



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université de Larbi Tébessi –Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la
Vie

Département : Biologie Appliquée



MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie et Biologie Moléculaire

Thème :

Etude de l'oxydation protéique et de la lipide peroxydation chez les patients hémodialysés

Présenté par :

M^{lle} MAHIEDDINE Karima

Devant le jury :

Mr. Dr. GOUDJIL. Taher

Mme. LAHMER.BELGUENDOZ. Karima

Mr. GHRISSI Billel

M.C.B

M.A.A

M.A.B

Université de Tébessa

Université de Tébessa

Université de Tébessa

Président

Rapporteur

Examineur

Date de soutenance : 24/05/2017

Note.....Mention.....

ملخص

القصور الكلوي الحاد هو مرض يتميز بفقدان الوظائف الحيوية للكلية ويكون في المراحل المتقدمة من المرض. الإجهاد التأكسدي هو أحد المكونات الأساسية المتعلقة في الالتهابات المتعلقة بالمرض ويكون العلاج بحالتين إما بالزرع أو بغسل كلى المريض ثلاث مرات في الأسبوع لمدة عدة ساعات وهذا الوقت لإعادة تأقلم المريض على الغسيل .

الغرض من هذا العمل تبيان الإجهاد التأكسدي مثل : بيروكسيد الليبيدات وأكسدة البروتينات عند مريض الفشل الكلوي الحاد عند الغسيل الكلوي في منطقة تبسة وكذلك التحاليل البيوكيميائية . لهذا قمنا بإجراء دراسة 155 حالة مرضية من كلا الجنسين (ر=89, أ=66) وكذلك 33 شخص بحالة جيدة (ر=19, أ=14).

من خلال تحاليل النتائج البيوكيميائية يظهر اختلاف في النتائج حيث نجد زيادة كبيرة في حمض (اليوريك , البولي والكيرياتين) عند مريض الفشل الكلوي الحاد كما نجد الزيادة في كمية الكلسيوم والفوسفور و الكليستيرول الثلاثي في الدم إضافة إلى الهيماتوكريت والهيموقلوبين وكذلك الحديد كما لوحظ وجود نسبة متوازنة من كمية الألبومين والسكر في الدم عند المرضى مقارنة بالمجموعة الشاهدة . وكذا وجود مستويات عالية من علامات الإجهاد التأكسدي كأكسدة الليبيدات وأكسدة البروتينات وكذلك النيتريت بإستثناء البروتينات العامة التي ظهرت بنسبة متوازنة .

النتائج تشير إلى وجود حالة من الإجهاد التأكسدي عند المرضى الخاضعين للدراسة وهذا يؤكد أن الإجهاد التأكسدي هو أحد أهم العلامات المتعلقة بالفشل الكلوي الحاد عند العلاج بالغسيل الكلوي.

الكلمات المفتاحية: القصور الكلوي , الإجهاد التأكسدي , بيروكسيد الليبيدات , أكسدة البروتينات , التحاليل البيوكيميائية.

The renal insufficiency is a pathology characterized by the loss of the vital functions of the kidneys. At an advanced stage, when the kidneys do not function any more or almost more, one treatment of substitution is essential: the greffat Office or dialysis. The latter, and more particularly hemodialysis. Indeed, the treatment proceeds three times per week during several hours requiring to reorganize its life according to the dialysis and of time of care. The oxidative stress which is raised during the IRC.

The purpose of this work is to evaluate some markers of stress oxidizing with knowing the lipidic peroxidation and proteinic oxidation among hemodialysis patients of the area of Tebessa. We also evaluated the renal function among these patients starting from the serum biochemical parameters. For that we made a study on 155 patients (W=66, M=89). The results of various proportioning show a disturbance.

From the analysis of the biochemical results, we found an increase significantly parameters of the renal function (acid uric, urea, creatinin) among hemodialysis patients. In addition, a significant increase in the serum rates in calcemy, phosphoremy, cholesterolemy, triglyceridemy, ferimy ,the hématocrite and glycemia, on the other hand our results shows a balance of rate of albumin among patients hemodialysis by contribution with the witnesses. In parallel, a significant increase in rate of the parameters of the stress oxidizing (MDA), albumin oxidized and residual nitrite. Except the proteins totals show a balance among hemodialysis patients.

The results found among patients would confirm the presence of the oxidative stress the oxidizing stress and a major component associated the renal insufficiency chronic and raised by the hemodialysis.

Key words: Renal insufficiency, stress oxidizing, lipidic peroxidation, oxidation proteinic, parameters biochemical.

L'insuffisance rénale est une pathologie caractérisée par la perte des fonctions vitales des reins. À un stade avancé, lorsque les reins ne fonctionnent plus ou presque plus. Le stress oxydant est une composante majeure de l'inflammation associée à l'insuffisance rénale chronique, un traitement de substitution s'impose : la greffe ou la dialyse. En effet, l'hémodialyse se déroule trois fois par semaine pendant plusieurs heures nécessitant de réorganiser sa vie en fonction de la dialyse et de temps de soins.

Le présent travail a pour but d'évaluer quelques marqueurs de stress oxydant à savoir la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique chez les patients hémodialysés de la région de Tébessa. Nous avons également évalué la fonction rénale chez ces patients à partir des paramètres biochimiques sériques. Pour cela nous avons réalisé une étude sur 155 patients (F=66, H=89) hémodialysés ainsi que 33 sujets sains (F=14, H=19) (groupe témoin).

Les résultats des différents dosages montrent une perturbation. A partir de l'analyse des résultats biochimiques, nous avons trouvé une augmentation de manière significative des paramètres de la fonction rénale (acide urique, urée, créatinine) chez les patients hémodialysés. Par ailleurs, une augmentation significative des taux sériques en calcémie, phosphorémie, cholestérolémie, triglycéridémie, l'hématocrite, et férimie, par contre nos résultats montre un équilibre de taux de l'albumine et le glycémie chez les patients hémodialysés par rapport aux témoins. En parallèle, une augmentation significative de taux des paramètres du stress oxydant (MDA), l'albumine oxydés et nitrite résiduel. Sauf les protéines totaux montrent un équilibre chez les patients hémodialysés.

Les résultats trouvés chez les patients confirmeraient la présence du stress oxydatif. Le stress oxydant est une composante majeure associée à l'insuffisance rénale chronique et majorée par l'hémodialyse.

Mots clés: Insuffisance rénale, stress oxydant, peroxydation lipidique, oxydation protéiques, paramètres biochimiques.

Dédicace

Á l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi **mon père**.

Á la plus belle créature que Dieu a crée sur terre, la source de mes efforts à cet source de tendresse. De patience et de générosité. Aucun dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que dieu vous préserve et vous procure santé et longue vie. A **ma mère**.

Á la lumière de mes jours, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; « **yama khadija** » et lala **Mahria** que j'adore.

Á tous mes tantes **Ghazela** et ton marie **Ali** ainsi que leurs enfants, **Yacine, Lina, Houdaifa, Tala, et Samia, Noura, Saida**.

Á mon cher oncle **Rachid**

Á tous mes frères et sœur, **Abderaouf, Rahma, Radia, Raid et Tayeb, Samiha** et ton marie **Adel**

Á mes très chers amies

Sara, Ibtissem, Sabah

Á tous mes chers amis et mes collègues.

Á tous ceux qui, par un mot, m'ont donnée la force de continuer...



Remerciement

Remerciements Je témoigne que c'est par la grâce de Dieu le tout puissant et miséricordieux, d'aide incessante, qu'il m'a porté et d'orientation imminente qu'il m'a accordé pour achever ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent :

À mon encadreur Mme. LAHMER BELGUENDOUZ Karima, pour son attention, générosité scientifique et compréhension. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma haute considération et de mon profond respect.

A Dr. Goudjil Taher, de l'intérêt qu'il a porté à mon travail en acceptant de présider le jury. Recevez mon profond respect.

Je remercie aussi, a Mr Ghrissi Bissef, qui m'a fait l'honneur d'examiner mon travail. Recevez mon profond respect.

Je remercie aussi tous ceux qui mon aider de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.



ملخص	
Absract	
Résumé	
Dédicace	
Remerciement	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	
Chapitre01 Insuffisance rénale chronique	
I-Généralités sur le rein.....	2
I-1-Structure du rein.....	2
I-1-1Structure interne du rein.....	2
I-1-1-1-Néphrons.....	3
I-2-Formation de l'urine.....	4
I-2-1-Filtration glomérulaire.....	4
I-2-2-Réabsorption.....	4
II-Insuffisance rénale.....	5
II-1-Insuffisance rénale aigüe (IRA).....	6
II-2- Insuffisance rénale chronique (IRC).....	6
II-3-Classification de IRC.....	6
II-4-Cause de IRC.....	7
II-5-Symptômes de IRC.....	8
II-6-Traitements de IRC.....	8
II-6-1-Moyens de traitements.....	8
II-6-1-1-Diététiques.....	8
II-6-1-2-Médicaments ont pour but de corriger.....	9
II-6-1-3-Dialyse.....	9
II-6-1-3-1- Hémodialyse.....	10
II-6-1-3-2-Dialyse péritonéale.....	11
Chapitre 02 stress oxydatif	
I-Radicaux Libres.....	14
I-1-Définition.....	14

I-2-Sources des Radicaux.....	14
I-3-Principaux des Radicaux Libres.....	15
I-3-1-Espèces Réactives de l'oxygène (ERO).....	15
I-3-1-1-Radicaux Superoxyde.....	15
I-3-1-2-Peroxyde d'hydrogène.....	16
I-3-1-3-Radical hydroxyle.....	16
I-3-1-4-Peroxyde d'oxygène, oxygène singulet.....	16
I-3-1-5-Monoxyde d'azote (NO).....	17
I-3-1-5-1-Définition.....	17
I-3-1-5-2-Rôle de NO.....	17
I-3-2- Espèces Réactives de Nitrite (ERN).....	17
I-3-2-1-Radical peroxydinitrite.....	17
II-Antioxydants.....	18
II-1-Définition.....	18
II-2-Systèmes de défense Antioxydants.....	18
II-2-1-Systèmes Enzymatiques.....	18
II-2-1-1-Superoxydes Dismutases (SOD).....	18
II-2-1-2-Glutathion peroxydases (GPX).....	18
II-2-1-3-Catalase (CAT).....	19
II-2-2-Systèmes non Enzymatiques.....	20
II-2-2-1-Glutathion.....	20
II-2-2-2-Acide urique.....	20
II-2-2-3-Vitamine E.....	20
II-2-2-4-Vitamine C.....	20
II-2-2-5-Caroténoïdes.....	20
III-Stress oxydatif.....	20
III-1-Définition.....	20
III-2-Perturbation des systèmes de défense antioxydant.....	21
Chapitre 03 Oxydation protéique et peroxydation lipidique	
I-Oxydation protéiques.....	23
I-1-Oxydation des résidus des acides aminés.....	23
I-2-Devenir des protéines oxydées.....	24
I-3-Marqueurs de l'oxydation protéique.....	25
II-Peroxydation lipidique.....	25
II-1-Mécanisme réactionnel de l'oxydation des lipides.....	26

II-2-Marquers de la peroxydation lipidique.....	27
II-2-1-Diènes conjugués.....	27
II-2-2-Dialdéhyde malonique (MDA).....	28
II-2-3-Isoprostanes.....	28
II-2-4- 4-hydroxy-alkénals.....	29
III-Oxydation des acides nucléiques.....	29
VI-Radicaux libres chez le sujet sain.....	30
V-1-Relation entre l'hémodialyse et le stress oxydant.....	30
Matériel et méthodes	
I-1-Matériel.....	33
I-1-1-Population d'étude.....	33
I-2-Méthode de prélèvement du sang.....	33
I-3-Réactifs.....	33
II-Méthodes.....	34
II-1-Paramètres biochimiques.....	34
II-1-1-Dosage de glucose.....	34
II-1-2-Dosage de l'urée.....	34
II-1-3-Dosage de la créatinine.....	35
II-1-4-Dosage de l'acide urique.....	36
II-1-5 Dosage de Calcémie.....	37
II-1-6-Dosage de phosphore.....	37
II-1-7-Dosage de cholestérol.....	38
II-1-8-Dosage de triglycéride.....	38
II-1-9-Dosage de l'albumine.....	39
II-1-10-Dosage de Fer.....	40
II-1-11-Dosage de hémoglobine.....	41
II-1-12-Numération formule sanguine (FNS).....	41
II-2-Dosage des paramètres du stress oxydant.....	42
II-2-1-Dosage de malon-dialdéhyde (MDA).....	42
II-2-2-Dosage des nitrites.....	42
II-2-3-Dosage de l'albumine oxydée.....	43
II-2-4- Dosage des protéines totales.....	43
III- Analyse statistique des résultats.....	45
III-Résultats	
I-Réparation des patients hémodialysés selon l'âge et le sexe.....	47

I-1- Réparation des patients hémodialysés selon l'âge.....	47
I-2-Réparation des patients hémodialysés selon le sexe.....	49
II-Paramètres biochimiques.....	50
II-1-Dosage de glucose.....	50
II-2-Dosage de l'urée.....	51
II-3-Dosage de la créatinine.....	52
II-4-Dosage de l'acide urique.....	52
II-5 Dosage de Calcium.....	53
II-6-Dosage de phosphore.....	54
II-7-Dosage de cholestérol.....	54
II-8-Dosage de triglycéride.....	55
II-9-Dosage de l'albumine.....	55
II-10-Dosage de Fer.....	56
II-11-Dosage de hémoglobine.....	56
II-12-Numération formule sanguine (FNS).....	57
III-Dosage des paramètres du stress oxydant.....	57
III-1-Dosage de malonyldialdéhyde (MDA).....	57
III-2-Dosage des nitrites.....	58
III-3-Dosage de protéine carbonylé	59
III-4- Dosage des protéines totaux	59

Discussion

Conclusion

Bibliographies

Annexe

Figure	Titre	Page
1	Anatomie interne du rein	2
2	La structure des néphrons	3
3	Formation de l'urine	5
4	Le circuit d'hémodialyse	11
5	Fonctionnement de la dialyse péritonéale	12
6	Les principales sources de radicaux libres	15
7	Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques.	19
8	Exemples d'attaque des ROS sur différents acides aminés.	24
9	Devenir des protéines oxydées	25
10	L'oxydation des lipides	26
11	Génération des différentes familles d'isoprostanes	28
12	Formation de 8-hydroxydéoxyguanosine	29
13	Courbe d'étalonnage des nitrites	43
14	Courbe d'étalonnage des protéines totales	44
15	Pourcentage de nombre des patients hémodialysés rénale selon les classes d'âge .(Tébessa)	48
16	Pourcentage des hommes et femmes hémodialysés selon les classes d'âge (Tébessa).	48
17	Pourcentage de nombre des patients hémodialysé selon les classes d'âge (Chéria)	49
18	Pourcentage des hommes et femmes hémodialysés selon les classes d'âge (Chéria)	50
19	Variation de taux de glycémie chez les patients P, les patients C et les sujets sains S	51
20	Variation de taux de l'urée chez les patients T, les patients C et les sujets sains S	51
21	Variation de taux de la créatinine chez les patients T, les patients C et les sujets sains S	52
22	Variation de taux de l'acide urique chez les patients T, les patients C et les sujets sains S	53
23	Variation de taux de calcémie chez les patients T et les sujets sains S	53
24	Variation de taux de phosphorémie chez les patients T et les sujets sains S	54
25	Variation de taux de cholestérol chez les patients C et les sujets sains S	54

26	Variation de taux de triglycéride chez les patients C et les sujets sains S	55
27	Variation de taux de l'albumine chez les patients C et les sujets sains S	55
28	Variation de taux de fer chez les patients T et les sujets sains S	56
29	Variation de taux de l'hémoglobine chez les patients T et les sujets sains S	56
30	Variation de taux de l'hématocrite chez les patients T et les sujets sains S	57
31	Concentration de MDA chez les patients T et les sujets sains S	58
32	Concentrations des nitrites résiduelles chez les patients T et chez les sujets sains S	58
33	Variation de taux des l'albumines oxydés chez les patients T et les sujets sains S	59
34	Variation de taux des protéines totaux oxydés chez les patients T et les sujets sains S	60

Tableau	Titre	Page
1	Classification de l'insuffisance rénale chronique(IRC)	7
2	Pourcentage de nombre des patients hémodialysés selon les classes d'âge au niveau du centre de l'établissement ALIA SALEH à Tébessa.	47
3	Pourcentage de nombre des patients hémodialysés selon les classes d'âge au niveau du centre de l'établissement MOHAMED CHBOUKI à Chéria.	48
4	Pourcentage de nombre des hommes et femmes hémodialysés selon les classes d'âge au niveau du centre de l'établissement ALIA SALEH à Tébessa.	49
5	Pourcentage de nombre des hommes et femmes hémodialysés selon les classes d'âge au niveau du centre de l'établissement MOHAMED CHBOUKI à Chéria.	49

8-épi-PGF2: 8-Isoprostaglandin F2

8OH-Dg: 8-hydroxy-déoxyguanosine

ADH: Hormone anti- diurétique

ADN: Acide desoxy-ribonucléique

ADP: Adénosine diphosphate

AGE: Produits avancés de glycation

ATP: Adénosine triphosphate

BSA: Albumine sérique bovine

CAT: Catalase

CML: Carboxyméthyllysine

CRP: Protéine C réactive

DFG: Débit de filtration glomérulaire

DO: Densité optique

DTT: Dithiothreitol

EDTA: Acide éthylène diamine tétra acétique

EOA: Espèces oxygénées activées

EPO: Erythropoietine

ERO: Espèce réactive de l'oxygène

Fe⁺⁺⁺: Fer Ferreux

FG: Fonction glomérulaire

FNS: Numération formule sanguine

GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse-Spectrométrie en masse

GLDH: Glutamate déshydrogénase

GMPc: Guanosine monophosphate cyclique

GOD: Glucose oxydase

GPx: Glutathion peroxydases

GSH: Glutathion réduit

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

HD: Hémodialyse

HPLC: Chromatographie liquide de haute performance

IMA: Ischemia modified albumin

IRA: Insuffisance rénale aiguë

IRC: Insuffisance rénale chronique

MDA : Dialdéhyde malonique

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NF-Kb : Nuclear factor-kappa B

NH₂ :Groupements amines

NH₃ :Ammoniac

NH₄ :Ammonium

NKF-K/DOQI: National Kidney Foundation-Kidney Disease Outcomes Quality initiatives

NO : Monoxyde d'azote

O₂^{·-} : Radical superoxyde

OH: Radical Hydroxyle

ONOO-: Radical peroxy nitrite

PKD: Polykystique rénale dominante

POD: Peroxydase

REDOX: Réduction/Oxydation

RH : Lipides insaturés

RLs: Radicaux libres

RNS: Espèce réactive de nitrite

ROS: Espèces réactives de l'oxygène

SH: Groupements sulfhydriles

SH: Groupements sulfhydriles

SO: Stress oxydant

SO₃H : Acide sulfonique

SOD: Superoxydes dismutases

SOH : Acide sulfénique

S-S : Pont disulfure

TA: Tension artérielle

TBA: Acide Thio-barbiturique

TCA: Acide trichloracétique

UV: Ultraviolet

VLDL: Very low density lipoprotein

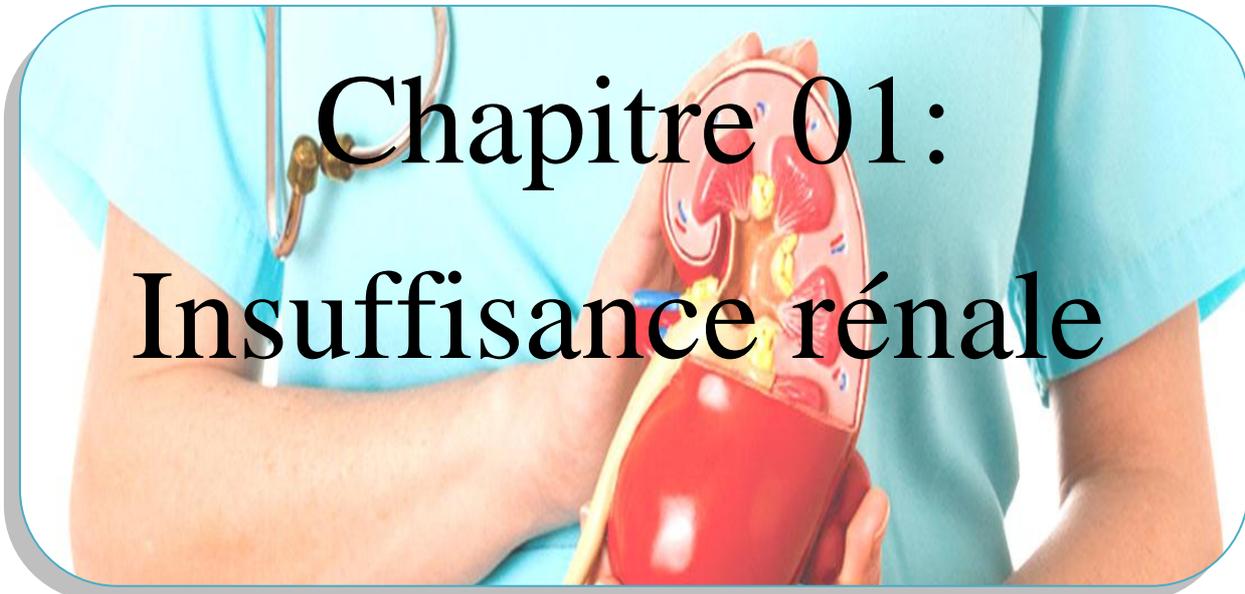
Introduction

L'insuffisance rénale chronique (IRC) se définit par une diminution prolongée, souvent définitive, des fonctions rénales exocrines et endocrines. Elles s'expriment essentiellement par une diminution de la filtration glomérulaire (FG) avec augmentation de la créatininémie et de l'urée sanguine (urémie) et par une diminution de la clairance de la créatinine. Elle peut aboutir à l'insuffisance rénale terminale qui nécessite une suppléance (épuration extra-rénale) par hémodialyse ou dialyse péritonéale et/ou par transplantation rénale. La cause la plus fréquente d'IRC, est la glomérulonéphrite. Il s'agit d'une maladie de type auto-immune qui touche les glomérules et n'implique les autres constituants rénaux que dans une phase avancée (**Ross *et al.*, 2008**).

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses antioxydants et la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO), ce déséquilibre peut avoir diverses origines. Il joue un rôle non négligeable dans l'inflammation associée à l'hémodialyse et principalement dans l'athérome accéléré dont les complications grèvent lourdement la mortalité en hémodialyse. L'évaluation du stress oxydant chez le patient hémodialysé a longtemps reposé uniquement sur la mesure des dérivés de la peroxydation lipidique tels que le malonyldialdéhyde (MDA) (**Latscha et Sarsat, 2003; Gueye, 2007**).

Les patients atteints d'insuffisance rénale chronique subissent des modifications délétères de la structure des protéines et des lipides secondaires à la perte des défenses anti-oxydantes, à l'augmentation du stress oxydant ou à d'autres modifications post-synthétiques de la structure des protéines médiées par la glycation ou la carbamylation. Ainsi l'insuffisance rénale réduit l'activité antioxydante du plasma (**Mimic-oka *et al.*, 1999 ; Kaysen ,2000**)

Dans notre étude, nous avons évalué quelques marqueurs de stress oxydant à savoir la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique chez les patients hémodialysés de la région de Tébessa. Nous avons également évalué la fonction rénale chez ces patients à partir des paramètres biochimiques sériques (glycémie, urée, créatinine, uricémie, calcémie, phosphorémie, cholestérolémie, triglycéride, albuminémie, férémie, hémoglobinémie et l'hématocrite).



Chapitre 01: Insuffisance rénale

I-Généralités sur le rein

I-1- Structure du rein

Les reins sont deux organes encapsulés situés dans la partie supérieure du rétro-péritoine, de part et d'autre de la colonne vertébrale lombaire. Le rein droit est situé un peu plus postérieurement que le rein gauche car il est légèrement comprimé par le foie. Les reins ont une forme de haricot dont la partie concave constitue le hile, par où pénètrent et sortent les vaisseaux, les nerfs et l'uretère (**Guénard, 2009**).

La surface rénale est d'habitude relativement lisse, mais elle peut garder des traces de la structure lobulée qu'elle avait pendant la période fœtale et les premières années de la vie. (**Faller *et al.*, 2006**).

I-1-1 Structure interne

Une coupe longitudinale du rein révèle l'existence de deux zones reconnaissables à l'œil nu. Le cortex rénal forme une couche relativement homogène d'environ 1cm sous la capsule fibreuse. La substance corticale contient de nombreux granules de 0.2mm visibles à loupe, ce sont les corpuscules rénaux.

La médulla rénale plus sombre forme une douzaine (de 8 à 18) de pyramides rénales séparées les uns des autres par les colonnes rénales. La pointe de chacune des pyramides se projette dans le sinus rénal par une papille rénale où viennent s'ouvrir de petits orifices. La base large de chaque pyramide regarde la corticale dans laquelle elle envoie des rayons médullaires (**Faller *et al.*, 2006**)

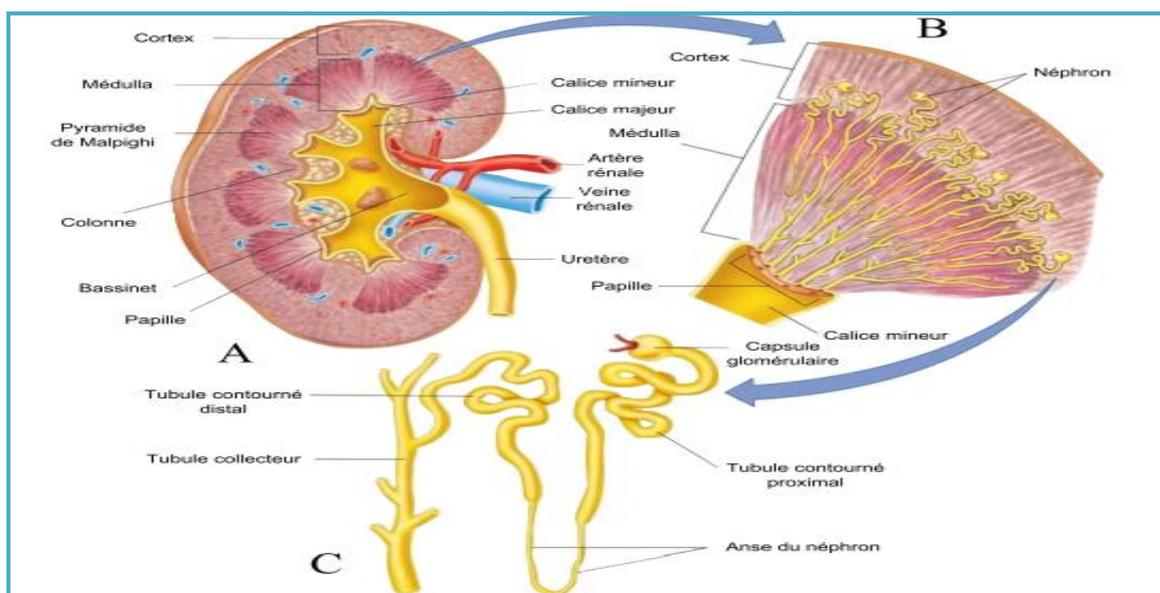


Figure 01: Anatomie interne du rein (Quoilin, 2013).

I-1-1-1 Néphrons

Les néphrons représentent les unités de production de l'urine. Il en existe environ 35000 dans un rein de rat et 1 million dans un humain. Chaque néphron est constitué d'un filtre, le glomérule rénal (aussi appelé corpuscule), et d'un tube rénal, d'échange d'eau et de solutés (**Guénard, 2009**). Le corpuscule rénal comprend deux parties: le glomérule (un réseau de capillaires) et la capsule glomérulaire(ou capsule de bowman), sorte de coupe épithéliale à double paroi qui enveloppe les capillaires glomérulaires. le tubule rénal, comprend trois grandes sections, dans l'ordre qui correspond au sens de l'écoulement du liquide, le tubule contourné proximal, l'anse du néphron, le tubule contourné distal (**Derrickson, 2007**).

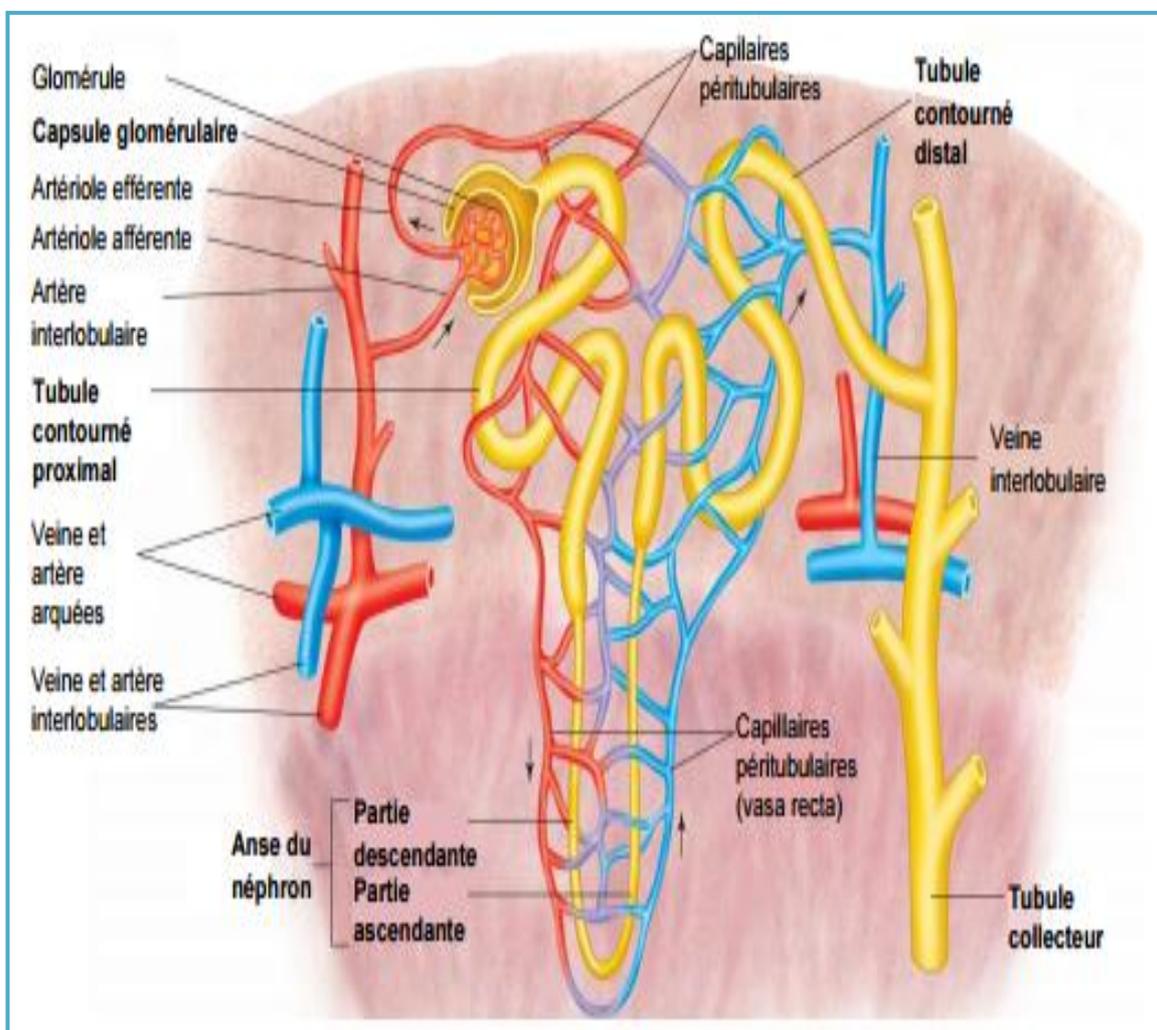


Figure 02: la structure des néphrons (Quoilin, 2013).

I-2- Formation de l'urine

I-2-1- Filtration glomérulaire

Le sang circulant dans les capillaires glomérulaires est filtré par la membrane filtrante. Comme presque tous les épithéliums, cette membrane est très peu perméable aux protéines et, dans des conditions normales, les dimensions de ses pores ne permettent pas le passage des cellules. Les substances hydrosolubles contenues dans le sang passent ce filtre à condition de ne pas être liées à des protéines. La concentration des substances hydrosolubles dans le liquide de filtration glomérulaire est sensiblement la même que dans le sang (**Carip et Louet, 2004**). C'est la première étape de la formation de l'urine. Il s'agit du passage d'eau et de substance dissoutes à travers la membrane glomérulaire. Le liquide ainsi présent dans le glomérule est l'urine primitive (**Viallard et Tanguy, 2003**).

I-2-2-Réabsorption

Au niveau du tubule rénal s'effectue des processus de réabsorption. Ces mécanismes permettent de réguler la perte de certains constituants importants pour le maintien de l'homéostasie. En effet, la majeure partie des constituants de l'urine primitive filtrés par le glomérule, est par la suite réabsorbée dans le sang. Ces éléments sont : les sels minéraux, l'eau, l'urée. Dans le tubule contourné proximal, il y a réabsorption d'environ 70 % de l'eau, du glucose, du sodium, du potassium et du chlore présents dans l'urine primitive. Au niveau du tubule contourné distal, des mécanismes de régulation fine du sodium sont mis en jeu. Ce dernier peut être réabsorbé par un co-transport sodium-chlore ou par des canaux à sodium en échange de potassium. Cette réabsorption est favorisée par l'aldostérone. Cependant, le tube distal étant imperméable à l'eau, la réabsorption de l'eau se fait au niveau du tube collecteur grâce aux aquaporines régulées par l'hormone anti-diurétique (ADH). Le but de la réabsorption tubulaire est l'élaboration de l'urine définitive (**Nguyen, 2009**).

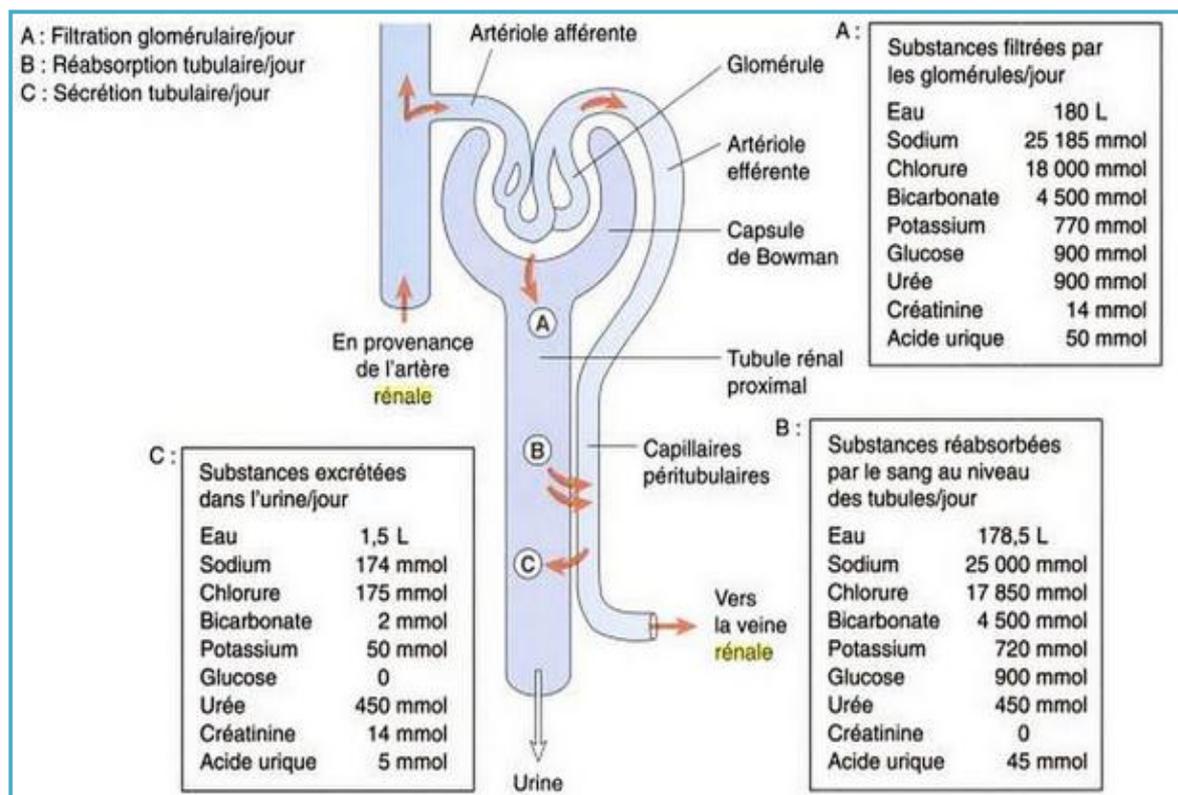


Figure 03: Formation de l'urine (Smettzer et Bare, 2011).

I-3- Fonctions du rein

Le rein assure plusieurs fonctions essentielles pour l'organisme

- le maintien de l'homéostasie du milieu intérieur.
- Équilibre hydro-électrolytique et équilibre acido-basique.
- l'élimination des déchets azotés .
- le contrôle de la pression artérielle.
- l'érythropoïèse et le métabolisme osseux (**Justine et Burtey, 2015**).

II-INSUFFISANCE RÉNALE

Le rein subit des modifications structurales et fonctionnelles avec l'âge. On observe une réduction de la masse du cortex rénal et une réduction du nombre de glomérules engendrant une diminution du débit de filtration glomérulaire de l'ordre de 0.5 à 1 ml/min/1.73m² par an après 50ans (**Guidet et Artigas, 2012**).

Cette maladie rénale est le plus souvent silencieuse et il est ainsi difficile de connaître avec exactitude la date de son apparition (**Simon, 2007**). Il existe plusieurs types:

II-1- L'insuffisance rénale aiguë (IRA)

C'est la défaillance brutale (quelques heures à quelques jours) des fonctions rénales qui se traduit par une augmentation rapide de l'urée et de la créatinine sanguines (rétention des déchets azotés). Elle traduit la perte de l'homéostasie hydro-électrolytique et acido-basique et/ou l'accumulation de déchets organiques. Il faut différencier IRA sur reins sains versus poussée d'IRA sur reins antérieurement lésés (insuffisance rénale chronique, IRC).

Selon le mécanisme étiologique :

- IRA pré-rénale ou IR fonctionnelle, conséquence d'une hypoperfusion rénale (= IR fonctionnelle).
- IRA rénale, secondaire à une lésion touchant un ou plusieurs composants du tissu rénal (= IR organique), première cause : nécroses tubulaires aiguës, toxiques ou ischémiques.
- IR post rénale ou obstructive due à un obstacle sur les voies urinaires (=IR obstructive) (**Janbon et Zaoui, 2004**).

II-2-Insuffisance rénale chronique (IRC)

C'est la résultante de la perte progressive des fonctions des reins. Elle est la conséquence commune de la réduction du parenchyme rénal fonctionnel au cours de maladies très diverses affectant les reins ou les voies excrétrices. Elle se traduit par un ensemble d'altérations cliniques et biologiques qui réalisent le syndrome urémique. Les altérations biochimiques sériques apparaissent précocement et se majorent par à peu avec la réduction de la masse néphronique active (**Jungers *et al.*, 2011**).

II-3-Classification du IRC

La NKF-K/DOQI américaine (National Kidney Foundation-Kidney Disease Outcomes Quality initiatives) proposait en 2002, une définition et une classification en 05 stades de MRC basées sur la valeur du débit de filtration glomérulaire (DFG) estimé (**Tableau 01**) (**Beaudeau et Durand, 2011**).

Tableau 01: Classification de l'insuffisance rénale chronique(IRC) (**Housset et al., 2010**).

Stades	DFG estimé (ml/min/1,73 m ²)	Définition
1	> 90	Maladie rénale sans insuffisance rénale chronique
2	de 60 à 89	Insuffisance rénale chronique légère
3	de 30 à 59	Insuffisance rénale chronique modérée
4	de 15 à 29	Insuffisance rénale chronique sévère
5	< 15	Insuffisance rénale chronique terminale

II-4- Causes de IRC

- **Inflammation du rein**

De cause infectieuse, allergique ou immunologique responsable d'une glomérulonéphrite chronique dont le diagnostic sera fait par la biopsie du rein. Une protéinurie associée à une hypertension artérielle sont les signes les plus souvent observés.

- **Diabète**

Cause fréquente d'insuffisance rénale chronique : 25 à 35 % des patients dialysés selon les régions en France et les pays. Il s'agit du diabète juvénile (type 1) traité par injection d'insuline ou du diabète touchant les plus de 40 ans (type 2) traité avec des comprimés (**Olmer, 2003**).

- **Hypertension artérielle**

L'hypertension artérielle est présente chez environ 80% des patients présentant une insuffisance rénale chronique. Chez ces patients, l'hypertension accélère la dégradation de la fonction rénale. L'hypertension est la cause directe de l'insuffisance rénale terminale chez un tiers des patients dialysés. Les mécanismes principaux impliqués dans l'hypertension artérielle chez les patients insuffisants rénaux sont une hyperactivité du système nerveux sympathique et du système rénine-angiotensine et une diminution de la capacité d'élimination de l'eau et du sel (**Prujma et al., 2009**).

- **Maladies héréditaires**

La maladie polykystique rénale autosomique dominante dont le gène le plus souvent en cause est le PKD1. Son identification peut permettre de diagnostiquer in utéro ou chez l'enfant la polykystose avant l'apparition des kystes. Les signes sont surtout rénaux : deux gros reins ,douleurs lombaires, infections urinaires, hématuries, présence éventuelle de calculs rénaux. Il existe des signes extra rénaux possibles :kystes hépatiques, pancréatiques, ovariens et des anévrismes intracrâniens chez 5 à 10 % des patients. L'insuffisance rénale terminale apparaît le plus souvent après 50 ans mais elle peut ne jamais survenir (**Olmer, 2003**).

- **Infection chronique des voies urinaires**

La mauvaise implantation des uretères dans la vessie est une cause fréquente d'infection chronique des voies urinaires. Elle entraîne une remontée de l'urine de la vessie vers les reins (**Olmer, 2003**).

- **Médicaments**

La prise d'antibiotiques, d'anti-inflammatoires, d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion peut aggraver l'état d'un rein déjà défaillant en raison d'une pathologie sous-jacente tels que le diabète, l'hypertension artérielle, et la déshydratation (**Olmer, 2003**)

II-5- Symptômes du l'insuffisance rénale chronique

L'insuffisance rénale se présente d'abord par des signes très peu spécifiques tels que fatigue, perte de force, perte d'appétit, maux de tête, trouble digestifs, mictions fréquentes, l'hypertension artérielle, les anomalies dans les urines (**Berney et al., 2010**).

II-6--Traitement de L'IRC

Le traitement de l'IRC a 2 buts : Ralentir la progression de l'IR.et Traiter le stade décompensé.

II-6-1-Moyens de traitement

II-6-1-1-La diététique

- La diminution de la ration protidique, sans entraîner de dénutrition, est estimée à 0,8 g/kg/ jour. Elle diminue la phosphorémie, l'urémie, la kaliémie.

- La diminution des apports potassiques alimentaires (chocolat, fruits).
- Les apports hydro-sodés sont fonction du type de néphropathie causale et/ou du stade de l'insuffisance rénale.
- Augmentés en cas de néphropathie interstitielle avec perte de sel.

II-6-1-2-Les médicaments ont pour but de corriger

- L'hypocalcémie et l'hyperphosphorémie avec recours aux apports de sels de calcium ou aux résines ,
- L'hypertension artérielle : toutes les classes thérapeutiques sont utilisables (sauf thiazidiques et anti-aldostérones) .
- L'hyperuricémie n'est pas constante. Elle doit faire rechercher des erreurs diététiques ou un hypercatabolisme (infection, dénutrition, cancers).
- L'anémie : Le traitement doit corriger les carences éventuelles (notamment en Fer).
- la protection vis à vis de l'hépatite B avec vaccination précoce pour obtenir une réponse efficace (**Janbon et Zaoui, 2004**).

Lorsque les examens montrent que la maladie rénale a évolué jusqu'à son stage ultime, l'insuffisance rénale chronique terminale, le patient nécessite alors un traitement de substitution , une mise en dialyse ou une transplantation rénale (**Berney et al., 2010**).

II-6-1-3-Le dialyse

Le dialyse est un méthode de purification de liquide basée sur la diffusion à travers une membrane semi-perméable. On utilise une solution appelée dialysat séparée du sang par une membrane. La composition particulière du dialysat permet un échange contrôlé de fluide et de molécules en solution avec le sang .Ainsi, la dialyse permet d'épurer le sang de certaines substances déchets et d'équilibrer les niveaux de liquides présents dans le corps. Elle permet une substitution d'une partie seulement des fonctions du rein, la fonction endocrine devant être remplacée par des médicaments (**Berney et al., 2010**).

II-6-1-3-1-Hémodialyse

L'hémodialyse est une méthode permettant d'épurer le sang extra-corporellement dans une machine appelée le dialyseur (**Berney *et al.*, 2010**). Il utilise un circuit extra-corporel : le sang du patient est mis en contact avec le dialysat grâce à l'appareil d'hémodialyse à travers une membrane semi perméable appelée aussi rein artificiel ou dialyseur (le filtre). Les déchets ou liquides en excès sont éliminés en passant du sang vers le dialysat à travers cette membrane. Les échanges ne sont pas continus mais réalisés trois fois par semaine. Les déchets et toxines s'accumulent entre deux séances puis sont éliminés lors de la séance de d'hémodialyse. Lors de chaque séance d'hémodialyse, deux aiguilles sont utilisées. Elles sont reliées à des « lignes » qui permettent le passage du sang jusqu'au rein artificiel . A la fin de la dialyse, tout le sang est restitué et les aiguilles sont enlevées. Un accès vasculaire est donc indispensable pour l'hémodialyse. Le plus habituel est la fistule artério-veineuse. Elle est réalisée au cours d'une intervention chirurgicale, sous anesthésie locale ou locorégionale (hospitalisation de 1 à 3 jours). Il s'agit de relier une veine à une artère pour augmenter le débit sanguin et développer la veine qui sera ponctionnée plus facilement. Il faut attendre environ un mois après l'intervention pour utiliser la fistule. L'hémodialyse nécessite trois séances hebdomadaires d'épuration de quatre heures chacune en moyenne. Il faut tenir compte aussi du temps de branchement/débranchement et du temps de trajet aller/retour à domicile. Il s'agit au total de trois demi journées par semaine (**Kessler, 2014**).

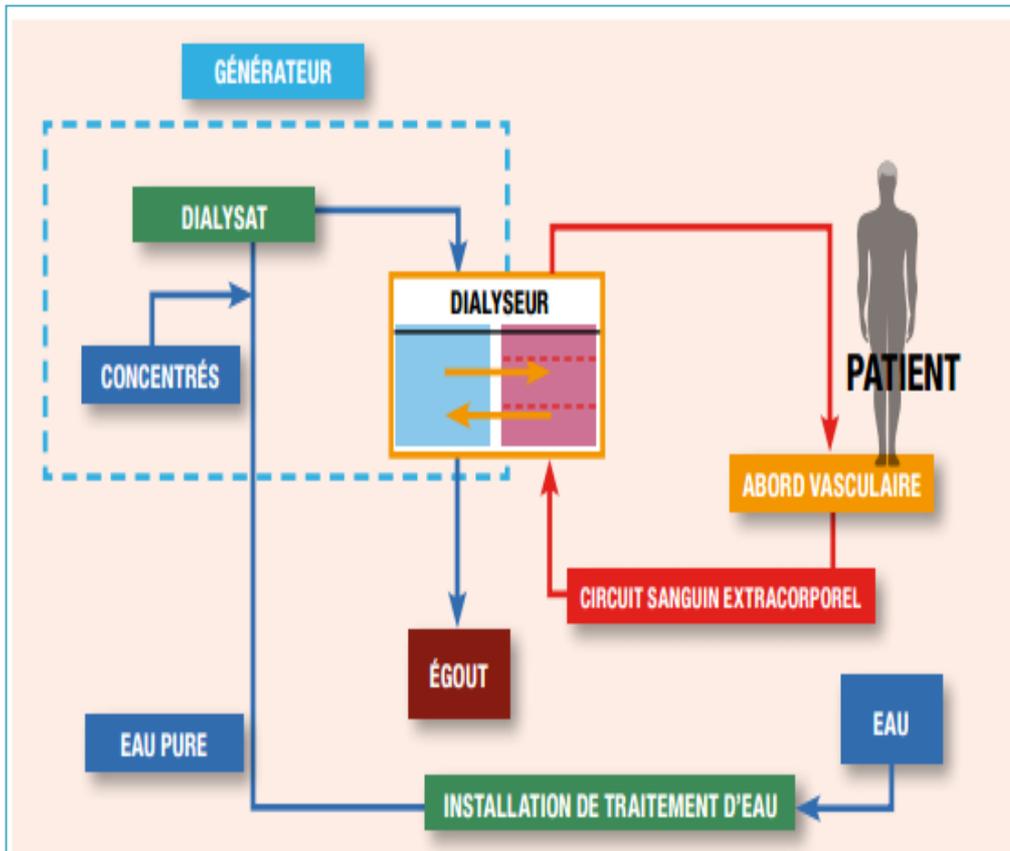


Figure 04: Le circuit de l'hémodialyse (Kessler, 2014).

II-6-1-3-2- Dialyse péritonéale

La dialyse péritonéale (DP) repose sur le même principe physique que l'hémodialyse, la différence essentielle se situant au niveau de la membrane d'épuration : c'est une membrane artificielle, placée dans un appareil (le dialyseur) qui assure l'épuration extra-rénale en hémodialyse, alors que c'est une membrane naturelle, située dans l'abdomen et nommée "membrane péritonéale", qui remplit le même rôle en DP. La membrane péritonéale est une membrane formée de deux feuillets, l'un qui tapisse la paroi abdominale, l'autre qui entoure les organes abdominaux. Ces deux feuillets se superposent, et restent quasiment accolés à l'état normal. Ils délimitent cependant un espace virtuel, nommé cavité péritonéale (ou péritoine), qui se distend si l'on y introduit une solution de dialyse. Dans ce cas le péritoine offre une surface d'échange importante, du même ordre de grandeur que la surface corporelle. De plus le péritoine est abondamment vascularisé, ce qui en fait un organe de choix pour la réalisation de l'épuration extra-rénale. Un cathéter souple, qui

est placé chirurgicalement dans la cavité péritonéale, sous anesthésie locale ou générale selon les centres. On fait ressortir l'extrémité de ce cathéter par un petit trou pratiqué généralement un peu en-dessous du nombril. On installe ensuite sur ce cathéter une ligne d'adaptation, qui permet le branchement sur le matériel de dialyse, et protège (à l'aide d'un petit bouchon gorgé de bétadine) l'accès au péritoine entre deux séances (Martens, 2009).

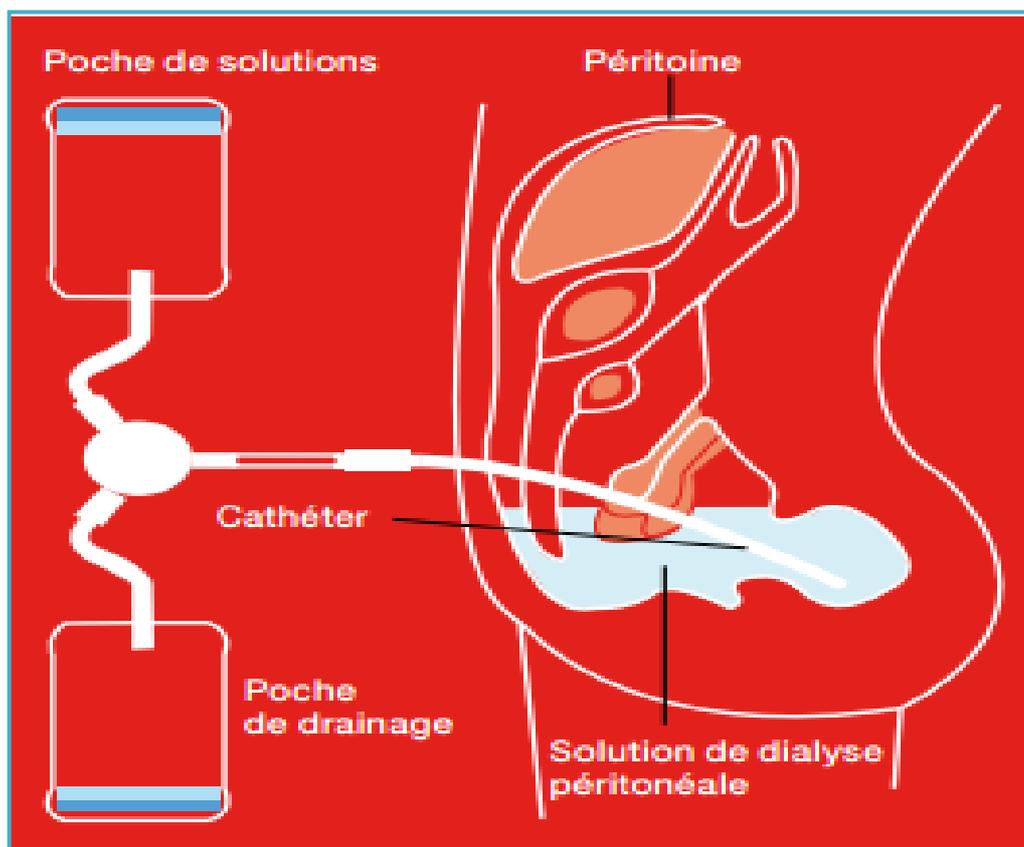
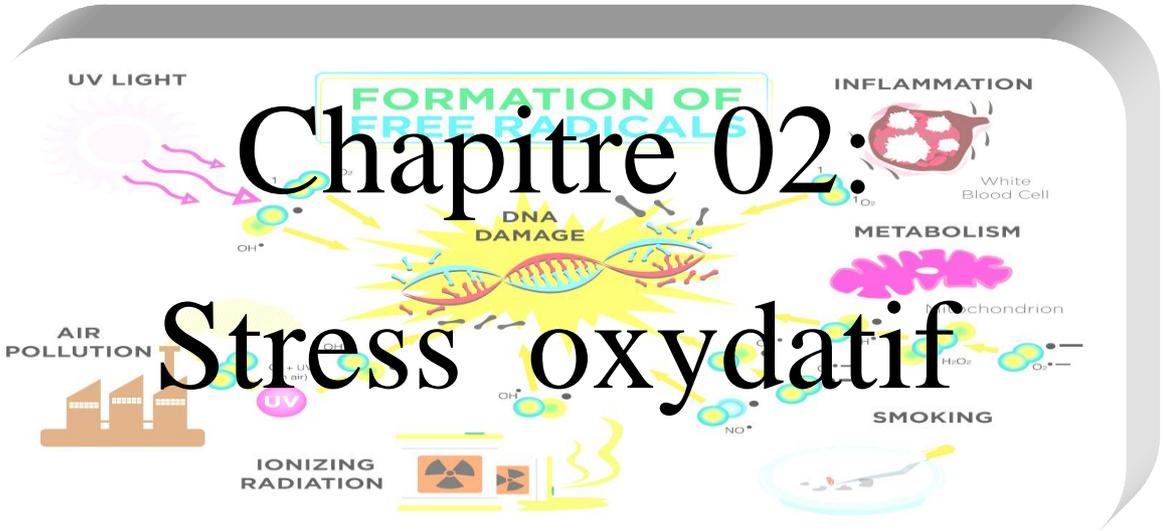


Figure 05: Fonctionnement de la dialyse péritonéale (Kessler, 2014).



Chapitre 02: Stress oxydatif

I-Radicaux libres

I-1 Définition

Les radicaux libres sont des espèces moléculaires très réactives possédant un électron non apparié. Ils ont une existence très brève de l'ordre de 10^{-9} à 10^{-12} sec avant d'entrer en collision avec une autre molécule et de soit capturer soit donner un électron pour devenir stable. Ce faisant, ils génèrent un nouveau radical à partir de la molécule avec laquelle ils sont entrés en collision. La principale façon de neutraliser un radical libre pour terminer cette réaction en chaîne est de faire réagir deux radicaux ensemble, pour qu'il y ait appariement des électrons non appariés dans l'une ou l'autre des molécules parentes. C'est un événement rare du fait de la demi-vie très courte de chaque radical et de la très faible concentration tissulaire des radicaux (**Bender *et al.*, 2013**).

I-2 Sources des radicaux libres

Les sources de production des radicaux libres sont multiples, parmi lesquels les systèmes endogènes : ils peuvent avoir pour origine l'auto-oxydation des aldoses comme le glucose conduisant à la formation de H_2O_2 ainsi que des intermédiaires radicalaires (**Rondeaun, 2009**). Les protéines glyquées peuvent également réagir avec l'oxygène pour former des radicaux libres oxygénés. En effet, les produits avancés de glycation (AGEs) comme le N-carboxyméthyllysine, résultent de l'oxydation de la fructoselysine. La pentosidine, quant à elle, provient d'une réaction d'auto-oxydation entre les résidus lysine et arginine. La production de ROS peut provenir d'un processus enzymatique ou non enzymatique. Des enzymes cytoplasmiques comme la xanthine oxydase ou l'aldéhyde déshydrogénase sont à l'origine de la formation de radicaux libres lors de leur cycle catalytique (**Rondeaun, 2009**). De même, la voie de synthèse des prostaglandines catalysée par la lipoxygénase et la cyclo-oxygénase, deux enzymes membranaires, implique la production de radicaux libres. Au niveau de la membrane plasmique, la NADPH oxydase activée par le processus phagocytaire de la cellule est à l'origine d'une large production de radicaux superoxyde (**Orient *et al.*, 2007; Rondeaun, 2009**).

Au niveau des peroxysomes, les ROS sont aussi bien dégradés que produits. Les antioxydants y résidant, comme la glutathion peroxydase ou la catalase, participent au processus d'inactivation du peroxyde d'hydrogène. Les enzymes oxydases, quant à elles, participent au processus inverse. De plus, les peroxysomes contiennent de nombreux ions métalliques à l'origine de la formation de nombreux radicaux libres.

Une majorité des ROS provient de la respiration mitochondriale. En effet, au cours du transport des électrons par la chaîne respiratoire, des substances oxygénées réactives, sont générées et environ 2% de l'oxygène sont convertis en radicaux superoxyde directement réactifs au voisinage de la mitochondrie (**Inoue *et al.*, 2003**). Il existe également de nombreuses sources exogènes, tels les polluants photochimiques le tabac, les drogues ou les radiations ionisantes, pénétrant l'organisme via le système respiratoire, l'alimentation ou les muqueuses (**Rondeaun, 2009**).

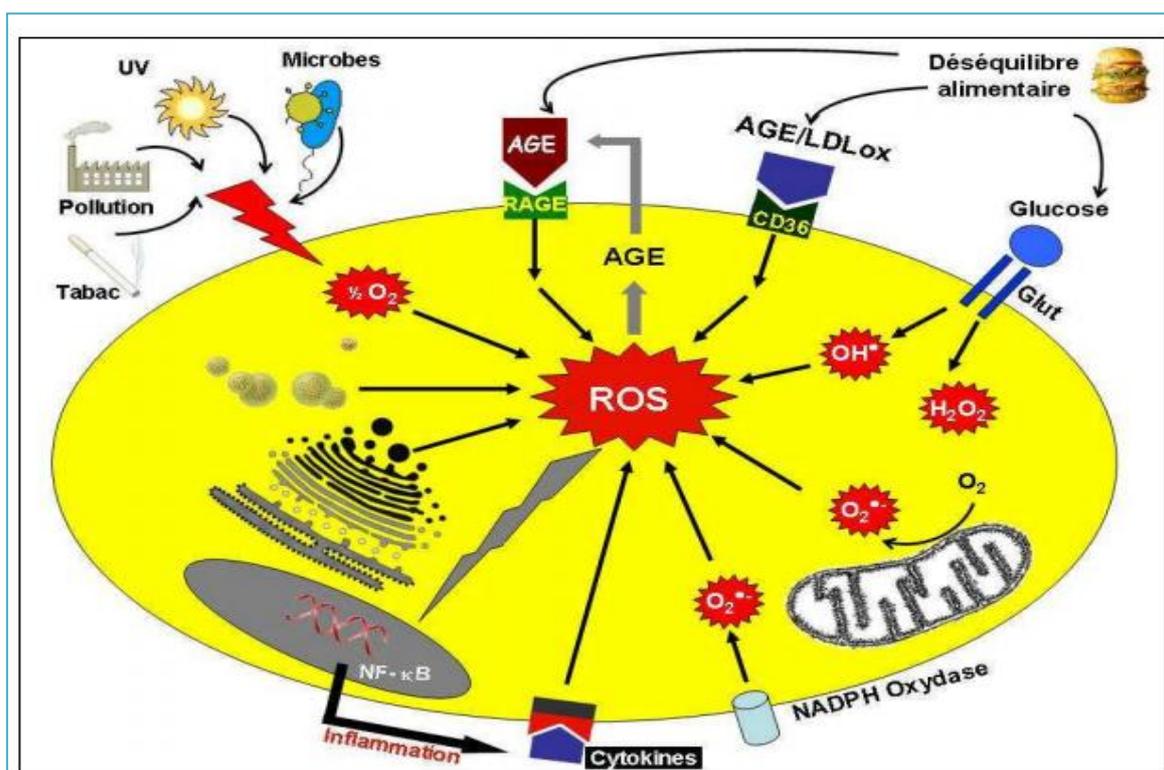


Figure 06: les principales sources de radicaux libres (**Rondeaun, 2009**)

I-3- Principaux Des Radicaux Libres

I-3-1- Espèces réactives de l'oxygène (ROS)

I-3-1-1 Radical superoxyde ($O_2^{\cdot-}$)

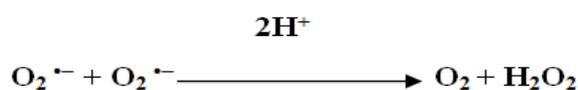
Le radical anion superoxyde est un des produits de la chaîne de transport d'électron de la mitochondrie. Sa durée de vie est relativement longue ce qui lui permet de jouer un rôle important dans l'agrégation plaquettaire ou d'être utilisé comme messager lors de l'apoptose (**Gardès-Albert *et al.*, 2003**). Ce radical est à l'origine de la formation de radicaux plus réactifs tel que le radical hydroxyle lorsqu'il réagit avec le peroxyde

d'hydrogène suivant la réaction d'Haber-Weiss, et peut initier la cascade des oxydes d'azote (Sjoberg, 2013).



1-3-1-2 Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Les principaux sites producteurs de peroxyde d'hydrogène sont les mitochondries et le réticulum endoplasmique. H₂O₂ est généré par la réduction et la dismutation enzymatique ou non du radical anion superoxyde ainsi que par des enzymes telles que certaines oxydases et peroxydases (Bartosz, 2009). L'addition de deux radicaux anions superoxydes peut aussi donner le peroxyde d'hydrogène.



H₂O₂ joue un rôle important dans la carcinogénèse car il est capable de diffuser dans la mitochondrie (grâce à un temps de vie supérieur à celui des espèces radicalaires) et au travers des membranes cellulaires (grâce à sa charge électrique neutre) ce qui lui permet de générer plusieurs types de dégâts cellulaires malgré une réactivité plus faible comparée à celle des autres ROS (Mates *et al.*, 2000).

I-3-1-3- Radical Hydroxyle (·OH)

De part sa très haute réactivité le radical hydroxyle (·OH) est l'espèce oxydante la plus dangereuse pour l'organisme. La radiolyse de l'eau est la première, qui a lieu lorsque l'eau est exposée à des rayons ionisants. Ce phénomène permet d'obtenir le radical hydroxyle à partir d'une molécule d'eau de deux manières différentes et ce en quelques picosecondes (Buxton *et al.*, 1988).



I-3-1-4-Peroxyde d'oxygène, oxygène singule sont d'autres radicaux libres qui interviennent à différents niveaux (Causse, 2004).

I-3-1-5-Monoxyde d'azote (NO)

I-3-1-5-1-Définition

Est un gaz formé dans la cellule à partir de L-arginine et l'oxygène .Il s'est révélé être une molécule clé de la signalisation cellulaire notamment au niveau des systèmes cardiovasculaire et nerveux. Au niveau cellulaire, l'augmentation de calcium active la NOS, le monoxyde d'azote peut alors franchir les membranes plasmiques librement et activer la guanylate cyclase soluble , ce qui va augmenter la concentration de guanosine monophosphate cyclique (GMPc).Cette augmentation de GMPc qui induit les effets cellulaires du monoxyde d'azote (**Beaulieu, 2005**).

I-3-1-5-2- Rôle de Monoxyde D'azote

Le NO possède des propriétés physiologiques variées bénéfiques ou délétères, et ce "paradoxe" suscite encore de Nombreux travaux de recherche , les effets vasculaires du *NO sont médiés par le GMPc responsable d'une relaxation . Le NO possède une action anti inflammatoire de par son activité inhibitrice de l'activation et l'adhésion des leucocytes à l'endothélium. Son activité inhibitrices sur la prolifération des cellules musculaires lisses , et l'inhibition de l'agrégation et de l'adhésion plaquettaires. Le NO possède, par ailleurs, des propriétés "anti oxydantes" de par sa capacité à piéger certaines espèces radicalaires (**Lacolley *et al.*, 2008**).

Le monoxyde d'azote, diffusant des cellules endothéliales, entretient un tonus vasodilatateur sur l'ensemble de l'arbre circulatoire. Sa production est augmentée par l'acétylcholine, et l'essentiel de l'effet dilatateur de l'acétylcholine ou d'autres médiateurs de vasodilatation se fait probablement par l'augmentation de la production de NO. Si celle –ci devient excessive, comme c'est le cas sous stimulation importante par les cytokines .La vasodilatation peut entrainer un syndrome hypotensif sévère: c'est ce que l'on observe dans le choc septique (**Georges, 2001**).

I-3-2 Espèces réactives de nitrite (RNS)

I-3-2-1-Radical peroxyneutre (ONOO–)

Il est produit à partir de l'azote par les globules blanc, ces cellules contenues dans le sang et dont le principal rôle est de protéger l'organisme contre les infections (**Causse, 2004**).

Le rapport des deux constantes montre clairement que la formation du ONOO^- in vivo est hautement probable là où sont produits simultanément les deux précurseurs NO et $\text{O}_2^{\cdot-}$ (Causse, 2004).



II-Antioxydants

II-1- Définition

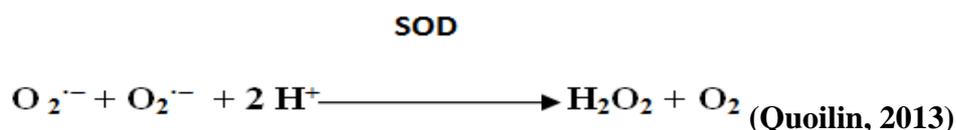
Ce sont des substances qui sont capable d'empêcher d'autre substances sensibles à l'action de l'oxygène de former des structures peroxydées, c'est -à-dire de comporter anormalement un ou plusieurs atomes d'oxygène provenant de l'intervention des radicaux libres. Dans ce cas, les substances qui ont cette propriété sont dites anti radicalaires (Morelle, 2003).

II-2 Système de défense antioxydants

II-2-1 Systèmes enzymatiques

II-2-1-1 Superoxydes dismutases

Les superoxydes dismutases (SOD) sont des métallo-enzymes qui catalysent la dismutation des ions superoxydes en molécule de peroxyde d'hydrogène et d'oxygène (Beaudeau et Durand, 2011). Le métal du site actif est oxydé ou réduit en fonction de sa rencontre avec l' O_2 . Il oscille pour le manganèse et le fer de l'état bivalent à l'état trivalent. et pour le cuivre, de l'état monovalent à l'état bivalent à l'état trivalent, et pour le cuivre de l'état monovalent à l'état bivalent (Jadot, 1994) Malgré la formation de peroxyde d'hydrogène, les SOD permettront d'en diminuer la concentration en évitant que les ions superoxydes agissent comme des initiateurs d'oxydation de réaction en chaine vis-à-vis d'autres molécules biologiques (catécholamines, tétrahydroptérines) (Beaudeau et Durand, 2011).



II-2-1-2- Glutathion peroxydases

L'ensemble des glutathion peroxydases (GPx) catalysent la réduction des hydroperoxydes minéraux (peroxyde d'hydrogène) ou organique (hydro-peroxydes lipidiques) en

molécule d'eau ou alcool couplée à l'oxydation d'un substrat comportant une fonction thiol (glutathion) (Beaudeau et Durand, 2011).

Les glutathion peroxydases (GPx) jouent un rôle central dans le mécanisme d'élimination du H₂O₂ en couplant sa réduction en H₂O avec l'oxydation du glutathion réduit (GSH) (Quoilin, 2013).



II-2-1-3- Catalase

La catalase est une enzyme capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. Elle est essentiellement présente dans les peroxysomes, les érythrocytes, les hépatocytes et les reins (Beaudeau et Durand, 2011).

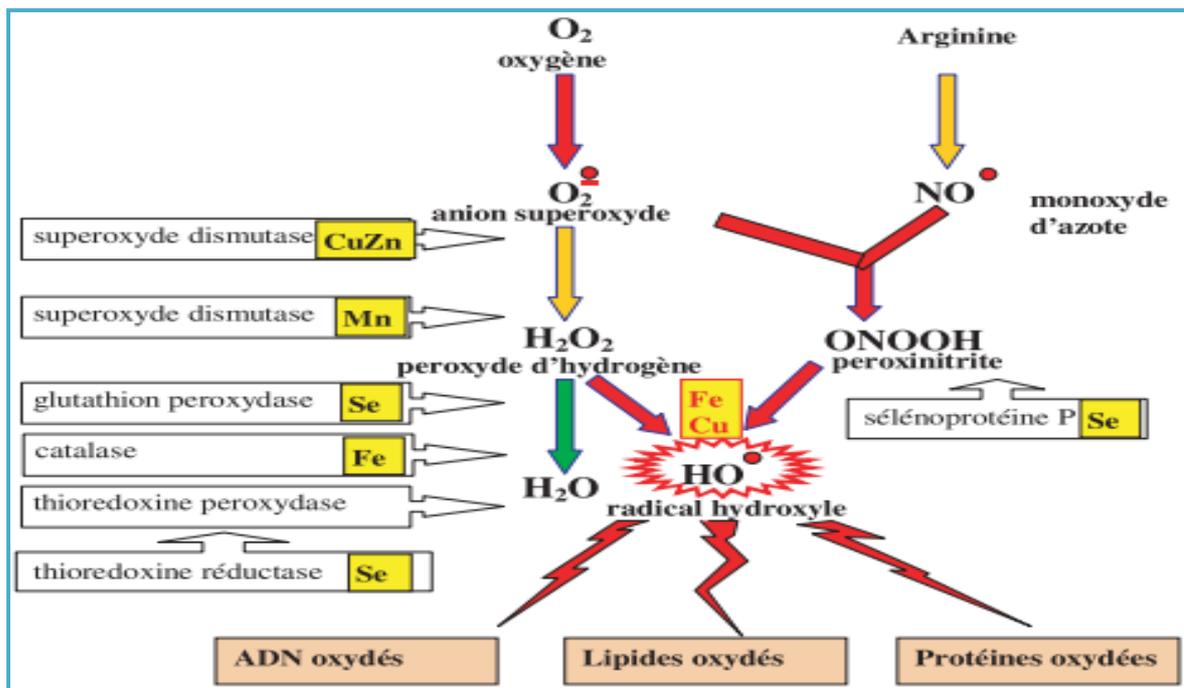


Figure 07: Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier, 2003)

II-2-2 Systèmes non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques se divisent en deux principales catégories, les endogènes (molécules issues de la biosynthèse), et les exogènes (vitamines, oligo-éléments) (BOUGUERNE, 2012). Parmi ces molécules, les plus importantes sont:

II-2-2-1 Glutathion: C'est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants.

II-2-2-2 Acide Urique: C'est un piègeur de $^1\text{O}_2$, des radicaux peroxydes et hydroxydes (RO_2^\bullet et HO^\bullet), de l'ozone. La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que HO^\bullet .

II-2-2-3 La vitamine E ou α -tocophérol (α -TocH): C'est le principal antioxydant de la famille des tocophérols. Sa structure moléculaire comporte une extrémité hydrophile, correspondant au noyau chromanol et une extrémité hydrophobe (chaîne phytyle).

II-2-2-4 La vitamine C ou **acide ascorbique:** L'un des principaux antioxydants hydrosolubles présents dans les fluides intra- et extracellulaires agit principalement en piégeant directement les ROS et/ou RNS (majoritairement $\text{O}_2^{\bullet-}$ et le ONOO^-) (BOUGUERNE, 2012).

II-2-2-5 Les caroténoïdes: Sont des molécules liposolubles produites par les organismes photo-autotrophes et qui doivent être acquis par l'alimentation chez les animaux (Béguel, 2012).

III-Stress oxydatif

III-1-Définition

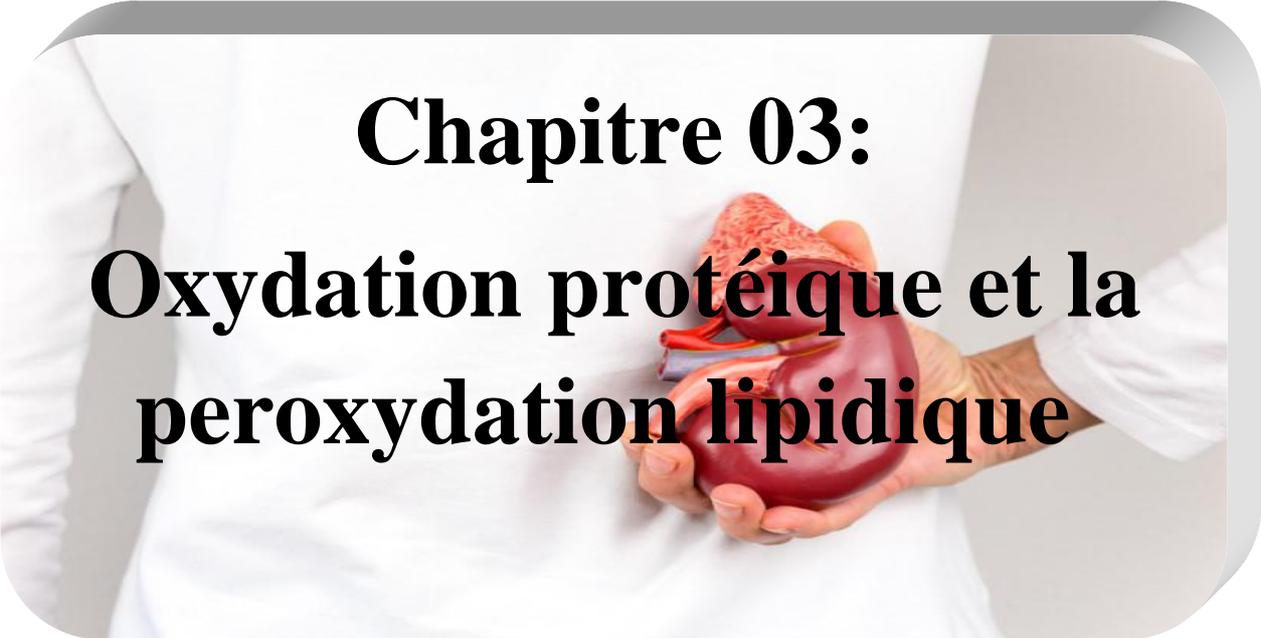
Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme (Haleng *et al.*, 2007) en faveur de ces derniers et de leurs effets potentiellement néfastes. Les origines du stress oxydatif sont diverses: déficit nutritionnel en antioxydant, surproduction endogène d'origine inflammatoire, exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants. Pour y faire face l'organisme dispose d'enzymes antioxydantes codés par un génome permettant une adaptation à une dose raisonnable de radicaux de l'oxygène (Favier, 1997).

III-2- Perturbation des systèmes de défense antioxydants

Lorsque les moyens de défense sont "débordés", les radicaux libres oxygénés en excès vont agir au niveau de trois grandes cibles cellulaires: les membranes, les protéines, et les acides nucléiques.

- **Les membranes** : les membranes péri cellulaires et intracellulaires telles que celles membranes lysosomes, les mitochondries sont altérées. Les acides gras insaturés qui composent les phospholipides membranaires sont très vulnérables au niveau de leur double liaison. Cette désorganisation commence par un défaut de la fluidité. Elle se poursuit par des perturbation de plus en plus marquées qui peuvent aller jusqu'à la lyse complète de la membrane. Ce phénomène est connu sous le nom de la peroxydation lipidique (**Jadot, 1994**).

- **Les protéines**: les protéines peuvent subir l'action directe des ERO suivant ces étapes:
 - Modifications oxydatives réversibles : formation de disulfures, d'acide sulfénique et de méthionine sulfoxyde résultant de l'oxydation des chaînes latérales des résidus cystéine et méthionine, les plus sensibles à l'oxydation.
 - Formation de réticulations intra et inter-moléculaires et/ou fragmentation des chaînes polypeptidiques par oxydation du squelette carboné de la protéine.
 - Fragmentation de la chaîne carbonée par oxydation d'un résidu glutamyl ou par α -amidation et oxydation directe de chaînes latérales de résidus sensibles (lysine, arginine, proline, thréonine) conduisant à la formation de groupes carbonyles sur la protéine (**Sjoberg, 2013**).

A person wearing a white lab coat is holding a realistic anatomical model of a human heart. The heart is shown in a reddish-pink color, with visible coronary vessels. The person's hands are visible, holding the heart from the sides. The background is a plain, light-colored surface.

Chapitre 03:
**Oxydation protéique et la
peroxydation lipidique**

I -L'oxydation protéique

Les protéines sont des constituants cellulaires structurales et fonctionnels essentiels pouvant subir des modifications oxydatives provoquant ainsi l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine (**Levine, 2002**). Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} . Nous pouvons classer les réactions d'oxydation de protéines en deux catégories: d'une part, celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique, et d'autre part, les modifications des peptides par addition de produits issus de la peroxydation lipidique. De telles modifications conduisent généralement à une perte de fonction catalytique ou structurale des protéines affectées. Le rôle des protéines dans la cellule est tel que leur dysfonctionnement peut bouleverser le fonctionnement cellulaire (enzymes, protéines structurale) (**Stéphane, 2004**).

I -1-Oxydation des résidus des acides aminés

Une majorité d'acides aminés sont particulièrement sensibles au stress oxydant tels que la lysine, l'arginine, la cystéine, la méthionine, l'histidine et la phénylalanine. Parmi les acides aminés soufrés, la cystéine est oxydée en acide sulfénique (-SOH) conduisant à la formation de ponts disulfures S-S ou bien d'acide sulfonique (-SO₃H). La méthionine, quant à elle, donne par oxydation la méthionine sulfone (**Rondeaun, 2009**). Ces résidus, situés généralement dans des zones exposées de la protéine, donc les plus susceptibles à l'oxydation, apparaissent comme un système antioxydant interne à la protéine et préviendraient ainsi l'oxydation d'autres acides aminés essentiels. Par ailleurs, l'oxydation des résidus méthionine peut induire un changement conformationnel se traduisant par un dépliement partiel de la protéine. Les méthionines sulfoxydes sont d'ailleurs fortement impliqués au niveau des protéines du cortex cérébral dans les pathologies neurodégénératives. Concernant les résidus aromatiques, la tyrosine peut être oxydée par le radical hydroxyle pour donner la di-tyrosine qui apparaît comme un marqueur spécifique in vivo du statut oxydatif des protéines (**Rondeaun, 2009**).

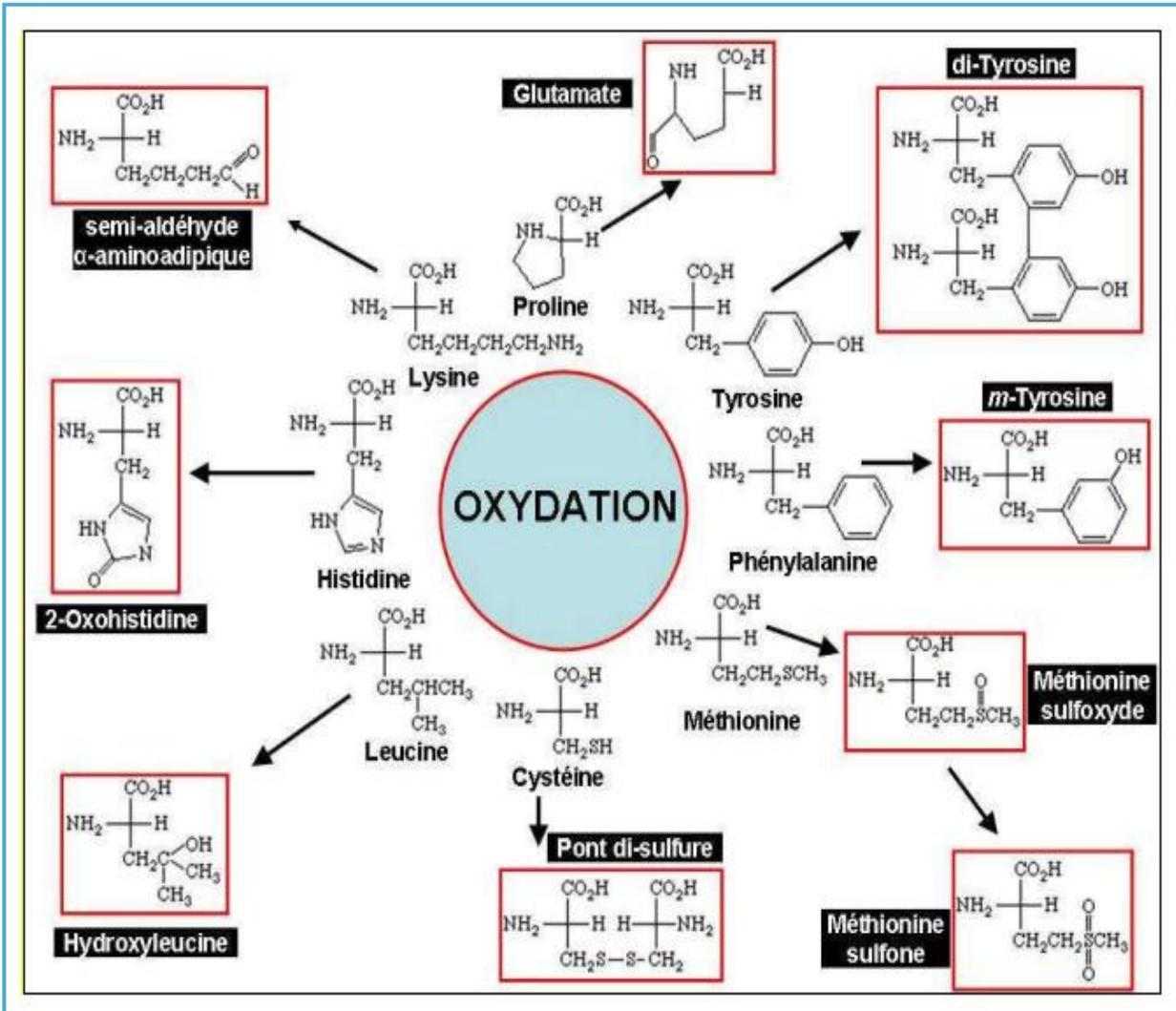


Figure 08:Exemples d'attaque des ROS sur différents acides aminés (Rondeaun, 2009)

I -2-Le devenir des protéines oxydées

Non seulement, les protéines oxydées sont affectées dans leurs fonctions, mais également dans leur structure. Ainsi les protéines altérées ne sont plus reconnues par leurs récepteurs ou bien leurs activités enzymatiques sont diminuées. Par ailleurs, ces altérations de type oxydatif sont des phénomènes propageables. La surveillance de la qualité des protéines intracellulaires est capitale pour la survie des cellules. Les protéines oxydées seront prises en charge par des systèmes de réparation ou d'élimination (Rondeaun, 2009).

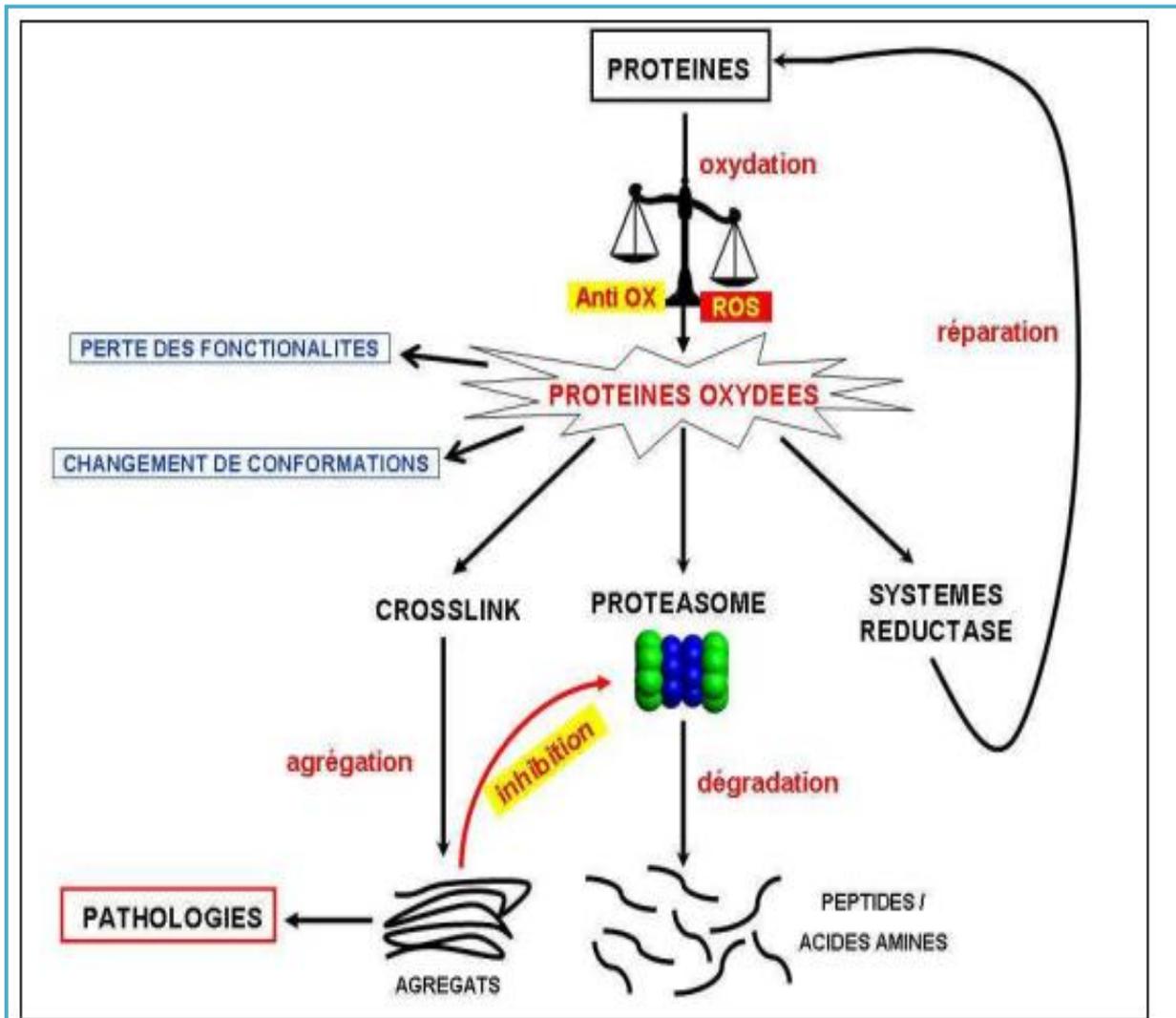


Figure 09: Devenir des protéines oxydées (Rondeaun, 2009)

I -3-Marqueur de l'oxydation protéique

Les carbonyles sont des molécules ubiquitaires de l'oxydation de la chaîne latérale des acides aminés ou des produits de fragmentation des protéines après attaque radicalaire.

Les méthodes utilisées pour leur détermination vont des méthodes immunologiques (ELISA) aux méthodes spectro-photométriques et de Western blot (Robert *et al*, 2007).

II -Peroxydation lipidique

Des structures membranaires au sein des cellules (riches en phospholipides contenant des acides gras insaturés) sont susceptibles d'être altérées par les formes radicalaires .En effet, en présence de radicaux libres et d'oxygène, les acides gras insaturés subissent une dégradation oxydative appelée peroxydation lipidique ou lipo-péroxydation .Ce processus est

maintenu auto-catalytiquement par la génération continue d'hydroperoxydes (Robert *et al*, 2007). Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes (Figure 10). Une première réaction produit un radical libre par élimination d'un hydrogène de l'acide gras (initiation). Puis les réactions s'enchaînent pour produire plusieurs radicaux libres (propagation) qui se combinent pour former des composés non radicalaires (terminaison).

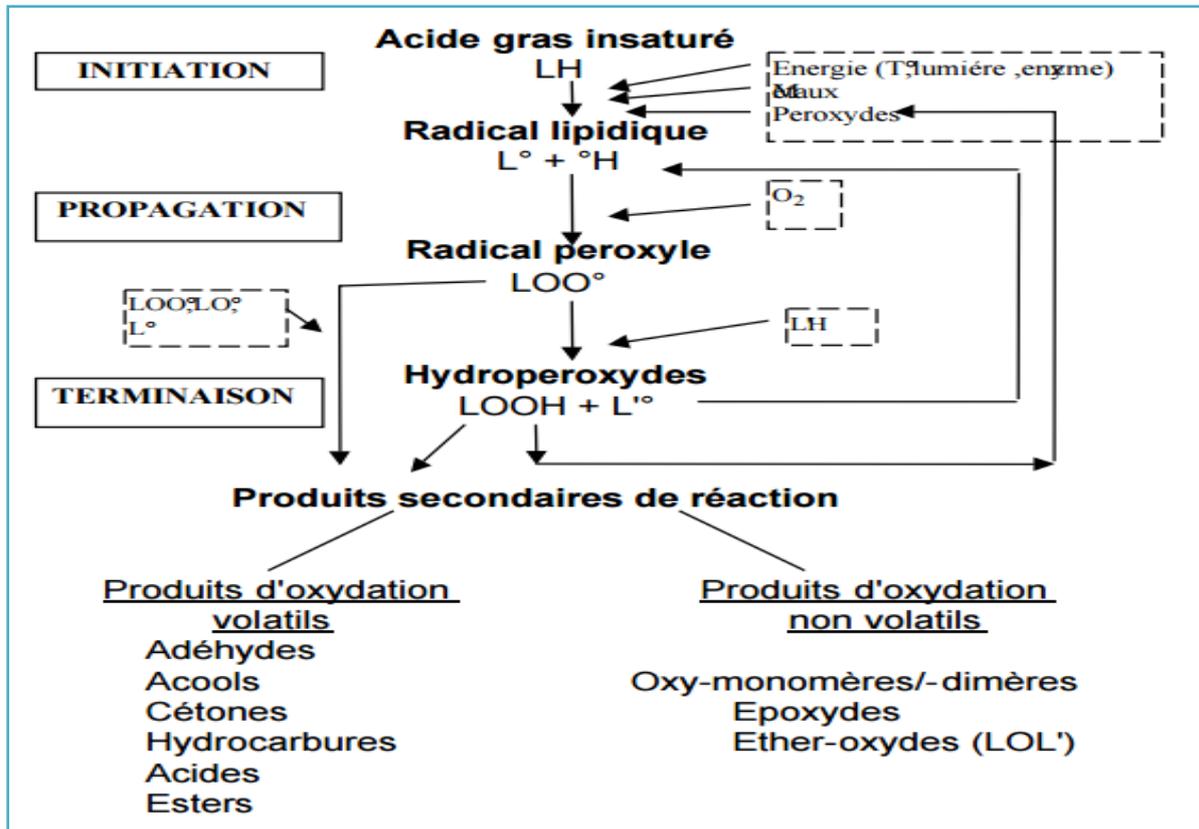


Figure 10: L'oxydation des lipides (Eymard, 2003)

II -1-Mécanisme réactionnel de l'oxydation des lipides

-INITIATION : En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre de lipide (R°) .



Ce mode d'initiation, favorisé par une élévation de température, peut être produit par des radiations ionisantes, des générateurs chimiques, des systèmes enzymatiques ou chimiques produisant des espèces activées de l'oxygène, ou de traces métalliques.

-PROPAGATION : Les radicaux libres formés fixent l'oxygène moléculaire et forment des radicaux libres peroxydes instables (2) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras pour former des hydroperoxydes (3) (Eymard, 2003).



-TERMINAISON : Après avoir atteint une vitesse maximale d'oxydation, celle-ci diminue par combinaison des radicaux lipidiques pour donner des produits non radicalaires (Cillard, 2006).



Les hydroperoxydes peuvent également se décomposer par scission homolytique de la liaison (O-O) pour former un radical alcoyl et un radical hydroxyl. Le radical alcoyl réagit avec d'autres substrats et propage la réaction en chaîne. Il peut également subir une scission carbone-carbone de part et d'autre du radical pour former un radical alkyl et un radical vinyl. Le radical alkyl peut réagir avec un hydrogène, un radical hydroxyl ou une molécule d'oxygène générant ainsi des hydrocarbures, des alcools et d'autres hydroperoxydes. Le radical vinyl peut réagir avec un radical hydroxyl, un radical hydrogène ou l'oxygène moléculaire pour générer des aldéhydes et des hydrocarbures (Eymard, 2003).

II-2- Marqueurs de la peroxydation lipidique

Ils existent de nombreux marqueurs de la peroxydation lipidique.

II-2-1- Les diènes conjugués

Ils sont facilement mesurables à λ 234 nm. Leur détection, peu spécifique et peu sensible, a surtout une valeur indicative mais présente l'avantage d'une détermination cinétique.

II -2-2-Le dialdéhyde malonique (MDA)

C'est sans doute le plus connu et celui qui a été le plus utilisé. Il résulte de la dégradation des hydroperoxydes formés au cours de la peroxydation des acides gras polyinsaturés. Cependant, il peut aussi être formé lors de l'activation de la voie de la cyclo-oxygénase. De plus, sa formation n'est pas spécifique des lipides. Il peut aussi apparaître lors de l'interaction du radical hydroxyle avec la vitamine C ou avec le désoxyglucose. Il peut être mesuré directement par GC-MS mais plus généralement détecté après sa dérivation sous la forme d'un complexe avec l'acide thiobarbiturique. Ce complexe est séparé par HPLC et détecté en UV-visible ou par fluorimétrie. On peut le mesurer aussi bien dans les fluides (urine, sérum) que dans les cellules ou les tissus (**Guichardant et al., 2006**).

II -2-3- Les isoprostanes

Les isoprostanes (F2) appartiennent à la famille des eicosanoïdes. Ils résultent de l'oxydation de l'acide arachidonique et sont constitués de cinq types d'isoprostanes regroupant chacun huit régioisomères (**figure11**). Le 8-épi-PGF2 est l'isomère majoritaire. Il peut être mesuré notamment dans les urines et est considéré actuellement comme le marqueur de référence de la peroxydation lipidique in vivo. Pour être fiables ces marqueurs doivent être mesurés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (**Guichardant et al., 2006**).

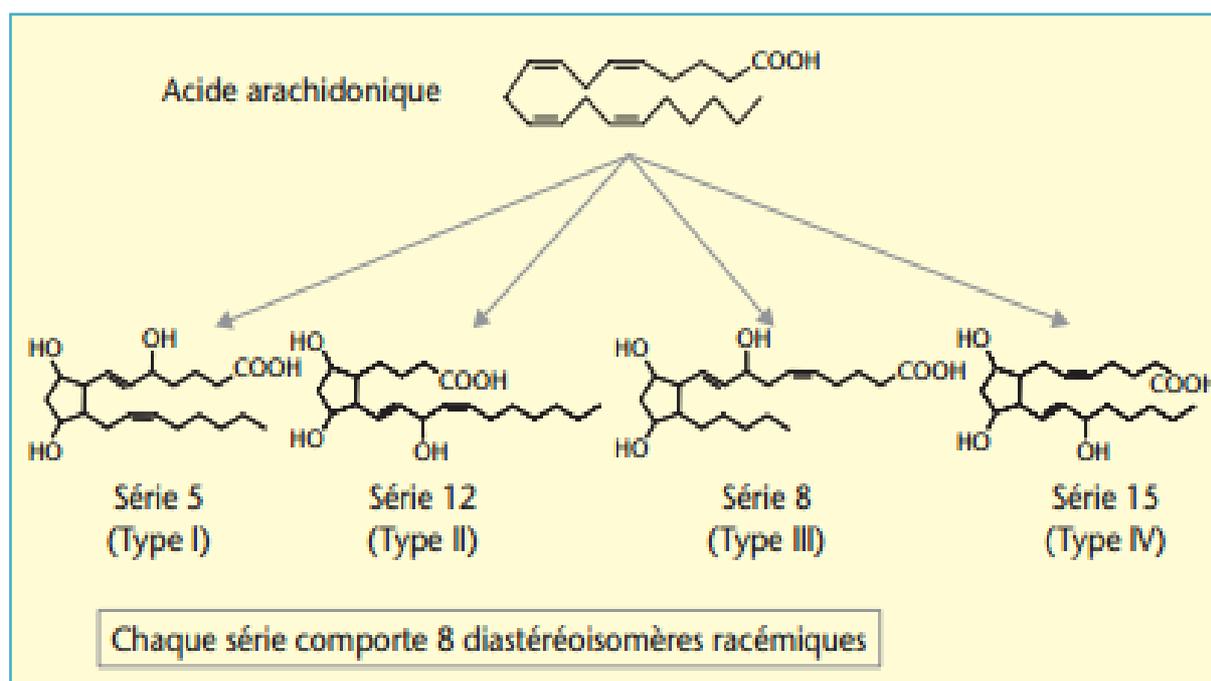


Figure 11:Génération des différentes familles d'isoprostanes (**Guichardant et al., 2006**)

II-2-4- Les 4-hydroxy-alkénals

Ils dérivent comme pour le MDA de la scission des hydroperoxydes formés au cours de la peroxydation lipidique (**Guichardant *et al.*, 2006**).

III -Oxydation des acides nucléiques

En fait, dans une cellule normale de mammifères, l'ADN est sujet à des attaques radicalaires "physiologiques", et c'est entre autre pour cette raison que la nature a mis en place des systèmes de réparation de l'ADN.

La 8-hydroxydéoxyguanosine (8OH-dG) est en fait un adduit qui résultant de l'attaque de la guanosine par un radical OH^\bullet (**figure12**). Dans l'ADN nucléaire, on estime qu'une guanosine sur 130000 est oxydée sous la forme de 8OH-dG. La réparation de ces lésions se traduit par l'élimination de la 8OH-dG qui peut notamment être dosée dans l'urine et constitue un biomarqueur de lésion de l'ADN. Si de telles modifications des bases nucléiques sont mal réparées, elles peuvent donner lieu à la formation de mutations qui participeront éventuellement à un processus de cancérogenèse. Ainsi la guanine est normalement associée via 3 ponts hydrogène à la cytosine ; la 8OH-dG se liera à l'adénine via 2 ponts hydrogènes si ce mésappariement n'est pas corrigé par les mécanismes d'excision –réparation, une mutation (transversion CG \rightarrow AT) sera engendrée à la prochaine division cellulaire (**Robert *et al.*, 2007**).

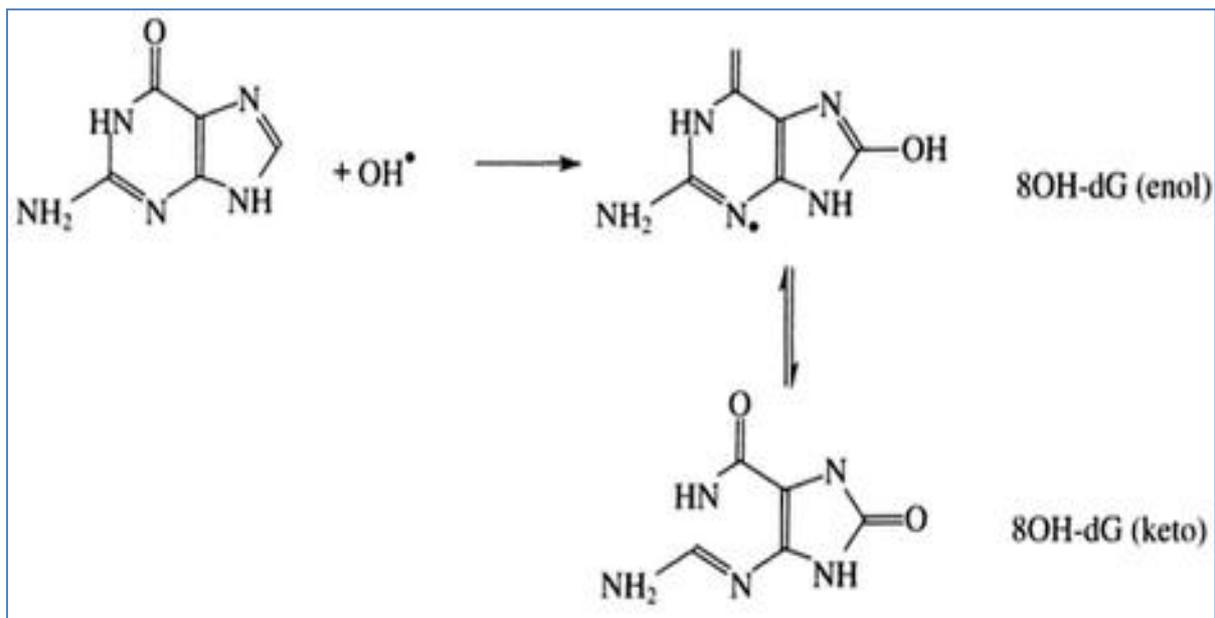


Figure 12: Formation de 8-hydroxydéoxyguanosine (**Robert *et al.*, 2007**)

Il est très difficile de détecter des lésions oxydatives sans oxyder artificiellement l'ADN au cours de la préparation des échantillons; l'expression des résultats de 8-OHdG à partir d'ADN nucléaire provenant de cellules ou de tissus est ainsi souvent normalisée par rapport à la base non modifiée (**Beaudeau et Durand, 2011**).

IV- Radicaux libres chez le sujet sain

En quantité modérée, des radicaux libres (RLs) sont des éléments indispensables à la vie, car ils remplissent de nombreuses fonctions physiologiques au cours de la croissance ou de la défense de l'organisme (**Barouki, 2006**). La mort cellulaire programmée est l'une des principales fonctions déclenchées par le SO, elle est considérée comme un phénomène naturel qui se produit pendant le développement normal. Des ERO sont impliquées lors du développement comme molécules de signalisation et dans la modulation de la plasticité synaptique. L'augmentation du taux des RLs avec l'âge pourrait causer indirectement des dégâts au niveau cérébral en favorisant le vieillissement cognitif (**Belaïch et Boujraf, 2016**).

IV-1-Relation entre l'hémodialyse et le stress oxydant

Le stress oxydant est une composante majeure de l'inflammation associée à l'insuffisance rénale chronique et majorée par l'hémodialyse (**Descamps et Witko, 2003**). Il existe une prévalence élevée du SO chez les hémodialysés, due à la maladie elle-même, et à l'insuffisance du système de défense antioxydant chez les hémodialysés secondaire à la malnutrition, avec diminution de l'absorption des antioxydants alimentaires et à la réduction de nombreux antioxydants lors de la dialyse. Plusieurs études ont montré que les patients atteints d'IRC présentent un état inflammatoire chronique, vu que des niveaux élevés des marqueurs inflammatoires, telle la protéine C réactive (CRP), étaient associés à une perte excessive de la fonction rénale. Le taux des marqueurs inflammatoires est très élevé dans l'IRC avant tout traitement de suppléance rénale, ce qui suggère que la maladie elle-même est la cause la plus importante de l'état inflammatoire. Cette hypothèse a été confortée par la mise en évidence d'une forte activation des monocytes et d'une s'accroissant progressivement avec la progression de la maladie rénale. La dysfonction rénale peut provoquer directement l'augmentation des marqueurs inflammatoires, par l'intermédiaire du SO, qui pourrait conduire à l'accumulation des produits toxiques responsables de l'activation des monocytes et de la production des cytokines (**Belaïch et Boujraf, 2016**).

- **Impact de l'hémodialyse**

Une prévalence élevée de l'état inflammatoire chez les patients hémodialisés, observée indépendamment de toute infection ou néoplasie, est synchronisée du SO élevé chez ces patients

Une relation synergique entre le stress oxydant et la réponse inflammatoire a été établie par le fait que les ERO, tel le peroxyde d'hydrogène, peuvent activer des facteurs de transcription, comme la protéine nucléaire factor-kappa B (NF-kB) impliquée dans la réponse inflammatoire cellulaire (**Belaïch et Boujraf, 2016**).

Matériel et méthodes



I-Matériel et méthodes

I-1-Matériel

I-1-1-Population d'étude

Notre étude a été réalisée dans une période de 5 mois (du janvier au mai 2017). Nous avons travaillé sur 155 patients (F=66,H=89) hémodialysés ainsi que 33 sujets sains (groupe témoin) (F=14,H=19). L'échantillon est constitué de manière aléatoire à partir des malades venu de régions différentes de la wilaya de Tébessa consultant au niveau des services de l'établissement hospitalière ALIA SALEH (Tébessa) (N=82) et MOHAMED CHBOUKI (Chéria) (N=73). Chaque malade se présentant au service de médecine homme ou femme est soumis à une consultation pour déterminer le stade d'IRC. Si le patient est en stade débutant ou modéré, il est soumis à un suivi médical, tandis que s'il est en stade sévère ou évolué, il est souvent hospitalisé. Et les malades qui sont en stade terminale sont orientés vers le service d'hémodialyse. Ces derniers constituent notre population d'étude. Les causes initiales de l'hémodialyse de la région de la Tébessa sont très variées: L'hypertension artérielle (HTA) était le facteur le plus rencontré chez 56% (N=55) des patients, puis la néphropathies diabétique à 34% (N=19) et ensuite 8% (N=8) présentent des différentes maladies (pyélonéphrites chronique, glomérulo-néphrite aigüe et uropathie congénitale).

I-1-2-Méthode de prélèvement du sang

Un échantillon du sang a été prélevé par ponction intraveineuse le plus souvent, prélevé dans les veines superficielles du pli du coude au niveau de la fistule artério-veineuse sur les patients avant la dialyse. Le sang a été récupéré dans des tubes héparinés pour l'urée, Créatinine, Acide urique, Calcémie, Phosphore, Fer, Glycémie, Cholestérol, Triglycéride et l'albumine. Les tubes EDTA pour l'hémoglobine et l'hématocrite.

Le sang prélevé a été centrifugé à l'aide de 4000 tours/min pendant 10min, dans le même jour du prélèvement pour récupérer le sérum.

I-1-3- Réactifs

Nous avons utilisés les produits de « Sigma » pour le dosage des paramètres au niveau de laboratoire de la faculté. Pour les paramètres dosés au niveau de laboratoire d'analyses médicales de l'établissement hospitalière **ALIA SALEH** à **Tébessa** et l'hôpital **MOHAMED CHBOUKI** à **Chéria**, les réactifs sont des coffrets

commercialisés de « Biomagreb » et nous avons suivi les instructions données par le fabricant.

II-Méthodes

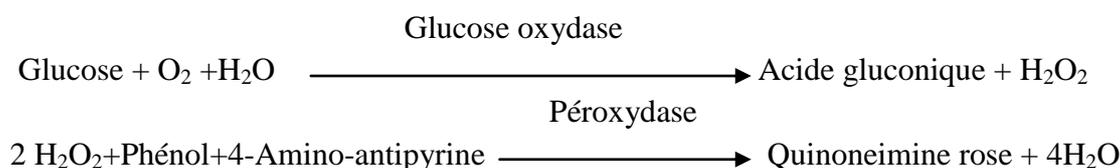
II-1-Paramètres biochimiques

II-1-1-Dosage de glucose

• **Principe**

Le dosage de la glycémie a été effectué par une méthode enzymatique et calorimétrique appelé la réaction de TINDER en utilisant un coffret biomagreb.

Détermination enzymatique du glucose selon les réactions suivantes :



• **Mode opératoire**

- Longueur d'onde :..... 505 nm (492-550)
- Température :..... 37° C (20-25°C)
- Cuve :..... 1 cm d'épaisseur
- Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif (voir l'annexe).

	Blanc	Standard	Échantillon
Standard	----	10 µl	----
Echantillon	----	----	10 µl
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

Mélanger, lire les DO après une incubation de 10 minutes à 37 °C ou 30 mn à 20-25 °C.
La coloration est stable 30 minutes.

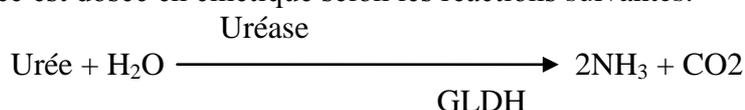
II-1-2-Dosage de l'urée

• **Définition**

L'urée est un déchet azoté qui provient de la dégradation des protéines par le foie. Filtrée par les reins, l'urée est ensuite éliminée dans les urines (Pierrick, 2016).

• **Principe de dosage**

L'urée est dosée en cinétique selon les réactions suivantes:





GLDH: Glutamate déshydrogénase.

- **Mode opératoire**

- Longueur d'onde : 340 nm
- Température : 25-30-37°C
- Cuve : 1 cm d'épaisseur
- Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

	Etalon	Dosage
Solution de travail	1ml	1ml
Préincuber à la température choisie (25, 30 ou 37°C)		
Réactif 3 (Etalon)	10 µl	
Échantillon		10 µl

-Mélanger, mesurer la diminution de DO entre : t = 20 secondes et t = 80 secondes.
(voir l'annexe).

II-1-3-Dosage de la créatinine

- **Définition**

La créatinine est une substance issue de la dégradation de la créatine au niveau des cellules musculaires. C'est un simple déchet organique qui doit normalement être évacuée par voie urinaire après passage par les reins. Elle est très utile en médecine pour évaluer la fonction d'élimination effectuée par les glomérules rénaux. Le DFG, ou débit de filtration glomérulaire, est estimé par le calcul de la clairance de la créatinine en fonction du taux de créatinine dans le sang (créatininémie) mais aussi de l'âge, du sexe et du poids de l'individu. Il n'y a pas de valeur supérieure de la clairance, mais en dessous de 60 ml/min, on commence à parler d'insuffisance rénale (Pierrick, 2014).

- **Principe de dosage**

La créatinine forme un complexe photométrable avec le picrate alcalin. Un dosage cinétique permet de s'affranchir des interférences dues, notamment, à la bilirubine (Pierson, 2008).

- **Mode opératoire**

- Longueur d'onde:492 nm (490 - 510)
- Température:.....25 - 30 ou 37 °C

- Cuve:.....1 cm d'épaisseur
- Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée (voir l'annexe).

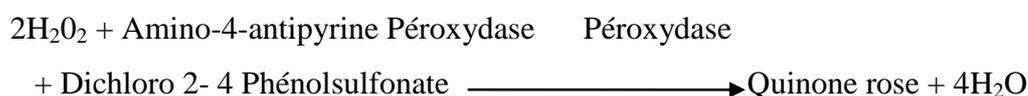
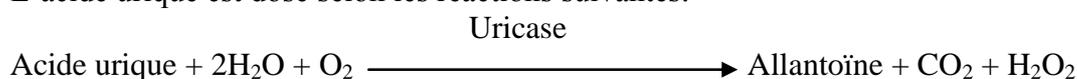
	Standard	Échantillon
Standard	100µl	---
Échantillon	---	100µl
Réactif de travail	1ml	1ml
Mélanger et lire les densités optiques DO₁ après 30 sec		
Lire ensuite DO₂ exactement 1min après		

II-1-4-Dosage de l'acide urique

Il provient de la destruction des noyaux des cellules contenues dans l'alimentation, et des déchets issus de la dégradation des bases puriques (**Barham et Trinder, 1980**).

- **Principe**

L'acide urique est dosé selon les réactions suivantes:



- **Mode opératoire**

-Longueur d'onde :.....510 nm (490-550)

-Température :.....20-25°C ou 37°C

-Cuve :.....1 cm d'épaisseur

-Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif (voir l'annexe).

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard		20 µl	
Echantillon			20 µl
Réactif de travail	1 m	1 m	1 m
Mélanger, lire les DO après une incubation de 5 min. à 37° C ou de 10 min. à 20 - 25°C. La coloration est stable 30 minutes.			

II-1-5 Dosage de Calcémie

- **Principe**

Le calcium forme avec le complexant crésolphtaléine en milieu alcalin un composé coloré en violet dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en calcium.

- **Mode opératoire**

-Longueur d'onde :..... 570 nm (550-590)

-Température :..... 20 - 25°C

-Cuve :..... 1 cm

-d'épaisseur Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif (voir l'annexe).

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	----	20 µl	----
Echantillon	----	----	20 µl
Mélange réactif	1 ml	1ml	1ml

-Mélanger et Incuber 5 minutes à température ambiante, Lire les densités optiques. La coloration est stable 1 heure.

II-1-6-Dosage de phosphore

- **Principe**

Le phosphore inorganique est dosé selon la réaction suivante:

Phosphore

Molybdate d'Ammonium + Acide Sulfurique \longrightarrow Complexe phospho-molybdique

- **Mode opératoire**

-Longueur d'onde :.....340 nm

-Température :.....20-25°C

-Cuve.....1 cm

-D'épaisseur Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif (voir l'annexe).

	Blanc	Étalon	Échantillon
Standard	-----	10 µl	----
Échantillon	-----	----	10 µl
Réactif de travail	1ml	1ml	1ml

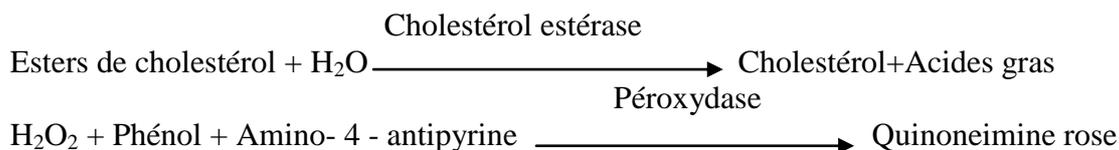
Mélanger et lire les DO après une incubation de 5 minutes.

La coloration est stable 30 minutes.

II-1-7-Dosage de cholestérol

- **Principe**

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino-4-antipyrine en présence de phénol et de peroxydase. Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :



La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

- **Mode opératoire**

- Longueur d'onde :.....505 nm (500 - 550)
- Température :.....37°C
- Cuve :.....1 cm d'épaisseur
- Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif (voir l'annexe).

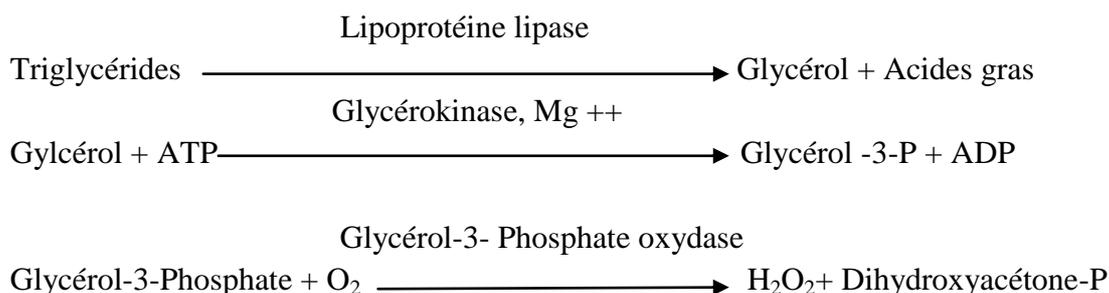
	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	----	10 µl	----
Echantillon			10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

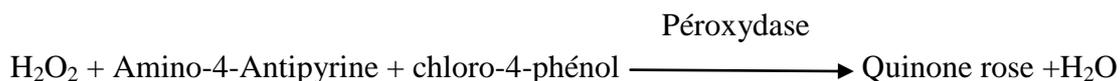
Mélanger, lire les densités optiques après une incubation de 5 min. à 37° C.
La coloration est stable 30 minutes.

II-1-8-Dosage de triglycéride

- **Principe**

Les triglycérides sont déterminés selon les réactions suivantes :





- **Mode opératoire**

- Longueur d'onde :.....505 nm (490-550)
- Température :.....37°C
- Cuve :.....1 cm d'épaisseur
- Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif

	BLanc	Standard	Echantillon
-Standard	----	10 µl	----
-Echantillon	----	----	10 µ
-Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

-Mélanger et lire les DO après incubation de 5 min à 37°C ou de 10 min à 20-25°C.

-La coloration est stable 30 minutes (voir l'annexe).

II-1-9-Dosage de l'albumine

- **Principe**

Dosage colorimétrique de l'albumine sérique avec le vert de bromo-crésol.

- **Mode opératoire**

- Longueur d'onde628 nm
- Température20-25°C
- Cuve.....1 cm d'épaisseur
- Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif (voir l'annexe).

	Blanc Réactif	Etalon	Echantillon
Echantillon			10 µl
Etalon (R2)	----	10 µl	----
Réactif (R1)	2 ml	2 ml	2 ml

Mélanger. Lire les DO après une incubation de 5 mn à 20-25°C.

La coloration est stable 30 mn

II-1-10-Dosage de Fer

- **Principe**

A pH 4,8 le fer Ferrique (Fe ⁺⁺⁺) est libéré instantanément de la transferrine. L'acide ascorbique le réduit en fer ferreux (Fe⁺⁺). La ferrozine forme avec le fer ferreux, un complexe colore soluble, mesurable de 560 à 580 nm.

- **Mode opératoire**

- Longueur d'onde :..... 562 nm (530-590)

-Température :..... 20 - 25°C

-Cuve :..... 1 cm d'épaisseur

1- Avec préparation préalable du réactif B

Échantillon	Blanc Réactif	Standard	Blanc Échantillon	Dosage
-Eau distillée	200 µl			
- Standard R4		200 µl		
-Echantillon -Sérum Malade - Sérum Contôle			200 µl	200 µl
Réactif A			1 ml	
Réactif B	1 ml	1 ml		1 ml

- Mélanger et incuber 10 min à température ambiante

- Lire les densités optiques : Faire le zéro de l'appareil

- Réactif A pour les blancs échantillons

- Blanc Réactif pour le standard et les échantillons

2- Sans préparation du réactif B

	Blanc Réactif	Standard	Échantillon	
			Blanc échantillon	dosage
Réactif A	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Réactif 3	40 µ	40 µ		40 µ
Eau distillée	200 µ	200 µ		
Standard R4			200 µ	200 µ

-Echantillons - Sérum Malade - Sérum contrôle				
---	--	--	--	--

- Mélanger et incuber 10 min à température ambiante
- Lire les densités optiques : Faire le zéro de l'appareil
- Réactif A pour les blancs échantillons
- Blanc Réactif pour le standard et les échantillons (voir l'annexe).

II-1-11- Dosage de hémoglobine

- **Principe**

Dosage de l'hémoglobine par transformation en cyanméthémoglobine sous l'action du ferricyanure de potassium et de cyanure de potassium.

- **Mode opératoire**

- Solution de travail: Réactif concentré de Drabkin R1.....1
- volume Eau distillée..... 49 volumes.

- **Stabilité** 1 mois à 20-25° (ne pas placer au réfrigérateur).
- **Longueur d'onde** : 540nm
- **Zéro de l'appareil** : Solution de travail.

	Dosage
Echantillon Solution de travail de Drabkin	20 µl
Homogénéiser et photométrer	5 ml

- **Stabilité de la coloration** : 1 heure (éviter d'exposer le milieu réactionnel à une lumière trop vive) (voir l'annexe).

II-1-12-Numération formule sanguine (FNS)

Il s'agit d'un examen de laboratoire très utilisé, qui montre la composition du sang il fournit des informations sur la production de toutes les cellules du sang révèle la capacité de transport de l'oxygène par les indicateurs des globules rouges: l'hémoglobine et les hématocrites. Il fournit également des renseignements sur le système immunitaire par le décompte des globules blancs.

Il est réalisé à partir d'un échantillon de sang recueilli dans un tube contenant un anticoagulant sec de type EDTA.

II-2-Dosage des paramètres du stress oxydant

II-2-1-Dosage de malon-dialdéhyde (MDA)

Le MDA est dosé par la méthode colorimétrique en présence de l'acide thiobarbiturique. Le MDA est un produit des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lors de l'attaque des lipides membranaires par les radicaux libres. Dans notre étude, la détermination de la concentration est réalisée par la réaction de celui-ci avec deux molécules de l'acide Thio-barbiturique (TBA) à une température de 100°C pendant 1H. Le dosage repose sur la formation d'un pigment coloré (rose) absorbant à 532 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol (Okhawa et al, 1979).

- **Mode opératoire**

-On met 500µl de sérum dans un tube puis on ajoute 1ml d'acide trichloracétique (TCA) et 1ml d'acide thio-barbiturique (TBA).

-Les tubes sont incubés dans un bain marie pendant 1H à 100 C°.

-Les tubes sont Centrifugés pendant 10minutes à 1000 tours/min.

-La densité optique est mesurée au spectrophotomètre à 532 nm.

- **Calcul de la concentration du MDA:** Le calcul de la concentration du MDA est fait selon la formule: $C=A/\epsilon.L$

- C= la concentration
- $\epsilon=1.56.10^5.M^{-1}.cm^{-1}$
- L=1cm

II-2-2-Dosage des nitrites

Le dosage des nitrites est basé sur la réaction de Griess qui à l'origine faisait réagir une première amine aromatique pour former un diazoïque, qui se couplait à une seconde amine aromatique pour former un colorant rose analysable en spectrométrie UV-Visible, vers des longueurs d'ondes comprises entre 520 et 560nm.

De nos jours, on utilise la sulfanilamide qui réagit avec les ions nitrites en milieu acide, pour former un diazoïque qui réagit alors avec le N-naphtyl-éthylénediamine, le composé formé absorbe à 542 nm.

Des quantités du sérum ajoutées à des volumes équivalents du réactif de Griess (R1+R2) et incubés pendant 10min à 37 C°. L'absorbance des échantillons est mesurée à 542nm. La concentration de nitrite dans les échantillons est déterminée par

comparaison aux valeurs obtenues pour une courbe standard de NaNO_2 réalisée en parallèle.

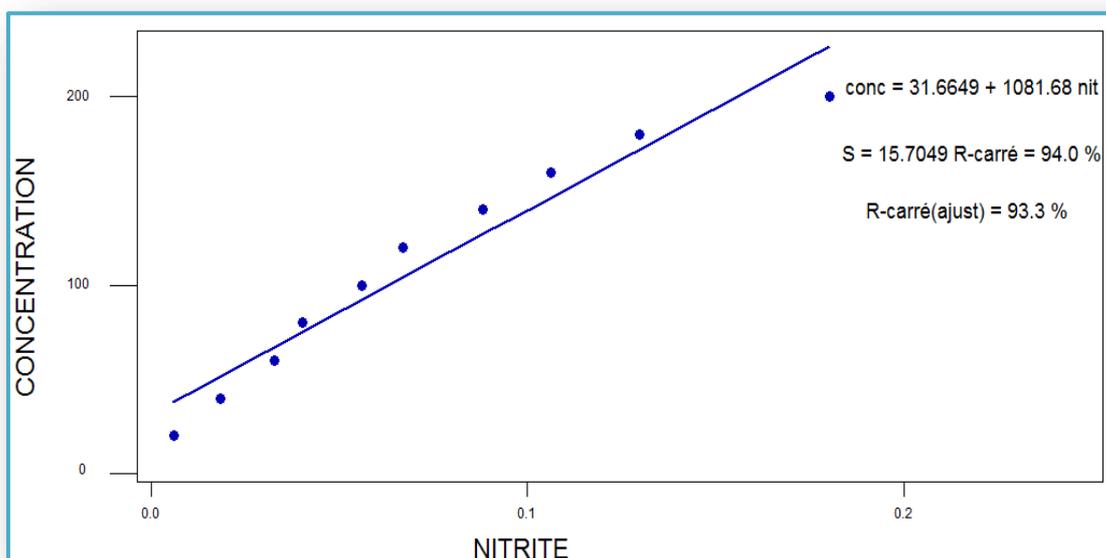


Figure 13: Courbe d'étalonnage des nitrites

II-2-3- Dosage de l'albumine oxydée

C'est une analyse rapide et colorimétrique a été développée pour examiner les échantillons humains de sérum pour réduire la liaison du cobalt à l'albumine.

- **Mode opératoire**

- Prélever 200 μl de sérum.
- Ajouter 50 μl du réactif de 0,1% de chlorure de cobalt (sigma, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) dans H_2O .
- Agiter et laisser reposer 10 min pour permettre une liaison entre le cobalt-albumine
- Ajouter 50 μl de dithiothreitol (DTT) (sigma, 1,5 mg / ml H_2O).
- laisser reposer 2 min.
- Ajouter 1ml de 0,9% de NaCl.
- Lire la densité optique à 470nm, contre le blanc (sérum-DTT sans cobalt) (**Bar-Or et al, 2000**).

II-2-4-Dosage des protéines totaux

- **Principe**

la concentration de protéines est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie (G250) comme réactif. Cette méthode est basée sur un dosage colorimétrique. Les groupements amines ($-\text{NH}_2$) des protéines

réagissent avec un réactif à base de l'acide orthophosphorique, de l'éthanol et de bleu de Coomassie pour former un complexe coloré (de couleur bleue) présentant un maximum d'absorption à 595nm la coloration, très sensible peut être effectuée très rapidement et reste stable pendant 30min. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité établit la concentration des protéines dans l'échantillon.

Une gamme étalon a été préparée à partir d'une solution de BSA à 0.1% un volume de 3 ml de réactif de Bradford est ajoutée dans chaque tube. La lecture des DO se fait à $\lambda=595\text{nm}$. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine(BSA) (1mg/ml) réalisée dans les mêmes conditions.

- **Mode opératoire**

- Prélever 100 μl de sérum.
- Ajouter 3ml du réactif de Bradford.
- Agiter et laisser reposer 10min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur.
- Lire la densité optique à 595nm, contre le blanc.
- La densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée.

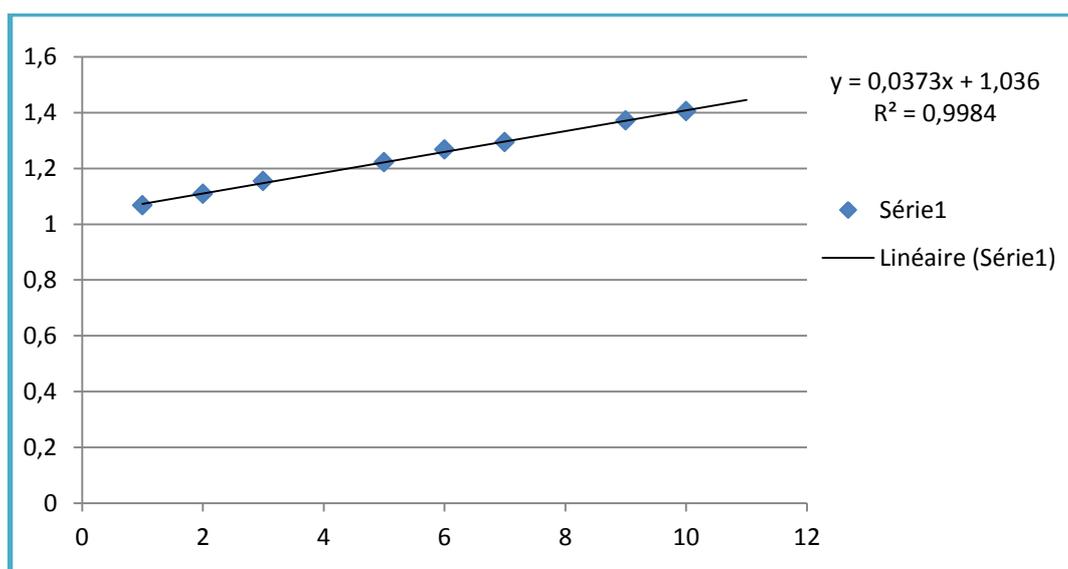


Figure 14: Courbe d'étalonnage des protéines totales

III-Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été représentés sous formes de moyenne plus ou moins l'écart type moyen. Ces moyennes sont comparées par un test T de **student** grâce au logiciel MINITAB (version 17). Le seuil de signification (P) a été fixé à 5%.

S'il y a des différences significatives entre les moyennes on rejette l'hypothèse d'égalité.

- Significative lorsque ($P \leq 0.05$)
- Hautement significative comparant au témoins ($P \leq 0.01$).



Résultats

I-Répartition des patients hémodialysés selon l'âge et le sexe

Pour déterminer la tranche d'âge la plus affectée par l'insuffisance rénale chronique, nous avons établi la répartition de l'effectif total par classes d'âge et nous avons ensuite calculé le nombre d'individus hémodialysés dans chacun des classes. Pour cela, nous avons en première lieu déterminé le nombre de classe et l'amplitude, par la règle de **Yule** pour obtenir le nombre des classes.

-Nombre des classes = $2.5 \cdot \sqrt[4]{n}$.

-L'amplitude de classe

A= (la plus grand valeur observé-la plus petit valeur observé) / nombre de classes.

-Détermination du pourcentage = (effectif partiel*100)/effectif total.

1- Répartition des patients hémodialysés selon l'âge

Au niveau de l'établissement hospitalier ALIA SALEH à **Tébessa T**, les résultats obtenus sont représenté dans le tableau 02 et la figure 14 avec une prédominance des cas dans la tranche d'âge entre 40 et 64 ans.

Tableau 02: pourcentage de nombre des patients hémodialysés selon les classes d'âge

Au niveau du centre de l'établissement ALIA SALEH à Tébéssa.

Les classes	N	Pourcentage %
[16-40[26	31.71
[40-64[41	50
[64-88]	15	18.29
Totales	82	100

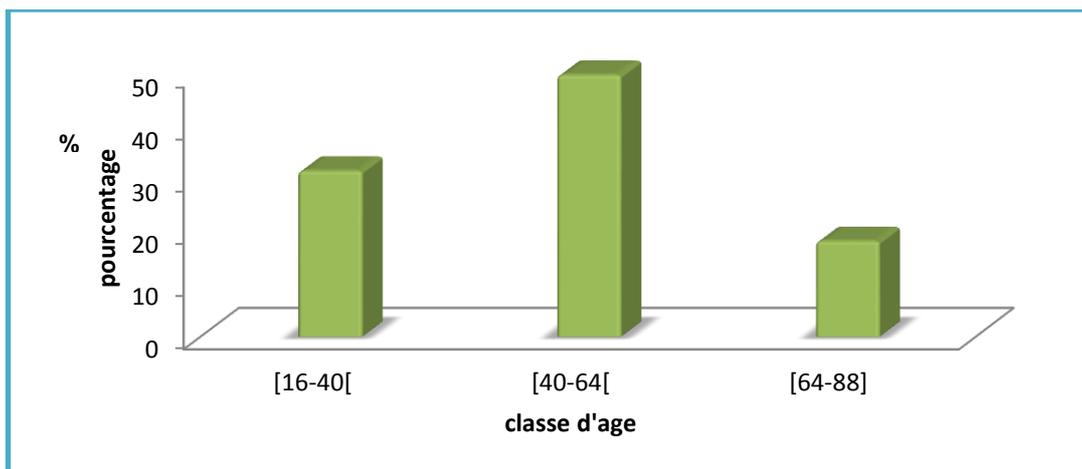


Figure 15: Pourcentage de nombre des patients hémodialisés selon les classes d'âge (Tébessa)

Au niveau de l'établissement hospitalier MOHAMED CHBOUKI à Chéria C, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 03 et la figure 16 avec une égalité dans la distribution dans la tranche d'âge entre 18 et 41 ans et la tranche d'âge entre 41 et 64 ans.

Tableau 03: pourcentage de nombre des patients hémodialisés selon les classes d'âge

Au niveau du centre de l'établissement MOHAMED CHBOUKI à Chéria

Les classes	n	Pourcentage %
[18-41[29	39.72
[41-64[32	43.83
[64-87]	12	16.44
Totales	73	100

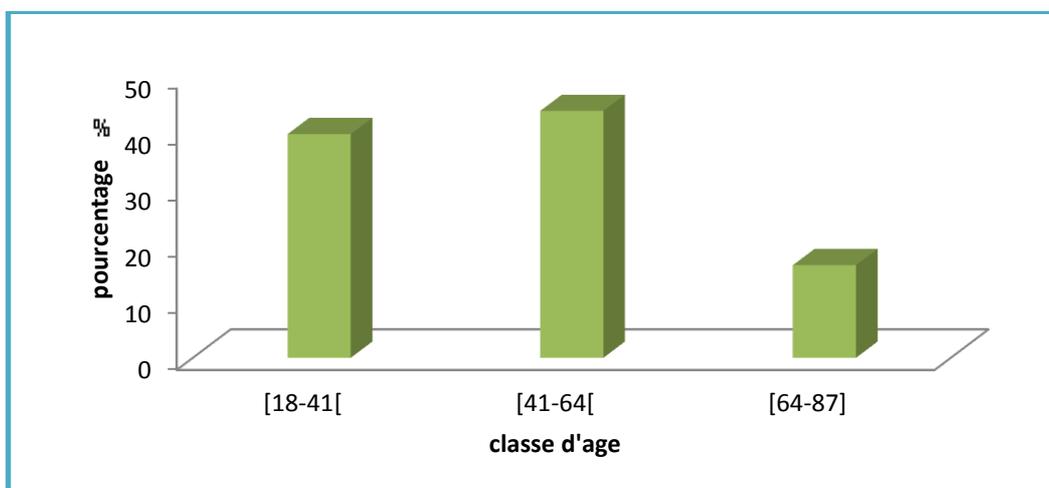


Figure 16: Pourcentage de nombre des patients hémodialisés selon les classes d'âge (Chéria)

2- Répartition des patients hémodialysés selon le sexe

Au niveau de l'établissement hospitalier ALIA SALEH à **Tébessa T**, les résultats obtenus sont représenté dans le tableau 04 et la figure 17 avec une répartition inégale dans la fréquence d'atteinte chez les femmes en fonction de l'âge par rapport aux hommes.

Tableau 04: pourcentage de nombre des hommes et femmes hémodialysés selon les classes d'âge Au niveau du centre de l'établissement ALIA SALEH à **Tébessa**.

Les classes	nF	Nh	F%	H%	P
[16-40[7	19	19.45	41.31	0.005
[40-64[21	20	58.33	43.47	
[64-88]	8	7	22.22	15.22	
Totales	36	46	100	100	

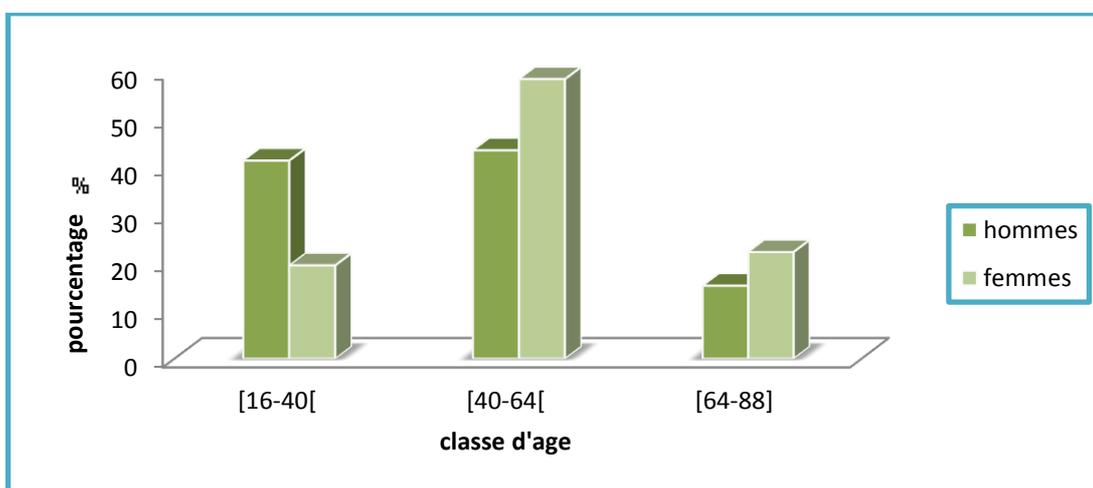


Figure 17: Pourcentage des hommes et femmes hémodialysés selon les classes d'âge (Tébessa)

Au niveau de l'établissement hospitalier MOHAMED CHBOUKI à **Chéria C**, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 05 et la figure 18 avec une égalité dans la distribution entre les sexes.

Tableau 05: pourcentage de nombre des hommes et femmes hémodialysés selon les classes d'âge Au niveau du centre de l'établissement MOHAMED CHBOUKI à **Chéria**.

Les classes	n F	n H	H%	F%	p
[18-41[11	18	41.86	36.67	0.742
[41-64[14	18	41.86	46.66	
[64-87]	5	7	16.28	16.67	
Totales	30	43	100	100	

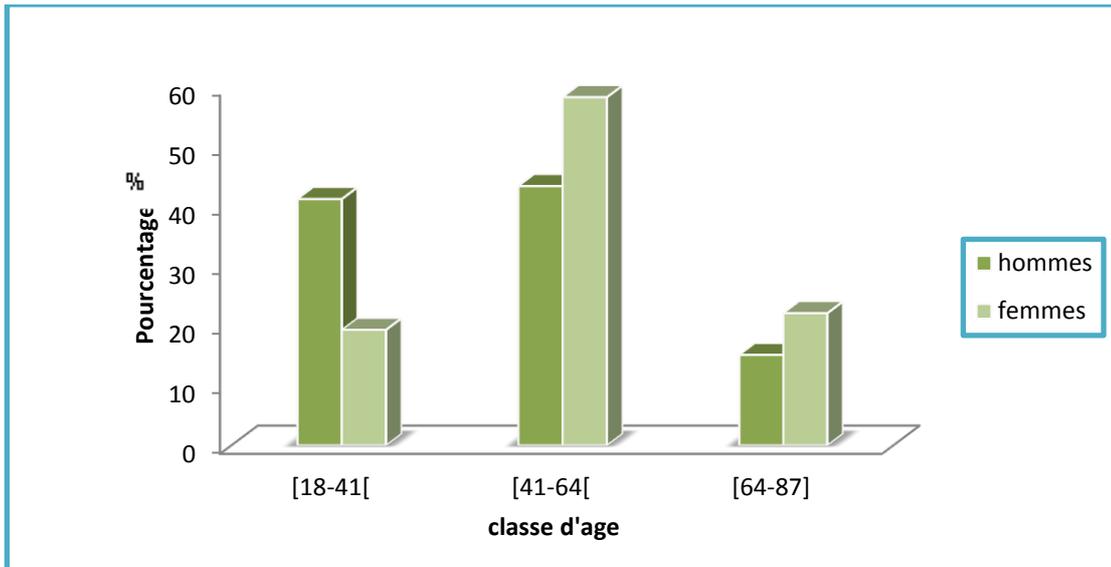


Figure 18: Pourcentage des hommes et femmes hémodialysés selon les classes d'âge (Chéria)

II-Les paramètres biochimiques

II-1-Dosage de glycémie

Nos résultats montrent une glycémie variable. Chez les patients P, elle est de (1.105 ± 0.066) g/l et alors que chez les patients C, elle est de (1.138 ± 0.429) g/l par apport aux témoins (0.974 ± 0.4) g/l.

Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les patients hémodialysés T et les sujets sains S ($P=0.198$). Egalement, aucune différence significative n'a été observé entre la glycémie des témoins S comparée à celle des patients hémodialysés C ($P=0.062$) (**figure 19**).

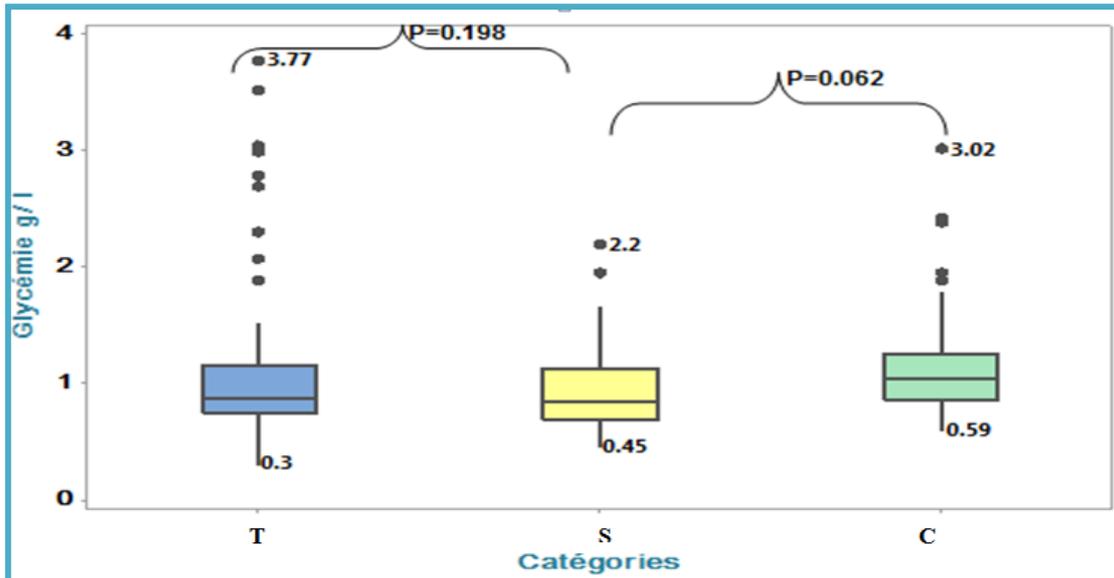


Figure 19: Variation des taux de glycémie chez les patients T, les patients C et les sujets sains S

II-2-Dosage de l'urée

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative ($P=0.000$) des taux de l'urée chez les patients T (1.139 ± 0.418) g/l ainsi que les patients C (1.570 ± 0.529) g/l par rapport aux témoins S (0.288 ± 0.114) g/l. Une différence hautement significative entre les patients T et les patients C ($P=0.000$) a également été remarquée (**Figure20**).

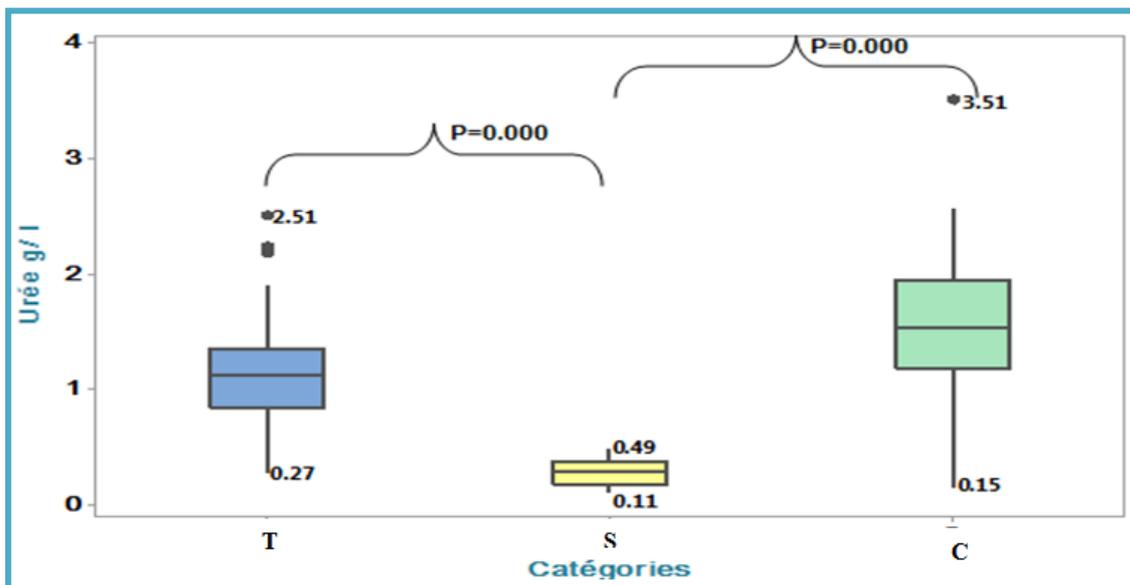


Figure 20: Variation des taux de l'urée chez les patients T, les patients C et les sujets sains S

II-3-Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine indique une augmentation hautement significative ($P=0,000$) chez les patients T ($90,4 \pm 27,5$) mg/l et les patients C ($83,8 \pm 24,7$) mg/l par rapport aux témoins S ($8,58 \pm 2,49$) mg/l. Par contre, aucune différence significative n'a été observé entre les taux de la créatinine des patients T comparée à celle des patients C ($P=0,119$) (**Figure21**).

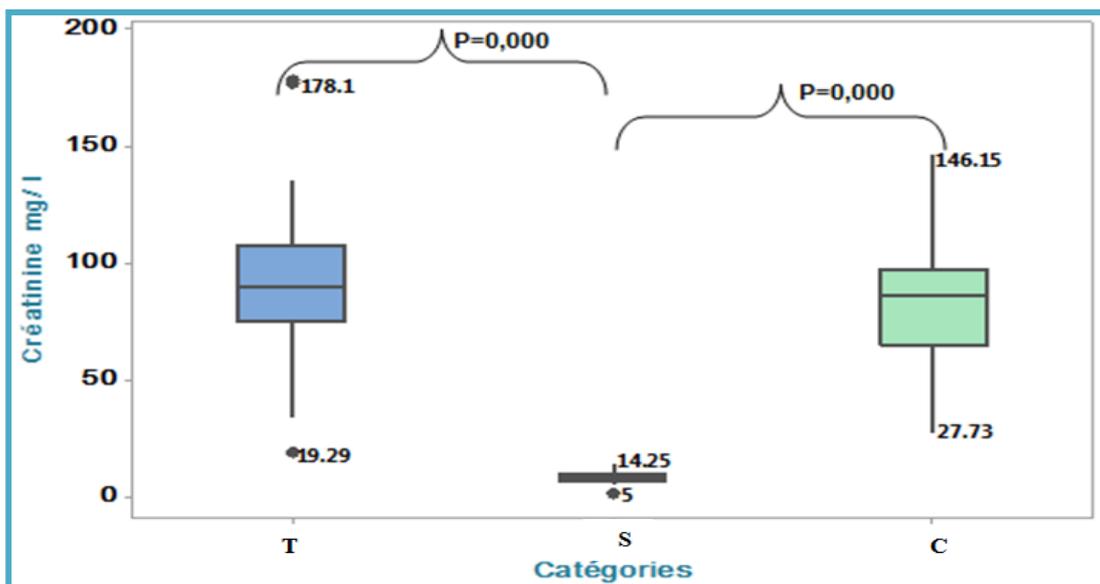


Figure 21: Variation des taux de la créatinine chez les patients T, les patients C et les sujets sains S

II-4-Dosage de l'acide urique

L'analyse des résultats obtenus montrent une différence hautement significative entre les patients T, les patients C et les témoins S et entre 02 patients T et les patients C ($P=0,000$). Nous avons observés une augmentation des taux d'acide urique chez les patients T ($80,7 \pm 30,8$) mg/l, chez les patients C ($59,6 \pm 18,2$) mg/l par rapport à ceux des témoins S ($42,9 \pm 14,8$) mg/l (**Figure22**).

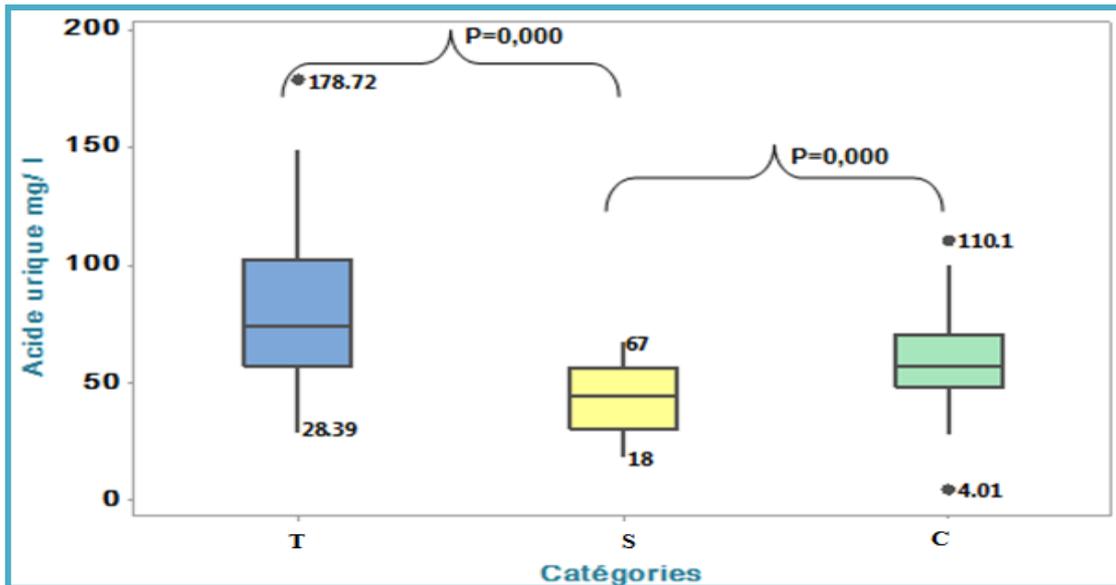


Figure 22: Variation des taux de l'acide urique chez les patients T, les patients C et les sujets sains S

II-5-Dosage de calcémie

L'analyse des résultats montrent une augmentation significative ($P=0.022$) des taux de calcium chez les patients T (88.5 ± 21.3) mg/l par rapport aux témoins S (80.6 ± 13.8) mg/l (**Figure23**).

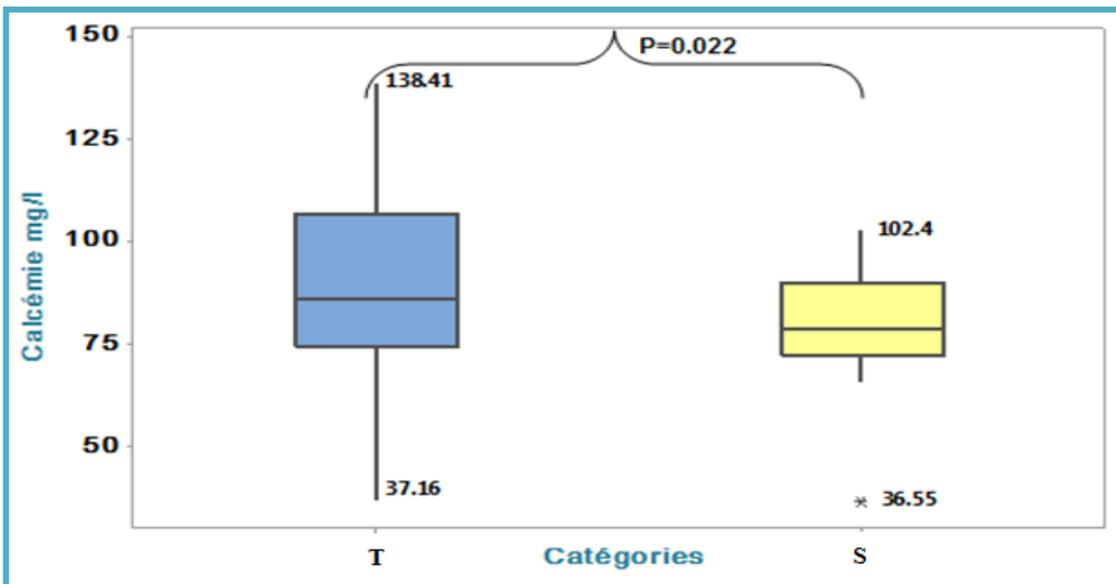


Figure 23: Variation des taux de calcium chez les patients T et les sujets sains S

II-6-Dosage de phosphorémie

Une augmentation de la phosphorémie chez les patients T avec (63.7 ± 36.4) mg/l par rapport aux témoins S (33.46 ± 7.73) mg/l. Nos résultats du dosage de phosphorémie indiquent une différence hautement significative ($P=0.000$) par rapport aux témoins (**Figure24**).

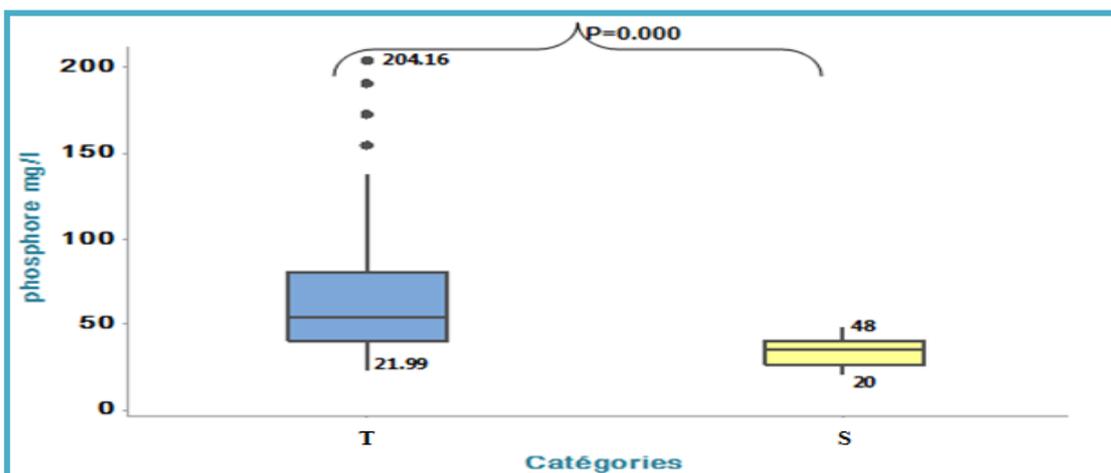


Figure 24: Variation des taux de phosphorémie chez les patients T et les sujets sains S

II-7-Dosage du cholestérol

Les taux de cholestérol chez les patients C a été de (2.018 ± 0.622) g/l alors que chez les témoins S (1.598 ± 0.315) g/l. Ce paramètre a été montré une augmentation hautement significative ($P=0.000$) chez les patients par rapport aux témoins (**Figure25**).

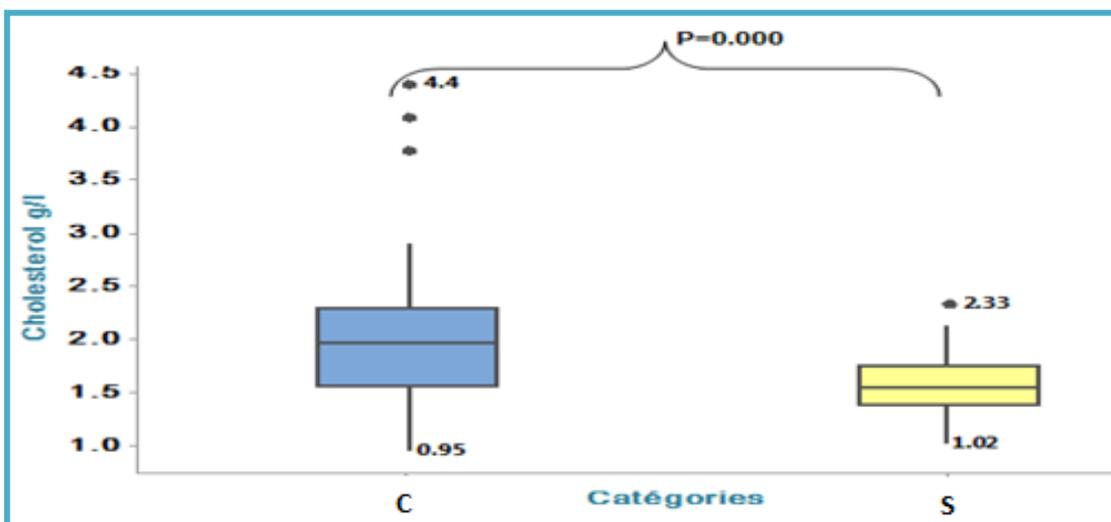


Figure 25: Variation des taux de cholestérol chez les patients C et les sujets sains S

II-8-Dosage de triglycéride

Nos résultats montrent une augmentation des taux de triglycéride chez les patients C (1.95 ± 1.36)g/l par rapport aux témoins S (0.962 ± 0.396) g/l. nous avons observés une différence hautement significative entre les patients C et les témoins S ($P=0.000$) (Figure26).

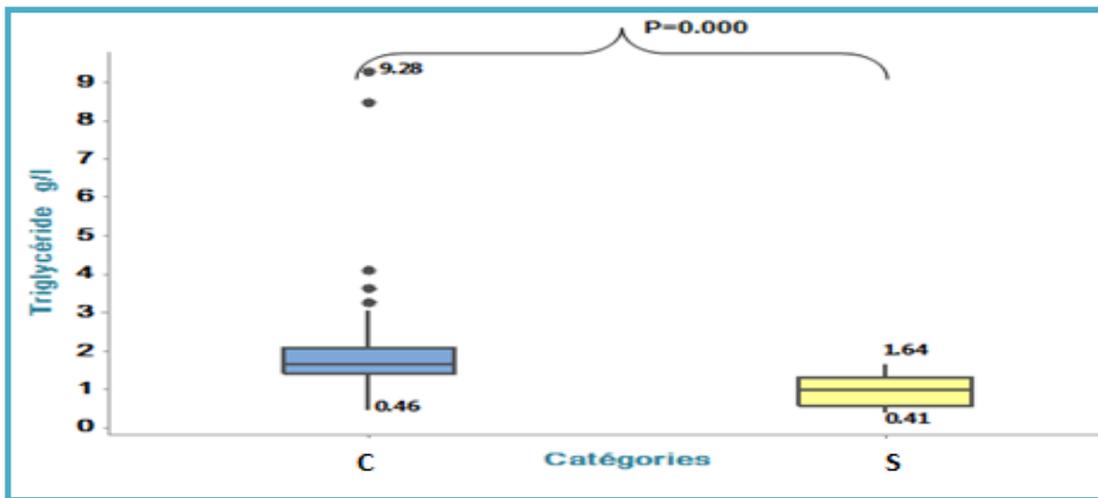


Figure 26: Variation des taux de triglycéride chez les patients C et les sujets sains S

II-9-Dosage de l'albumine

L'analyse des résultats de dosage de l'albumine ne montrent aucune différence significative ($P=0.547$). Nos résultats montrent une variable des taux de l'albumine chez les patients C (41.89 ± 7.60)g/ml par rapport aux témoins S (41.13 ± 5.18)g/ml (Figure27).

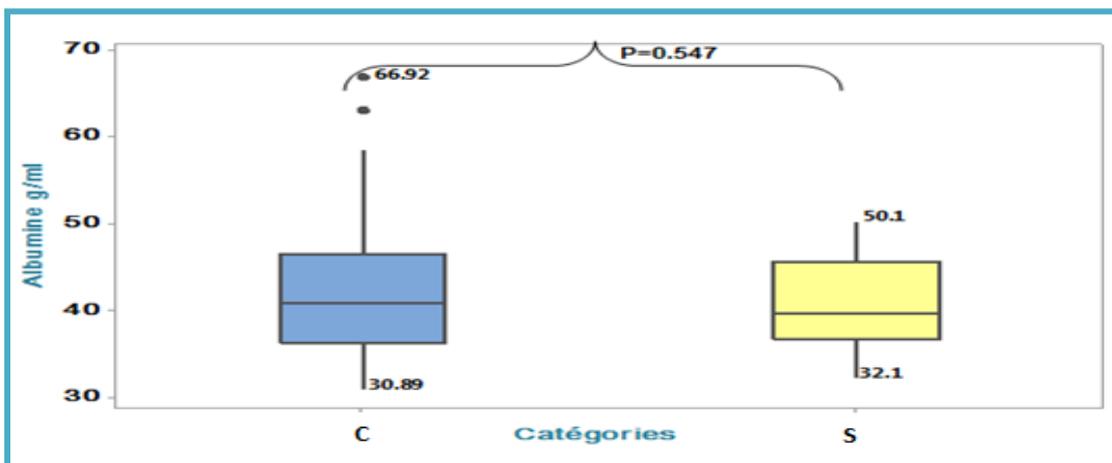


Figure 27: Variation des taux de l'albumine chez les patients C et les sujets sains S

II-10-Dosage de Fer

Nous avons observé une différence hautement significative (P=0.019) entre les patients T et les témoins S .Une diminution des taux de fer a été observée chez les patients P(79.5 ± 33.4)µg/dl par apport aux témoins (94.1 ± 27.7) µg/dl (**Figure28**).

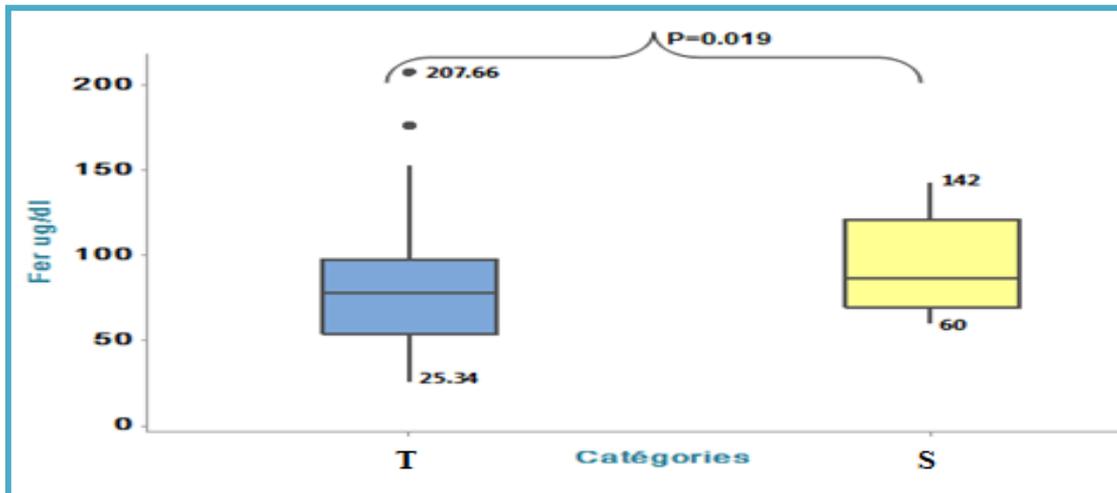


Figure 28:Variation des taux de fer chez les patients T et les sujets sains S

II-11-Dosage de l'hémoglobine

Les taux de l'hémoglobine chez les patients T a été de (10.69 ± 1.81)g/dl alors que chez les témoins S (13.24 ±1.43)g/dl.Ce paramètre a été montré une augmentation hautement significative (P=0.000) chez les patients par rapport aux témoins (**Figure29**).

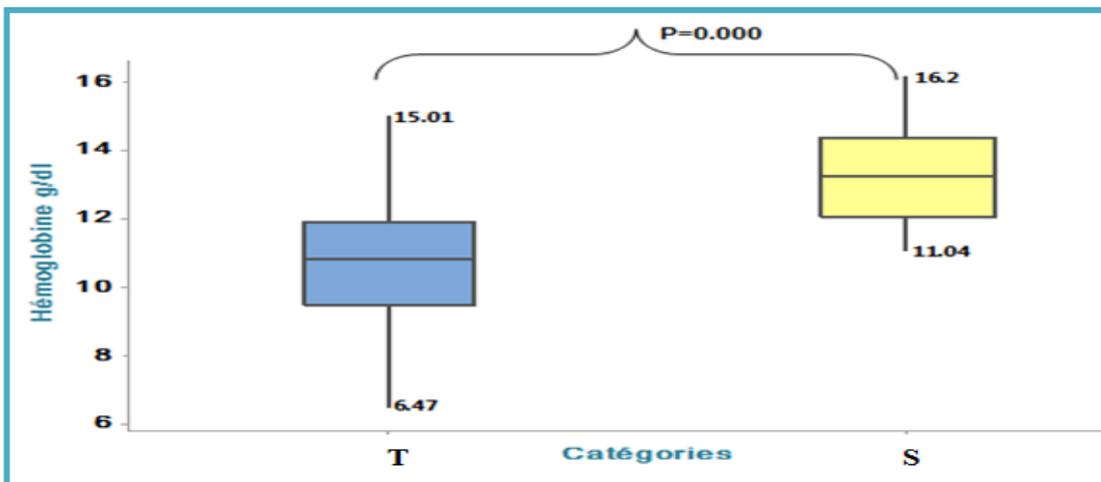


Figure 29:Variation des taux de l'hémoglobine chez les patients T et les sujets

II-12-Dosage de l'hématocrite

L'analyse des résultats de dosage l'hématocrite montrent une différence hautement significative ($P=0.000$) entre les patients et les témoins. Une diminution des taux de l'hématocrite a été observée chez les patients C (30.53 ± 5.28) % et les témoins T (44.36 ± 7.03) % (**Figure 30**).

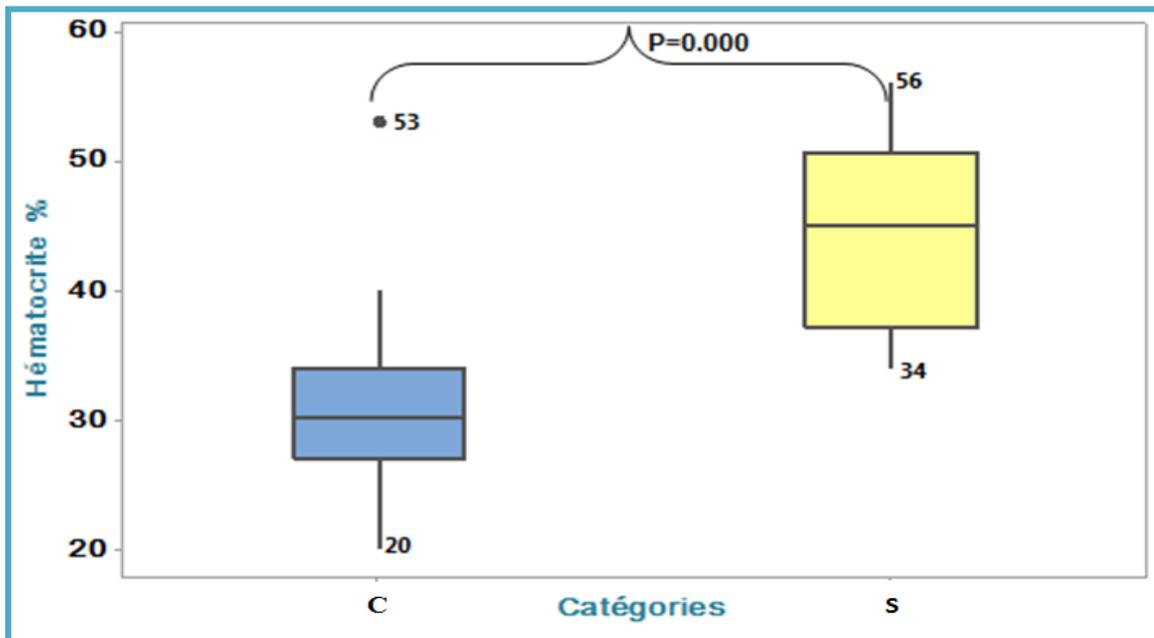


Figure 30: Variation des taux de l'hématocrite chez les patients C et les sujets sains S

III-Analyse les paramètres de stress oxydant

III-1-Mesure du malonyldialdéhyde (MDA)

Nos résultats montrent une augmentation des taux de l'MDA chez les patients (0.1396 ± 0.0450)mol par rapport aux témoins (0.0831 ± 0.0422)mol. Ce paramètre de l'MDA dans notre travail à montré une différence hautement significative chez les patients hémodialysé T par rapport aux témoins S ($P = 0.000$) (**Figure31**).

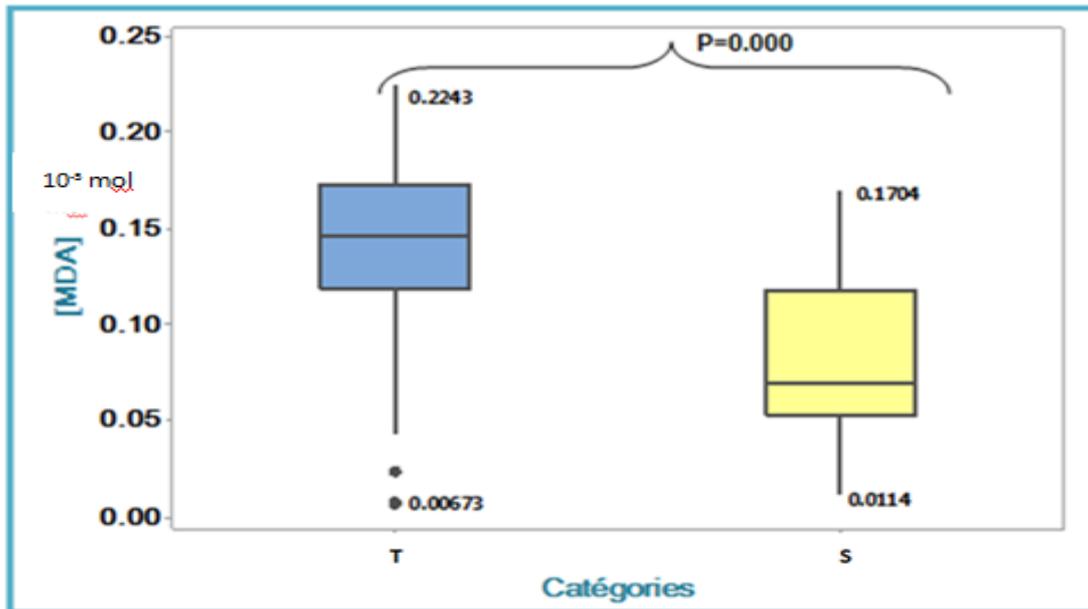


Figure 31: Concentration de MDA chez les patients T et les sujets sains S

III-2-Dosage des nitrites résiduels

L'analyse des résultats de dosage des nitrites résiduels dans les plasmas des patients et des sujets sains a montré une différence significative ($P=0.005$). Nous avons observés une augmentation des taux des nitrites résiduels chez les patients T (0.0684 ± 0.0483) μmol par apport aux témoins (0.0475 ± 0.0278) μmol (**Figure32**).

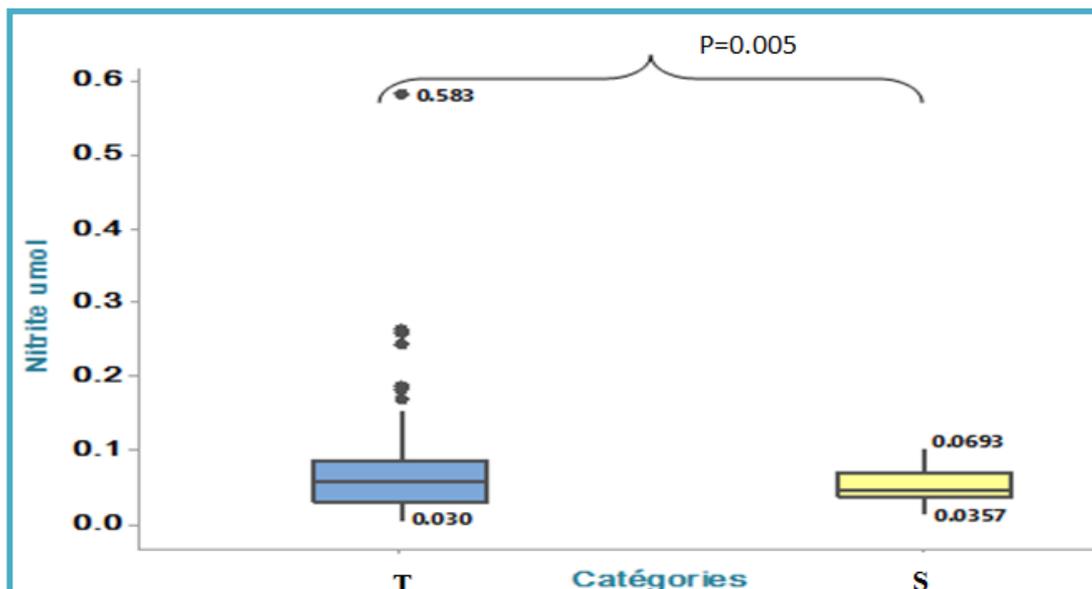


Figure 32: Concentration des nitrites résiduelles chez les patients T et les sujets sains S

III-3- Dosage de l'albumine oxydée

Nos résultats montrent une augmentation des taux de l'albumine oxydée chez les patients T (0.904 ± 0.205) par rapport aux témoins S (0.676 ± 0.357).L'analyse des taux de l'albumine oxydée montre d'une augmentation hautement significative entre les témoins S et les patients hémodialysés T ($P=0.001$) (**Figure33**).

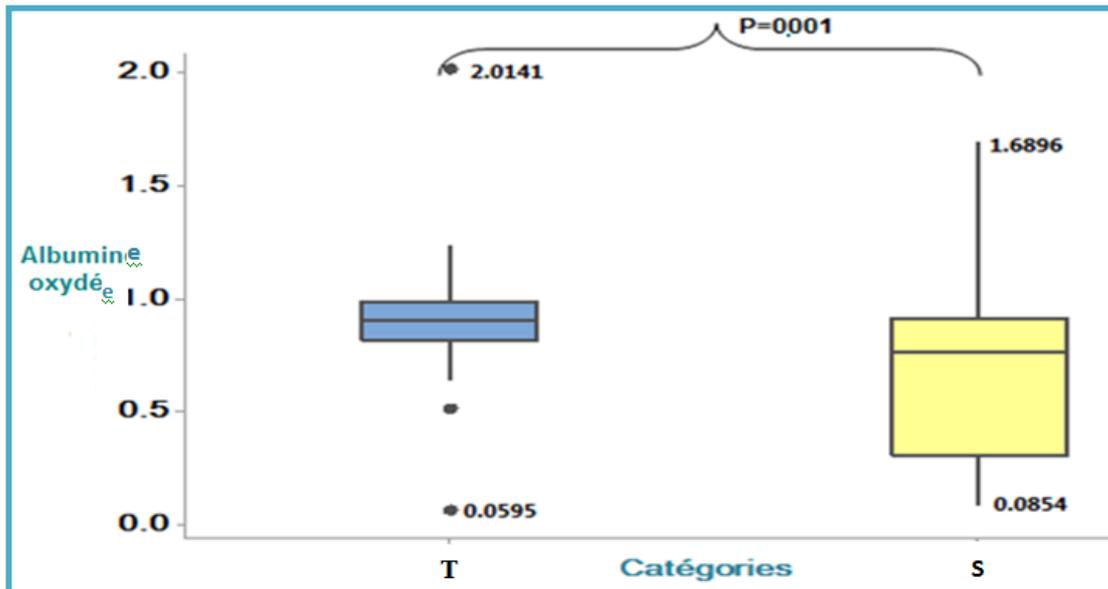


Figure 33: Concentration de l'albumine oxydée chez les patients T et les sujets sains S

III-4- Dosage des protéines totales

Nos résultats montrent une variable des protéines totales chez les patients T(0.904 ± 0.205) par rapport aux témoins S (0.676 ± 0.357).ainsi aucune différence significative n'a été observé chez des témoins comparée à celle des patients hémodialysés ($P=0.414$) (**Figure34**).

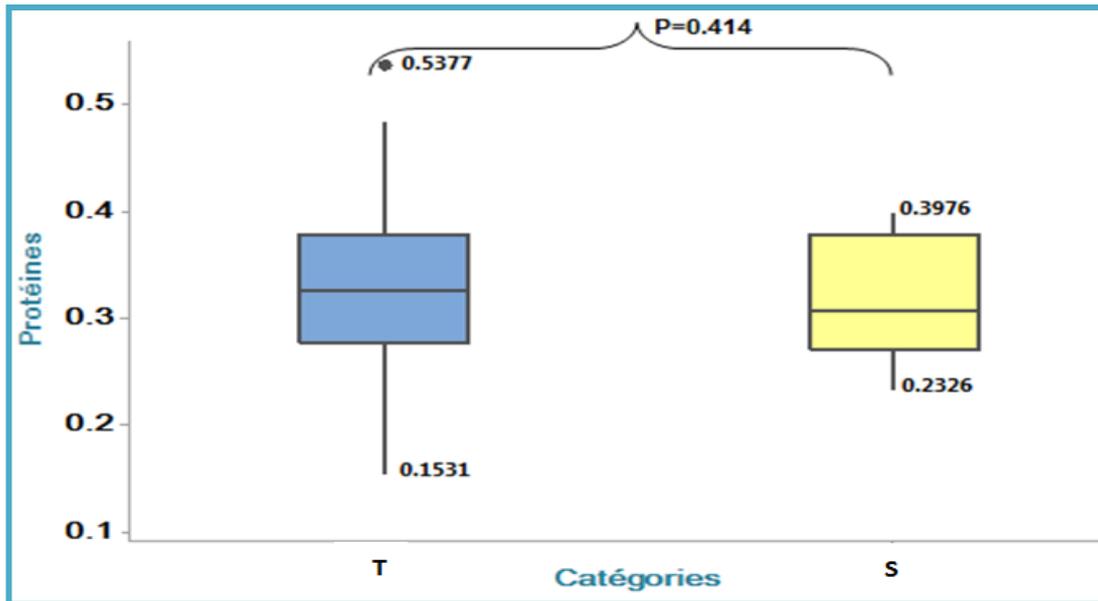


Figure 34: Variation de taux des protéines totaux oxydés chez les patients T et les sujets sains S

L'objectif de notre étude est d'évaluer quelques marqueurs de stress oxydant à savoir la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique chez les patients hémodialysés atteints d'insuffisance rénale chronique de la région de Tébessa. Nous avons également évalué la fonction rénale chez ces patients à partir des paramètres biochimiques sériques. **Zafar et al (2014)** avancent l'hypothèse de l'implication de l'hypertension artérielle comme l'une des principales causes de l'insuffisance rénale. Elle peut endommager les vaisseaux sanguins dans le rein et affecter la sécrétion des déchets.

I- Etude des paramètres de la fonction rénale

Nos résultats ont montré une augmentation significative des concentrations en urée, en créatinine et en acide urique chez les patients hémodialysés par rapport aux témoins. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par différentes équipes (**Kiziltas et al., 2008; Zafar et al., 2014; Beberashvili, 2015**).

L'acide urique est un produit final métaboliquement inerte du métabolisme des purines chez l'homme (**Becker, 1993**). Les niveaux élevés d'acide urique sérique sont dus à une augmentation de leur production ou une diminution de son excrétion. L'ATP est dégradée en adénine et en xanthine, et il augmente également la production de la xanthine oxydase. La disponibilité accrue de substrat (xanthine) et de l'enzyme (la xanthine oxydase) entraîne la production accrue d'acide urique. Il peut contribuer au dysfonctionnement endothéliale (**Johnson et al., 2003**).

Une dysfonction rénale entraîne une accumulation sérique d'urée (hyperurémie) et des problèmes d'élimination de l'acide urique (hyperuricémie). L'urée est un déchet cellulaire issu de la métabolisation des acides aminés et cause une toxicité directe sur les cellules du corps humain. Bien que les mécanismes biochimiques soient complexes, l'hyperurémie affecte les nerfs et entraîne une diminution du chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles (globules blancs). Elle tend à être moins bien éliminée chez le patient ayant une fonction rénale diminuée (**Hains, 2014**).

Le taux élevés d'acide urique sérique chez nos patients hémodialysés (HD) peut contribuer à une mortalité élevée par atteinte directe à l'endothélium et à une altération de la fonction cardiovasculaire. Il fournit également des effets antioxydants protecteurs dans le système cardiovasculaire (**Ping-Hsu, 2004**). Il s'accumule dans le sang et tend à se déposer dans certaines articulations. Cette situation prédispose les insuffisants rénaux aux crises d'accès de goutte. L'acide urique est facilement dialysable, ce qui fait en sorte que ce sont surtout

les patients atteints d'insuffisance rénale chronique, sans traitement de suppléance rénale, qui ont tendance à accumuler ce type de déchets métaboliques (**Hains, 2014**).

L'hypercréatinémie peut indiquer des lésions rénales, il peut être due à une infection grave ou réduction des débits sanguins ou une pression artérielle qui peut résulter de l'insuffisance cardiaque. Une augmentation de la créatinine sanguine et une excrétion réduite sont des signes de perte de fonction glomérulaire rénale ou de taux de filtration glomérulaire (**BAKER, 2016**)

Nos résultats ont également montré une augmentation significative de la calcémie et de phosphorémie par rapport aux témoins. Nos observations sont en accord avec l'étude de l'équipe **Monfort (2008) et de Bock (2012)** respectivement. Le calcium joue un rôle fondamental dans de nombreuses fonctions cellulaires à savoir le processus de croissance, la différenciation et multiplication cellulaires (**Monfort, 2008**). L'hypercalcémie peut toujours être à l'origine d'une augmentation de la tension artérielle (TA). L'HTA chez le patient dialysé est présente dès l'initiation du traitement et reste fréquente malgré celui-ci, jouant un rôle dans le risque cardio-vasculaire. L'hypercalcémie et l'altération des grosses artères participent à la difficulté du contrôle de la TA par l'ultrafiltration majorée. Le fait que la dialyse quotidienne ou nocturne de longue durée améliore le niveau de TA s'explique par un retrait plus adéquat de facteurs vasoconstricteurs outre la facilité du contrôle volumique (**Cohena, 2007**). L'hyperphosphorémie a plusieurs conséquences indésirables en relation directe avec la calcification des artères et la mortalité cardiovasculaire.

L'analyse des résultats des taux cholestérol et triglycéride chez les patients atteints de l'insuffisance rénale chronique par rapport aux témoins montrent une différence significative. Nos résultats corroborent ceux de l'étude de **Kharrat (2012)**. Les perturbations du métabolisme lipidique sont fréquentes chez les malades hémodialysés. Ces altérations métaboliques pourraient contribuer à une prévalence accrue de mortalité cardiovasculaire. Chez ces malades, l'hyper triglycémie pourrait être secondaire au diabète et/ou à l'IRC. Sur le plan physiopathologique, l'hyper triglycémie serait secondaire à une baisse de la dégradation des lipoprotéines riches en triglycérides (VLDL et chylomicrons), une augmentation de leur synthèse et une diminution de leur clairance rénale. La diminution du catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides est le mécanisme physiopathologique majeur de l'hypertriglycémie (**Kharrat et al., 2012**).

L'hématocrite et la concentration en hémoglobine ont montré des différences significatives entre les patients par rapport aux témoins, ces résultats sont accord avec ceux rapportés par d'autres travaux (**Heinz *et al.*, 1980; Richard, 1984; Brunet, 2006**). Au stade de l'insuffisance rénale pré-dialytique (**Krzesinski, 2007**). L'anémie de l'insuffisance rénale chronique (IRC) peut être observée dès que le débit de filtration glomérulaire devient inférieur à 60 ml/min/1,73 m². L'exploration de l'anémie doit être débutée dès le stade d'anémie modérée. Les principales causes de l'anémie de l'IRC sont une insuffisance de production d'érythropoïétine (EPO) en réponse à l'anémie et une résistance à l'action de l'EPO. Celle-ci est due à la carence martiale et à des inhibiteurs de l'érythropoïèse dont les principaux sont les cytokines pro-inflammatoires. La prise en charge de l'anémie de l'IRC comprend la correction de la carence martiale, le traitement par EPO, et lorsque cela est possible, l'élimination des facteurs de résistance à l'EPO (**Brunet, 2006**).

L'analyse des résultats des taux de glycémie chez les patients atteints de l'insuffisance rénale chronique montrent une augmentation par rapport aux témoins sans pourtant atteindre le seuil de significativité. Cela pourrait être justifier par le nombre faible de sujets malades. L'étude de **Fakhruddin (2017)** montre une différence significative des taux de glycémie chez les patients hémodialysés. Le diabète induit l'apparition et la progression de l'insuffisance rénale en provoquant une dysrégulation hémodynamique ainsi que des modifications anormales morphologiques et fonctionnelles du néphron. L'hyperglycémie chronique est l'un des facteurs de risque les plus importants pour les dommages rénaux progressifs. La glycémie joue un rôle essentiel en provoquant une fonction rénale anormale par stimulation de la génération de ROS. L'augmentation de la preuve montre que la ROS est élevée dans le milieu diabétique à la fois in vivo et in vitro. Les ROS sont considérés comme des seconds messagers importants pour différentes voies de signalisation qui maintiennent les interactions biochimiques nécessaires pour les fonctions et la survie des tissus. Cependant, l'accumulation de ROS résultant de leur génération déséquilibrée et de leur neutralisation favorise diverses voies de signalisation aberrantes. La signalisation anormale dans le rein provoque des changements fonctionnels et structurels du glomérule qui est le centre des dommages rénaux (**Fakhruddin, 2017**).

II- Marqueurs de stress oxydant

Dans la présente étude, nos résultats indiquent que le teneur plasmatiques en MDA, marqueur de la peroxydation lipidique, sont significativement augmentées chez les patients

hémodialysés de la région de Tébessa par apport aux témoins ($P=0.000$). Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études qui ont mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique (**Daschner, 1996; Morena et al., 2002; Ramakrishna, 2012; El-shafei, 2014**). L'augmentation du stress oxydant induit une peroxydation lipidique chez l'IRC avant dialyse qui tend à s'accroître avec la mise en dialyse. Plusieurs travaux chez l'hémodialysé ont mis en évidence une élévation des marqueurs de la peroxydation lipidique, en particulier des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. Des investigations utilisant différents biomarqueurs ont mis en évidence une augmentation du stress oxydant incluant une augmentation de la peroxydation lipidique, des produits de l'oxydation avancée des protéines et des changements dans les concentrations du glutathion (**Bouzi-Bekada, 2012**). L'étude de **O'hare et al (2002)** a montré que, la génération de radicaux libres est positivement corrélée aux teneurs en cholestérol et triglycérides plasmatiques. Parmi les marqueurs de la peroxydation lipidique, on peut citer des produits primaires comme les hydroperoxydes, et des produits secondaires terminaux comme le malondialdéhyde (MDA), mesurables dans les liquides biologiques. La formation de MDA est un événement de chaîne car l'attaque de MDA attaque plus d'acides gras. Cette chaîne d'événements est rompue par des antioxydants (**Ramakrishna et al, 2012**).

Le fer libre peut conduire à la production de radicaux libres de l'oxygène et induire une peroxydation lipidique qui pourrait accélérer la maladie athéromateuse. Une augmentation du stress oxydant a été mise en évidence chez des hémodialysés après injection de 100 mg de Venofer®, particulièrement chez ceux ayant une ferritinémie basale $> 600 \mu\text{g/l}$ (**KESSLER, 2004**).

L'oxyde nitrique exerce de multiples effets sur la fonction rénale. Il n'est pas clair si la production d'oxyde nitrique endogène augmente ou diminue chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique (**Mutsumoto et al., 1999**). Nos résultats montrent une différence significative des taux de nitrites par rapport aux témoins, l'étude des différentes équipes (**Sumino et al., 1999., Meenakshi, 2013., Yokokawa, 1995**) montrent une augmentation significative des taux de nitrite dans cette même pathologie par rapport au groupe témoin, in vivo. L'activité de NO est difficile à surveiller car elle est très instable; comme les nitrites sont rapidement transformés en nitrates dans le sérum (**Dominic et al., 2002**). L'augmentation de l'oxyde nitrique exhalé avec l'augmentation simultanée des cytokines en circulation suggère que l'oxyde nitrique synthase semble être induite de manière significative chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique. La

production accrue d'oxyde nitrique endogène peut avoir un rôle pathophysiologique chez les patients atteints d'urémie (**Mutsumoto et al., 1999**). L'oxyde nitrique (NO) est un vasodilatateur puissant fabriqué à partir de la l-arginine par l'action enzymatique de plusieurs synthase d'oxyde nitrique largement distribuées (NOS). Les NOS exprimées constitutivement, les formes endothéliale vasculaire et neuronale jouent un rôle majeur dans le contrôle physiologique de la tonalité vasculaire et de la fonction rénale, et bon nombre de ces actions sont médiées par le guanosine monophosphate cyclique (GMPc). La carence en NO peut être produite expérimentalement par l'administration d'analogues de l-arginine substitués qui fonctionnent comme des inhibiteurs compétitifs de NOS. L'inhibition chronique des NOS expérimentales chez les animaux produit une hypertension et les NOS peuvent être défectueux chez certains individus atteints d'hypertension primaire et secondaire. (**Rebecca et al., 1999**).

Nous avons observé que le taux des l'albumine oxydée est élevé chez les patients hémodialysés par rapport les témoins. Les travaux antérieurs des équipes de **Anraku et col. (2004)** et de **Albarello et col. (2012)** ont montré une augmentation des taux de l'albumine oxydée pour l'évaluation du stress oxydatif chez les patients atteints de hémodialysés (HD). L'albumine est la protéine la plus abondante du plasma. Synthétisée par le foie, la démonstration des effets anti-oxydants de l'albumine repose sur plusieurs niveaux de preuves indirectes et directes. Ainsi *in vivo* chez des patients insuffisants rénaux chroniques, une stimulation oxydative a des effets beaucoup plus importants, en termes d'oxydation protéique en cas d'hypo-albuminémie témoignant indirectement le rôle de cette protéine dans la lutte contre le stress oxydant (**Mira, 2008**). La structure de l'albumine de sérum change quand l'ischémie se développe dans le corps; l'albumine humaine possède une région terminale de N qui détoxifie les radicaux libres de l'oxygène. La région de N est également un secteur auquel des métaux de transition tels que le cobalt, cuivre et du nickel se lient. En état d'ischémie, le N de la région est endommagée par des radicaux de l'oxygène. La capacité de l'albumine pour lier des métaux tels que le nickel, le cobalt et le cuivre est diminué, l'albumine résultante en tant que telle est appelée IMA. Le type du radical qui affecte la région N le plus est radical d'hydroxyle. Attachée au radical libre, la capacité d'IMA est très basse. La concentration en IMA est directement liée aux radicaux libres qui se forment pendant l'ischémie. IMA est également l'un des marqueurs de l'effort oxydant. La reperfusion après des conditions ischémiques inclut exposition de radical plus

libre et de fer et de en cuivre, qui peut causer bien plus de changements à l'albumine que l'ischémie soi-même (**Kanko *et al.*, 2012**).



Conclusion

Le stress oxydatif résultant d'une réduction progressive et irréversible des fonctions rénales, d'élimination des déchets de l'organisme et de sécrétion hormonale joue un rôle non négligeable dans la pathologie de l'inflammation associée à l'hémodialyse. L'évaluation de ce stress oxydant repose sur la présence ou l'augmentation de marqueurs oxydatifs. Ces indicateurs comportent les produits de dégradation stables des protéines, des glucides, des lipides et de l'ADN.

Notre travail a pour but d'évaluer et de caractériser quelques marqueurs de stress oxydant à savoir la peroxydation lipidique et l'oxydation protéique chez les patients hémodialysés de la région de Tébessa. Nous avons également évalué la fonction rénale chez ces patients à partir des paramètres biochimiques sériques.

Nos résultats ont montré une perturbation de la fonction rénale des patients hémodialysés révélée par:

- Une augmentation du taux de l'urémie, la créatinémie et l'uricémie
- Une hyper-phosphorémie et calcémie.
- Une augmentation de taux de cholestérolémie et triglycéridémie
- Une hypo-ferémie, une hypo-hémoglobininémie et une hypo-hématocritémie.

Parallèlement, les marqueurs du stress ont détectés :

- Une augmentation significative du taux de l'albumine oxydée malgré l'équilibre des taux de l'albumine.
- Une augmentation des taux de nitrite
- Une augmentation significative des taux de MDA
- Un équilibre des taux des protéines totaux

Les résultats trouvés chez les patients hémodialysés de la région de Tébessa confirmeraient la présence d'un stress oxydant qui pourraient être soit la conséquence de la maladie elle-même ou bien d'une inflammation sous-jacente. Ce stress pourraient être atténué par une supplémentation en anti-oxydants.

A

Albarelo,K., Gélson, A - S., Guilherme, Vargas Bochi., Manuela, Borges Sangoi., Taís Corrêa ,Almeida., José Edson, Paz da Silva., Solange, Garcia.C., Moresco. R.N.(2012). Ischemia modified albumin and carbonyl protein as potential biomarkers of protein oxidation in hemodialysis. Volume 45, Issue 6, Pages 450-454.

Anraku, M., Kitamura,K., Shinohara, A., Adachi ,M., Suenga, A., Maruyama, T., Miyanaka, K., Miyoshi ,T., Shiraishi, N., Nonoguchi ,H., Otagiri, M., Tomita ,K.(2004) .Intravenous iron administration induces oxidation of serum albumin in hemodialysis patients.66(2):841-8.

B

Barham et Tinder,(1980).Acide urique "test colorimétrique Uricase-PAP. Analyst 79,142.

Bar–Or.D,MD,FACEP.,EdwardLau,PhD.,James.V,Winkler.,MD,FACEP.(2000). A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia—a preliminary report. Vol. 19, No. 4, pp. 311–315.

Barouki. R. (2006).Stress oxydant et vieillissement. Paris,22: 266-72.

Bartosz.G.(2009).Reactive oxygen species : Destroyers or messengers ? Biochemical Pharmacology, 77:1303–1315.

Beaudeau. J.L., Durand,Geneviève.(2011).Biochimie médicale Marqueurs actuels et perspectives,2^{éd}, page 123-124-126-127-128-356.

Beaulieu,Pierre.(2005).Pharmacologie de la douleur.4^{ème}trimestre, les presses de l'université de Montréal, page246.

Beberashvili, Ilia., Inna, Sinuani., Ada Azar, Gregory Shapiro., Leonid, Feldman., Kobi Stav, Judith Sandbank., Zhan, Averbukh.(2015).Serum uric acid as a clinically useful nutritional marker and predictor of outcome in maintenance hemodialysis patients. Pages 138-147.

Becker, BF.(1993). Towards the physiological function of uric acid ,Free Radic Biol Med.;14:615–631.

Béguel,Jean-Philippe. (2012). Etude de la capacité antioxydant en lien avec la reproduction chez l’hutre creuse Cross postera gigas. Biologie animale. Université de Bretagne occidentale – Brest , p8.

Belaïch.R.,Boujraf.S.(2016).Oxidative stress and inflammatory factors in hemodialysis : Effects and strategies. Vol. 10 - N°1,p38-39-4.

BERNEY.C.,Cynthia,FESSLER.,Sami,ABOU.KHALIL.,Granit,MOLLIQAJ.,Nicolas , VILLARD,Yannick.,ARLETTAZ.(2010).Qu'implique le diagnostic d'une insuffisance rénale chronique à Genève ?.p10-13.

Bock.A.(2012).Le problème calcium-phosphore de l'insuffisance rénale Options thérapeutiques actuelles. Forum Med Suisse,12(20–21):406–409.

Bouguerne.B.(2012). Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis des maladies cardiovasculaires(athérosclérose).Doctorat de l'université de Toulouse P16-17-18.

Bouzidi,Bekada ,Nassima.(2012).Effet d'une supplémentation en oméga03 sur la dyslipidémie, le statut redox et quelques marqueurs de l'inflammation chez des patients atteints d'insuffisance rénale chronique.thèse doctorat, p 6-7-8.

Brunet.P.,Burtey.S.(2006).Anémie de l'insuffisance rénale chronique – EMC(Elsevier Masson SAS, Paris), Néphrologie, 18-062-C-10.

Buxton.G.V., Greenstock.C.L., Helman.W.P., Ross.W.P.(1988). Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}/\bullet\text{O}^-$) in aqueous solution, J. Phys. Chem. Ref. Data, 17:513–886.

6

Carip,Cristian et Louet,Florent.(2004).Physiologie Bases physiologiques de la diététique, paris, page 214.

Causse,Cétine.(2004).Les secrets de santé des antioxydants.1^{ère}é, France, p12-13-15.

Charriere.S ,Rognant.N , Chiche.F , Cremer.A , Deray.G , Priou.M. (2009). Chronic renal insufficiency and cardiovascular disease. Volume 58, n° 1pages 40-52.

Cillard,Josiane., Cillard,Pierre.(2006).Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-xydations.p 25-26-27.

Cohen.E.P.,Krzyszinski.J.M.(2007).La physiopathologie de l'hypertension artérielle en dialyse chronique, Néphrologie & Thérapeutique, 3.S150–S155.



Daschner.M.,Lenhartz.H,Boitticher.D.,Schaefer.F.,Wollsch.M,lager.,Otto,Mehls, and Michael ,Leichsenring.(1996).Influence of dialysis on plasma lipid peroxidation products and antioxidant levels.vol50-page 1268-1272.

Derrickson,Tortora.(2007).Principes d'anatomie et de physiologie.4^{ème} édition , canada, page 1079- 1081.

Descamps-Latscha,B et Witko-Sarsat,V . (2003).Stress oxydant dans l'insuffisance rénale chronique et l'hémodialyse.INSERM U507, Hôpital Necker, Vol 24,n° 7,Paris, Néphrologie ,p377-379.

Dominic,S.C., Raj, Brad ,Vincent., Keith, Simpson., Etsuro, Sato., Kimberly, L., Jones, Tomas ,C., Welbourne, Moshe ,Levi., Vallabh, Shah., Pedro ,Blandon., Philip,Zager., and Richard,a., Robbins.(2002). Hemodynamic changes during hemodialysis: Role of nitric oxide and endothelin. Vol61 , pp. 697–704.



El-shafei, Ali.M., Ghada.M .,El-mashad.A ., Azzam.A .(2014). stress oxidative markers in children with end stage renal disease. N2,vol02.

Eymard, Sylvie.(2003).Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (Trachurus trachurus):choix des procédés, DOCTORAT.p 29-30-31.



Fakhruddin.Selim.,Alanazi.Wael, and Keith,E., Jackson,Diabetes.(2017). Induced Reactive Oxygen Species: Mechanism of Their Generation and Role in Renal Injury, Article ID 8379327, p30.

Faller.A., Sprumont.P., Schunke.M .(2006). Le corps humain .5^{éd} paris.p340-342-343.

Favier.A.(1997).Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. Ann. Biol Clin, p9-16.

Favier.A.(2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la Compréhension des Mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. N°11 12, p108-115.

Fröhlich, J., Schollmeyer, P., Gerok, W. (1978). Carbohydrate metabolism in renal failure, Am J Clin Nutr. 31(9):1541-6.

G

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? L'actualité chimique, 269-270:91-96.

Georges, Hennen. (2001). Endocrinologie. 1^{ère} é, Boeck Université Bruxelles, (préface) Philippe Bouchard, page 164.

Guénard, Hervé. (2009). Physiologie humaine. Paris, page 254

Gueye, P. M. (2007). Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge. Thèse Pour le grade de Docteur de l'Université Louis Pasteur-Strasbourg, p26.

Guichardant, M.S., Bacot, S., Molière, P., Lagarde, M. (2006). Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. p1-4.

Guidet, B., Artigas, A. (2012). Personnes âgées et réanimation. Paris, page 183.

H

Haleng, J., Pincemail, J., Efraigne, J.O.D., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007). Stress oxydant. Rev Med Liege, 62:10, p626-638.

Heinz, W., Radtke, Ulrich, Freil, Peter, M. Erbes., Rkspace, Wilhelm., Schoeppe, Karl., M., Koch. (1980). Improving anemia by hemodialysis: Effect on serum erythropoietin, Volume 17, Issue 3, Pages 382-387.

I

Inoue, M., Sato, E.F., Nishikawa, M., Park, A.M., Kira, Y., Imada, I., and Utsumi, K. (2003) Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. Curr Med Chem, vol.10(23): p495-505.

J

Jadot, Guy (1994). Antioxydants et Vieillesse. Paris, page 37-28-39-40.

Johnson, R.J., Kang, Duk-Hee., Feig, Daniel., Kivlighn, Salah, John, Kanellis., Susumu, Watanabe., Katherine, R., Tuttle., Bernardo, Rodriguez-Iturbe., Jaime,

Herrera-Acosta ., Marilda,Mazzali .(2003). Is There a Pathogenetic Role for Uric Acid in Hypertension and Cardiovascular and Renal Disease?. 41:1183-1190.

Jungers.D.P,Joly.N.D.,Man.K.,Legendre.C.(2011).L'insuffisance rénale chronique: prévention et traitement.4^{ème}paris, page01.

Justine.A et Pr. BURTEY. (2015).Syndrome d'Insuffisance Rénale Chronique. pages 8.

K

Kanko,M., Yavuz.S., Duman.C., Hosten.T., Oner.E, and Berki.T.(2012). Ischemia modified albumin use as a prognostic factor in coronary bypass surgery .7-3.

Kaysen.G.A.(2000).Inflammation et stress oxydant dans l'insuffisance rénale terminale, flammation médecine-sciences — actualités néphrologiques,p35-36.

Kessler,Michèle.(2014).Dispositifs médicaux & progrès en dialyse , snitem , les innovations technologiques médicales.p8-29.

Kessler.M.(2004).Traitement martial du patient en insuffisance rénale chronique terminale, actualités néphrologiques.p 116.

Kharrat,Inés., Aouatef,Jmal., Lobna,Jmal., Zeineb,Amira., Walid, Ben Cheikh ., Férid,Ben Bourouba., Lotfi,Sahnoun., Monia,Abdennebi.(2012). Altérations du métabolisme lipidique chez les hémodialysés,La tunisie Medicale. Vol 90 (n°07) : 537 – 541.

Kiziltas, H.,Ekin ,S.,Erkos ,R.(2008).Trace element status of chronic renal patients under going hemodialysis.124(2) p103.

Kohen, R., Nyska,A.(2002).Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicol Pathol. vol.30(6): p620-50.

Krzesinski, J.M., Dubois.B .(2007) .Anémie et risque cardio-vasculaire chez l'insuffisant rénal chronique Nouvelles données sur la cible en hémoglobine à atteindre.62 : 5-6 : 366-370.

L

Lacolley,Patrick.,Babuty,Dominique.,Boulanger,Chantal.,Ghaleh,Bijan.,Loirand, Ger vaise.,Pinet,Florence.,Samuel,Jane-Lise.(2008).Biologie et Pathologie du Cœur et des Vaisseaux. Nouvelle édition, page 318.

Levine.Rodney.L.(2002).carbonyl modified proteins in cellular regulation ,aging and disease,usa, p1-8.



Mates.M., Sanchez-Jimenez.F.M .(2000).Role of reactive oxygen species in apoptosis : implications for cancer therapy. J. Biochem. Cell Biol, 32:157–170.

Matsumoto.A .,HIRATA.Y .,KAKOKI.M .,NAGATA.D.,MOMOMURA.S ., Tokuichiro, SUGIMOTO.T .,TAGAWA.H and OMATA.M.(1999). Increased excretion of nitric oxide in exhaled air of patients with chronic renal failure.96, 67–74.

Meenakshi.S.R and Rajni, Agarwal .(2013). Nitric oxide levels in patients with chronic renal disease. 7(7) p 1288-1290.

Mimic-oka.J, Simic.T, Djukanovic.L et al.(1999). Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. Clin Nephrol,51, 233-241.

Mira,J.P. (2008). L'albumine endogène : un pouvoir anti-oxydant majeur. Hors série3,7,9.

Monfort .M., Delanaye.P ., Chapelle.J-P .,Cavalier.E .(2008).Calcium chez les patients hémodialysés : calcémie totale ou calcium ionisé ? Le laboratoire doit-il systématiquement fournir au clinicien une valeur de calcémie totale corrigée obtenue par calcul ?, Ann Biol Clin , 66 (5) : 573-6.

Morelle,Jean.(2003).l'oxydation des aliments et la santé.paris ,page23-24- 25.

Morena,M .,Martin,Mateo ,M.,Cristol, J.P, Canaud, B.(2002).Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours.Néphrologie. 23(5);201-208.

Morena.M.,Cristol.J.P.,Senécal.L.,Laray..H.,Detlef.M.,Bernard.K,Canaud.(2002).Oxidative stress in hemodialysis patients:Is NADPH oxidase complex the culprit ? vol61-S80-page s109-s114.

Murray,Bender.,Botham,Kennelly.,Rodwell,Weil.(2013).Biochimie de Harper.5^{éd}.Paris page562-563.

Myers, J. Ross, L. Newton et all.(2008). Insuffisance rénale chronique Expertise collective INSERM BD.13n ,4-12.

N

Nguyen,Thi,Quynh,Huong.(2009).Insuffisance rénale chronique:épidémiologie de l'insuffisance rénale chronique chez l'enfant à l'Hôpital National Pédiatrique de Hanoi et analyse histologique de l'expression du récepteur B1 de la bradykinine sur des biopsies de transplants rénaux.page 18-19.

O

O'HARE.AN.M .,CHI-YUAN,HSU .,PETER ,BACCHETTI .,and KIRSTEN,L ., JOHANSEN.(2002). Peripheral Vascular Disease Risk Factors among Patients Undergoing Hemodialysis, 13: 497–503.

Okhawa.H., Ohishi.N and Yagi.K. (1979).Assay of lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction.Analytical Biochemistry,95:351-358.

Olmer,Michel.(2003).Vivre avec une maladie des reins. Paris page17.

Orient.A., Donko.A., Szabo.A., Leto.T.L and Geiszt.M .(2007). Novel sources of reactive oxygen species in the human body. Nephrol Dial Transplant. vol.22(5): p. 1281-8.

P

ZAOUI Philippe., Janbon,Bénédicte (2004).Insuffisance rénale aiguë (252).page 1-6.

Pierre,Housset.,Antonion,Levy.,Céline,Estournet.(2010).Néphrologie,paris,p139

Pierrick ,Hordé.(2016).Urée - urée élevée et urée basse. page1-2.

Pierrick, Hordé.(2014). Clairance de la créatinine – Définition ,page 1-2.

Pruijma, M.T., Battegayb.E., Burnier.Michel.(2009). Hypertension artérielle et insuffisance rénale.page 497.

Q

Quoilin.Caroline.(2013).Les effets délétères métaboliques et oxydants induits lors d'un sepsis sur la fonction rénale,Académie Universitaire Wallonie-Europe.page38-39.

R

Ramakrishna.P.,Prabhakar.,Reddy.E.,Suchitra,M.M.,Bitla.A.R,Srinivasa.Rao,P.V.,and Sivakumar.V.(2012). Effet of reuse of polysulfone membrane on oxidative stress during hemodialysis.22 (3) page-200-205.

Rebecca.J .,Schmidt.DO., Jennifer,Domico.,RN, Lennie.,Samsell .S, MS, Stanley., Yokota.PhD., Timothy.S.,Tracy.PhD., Michael.I.,Sorkin.MD., KevinEngels.BS., and Chris ,Baylis. PhD.(1999). Indices of Activity of the Nitric Oxide System in Hemodialysis Patients.34(2): 228–234.

Richard .J.S ., Gonigle.MC ., Fred ,Husser.l ., John.D.Wallin ., James.W. Fisher. (1984). Hemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis effects on erythropoiesis in renal failure, Volume 25, Issue 2, Pages 430-436.

Robert.R ., Lauwerys,Vincent ., Haufroid,Perrine ., Hoet.Dominique ., Lison. (2007).Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles.5^e édition. page 66-67-68-69-70-71.

Rondeaun,Phillipe.(2009).Stress oxydation et glycation;relation structure et activités biologiques de l'albumine in vitro et vivo dans le cadre de la pathologie diabétique par Biochimie [q-bio.BM]. Université de la Réunion.Français.p25-27-31-32.



Sevrais Stéphane.(2004).Altérations Mitochondriales et stress Oxydant Pulmonaire en Réponse à l'ozone: Effet de l'âge et d'une supplémentation en Oméga-3. Thèse de doctorat, l'université Claude Bernard-Lyon1,page 31.

Simon,Pierre.(2007).L'insuffisance rénale: Prévention et traitements. paris, page05.

Sjoberg.B.(2013).Oxydation des protéines par les espèces réactives de l'oxygène : l'importance de l'environnement protéique.Chimie organique, Université de Franche-Comté, Français,p82-83.

Sumino.H.,Sato.K.,Sakamaki.T.,Kanda.T.,Nakamura.T.,Takahashi.T.,Sakamoto.H, Kobayashi.I and Nagai.R.(1999).Reduced production of nitric oxide during haemodialysis , 13, 437–442.

Smeltzer.S.C. Bare,brenda.G.(2011).Soins infirmiers en médecine et chirurgie;fonction Rénale et reproductrice.5^{ème},page147.

V

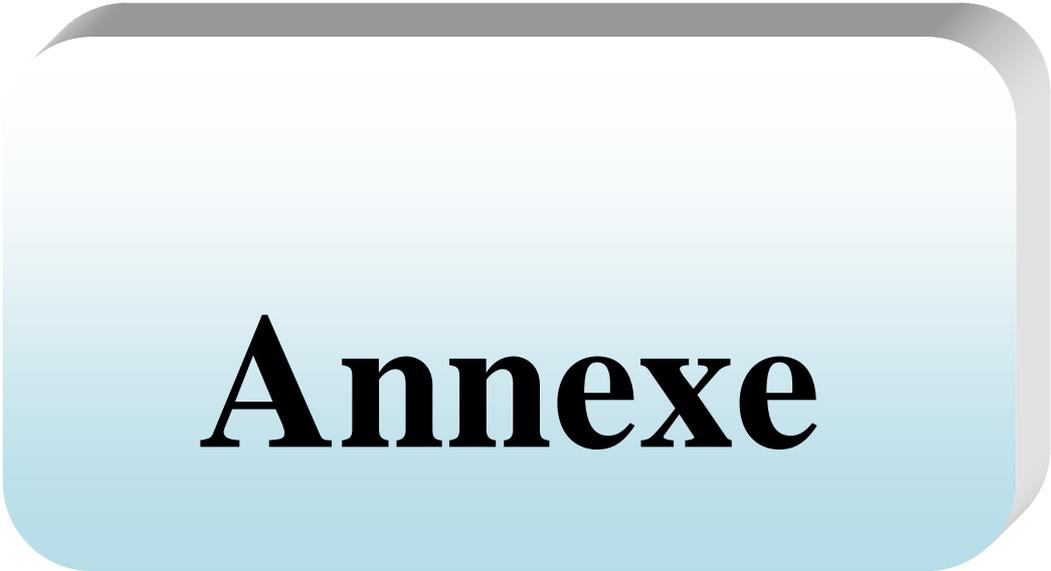
Viallard,M.L., Tanguy.C.,(2003).Traité d'anesthésie pour les infirmiers et infirmières anesthésistes, paris,page 48.

Y

Yokokawa,Koji ., MD, PhD., Rita Mankus, MD., Mohammed ,G. Saklayen., MD, Masakazu Kohno., MD, PhD., Kenichi ,Yasunari., MD, PhD., Mieko, Minami, MD.,Hiroaki ,Kano, MD., Takeshi Horio, MD, PhD.,Tadanao, Takeda, MD., and Anil K, Mandel, MD.(1995).Increased Nitric Oxide Production in Patients with Hypotension during Hemodialysis . Volume 123;p35-37.

Z

Zafar.M , Noor ul, Amin ., Tahir.R ,Mahmood., Javaid.M, Asad and Asad Mehmood.Raja.(2014). Evaluating Urea and Creatinine Levels in Chronic Renal Failure Pre and Post Dialysis: A Prospective Study. VOL 2 ,N 2 .



Annexe