marrani et al., 2015		Ma et al., 2013	

Les résultats obtenus au sein de notre cohorte confirment la présence de l'allèle T au sein de la population Algérienne, avec une fréquence allélique de 25% dans le groupe témoins. Cette fréquence est très élevée par rapport à celle trouvée dans d'autres populations : Chinoise et Indienne (0% et 9%) [Long et al., 2014 ; Ma et al., 2013 ; Pugazhendhi et al., 2012], mais elle semble être proche de celle de la population caucasienne européenne (35,8%) [Oliviera et al., 2014].

Nos résultats montrent que l'allèle muté T est présent autant chez les patients MA que chez les témoins avec des fréquences de 38,46% et 25% respectivement, attestant que contrairement à d'autres populations, le variant P268S n'est pas rare dans la population Algérienne.

Par ailleurs, l'étude statistique n'a révélé aucune différence statistiquement significative des fréquences alléliques de l'allèle T entre les deux groupes (patients et témoins).

Cependant, l'allèle sauvage C reste toujours l'allèle dominant dans les deux groupes, ce qui est en accord avec les études de Ma et al., 2013, qui ont observé des fréquences élevées de l'allèle C, 96,6% chez les patients atteints de la MP et 100% chez les témoins au sein de la population Chinoise.

Tableau VII: fréquences du variant P268S dans différentes populations

Population	Algérie (notre étude)	Chine	Europe (juif)	France	Inde	Italie
Fréquence de l'allèle muté T chez les témoins	25%	0%	17,7%	35,8%	9%	44%
Référence		Long et al., 2014 ; Ma et al., 2013	Sugimura et al., 2003	Oliviera et al., 2014	Pugazhendhi et al., 2012	Marrani et al., 2015

Vu que ce polymorphisme présente une pénétrance incomplète estimée à 58,8%, il semble être associé, à d'autres facteurs ($OR = 1,875$, $CI_{95\%} = 0,1694 - 1,796$). En effet, l'association de ce SNP a été déjà décrite dans des pathologies cognitives tels que les troubles bipolaires [Oliviera et al., 2014], et neurodégénératives telle que la MP [Ma et al., 2013].

Le monoxyde d'azote est une molécule participant à la régulation du tonus vasculaire, la communication neuronale et joue un rôle clef dans l'immunité. Le NO est synthétisé par les NO synthases : la NOS endothéliale (eNOS), la NOS neuronale (nNOS) et la NOS inductible (iNOS) [Han et al., 2002]. Il est produit par les cellules microgliales consécutivement à un traitement par le peptide A β [Lue et al., 2001] ou par des cytokines.

Notre étude s'est aussi portée sur l'analyse des teneurs en NO chez 10 patients MA sans aucune autre maladie et 5 témoins ne souffrant d'aucune maladie. Nos résultats, ont montrés une concentration en NO plus élevées chez les patients MA que chez les témoins, mais cette différence n'est statistiquement pas significative. Ceci est en accord avec l'étude de Lepara et al., 2010, effectuée sur des patients MA et des témoins au sein de la population Bosniaque.

Les taux élevés de NO observés chez les patients MA pourraient témoigner d'une surproduction de NO par les astrocytes et les microglies en conséquence d'une accumulation du peptide A β dans le cerveau, et pourraient être neurotoxique [Lepara et al., 2010 ; Calabrese et al., 2000]. D'autres études ont montrés qu'une agrégation des astrocytes réactifs à proximité des plaques amyloïdes et la présence de cytokines pourraient affecter directement la production de NO ou agir avec l'A β pour induire l'expression de la iNOS [Akama et al., 1998 ; Hu et al., 1998 ; Rossi et al., 1996].

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion :

La maladie d'Alzheimer est une maladie multifactorielle, hétérogène et très complexe tant sur le plan physiopathologique que sur le plan génétique.

Notre présente étude a montré le lien probable de plusieurs facteurs de risque dans la survenue de la MA à savoir l'âge, le DT2 ainsi que les facteurs vasculaires.

L'étude moléculaire du polymorphisme P268S, que nous avons réalisé, a montré que contrairement à d'autres populations, l'allèle T est fortement présent dans la population Algérienne, avec une fréquence élevée de l'ordre de 25% dans le groupe témoins.

L'analyse statistique des fréquences alléliques, l'OR= 1,875 , $CI_{95\%} = 0,1694 - 1,796$, et la pénétrance incomplète du polymorphisme estimée à 58,8%, montrent que ce polymorphisme pourrait être impliqué dans la pathogénèse de la MA, en association à d'autres facteurs, au sein de la population Algérienne.

Les taux élevés de NO, observés chez les patients atteints de la MA, pourraient expliquer son implication dans la physiopathologie de la maladie.

Toutefois, notre travail ouvre la voie à de nombreuses perspectives, une recherche plus approfondie est donc nécessaire, elle visera à augmenter l'effectif de l'étude afin de vérifier la probable implication du SNP P268S (c.802C>T) du gène NOD2/CARD15 dans la neuroinflammation liée à la MA au sein de la population Algérienne.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Aloisio F; Caré A, Borsellino G, Gallo P, Rosa S, Bossani A, Cabibbo A, Testa U, Levi G, Peschle C. **Production of hemolymphopoietic cytokine (IL-6, IL-8, colony-stimulating factors) by normal human astrocytes in response to IL-1 beta and tumor necrosis factor – alpha.** *Immunol.* 1992 Oct 1;149(7):2358-66.

ATWOOD, C. S. (2005). **Alzheimer's disease: the impact of age-related changes in reproductive hormones.** *Cell. Mol. Life Sci.* **62**, 255-256.

B

Borzutzky A, Fried A, Chou J, Bonilla FA, Kim S, Dedeoglu F, **NOD2-associated diseases: bridging innate immunity and autoinflammation.** *Clin Immunol.* 2010;134(3):251-61.

Breggi SR, Franceschi M, Bonini L, Zecca L, Smirne S. **Decreased CSF concentrations of homovanillic acid and gamma-aminobutyric acid in Alzheimer's disease. Age or disease-related modifications?** *Arch Neurol.* 1982 Nov; 39(11): 709-12.

Brodaty H, Moore CM, The Clock Drawing Test for dementia of the Alzheimer's type: **A comparison of three scoring methods in a memory disorders clinic.** *Geriatric Psychiatry.* 1997 Jun;12(6):619-27.

BROOKMEYER, R., GRAY, S. and KAWAS, C. (1998). **Projections of Alzheimer's disease in the united states and the public health impact of delaying disease onset.** *Am. J. Public Health.* **88**, 1337-1342.

Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, Arrighi HM. **Forecasting the global burden of alzheimer's disease.** *Alzheimer's Dement.* 2007;3:186-191.

C

Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, Thomas-Anterion C, Michon A, Martin C, Charbonnier F, Raux G, Camuzat A, Penet C, Mesnage V, Martinez M, Clerget-Darpoux F, Brice A, Frebourg T, **Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum.** *Am J Hum Genet.* 1999(65):664-70.

Cameron Brent and Landreth Gary E. **Inflammation, Microglia and Alzheimer's Disease.** *Neurobiol.* 2010 : 503–509.

Carrero I, Gonzalo MR, Martin B, Sanz-Anquela JM, Arévalo-Serrano J, Gonzalo-Ruiz A. **Oligomers of β -amyloid protein ($A\beta$ -42) induce the activation of cyclooxygenase-2 in astrocytes via an interaction with interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α , and a nuclear factor κ -B mechanism in the rat brain.** *Exp Neurol.* 2012 Aug;236(2):245-27.

Caruso R, Warner N, Inohara N, Nunez G. **NOD1 and NOD2: signaling host defense , and inflammatory disease** . *Immunity*. 2014 Dec 18;41(6):898-908.

Cetin Ferihan . **Role of Oxidative Stress in A β Animal Model of Alzheimer's Disease: Vicious Circle of Apoptosis, Nitric Oxide and Age** . *Neurodegenerative Diseases* .2013 : 78-98

Chamaillard M, Philpott D, Girardin SE, Zouali H, Lesage S, Chareyre F, Bul TH, Giovannini M, Zaehrer U, Penard-Lacronique V, Sansonetti PJ, Hugot JP, Thomas G, **Gene-environment interaction modulated by allelic heterogeneity in inflammatory diseases**. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003 Mar 18;100(6):3455-60.

Chen K, Iribarren P, Hu J, Chen J, Gong W, Cho EH, Lockett S, Dunlop NM, Wang JM. **Activation of Toll-Like receptor 2 on microglia promotes cell uptake of Alzheimer disease-associated amyloid β peptide**. *Biol Chem*. 2006;281(6):3651-59.

Chen K, Zhang L, Haung J, Gong W, Dunlop NM, et al. **Cooperation between NOD2 and Toll-Like receptor 2 ligands in the up-regulation of mouse Mfrp2, a G-protein-coupled Abeta42 peptide receptor, in microglial cells**. *J Leukoc Biol*. 2008;83:1467-1475.

Citron, M., Oltersdorf, T., Haass, C., McConlogue, L., Hung, A. Y., Seubert, P., Vigo-Pelfrey, C., Lieberburg, I. and Selkoe, D. J. (1992). **Mutation of the β -amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases β -protein production**. *Nature*. 360, 672-374.

Cruts M, Hendriks L, Van Broeckhoven C. **The presenilin genes: a new gene family involved in Alzheimer disease pathology**. *Hum Mol Genet*. 1996;5 Spec No:1449-1455.

D

Delacourte A, **The natural and molecular history of alzheimer's disease**. *J Alzheimer's dis*. 2006;9(3 suppl):187-94.

E

Eniko K, Patrick R, Hof, Constantin Bouras. **The Geneva brain collection**. *Ann N Y Acad Sci*. 2011 May; 1225 Suppl 1: E131-E146.

Ewers M, Zhong Z, Burger K, Wallin A, Blennow K, Telp SJ, et al. **Increased CSF-BACE 1 activity is associated with ApoE-epsilon 4 genotype in subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease**. *Brain*. 2008;131(Pt 5):1252-8.

F

Fischer P, Zehetmayer S, Jungwirth S, Weissgram S, Krampla W, Hinterberger M, Torma S, Rainer M, Huber K, Hoenigschnabl S, Gelpi E, Bauer K, Leitha T, Bauer P, Tragl KH, **Risk factors for Alzheimer dementia in a community-based**

birth cohort at the age of 75 years. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2008;25(6):501-7.

Fratiglioni, L., Viitanen, M., Von Strauss, E., Tontodonati, V., Herlitz, A. and Winblad, B. (1997). **Very old women at higher risk of dementia and Alzheimer's disease: incidence data from the Kungsholmen project,** Stockholm. *Neurology.* **48**, 132-138.

G

Garrido GE, Furuie SS, Buchpiguel CA, Bottino CM, Almeida OP, Cid CG, Camargo CH, Castro CC, Glabus MF, Busatto GF, **Relation between medial temporal atrophy and functional brain activity during memory processing in Alzheimer's disease: a combined MRI and SPECT study.** *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2002 Nov;73(5):508-16.

Gasparini L, Xu. **Potential roles of insulin and IGF-1 in alzheimer's disease.** *Trends Neurosci.* 2003 Aug;26(8):404-6.

Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, et al. **Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease.** *Nature.* 1991; 704-706.

Gella Alejandro and Nuria Durany . **Oxidative stress in Alzheimer disease.** *Cell Adhesion & Migration.* 2009 : 3:1, 88-93

H

Hall K, Murrell J, Ogunniyi A, Deeg M, Baiyewu O, Gao S, Gureje O, Dickens J,

Evans R, Smith-Gamble V, Unverzagt FW, Shen J, Hendrie H, « **Cholesterol, APOE genotype, and Alzheimer disease: An epidemiologic study of Nigerian Yoruba** », *Neurology*, vol. 66, n° 2, janvier 2006, p. 223-227

Hannequin D, Campion D. [**Dominant forms of Alzheimer's disease: from genotype to phenotype**]. *Rev Neurol (Paris)* 2001;157:384-392.

Hisamatsu T, Suzuki M, Reinecker HC, Nadeau WJ, McCormick BA, Podolsky DK. **CARD15/NOD2 function as an antibacterial factor in human intestinal epithelial factor cells.** *Gastroenterology.* 2003 Apr;124(4):993-1000.

Hoozemans JJ, Veerhuis R, Janssen I, Rozemuller AJ, Elkelenboom P. **interleukine-1beta induced cyclooxygenase 2 expression and prostaglandin E2 secretion by human neuroblastoma cells: implications for alzheimer's disease.** *Exp Gerontol.* 2001 Mar;36(3):559-70.

Hu Z, Yan C, Liu P, Huang Z, Ma R, Zhang C, Wang R, Zhang Y, Martinon F, Miao D, Wang J, Chang I, Chai I. **Crystal structure of NLRC4 reveals its autoinhibition mechanism.** *Science.* 2013 Jul 12;341(6142):172-5.

Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugerie L, Naom L, Dupas JL, Van Gossum A, Orholm M, Bomaiti-Pellie C, Weissenbach J, Mathen CG, I ennard-Jones JE, Cortot A, Colombel JF, Thomas G. **Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16.** Nature . 1996 Feb 29;379(6568).821-3.

I

Inohara, Chamaillard, McDonald C, Nunez G. **NOD-LRR proteins: role in host-microbial Interactions and inflammatory disease.** Annu Rev Biochem 2005;74:355-83.

Inohara, Yasunori Ogura, Ana Fontalba, Olga Gutierrez, Fernando Pons, Javier **Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2: implications for Crohn's disease.** *Biol. Chem* January 4, 2003.J. C200673200.

Jack CR, Wiste HJ, Weigand SD, Knopman DS, Vemuri P, Mielke MM, Lowe V, Senjem ML, Gunter JL, Machulda MM, Gregg BE, Pankratz VS, Rocca WA, Patersen RC. **Age, sex, and APOE ε4 Effects on memory, Brain structure, and β amyloid accrossthe Adult Life Span.** JAMA Neurol.2015 May 1; 72 (5): 5119.

K

Kavirajan H, **Memantine: a comprehensive review of safety and efficacy.** Expert Opin Drug Saf. 2009 Jan;8(1):89-109.

Kawas C, Gray S, Brookmeyer R, Fozard I, Zonderman A. **Age specific incidence rates Alzheimer's disease: the Baltimore Longitudinal Studyof Aging.** Neurology.2000;54:2072-7.

Knopman DS, Dekosky ST, Cumming JL. **Practice parameter diagnosis of dementia (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology.** Neurology. 2001;56:1143-1153.

L

Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, Romano DM, Oshima J, Pettingell WH, Yu CE, Jondro PD,Schmidt SD,Wang K. **Candidate gene for the chromosome 1famillial Alzheimer's disease locus.** Science 1995 Aug 18;269(5226):973-7.

Liao YF, Wang BJ, Cheng HT, Kuo LH, Wolfe MS. **Tumor necrosis factor-alpha, interleukine-1beta, and interferon-gamma stimulate gamma-secretase-mediated cleavage of amyloid precursor protein through a JNK-dependent MAPK pathway.** J Biol Chem. 2004 Nov 19;279(47):49523-32.

Lobo A, Launer U, Fratiglioni L. **Prevalance of dementia and major subtypes in Europe : A collaborative study of population-basedcohorts.** Neurology. 2000;54-S9.

Long WY, Chen I, Zhang Cl, Nong RM, Lin ML, Zhan LL, Lv XP. **Association between NOD2/CARD15 gene polymorphisms and Crohn's disease Zhungpatients.** World J Gastroenterol. 2014Apr 28;20(16):4737-44.

Lue LF, Rydel R, Brigham EF, Yang LB, Hampel H, Murphy GM Jr, Brachove L, Yan SD, Walker DG, Shen Y, Rogers J. **Inflammatory repertoire of Alzheimer's disease and nondemented elderly microglia in vitro.** Glia. 2001 Jul;35(1):72-9.

M

Ma Q, An X, Li Z, Zhang H, Huang W, Cai L, Hu P, Lin Q, Tzeng CM. **P268S in NOD2 associates with susceptibility to Parkinson's disease in Chinese population.** Behav Brain Funct. 2013 May 7;9:19.

Marrani. E., R. Cimaz, O M Lucherini, R. Caputo, A. Vitale, L. Cantarini, and G. Simonini. **The common NOD2/CARD15 variant P268S in patients with non-infectious uveitis: a cohort study.** Pediatr Rheumatol Online J. 2015; 13: 38.

Marriott I, Rati DM, McCall SH, Tranguch SL, **Induction of Nod1 and Nod2 intracellular pattern recognition receptors in murine osteoblasts following bacterial challenge.** Infect immune. 2005 May;73(5):2967-73.

Masters CL, Cappai R, Barnham KJ, Villemagne VL. **Molecular mechanisms for Alzheimer's disease : implications for**

neuroimaging and therapeutics. J Neurochem. 2006 Jun;97(6):1700-25.

Meda L, Baron P, Prat E, Scarpini E, Scarlato G, Cassatella MA, Rossi F, **Proinflammatory profile of cytokine production by human monocytes and murine microglia stimulated with beta-amyloide[25-35].** J Neuroimmunol.1999 Jan 1;93(1-2):45-52.

Meraz-Rios MA, I orai-Rios D, Franco-Bocanegra D, Villeda-Hernandez. J , Campos-PenaV. **Inflammatory processin Alzheimer's Disease.** Frontiers in Itergratuve Neuroscience. 2013.7(59) :1-10.

Miceli-Richard C, Lesage S, Rybojad M, Prieur AM, Manouvrie-Hanu S, Hafner R, et al. **CARD15 mutation in Blau syndrome.** Nat Genet. 2001 ;29(1) :19-20.

Minoretti P, Gazzaruso C , Vito CD, Emanuel E, Bianchi M. **Effect of the functional toll-like receptor 4 Asp299Gly polymorphism on susceptibility to late-onset Alzheimer's disease.** Neurosci Lett. 2006;391:147-149.

Miravalle, L., Tokuda, T., Chiarle, R., Giaccone, G., Bugiano, O., Tagliavini, F., Frangione, B. and Ghiso, J. (2000). **Substitutions at codon 22 of Alzheimer's A β peptide induce diverse conformational changes and apoptotic effects in human cerebral endothelial cells.** *J. Biol. Chem.* 275, 27110-27116.

Murphy MP, LeVine H 3 rd. **Alzheimer's disease and the amyloide beta peptide.** J Alzheimer Dis. 2010;19(1):311-23.

N

Natarajan S, Mano S, Kozlowski L, Bujnicki JM, Shibata H, Fukumaki Y, Kidd JR, Kidd KK, Kawamura S, Oota H, **Crohn's disease risk alleles on the NOD2 locus have been maintained by natural selection on standing variation.** *Mol Biol Evol.* 2012 Jun;29(6):1569-85.

Natarajan C, Bright JJ. **Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists inhibit experimental allergic encephalomyelitis by blocking IL-12 signaling and Th1 differentiation.** *Genes Immun.* 2002;3:59-70.

Nazem et al. *Journal of Neuroinflammation* (2015) 12:74 DOI 10.1186/s12974-015-0291-y NC Berchtold et CW Cotman. **Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s.** *Neurobiol. Aging*, vol. 19, n° 3, 1998, p. 173–189.

NILSBERTH, C., WESTLIND-DANIELSSON, A., ECKMAN, C. B., CONDRON, M. M., AXELMAN, K., FORSELL, C., STENH, C., LUTHMAN, J., TELOW, D. B., YOUNKIN, S. G., NASLUND, J. and LANNFELT, L. (2001). **The "arctic" APP mutation (E693)G causes Alzheimer's disease by enhanced A β protofibril formation.** *Nat. Neurosci.* 4, 887-893.

O

Ogura Y, Inohara N, Bnito A, Chen FF, Yamaoka S, Nunez G. **Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to**

monocytes and activates NF-KappaB. *J Biol Chem.* 2001 Feb 16;276(7):4812-8.

Ogura Y, Lala S, Xin W, Smith E, Dowds TA, Chen FF, Zimmermann E, Tretiakova M, Cho JH, Hart J, Greenson JK, Keshav S, Nunez G. **Expression of NOD2 in paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis.** *Gut.* 2003 Nov;42(11):1591-7.

Oliveira J, Hamandi N, Etain B, Bennabi M, Boukouaci W, Amokrane K. **Genetic association between a 'standing' variant of NOD2 and bipolar disorder.** *Immunobiology.* 2014 Oct;219(10):766-71.

P

Pugazhendhi S, Santhanam S, Venkataraman J, Cerveaux I, Ramakrishna BS. **NOD2 gene mutations associate weakly with ulcerative colitis but not with Crohn's disease in Indian patients with inflammatory bowel disease.** *Gene.* 2013 Jan 10;512(2):309-13.

R

Rodríguez-Pérez N, A. Aguinaga-Barrileroa, Marina B. Gorroño-Echebarría, Mercedes Pérez-Blasa and J. M. Martín-Villa. **Analysis of Crohn's disease-related CARD15 polymorphisms in Spanish patients with idiopathic uveitis.** (2008) *Disease Markers* 24 .111–117

S

Sabbah A, Chang TH, Harnack R, Frohlich V, Tominaga K, Duble PH, Xiang Y, Bosse S, **Activation of innate immune antiviral**

responses by Nod2. *Nat Immunol.* 2009 Oct;10(10):1073-80.

Saez TE, Pehar M, Barbeito L, Maccioni RB. **Astrocytic nitric oxide triggers tau hyperphosphorylation in hippocampal neurons.** *In vivo.* 2004 May-Jun;18(3):275-80.

Scudiero O, Nigro E, Monaco ML, Polito R, Capasso M, et al. (2015) **C.802C>T NOD2/CARD15 SNP is Associated to Crohn's Disease in Italian Patients.** *Genetics S7:* 005. doi:10.4172/2161-1041.S7-005

Seo, S.W., Im, K., Lee, J.-M., Kim, S.T., Ahn, H.J., Go, S.M., Kim, S.-H. and Na, D.L. (2011) **Effects of Demographic Factors on Cortical Thickness in Alzheimer's Disease.** *Neurobiology of Aging*, **32**, 200-209.

Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Chi H, Li G, Holma K, Tsuda T, Mar L, Foncin JF, Bruni AC, Montesi MP, Sorbi S, Rainero I. **Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease.** *Nature* 1995 Jun 29;375(6534):754-60.

Shiino, A., Watanabe, T., Maeda, K., Kotani, E., Akiguchi, I. and Matsuda, M. (2006) **Four Subgroups of Alzheimer's Disease Based on Patterns of Atrophy Using VBM and a Unique Pattern for Early Onset Disease.** *NeuroImage*, **33**, 17-26.

Slegers K, Roks G, Theuns J, et al. **Familial clustering and genetic risk for dementia in a**

genetically isolated Dutch population. *Brain.* 2004;127(7):1641–1649.

Snyder EM, Nong Y, Almeida CG et al. **Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta.** *Nat Neurosci* 2005: 1051-8.

Sterka D Jr, Rati DM, Mariott I, **Functional expression of NOD2, a novel pattern recognition receptor for bacterial motifs, in primary murine astrocytes.** *Glia.* 2006 Feb;53(3):322-30.

Sugimura K, Taylor KD, Lin YC, Hang T, Wang D, Tang YM, Fischel-Ghodsian N, Targan SR, Rotter JI, Yang H, **A novel NOD2/CARD15 haplotype conferring risk for Crohn disease in Ashkenazi Jews.** *Am J Hum Genet.* 2003 Mar;72(3):509-18.

Tsuang D, Larson EB, Bowen J, et al. **The utility of apolipoprotein E genotyping in the diagnosis of Alzheimer disease in a community-based case series.** *Arch Neurol* 1999;56:1489-1495.

T

Tada H, Aiba S, Shibata K, Ohteki T, Takada H. **Synergistic effect of Nod1 and Nod2 agonists with toll-like receptor agonists on human dendritic cells to generate interleukin-12 and T helper type 1 cells.** *Infect Immun.* 2005 Dec;(12):7967-76.

Tahara K, Kim HD, Jin JJ, Maxwell JA, Li L, Fukuchi K. **Role of toll-like receptor signaling in A β uptake and clearance.** *Brain* . 2006;129(11):3006-19.

Takeuchi O, Akira S. **Pattern recognition receptors and inflammation.** Cell. 2010 Mar 19;140(6):805-20.

Tanabe T, Akira S, Chamaillard M, Ogura Y, Zhu L, Qiu S, Masumoto J, Ghosh P, Moran A, Predergast MM, Tromp G, Williams CJ, Inohara N, Nunez G. **Regulatory regions and critical residues of NOD2 involved in muramyl dipeptide recognition.** EMBO J. 2004 Apr 7;23(7):1587-97.

Tang MX, Jacobs D, Stern Y, Marder K, Schofield P, Gurland B, Andrews H, Mayeux R. **Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease.** Lancet. 1996 Aug 17; 348(9025):429-32.

Tanzi RE. **A brief history of Alzheimer's disease gene discovery.** J Alzheimer Dis. 2013;33 Suppl 1:S5-13.

Touil-Boukoffa C, Bauvois B, Sancéau J, Hamrioui B, Wietzerbin J. **Production of nitric oxide (NO) in human hydatidosis: relationship between nitrite production and interferon-gamma levels.** Biochimie. 1998 Aug-Sep;80(8-9):739-44.

Travassos LH, Carneiro LAM, Ramjeet M, Huussey S, Kim Y-Gi, **Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry.** Nat Immunol. 2010;11:55-62.

U

Uehara A, Imamura T, Potempa J, Travis J, Takada H, **Gingipains from porphyromonas**

gingivalis synergistically induce the production of proinflammatory cytokines through protease-activated receptors with Toll-like receptor and NOD1/2 ligands in human monocytic cells. Cell Microbiol. 2008 May;10(5):1181-9.

V

Voss E, Wehkamp J, Wehkamp K, Stange EF, Schroder JM, Harder J. **NOD2/CARD15 mediates induction of the antimicrobial peptide human beta-defensin-2.** J Biol Chem. 2006 Jan 27;28(4):2005-11.

W

Wang LZ, Tian Y, Yu JT, Chen W, Wu ZC. **Association between late-onset Alzheimer's disease and microsatellite polymorphisms in intron II of the human toll-like receptor 2 gene.** Neurosci Lett. 2011;489: 164-167.

Whitehouse PJ, Martino AM, Antuono PG, Lowenstein PR, Coyle JT, Price DL, Kellar KJ **Nicotinic acetylcholine binding sites in Alzheimer's disease.** Brain Res. 1986: 146-151.

Y

Yao Q, **Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2: structure, function, and diseases.** Semin Arthritis Rheum. 2013 Aug;43(1);125-30.

Yu JT, Mou SM, Wang LZ, Mao CX, Tan L. **Toll-Like receptor 2 -196 to -174 del polymorphism influences the susceptibility of Han Chinese people to Alzheimer's disease .** J Neuroinflammation. 2011;8:136.

Z

Zhang F, Jiang L. **Neuroinflammation in Alzheimer's disease.** Neuropsychiatr DisTreat. 20015 Jan 30;11:243-56.

Résumé :

La maladie d'Alzheimer (MA), l'une des principales causes de démence chez les personnes âgées, est une maladie neurodégénérative caractérisée par la perte progressive et irréversible de la mémoire et des fonctions cognitives. La physiopathologie de la MA est très complexe, cependant l'élément déclencheur demeure inconnu à ce jour. Dans ce sens plusieurs hypothèses ont été émises dont l'hypothèse inflammatoire, qui s'appuie sur le fait que la neuroinflammation serait l'élément déclencheur des autres processus de la MA. Plusieurs études ont exploré les polymorphismes des récepteurs de l'immunité innée, et leur impact sur l'évolution de la MA. Le récepteur NOD2/CARD15 code pour un récepteur cytosolique, reconnaissant des motifs microbiens et des signaux de danger endogènes. Des polymorphismes génétiques de type SNP dans le gène NOD2/CARD15 ont été associés à plusieurs maladies inflammatoires. C'est le cas du SNP P268S (c.802C/T, rs2066842) qui a récemment été identifié comme étant associé aux maladies neurologiques telles que la maladie de parkinson et les troubles bipolaires. Nous avons exploré le polymorphisme P268S dans une cohorte de patients algériens atteints de la MA, afin de définir son implication dans cette pathologie. Pour cela, nous avons réalisé l'analyse du polymorphisme P268S du gène NOD2/CARD15 par PCR-RFLP ainsi que le dosage du NO plasmatique par la méthode de Griess modifiée. L'analyse des fréquences alléliques du polymorphisme P268S, a montré que l'allèle T est fortement présent dans la population Algérienne et pourrait être impliqué dans la pathogénèse de la MA, en association à d'autres facteurs. Les taux élevés de NO, observés chez les patients atteints de la MA, pourraient expliquer son implication dans la physiopathologie de la maladie.

Abstract :

Alzheimer disease (AD) is one of the principal causes of dementia in elderly; it's a neurodegenerative disease characterized by a progressive and irreversible loss of memory and cognitive functions. The physiopathology of AD is very complex, but the trigger is unknown at this time. In this direction, several hypotheses were issued as inflammatory hypothesis, which relies in the fact that neuroinflammation is the trigger of the other disease's processes. In this way, various studies have explored the receptor polymorphism of innate immunity and their impact to the disease's evolution. NOD2/CARD15 encode a cytosolic receptor, recognizing microbial motifs and endogenous danger signals. This gene presents genetic polymorphisms of type SNP related to several inflammatory diseases. Recently, SNP c.802C/T(P268c) of gene NOD2/CARD15 was identified as being associated meanwhile to neurologic diseases as Parkinson disease and the bipolar troubles. We have explored the polymorphism P268S of gene NOD2, in a cohort of Algerian patients suffering from AD, in order to define its implication in this pathology. Therefore, we conducted an analysis of polymorphism P268S of gene NOD2/CARD15 by PCR-RFLP and of NO by the method of modified Griess. The analysis of the allelic frequencies of P268S that we have realized, has shown that the allele T is strongly present in the Algerian population and can be implied by the pathogenesis of the MA, with association with other factors. High rates of NO, observed in the patients suffering of MA, can explain its implication on the physiopathology of the disease

المخلص:

مرض الزهايمر من احدى الأسباب الرئيسية للخرف عند كبار السن هومن امراض الاعصاب يتميز بالفقدان التدريجي و النهائي للذاكرة والوظائف الإدراكية. الفيزيولوجيا المرضية لزهايمر تعتبر جد معقدة في حين يضل سبب حدوثها غير معروف لحد الان. في هذا الصدد صدرت عدة فرضيات من بينها فرضية الالتهاب العصبي والتي تعتمد على حقيقة أن الالتهاب العصبي يعتبر العنصر المشغل لمختلف المظاهر المميزة للمرض. عدة دراسات استكشفت بوليمورفيزم مستقبلات المناعة الفطرية وتأثيرها على تطور المرض. المستقبل NOD2 / CARD15 مستقبل خلوي بإمكانه التعرف على محددات الذات الفيروسية و اشارات الخطر. وجدت عدة بوليمورفيزمات من نوع SNP على الجينات المشفرة للمستقبل NOD2 / CARD15 ذات صلة بامراض التهابية. هذا ينطبق على SNP/P268S الذي اكتشفت حديثا صلته بعدة امراض عصبية مثل مرض باركنسون و الاضطرابات الثنائية القطبية. لقد عملنا على استكشاف البوليمورفيزم P268S في لفييف من المجتمع الجزائري المصابة بالزهايمر أجل تحديد آثاره في هذه الحالة المرضية. لهذا قمنا بتحليل البوليمورفيزم P268S للجينة NOD2 / CARD15 وذلك بواسطة تقنية PCR-RFLP وكذلك معايرة تركيز احادي الازوت NO في بلازما الدم بتقنية قرييس المعدلة. تحليل التكرارات الاليلية للبوليمورفيزم P268S ، قد أظهرت أن الاليل T موجودا بقوة في المجتمع الجزائري. التركيزات العالية من NO المسجلة عند مرضى الزهايمر يمكن شرحها بإمكانية تورطه في. الفيزيولوجيا المرضية لمرض الزهايمر.