

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DE LARBI TEBESSI - TEBESSA -

FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES
DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département de Biologie Appliquée

Option : Biochimie Et Biologie Moléculaire

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention de master

Thème :

***Étude de l'effet du stress oxydant
sur le fonctionnement endothéliale
et l'athérosclérose chez les
diabétiques***

Présenté Par :

- *Guettal Hamza*

- *Rais Taher*

Devant le jury :

- | | | |
|------------------|-------------------|-----------------------|
| ❖ Présidente : | MESSAADIA A. MCB | Université de Tébessa |
| ❖ Promotrice : | BOUSSEKINE S. MCA | Université de Tébessa |
| ❖ Examinatrice : | HAMMOUME Z. MAA | Université de Tébessa |

Note :/20

Mention :

Mai 2017



Résumé

Le diabète sucré est caractérisé par la génération des radicaux libres suite à l'hyperglycémie prolongée et à l'utilisation des médicaments à long terme.

Ces radicaux libres sont les premiers responsables des complications ; parmi ces complications :

Les maladies cardiovasculaire qui sont dues à l'oxydation des lipides circulantes par les radicaux libres conduisent à la formation de la plaque d'athérome.

Dans ce contexte, notre travail a porté sur étude d'évolution du stress oxydant chez les sujets diabétique ayant une diabèteéquilibré et leur répercutions sur le fonctionnementendothéliale.

Il s'agit d'une étude menu à deux hôpitaux BOUGUERRA BOULARASS et ALIA SALAH sur 177 patientsdiabétiques de type I et type II des deux sexeauxquelles nous avons réalise un bilan biochimique complète pour faire choisis les patients ayant un diabèteéquilibré et un bilan normale.

Sur 177 patients nous avons choisi 40 patients hommes et femmes (type I et type II) avec 20 sujets normaux pour faire la comparaison qui à été faite avec témoins sains et les valeurs normale de la wilaya de Tébessa.

Les 60 sujets choisi ont subi un dosage du bilan biochimique de la de la décence antioxydant GSH, GPx, GST sérique et érythrocytaire , et un marqueur de la peroxydation lipidique MDA.

L'analyse des résultats à montré qu'il existe des modifications de la décence anti oxydant sérique etérythrocytaire malgré le diabète est équilibré.

On peut conclue que chez les diabétiques et même leur diabète est équilibré il y a toujours un risque même mineur des complications cardiovasculaire peut être due au traitementantidiabétiqueet RL. C'est pour cela on peut conseiller les diabétique d'associé le traitement anti diabétique par des antioxydants naturelle et des oligoéléments élémentaire.

Mots clé : diabète, stress oxydant, radicaux libres, oxydation lipidique, hyperglycémie

Abstract

Diabetes mellitus is characterized by the generation of free radical following prolonged hyperglycemia and the use of long-term medications.

These free radicals are the first responsible for the complications; Among these complications:

Cardiovascular diseases that are due to the oxidation of circulating lipids by free radicals lead to the formation of the atheroma plate.

In this context, our work has focused on studying the evolution of oxidative stress in diabetic subjects with a balanced diabetes and their repercussions on endothelial functioning.

This is a menu study at two hospitals Bouc BOULARASS and Alia Salah on 177 type I and type II diabetic patients of both sexes to which we have completed a complete biochemical assessment to make selected patients with balanced diabetes and a normal checkup.

Out of 177 patients we selected 40 male and female patients (Type I and type II) with 20 normal subjects to make the comparison that was done with healthy controls and normal values of the wilaya of Tebessa.

The 60 selected subjects underwent a determination of the biochemical balance of the antioxidant capacity GSH, GPX, serum GST and erythrocyte, and a marker of lipid peroxidation MDA.

The analysis of the results showed that there are changes in the antioxidant capacity serum and erythrocyte despite the diabetes is balanced.

It can be concluded that in diabetics and even their diabetes is balanced there is always a minor risk of cardiovascular complications maybe due to antidiabetic and RL treatment. For this reason it is possible to advise diabetics associated with the anti diabetic treatment by natural antioxidants and elemental nutrients

Operative word : Diabetes, stress oxydant, free radical, oxydation of lipids, hyperglycemia.

ملخص

يتميز مرض السكري بجبل من الجذور الحرة في أعقاب فرط السكر في الدم واستخدام الأدوية طويلة الأجل.

وهي المسؤولة الأولى عن المضاعفات ؛ ومن بين هذه المضاعفات:

امراض القلب والأوعية الدموية التي تعز بالأكسدة الدهون المتداولة من قبل الجذور الحرة تؤدي إل بتشكيل صفيحة متخثرة.

وف يهذو السياق، ركز عملنا على دراسة تطور الإجهاد المؤكسد في المواد السكرية مع التوازن السكري وتداعياتها على الأداء الوظيفي.

هذه الدراسة القائمة في اثنين من المستشفيات بولعراس وعاليا صالح على 177 شخص، مرضي السكري (type I et type II) من كلا الجنسين التي قمن اباكمال التقييم الحيوي الكامل بمقارنة المرضى السكري المختارين مع أشخاص عاديين.

من بين 177 مريض اخترنا 40 مريض من الذكور والإناث (type I et type II) مع 20 شخص طبيعى لإجراء المقارنة التي تمت مع الضوابط الصحية والقيم العادية لولاية تبسة.

وقد خضع الأشخاص المختارون (60) لتحديد التحاليل البيوكيميائية للمواد المضادة

للأكسدة GSH, GPx, GST في مصل الدم والكريات الحمراء، وعلامة الأكسدة الدهنية. MDA

واظهر تحليل النتائج ان هناك تغيرات في مضادات للأكسدة في مصل الدم والكريات الحمراء على الرغم من أن السكري متوازن. ويمكن الخلوصل إلى انه في مرضي السكري وحتى السكر المتوازن، وهناك دائما خطر بسيط من مضاعفات القلب والأوعية الدموية قديكون بسبب العلاج المضاد لمرضي السكري و الجذور الحرة، وهذا هو السبب في أنه يمكن نصح مرضي السكري لربط العلاج ضد السكري مع مضادات الأكسدة الطبيعية و المغذيات المكملة.

الكلمات المفتاحية: مرض السكري، الجذور الحرة، الإجهاد المؤكسد، فرط السكر.

Dédicaces

*Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir,
la force d'y croire , la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le
bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire*

" Ya Kayoum "

Je dédie ce travail

*à mes parents, les êtres les plus chers à mon cœur « hadjoura
nour Zyouni, et boula7ya qui sans leur encouragements et soutien
je n'aurais pu être là ou j'en suis, Merci.*

À mes soeurs.....

À mes frères

À toute ma famille.....

À tous ceux qui me sont chères....

À tous ceux qui m'aiment.....

À tous ceux que j'aime.....

À tous mes amies.....

*À tous mes collègues de la promotion 2016/2017 de la faculté de
des sciences exactes et de sciences de la nature de la vie.*

À tout ceux ou celles qui ont croisé mon chemin.

Taher

Remerciement

« Le plus grand merci s'adresse au bon Dieu »

Nous tenons à exprimer notre plus grand remerciement à nos Très chers parents pour leur soutien moral et leurs encouragements.

*Nous tenons à témoigner de notre profonde gratitude et remerciements notre encadreuse **Dr. BOUSSEKINE Samira** qui malgré ces occupations et ces responsabilités, elle a toujours eu le temps de nous écouter, nous conseiller et nous orienter.*

*Aux équipes des laboratoires de **l'EPH Bouguerra Boulaaress – Tebessa** / EPH Khaldi Abdelaziz – Tebessa, pour leurs sympathiques et consistances durant notre stage.*

*Egalement un remerciement à tous nos collègues et à tous les étudiants de la 2^{ème} Année Master Biochimie Et Biologie Moléculaire, promotion 2017, ainsi qu'à tous nos collègues (es) à **l'Université de Laarbi Tbessi - Tebessa**.*

Enfin, nos remerciements vont aussi à l'égard des membres de Jury qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail.

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de notre mémoire.

Hamza & Taher

Tables des matières

- ملخص
- Abstract
- Résumé
- Remerciement
- Dedicace
- Liste Des Tableaux
- Liste Des Figures
- Introduction
- Synthèse Bibliographique

I)Diabète :.....	17
I.1)Définition de diabète :	17
I.2)Type de Diabete :.....	18
I.2.1) Diabète insulino dé pendant :	18
I.2.2) Le diabète non insulino dé pendant :	19
I.3) Les complications du diabète :	19
I.3.1)Complications mé ta boliques aiguës :	19
I.3.1.1)Hypoglycémie :.....	19
I.3.1.2)Le coma acidocé to sique :.....	20
I.3.1.3)Le coma hyperos mo laire :.....	20
I.3.2)Complications chroniques du diabète :.....	20
I.4)L'athé ro sclérose :.....	21
I.4.1)Description anatomopathologique de l'athé ro sclérose :.....	21
I.4.2)Principales étapes à l'origine de la formation des plaques :.....	22
I.4.2.1)Péné tra tion et oxy da tion des LDL dans l'intima :	22
I.4.2.2)Recrutement des leucocytes.....	23
I.4.2.3)Evolution de la plaque d'athé ro sclérose :	25
II)Stress oxy da nt :	26
II.1)Rappel sur le stress oxy da nt :.....	26
II.1.1)Définition :	26
II.1.2)Prooxy da nts :.....	27

II.1.2.1)Espèces Réactives de l'Oxygène (ROS) :	27
II.1.2.2)Espèces réactives de l'azote :	28
II.1.3)Cibles cellulaire :	30
II.1.3.1)Acide désoxyribonucléique ou ADN :	30
II.1.3.2)Peroxydation lipidique :	30
II.1.3.3)Protéines :	32
II.1.4)Antioxydants :	33
II.1.4.1)Systèmes antioxydants enzymatique :	34
II.1.4.2)Superoxydedismutase (SOD) :	34
II.1.4.3)Catalase :	34
II.1.4.4)Glutathion peroxydases, glutathion réductase et glutathion S transférase :	35
II.1.4.5)Thiorédoxine :	36
II.1.4.6)Hème Oxygénase-1 :	36
II.2)Systèmes antioxydants non enzymatique :	36
II.2.1)Molécules antioxydantes endogènes :	36
II.2.1.1)Glutathion :	36
II.2.1.2)Coenzyme Q10 :	38
II.2.2)Molécules antioxydant exogènes :	38
II.2.2.1)Oligoéléments :	38
II.2.2.2)Polyphénols :	38
II.2.2.3)Vitamines :	39
II.3)Implication de stress oxydant dans le diabete :	40
II.3.1)Relation entre le diabète et le stress oxydant :	40
II.3.2)Défensesantioxydantesdescellules β :	
II.4)Effet du stress oxydant sur l'insulinorésistance :	41
I -METHODOLOGIE :	44
I-1-Objectifs de l'étude :	44
I-2-Présentation du site d'étude :	44
I-3- Population d'étude.....	44

I-4-Définitions du cas et Témoins	44
Les malades :	44
Témoins :	44
I-5- Déroulement de l'enquête	45
I-5-1 Pré enquête	46
I-5-2 Déroulement de l'enquête	46
I-5-3- Difficultés rencontrés au cours de l'enquête.....	46
I-6- Questionnaire	46
I-7 Les méthodes biologiques.....	47
I-7-1 Protocole des analyses.....	47
I-7-1-1 Le prélèvement sanguin	47
I-7-1-2 Réalisation du dosage des paramètres biochimiques	48
I-8 Statistique :	55
I- Paramètres biochimiques	57
I.1) Exploration de bilan glucidique.....	57
I.2)Exploration de bilan lipidique	57
II)discutions.....	53
Exploration du bilan lipidique	54
Exploration du bilan de defence anti oxydant	55
• Discussions	52
• Conclusion Et Perspectives	56
• Références	57
• Bibliographique	

Liste des figures

<i>Figure 1 :Les principales modifications des particules LDL dans l'intima des artères participant à la physiopathologie de l'athérosclérose.....</i>	<i>23</i>
<i>Figure 2: Principaux récepteurs scavenger impliqués dans la captation des LDL.....</i>	<i>24</i>
<i>Figure 3: Structure de la paroi d'une artère, évolution de la plaque d'athérome et conséquences pathophysiologiques(Libby, 2002).</i>	<i>25</i>
<i>Figure 4: Déséquilibre de la balance entre prooxydant et antioxydant(Nkhili, 2009)</i>	<i>26</i>
<i>Figure 5: Sites de production de ROS au niveau de la chaîne respiratoire. (Elouil, 2009)</i>	<i>27</i>
<i>Figure 6: Formation de NO par la NO synthase mitochondriale. (Badouard, 2006).....</i>	<i>29</i>
<i>Figure 8: Structure du 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine.</i>	<i>30</i>
<i>Figure 9: Réactions de la peroxydation lipidique.</i>	<i>31</i>
<i>Figure 10 : présentation simplifiée de la peroxydation lipidique</i>	<i>32</i>
<i>Figure 11: Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule(Benaraba, 2007)</i>	<i>34</i>
<i>Figure 12: Les réactions impliquant le glutathion.</i>	<i>37</i>
<i>Figure 13: Diabète et stress oxydant</i>	<i>41</i>
<i>Figure 14 : Mécanisme de la résistance à l'insuline induit par les stress oxydant(Auberval, 2010)....</i>	<i>42</i>
<i>Figure 16 :Variation de la concentration sérique du glucose et de l'HbA1c chez les sujet témoin et diabétiques DID et DNID.</i>	<i>57</i>
<i>Figure 17 :Variations de la concentration sérique paramètres du bilan lipidique chez les diabétiques DID et DNID par rapport aux témoins sains</i>	<i>59</i>
<i>Figure 18: Variation des paramètres de la défense antioxydante et de la peroxydation lipidique sérique chez les diabétiques (DID et DNID) par rapport aux témoins sains.</i>	<i>50</i>
<i>Figure 19 : Variation des paramètres de la défense antioxydante et de la peroxydation lipidique dans l'hémolyse chez les diabétiques (DID et DNID) par rapport aux témoins sains.</i>	<i>51</i>

Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Valeurs de la glycémie et signification clinique</i>	<i>17</i>
<i>Tableau 2 : Caractérisation des diabètes de types 1 et de type 2 (Michel Rodier, 2001).</i>	<i>19</i>
<i>Tableau 3: Classification des types lésionnels de l'athérosclérose (Stary et al., 1995)</i>	<i>21</i>
<i>Tableau 4: Les apports exogènes de vitamines nécessaires à l'homme. (Malika et al, 2009)</i>	<i>39</i>
<i>Tableau 5 :Variation de la concentration sérique de glucose et de l' HbA1c chez les sujets temoins et les diabétiques DID et DNID.</i>	<i>57</i>
<i>Tableau 6 :Variation de la concentration sérique de Chol T, Tri gly, HDL-c et d'LDL-c chez les diabétiques de type 1 et 2 par rapport aux témoins sains</i>	<i>58</i>
<i>Tableau 7: Variation sérique des paramètres de la défense antioxydante et de la peroxydation lipidique chez les diabétiques (DID et DNID) par rapport aux témoins sains.</i>	<i>49</i>
<i>Tableau 8: Variation des paramètres de la défense antioxydante et de la peroxydation lipidique dans l'hémolysa chez les diabétiques (DID et DNID) par rapport aux témoins sains.....</i>	<i>51</i>

Liste des équations

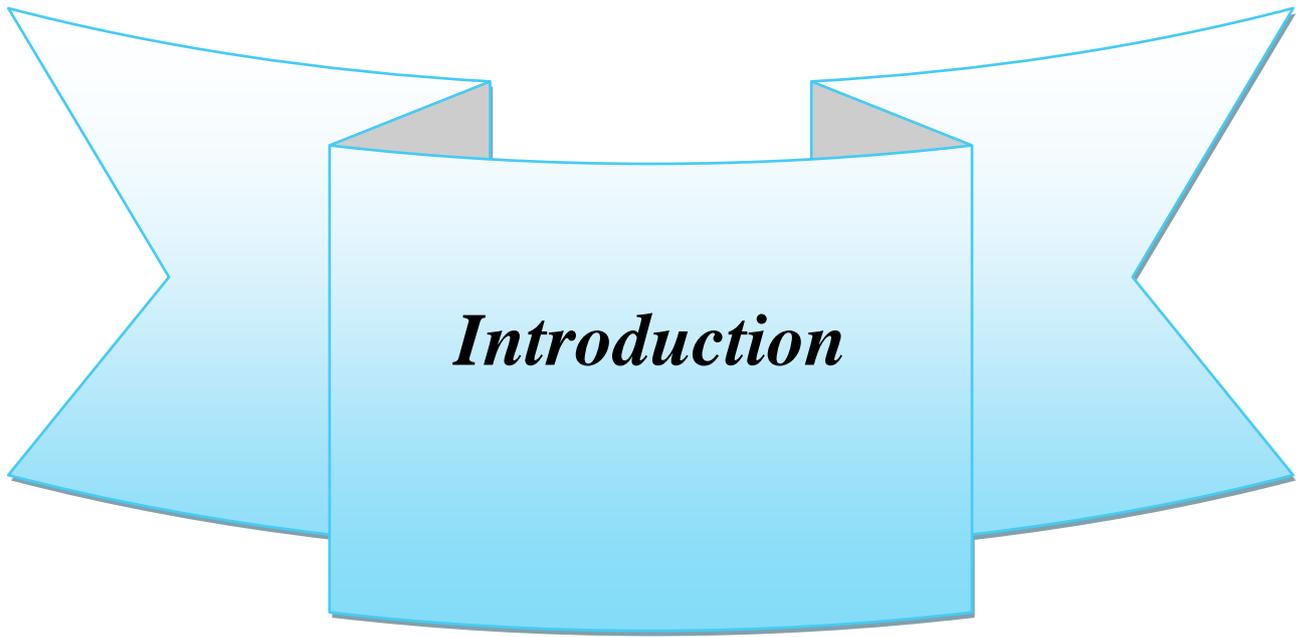
Équation 1 : Formation de l'anion superoxyde à partir des électrons de NAD(P)H par Nox.....	28
Équation 2 : Formation de peroxyde d'hydrogène par superoxyde dismutase (SOD).....	28
Équation 3 : Formation d'hydroxyle selon la réaction d'Haber-Weiss	28
Équation 4 : Formation de peroxyde d'hydrogène selon la réaction de Fenton	28
La réaction de NO [•] avec l'O ₂ ^{•-} entraîne la formation de l'ion peroxydite ONOO ⁻ selon la réaction suivante : (Équation 5)	29
Équation 6 : Formation de peroxydite	29
Équation 7 : la réaction catalysée par la SOD	34
Équation 8 : La réaction catalysée par la catalase	35
Équation 9 : Réactions de la glutathion peroxydase.....	35
Équation 10 : Réduction du GSSG en GSH par la glutathion réductase.....	35

Liste Des Symboles :

ADN :	Acide Désoxyribonucléique
AGE :	Produits de Glycation Avancée
ATP :	Adénosine Triphosphate
AAT	α -1-Antitrypsine.
ABC	ATP Binding Cassette.
ADA	American Diabetes Association.
ADO	Anti-Diabétiques Oraux.
AOMI	Artériopathie Oblitérante des Membres Inférieurs.
ARNm	Acide Ribo Nucléique messenger.
ATCD	Antécédent.
ATP	Adénosine Triphosphate.
AVC	Accident Vasculaire Cérébral.
CAT :	Catalase
CD-36	Cluster of Differentiation 36.
CD-68	Cluster of Differentiation 68.
CE	Cholestérol Estérase.
CHOD	Cholestérol Oxydase.
CIVD	Coagulation Intra Vasculaire Disséminée.
CML	Cellule Musculaire Lisse.
CRP	C-Réactive Protéine.
CRP_{us}	Protéine C Réactive ultrasensible.
Chol-T	Cholestérol Total
DID	Diabète Insulino-Dépendant.
DNID	Diabète Non Insulino-Dépendant. DAG : Diacylglycérol
DHAP	Dihydroxyacétone Phosphate.
DT2	Diabètes De Type 2
ERO	Espèces Radicalaires De L'oxygène
ERN	Espèces Radicalaires De L'azote
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique.
ER	Réticulum Endoplasmique.
FCγR	Récepteurs au Fc des immunoglobulines.
GAPDH	Glycéraldehyde-3-Phosphate-Dehydrogénase
GFAT	Glutamine, Fructose-6-Phosphate Amidotransferase;
GSH	Glutathion Réduit
GSSG	Glutathion Oxydé
GK	Glycérol Kinase.
GPO	Glycérol Phosphate Oxydase.
HTA	Hypertension Artérielle
HBA1C	Hémoglobine Glyquée
HDL	Lipoprotéines de Haute Densité.
HLA	Human Leukocyte Antigens.
H₂O₂	Eau Oxygénée.
HPT	Haptoglobine.
HPT-Hb	Haptoglobine se combine à l'hémoglobine.
HTA	Hypertension Artérielle.
ICAM 1	Inter Cellular Adhesion Molecule -1.

Ig	Immunoglobulines.
IL	Interleukine.
IL18-BP	InterLeukin 18 Binding Protein.
IMC	Indice de Masse Corporelle.
INF γ	Interféron gamma.
IPS	Indice de Pression Systolique.
IRC	Insuffisance Rénale Chronique
LCR	Liquide Céphalo Rachidien.
LDL	Low Density Lipoprotein.
LOX-1	Lectin-like Oxidized low density lipoprotein receptor 1.
LPL	Lipoprotéine Lipase.
LRP	Low-density lipoprotein Receptor-related Protein
LDH	Lactate Déshydrogénase
MAI	Maladies Auto-Immunes.
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1.
MCV	Maladies Cardiovasculaires.
MEC	Matrice Extra Cellulaire.
mmHg	millimètre de mercure.
MMP	Métallo-Protéinase Matricielle.
MDA	Malonyle Dialdéhyde
NAD	Adénine-Dinucléotide
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NO	Monoxyde D'azote
NaCl	Chlorure de Sodium.
NCEP	National Cholestérol Education Programme.
NF κ B	Nuclear factor-kappa B.
NO	Monoxyde d'Azote.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé.
ORO	Orosomucoïde.
Ox-LDL	Oxidized Low-Density Lipoprotein.
PAD	Pression Artérielle Diastolique.
PAS	Pression Artérielle Systolique.
PDGF	Platelet Derived Growth Factor.
POD	Peroxydase.
PEG	Poly Ethylène Glycol.
PM	Poids Moléculaire.
PKC	La ProtéineKinase
Prot-T	Protéines Totaux
PAI-1 :	PlasminogenActivator Inhibitor-1
RAGE :	Receptor For Advanced GlycationEndproducts
RPE :	Résonance Paramagnétique Électronique
ROS :	Espèces Réactives Oxygénées
RAC :	Ration Albuminurie Créatininurie.
RLO :	Radicaux Libres De L'oxygène.
SODs :	SuperoxydesDismutases
SR-AI :	Scavenger Receptor Class-AI.
SR-AII :	Scavenger Receptor Class –AII.
TG :	Triglyceride.
TGF B :	Transforming Growth Factor B.
TIMP :	Tissue Inhibitor of Metalloproteinase.

TNF α	Tumor Necrosis Factor α .
TBARS	Substances Réagissant Avec L'acide Thiobarbiturique
TG	Triglycérides
TGF-B1	Transforming Growth Factor Beta
TK	Transkétolase
VCAM I	Vascular Cell Adhesion Molecule 1.
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor.
VLDL	Very Low Density Lipoproteins.
.	
VLDL:	Very Low Density Lipoproteins
γ-GCS :	γ -glutamylcysteinesynthetase
4-HNE:	4-Hydroxynonenal



Introduction :

Le diabète sucré ou l'état d'hyperglycémie chronique peut induire un stress oxydatif par l'intermédiaire de la génération d'espèces oxygénées réactives (**Guillet, 2010**).

La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**)

Le diabète sucré est maintenant admis que des concentrations élevées de glucose dans les milieux extra- et intracellulaires induisent un stress oxydant défini comme un déséquilibre de la balance entre pro-oxydants et antioxydants (**Giugliano D al ., 1996**).

L'oxydation des LDL semble être le facteur prédominant dans les complications évolutives chez le sujet diabétique.

Cette oxydation modifie la composition lipidique des LDL qui ne sont plus catabolisées par la voie classique du récepteur ApoB/E mais captées de façon non rétro-réglée par la voie des récepteurs « scavenger » des macrophages. Cela conduit à l'accumulation massive d'esters de cholestérol et à la transformation des macrophages en cellules de surcharge faisant lit de la plaque athéromateuse. En fonction de l'insaturation du radical acyl de l'acide gras, la peroxydation conduit à la formation de différents hydrolipoperoxydes qui du fait de leur instabilité et en présence de métaux de transition sont dégradés en aldéhydes(**Wade C, Van Rij A. 1985**)

Parmi les aldéhydes, une très large place a été accordée au malondialdéhyde issu de l'oxydation des insaturations en position malonique des acides gras poly-insaturés (**Frenkel E al.,1983**).

Face aux oxydations, l'organisme dispose de nombreux systèmes anti-oxydants qui exercent un effet inhibiteur à savoir la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GPX) (**Grankvist K al., 1981**). ainsi que le vitamine E et des oligoéléments. (**Grankvist et al., 1981**),

Au cour de diabète, l'hyperglycémie est associé à une dyslipidémie athérogène, caractérisée par des niveaux plasmatiques élevés de triglycérides (TG), des niveaux diminués de cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) et des particules LDL petites et denses (**Krentz, 2003**), conduisant aux complication cardiovasculaire.

Notre objectif de travail est d'étudier et d'évaluer l'état de la défense anti oxydant et la prévalence des maladies cardiovasculaires chez les diabétiques ayant un diabète équilibré. C'est pour cela notre étude est consacrés sur :

- Une recherche bibliographique concernant le diabète et les complications, l'athérosclérose le stress oxydant.
- Une recherche pratique basé sur : - dosage des paramètres biochimique (bilan glucidique et bilan lipidique) . – bilan de stress oxydant (érythrocytaire et sérique).
Puis une étude statistique



1)Diabète :

1.1)Définition de diabète :

Le mot diabète vient du grec « dia-baïno » signifiant « passer au travers ». Le diabète est une maladie due à une concentration anormalement élevée de sucre dans le sang. L’OMS le définit par une glycémie supérieure à 1,26g/L (7mmol/L) caractéristique à jeun (Tableau 01),

Tableau 1 :Valeurs de la glycémie et signification clinique

Valeurs de la glycémie	Signification clinique
De 0,8 et 1,10 g/l (à jeun)	Sujet non diabétique
De 1,10 à 1,25 g/l (à jeun)	Intolérance au glucose - hyperglycémie
Supérieure ou égale 1,26 g/l (à jeun)	Sujet diabétique
Supérieure ou égale à 2g/l (associée à la triade polydipsie, polyurie, amaigrissement)	Sujet diabétique
Supérieure ou égale à 2 g/L (2 heures après l’ingestion de 75 g de glucose par voie orale)	Sujet diabétique

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque l’organisme est incapable de produire suffisamment d’insuline ou d’utiliser l’insuline de manière efficace. L’insuline est une hormone fabriquée dans le pancréas, qui permet au glucose contenu dans les aliments de pénétrer dans les cellules de l’organisme, où il est transformé en énergie nécessaire au bon fonctionnement des muscles et des tissus. Chez une personne atteinte de diabète, le glucose n’est pas absorbé correctement et continue de circuler dans le sang (un trouble connu sous le nom d’hyperglycémie), endommageant ainsi peu à peu les tissus. Ces dommages peuvent entraîner des complications invalidantes mettant la vie de la personne en danger (Nam Han Cho *et al.*, 2013).

1.2) Type de Diabète :

La classification étiologique des diabètes sucrés proposée par l'ADA (American Diabetes Association) et l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) figure en annexe 1. Cette classification actualise en fonction des données scientifiques récentes, celle du (National Diabètes Data Group, 1979).

1.2.1) Diabète insulino-dépendant :

Le diabète de type 1 est provoqué par une réaction auto-immune au cours de laquelle les propres défenses de l'organisme attaquent les cellules bêta du pancréas qui produisent l'insuline. L'organisme devient alors incapable de fabriquer l'insuline dont il a besoin. Les causes du diabète de type 1 ne sont pas clairement établies. La maladie peut toucher des personnes de tout âge, mais apparaît généralement chez les enfants ou les jeunes adultes. Les personnes atteintes de cette forme de diabète ont besoin d'insuline chaque jour afin de maintenir leur glycémie sous contrôle. Sans insuline, les personnes atteintes de diabète de type 1 ne peuvent survivre (Nam Han Cho *et al.*, 2013).

En général, le diabète de type 1 apparaît de manière soudaine et se traduit par des symptômes tels que :

Soit excessive et bouche sèche.

- ❖ mictions fréquentes.
- ❖ manque d'énergie.
- ❖ fatigue extrême.
- ❖ faim constants
- ❖ perte de poids soudaine.
- ❖ cicatrisation lente des plaies.
- ❖ Infections récurrentes.
- ❖ vision trouble.

Les personnes atteintes de diabète de type 1 peuvent mener une vie saine et normale grâce à la combinaison d'une insulinothérapie quotidienne, d'une surveillance étroite, d'une alimentation saine et de la pratique régulière d'une activité physique (Nam Han Cho *et al.*, 2013).

1.2.2) Le diabète non insulino-dépendant :

Le diabète non insulino-dépendant est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique dont les éléments physiopathologiques comprennent une résistance accrue des tissus périphériques (foie, muscles) à l'action de l'insuline, une insuffisance de sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas, une sécrétion de glucagon inappropriée, ainsi qu'une diminution de l'effet des hormones intestinales stimulant la sécrétion postprandiale de l'insuline (Mellitus, 2011).

Tableau 2 : Caractérisation des diabètes de types 1 et de type 2 (Michel Rodier, 2001).

	Diabète de type 1	Diabète de type 2
Fréquence relative	10-15%	85-90%
ATCD familiaux	+	+++
Age de début	Avant 30 ans	Après 40 ans
Mode de début	Brutal	Progressif
Surpoids	Absent	Présent
Symptômes	+++	—
Insulinosécrétion	Néant	Persistante
Cétose	Fréquente	Absente
MAI associées	Oui	Non
Auto-anticorps	Présents	Absents
Groupe HLA	Oui	Non
Traitement	Insuline	régime, exercice, ADO

I.3) Les complications du diabète :

1.3.1) Complications métaboliques aiguës :

1.3.1.1) Hypoglycémie :

L'hypoglycémie est une complication indissociable du traitement du diabète. Son diagnostic

repose sur la triade de Whipple associant des symptômes compatibles avec une hypoglycémie, une glycémie inférieure à 0,5 g/L et une résolution rapide des symptômes avec la normalisation de la glycémie. On différencie l'hypoglycémie modérée traitée par le patient lui-même de l'hypoglycémie sévère nécessitant une aide extérieure (UK Prospective Diabetes Study Group, 1998).

1.3.1.2) Le coma acidocétosique :

La cétoacidose diabétique se caractérise par une hyperglycémie, une cétose et une acidose. La physiopathologie est liée à la combinaison de deux anomalies : une insulinopénie favorisée par une éventuelle infection, une prise médicamenteuse ou une pathologie endocrinienne et une élévation des hormones de la contre régulation induite par le glucagon, les catécholamines, l'hormone de croissance ou le cortisol. (Kury-Paulin *et al.*, 2007).

1.3.1.3) Le coma hyperosmolaire :

L'hyperglycémie initiale entraîne une polyurie « osmotique » qui, non compensée par les apports hydriques, aboutit à une hypovolémie. Cette hypovolémie induit une insuffisance rénale, qui provoque une rétention sodée et une élévation importante du seuil rénal du glucose.

La glycémie augmente, la polyurie persiste entraînant une oligoanurie. L'évolution spontanée se fait vers un état hyperosmolaire avec déshydratation massive, hypovolémie, coma et décès (Tamionet *al.*, 2009).

L'absence de cétose est associée à l'absence d'élévation importante des acides gras libres. L'inhibition de la lipolyse s'expliquerait par la persistance, au début du processus, d'une insulinémie périphérique insuffisante pour permettre la pénétration intracellulaire du glucose, mais suffisante pour inhiber la lipolyse. La cétonurie est nulle ou faible, une fois sur deux, on constate une acidose métabolique avec une réserve alcaline diminuée. Les hormones de la contre-régulation, notamment le glucagon, sont augmentées. C'est pourquoi la néoglucogenèse hépatique est un déterminant majeur de l'hyperglycémie (Tamionet *al.*, 2009).

1.3.2) Complications chroniques du diabète :

Les complications à long terme du diabète sont classiquement divisées en deux catégories :

-les complications microangiopathiques : neuropathie ; néphropathie et rétinopathie dont

Le facteur de risque majeur est l'hyperglycémie chronique

-les complications macroangiopathiques : maladies cardiovasculaires dont les facteurs de risque sont l'hyperglycémie, l'insulinorésistance, des carences en insuline, une dyslipidémie, l'hypertension, l'hyperlipidémie et l'athérosclérose. (Monnier *et al.*, 2007).

1.4) L'athérosclérose :

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) définit l'athérosclérose comme « une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyens calibres consistant en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissus fibreux et de dépôts calcaires. Le tout s'accompagne d'une modification de la média » (Jean-Louis Paula *et al.*, 2009).

Les artères touchées par l'athérosclérose sont : les artères coronaires, les artères carotides qui irriguent respectivement le myocarde et le cerveau, et l'aorte abdominale et ses branches qui irriguent les organes abdominaux et les membres inférieurs (Jean-Louis Paula *et al.*, 2009).

1.4.1) Description anatomopathologique de l'athérosclérose :

La description anatomopathologique moderne de l'athérosclérose retient trois stades évolutifs : strie lipidique, lésion fibrolipidique et lésion compliquée. Une classification beaucoup plus détaillée a été proposée par Stary (Stary *et al.*, 1995), qui divise les événements pathologiques en sept stades de gravité croissante (Tableau 03). Cette classification repose sur l'observation d'un grand nombre d'artères d'enfants et d'adultes jeunes. Elle suggère que les lésions évoluent avec l'âge du sujet en passant successivement d'un type lésionnel au type immédiatement supérieur.

*Tableau 3: Classification des types lésionnels de l'athérosclérose (Stary *et al.*, 1995)*

Type lésionnel	Age d'apparition	Terme proposé	Description
I	0 – 10 ans	Lésion initiale	Macrophages spumeux isolés dans l'intima. Absence de lipides extracellulaires.
II	0 – 10 ans	Strie lipidique	Couche de macrophages spumeux. CML chargées de lipides dans l'intima.
III	> 20 ans	Pré-athérome	Type II associé à de multiples petits dépôts lipidiques extracellulaires disséminés.
IV	> 40 ans	Athérome	Type II associé à de multiples dépôts lipidiques extracellulaires massifs et confluent (cœur lipidique).
V	> 40 ans	Fibroathérome	Type IV associés à des dépôts importants de collagène (chape fibreuse) entourant le noyau lipidique (Type Va) avec possibilité de calcifications (Type Vb).
VI	> 40 ans	Lésion compliquée	Type V avec rupture de la chape fibreuse (Type VIa), hémorragie intraplaque (type VIb), ou thrombose (Type VIc).

1.4.2) Principales étapes à l'origine de la formation des plaques :

1.4.2.1) Pénétration et oxydation des LDL dans l'intima :

La pénétration des lipoprotéines athérogènes dans l'espace sous-endothélial. Il n'est pas nécessaire que l'endothélium soit lésé puisque les lipoprotéines circulantes, dont le diamètre est inférieur à 70 nm, peuvent traverser l'endothélium notamment par le phénomène de transcytose (Frank *et al.*, 2004; Gustafsson *et al.*, 2004 ; Simionescu *et al.*, 2002).

En fait, l'accumulation des lipoprotéines au niveau intima reflète un déséquilibre entre leurs flux d'entrée et de sortie. Les lipoprotéines pénètrent dans l'espace sous-endothélial, elles peuvent diffuser dans l'autre sens c'est-à-dire ressortir. Il est donc nécessaire qu'elles soient maintenues dans l'espace sous-endothélial : c'est la rétention des lipoprotéines, phénomène qui permet de les piéger en les retenant dans l'intima. Cette rétention est rendue possible par l'interaction des lipoprotéines avec des récepteurs tels que le récepteur aux VLDL, le LRP, qui sont exprimés sur les cellules de la paroi artérielle et surtout avec les protéoglycanes de la MEC. Cette liaison résulte de l'interaction électrostatique entre les groupements sulfates chargés négativement portés par les protéoglycanes et les régions basiques de l'apoprotéine B100. Les lipoprotéines ainsi piégées sont l'objet de modifications progressives dont les modifications par oxydat (Gustafsson *et al.*, 2004).

Les LDL peuvent être oxydées dans la paroi artérielle au contact des cellules endothéliales, des CML ou des macrophages qui produisent des radicaux libres de (RLO).

Des (LDLox) sont effectivement retrouvées dans les plaques d'athérosclérose alors que leurs concentrations circulantes conséquence directe est qu'une LDL ainsi modifiée ne peut plus se lier au récepteur cellulaire des LDL natives mais, en revanche, elle pourra se « scavenger » exprimés à la surface des macrophages, (Figure 01) (Madamanchi. *et al.*, 2005).

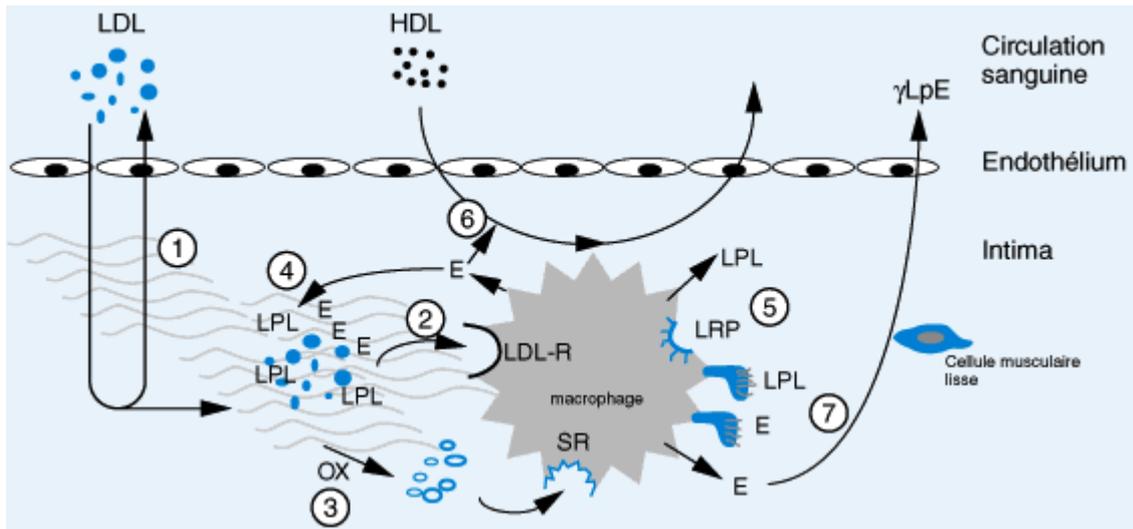


Figure 1 : Les principales modifications des particules LDL dans l'intima des artères participant à la physiopathologie de l'athérosclérose (Sharma, A et al., 2000)

1.4.2.2) Recrutement des leucocytes

La présence de LDLox dans l'espace sous avec pour conséquences l'attraction, l'adhérence puis la pénétration des cellules sanguines comme les monocytes et les lymphocytes T dans la paroi artérielle. Ces cellules processus inflammatoire qui stimulera le développement de la lésion, expliquant que l'on considère actuellement que l'athérosclérose est une maladie inflammatoire des grosses artères (Ross, 1999).

Les LDLox stimulent les cellules endothéliales qui expriment à leur surface des protéines d'adhésion telles que les sélectines E et P, et des molécules de la superfamille des immunoglobulines, VCAM-1 et ICAM-1 qui ont la capacité de se lier à des ligands de la famille des intégrines présents à la surface des leucocytes circulants comme les monocytes et les lymphocytes T (Figure 03). Ceci permet l'adhérence ferme de ces cellules à la surface de l'endothélium vasculaire puis leur pénétration dans l'intima artérielle (Hope *et al.*, 2003 ; Packard *et al.*, 2008).

De nombreuses cytokines pro-inflammatoires sont présentes dans la plaque d'athérosclérose comme le $TNF\alpha$, l' $IFN\gamma$, les IL 1, 6, 8, 12 ou encore l'IL-18. Ces cytokines pérennisent le recrutement des monocytes circulants en stimulant la production de chimiokines par les cellules de la plaque, leur adhérence et leur pénétration dans l'espace

sous-endothélial. D'autres modulent l'activité des CML comme l'IFN γ qui inhibe leur production des collagènes de types I et III tandis que l'IL-1 et le TNF α induisent la libération par les cellules de la plaque de métalloprotéinases (MMP) capables de dégrader la MEC fragilisant ainsi la plaque (Hansson *et al.*, 2006 ; Metheet *et al.*, 2007 ; Tedguet *et al.*, 2003).

Toutefois, l'évolution est le fruit d'équilibres complexes puisque sont aussi retrouvées dans la plaque des cytokines anti-inflammatoires telles que le TGF β , les IL-4, 10, 13 et la 18-BP ainsi que des inhibiteurs tissulaires des MMP (TIMP-1 et 2 : tissue inhibitors of metalloproteinases) (Hansson *et al.*, 2006 ; Metheet *et al.*, 2007 ; Tedguet *et al.*, 2003).

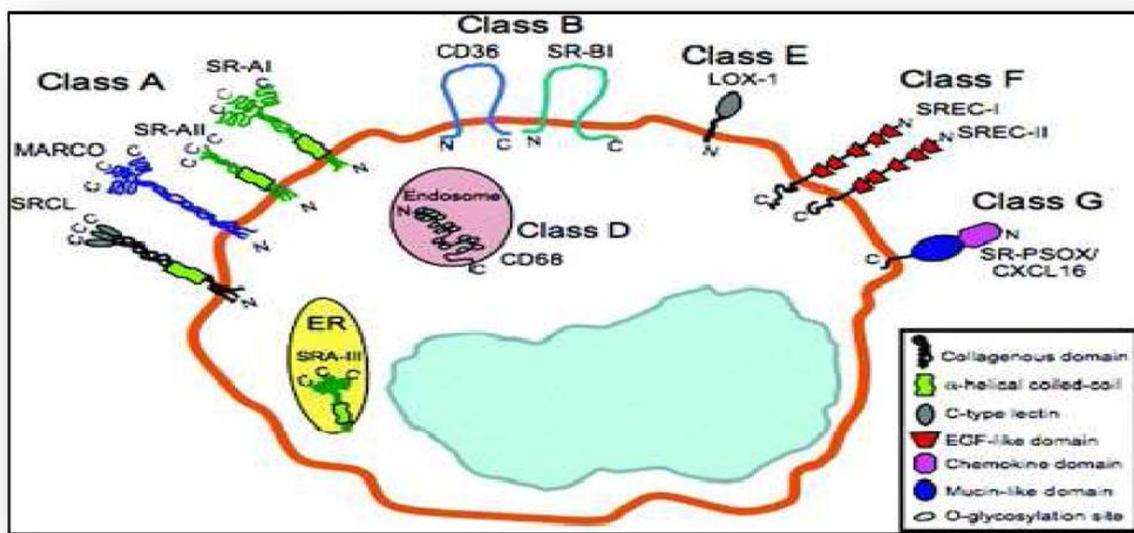


Figure 2: Principaux récepteurs scavenger impliqués dans la captation des LDLOxydées (Moore *et al.*, 2006).

Parmi les récepteurs « scavenger », le LOX1 est de découverte récent et spécifique des LDLox (DGS en collaboration avec l'INSERM 2003). Initialement considéré comme spécifiquement exprimé par les cellules endothéliales, il a depuis été retrouvé sur de nombreux autres types cellulaires comme les CML, les macrophages et les plaquettes.

Il est fortement exprimé dans les plaques d'athérosclérose chez l'Homme et une forme soluble est libérée dans la circulation. Il semble jouer un rôle important dans les phénomènes d'inflammation vasculaire mais aussi dans l'initiation, la progression et la déstabilisation de la plaque d'athérosclérose (Fraley *et al.*, 2006 ; Ishigaki *et al.*, 2008 ; Vohra *et al.*, 2006).

1.4.2.3) Evolution de la plaque d'athérosclérose :

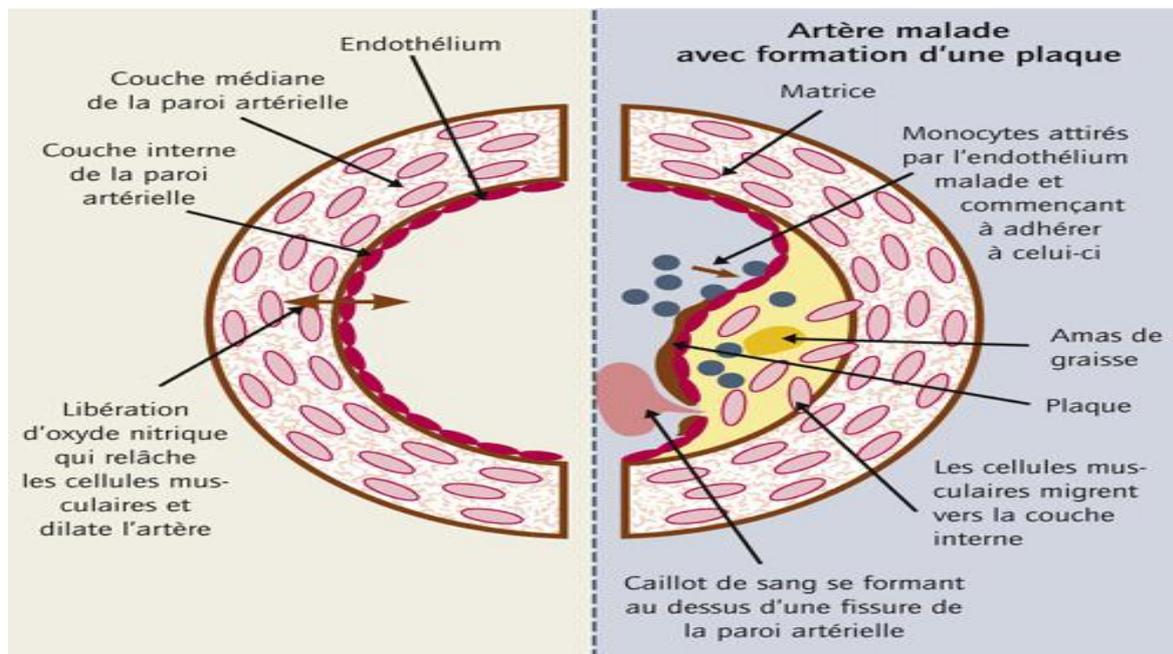


Figure 3: Structure de la paroi d'une artère, évolution de la plaque d'athérome et conséquences pathophysiologiques (Libby, 2002).

La plaque se développe longtemps sans altérer le calibre vasculaire : c'est le processus d'adaptation des vaisseaux athéroscléreux, appelé remodelage vasculaire ou élargissement compensateur. Toutefois, lorsque la masse intimale excède 40 % de la surface totale de la paroi, le remodelage excentrique de l'artère n'est plus suffisant pour contenir la plaque ; son développement se fait alors aux dépens de la lumière artérielle et conduit à son obstruction progressive (Duriez, 2004 ; Glago *et al.*, 1987).

Ce qui fait le danger d'une plaque n'est pas tant sa taille que les complications possibles, telles que les hémorragies dues à la rupture des micro-vaisseaux l'irriguant, l'érosion de l'endothélium qui recouvre la chape fibreuse ou la rupture de la plaque avec, dans ces deux derniers cas, la formation d'un thrombus luminal. Ceci fait intervenir la notion de la composition de la plaque qui détermine si la plaque est stable ou instable, terminologie qui fait toutefois l'objet de récentes controverses (Jackson, 2007 ; Schwartz *et al.*, 2007).

Il est actuellement considéré que les plaques stables, c'est-à-dire celles qui ont le plus faible risque d'évoluer vers un accident aigu, ont un centre lipidique de petite taille entouré d'une chape fibreuse épaisse riche en CML et collagène. En revanche, les plaques instables, plus vulnérables et donc à plus haut risque de complications, comportent un centre lipidique volumineux (plus de 30 à 40 % du volume total de la plaque) entouré d'une chape fibreuse fine pauvre en CML et collagène. (Naghavi *et al.*, 2003).

C'est ce type de plaque qui est particulièrement sensible à la rupture conduisant aux accidents thrombotiques aigus. Plusieurs facteurs intrinsèques participent à la fragilisation de la plaque. Le noyau lipidique est très riche en cholestérol non estérifié capable d'induire l'apoptose des macrophages contribuant ainsi à augmenter les dépôts lipidiques acellulaires (Figure 03) (Feng *et al.*, 2003).

II) Stress oxydant :

II.1) Rappel sur le stress oxydant :

II.1.1) Définition :

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre la production des espèces réactives et les systèmes de défense contre les radicaux libres. (Figure 4)

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule possédant un électron non apparié (célibataire) sur l'orbitale externe. Cette caractéristique lui confère une réactivité importante : les radicaux libres réagissent avec des molécules plus stables pour capter ou céder leurs électrons, créant ainsi de nouveaux radicaux en initiant des réactions en cascade. (Januel, 2003)

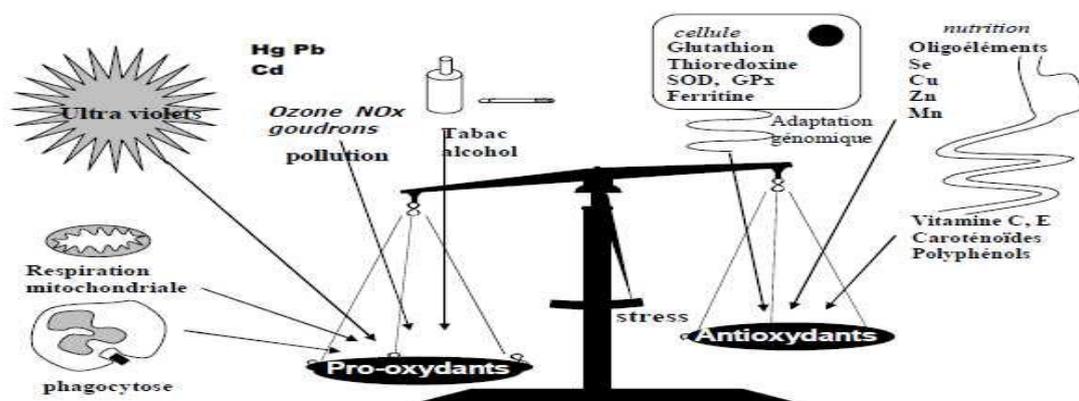


Figure 4: Déséquilibre de la balance entre prooxydant et antioxydant(Nkhili, 2009)

II.1.2) Proxydants :

II.1.2.1) Espèces Réactives de l'Oxygène (ROS) :

Espèces actifs de l'oxygène ou ROS pour désigner un ensemble plus large de molécules : des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié (l'anion superoxyde O_2^- , les radicaux hydroxyles $HO\cdot$, peroxyde $ROO\cdot$, alkoxyde $RO\cdot$) des dérivés de l'oxygène non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène singulet (1O_2) ou l'ozone (O_3) fortement oxydants et/ou facilement convertis en radicaux.

Toutes ces espèces oxygénées sont formées en faible quantité dans les conditions physiologiques (au sein de la chaîne respiratoire mitochondriale, lors de réactions inflammatoires) mais elles sont éliminées rapidement par le système antioxydant cellulaire.

Lorsque leur production augmente et/ou lorsque les défenses antioxydantes ne sont plus suffisantes face à cette production, les ROS peuvent attaquer différentes cibles cellulaires (lipides, protéines, glucides, ADN...) causant des dommages multiples et pouvant entraîner la mort de la cellule. (Figure 4). D'une part, la mitochondrie fournit à la cellule une source d'énergie importante puisque 36 molécules d'ATP à haut potentiel énergétique sont générées lors de la réduction de l'oxygène. Par contre, dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Haleng et al, 2007).

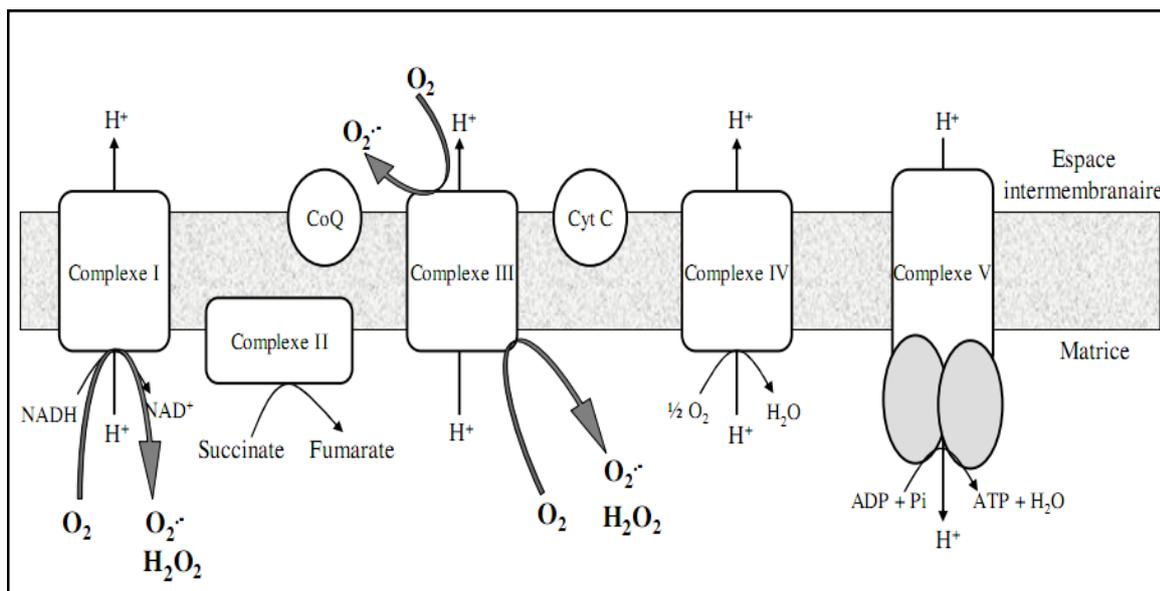


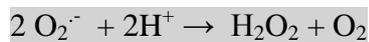
Figure 5: Sites de production de ROS au niveau de la chaîne respiratoire. (Elouil, 2009)

Les macrophages et les granulocytes possédants une enzyme appeler NADPH oxydase (Nox) qui peut catalyser la formation de $O_2^{\bullet -}$ (Équation 1) et ces dérivés H_2O_2 et OH^{\bullet} . Ces derniers sont utilisés par certaines cellules immunitaires pour la destruction des microorganismes préalablement phagocytés.



Équation 1 : Formation de l'anion superoxyde à partir des électrons de NAD(P)H par Nox.

Le peroxyde d'hydrogène est formé secondairement par la dismutation de l'anion superoxyde. La dismutation de l'anion superoxyde peut former une espèce stable et diffusible sous l'action des superoxydedismutase appeler le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Equation 2)



Équation 2 : Formation de peroxyde d'hydrogène par superoxyde dismutase (SOD)

Le H_2O_2 peut être réduit suivant engendrant alors un ion OH^- inoffensif et un radical hydroxyle HO^{\bullet} plus agressif (Januel, 2003). (Equation 3)



Équation 3 : Formation d'hydroxyle selon la réaction d'Haber-Weiss

La réaction de Fenton est une décomposition de fer-sel-dépendante du peroxyde d'hydrogène, générant des radicaux hydroxyles très réactifs. Il se produit en présence d'ions ferreux (Fe^{2+}) et $O_2^{\bullet -}$ (Equation 4). (Julien & Filaire, 2006)



Équation 4 : Formation de peroxyde d'hydrogène selon la réaction de Fenten

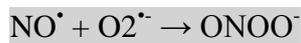
II.1.2.2) Espèces réactives de l'azote :

Le monoxyde d'azote, NO, est produit au niveau cellulaire à partir d'arginine et d'oxygène. Cette réaction est catalysée par une famille d'enzymes : les NO synthases (NOS). Il existe trois types de NOS : la NOS neuronale, la NOS endothéliale et la NOS inducible présente dans de nombreux tissus et organes. Les deux premières sont constitutives ; leur activité est régulée par la concentration intracellulaire de calcium. Le NO peut être converti en

ion nitrosium (NO⁺), en anion nitroxyl (NO⁻) ou en peroxy-nitrite (ONOO⁻) (Clémentine, 2013).

Les espèces réactives de l'azote issues du métabolisme de l'azote via les NO synthases sont représentées principalement par l'oxyde nitrique (NO•) qui est un radical, les oxydes de l'azote, comme l'anhydride nitreux N₂O₃ et l'ion peroxy-nitrite (ONOO⁻) La présence en excès de ces NOS semble avoir des effets carcinogènes (figure 6). (Cooke et al, 2006).

La réaction de NO• avec l'O₂^{•-} entraîne la formation de l'ion peroxy-nitrite ONOO⁻ selon la réaction suivante : (Équation 5)



Équation 6 : Formation de peroxy-nitrite

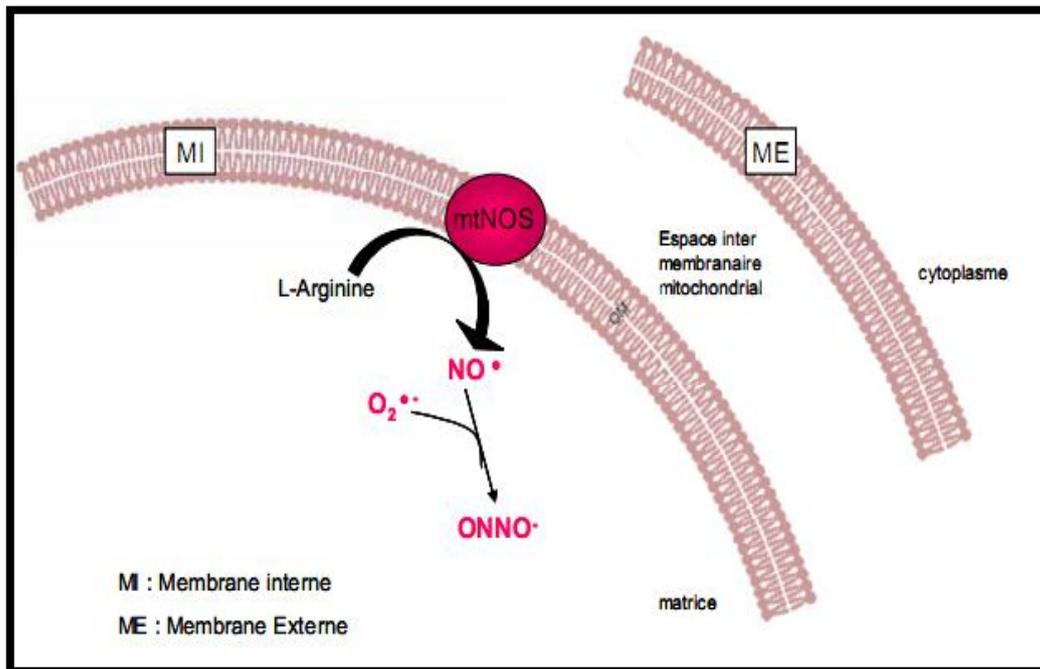
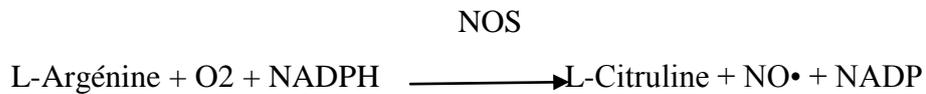


Figure 6: Formation de NO par la NO synthase mitochondriale. (Badouard, 2006)

NO possède des capacités vasodilatatrices au niveau cardiovasculaire. Le NO• est capable de moduler l'activité de nombreuses enzymes impliquées dans diverses voies métaboliques. Indirectement, le NO• est capable de nitrosyler le GSH ce qui entraîne un déficit des défenses antioxydantes, la réserve de GSH s'épuisant. De plus, il peut engendrer un stress oxydant intracellulaire, interagir avec l'ADN et réguler certains phénomènes comme la transcription, la traduction ou encore l'apoptose. (Badouard, 2006)

Beaucoup de cellules sont capables de produire du monoxyde d'azote NO• à partir d'arginine et d'oxygène, dans une réaction catalysée par la NO-synthase (NOS). Cette production est physiologique et joue un rôle majeur dans le tonus vasculaire (Kebieche, 2009).



II.1.3) Cibles cellulaire :

II.1.3.1) Acide désoxyribonucléique ou ADN :

Les ADN nucléaire et mitochondrial constituent une cible cellulaire importante.

Les attaques radicalaires au niveau des désoxyriboses ou des bases puriques et pyrimidiques peuvent conduire à leur oxydation ainsi qu'à des coupures mono- ou double-brin de l'ADN, responsables éventuellement de mutations pouvant aboutir à la mort cellulaire (Imlay & Linn, 1988 ; Zastawny *et al.*, 1998).

De puissants systèmes de réparation (glycosylases, endonucléases) permettent d'assurer dans la plupart des cas la conservation du génome. Le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques en présence de traces métalliques en libérant des cétoaldéhydes, H₂O₂ et HO•. Son oxydation entraîne la coupure de protéines et leur glycation par attachement du cétoaldéhyde (Wolff *et al.*, 1989).

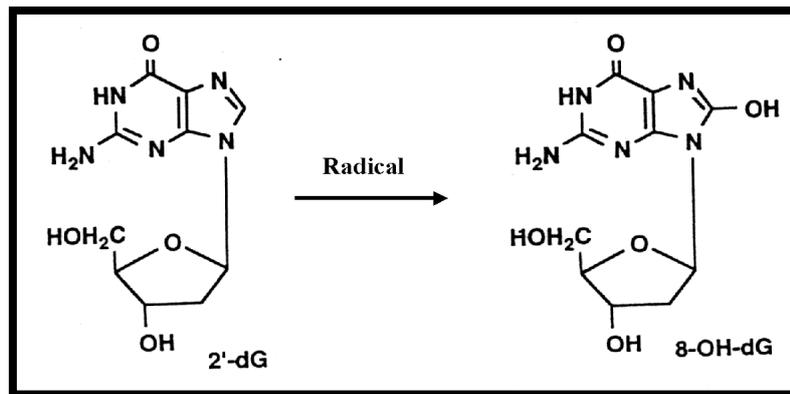


Figure 7: Structure du 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine.

II.1.3.2) Peroxydation lipidique :

Stress oxydant concerne tous les constituants cellulaires mais ce sont les lipides qui sont les plus touchés par ce phénomène. La peroxydation lipidique concerne les acides gras polyinsaturés ou estérifiés des membranes cellulaires (ou PUFAs pour « Poly Unsaturated Fatty Acids », exemple des esters de cholestérols, phospholipides et triglycérides), cibles des ROS. Ce phénomène de peroxydation lipidique peut se produire dans des

conditions physiologiques et il se trouve exacerbé dans des conditions pathologiques comme l'athérosclérose. (Badouard, 2006)

La peroxydation lipidique débute par une phase d'initiation qui implique l'attaque des espèces réactives (hydroxyles, alcoxyles, peroxyles, oxygène singulet, peroxydinitrite) entraînant l'arrachement d'un hydrogène du PUFA (LH). Ceci aboutit à la formation d'un radical pentadiényl qui après addition avec O₂ donne le radical peroxyde (LOO[•]). Ensuite, ce radical peut réagir avec un autre PUFA et former un hydroperoxyde (LOOH), c'est la phase dite de propagation de la peroxydation lipidique. Ces hydroperoxydes appartiennent à la famille des peroxydes lipidiques : les LPO. La réaction en chaîne de la peroxydation lipidique peut être prévenue par la vitamine E (α-tocophérol) intercalée dans la bicouche lipidique des membranes qui joue le rôle de donneur d'hydrogène. En effet, la vitamine E transforme les radicaux peroxyles en hydroperoxydes et met fin à la réaction en chaîne de peroxydation des PUFAs. Cette dernière étape est alors désignée comme phase de terminaison. Ces réactions sont résumées dans la (figure 9).

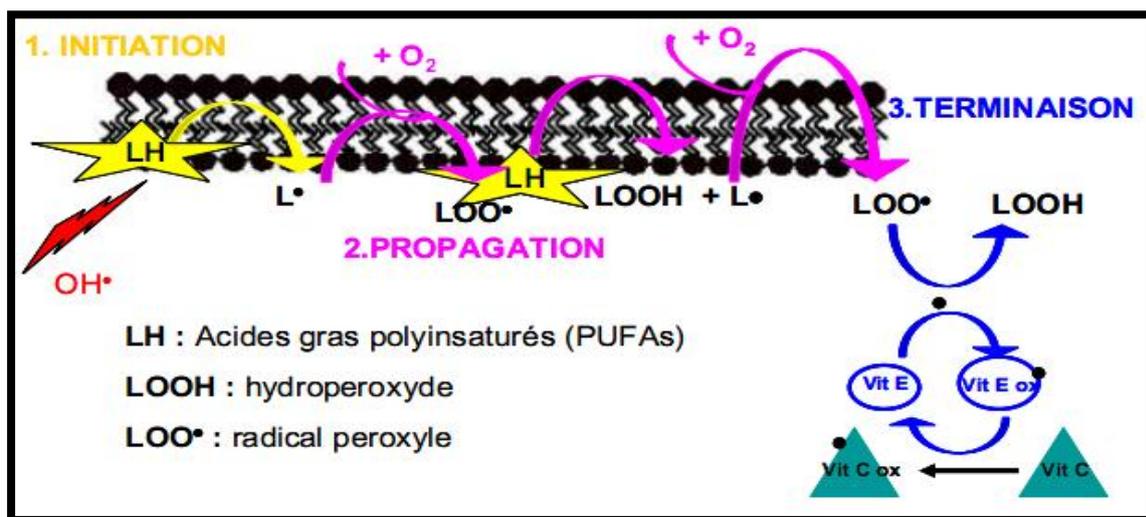


Figure 8: Réactions de la peroxydation lipidique (Niedernhofer et al., 2003).

Les LPO sont susceptibles de se décomposer en produits secondaires c'est à dire en aldéhydes très réactifs pouvant être considérés comme des messagers secondaires toxiques qui augmentent les dommages initiaux dus aux radicaux libres. Les plus réactifs vis à vis des bases de l'ADN sont représentés par le malondialdéhyde (MDA), le trans-4-hydroxy-2-nonéanal (4-HNE) et le crotonaldéhyde. Le MDA et le 4-HNE peuvent former des adduits avec l'ADN. D'autre part, le MDA et le 4-HNE réagissent avec des antioxydants comme le GSH

entraînant une diminution de la concentration de ce dernier, se traduisant ainsi par une diminution des défenses cellulaires. (Badouard, 2006)

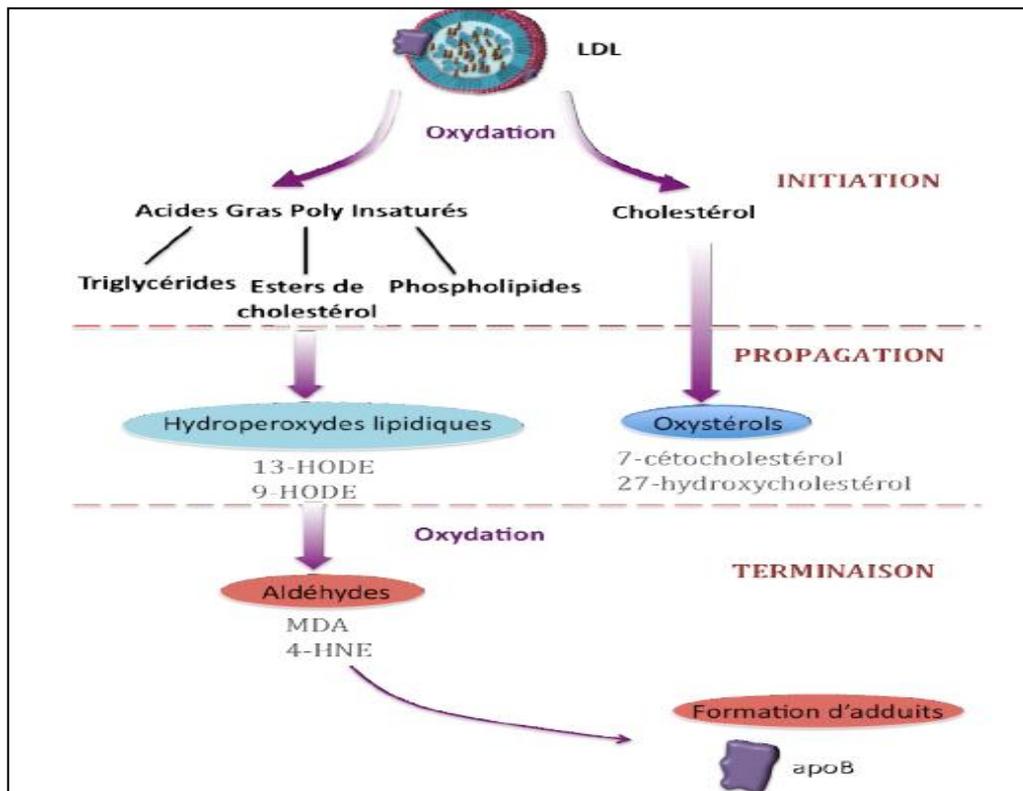


Figure 9 : présentation simplifiée de la peroxydation lipidique (Badouard, 2006)

II.1.3.3) Protéines :

L'attaque des protéines par le radical hydroxyle (HO°) ou par l'oxygène singulet ($\text{O}_{1/2}$) peut générer des produits finaux très variés. Par contre, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'anion superoxyde (O_2°) ne semblent oxyder que des protéines présentant des groupements sulfhydryles (SH) facilement oxydables et accessibles. Les acides aminés les plus sensibles au stress oxydant sont le tryptophane, la tyrosine, la phénylalanine, la méthionine et la cystéine. Les dommages infligés aux protéines peuvent venir non seulement d'une attaque directe par les radicaux libres, mais aussi par des produits issus de la peroxydation lipidique comme le malondialdéhyde et le 4-hydroxynonanal. Les protéines peuvent alors subir soit des réticulations par formation notamment de ponts bi-tyrosine, soit des coupures en cas d'agression forte, soit des modifications de certains acides aminés en cas d'agressions modérées. Lorsque qu'un radical d'acide aminé est formé dans une protéine, les électrons peuvent migrer sur d'autres résidus aminés. Ainsi, le site final oxydé au sein de la protéine n'est pas forcément le site initial d'oxydation. Des enzymes, mais aussi des récepteurs cellulaires et des protéines de transport, peuvent être la cible de ces phénomènes oxydatifs et

perdre leurs propriétés biologiques. Elles deviennent alors beaucoup plus sensibles à l'action des protéases. Les protéines oxydées se révèlent très hydrophobes, soit par suppression de groupements mines ionisables, soit par extériorisation de zones hydrophobes centrales. Elles vont alors former des amas anormaux dans et autour des cellules. Associés aux aldéhydes produits lors de la peroxydation lipidique, ces amas forment des dépôts de lipofuschines caractéristiques du vieillissement cellulaire. Aussi, des altérations peuvent concerner les protéines impliquées dans le maintien de gradients ioniques entre les cellules et les fluides extracellulaires. C'est le cas des pompes à calcium ou à potassium. Ces protéines sont essentielles dans la genèse du signal électrique des cellules musculaires et nerveuses. On comprend donc aisément les conséquences de leur dénaturation oxydative au sein de l'organisme. (Chabbaud, 2007)

Lipo-oxydation: c'est la réaction d'une protéine avec un aldéhyde produit au cours de la réaction de peroxydation lipidique. L'accumulation de lipoprotéines oxydées au niveau de la paroi vasculaire et un dysfonctionnement endothélial sont notamment à l'origine de l'athérosclérose qui est une pathologie chronique d'évolution lente de l'intima des artères. (Clémentine, 2013)

Glyco-oxydation : les protéines vont se lier avec le glucose qui est sous forme aldéhydique. Les produits de réaction sont appelés produits de glycation avancée. Dans le cas du diabète, qui se traduit par une augmentation de la glycémie ; les tissus sont, à terme, imprégnés de glucose entraînant ainsi une hyperproduction d'ROS via notamment la formation de produits de glycation avancée. Les ROS en excès vont alors altérer la paroi des vaisseaux et induire des complications vasculaires : micro et macro angiopathies. (Clémentine, 2013)

II.1.4) Antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des ROS, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes(*Figure 10*).

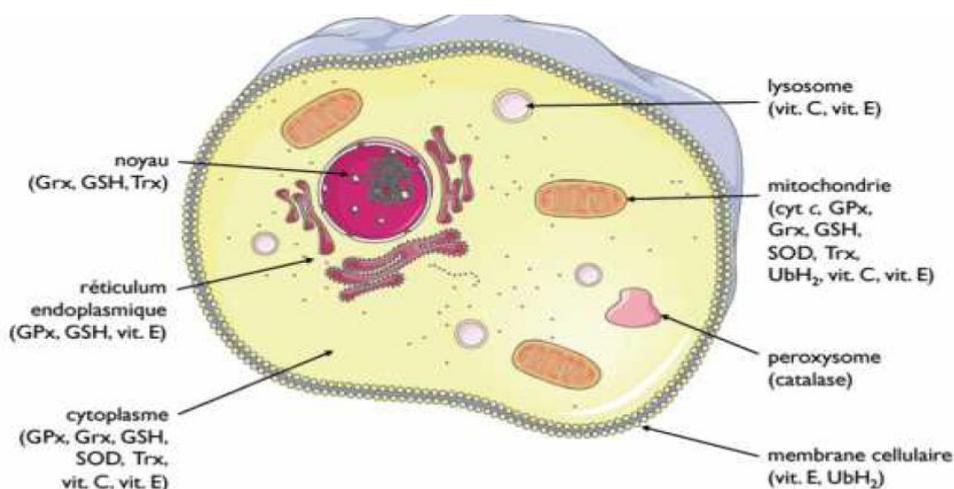


Figure 10: Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule (Benaraba, 2007)

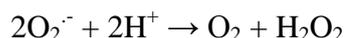
II.1.4.1) Systèmes antioxydants enzymatique :

La première ligne de défense de notre organisme contre les ROS sont les antioxydants enzymatiques tels que :

II.1.4.2) Superoxydedismutase (SOD) :

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. La SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (Haleng et al, 2007).

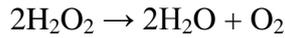
La SOD catalyse la dismutation des anions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et oxygène moléculaire selon la réaction suivante :



Équation 7 : la réaction catalysée par la SOD

II.1.4.3) Catalase :

La catalase ou CAT (EC 1.11.1.6) est une protéine héminique qui catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire selon la réaction suivante :



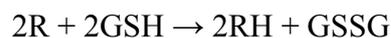
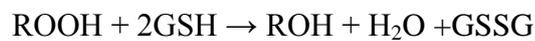
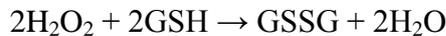
Équation 8 : La réaction catalysée par la catalase

La catalase se trouve dans les hématies et dans les peroxysomes de nombreux tissus et cellules. Cette compartimentation l'empêche d'être un accepteur pour l' H_2O_2 formé dans le cytosol et les mitochondries. (Januel, 2003)

II.1.4.4) Glutathion peroxydases, glutathion réductase et glutathion S transférase :

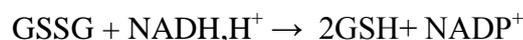
La glutathion peroxydase est un enzyme formée de quatre sous unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule desélénocystéine. La Gpx est présente dans les liquides extracellulaires (sang) et dans les cellules au niveau du cytoplasme et des membranes. Elle assure la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau , deshydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools (ROH) et des espèces radicalaires en espèces non radicalaires , grâce à la présence de glutathion réduit (GSH) , selon le mécanisme suivant :

GPx (Se)



Équation 9 : Réactions de la glutathion peroxydase.

Les molécules toxiques sont ainsi transformées en molécules assimilables comme l'eau et l'alcool. Dans chacune de ces réactions , une molécule de glutathion oxydée GSSG est obtenue . Pour que cette réaction perdure , il doit y avoir un taux constant de GSH , ce qui est rendu possible par la glutathion réductase (GR) . Elle catalyse la réduction du GSSG en GSH (Equation 09) , à l'aide du cofacteur NADPH sous forme réduite (NADPH, H^+) . Le NADPH , H^+ provient de l'oxydation du glucose-6-phosphate en 6-phosphogluconate par la glucose-6-phosphatédéshydrogénase , de la voie des pentoses phosphates. (Auberval, 2010)



Équation 10 : Réduction du GSSG en GSH par la glutathion réductase.

La glutathion S transférase (GST) réduit les hydroperoxydes en alcools mais ne réduit pas H₂O₂. (Benaraba, 2007)

II.1.4.5) Thiorédoxine :

Le milieu intracellulaire est plutôt réducteur, les protéines contiennent des groupements thiols libres et les ponts disulfures sont rares. L'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit est la thiorédoxine qui sera régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR) qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif. Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique (Haleng et al 2007).

II.1.4.6) Hème oxygénase-1 :

C'est une enzyme inductible et ubiquitaire qui dégrade l'hème en fer ferreux (Fe²⁺), monoxyde de carbone (CO) et biliverdine. Cette dernière est ensuite transformée par la biliverdine réductase en bilirubine, puissant antioxydant.

II.2) Systèmes antioxydants non enzymatique :

Les antioxydants non enzymatiques comprennent des molécules qui sont apportés par l'alimentation (exogènes) et autres molécules dont dispose l'organisme (endogènes).

II.2.1) Molécules antioxydantes endogènes :

II.2.1.1) Glutathion :

Le glutathion est formé par la condensation de trois acides aminés (acide glutamique, cystéine et glycine). Il est la source majoritaire de résidus thiols (-SH) dans la cellule où il est présent sous forme réduite (GSH). En condition physiologique normale, sa forme oxydée (GSSG) est présente en très faible concentration. Le rapport GSH/GSSG est un excellent marqueur de la peroxydation lipidique. Ce rapport tend à diminuer lors d'un exercice physique intense et au cours du vieillissement. (Guerin-Dubourg, 2014).

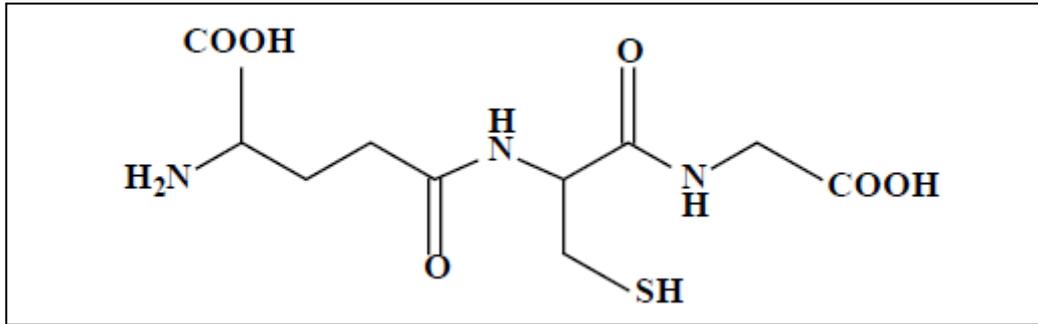


Figure 11: le glutathion (forme réduite)

Le glutathion présente deux caractéristiques structurales : une liaison γ -carboxyle entre les résidus glutamate et cystéine, et un groupement thiol porté par le résidu cystéine. La liaison γ -carboxyle étant un type de liaison peu fréquent et hydrolysée uniquement par la gamma-Glutamyl-Transpeptidase (γ GT), le glutathion est donc métabolisé de façon extracellulaire par les cellules exprimant la γ GT, et est ainsi plus résistant à la dégradation intracellulaire (Figure12)(Clémentine, 2013)

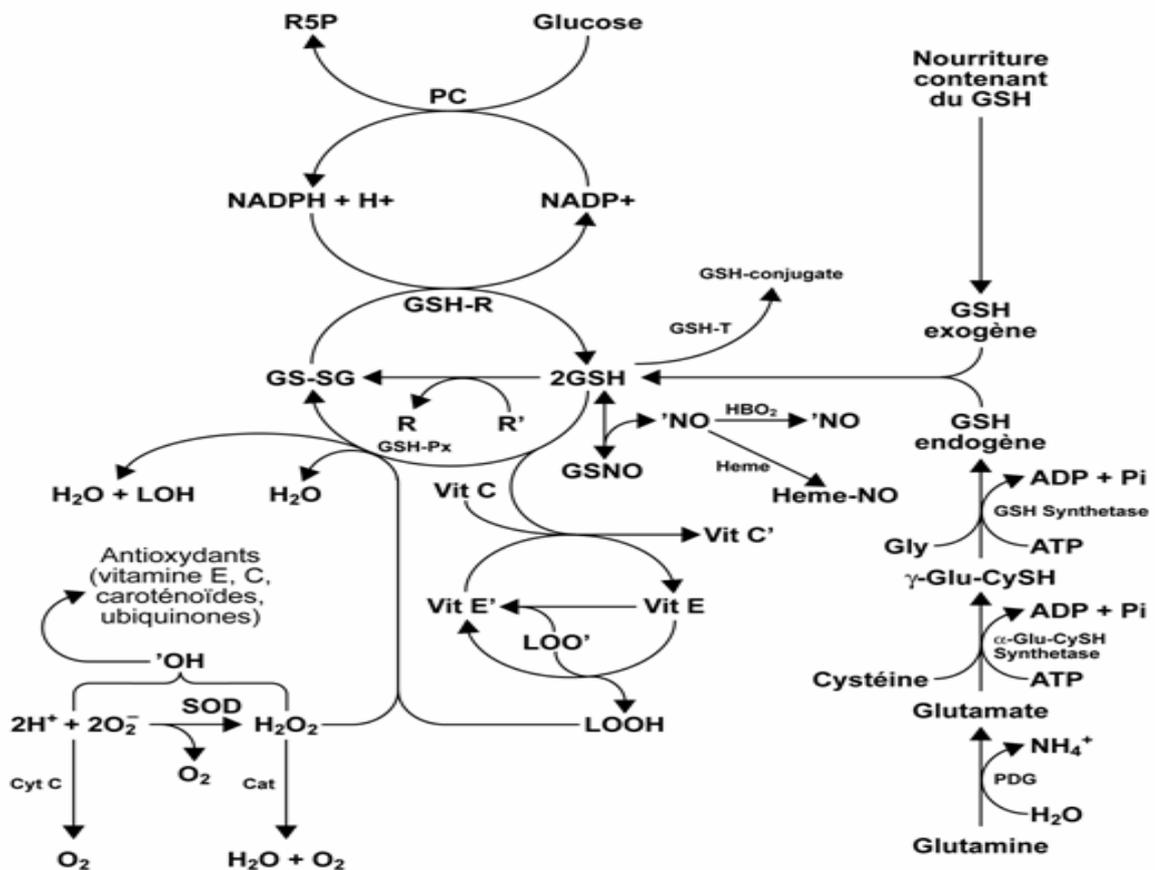


Figure 11: Les réactions impliquant le glutathion (Clémentine, 2013).

Outre le rôle de réserve et le transport de cystéine, le glutathion est un antioxydant majeur de la cellule, grâce à sa concentration élevée et du fait qu'il est le substrat d'importantes enzymes de défense. Dans les conditions normales, le glutathion sous forme réduite (GSH) représente entre 90 et 98% du glutathion total.

II.2.1.2) Coenzyme Q10 :

Le coenzyme Q10, appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique. Cette chaîne latérale confère à la molécule un caractère lipophile qui lui permet de s'insérer dans les membranes et les lipoprotéines. Il joue un rôle essentiel dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons et est un puissant inhibiteur de peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E. S'il n'existe pas d'apport journalier recommandé pour cet antioxydant, il semble toutefois qu'il soit nécessaire d'en ingérer au moins 30 mg par jour. Il est à noter que la synthèse de cet antioxydant est, en tout point, parallèle à celle du cholestérol. La formation de ces deux molécules dépend, en effet, de l'acide mévalonique formé à partir de la transformation de la HMG CoA (3-hydroxy-3 methylglutaryl-CoA) par la HMG-CoA réductase. Or, les agents hypocholestérolémiantes comme les statines agissent en inhibant cette dernière enzyme, ce qui a comme effet secondaire une réduction significative du taux plasmatique d'ubiquinone. Connaissant le rôle de cette dernière au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale, on comprend pourquoi les personnes prenant des statines se plaignent régulièrement de douleurs musculaires. (*Haleng et al, 2007*)

II.2.2) Molécules antioxydant exogènes :

II.2.2.1) Oligoéléments :

Les oligo-éléments (Cu, Zn, Se, Mn, Cr) ont aussi des propriétés anti oxydantes. Ils servent notamment de cofacteurs aux enzymes anti oxydantes.. (*Baratli, 2015*)

II.2.2.2) Polyphénols :

Les polyphénols ont un effet antioxydant par leurs interactions directes avec l'O₂⁻ et les autres ROS tels que OH⁻ et ONOO⁻. Les polyphénols peuvent aussi protéger l'endothélium via leurs effets sur les LDL oxydées, qui jouent un rôle précurseur dans la dysfonction endothéliale. Il a été démontré que la dysfonction endothéliale induite par les LDL oxydées peut être renversée par les antioxydants polyphénoliques.

II.2.2.3) Vitamines :

Tableau 4: Les apports exogènes de vitamines nécessaires à l'homme. (Malika et al, 2009)

<p>Vitamine C (acide ascorbique)</p>	<p>Hydrosoluble, Co-substrat de plusieurs Oxygénases et oxydases. In vitro, maintient la Vitamine E sous sa forme réduite, active lors de l'inhibition de la Peroxydation lipidique Membranaire mécanisme impliqué dans la protection des LDL contre l'oxydation. À confirmer in vivo.</p>	<p>Fruits, légumes, feuilles (forte concentration dans le Cassis, les agrumes, les Kiwis, les poivrons, les Brocolis, le chou et le persil). Souvent utilisée comme additif dans agroalimentaire.</p>	<p>Une orange, un kiwi sont suffisants (les effets de Carence sont bien connus ; a fortes doses, un effet Prooxydant a été décrit).</p>
--	--	---	---

<p>Vitamine E (8 composés proches dont 4 tocophérols et 4 tocotriénols)</p>	<p>Hautement lipophiles, se concentrent dans les membranes biologiques et les lipoprotéines. Agissent via la peroxydation lipidique des acides gras insaturés. Propriétés immunostimulantes sur l'immunité humorale et cellulaire et la phagocytose.</p>	<p>Huiles végétales et produits dérivés (pépins, germe et grain de blé, noix et certains légumes à feuilles verts (peu dans les fruits, baies et légumes).</p>	<p>Une cuiller à soupe d'huile De tournesol, ou 2 d'huile de colza, ou une petite tasse de noix</p>
<p>Caroténoïdes (Composés pigmentés colorant de jaune à rouge de nombreux fruits et légumes. Le β-carotène est un précurseur de la Vitamine A.</p>	<p>–Lipophiles comme la Vit E, donc présents dans Les compartiments lipidiques des tissus. –Puissants neutralisateurs des dérivés activés de l'oxygène, comme l'oxygène singulet et les radicaux peroxydes. Contribuent également à la protection contre la Peroxydation. –Réduction du risque cardiovasculaire. Peuvent à voir un effet prooxydant, voire cancérogène.</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Carotte (α-β carotène) – Tomate et melon (lycopène) Agrumes (β-crypto xanthine) – Épinards et endives – (β-carotène et lutéine) – Maïs (zeaxanthine). 	<p>Pas d'AJR pour les caroténoïdes seuls mais un mélange de fruits et de légumes (5/jour) est fortement conseillé (cf.PNNS) (à fortes doses, la vitamine A peut être responsable d'hypertension intracrânienne).</p>

II.3) Implication de stress oxydant dans le diabète :

II.3.1) Relation entre le diabète et le stress oxydant :

Le diabète se traduit par une augmentation du glucose qui va entraîner l'activation de différentes voies dont la formation de produits de glycation avancés qui aboutissent à un stress oxydant à long terme. Les défenses antioxydantes sont diminuées et les réactions

prooxydantes augmentées (production d'espèces réactives de l'oxygène, oxydation des lipides...). Cela va induire une destruction des cellules bêta du pancréas, cellules sécrétrices d'insuline, ainsi qu'une altération de l'action de l'insuline qui vont provoquer une augmentation de glucose et donc du diabète (Figure 13). (Clémentine, 2013)

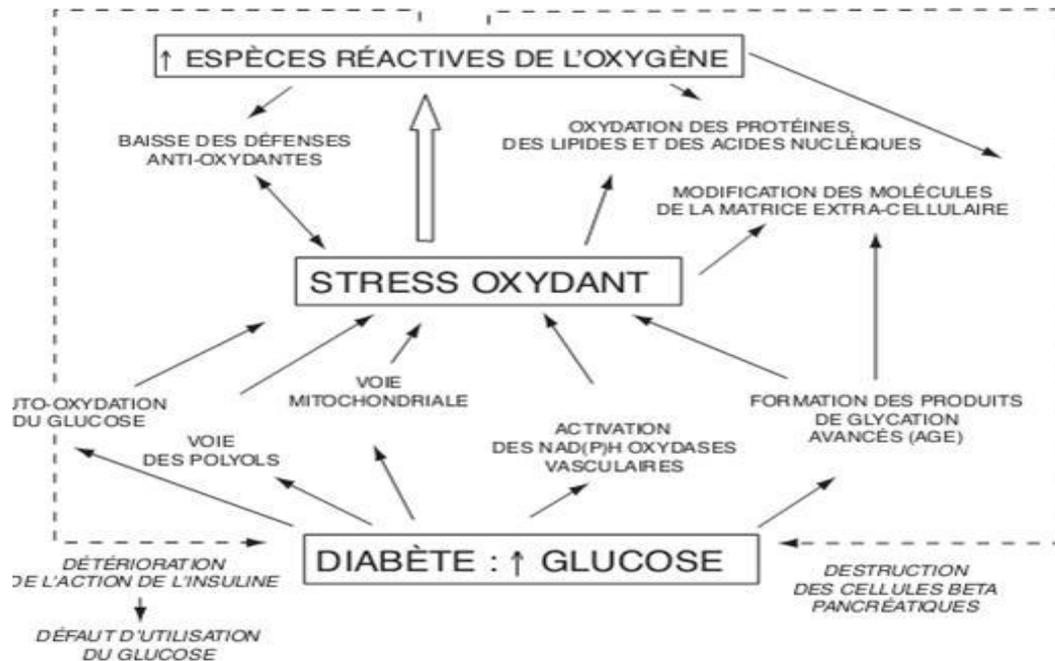


Figure 12: Diabète et stress oxydant (Clémentine, 2013)

II.4) Effet du stress oxydant sur l'insulinorésistance :

Les ROS sont également impliquées dans l'insulinorésistance. Des études sur des cellules en culture démontrent que les ROS inhibent la transduction du signal de l'insuline. Elles empêchent l'autophosphorylation du récepteur à l'insuline et par conséquent celle de la protéine IRS-1, conduisant à un blocage des voies en amont de la PI3K. La translocation du récepteur GLUT4 est alors inhibée en permettant pas l'entrée du glucose dans la cellule. (Figure 14) En effet, des concentrations de l'ordre du micro molaire en peroxyde d'hydrogène suffisent à inhiber l'autophosphorylation du récepteur à l'insuline sur des cellules en culture entraînant ou favorisant l'insulinorésistance. (Auberval, 2010)

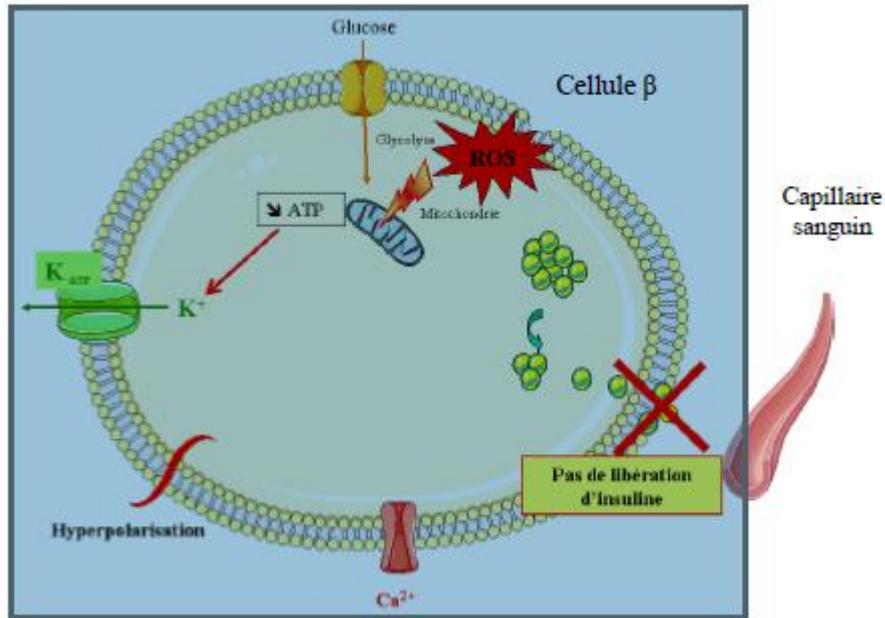


Figure 13 : Mécanisme de la résistance à l'insuline induit par les stress oxydant(Auberval, 2010)



***Matérielle
et méthode***

I –Matérielle et méthodes

I-1-Objectifs de l'étude :

“ notre objectif de travail est d'étudier et d'évaluer l'état de stress oxydant et la peroxydation lipidique chez des sujets ayant une diabète équilibré et leur répercutions sur le fonctionnement endothéliale ”

I-2-Présentation du site d'étude

L'enquête descriptive et analytique a été réalisée au niveau de deux structures hospitalières :

- ✓ L'établissement Public Hospitalier(EPH)*BouguerraBoulaaresBekarria* - Tébessa.
- ✓ L'établissement Public Hospitalier (EPH)*Alia Saleh* - Tébessa

Les analyses ont été effectuées aux niveaux des trois laboratoires suivants:

- ✓ Laboratoire Centrale de l'EPH *Alia Salah*.
- ✓ Laboratoire Centrale de l'EPH *BouguerraBoulaaresBekarria*.
- ✓ Laboratoire de biochimie de la faculté des SNV vie de *L'Université De Tébessa*.

I-3- Population d'étude

L'étude a été faite sur 157 sujets (54 patients de type1 et 103 de type2 et de40 témoins des deux sexes âgés de 13 à 95ans. Les sujets ont été choisis selon des critères d'inclusion et des critères d'exclusion.

I-4-Définitions du cas et Témoins

Les malades :

- Les 40 malades sont divisés en deux lots ; l'un a un diabète insulino-dépendant (10 hommes et 10 femmes) et l'autre a un diabète non insulino-dépendant (10 hommes et 10 femmes)
- *Témoins* : population témoin contient 20 personnes sains (10 hommes et 10 femmes)

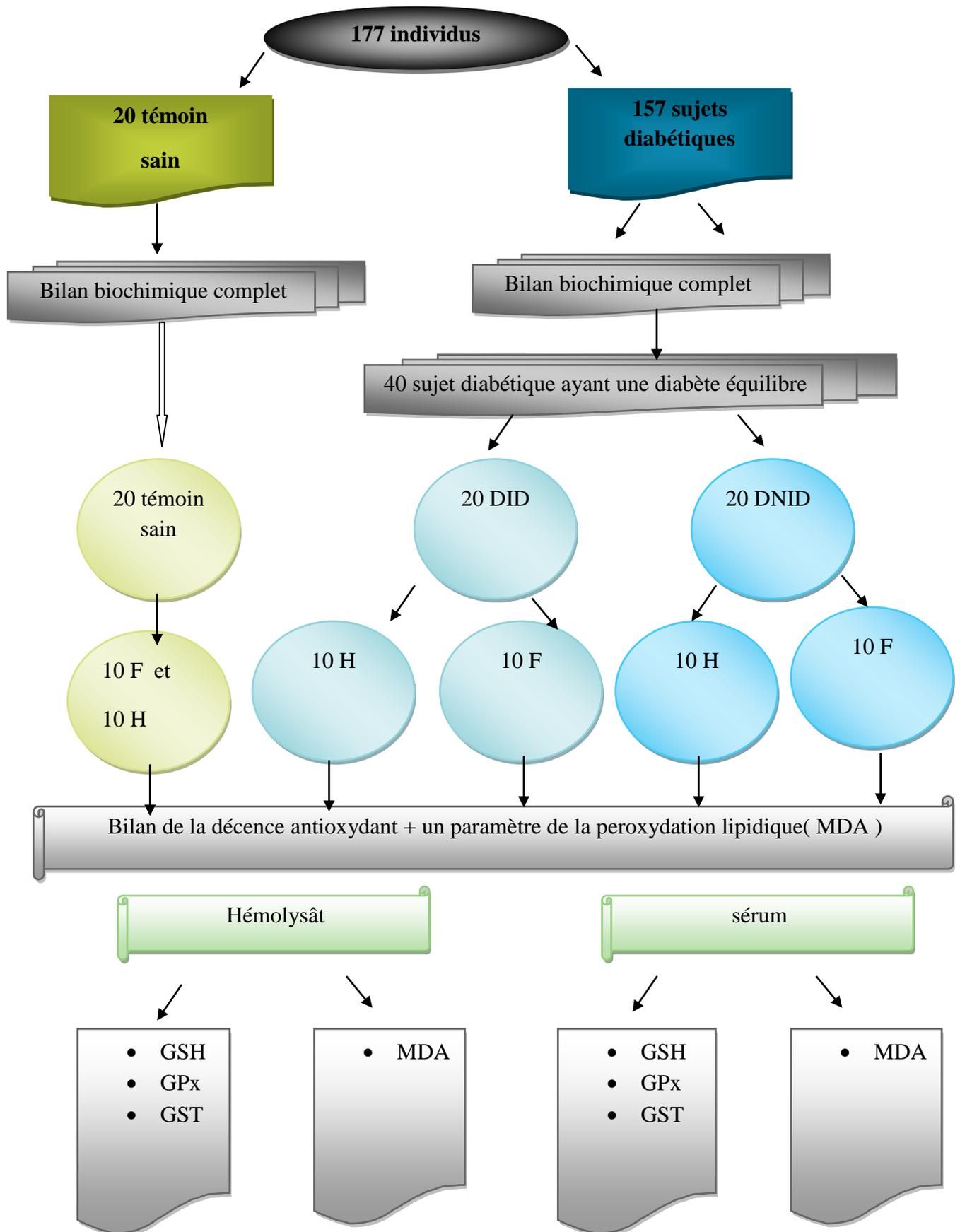


Figure 15: Schéma récapitulatif de protocole expérimental.

I-5- Déroulement de l'enquête

I-5-1 Pré enquête

Dans le but de s'assurer que les questions sélectionnées soient pertinentes et pouvant apporter l'information recherchée en rapport avec notre problématique, le questionnaire élaboré a été testé en réalisant une pré-enquête (enquête test) auprès de 10 sujets de notre entourage (famille, voisins ...). Cette pré enquête nous a permis d'évaluer la pertinence des questions posées. Les observations et les remarques des sujets interrogés ont été prises en compte, certaines questions ont été modifiées et d'autres ont été supprimées. Ainsi le questionnaire définitif est devenu plus clair, compréhensible et adapté au besoin de notre travail.

I-5-2 Déroulement de l'enquête

L'enquête s'est déroulée du 18/02/2017 au 28/03/2017. Après les démarches administratives pour l'obtention de l'autorisation d'accès aux établissements, nous nous sommes présentées et expliqué notre travail aux directeurs et au personnel des établissements concernés.

Chaque sujet avons interrogé durant 5 à 10 minutes. Les patients qui ont accepté d'être enquêtés ont fait l'objet d'un prélèvement de sang veineux, des mesures anthropométrique (poids, taille)

I-5-3- Difficultés rencontrés au cours de l'enquête

Durant la réalisation de notre travail, nous avons été confrontés à des difficultés inhérentes à toute enquête de ce type, surtout qu'il s'agit d'une première expérience pour nous.

- Certains patients refusaient d'être interrogés.
- Les personnes âgées ne comprennent pas facilement les questions.

I-6- Questionnaire

Il s'agit d'un questionnaire d'enquête par entretien. Avant chaque entretien, nous avons expliqué à chaque sujet le but de notre étude. Une fois le consentement obtenu, les sujets sont interviewés. L'entretien se terminait par les mesures anthropométriques (poids, taille).

Ainsi le questionnaire final nous a permis de recueillir les données suivantes :

- L'identification de la personne enquêtée (Date d'hospitalisation, confirmation du diabète, type de diabète. Ces informations ont été mentionnées sur les dossiers des malades.)

- Informations sociodémographiques

Cette rubrique est consacrée aux renseignements sur : l'âge, le sexe, profession du patient, le lieu de résidence). Ce volet en plus de fournir des informations importantes pour cette étude il nous a permis de se familiariser avec les patients s'il l'accepte !!!

- Le tabagisme, l'activité physique et hérédité

Ces rubriques sont très importantes pour ce travail car chaque variable constitue un facteur de risque pour le diabète. Les données recueillies vont nous permettre d'étudier de près la relation entre ces facteurs de risque et le diabète.

- La taille

La mesure de la taille a été faite à l'aide d'un mètre ruban de couturière, le sujet toujours pied nu et le long d'un mur plat, nous avons tracé la hauteur puis nous avons mesuré avec le mètre ruban (faute de la non disponibilité d'une toise).

- Le poids

La mesure du poids a été réalisée sur une pèse personne "TIAN SHAN -2003A" plage de mesure son capacité de 180 Kg (396 IB), sa précision est de 100 g pour un kg, chaque sujet doit enlever les vêtements lourds et les chaussures, se tenir debout et droite sur la pèse.

- Maladies associées

Ces rubriques sont très importantes pour ce travail par ce qui nous permet de connaître si le patient souffre d'autres complications diabétique comme l'HTA, maladie coronarienne, maladie des artères périphériques, rétinopathie, maladie cérébrovasculaire, néphropathie diabétique, neuropathie diabétique, ect)

I-7 Les méthodes biologiques

I-7-1 Protocole des analyses

I-7-1-1 Le prélèvement sanguin

Les prélèvements ont été réalisés classiquement sur des patients entre 8h et 10h du matin, le sang veineux est récupéré sur deux tubes de prélèvement contenant des

anticoagulants différents, selon les exigences des fiches techniques des examens biochimiques à réaliser :

- Un tube à EDTA comme anticoagulant, pour le HbA1C .
- Un tube Sec pour le dosage des paramètres biochimiques (protéines sériques, ionogramme et autres dosages ...).
- Le reste de sérum des tubes secs et le sang des tubes EDTA sera transmis au congélateur de laboratoire de la fac pour conservation à -80 C pour le dosage des marqueurs de stress oxydant

1-7-1-2 Réalisation du dosage des paramètres biochimiques

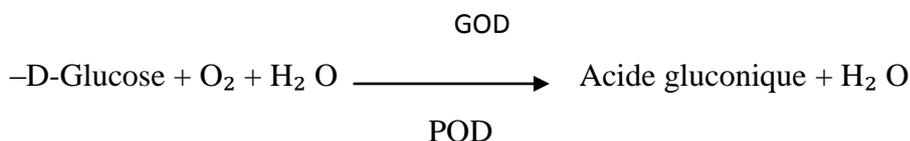
Pour la réalisation des dosages deux méthodes ont été utilisées :

Le sérum récupéré par centrifugation est déposé dans un analyseur automatique et le résultat est affiché sur l'écran, ensuite il est imprimé par une imprimante attachée à l'automate.

1-1-7-1-2-1 Paramètres biochimiques :

1. Glucose

Les mesures sont réalisées sur du sérum par la méthode à la GOD et la fiche technique Spinreact .Le glucose est transformé par la glucose oxydase (GOD) en acide gluconique et peroxyde d'hydrogene (H₂O₂). Ce dernier, en présence de peroxydase (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminophénazone) en un composé coloré en rouge (quinoneimine) (Kaplan, 1984 ; Trinder, 1969), selon les réactions suivantes : β



Dans un tube sec 10 µl serum d'échantillon sont ajoutés à 1ml de reactif de glucose [(GOD : 1500 U/L, POD : 1000 U/L , 4 aminophénazone : 2.6 mmol/l) dissout dans un tampon tris pH 7.4 contenant 3mmol/l du phénol], incubation à 37°C pendant 10 minutes, lecture contre un blanc reactif à 500 nm avec utilisation d'un étalon.

$$[\text{Glucose}] (\text{mg/dl}) = \frac{(\text{A}) \text{ Echantillon}}{(\text{A}) \text{ l'etalon}} \times 10 (\text{concentration d'etalon})$$

2-Dosage de HbA1c :

Cette méthode de Spinreact utilise l'interaction entre l'antigène et l'anticorps, afin de déterminer directement la HbA1c totale dans le sang. L'hémoglobine totale et la HbA1c ont la même absorption non spécifique pour les particules de latex. En cas d'ajout de l'anticorps monoclonal anti-HbA1c(souris) (R2), un complexe latex - HbA1c - anticorps HbA1c de souris est formé. Une agglutination a lieu lorsque l'anticorps polyclonalIgG de chèvre antisouris interagit avec l'anticorps monoclonal. La quantité d'agglutination est proportionnelle à la quantité de HbA1c absorbée sur la surface des particules de latex. La quantité d'agglutination est mesurée comme absorbance. La valeur de HbA1c est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage.

Méthode

- On Ajuste le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée.
- On prend R1 360 µL (Anticorps monoclonal anti-HbA1c (souris) 0,05 mg/mL, anticorps polyclonalIgG de chèvre anti-souris 0,08 mg/dL) + échantillon (µL) 10
- Mélanger et incuber pendant 5 minutes à température ambiante.
- On rajoute R2 120 µL
- Mélanger et lire l'absorbance (A) a 660 nm, 5 minutes après l'ajout du Réactif R2.

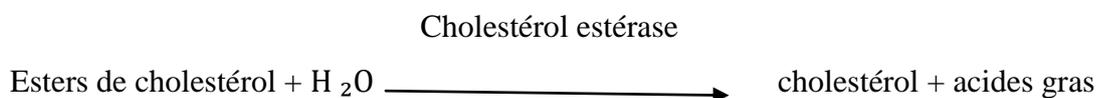
Calculs

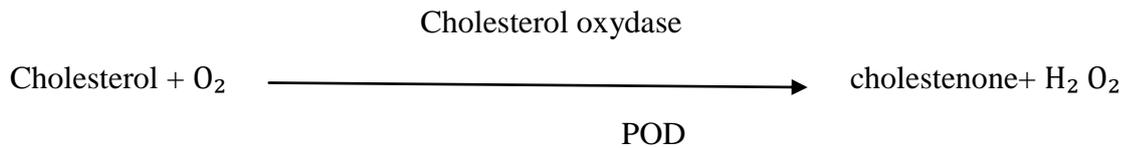
On Représente l'absorbance (A) obtenue par rapport aux concentrations de HbA1c de chaque Calibrateur (du 1 au 4). Le pourcentage de HbA1c dans l'échantillon est calculé par interpolation de son absorbance (A) dans la cuve d'étalonnage.

3. Cholestérol

Méthode colorimétrique selon la fiche technique Spinreact .

Le cholestérol présent dans le sérum se transforme en composé coloré selon les réactions suivantes (Naito & Kaplan, 1984) :





Dans un tube sec 10µl d'échantillon (serum) sont additionnées a 1ml de reactif de travail [R2 (Cholestérol estérase: 300 U/L, Cholestérol oxydase: 300 U/L, Peroxydase (POD) : 1250U/L, 4- aminophénazone: 0.4 mmol/l) dissout dans le tampon ; R1(PIPESpH6.9 : 96 mmol/l, phénol : 26 mmol/l)], agitation, incubation à 37°C pendant 05minutes. Lecture de la densité optique à λ=505 nm contre un blanc réactif en utilisant un tube étalon.

(A) échantillon

$$[\text{Cholestérol}](\text{mg/dl}) = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 200 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

Facteur de conversion : mg/dl x 0.0258 = mmol/L

4. Cholestérol HDL

Les lipoprotéines de très basse densité (VLDL), et de basse densité (LDL) présentent dans le sérum ou le plasma sont précipitées par le phosphotungstate en présence des ions magnésium. Après centrifugation le surnageant contient les lipoprotéines de haute densité (HDL). Cette fraction (HDL-C) est déterminée en utilisant le réactif et le protocole de dosage du cholestérol total(Naito & Kaplan, 1984 ; Grove, 1979).

Dans un tube sec 100µl de réactif de précipitation des LDL et VLDL (acide phosphotungstique : 14 mmol/l, magnésium chloride : 2 mmol/l) sont additionnés à 1ml de sérum. Agitation puis incubation pendant 10min à température ambiante, centrifugation à 4000 t/min (rpm) pendant 20 min. le surnageant est utilisé comme échantillon pour le dosage du cholesterol T = HDL-c.

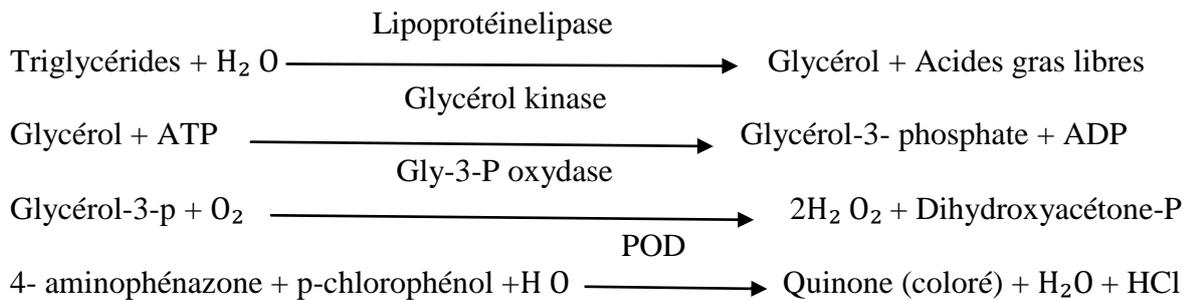
5. Cholestérol LDL

Le calcul de LDL-Cholestérol est effectué par la formule de Friedewald(Friedewald *et al.*, 1972).

6. Triglycérides

Détermination quantitative des triglycérides sériques par une méthode enzymatique colorimétrique à la GPO- POD selon la fiche technique Spinreact.

Hydrolyse des triglycérides par les lipoprotéinelipases (LPL) avec libération du glycérol et acides gras libres. Le glycérol est converti en glycérol-3- phosphate et adénosine di phosphate ADP par la glycerol kinase et l'ATP. Le G3P est converti par GPDH en dihydroxyacétone phosphate et H_2O . Ce dernier réagit avec le 4- aminophénazone et pchlorophenol en présence de peroxydase (POD) pour donner une coloration rouge selon les réactions(Buccolo, 1973) :



Dans un tube sec 10 μ l d'échantillon (serum) sont additionnées à 1ml de reactif de travail [R2 (Lipoprotéine lipase (LPL) :150 000U/L, Glycérokinase (GK) : 500 U/L, Glycérol-3P oxydase (GPO) : 2500 U/L, Peroxydase (POD) : 440 U/L, 4- aminophénazone (4-AP) : 0.1 mmol :l, ATP : 0.1 mmol/l) dissout dans le tampon ; R1(GOODpH7.5 : 50 mmol/l, pchlorophénol : 2 mmol/l)], agitation, incubation à 37°C pendant 05minutes. Lecture de la densité optique à $\lambda=505$ nm contre un blanc réactif en utilisant un tube étalon

$$[\text{Triglycérides}] \text{ (mg/dl)} = \frac{\text{(A) échantillon}}{\text{(A) étalon}} \times 200 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

Facteur de conversion : mg/Dl x 0.0258 = mmol/L.

I -1-7-1-2-2 Paramètres de décence antioxydant

1-Glutathion :

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de Weekbeker et Cory (1988). Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5- mercapturique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela on réalise une déprotéinisation (par l'acide sulfosalycique 0,25%) afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du glutathion.

0.8 ml de l'hémolysât auquel est ajouté 0.2 ml d'une solution d'acide sulfosalycilique (SSA) à 0.25%. Agitation, incubation dans un bain de glace pendant 15 minutes. Centrifugation

1000rpm pendant 5 minutes. 0.5ml de surnageant au quel est ajouté 1 ml de tampon Tris-HCL + EDTA(0.02M) pH 9.6. Agitation et addition de 0.025 ml de DTNB à 0.01M dissout dans le méthanol absolu. Incubation 5 minutes à température ambiante puis lecture de la DO à $\lambda=412$ nm.

$$[GSH] = \frac{Do \times 1 \times 1.525}{131000 \times 0.8 \times 0.5mg \text{ Pr } t} (nM \text{ GSH } g \text{ Pr } t)$$

Do : Densité optique.

1: Volume total des solutions utilisées de la déprotéinisation (0.8 ml hémolysât + 0.2 ml SSA).

1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant +1 ml Tris-EDTA + 0.025 ml DTNB).

13100 : Coefficient d'absorbance (contenant le groupement -SH à 412 nm).

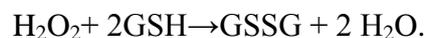
0.8 : Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans un 1 ml.

0.5 : Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

On note que la concentration de GSH est mesurée par apport à 1 mg de protéine. C'est pour cela que ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

2-Glutathion peroxydase :

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe et Gunzler(1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSSG), sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



Dans un tube sec, 0.2ml de l'hémolysat est additionnée à 0.4 ml de GSH a 0.1 mM (réaction enzymatique) + 0.2 ml de KNaHPO₄ à 0.067M (tampon d'extraction pH7.8). Le tube blanc contient 0.4 ml de GSH + 0.2 ml de HPO₄ (réaction non enzymatique). Incubation au bain marie à 25°C pendant 05 min puis addition de 0.2 ml d'H₂O₂ (1.3mM) pour initier la réaction. Incubation 10 min. addition de 1 ml de TCA 1% T pour arrêter la réaction. Le mélange se met dans la glace pendant 30 min. centrifugation durant 10 min à 3000t/min. 0.48 ml de surnageant sont placés dans un cuve est additionnés de 2.2 ml de Na₂HPO₄ à 0.32 M+ 0.32 ml de DTNB à 1 Mm. Mesure de la densité optique à 412 nm dans les 05 min.

La détermination (calcul) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivante :

Activité de GSH consommée/min/gr de protéine.

Blanc = 0.04 micro mole de GSH réduit --- DO_b.

Extrait = 0.04 // // ----- DO_e.

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue) = DO_e - DO_b.

$X = \frac{(DO_e - DO_b) \times 0.04}{DO_b}$ = quantité de GSH réduite disparue (oxydée) dans 0.2 ml extrait dans 1 ml en 05 ml.

L'activité de la GPx (nmol/g de protéine) = la quantité de GSH réduit disparue $\times \frac{5}{\text{la concentration de protéine}}$.

3-Glutathion-S- transférase

La mesure de l'activité de la glutathion -S- transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig et al (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro-2,4 di nitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle ; 1-S-Glutathionyl 2-4 di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST selon la réaction suivante :

La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST. Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0.1M, pH 6). L'hémolysat est centrifugé à 1400 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB (1 mM) GSH (5 mM) [20.26 mg CDNB, 153.65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0.1M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

I-1-7-1-2-3 Paramètre de la peroxydatio lipidique :

I-1-7-1-2-3.a) Malondialdéhyde (MDA)

Le MDA peut être détecté par une réaction colorimétrique à l'acide thiobarbiturique (TBA).

La détection du MDA issue de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3 ou 4 doubles liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipoperoxydation in vitro. Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode d'Esterbauer et al (1992). Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie à 530 nm voir (figure A).

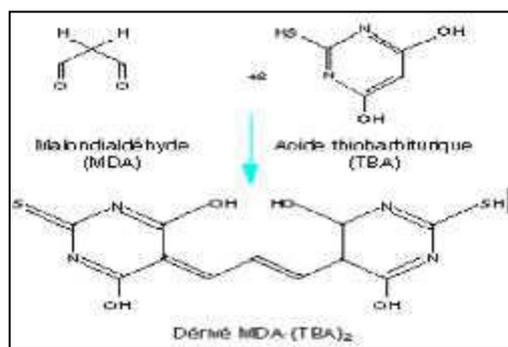


Figure 14 ; Reaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique.

Dans un tube sec 375 µl de l'hémolysat sont additionnés à 150µl de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150mMpH7.4) plus 375 µl de la solution TCA BHT (TCA 20%, BHT 1%), agitation puis centrifugation à 1000 tours/min pendant 10 min.

Prélèvement de 400µl du surnageant auquel est ajouté 80µl d'HCL 0.6 M plus 320µl de la solution Tris-TBA (Tris 26mM, TBA 120 mM), agitation puis incubation au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes. Lecture de la densité optique à $\lambda=530$ nm.

La concentration du MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ($DO=E.C.L$) :

$$C \text{ (n mol/mg de protéine)} = \frac{DO.106}{\epsilon.L.X.Fd}$$

- C : Concentration en n mol/ mg de protéines.
- DO : Densité Optique lue à 530 nm.
- ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA=1.56 10⁵ M⁻¹cm⁻¹.
- L : Longueur du trajet optique =1 cm.
- X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).
- Fd : Facteur de dilution : Fd =0.2083.

I-8 Etude statistique :

La saisie et le traitement des données ont été réalisés à l'aide du logiciel Excel version 2016 et logiciel MINITAB.

Les résultats sont exprimés en pourcentage lorsqu'il s'agit de variables qualitatives (sexe, type de diabète DID et DNID) et en moyenne \pm écart type moyenne lorsqu'il s'agit de variables quantitatives.

- La comparaison entre 2 moyennes est réalisée par le test de T de student a deux échantillons comparaison avec témoin.
- Le seuil de significativité est fixé à 0.05.
- Le seuil de hautement significativité est fixé à 0.01.
- Le seuil de très hautement significativité est fixé à 0.001



I- Paramètres biochimiques

I.1) Exploration de bilan glucidique

Une augmentation de la glycémie a jeun et de HbA1c ont été observée (Tab 5 et Fig 16) chez les diabétiques de type 1 et 2 par rapport aux sujets témoins avec une différence très hautement significative ($P \leq 0,001$), mais reste toujours pré des normes.

Tableau 5 : Variation de la concentration sérique de glucose et de l' HbA1c chez les sujets témoins et les diabétiques DID et DNID.

Paramètres	Témoin	DID	DNID
Biochimiques	[n = 20]	[n = 20]	[n = 20]
Bilan Glucidique			
Glycémie a jeun (g/l)	0,854 ± 0,017	1,505 ± 0,025***	1,204 ± 0,087***
HbA1c (%)	4,859 ± 0,067	6,819 ± 0,14***	6,42 ± 0,41***

P = Seuil de signification.

* = Différence significative.

** = Différence hautement significative.

*** = Différence très hautement significative.

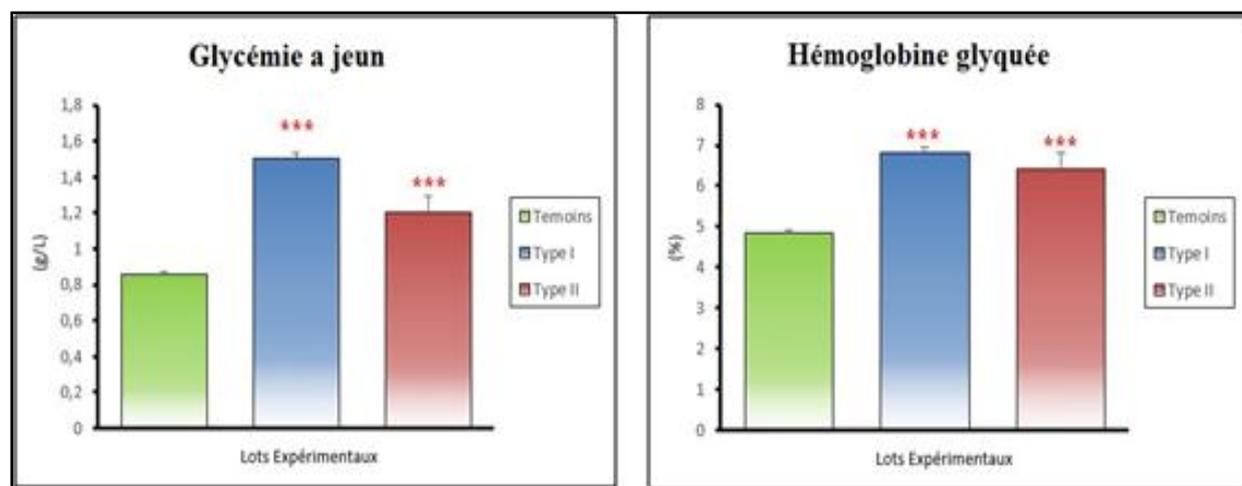


Figure 15 : Variation de la concentration sérique du glucose et de l'HbA1c chez les sujet témoin et diabétiques DID et DNID.

I.2) Exploration de bilan lipidique

Nos résultats montre une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration sérique du Chol T chez les DID et significative ($P \leq 0,05$) pour les DNID par rapport aux sujets témoins sains.

Une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) des triglycérides sanguins et hautement significative ($P \leq 0,01$) chez les DID et les sujets DNID par rapport aux sujets témoins sains.

L'HDL-c a été trouvé élevé chez les DID ($P \leq 0,001$) par rapport aux témoins et pas de différence chez les DNID.

Une élévation de la concentration sérique de l'LDL-c avec une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) chez les patients DID et DNID par rapport aux sujets témoins sains (Tableau 4, Figure 17)

Tableau 6 : Variation de la concentration sérique de Chol T, Tri gly, HDL-c et d'LDL-c chez les diabétiques de type 1 et 2 par rapport aux témoins sains

Paramètres	Témoin	DID	DNID
Biochimiques	[n = 20]	[n = 20]	[n = 20]
Cholestérol total (g/l)	1,526 ± 0,06	1,808 ± 0,076**	1,737 ± 0,061*
Bilan Lipidique			
Triglycérides (g/l)	0,7 ± 0,026	1,144 ± 0,11***	1,003 ± 0,11**
HDL-c (g/l)	0,521 ± 0,0071	0,5983 ± 0,0074***	0,5345 ± 0,0067
LDL-c (g/l)	0,88 ± 0,037	0,979 ± 0,017**	1,004 ± 0,02**

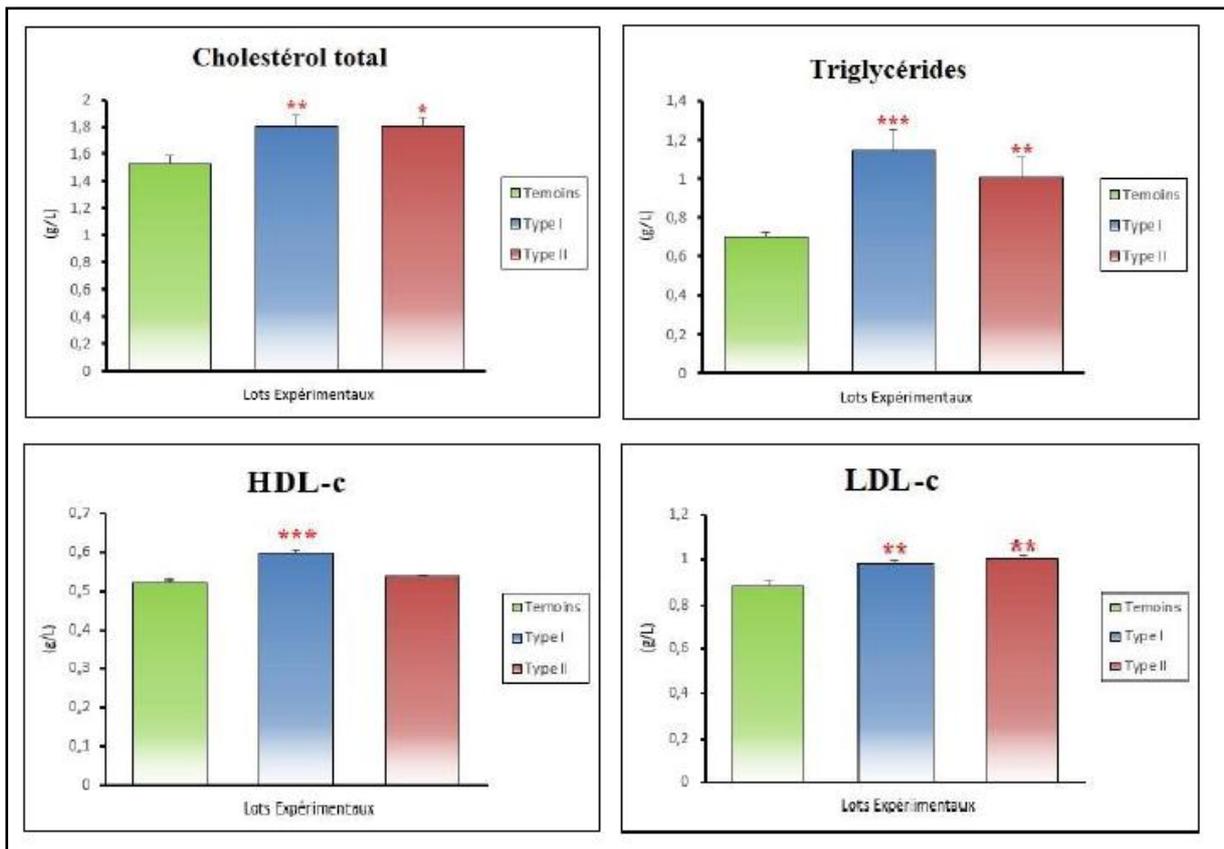


Figure 16 : Variations de la concentration sérique paramètres du bilan lipidique chez les diabétiques DID et DNID par rapport aux témoins sains

II) Paramètres de la défense antioxydante et de la peroxydation lipidique

Dans le sérum on a enregistré une diminution très hautement significative ($P \leq 0,001$) de l'activité enzymatique de la GPx chez les DID et une augmentation très hautement significative chez les DNID. La concentration de GSH a été enregistrée une diminution très hautement significative chez les diabétiques (DID et DNID) par rapport aux témoins, alors que l'activité enzymatique de la GST a été enregistré une augmentation très hautement significative chez le DID et le DNID par rapport aux sujets témoins sains. Pour le paramètre de la peroxydation lipidique (MDA), nous avons enregistré aucune signification entre les diabétiques et les témoins (Tableau7, Figure 18) .

Tableau 7: Variation sérique des paramètres de la défense antioxydante et de la peroxydation lipidique chez les diabétiques (DID et DNID) par rapport aux témoins sains.

Paramètres	Témoin [n = 20]	DID [n = 20]	DNID [n = 20]
GPx (nmol/g prot)	1,639 ±0,047	1,167 ±0,084**	1,942 ±0,086**
GSH (nmol/g prot)*10 ⁻³	13,01 ±0,75	7,25 ±0,54***	6,56 ±0,92***
GST(nmol/min/g prot)	7,019 ±0,15	15,291 ±0,10***	10,486 ±0,078***
MDA (nmol/g prot)	3,46 ±0,42	4,22 ±0,22	3,57 ±0,45

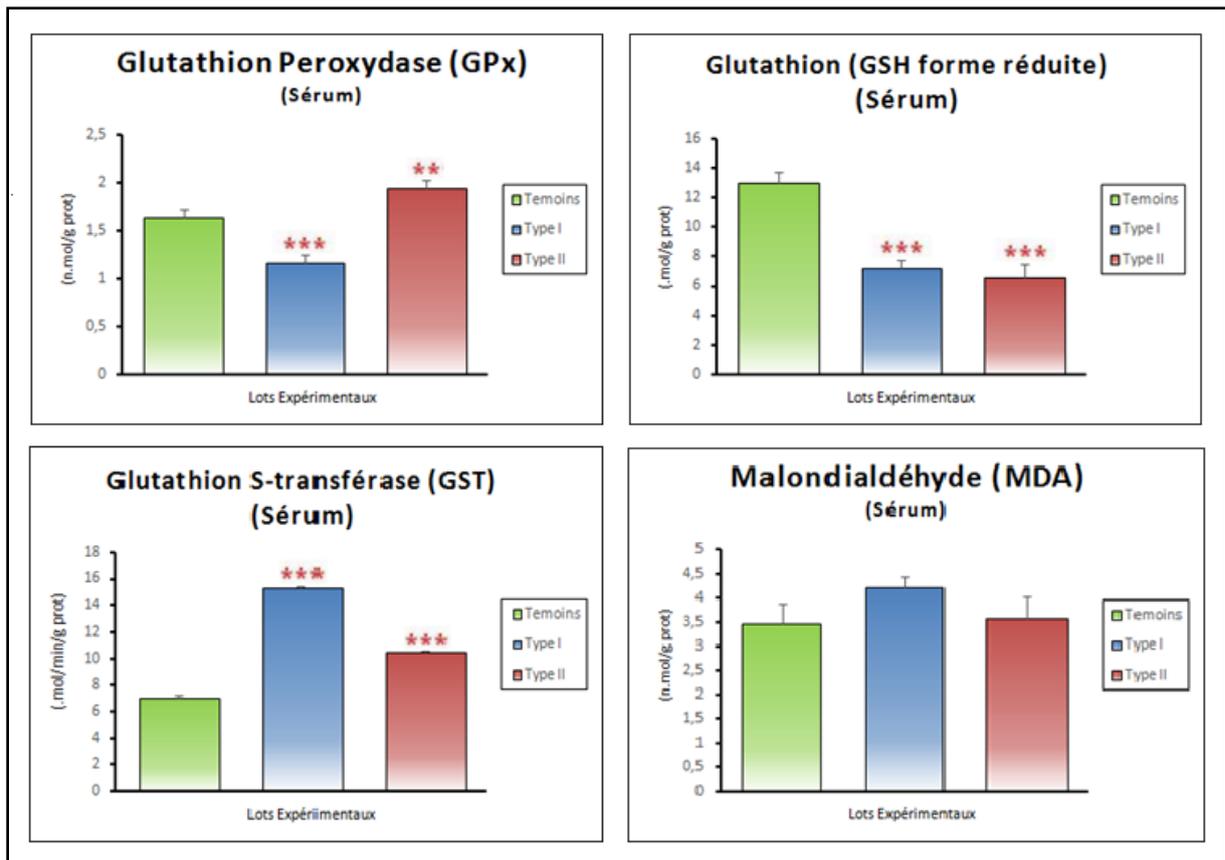


Figure 17: Variation des paramètres de la défense antioxydante et de la peroxydation lipidique sérique chez les diabétiques (DID et DNID) par rapport aux témoins sains.

Dans l'hémolyse, nous avons enregistré une augmentation très hautement significative ($P \leq 0,001$) de l'activité enzymatique de la GPx et la concentration du MDA chez les diabétiques (DID et DNID) par rapport aux témoins. Aussi nos résultats montrent une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) de la concentration de GSH chez les DID avec une diminution significative ($P \leq 0,05$) chez les DNID. pour la GST on a enregistré une diminution très hautement significative chez les diabétiques de type 1 et une diminution hautement significative chez les diabétiques de type 2 par rapport aux sujets témoins sains (Tableau 8, Figure 18)

Tableau 8: Variation des paramètres de la défense antioxydante et de la peroxydation lipidique dans l'hémolysa chez les diabétiques (DID et DNID) par rapport aux témoins sains.

Paramètres	Témoin [n = 20]	DID [n = 20]	DNID [n = 20]
GPX (nmol/g prot)	10,385 ±0,11	12,075 ±0,16***	12,164 ±0,12***
GSH (nmol/g prot)*10 ⁻³	3,818 ±0,16	3,28 ±0,10**	3,301 ±0,18*
GST (nmol/min/g prot)	3,709 ±0,14	2,21 ±0,21***	2,48 ±0,42**
MDA (nmol/g prot)	13,725 ±0,15	18,702 ±0,10***	16,87 ±0,11***

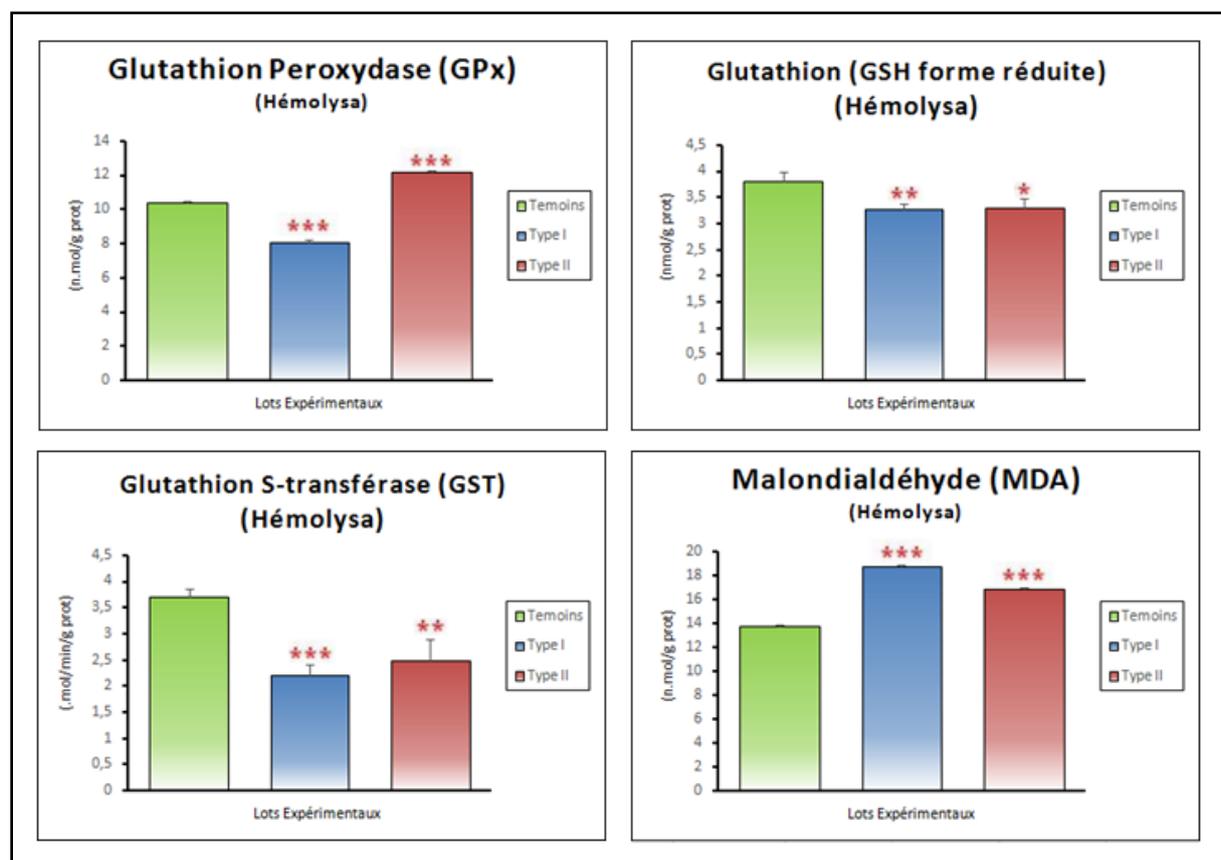


Figure 18 : Variation des paramètres de la défense antioxydante et de la peroxydation lipidique dans l'hémolysa chez les diabétiques (DID et DNID) par rapport aux témoins sains.



II) Discussions

Le diabète sucré est caractérisé par la génération des RL via multiple mécanisme ce qui conduit à un stress oxydant. Ces RL peuvent attaquer (oxyder) les lipides circulantes et plus particulièrement les lipoprotéines de basse densité ce qui augmente leur demi-vie en circulation conduisant à la formation de la plaque (dépôt lipidique) et des maladies cardiovasculaires (L'athérosclérose)

L'athérosclérose, caractérisée sur le plan anatomique par un épaissement de l'intima avec présence de dépôts lipidiques, est une maladie multi-factorielle dont les principales hypothèses mécanistiques reposent sur deux théories : la théorie oxydative (Steinberg D ; et al 1989) et la théorie inflammatoire (Ross R. Atherosclerosis ; 1999) . L'infiltration monocytaire, les dépôts lipidiques et la prolifération des cellules musculaires lisses pourraient être stimulés par les LDL oxydées. Ces deux théorèmes influent sur le bilan biochimique surtout le bilan lipidique,

Exploration du bilan glucidique :

Au cours de notre étude nous avons travaillé sur des patients diabétiques ayant une glycémie assez normale ou légèrement élevée et nous avons trouvé un taux d'HbA1c normale ou légèrement élevée (équilibre) ce qui explique que le diabète est équilibré soit pour le DNID et le DID. Ce qui est en accord avec (Çakatay, 2005; Marcus et al, 2014) ce qui diffère du diabète mal équilibré qui serait exposé aux complications dégénératives diabétiques (DCCT Research group, 1990).

Le taux d'hémoglobine glyquée est proportionnel à la concentration du glucose intraérythrocytaire. La formation de l'hémoglobine glyquée est effectuée tout au long de la durée de vie de l'hématie, soit 120 jours. Sur un prélèvement sanguin les hématies ont en moyenne une durée de vie de 60 jours, donc le taux d'hémoglobine glyquée reflète la moyenne des glycémies des 2 à 3 derniers mois.). Nous avons constaté également chez les diabétiques que la concentration de HbA1c est légèrement élevée par rapport aux témoins. Le taux normal d'HbA1c est de 4,5 % plus ou moins 0,2%. Ce qui confirme que notre diabète est bien équilibré qui s'accompagne d'une HbA1c inférieure à 7 % (L. PERLEMUTER et al ; 2011), (Çakatay, 2005; Marcus et al, 2014)

Exploration du bilan lipidique :

Nous notons une augmentation significative de la concentration sérique du Chol-T chez les diabétiques (DID et DNID), a été enregistrée. Cette hypercholestérolémie légère est due à l'altération de son métabolisme à cause de la glycation de la lipoprotéine B riche en cholestérol (*Hiramatsu et al, 1985*), ce qui provoque des maladies cardiovasculaires si le diabète n'est pas contrôlé.

Une augmentation significative des triglycérides sériques chez les diabétiques par rapport aux témoins est expliquée d'une part, par l'augmentation légère de la production hépatique des VLDL et d'autre part, par la réduction du catabolisme des VLDL par diminution de l'activité de la lipoprotéine lipase (*Adeli et al, 2001*). Nos résultats sont en accord avec le travail de (*Çakatay, 2005*) qui a comparé entre le diabète équilibré et le diabète non équilibré.

On constate aussi une augmentation significative de LDL mais ça reste dans les normes du diabète contrôlé ce qui est en accord avec les résultats de (*Çakatay, 2005*). Cette augmentation est due à la glycation ou bien l'oxydation des molécules de LDL (*Min-Xin et al, 1996 ; Jane E et al, 2000*, ce qui provoque l'augmentation de leurs temps d'élimination, aussi que après le phénomène d'oxydation les récepteurs cellulaires ne peuvent pas captés le LDL grâce à la changement de conformation due par les radicaux libres ce qui provoque l'athérosclérose. aussi Cette oxydation conduit à la déplétion des LDL en antioxydants, en phosphatidylcholines et en esters de cholestérol, avec l'apparition d'hydroperoxydes et de produits de fragmentation des acides gras poly-insaturés (AGPI) qui provoque l'athérosclérose(*Steinbrecher UP ;1999*) (*Gillotte K, Hörkkö S,et all.2000*)

Lorsque l'équilibre glycémique du diabète est satisfaisant, les triglycérides et le LDL-cholestérol sont normaux ou légèrement diminués et le HDL-cholestérol normal ou discrètement augmenté. (*Vergès, 2009*). L'élévation du HDL chez les patients atteints de DID avec un bon contrôle glycémique était causée par une augmentation des particules de HDL contenant uniquement l'apoA-I. Cette augmentation du cholestérol HDL au plasma pourrait être la conséquence du taux élevé de LPL à la lipase hépatique Observé chez les patients atteints de DID bien contrôlée (activité LPL accrue et activité lipase hépatique normale) (*Kahri J, 1993*). Ces études sont en accord avec nos résultats qui montrent juste une augmentation significative mais toujours reste dans les normes dans le taux de HDL dans le

lot DID. donc le traitement par l'insuline à améliorer les paramètres du bilan lipidique chez les diabétiques (Veki, 1993).

Exploration du bilan de défense anti oxydant

Les paramètres du statut antioxydant, de l'activité de la glutathion peroxydase (GPX) , de l'activité de GST sont regroupés dans le (Tableau 4)

➤ La GPx de nos sujets diabétiques présente une variation significative par rapport aux sujets témoins. Au cours de notre étude nous avons enregistré une diminution de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) chez les diabétiques de type I dans le sérum, ce qui est due à l'hyperglycémie ($1,5\pm 0.025\text{g/l}$) qui provoque l'inhibition de la voie des pentoses phosphate par l'inhibition de la G6PD ce qu'il conduit au déclenchement de la voie des polyols, aussi la glycation des protéines joue un rôle importante dans la diminution de taux de la Gpx dans le DID. (Yizhen Xu et al, 2005; Mohsen Firoozrai et al, 2007).

Nous avons notons qu'il ya une augmentation très hautement significative dans le taux de la Gpx quelque soit dans le sérum ou bien dans l'hémolysa chez les diabétiques de type 2 qui ont une glycémie bien équilibrée (1.2 ± 0.87) , ce qui est en accord avec (Tribe R et Poston L, 1996) qu'ils ont trouvé que l'activité de la GPX plasmatique et érythrocytaires est toujours élevée dans le diabète de type 2.

Nous avons enregistré une augmentation très hautement significative de l'activité de la GPx dans l'hémolysa chez les diabétiques de type 1 et 2 qui est peut être due à l'augmentation de la peroxydation lipidique,

➤ Notre étude montre que la concentration du glutathion réduit (GSH) dans les érythrocytes ou bien le sérum est significativement diminuée par rapport aux sujets témoins. Nos résultats concordent avec ceux de (Mosaad et al.2004 ; Susan et al 1991), et de (Moussa, 2008).Tout d'abord, au cours de l'activation de la voie des polyols induite par une hyperglycémie chronique, et par l'intermédiaire de l'aldose réductase utilisant le NADPH comme co-facteur, le glucose génère du sorbitol, converti ensuite en fructose par la sorbitol déshydrogénase à NAD (Huertas, 2005 ; Ayepola et al., 2014).

Le mécanisme moléculaire de la déplétion de la concentration du GSH est médié par la diminution de l'activité de l'enzyme clé de la synthèse du GSH; γ -glutamylcystéine synthetase (γ -GCS) ou par la dégradation importante du glutathion au cours du diabète (Altan et al., 1994) ; une autre explication est que cette déplétion due à l'augmentation de la concentration

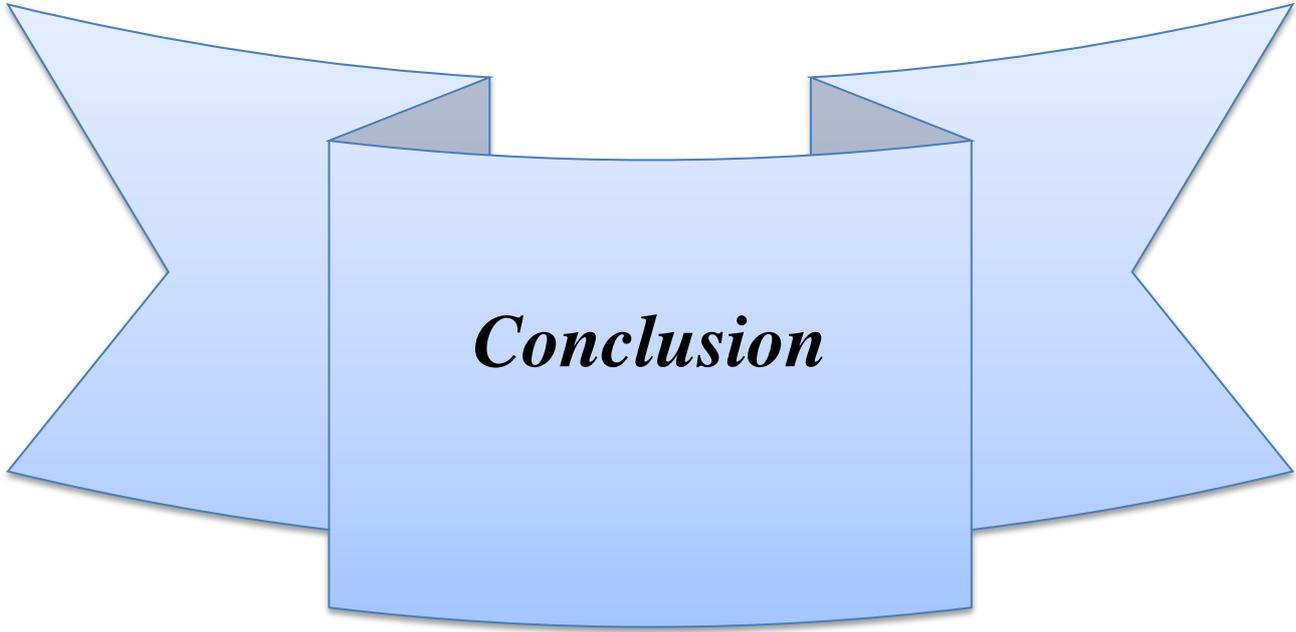
des intermédiaires de la lipide peroxydation observées dans ces conditions qui joue probablement un rôle très important dans la promotion des altérations du gène codant de cette enzyme ou la protéine elle-même (Wolff *et al.*, 1991) (Tian *et al.*, 1997). D'autre part le glutathion (GSH) peut être convertit en glutathion oxydé (GSSG) (Griffith *et Meister*, 1979).

➤ La glutathion S-transférase (GST), joue un rôle important dans la désintoxication des xénobiotiques et/ou dans la protection contre des métabolites nocifs générés après la dégradation des macromolécules suite à leur exposition au stress oxydant (Mulder *et al.*, 1999). D'après nos résultats on observe une augmentation très hautement significative de la GST dans le sérum et l'hémolyse chez le DID et le DNID. L'augmentation de l'activité de cette enzyme est une réponse physiologique pour compenser les altérations qui sont dus aux radicaux libres (Nuriye & Belma, 2005). donc la GST est impliquée dans l'élimination des radicaux libres générés au cours de diabète (Xu *et al.*, 2002). Notre point de vue dans le cas de l'augmentation significative de la GST est due par la consommation des groupements thiols par les radicaux libres ce qui permet l'augmentation de l'activité de la GST qui transfère le groupement -S

Exploration de bilan de la peroxydation lipidique

➤ Le MDA, composé très toxique produit au cours de l'oxydation des lipides, et physiologiquement lors de la synthèse des prostaglandines et thromboxanes (Gillery, 2006). Notre résultat a montré une augmentation significative chez les patients diabétiques qu'au sein des sujets témoins (sains). Des résultats similaires ont été rapportés par (Noberasco *et al.*, 1991; Gallou *et al.*, 1993; Kumar *et al.*, 2013), et (Sato *et al.* 1979). Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Les conséquences seront différentes : l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront des dépôts lipidiques de la plaque d'athérome (Kassab A *et al.*, 2003) des maladies cardiovasculaires, l'attaque de phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement des nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003).

La peroxydation des lipides résulte de l'attaque par des radicaux libres des acides gras. Cette réaction est à l'origine de dommages tissulaires responsables de cancers, de maladies inflammatoires, du vieillissement et de lésions vasculaires comme l'athérosclérose (Racah, 2004).



Conclusion

Conclusion :

Le stress oxydant et ces effets sur les cellules de l'organisme est une phénomène très étudié chez les hommes comme chez l'animale car il est responsable de l'induction des plusieurs maladies.

Le diabète sucré est une maladie métabolique ou le diabétique est exposé aux infection (diminution de la défense immunitaire,...) ce qui augmente les RLs conduisant à un stress oxydant.

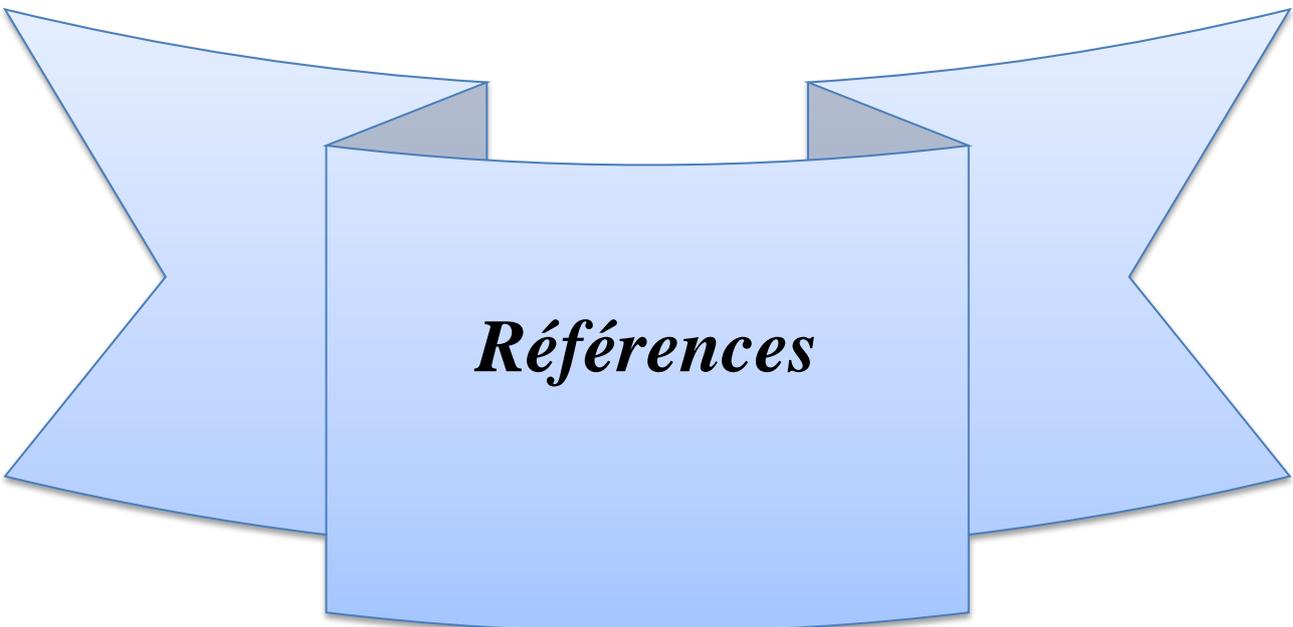
Le travail que nous avons mené est consacré à l'étude du stress oxydant chez le diabète équilibré et la genèse des complication cardiovasculaire.

Le bilan lipidique a montré l'augmentation de TG, Chol T, LDL.

Le bilane la décence anti oxydant a montré l'existence de stress oxydant a partir de diminution de l'activité sérique et érythrocytaire de glutathion,

L' augmentation de concentration sérique et érythrocytaire montré l'élévation de la peroxydation lipidique.

Malgré que le diabète sucré est équilibré on trouve un stress oxydant implique une élévation de la peroxydation lipidique répercutions sur la dysfonctionnement de l'endothélium alors les sujets diabétique sont exposé à des complications cardiovasculaires.



Références

Références :

- ✓ **A**
- ✓ **Adeli, K., T. C. (2001).** Mechanisms of hepatic very low-density lipoprotein overproduction in insulin resistance. *Trends Cardiovasc Med* , 11 (5), 170-6.
- ✓ **Auberval, N. (2010).** Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse de doctorat , 257. Strasbourg, Université de Strasbourg.
- ✓ **Audrey, D.-N. (2002).** Etude des glycosphingolipides des cellules microvasculaires rétinienne: effet d'un environnement diabétique. Thèse de doctorat , 264. Lyon, L'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon.
- ✓ **B**
- ✓ **Badouard, C. (2006).** Les lésions des acides nucléiques: détection par CLHP-SM / SM dans les milieux biologiques humains et intérêt comme biomarqueurs du stress oxydant et de l'inflammation. Thèse de doctorat , 182 p. Grenoble, Université Joseph Fourier Grenoble I.
- ✓ **Baratli, Y. (2015).** ETUDE DE LA TOXICITE DES NANOPARTICULES De Fe₃O₄ CHEZ LE RAT ANALYSES MITOCHONDRIALES ET DU STRESS OXYDANT. Thèse de doctorat , 137 p. Université de Strasbourg et Université de Carthage.
- ✓ **Benaraba, R. (2007).** Insulinorésistance et stress oxydant dans le syndrome métabolique : Etude expérimentale des effets protecteurs de microconstituants nutritionnels (polyphénols du thé, de la cannelle et chrome III). Thèse de doctorat , 246 p. UNIVERSITE JOSEPH FOURIER-GRENOBL 1.
- ✓ **Bertry, R. (2011).** Les mécanismes toxiques liés à l'hyperglycémie chronique chez le diabétique de type 2. Thèse de doctorat en pharmacie , 102. Limoges, UNIVERSITE DE LIMOGES. Faculté de Médecine et de Pharmacie.
- ✓ **Bonnefont-Rousselot D, Raji B, Walrand S, Gardès-Albert M, Jore D, Legrand A, Peynet J, Vasson MP(2003).** An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism* , 52(5):58

- ✓ **Bonnefont-Rousselot, D., Bastard, J.P, Joudon, M., & and Dellala, J. (2000).** Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxy balance. *Diabete and metabolism* , vol 26, 163-176.
- ✓ **C**
- ✓ **Çakatay, U. (2005).** Protein oxidation parameters in type2 diabetic patients with good and poor glycaemic control. *Diabetes Metab* , 31, 551-557.
- ✓ **Chabbaud, M. (2007).** UTILISATION DES ANTIOXYDANTS EN HEPATOLOGIE CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES. Thèse de doctorat , 119 p. Lyon, ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON.
- ✓ **Clémentine, P. (2013).** Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de doctorat en toxicologie , 414 p. Paris, UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11.
- ✓ **Collard, F. W. (2004).** Fructosamine 3-kinase-related protein and deglycation in human erythrocytes. *Biochem.J* , 382, 137-143.
- ✓ **D**
- ✓ **Delpierre, G. &. (2003).** Fructosamine 3-kinase, an enzyme involved in protein deglycation. *Biochem.Soc.Trans* , 31 (6), 1354-1357.
- ✓ **DGS en collaboration avec l'INSERM., (2003).** Rapport du GTNDO. Analyse des connaissances Disponibles sur des problèmes de sante sélectionnes, leurs déterminants, et les stratégies de sante publique. Definition d'objectifs, 723.
- ✓ **Duriez P., (2004).** Mécanismes de formation de la plaque d'athérome. *Rev Med Inter*, 25Suppl1, S3-6.
- ✓ **E**
- ✓ **Elouil, H. (2009).** Glucotoxicite et alterations de l'expression genique dans les cellules β pancréatiques : role du facteur de transcription Nfkb et du stress du reticulum endoplasmique. Thèse de doctorat , 162 p. Louvain, Universite catholique de Louvain. Département de Physiologie et Pharmacologie.
- ✓ **F**
- ✓ **Feng B., Yao P.M., Li Y., Devlin C.M., Zhang D., Harding H.P., et al., (2003).** The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages. *Nat Cell Biol*, 5(9), 781-92.
- ✓ **Fraley A.E., Tsimikas S., (2006).** Clinical applications of circulating oxidized low-density ipoprotein biomarkers in cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*, 17(5), 502-9.

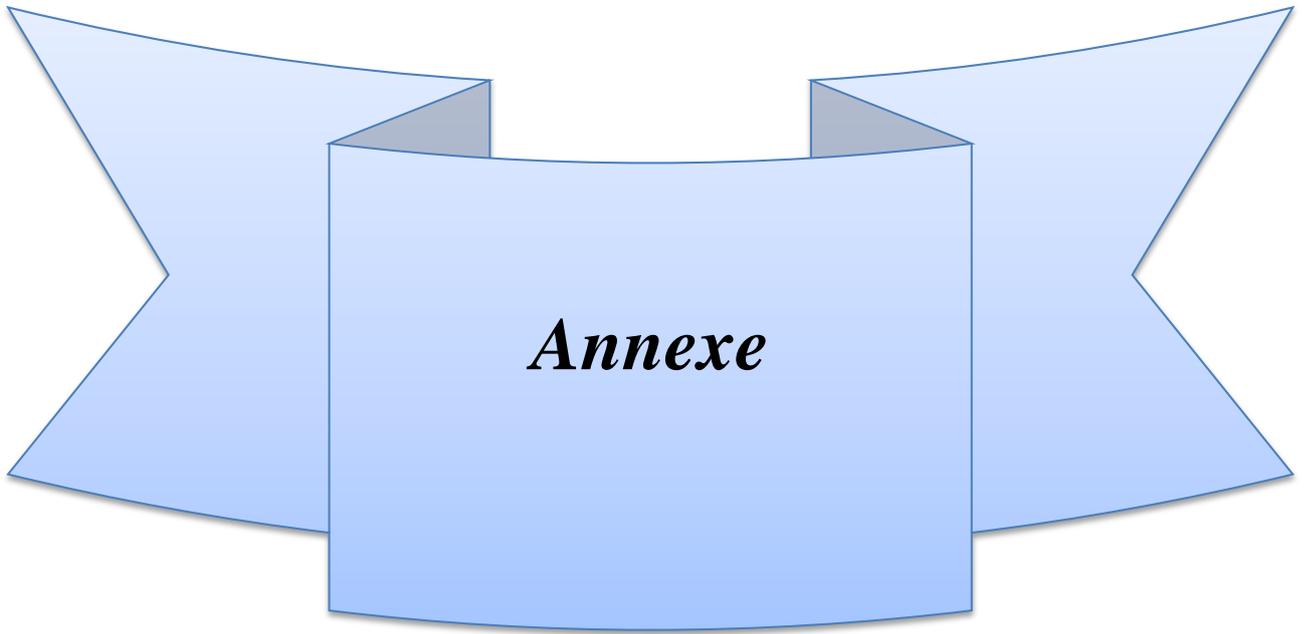
- ✓ **Frank P.G., Lisanti M.P., (2004).** Caveolin-1 and caveolae in atherosclerosis: differential roles in fatty streak formation and neointimal hyperplasia. *Curr Opin Lipidol*; 15(5), 523-9.
- ✓ **Frenkel E, Neff W (1983).** Formation of malondialdehyde from lipid oxidation products. *Biochem Biophys Acta*;754:264–70.
- ✓ **G**
- ✓ **Giugliano D, Ceriello A(1996).** Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*;19:257–67.
- ✓ **Glagov S., Weisenberg E., Zarins C.K., Stankunavicius R., Kolettis G.J., (1987).** Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*, 316(22), 1371-5.
- ✓ **Grankvist K, Muklund SL, Taljed IB (1981).** CuZn superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in mouse pancreatic islet b-cells and other tissues in the mouse. *Biochem J*;199:393–8.
- ✓ **Grankvist K, Muklund SL, Taljed IB. (1981).** CuZn superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in mouse pancreatic islet b-cells and other tissues in the mouse. *BiochemJ*;199:393–8.
- ✓ **Guerin-Dubourg, A. (2014).** Etude des modifications structurales et fonctionnelles de l'albumine dans le diabète de type 2 : identification de biomarqueurs de glycoxydation et de facteurs de risque de complications vasculaires. These de doctorat en biochimie , 170p. Réunion, Université de la Réunion.
- ✓ **Guillet. C. (2010).** Implication des produits terminaux de glycation dans les complications liées au diabète. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). *Nutrition clinique et métabolisme* 24 : 109–114.
- ✓ **Gustafsson M., Borén J., (2004).** Mechanism of lipoprotein retention by the extracellularmatrix. *Curr Opin Lipidol*, 15(5), 505-14.
- ✓ **H**
- ✓ **Han Cho Nam., Whiting David., Guariguata Leonor., Aschner Montoya Pablo., Forouhi Nita., Hambleton Ian., Li Rui., Majeed Azeem., Mbanya Jean Claude., Motala Ayesha., K.M., Venkat Narayan., Ambady Ramachandran., Wolfgang Rathmann., Gojka Roglic., Shaw Jonathan., Silink Martin., D.R.R Williams., Zhang Ping., (2013).** Atlas du diabète de la FID, fédération international de diabète, Sixième édition, 160, 22.

- ✓ **Han Cho Nam., Whiting David., Guariguata Leonor., Aschner Montoya Pablo., Forouhi Nita., Hambleton Ian., Li Rui., Majeed Azeem., Mbanya Jean Claude., Motala Ayesha., K.M., Venkat Narayan., Ambady Ramachandran., Wolfgang Rathmann., Gojka Roglic., Shaw Jonathan., Silink Martin., D.R.R Williams., Zhang Ping., (2003).** Atlas du diabète de la FID, fédération internationale de diabète, 02ième édition.
- ✓ **Hansson G.K., Robertson A.K., Söderberg-Nauclér C., (2006).** Inflammation and atherosclerosis. *Ann Rev Pathol* ,1: 297-329.
- ✓ **Hiramatsu, K., Edwin, L., Bierman, & Alan, C. (1985).** Metabolism of low-density lipoprotein from patients with diabetic Hypertriglyceridemia by cultured human skin fibroblasts. *DIABETES* , 34, 8-14.
- ✓ **Hope S.A., Meredith I.T., (2003).** Cellular adhesion molecules and cardiovascular disease. Part II. Their association with conventional and emerging risk factors, acute coronary events and cardiovascular risk prediction. *Intern Med J*, 33(9-10), 450-62
- ✓ **I**
- ✓ **Ishigaki Y., Katagiri H., Gao J., Yamada T., Imai J., Uno K., Hasegawa Y., et al., (2008).** Impact of plasma oxidized low-density lipoprotein removal on atherosclerosis. *Circulation*, 118(1), 75-83.
- ✓ **J**
- ✓ **Jackson C.L., (2007).** Defining and defending murine models of plaque rupture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27(4):973-7.
- ✓ **Jane E, W. H. (2000).** Effect of supplementation with tomato juice, vitamin E, and vitamin C on LDL oxidation and products of inflammatory activity in type 2 diabetes. *DIABETES CARE* , 23 (6), 733-738.
- ✓ **Januel, C. (2003).** STRESS OXYDANT AU NIVEAU DES PLAQUETTES SANGUINES HUMAINES DANS LE CONTEXTE DU DIABETE Etude du glutathion et de la glutathion peroxydase 4. these de doctorat en biochimie , 200 p. Lyon, Université Lyon I / INSA-Lyon.
- ✓ **Julien, F., & Filaire, G. L. (2006).** Oxidative Stress Relationship with Exercise and Training. *Sports Med* , 4 (36), 327-358.
- ✓ **K**
- ✓ **Kahri J, G. P. (1993).** Regulation of apolipoprotein A-I containing lipoproteins in IDDM. *Diabetes* , 42, 1281–1288.

- ✓ **Kebieche M. (2009).** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine , Thèse de doctorat en biochimie ; Université Mentouri Constantine : 96
- ✓ **Krentz A. J., (2003).** Lipoprotein abnormalities and their consequences for patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*, 5 Suppl 1: S19-27.
- ✓ **Kury-Paulin S., Cachot V., (2007).** Cétoacidose diabétique. EMC (Elsevier Masson SAS,
- ✓ **L**
- ✓ **Libby P., (2002).** Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 420 (69).
- ✓ **Libby., P., Ridker P.M., (2004).** Inflammation and atherosclerosis: role of C-reactive protein in risk assessment. *Is J Med*, 116 Suppl 6A: 9
- ✓ **Lusis A.J., (2000).** Atherosclerosis. *Nature*, 407(6801): 233-41.
- ✓ **M**
- ✓ **Madamanchi N.R., Moon S.K., Hakim Z.S., Clark S., Mehrizi A., Patterson C., Runge M.S., (2005).** Differential activation of mitogenic signaling pathways in aortic smooth muscle cells deficient in superoxide dismutase isoforms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25(5), 950-6
- ✓ **Marcus, L., & Ann-Marie, S. M. (2014).** Glycemic Control and Excess Mortality in Type 1 Diabetes. *N Engl J Med* (371), 1972-1982.
- ✓ **Mellitus D., (2011).** Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 27: S5- S10. 4. Kilpatrick, E.S, Z.
- ✓ **Methe H., Weis M., (2007).** Atherogenesis and inflammation-was Virchowright, *Nephrol Dial Transplant*, 22(7), 1823-7.
- ✓ **Min-Xin, F., Jesus, R. R., & John W, B. S. (1996).** The advanced glycation end product, Ne-(Carboxymethyl)lysine, is a product of both lipid peroxidation and glycoxidation reactions*. *BIOLOGICAL CHEMISTRY* , 271 (17), 9982–9986.
- ✓ **Mongens, M. (2013).** ORIGINE ET CONSÉQUENCES DU STRESS OXYDANT. Thèse de doctorat , 113 p. Alfort, ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT.
- ✓ **Monnier L., Thuan J.F., (2007).** Type 1 diabetes of the child and the adult. Type 2 diabetes of the adult. Complications of diabetes. *Rev Prat*, 57, 653–64.
- ✓ **Monnier L., Thuan J.F., (2007).** Type 1 diabetes of the child and the adult. Type 2 diabetes of the adult. Complications of diabetes. *Rev Prat*, 57, 653–64.

- ✓ **Moore K.J., Freeman M.W., (2006).** Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26, 1702-1711.
- ✓ **N**
- ✓ **Naghavi M., Libby P., Falk E., Casscells S.W., Litovsky S., Rumberger J.,v (2003).** From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies (Part I). *Circulation*, 108(14), 1664-72
- ✓ **National Diabetes Data Group., (1979).** Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance, *Diabetes*, 1039, 28.
- ✓ **Niedernhofer, L.J., Daniels, J.S., Rouzer, C.A., Greene, R.E. and Marnett, L.J. (2003)** Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *J Biol Chem*, **278**, 31426-33.
- ✓ **Nkhili, E. (2009).** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. These de doctorat , 320 p. MARRAKECH, UNIVERSITÉ CADI AYYAD - FACULTÉ DES SCIENCES SEMLALIA– MARRAKECH.
- ✓ **OMS.** Organisation mondiale de la santé.
- ✓ **R**
- ✓ **Ross R., (1999).** Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340(2), 115-26.
- ✓ **S**
- ✓ **Sharma, A., Kharb, S., Chugh, S., & Kakkar, R. e. (2000).** Evaluation of oxidative stress before and after control of glycemia and after vitamin E supplementation in diabetic patient. *Metabolism* , vol 49, 160-162.
- ✓ **Sharma, A., Simmi, K., S.N, C., & Rajesh, K. a. (2000).** Evaluation of oxidative stress before and after control of glycemia and after vitamin E supplementation in diabetic patients. *Metabolism* , 149 (2), 160-162.
- ✓ **Stary H.C., Chandler A.B., Dinsmore R.E., Fuster V., Glagov S., Insull W., Jr., Rosenfeld M.E., Schwartz C.J., Wagner W.D., and Wissler R.W., (1995).** A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 92, 1355-1374.
- ✓ **T**

- ✓ **Tamion F., Bonmarchand G., (2009).** Collège National Des Enseignants De Réanimation Médical Elsevier Masson, 1447-9.
- ✓ **Tedgui A., Chapman J., (2003).** Pathogenèse de l'athérosclérose : théories et mécanismes. In L'athérosclérose, 245-56. Masson Ed.
- ✓ **U**
- ✓ **UK Prospective Diabetes Study Group., (1998).** Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33), 352, 837-53. Paris) Endocrinologie-Nutrition, 2-5.
- ✓ **V**
- ✓ **Veki, H. O. (1993).** Increase in lipoprotein lipase activity in isolated rat adipose tissue by selenate. Biol. Pharm. Bull , 16, 6-10.
- ✓ **Vergès, B. (2009).** Lipid disorders in type 1 diabetes. Diabetes & Metabolism 353–360 , 35, 353-360. L. PERLEMUTER, J. QUEVAUVILLIERS, G. PERLEMUTER, B. AMAR, L. AUBERT et L. PITARD. Nouveaux cahier de l'infirmière : diabétologie, affections métaboliques. 2006,63. Consulté le 29/06/2011.
- ✓ **Vohra R.S., Murphy J.E., Walker J.H., Ponnambalam S., Homer Vanniasinkam S., (2006).** Atherosclerosis and the Lectin-like OXidized lowdensity lipoprotein scavenger receptor. Trends Cardiovasc Med ,16(2), 60-
- ✓ **W**
- ✓ **Wade C, Van Rij A.(1985)** In vivo lipid peroxidation in man as measured by the respiration excretion of ethane, pentane and other low molecular weight hydrocarbons. Annal Biochem;150:1–7.



Annexe

Madame, Mademoiselle, Monsieur,
Dans le cadre de la réalisation de notre mémoire de fin d'études, le recueil de certaines données vous concernant est jugé utile. Pour ce faire, je vous prie de remplir le questionnaire ci-dessous.

Information Générales :

Nom Et Prénom : N° :
Date De Naissance : / / Age :

Taille : cm Poids : kg
Tension artérielle : /

Diagnostic :

Diagnostic :

Date de découverte : / / Date de la dernière consultation : / /

Traitement :

	Non	Oui	Commentaires
Antidiabétiques oraux	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Depuis : <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
Insulinothérapie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Depuis : <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
Autres médicament	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Lesquels ? <input type="text"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Pourquoi ? <input type="text"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Lesquels ? <input type="text"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Pourquoi ? <input type="text"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Lesquels ? <input type="text"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Pourquoi ? <input type="text"/>

Evolution

Hypoglycémie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Seulement occasionnelle <input type="checkbox"/> Episodes fréquents
Diabète contrôlé	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Depuis le : <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
Sous surveillance médicale	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Depuis le : <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/>
Antécédent d'acido-cétose, de coma acido-cétosique ou hyperosmolaire non cétosique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Nombre : <input type="text"/> Dernier le : <input type="text"/>

Manifestation

	NON	OUI	Commentaires	Dates
Retentissement rénal	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Néphropathie diabétique	<input type="text"/>
Retentissement vasculaire	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Maladie coronarienne	<input type="text"/>
			<input type="checkbox"/> Maladie des artères périphériques	<input type="text"/>
			<input type="checkbox"/> Rétinopathie proliférative	<input type="text"/>
			<input type="checkbox"/> Maladie cérébrovasculaire	<input type="text"/>
Retentissement neurologique	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Neuropathie diabétique autonome <input type="checkbox"/> Neuropathie diabétique périphérique	<input type="text"/>

Facteurs de risques associés :

Hérédité	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Père <input type="checkbox"/> Mère <input type="checkbox"/> Frère(s) <input type="checkbox"/> Sœur(s)
Tabac	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Fumeur actuel <input type="checkbox"/> Ancien fumeur Consommation : <input type="text"/> / jour Date d'arrêt : <input type="text"/>
Cholestérol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Total : <input type="text"/> HDL : <input type="text"/>
HTA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Résultat du dernier contrôle : <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>

Activité :

Sédentaire : <input type="checkbox"/>	Actif(ve) : <input type="checkbox"/>	Sportif(ve) : <input type="checkbox"/>
---------------------------------------	--------------------------------------	--

Profile Biologique :

Test	Nom Complet	Concentration	Unité	Références
Glucose	Glycémie		g/L	0.72 - 1.10
Urée	Urée sanguine		g/L	0.15 - 0.50
Créatinine	Créatininémie		mg/L	7.00 -14.00
Cholestérol T	Cholestérolémie		g/L	1.50 - 2.50
Triglycérides	Triglycéridémie		g/L	0.30 - 1.70
TGO	ASAT		UI/L	< = 38.00
TGP	ALAT		UI/L	< = 40.00
Bilirubine T	Bilirubine Totale		mg/L	< = 12.00
Bilirubine D	Bilirubine Directe		mg/L	< = 04.00
Albumine	Albuminémie		g/L	35.00 - 55.00
Protéines T	Protéinémie		g/L	55.00 - 80.00
CPK	Créatine Phosphokinase		UI/L	25.00 - 180.00
LDH	Lactate Déshydrogénase		UI/L	200.00 - 410.00
Acide Urique	Uricémie		mg/L	25.00 - 75.00
PAL	Phosphatase Alcaline		UI/L	95.00 - 280.00
HDL	α -lipoprotéinémie		g/L	0.35 - 0.62
LDL	β -lipoprotéinémie		g/L	1.35 - 1.75
HbA1c	Hémoglobine glyquée		%	4.5 - 6



Université Larbi Tébessi - Tébessa



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom :

RAÏS TAHAR

Régulièrement inscrit(e) en Master au département :

des sciences de la nature et de la vie

N° de carte d'étudiant :

4029 646 / 2007

Année universitaire :

2016 / 2017

Domaine :

Science de la nature et de la vie

Filière :

Biochimie Appliquée

Spécialité :

Biochimie et Biologie Moléculaire

Intitulé du mémoire :

Etude de l'effet de stress oxydant
sur le fonctionnement endothéliale et l'athérosclérose
chez les diabétiques

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le :

12/06/2017

13 جوان 2017

Signature de l'étudiant(e) :



Handwritten signature of RAÏS TAHAR in blue ink.

