



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Larbi Tebessi-Tébessa-  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de biologie appliquée



## MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine:** Science de la vie et de la nature

**Filière:** Sciences biologiques

**Option:** Biochimie et biologie moléculaire

### Thème:

# Etude de la variation de l'acide urique et la bilirubine lors des différentes maladies chroniques

Présenté par:

**M<sup>lle</sup>.Chaouch Oumaima**

**M<sup>lle</sup>.Boudiba Amira**

Devant le jury:

<b>Dr. Messaadia Amira</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>me</sup>. Hammoum Zakia</b>	<b>MAA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>M<sup>me</sup>. Lahmer Belghandouz Karima</b>	<b>MAA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Promotrice</b>

**Date de soutenance: 27 Mais 2017  
à 15:00 h**

**Note :.....**

**Mention :.....**



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 : Boudiba Amira

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : de Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 2012 / 4011226

Année universitaire : 2016 / 2017

Domaine : Sciences de la vie et de la nature

Filière : sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie et Biologie moléculaire

Intitulé du mémoire : Etude de la variation de l'Acide urique et la Bilirubine lors des différentes maladies chroniques

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 :

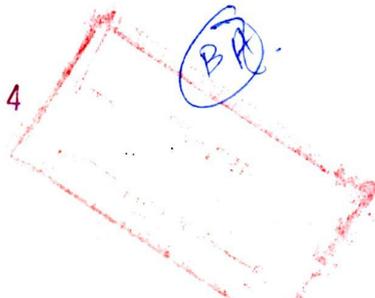
- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : 27/05/2017

Signature de l'étudiant(e) :



جوان 14





### Déclaration sur l'honneur de non-plagiat

(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : *Chaouh Dumaiya*

Régulièrement inscrit(e) en : *Master au département*

N° de carte d'étudiant : *2017/1020366*

Année universitaire : *2016/2017*

Domaine : *Science de la Vie et de la Nature*

Filière : *Sciences Biologiques*

Spécialité : *Biocrimie et Biologie moléculaire*

Intitulé du mémoire : *Etude de la variation de l'acide urique*

*et la Bilirubine lors des différentes Maladies chroniques*

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

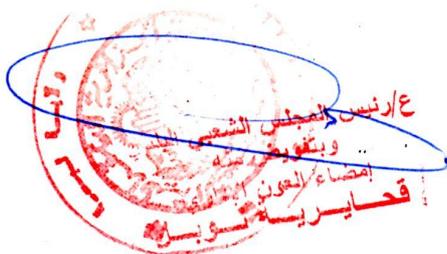
Sanctions en cas de plagiat prouvé :

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 *27/05/2017*

Signature de l'étudiant(e) :



*[Handwritten signature]*

2017 جوان

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الاجهاد التأكسدي هو نتيجة لاختلال التوازن بين الأوكسدة ومضادات الأوكسدة في الخلايا و هو يشارك في نشأة الكثير من الأمراض، بما في ذلك العديد من امراض القلب والأوعية الدموية، الأمراض الاستقلابية و الامراض الرئوية.

من اجل استكشاف امكانية تقييم البيليروبين وحمض اليوريا في مختلف الامراض المزمنة، اجرينا دراسة على 227 مريضا في المصلحة الاستشفائية بوقرة بولعراس بكارية-تبسة-

اظهرت النتائج البيوكيميائية لدراستنا على دفاع مضادات الأوكسدة زيادة في مستويات حمض اليوريا في ضغط الدم وأمراض القلب على عكس المرضى الذين يعانون من أنواع مرض السكري 1 و 2، والسكتة الدماغية، والربو، ومرض الانسداد الرئوي المزمن والتهاب الكبد الوبائي مقارنة مع الشواهد مع زيادة كبيرة في البيليروبين الكلي في الدم في جميع الأمراض المدروسة، و تم تسجيل مستويات عالية من البيليروبين المباشر لدى جميع المرضى باستثناء تلك مع مرض السكري من النوع 1 وارتفاع ضغط الدم والربو ومرض الانسداد الرئوي المزمن، و كما اظهرت النتائج ارتفاع في مؤشرات الاكسدة الدهنية و محركات النتريت لدى جميع المرضى تحت الدراسة.

تشير النتائج التي توصلنا اليها تدخل الاكسدة في جميع الامراض المدروسة و التغير في معلمات مضادات الأوكسدة اعتمادا على المرض.

**الكلمات المفتاحية:** الاجهاد التأكسدي، الامراض المزمنة، حمض اليوريا، البييلوروبين

### Abstract

Oxidative stress is the result of an imbalance between oxidants and antioxidants in cells. It's involved in the genesis of many pathologies, including several cardiovascular, metabolic and pulmonary diseases.

In order to explore the evaluation of bilirubin and uric acid in various chronic diseases, we carried out a study on 227 patients at the Bouguerra boulaaress hospital (Bekkaria).

The biochemical results of our study on antioxidant defense show an increase in uric acid levels in arterial hypertension and the different heart disease. Unlike patients with diabetes type 01 and 02, stroke, asthma, COPD and HCV compared with controls. A significant increase in total bilirubin serum levels in all of the diseases studied was noted and we also found high levels of direct bilirubin in patients except those with type 1 diabetes, hypertension, asthma and COPD. At the same time, MDA lipid oxidant marker and NO (NO<sub>2</sub>-) releasing marker show a significant increase in all diseases studied.

Our results indicate the involvement of oxidative stress in the various pathologies studied and a variable expression of the antioxidant parameters according to the disease.

**Key words:** Oxidative stress, Chronic diseases, Uric acid, Bilirubin, MDA, NO.

### Résumé

Le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants dans les cellules. Il est impliqué dans la genèse de nombreuses pathologies, dont plusieurs maladies cardiovasculaires, métaboliques et pulmonaires.

Afin d'explorer l'évaluation de la bilirubine et l'acide urique dans différentes maladies chroniques, nous avons réalisé une étude sur 227 malades au niveau de l'établissement hospitalier Bouguerra boulaaress (Bekkaria).

Les résultats biochimiques de notre étude sur la défense antioxydante montrent Une augmentation des taux d'acide urique dans l'hypertension artérielle et les différentes cardiopathies. contrairement aux patients atteints de diabète type 01et 02, AVC, Asthme, BPCO et HCV par rapport aux témoins avec une augmentation significative des taux sériques en bilirubine totale dans toutes les maladies étudiées a été relevée et nous avons constaté aussi des taux élevés de la bilirubine direct chez les patients à l'exception de ceux atteints de diabète type 01,HTA , Asthme et BPCO. Parallèlement, le marqueur d'oxydant lipidique MDA et le marqueur de libérant de NO ( $\text{NO}^{2-}$ ) montrent une augmentation significative dans toutes les maladies étudiées.

Nos résultats indiquent l'implication du stress oxydant dans les différentes pathologies étudiées et une expression variables des paramètres antioxydants selon la maladie.

**Mots clés :** Stress oxydant, Maladies chroniques, acide urique, bilirubine, MDA, NO.

# Remerciement

*Nous remercions Allah Le Tout Puissant, Omniscient, Clément et Miséricordieux pour nous avoir donné la santé, la force nécessaire et le courage pour mener à bien ce travail.*

*Nous tenons à remercier en tout premier lieu **Madame Belguendouz Lahmer Karima** pour la confiance qu'il nous a témoignée et qui nous a honoré en acceptant de nous encadrer pour l'élaboration de cette étude , l'aide et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer et que on ne remerciera jamais assez pour son soutien et sa patience, qu'il trouve en ces lignes l'expression de notre gratitude .*

*Nous tenons à remercier sincèrement les membres du jury qui nous font le grand honneur d'évaluer ce travail de master.*

*Nos remerciements à **Dr Messadia Amira** d'avoir accepté de présider le jury. Ainsi que Nos remerciements à **Me. Hammoum Zakia** maître assistante à la faculté des sciences exactes et science de la nature et de la vie de Tébessa pour avoir acceptée d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements vont également à tous l'équipe de laboratoire centrale au niveau de l'établissement hospitalier Bouguerra Boulaaress à Bekkaria (Tébessa) et nos également adresse nos remerciement à l'équipe de laboratoire de Biochimie au sein du département de Biologie appliquée à l'université de Tébessa.*

*Nous aimerai remercier tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail, que nous n'avons pas pu nommer, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude.*

# Dédicace

*Je dédie cet humble travail :*

*A mes chère et respectueux parents vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection. Je vous offre ce modeste travail en témoignage de tous les sacrifices et l'immense tendresse dont vous m'avez toujours su me combler. Puisse dieu vous garder et vous procurer santé et bonheur.*

*A mon frère et ma sœur : Seif, Asma*

*A ma grande mère Maternelle, que dieu la garde pour nous*

*A toutes mes tantes et mes oncles*

*A Mes cousines et mes cousins surtout : Soumia, Houda, Imen, Imen*

*A ma Sœur, mon intime et ma copine Katia*

*A mon binôme Oumaima*

*A tous mes amis, mes proches et mes camarades*

*Amis*



# Dédicace

*Je dédie ce travail :*

**À mes parents les plus chères du mon cœur pour leur amour, leur soutien pendant toutes ces années d'étude. Je vous le remercie car sans vous, je ne serais pas là aujourd'hui...**

**À mes sœurs : *Malika, Sabrina* et *Kenza* pour d'être toujours présents à mes côtés**

**À mes chères tantes et mes mères**

**À mes oncles et mes grands-parents, présent ou absent**

**A mes cousins et mes cousines, surtout *Khaouther* pour sa aide et ces effort tous le long de ce travail**

**A mes amies, mes sœurs qui je rencontrés sur les bancs de la fac surtout *Djoughaina* et *Kenza*...merci d'être toujours là et pour tous les moments inoubliables avec vous, leurs amours et leurs encouragement dans tous ces années.**

**A mon adorable amie et mon binôme *Amira***

*Dumaima*



ملخص

Abstract

Résumé

Remerciement

Dédicace

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

## Chapitre I : le stress oxydant dans le développement des maladies chroniques

I-Stress oxydant.....	2
I-1-Définition.....	2
I-2-Les espèces réactives de l'oxygène.....	2
I-3-Source des espèces réactives de l'oxygène.....	3
I-4-Cibles du stress oxydant.....	4
I-4-1-Dommage de l'ADN.....	4
I-4-2-Oxydation des protéines.....	5
I-4-3-Peroxydation lipidique.....	6
II-Les maladies chroniques.....	7
II-1-Généralité.....	7
II-2-Le stress oxydative lors des différentes maladies chroniques.....	8
A- Les maladies cardiovasculaires.....	8
I- L'insuffisance cardiaque.....	9
II-Accident vasculaire cérébral.....	9
III-Hypertension artérielle.....	10
B- Les maladies inflammatoires chroniques.....	10
I-Diabète.....	10
II-Asthme.....	11
III-Bronchopneumopathie chronique obstructive.....	12
IV-HCV.....	12

## Chapitre II : Acide urique et bilirubine

I- Généralité sur les antioxydants.....	15
II- L'acide urique.....	15
II-1-Généralité sur l'acide urique.....	15
II-2-Origine des bases des purines.....	16
II-3-Métabolisme de l'acide urique.....	17
II-4-Propriétés antioxydantes de l'acide urique.....	18
III-La bilirubine.....	19
III-1-Généralité sur la bilirubine.....	19
III-2-Métabolisme de la bilirubine.....	20
III-2-1-Production de la bilirubine.....	20
III-2-2-La conjugaison hépatique.....	21
III-2-3-Métabolisme intestinale de la bilirubine.....	21
III-2-4-Circulation entérohépatique.....	22
III-3-Caractéristique antioxydant de la bilirubine.....	22

## Matériel et méthodes

I-Matériels.....	24
I-1-Matériel biologique.....	24
I-1-1-Population d'étude.....	24
I-1-2-Les réactifs.....	25
II-Méthodes.....	26
II-1-Prélèvement.....	26
II-2-Méthodes analytiques.....	26
II-2-1-Analyses des paramètres biochimiques et sériques.....	26
II-2-1-1-Dosage sérique de l'acide urique.....	26
II-2-1-2-Dosage sérique de la bilirubine totale et directe.....	27
II-2-2-Détermination de l'attaque radicalaire.....	28
II-2-2-1-Dosage de nitrite.....	28
II-2-2-2-Dosage des protéines totales.....	29
II-2-2-3-Dosage de malondialdéhyde.....	30
II-3-Analyse statistique.....	31

## Tables des matières

---

<b>Résultat</b>	
<b>I-Dosage de l'acide urique</b> .....	<b>33</b>
<b>II-Dosage de la bilirubine Totale</b> .....	<b>40</b>
<b>III-Dosage de la bilirubine directe</b> .....	<b>47</b>
<b>IV-Dosage du malondialdéhyde</b> .....	<b>53</b>
<b>V-Dosage des nitrites</b> .....	<b>60</b>
<b>VI-Dosage des protéines totales</b> .....	<b>66</b>
<b>VII- Les corrélations des différents paramètres</b> .....	<b>73</b>
<b>VII-1-Les corrélations du nitrite et de l'acide urique</b> .....	<b>73</b>
<b>VII-2-Les corrélations entre la bilirubine totale et l'acide urique</b> .....	<b>74</b>
<b>VII-3-Les corrélations entre la bilirubine directe et l'acide urique</b> .....	<b>75</b>
<b>VII-4-Les corrélations entre le nitrite et l'MDA</b> .....	<b>77</b>
<b>VII-5-Les corrélations entre l'acide urique et l'MDA</b> .....	<b>78</b>
<b>VII-6-Les corrélations entre la bilirubine totales et l'MDA</b> .....	<b>80</b>
<b>VII-7-Les corrélations entre l'acide urique et l'MDA</b> .....	<b>82</b>
<b>VII-8-Les corrélations entre la bilirubine directe et le nitrite</b> .....	<b>83</b>
<b>VII-9-Les corrélation entre la bilirubine totale et le nitrite</b> .....	<b>85</b>
<b>Discussion</b> .....	<b>89</b>
<b>Conclusion</b>	
<b>Références Bibliographique</b>	

### LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Les espèces réactives de l'Oxygène	<b>3</b>
<b>Tableau 2</b>	Effectifs des malades en fonction des différentes maladies étudiées	<b>24</b>
<b>Tableau 3</b>	Les différentes associations entre les maladies chroniques	<b>24</b>

### LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	page
<b>Figure 01</b>	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules	<b>5</b>
<b>Figure 02</b>	Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire	<b>6</b>
<b>Figure 03</b>	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	<b>7</b>
<b>Figure 04</b>	structure de l'acide urique et de l'ion urate	<b>16</b>
<b>Figure 05</b>	Vue générale du métabolisme des purines	<b>17</b>
<b>Figure 06</b>	catabolisme des nucléotides puriques	<b>18</b>
<b>Figure 07</b>	La formule de la bilirubine	<b>19</b>
<b>Figure 08</b>	production de la bilirubine à partir du catabolisme de l'hème	<b>21</b>
<b>Figure 09</b>	Courbe d'étalonnage des nitrites	<b>29</b>
<b>Figure 10</b>	Courbe d'étalonnage des protéines totales	<b>30</b>
<b>Figure 11</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de l'HTA et des témoins	<b>33</b>
<b>Figure 12</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints des cardiopathies et des témoins	<b>34</b>
<b>Figure 13</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de diabète type 1 et des témoins	<b>34</b>
<b>Figure 14</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de diabète type 2 et des témoins	<b>35</b>
<b>Figure 15</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de l'AVC et des témoins	<b>35</b>
<b>Figure 16</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de l'asthme et des témoins	<b>36</b>
<b>Figure 17</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de BPCO et des témoins	<b>36</b>
<b>Figure 18</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de l'HCV et des témoins	<b>37</b>

## Liste des figures

<b>Figure 19</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de diabète-cardiopathies et des témoins	<b>37</b>
<b>Figure 20</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins	<b>38</b>
<b>Figure 21</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de HTA-Asthme et des témoins	<b>38</b>
<b>Figure 22</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de diabète-HTA et des témoins	<b>39</b>
<b>Figure 23</b>	Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de HTA-cardiopathies et des témoins	<b>39</b>
<b>Figure 24</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète type 1 et des témoins	<b>40</b>
<b>Figure 25</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints des cardiopathies et des témoins	<b>41</b>
<b>Figure 26</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de HTA et des témoins	<b>41</b>
<b>Figure 27</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de l'AVC et des témoins	<b>42</b>
<b>Figure 28</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de l'asthme et des témoins	<b>42</b>
<b>Figure 29</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète type 2 et des témoins	<b>43</b>
<b>Figure 30</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de BPCO et des témoins	<b>43</b>
<b>Figure 31</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de l'HCV et des témoins	<b>44</b>
<b>Figure 32</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète-HTA et des témoins	<b>44</b>
<b>Figure 33</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète-cardiopathies et des témoins	<b>45</b>
<b>Figure 34</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins	<b>45</b>

## Liste des figures

<b>Figure 35</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de HTA-cardiopathies et des témoins	<b>46</b>
<b>Figure 36</b>	Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de HTA-Asthme et des témoins	<b>46</b>
<b>Figure 37</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de diabète type 2 et des témoins	<b>47</b>
<b>Figure 38</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints des cardiopathies et des témoins	<b>47</b>
<b>Figure 39</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'AVC et des témoins	<b>48</b>
<b>Figure 40</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'AVC et des témoins	<b>48</b>
<b>Figure 41</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de diabète type 1 et des témoins	<b>49</b>
<b>Figure 42</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'HTA et des témoins	<b>49</b>
<b>Figure 43</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'asthme et des témoins	<b>50</b>
<b>Figure 44</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de BPCO et des témoins	<b>50</b>
<b>Figure 45</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de diabète-cardiopathies et des témoins	<b>51</b>
<b>Figure 46</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins	<b>51</b>
<b>Figure 47</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'HTA-cardiopathies et des témoins	<b>52</b>
<b>Figure 48</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'HTA-cardiopathies et des témoins	<b>52</b>
<b>Figure 49</b>	Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'HTA-Asthme et des témoins	<b>53</b>
<b>Figure 50</b>	Variation de taux plasmique de l'MDA des patients atteints de diabète type 2 et des témoins	<b>54</b>

## Liste des figures

<b>Figure 51</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints de diabète type 1 et des témoins	<b>54</b>
<b>Figure 52</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints des cardiopathies et des témoins	<b>55</b>
<b>Figure 53</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints d'HTA et des témoins	<b>55</b>
<b>Figure 54</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints d'AVC et des témoins	<b>56</b>
<b>Figure 55</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints d'asthme et des témoins	<b>56</b>
<b>Figure 56</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints de BPCO et des témoins	<b>57</b>
<b>Figure 57</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints de diabète-HTA et des témoins	<b>57</b>
<b>Figure 58</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints de diabète-cardiopathies et des témoins	<b>58</b>
<b>Figure 59</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins	<b>58</b>
<b>Figure 60</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints de HTA-cardiopathies et des témoins	<b>59</b>
<b>Figure 61</b>	Variation du taux plasmique de l'MDA des patients atteints de HTA-asthme et des témoins	<b>59</b>
<b>Figure 62</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteints de diabète type 2 et des témoins	<b>60</b>
<b>Figure 63</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteints de diabète type 1 et des témoins	<b>61</b>
<b>Figure 64</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteints des cardiopathies et des témoins	<b>61</b>

## Liste des figures

<b>Figure 65</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteint d'HTA et des témoins	<b>62</b>
<b>Figure 66</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteint d'AVC et des témoins	<b>62</b>
<b>Figure 67</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteint d'asthme et des témoins	<b>63</b>
<b>Figure 68</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteint de BPCO et des témoins	<b>63</b>
<b>Figure 69</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteint de diabète- HTA et des témoins	<b>64</b>
<b>Figure 70</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteint de diabète- cardiopathies et des témoins	<b>64</b>
<b>Figure 71</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteint de diabète- cardiopathies-HTA et des témoins	<b>65</b>
<b>Figure 72</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteint d'HTA- cardiopathies et des témoins	<b>65</b>
<b>Figure 73</b>	Variation du taux des nitrites des patients atteint d'HTA-asthme et des témoins	<b>66</b>
<b>Figure 74</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint de diabète type 2 et des témoins	<b>67</b>
<b>Figure 75</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteints de diabète type 2 et des témoins	<b>67</b>
<b>Figure 76</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint des cardiopathies et des témoins	<b>68</b>
<b>Figure 77</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint d'HTA et des témoins	<b>68</b>
<b>Figure 78</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint d'AVC et des témoins	<b>69</b>

## Liste des figures

<b>Figure 79</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint d'asthme et des témoins	<b>69</b>
<b>Figure 80</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint de BPCO et des témoins	<b>70</b>
<b>Figure 81</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint de diabète-HTA et des témoins	<b>70</b>
<b>Figure 82</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint de diabète-cardiopathies et des témoins	<b>71</b>
<b>Figure 83</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins	<b>71</b>
<b>Figure 84</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint d'HTA-cardiopathies et des témoins	<b>72</b>
<b>Figure 85</b>	Variation du taux des protéines totales des patients atteint d'HTA-asthme et des témoins	<b>72</b>
<b>Figure 86</b>	Corrélation du nitrite & acide urique dans déférentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : Diabète type 1, C : les cardiopathies, D : HTA, E : AVC, F : asthme, G : BPCO	<b>74</b>
<b>Figure 87</b>	corrélation de la bilirubine totale & acide urique dans les différentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : Diabète type 2, C : cardiopathie, D : asthme, E : BPCO, F : HCV, G : AVC, H : HTA)	<b>75</b>
<b>Figure 88</b>	corrélation de la bilirubine directe & acide urique dans déférentes maladies chronique (A : diabète type 2, B : diabète type 1, C : cardiopathies, D : HTA, E : AVC, F : asthme, G : BPCO, H : HCV)	<b>77</b>
<b>Figure 89</b>	corrélation du nitrite & le taux plasmique de MDA dans différentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : diabète type1, C : cardiopathies, D : HTAE : AVC, F : asthme, G : BPCO)	<b>78</b>

## Liste des figures

<b>Figure 90</b>	corrélacion de l'acide urique & le taux plasmiqne de MDA dans différentes maladies chroniqnes (A: Diabète type 2, B: diabète type1, C: cardiopathies, D: HTA, E: AVC, G : asthme, H : BPCO)	<b>80</b>
<b>Figure 91</b>	corrélacion la bilirubine totale & le taux plasmiqne de MDA dans différentes maladies chroniqnes (A : Diabète type 2, B : diabète type1, C : cardiopathies, D : HTA, E : AVC, F : asthme, G: BPCO)	<b>81</b>

### Liste des abréviations

<b>AGL</b>	Acide gras libre
<b>AMP</b>	Adénosine monophosphate
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b>BSA</b>	Bovin sérum albumin
<b>COX-2</b>	Cyclooxygenase-2
<b>eNOS</b>	endothélial nitric oxyde sybthase
<b>ERO</b>	espèces réactifs d'oxygène
<b>GMP</b>	Guanosine monophosphate
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	peroxyde d'hydrogène
<b>ICAM</b>	Intercellular Adhesion Molecule
<b>IFN-1 <math>\alpha</math></b>	interferon alpha 1
<b>IFN-2 <math>\beta</math></b>	interferon beta 2
<b>IKK</b>	inhibitor of nuclear factor-B kinase subunit beta
<b>IMP</b>	Inosine monophosphate
<b>iNOS</b>	inducible nitric oxyde synthase
<b>IRS-1</b>	insulin receptor substrate 1
<b>JNK1</b>	C-jun N-terminal protein kinase 1
<b>LDL</b>	Low density lipoprotein
<b>MAP</b>	Mitogen activated proteins
<b>MCP-1</b>	Monocyte chemoattractant protein-1
<b>NADP</b>	nicotinamide adenine dinucléotide phosphate
<b>NF<math>\kappa</math>B</b>	Nuclear factor-kappa B

## Liste des abréviations

---

<b>nNOS</b>	neuronal nitric oxyde synthase
<b>NO</b>	monoxide d'azote
<b>O<sup>2-</sup></b>	anion superoxide
<b>·OH</b>	radicale hydroxyle
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	ion peroxydinitrite
<b>OX</b>	xanthine oxygénase
<b>PDGF</b>	Platelet-derived growth factor
<b>PI3K</b>	phosphoinositide 3 kinase
<b>PPAR</b>	peroxisome proliferator activated receptor gamma
<b>PTP</b>	pore de transition de perméabilité
<b>ROO<sup>-</sup></b>	radical peroxyde
<b>TBA</b>	Thiobarbituric acid
<b>TGFs</b>	Transforming growth factors
<b>TIMP</b>	Metallopeptidase inhibitor
<b>TNF-</b>	tumor necrosis factor alpha
<b>VCAM-1</b>	Vascular cell adhesion molecule 1
<b>VHC</b>	Virus de l'hépatite C
<b>XMP</b>	Xanthosine monophosphate

# Introduction

## Introduction

Le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants dans les cellules on faveur les antioxydants .Les radicaux libres sont des espèces chimiques possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique, rendant ainsi cette espèce chimique particulièrement instable. Lorsque cet électron célibataire est situé sur un atome d'oxygène, on parle alors « d'espèces réactives de l'oxygène ».Les ERO sont très instables et réagissent avec des macromolécules biologiques, Infligeant ainsi des dommages à l'ADN, aux protéines et aux lipides (**Dalle-Donne *et al.*, 2006**).

Ces processus d'oxydation accrue déclenchent la stimulation des macrophages et les autres cellules inflammatoires qui libèrent alors les médiateurs de l'inflammation (**Dalle-Donne *et al.*, 2006**). Une quantité croissante d'évidences scientifiques suggère que le stress oxydatif soit relié aux mécanismes pathophysiologiques primaires ou secondaires d'une multitude de maladies chroniques (**Willcox *et al.*, 2004**) telle que les pathologies cardiovasculaires et le diabète (**Zou *et al.*, 2008**). Cette relation est appuyée par des expérimentations qui ont démontré, *in vitro*, qu'il était possible de créer un processus dégénératif par le stress oxydatif (**Willcox *et al.*, 2004**).

Dans un souci constant d'amélioration de la qualité de vie, il apparaît d'un intérêt majeur de détecter et doser les espèces oxydantes et antioxydants présentes dans l'organisme, non seulement pour mieux prévenir les situations de stress oxydant mais également pour comprendre le mécanisme des pathologies qui en découlent. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire puis les transformant en molécules ou ions stables (**Favier, 2003**).

Dans notre étude, nous avons évalué les capacités anti oxydantes sériques chez les patients atteints des maladies chroniques. Pour cela, nous avons en premier lieu évalué les marqueurs du stress oxydatif (nitrites, protéine oxydées et la peroxydation lipidiques) puis réalisé le dosage des paramètres biochimiques antioxydants sériques (l'acide urique, la bilirubine directe et totale) chez des patients atteints de différentes pathologies chroniques.

# Chapitre 01

**I- Stress oxydant****I-1-Définition**

Le stress oxydant, parfois appelé stress oxydatif, se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants en faveur des oxydants. (**Atamer *et al.*, 2008**). Il se développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme. Un radical libre est une molécule très réactive contenant un ou plusieurs électrons non paires dans ses orbitales. Il retrouvera sa stabilité en participant à une série de réactions chimiques, ce qui contribue au stress oxydatif (**Tremellen, 2008**).

Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles que la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, à des concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques engendrant de sérieuses altérations aux cellules pouvant mener à la mort cellulaire (**Zou *et al.*, 2008**).

**I-2- Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)**

Les radicaux libres impliquant un ou des atomes d'oxygène se nomment espèces réactives de l'oxygène (ERO). L'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) est la forme primaire des ERO et est formée par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ). L'anion superoxyde peut ensuite être converti en ERO secondaires telles que le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ), le radical peroxyde ( $ROO\cdot$ ) ou le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (**voir Tableau 1**), ce dernier n'étant toutefois pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non pairs (**Tremellen, 2008**).

Il est important de souligner que les ERO n'ont pas qu'un rôle délétère pour l'homme. En effet, grâce à leur haute réactivité dès les faibles concentrations, elles jouent un rôle dans l'apoptose des cellules cancéreuses, dans la réponse immunitaire (**Harman, 1981**) et font office de messenger dans la génération des enzymes antioxydantes (**Arteel *et al.*, 2003**). Elles jouent également un rôle bénéfique dans la synthèse de l'ADN, des hormones stéroïdes, des acides gras insaturés et dans la biosynthèse des mitochondries. Leur capacité oxydante est utilisée également dans des fonctions de signalisation et de transcription essentielles pour le

fonctionnement normal et la survie des cellules .Ainsi, l'implication du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans le cycle de Krebs, la croissance, la dépolarisation membranaire ou la régulation du calcium a été démontrée (Ellis, 1933).

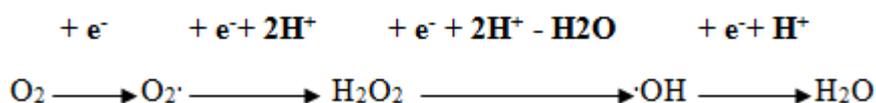
**Tableau 01 : Les espèces réactives de l'Oxygène (Ellis, 1933)**

Espèces Réactives de l'Oxygène		Réaction
Anion superoxyde	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	O <sub>2</sub> + e <sup>-</sup> → O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>
Peroxyde d'hydrogène	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup> + e <sup>-</sup> + 2H <sup>+</sup> → H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Radical hydroxyle	HO·	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Fe <sup>2+</sup> → HO· + HO <sup>-</sup> + Fe <sup>3+</sup> (1) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + O <sub>2</sub> <sup>·-</sup> → O <sub>2</sub> + HO· + HO <sup>-</sup> (2) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> → 2 H <sub>2</sub> O + O <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + 2 GSH → 2 H <sub>2</sub> O + GSSG
Radical Peroxyle	RO <sub>2</sub> ·	R· + O <sub>2</sub> → RO <sub>2</sub> ·
Hydroperoxyde	RO <sub>2</sub> H	RO <sub>2</sub> · + RH → RO <sub>2</sub> H + R·

La réaction (1) correspond à la réaction de Fenton, et la réaction (2) à la réaction d'Haber Weiss. O<sub>2</sub> : Oxygène ; e<sup>-</sup> : Electron ; H<sup>+</sup> : Ion hydrogène ; Fe<sup>+2</sup> : Ions ferreux, Fe<sup>+3</sup>: Ions ferriques, GSH : Glutathion réduit ; GSSG : Glutathion oxydé ; HO· : Anion hydroxyle

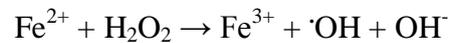
**I-3- Source des espèces réactives de l'oxygène (ERO)**

L'oxygène est un gaz indispensable à la vie mais il peut être toxique par lui-même et par la formation de radicaux libres qui ont de nombreux effets délétères et la version simple de la formation des principales espèces activées de l'oxygène est apportée par la chaîne de réduction monovalente de l'oxygène :



L'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) et le radical hydroxyle (·OH) sont des radicaux libres puisqu'ils contiennent chacun un électron célibataire. les sources de l'anion superoxyde sont multiples : de nombreuses enzymes catalysent la réduction du dioxygène en O<sub>2</sub><sup>·-</sup> comme la NADPH-oxydase, enzyme jouant un rôle dans la phagocytose par la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et HOCl, la xanthine-oxydase qui est activée au cours de la reperfusion après ischémie, l'activité mono-oxygénase du cytochrome P450 dans la membrane du réticulum endoplasmique, aussi

la NADH-déshydrogénase du transport électronique dans la membrane interne mitochondriale, et l'hème de l'hémoglobine et de la myoglobine oxydant le  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}^{3+}$  pour donner les formes oxydées méthémoglobines et metmyoglobines. Les radicaux hydroxyles proviennent essentiellement de la réaction de Fenton qui implique le peroxyde d'hydrogène et des métaux réducteurs libres de leurs complexes protéiques, en particulier  $\text{Fe}^{2+}$  complexé au citrate ou à l'ATP selon **(Baudin, 2006)** :



Une autre espèce radicalaire, le monoxyde d'azote, est-elle produite par les systèmes enzymatiques que sont les différentes NO synthases (ou NOS), à des fins de médiation par les neurones, les cellules endothéliales ou les macrophages **(Favier, 2003)**. La chimie de NO est dominée par sa nature radicalaire. Il réagit rapidement avec l'ion superoxyde  $\text{O}_2^{\cdot-}$  pour former l'ion peroxynitrite  $\text{ONOO}^-$ , connu pour sa toxicité et en solution aqueuse aérobie, le NO est rapidement oxydé en nitrite **(Sennequier *et al.*, 1998)**.

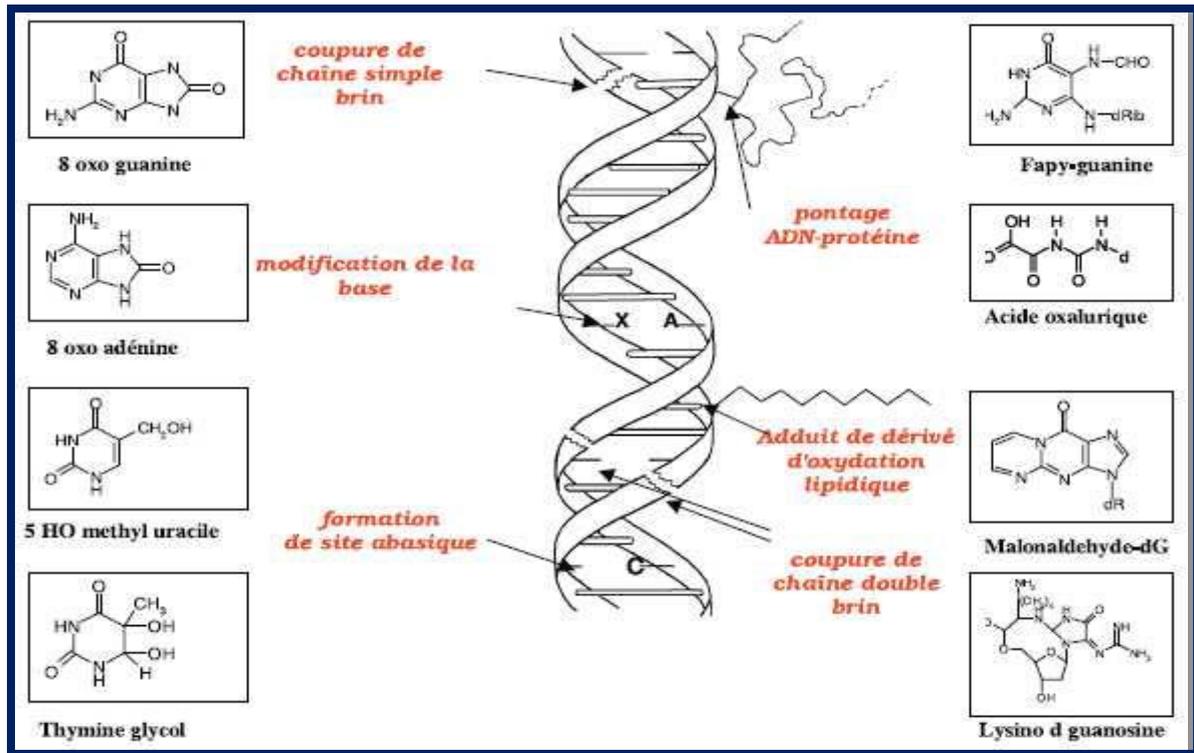
Les ERO peuvent aussi être produits par une multitude de sources exogènes telles que les xénobiotiques, les composés chlorés, les agents environnementaux, les métaux (redox et non redox), les ions et les rayonnements **(Rahman, 2007)**.

#### **I-4- Les cibles du stress oxydant**

Lors d'un stress oxydant, les ERO non détoxifiés par le système antioxydant attaquent et endommagent par oxydation les macromolécules directement à leur contact, contenues dans les cellules, aussi bien les lipides, les protéines et l'ADN **(Koechlin-Ramonatxo, 2006)**.

##### **I-4-1- Dommage de l'ADN**

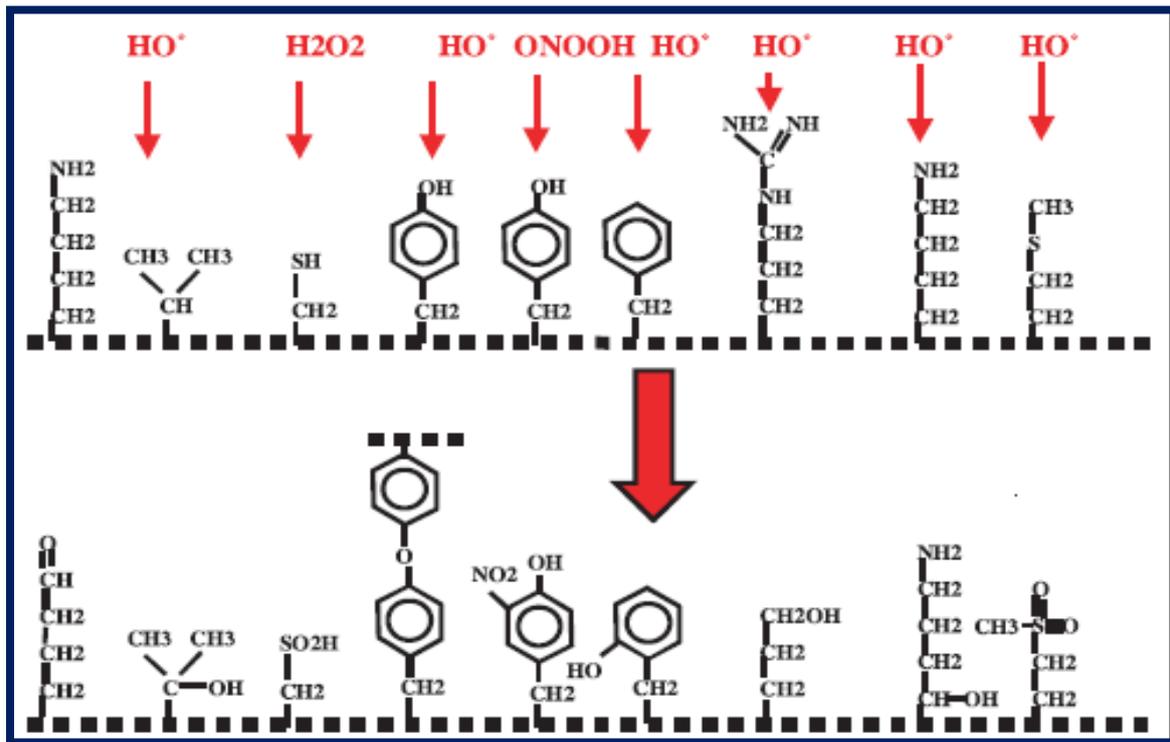
L'ADN, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est également une cible majeure des ERO. Les radicaux  $\text{O}_2^{\cdot-}$  et  $\text{OH}^-$  provoquent des lésions de l'ADN. Ceux-ci peuvent en effet interagir avec les désoxyriboses de l'ADN mais aussi avec ses bases puriques et pyrimidiques. Ces altérations structurales lorsqu'elles ne sont pas réparées entraînent à long terme des altérations géniques : cassures chromosomiques, mutations, délétions, et amplifications, à l'origine d'un dysfonctionnement au niveau du métabolisme protéique **(Koechlin-Ramonatxo, 2006) (voir Figure 01)**.



**Figure 01:** Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003)

#### I-4-2-Oxydation des protéines

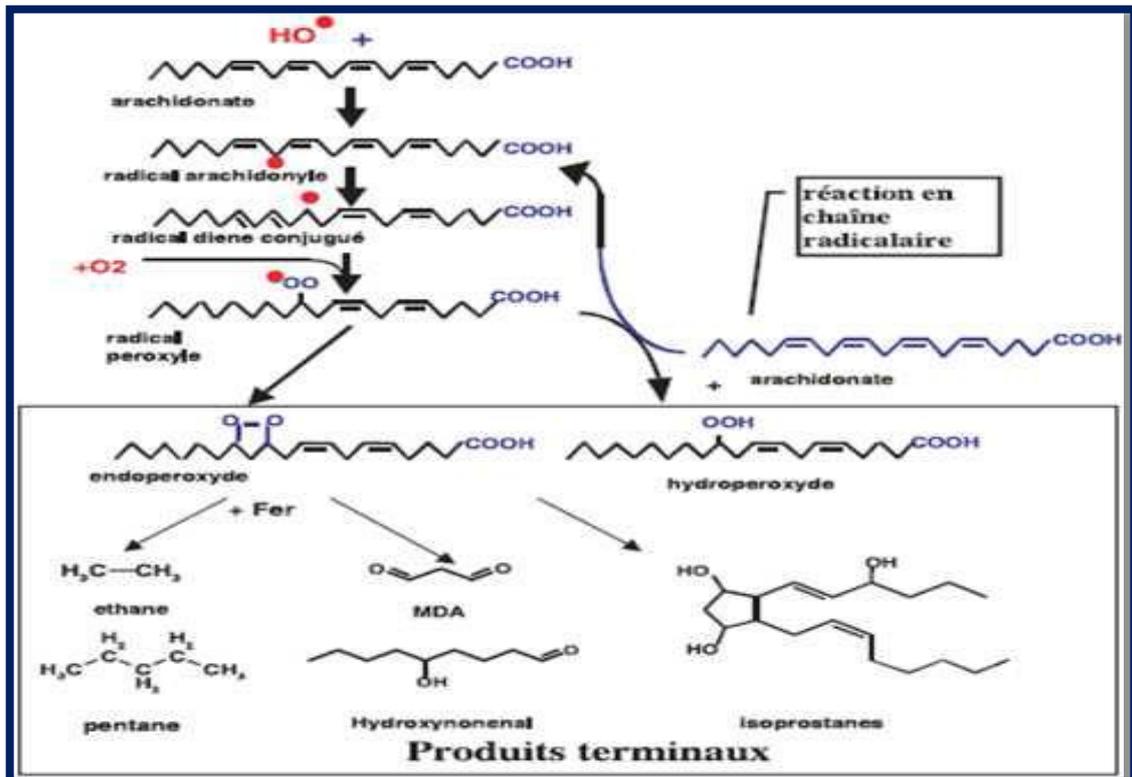
La toxicité des ERO s'exerce sur les protéines. Les ERO sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques ; le tryptophane, la tyrosine et l'histidine, sur lesquels le radical  $\cdot\text{OH}$  s'additionne, modifiant la conformation de la protéine. Sur les acides aminés contenant un atome de soufre tels que la cystéine et la méthionine, l'oxydation par les radicaux libres conduit à la formation de ponts disulfures, donc à l'agrégation de plusieurs molécules de protéines. Les ERO sont aussi capables de couper des liaisons peptidiques et de former ainsi des fragments protéiques. Par ailleurs, le radical  $\cdot\text{OH}$  et l'anion superoxyde  $\text{O}_2^{\cdot-}$  s'attaquent également aux protéines des tissus de soutien, comme le collagène du tissu conjonctif. L'oxydation de ces acides aminés conduit à une modification de la conformation spatiale et à une altération de la fonction protéique (Koechlin-Ramonatxo, 2006) (Voir Figure 02). Les protéines oxydées perdent leur capacité à se fixer correctement sur un récepteur ou à fixer spécifiquement un ligand, altérant la signalisation cellulaire (Favier, 2003).



**Figure 02 :** Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

#### I-4-3-Peroxydation lipidique

Les lipides principalement les acides gras polyinsaturés, sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne car le radical peroxyde formé se transforme en peroxyde au contact d'un autre acide gras qui forme un nouveau radical diène conjugué. Le radical peroxyde, après évolution en un peroxyde cyclique et coupure de la molécule, peut libérer différents aldéhydes toxiques dont le malondialdéhyde (MDA) et 4 hydroxynonéal. 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 lipoprotéines de densité légère (LDL) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires ; l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003) (Voir Figure 03).



**Figure 03 :** Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003).

## II-Les maladies chroniques

### II-1-Généralité

Le terme « maladies chroniques » réfère habituellement aux maladies dégénératives à forte prévalence comme le diabète, les maladies cardiovasculaires, l'hypertension artérielle, l'asthme, les maladies pulmonaires obstructives chroniques (Simoneau, 2011).

Selon l'OMS, les maladies chroniques sont des affections de longue durée qui en règle générale évoluent lentement. Responsables de 63% des décès, les maladies chroniques sont la toute première cause de mortalité dans le monde.

Les causes des maladies chroniques sont bien établies et bien connues. Elles consistent une petite série de facteurs de risque communs qui est responsable de la plupart de ces maladies. Ces facteurs de risque sont modifiables et sont les mêmes chez l'homme et chez la femme :

- alimentation malsaine
- sédentarité

➤ tabagisme.

Ces causes s'expriment à travers les facteurs de risque intermédiaires que sont l'hypertension artérielle, l'hyperglycémie, les anomalies des lipides sanguins, le surpoids et l'obésité. Les principaux facteurs de risque modifiables, associés aux facteurs de risque non modifiables que sont l'âge et l'hérédité, expliquent la plupart des cas de cardiopathie, d'accident vasculaire cérébral, de maladie respiratoire chronique et certains cancers importants. La relation qui existe entre les principaux facteurs de risque modifiables et les grandes maladies chroniques est la même dans toutes les régions du monde (OMS, 2006).

## **II-2- Le stress oxydant lors des différentes maladies chroniques**

La génération d'espèces réactives de l'oxygène et d'autres radicaux libres au cours du métabolisme cellulaire est un processus normal et nécessaire qui est idéalement compensé par un système antioxydant endogène élaboré. Toutefois, en raison de différentes situations environnementales et pathologiques ainsi que certaines habitudes de vie, un excès de radicaux libres peut s'accumuler, aboutissant à un stress oxydatif (Willcox *et al.*, 2004).

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications de l'évolution, La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux (Favier, 2003).

Les mécanismes à l'origine de la surproduction des ERO sont initiés par des cytokines produites lors de l'inflammation et les cellules phagocytaires en sont les principales productrices même si les cellules endothéliales, les fibroblastes et les chondrocytes peuvent également produire des ERO. De plus, il a été montré que les ERO interviennent dans la régulation de l'inflammation par la stimulation de la synthèse de molécules d'adhérence et de médiateurs de l'inflammation. Cette surproduction d'ROS est directement liée au phénomène d'explosion oxydative et permet la destruction des agents pathogènes phagocytés (Jungbluth, 2008).

### **A- Les maladies cardiovasculaires**

Les maladies cardiovasculaires (MCV) se définissent comme l'ensemble des troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins. Elles regroupent toutes les maladies cardiaques, hypertensives et vasculaires (cérébrales et périphériques). Les plus importantes

sont les cardiopathies ischémiques, les accidents vasculaires cérébraux, l'hypertension, les artériopathies périphériques, les cardiopathies rhumatismales, les malformations cardiaques congénitales et l'insuffisance cardiaque (**Simoneau, 2011**).

### **I- L'insuffisance cardiaque**

L'insuffisance cardiaque se classe parmi les maladies du cœur les plus fréquentes. Elle survient lorsque le cœur ne pompe plus adéquatement le sang, ce qui provoque une accumulation de liquide dans l'organisme, principalement dans les poumons (œdème pulmonaire) ou les jambes. Il constitue la voie finale potentielle de toutes les cardiopathies (**Simoneau, 2011**).

Le stress oxydant est apparu récemment comme un nouveau facteur impliqué dans la progression de l'insuffisance cardiaque. Il représente un mécanisme de toxicité cellulaire important du fait de son caractère ubiquitaire et des dommages cellulaires dont il est responsable. Les ERO, jouent un rôle clé dans des conditions pathologiques, leurs production peut être augmentée de façon massive et conduire à des actions délétères pour les cellules ou les tissus de notre organisme qui n'arrive plus à les piéger ou à les détruire. Les conséquences d'un tel débordement se traduisent par des effets toxiques provoqués le plus souvent par des réactions d'oxydation sur les macromolécules intracellulaires telles que les lipides, les protéines ou encore les acides nucléiques à côté de ces effets directs, les ERO peuvent aussi induire des effets indirects en modifiant l'expression de gènes sensibles au statut redox de la cellule. Ces modifications seraient à l'origine de l'induction de l'apoptose myocytaire ou encore de l'hypertrophie cardiaque (**Monteil et al., 2004**).

### **II-Accident vasculaire cérébral (AVC)**

Les maladies vasculaires cérébrales, aussi appelées maladies cérébrovasculaires, réunissent toutes les pathologies affectant la circulation sanguine du cerveau. La majorité, de nature ischémique, se caractérise par une obstruction ou un rétrécissement d'un vaisseau, alors que les autres résultent d'une rupture hémorragique. Ces affections sont appelées accidents vasculaires cérébraux (AVC) (**Simoneau, 2011**).

Suite au relargage massif de glutamate dans la fente synaptique, il y a une activation des récepteurs AMPA « alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique acid », NMDA « N-méthyl-D-aspartate » et kaïnate provoquant leur ouverture et un influx d'ions

$\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Na}^+$  Une dépolarisation massive se produit par une sur activation du système. De manière concomitante à cet influx, survient également un passage de molécules d'eau provoquant un œdème cytotoxique. L'augmentation des ions  $\text{Ca}^{2+}$  au niveau intracellulaire dans les tissus ischémiques va favoriser la production de radicaux libres de l'oxygène via la formation de l'ion superoxide. Cette excitotoxicité active certaines voies de signalisation provoquant l'activation de gènes pro inflammatoires (**Delattre, 2014**).

### **III-Hypertension artérielle (HTA)**

L'hypertension artérielle est une maladie asymptomatique qui se caractérise par une forte pression du sang sur les artères. On dit qu'un individu est hypertendu lorsque sa pression artérielle est supérieure ou égale à 140/90 mm Hg. Chez ces personnes, la pression artérielle est toujours élevée, même lorsqu'elles se reposent (**Simoneau, 2011**).

L'augmentation du stress oxydatif pourrait jouer un rôle important dans l'élévation de la pression artérielle (**Meng et al., 2003; Tian et al., 2005**) et l'installation de l'HTA dans diverses situations pathologiques. Elle peut également être associée à l'HTA induite par l'inhibition de la NOS (**Vaziri et al., 2005**). Inversement, l'élévation de la pression artérielle provoque un stress oxydatif (**Barton et al., 2001; Griending et al., 2000**). Ces observations suggèrent que le stress oxydatif est impliqué dans un cercle vicieux dans la pathogénèse de l'HTA (**Vaziri, 2008**).

### **B- Les maladies inflammatoires chroniques**

Une maladie inflammatoire désigne la présence d'une inflammation pouvant toucher la plupart des organes et tissus du corps humain

#### **I- Diabète**

Le diabète sucré désigne un ensemble de maladies chroniques affectant la façon dont l'organisme utilise les aliments pour produire l'énergie nécessaire à la vie. Le diabète est une perturbation du métabolisme glucidique, mais il affecte également le métabolisme lipidique (des graisses) et celui des protéines. Cela conduit à l'hyperglycémie (une élévation du taux de glucose du sang). Un taux élevé de glucose sanguin sur une période prolongée peut causer des dommages dans diverses parties du corps. Il existe deux formes principales de diabète; Le diabète de type 2 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  $\beta$  du pancréas, une sécrétion de glucagon inappropriée, ainsi qu'une diminution de l'effet des incrétines, hormones intestinales stimulant la sécrétion postprandiale de l'insuline et le diabète de type 1 est une maladie auto-immune correspondant à la destruction progressive des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans, qui normalement synthétisent l'insuline, aboutissant à une carence absolue en insuline (**Mellitus, 2011**).

Les ERO perturbent et inhibent l'insulino-sécrétion en inhibant la transduction du signal du glucose dans les cellules  $\beta$ . En effet, le peroxyde d'hydrogène inhibe la sécrétion d'insuline en diminuant le ratio ATP/ADP intracellulaire. Par conséquent, une activation des canaux potassique ATP-dépendant entraîne une hyperpolarisation membranaire qui empêche la libération de l'insuline par la cellule  $\beta$ . La baisse de la concentration en ATP est due à une attaque des ERO sur la mitochondrie. La mitochondrie est une des premières sources de ERO mais elle est également sa principale cible, elles peuvent inhiber la chaîne respiratoire et endommager des composés mitochondriaux comme l'ADN nucléaire. Il est donc plus sensible à l'attaque des espèces réactives. L'ADN mitochondrial, une fois altéré, perturbe également le fonctionnement de la chaîne respiratoire, générant des ERO (**Auberval, 2010**).

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

## **II- Asthme**

L'asthme est une affection chronique des poumons au cours de laquelle l'inflammation provoque un rétrécissement des voies respiratoires qui rend la respiration plus difficile (**Ochoa, 2012**).

Le stress oxydant est augmenté dans les voies aériennes chez les asthmatiques des études ont montré que les ERO sont associés à la pathologie d'asthme en provoquant une hyperréactivité bronchiales (**Cortijo et al., 1999**). Ainsi des infections virales, l'ozone et la

fumée de cigarette qui sont des déclencheurs potentiels de l'asthme, peuvent servir des sources de qui déclenchent l'inflammation et les symptômes d'asthme, d'autres études sur des animaux suggèrent que les ERO peuvent contribuer à l'hyperréactivité des voies aériennes en augmentant la tension vagale, due à l'inhibition de récepteurs adrénergiques  $\beta$ , et diminuant le balayage mucociliaire (**Owen et al., 1991**). Les ERO sont capables de provoquer plusieurs caractéristiques patho-physiologiques de l'asthme, y compris :

- Une libération élevée d'acide arachidonique.
- La concentration de muscle lisse des voies aériennes.
- L'augmentation de la réactivité et des sécrétions des voies aériennes.
- L'augmentation de la perméabilité vasculaire.
- L'augmentation de la synthèse de chimioattractants.
- L'inhibition de récepteurs adrénergiques  $\beta$ .

### **III-Bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)**

Le développement de la BPCO est associé à une inflammation pulmonaire chronique. L'immunité (innée et adaptative) joue un rôle dans son initiation et sa perpétuation. L'inflammation des voies aériennes modifie les relations structure/fonction dans la bronche: augmentation de l'épaisseur de la paroi bronchique et du tonus des muscles lisses, hypersécrétion des glandes séromuqueuses, perte des structures élastiques. (**Ochoa, 2012**).

Le stress oxydant est l'un des processus physiopathologiques qui conduit au remodelage lors de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), Il génère une toxicité cellulaire directe, en particulier sur l'épithélium bronchique et alvéolaire. Les oxydants ont un effet délétère puissant sur les voies respiratoires. Ils agissent principalement par la production de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et par les produits de la peroxydation lipidique (éthane, TBARs-substances réactives, acides thiobarbituriques) (**Boyer, 2012**).

### **IV-HCV**

L'hépatite C est une maladie du foie causée par un virus. Le virus de l'hépatite C peut entraîner à la fois une infection hépatique chronique, dont la gravité est variable, pouvant aller d'une forme bénigne qui dure quelques semaines à une maladie grave qui s'installe à vie (**El Sayed Zaki et al., 2010**).

La protéine de capsid du VHC pourrait également agir en amont du métabolisme des lipides, en interagissant avec le récepteur alpha du rétinol X (RxRalpha). Ce récepteur nucléaire participe à la régulation du métabolisme des lipides au niveau transcriptionnel, et

son interaction avec la protéine de capsid aboutirait à une augmentation de la synthèse de lipides cellulaires. L'expression cellulaire de la protéine de capsid semble en outre être associée à une augmentation du stress oxydatif. L'expression de la protéine de capsid dans des lignées cellulaires d'origine hépatocytaire a en effet montré une association de la protéine de capsid aux mitochondries et une augmentation des radicaux libres.

L'expression des différentes protéines virales et l'infection chronique des hépatocytes par HCV ne sont pas sans conséquences sur la physiologie hépatique ,contribuant ainsi au développement et à son évolution vers la fibrose ,la cirrhose .Ces altérations de la physiologie hépatique incluent une augmentation du stress oxydatif, un stress du réticulum endoplasmique, des dysfonctions mitochondriales ,une induction de l'autophagie et des dérégulations du métabolisme gluco-lipidique (**Koike *et al.*, 2010 ;Sheikh *et al.*,2008 ;Woodhouse *et al.*, 2010**) .Toutes ces altérations sont interdépendantes et participent à la pathogénèse virale, conduisant notamment au développement d'une stéatose et d'une fibrose (**Levrros, 2006**).

# Chapitre 02

### I-Généralité sur les antioxydants

Les antioxydants sont des agents qui réagissent spontanément avec les oxydants de manière à les inactiver, les éliminer ou diminuer leur concentration, faisant ainsi office de bouclier cellulaire partiel ou total Et qui possèdent des propriétés allant bien au-delà de leur capacité à piéger les ERO (**Halliwell et Gutteridge., 1999**).

Ils peuvent être soit exogènes (provenant essentiellement des apports alimentaires) soit endogènes (produits directement par l'organisme). Leur caractère hydrophobe ou hydrophile leur permet d'avoir une zone d'action étendue à la fois dans les milieux lipidiques et dans les liquides physiologique (**Halliwell et Gutteridge., 1999**).

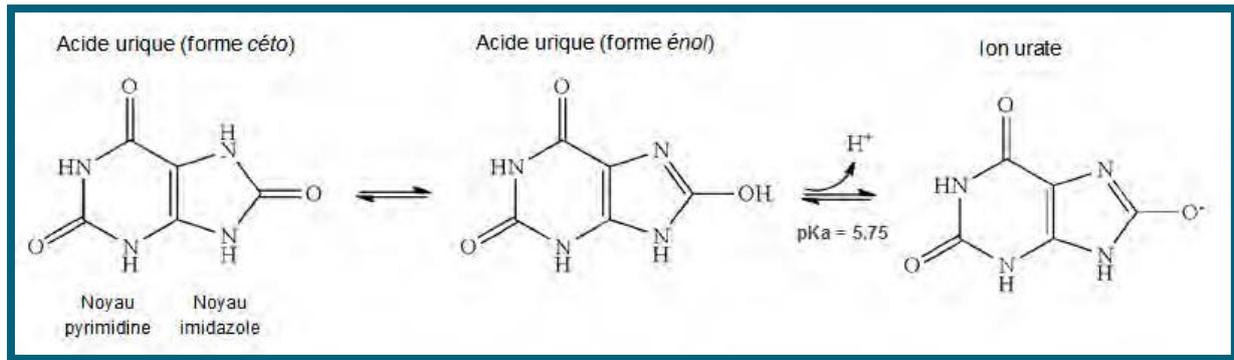
### II- L'acide urique

#### II-1-Généralité sur l'acide urique

L'acide urique est un antioxydant hydrosoluble dont la formule chimique est  $C_5N_4O_3H_4$ . C'est le produit final de dégradation des purines libres (l'adénine, la guanine, la xanthine et l'hypoxanthine) qui proviennent elles-mêmes du catabolisme des acides nucléiques endogènes et exogènes ou de la purino-génèse de *novo*. L'acide urique est très peu soluble dans l'eau ; dans le sang il existe à 98 % sous forme d'urate  $UH_2^-$  (urate monosodique) plus soluble que l'acide urique lui-même (**Halliwell et Gutteridge., 1999**).

L'acide urique est constitué d'un noyau pyrimidine et d'un noyau imidazole. C'est un acide faible ( $pK_a = 5.75$ ) pouvant être présent dans l'organisme sous deux formes : la forme non ionisée ou la forme ionisée nommée « ion urate ». L'acide urique, substance très diffusible, est principalement retrouvé dans les liquides extracellulaires. Il est peu soluble dans l'eau (**voir Figure 04**).

Majoritairement il est présent dans le plasma à l'état libre sous forme d'urate monosodique, le pH sanguin étant égal à 7.4. En effet, ce dernier est largement supérieur à la valeur du  $pK_a$  du couple acide urique/ion urate. Une faible quantité d'acide urique est liée aux protéines plasmatiques (albumine,  $\beta$ -2-globulines...) (**Vaubourdolle, 2007**).



**Figure 04** : structure de l'acide urique et de l'ion urate (Halliwell *et al.*, 1999).

## II-2-Origine des bases des purines

Les bases puriques ont 3 principales origines : (voir **Figure 05**)

**A - Exogènes** : les acides nucléiques issus de l'alimentation sont dégradés en nucléotides par des nucléases puis en nucléosides par les nucléotidases puis en bases puriques (adénine ou guanine) par des nucléosidases.

### **B - Endogènes** :

- Dégradation des acides nucléiques endogènes lors du renouvellement cellulaire ou de lyse cellulaire
- *Purinosynthèse de novo* : elle se déroule essentiellement dans le foie. Le ribose-5-phosphate en présence d'ATP et sous l'action de la Phosphoribosyl pyrophosphate-synthétase donne du phosphoribosyl pyrophosphate (PRPP). Le transfert d'une fonction amine de la glutamine sur le PRPP par la glutamyl phosphoribosyl amino transférase (GPRAT) donne du phosphoribosylamine (PRA) (Vaubourdolle, 2007).

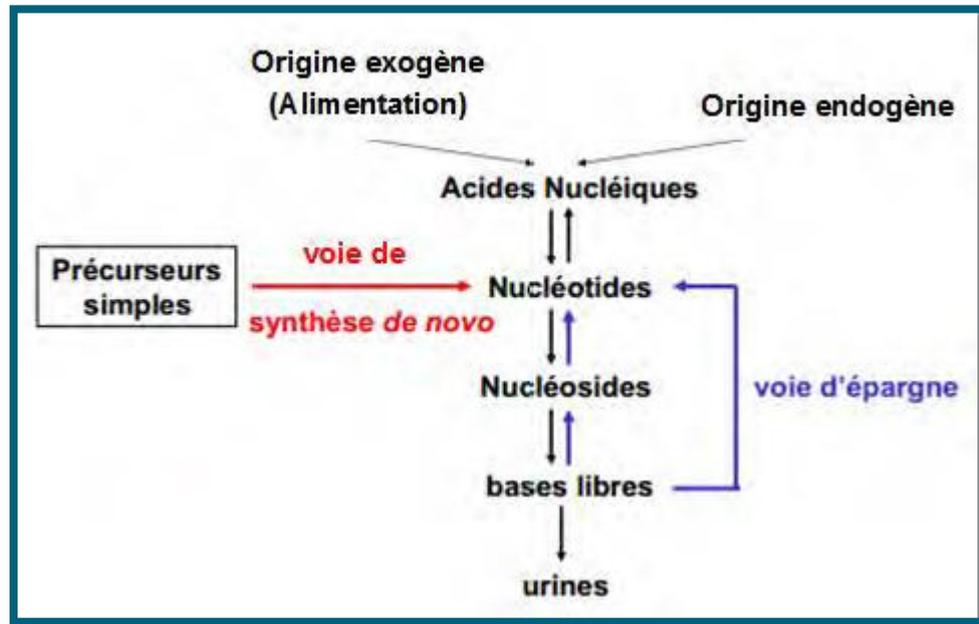


Figure 05 : Vue générale du métabolisme des purines (Vaubourdolle, 2007).

### II-3-métabolisme du l'acide urique

L'acide urique provient du catabolisme des nucléotides puriques : AMP, IMP, XMP et GMP (Voir Figure 06) ci-après décrit ce catabolisme. La nucléotidase permet le passage d'un nucléotide à un nucléoside et la purine nucléoside phosphorylase (PNP) permet le passage d'un nucléoside à une base libre. La PNP est incapable d'agir sur l'adénosine qui doit être préalablement désaminée en inosine sous l'action de l'adénosine désaminase (ADA). C'est le processus majoritaire mais il peut aussi y avoir désamination directement à partir de l'AMP. Des déficits en ADA ont des répercussions pathologiques. La guanosine peut être directement dégradée en guanine puis en xanthine et enfin en acide urique contrairement à l'adénosine (Sekli-Belaidi, 2011).

La base libre dérivant de l'IMP est l'hypoxanthine. Elle est oxydée en xanthine grâce à la xanthine oxydase. Cette dernière intervient par la suite dans la transformation de la xanthine en acide urique. La xanthine oxydase permet donc la dernière réaction de la synthèse de l'acide urique (Sekli-Belaidi, 2011).

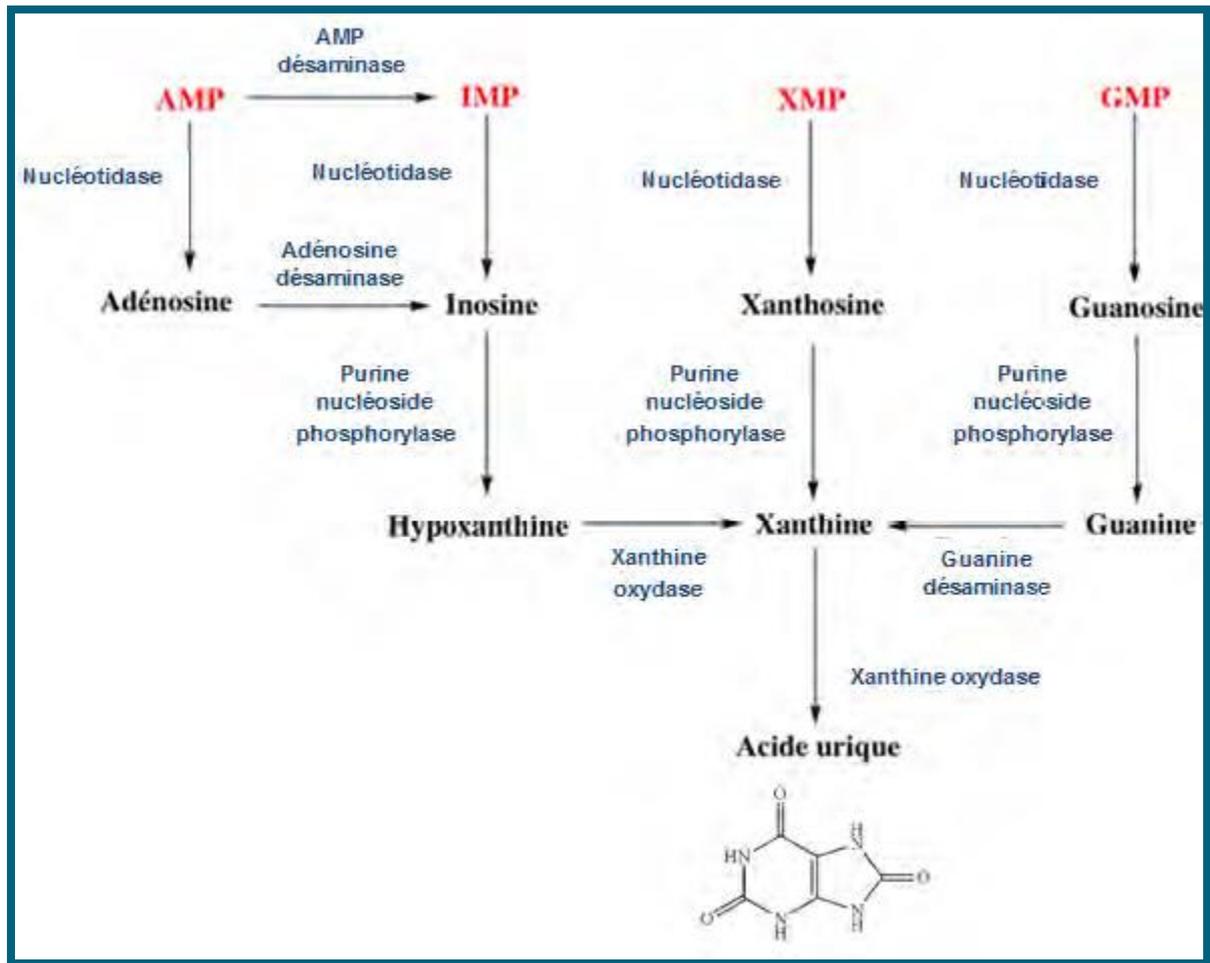


Figure 06 : Catabolisme des nucléotides puriques (Jaspard, 2014).

#### II-4-Propriétés antioxydantes de l'acide urique

L'acide urique sérique est le produit final inerte du métabolisme des purines. Il a été suggéré que les fonctions physiologiques de l'acide urique vont au-delà d'un simple marqueur du catabolisme des purines, et que ses propriétés réductrices lui permettent une forte implication dans les systèmes antiradicalaires. Il est maintenant établi que l'acide urique est un réducteur puissant des radicaux libres. En 1981, Ames et al ont montré que l'acide urique réduit les radicaux peroxyde, hydroxyle, du monoxyde et du dioxyde d'azote. L'acide urique est également un neutralisant puissant de l'ozone, de l'oxygène singulet, de l'acide hypochloreux et du radical superoxyde (Ames et al., 1981).

Des scientifiques japonais ont rapporté la capacité de l'acide urique à empêcher l'oxydation lipidique. L'acide urique, présent à des concentrations beaucoup plus élevées que

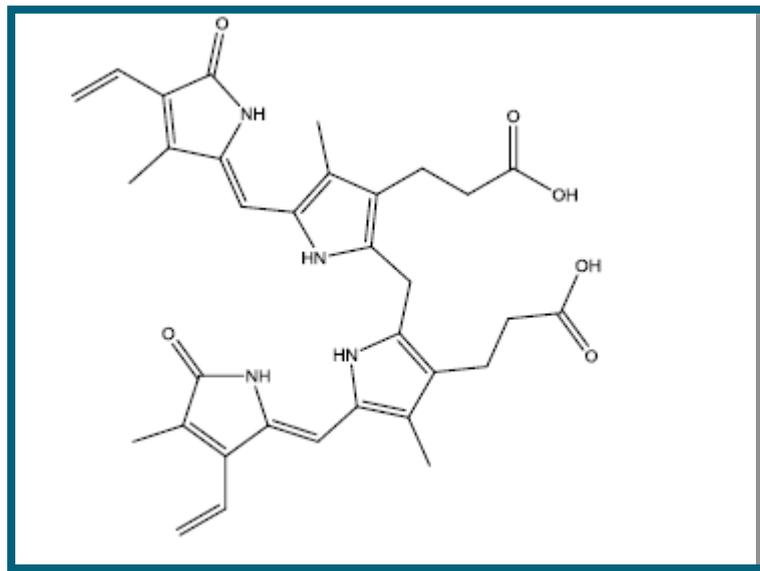
l'acide ascorbique, apporte les deux tiers de la capacité antioxydante du plasma (**Patterson et al., 2003**).

### III-La bilirubine

#### III-1--Généralité

La bilirubine est un pigment jaune rougeâtre présent dans la bile, le sérum et les excréments. (**Manuila et al., 2015**) C'est un composé tétrapyrrolique (**voir Figure 07**) qui provient du catabolisme de l'hémoglobine au sein du système réticuloendothélial en composé non hydrosoluble, elle se lie à l'albumine dans un rapport stœchiométrique 1/1, ce qui empêche sa pénétration dans des tissus riches en lipides tels que le cerveau (**Haleng et al., 2007**).

La bilirubine s'y trouve principalement sous forme non conjuguée (liée à l'albumine) et une forme conjuguée (bilirubine directe).



**Figure 07** : La formule de la bilirubine

#### A-Bilirubine directe (bilirubine conjuguée)

Forme de la bilirubine que l'on dose directement en raison de sa bonne solubilité dans l'eau .il s'agit d'une combinaison de la bilirubine avec l'acide glucuronique. Cette conjugaison à lieu dans le foie .et la bilirubine conjuguée passe normalement dans la bile. Elle n'existe qu'en très faible quantité dans le sérum normal (**Manuila et al., 2015**).

### B-Bilirubine indirecte (bilirubine non conjuguée)

Bilirubine que l'on dose par la réaction indirecte de van den Bergh .elle représente la bilirubine qui n'a pas encore passé à travers le foie dans les canaux biliaires. Son taux dans le sang, normalement inférieur à 10 $\mu$ mol/L, est nettement augmenté en cas d'ictère hémolytique et d'ictère physiologique du nouveau-né (**Manuila et al., 2015**).

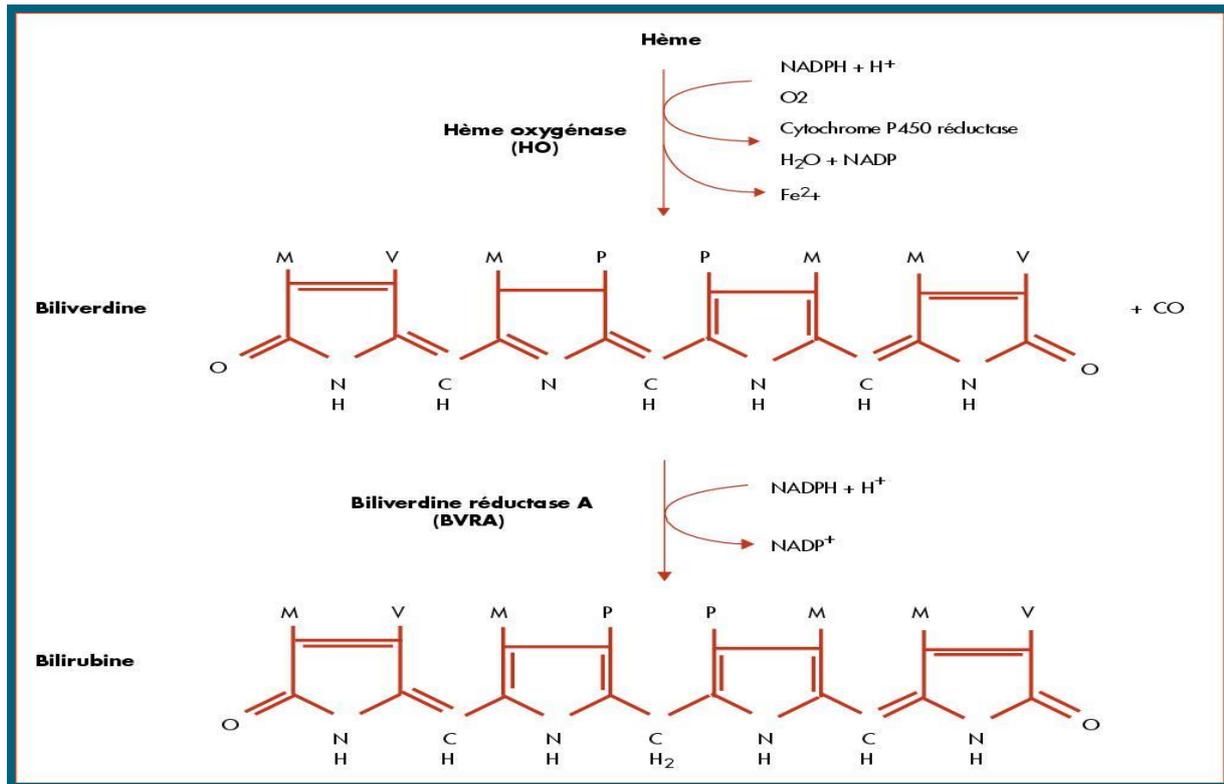
### III-2-Métabolisme de la bilirubine

La bilirubine est le produit terminal du catabolisme de l'hème et provient pour environ 85% de la destruction des globules rouges vieilles se déroulant principalement dans les macrophages spléniques (**Kierszenbaum, 2006**) et 20% des autres protéines héminique, comme la myoglobine et les cytochromes. Approximativement 300mg de bilirubine sont produits par jour, bien que le foie soit capable de métaboliser et d'excréter une quantité 10 fois plus important (**Hughes et al., 2009**).

L'excrétion de la bilirubine peut être divisée en quatre étapes :

#### III-2-1- Production de la bilirubine

L'hémoglobine libérée des globules rouges est liée à l'haptoglobine dans la circulation et ce complexe est capté par les cellules du système réticuloendothélial, localisé principalement dans la rate (**Hughes et al., 2009**) .Sous l'action de l'hémeoxygénase microsomale (monooxygénase), en présence de NADPH et d'O<sub>2</sub>, l'hème est sélectivement clivé au niveau du pont  $\alpha$ -méthane pour donner de la biliverdine avec libération de NADP<sup>+</sup>, de monoxyde de carbone (CO) et du fer (Fe<sup>3+</sup>). La conversion de la biliverdine en bilirubine est catalysée par un enzyme cytosolique, la biliverdine réductase, en présence de NADH ou de NADPH (**voir Figure 08**). (**Kamoun et al., 2003**) La molécule de la bilirubine est libérée dans la circulation où elle lie à l'albumine qui la transporte vers le foie. (**Kierszenbaum, 2006**).



**Figure 08:** production de la bilirubine à partir du catabolisme de l'hème (Lyoumi *et al.*, 2007)

### III-2-2- La conjugaison hépatique

Dans le foie, la bilirubine est libérée de l'albumine au niveau des hépatocytes et transportée vers le réticulum endoplasmique (Hughes et Jefferson, 2009). Le complexe albumine-bilirubine se dissocie et la bilirubine est transportée à travers la membrane plasmique des hépatocytes après s'être fixée sur un récepteur membranaire. Dans l'hépatocyte, la bilirubine se lie à la ligandine, une protéine empêchant le reflux de bilirubine dans la circulation sanguine. Le complexe bilirubine-ligandine est transporté dans le réticulum endoplasmique lisse où la bilirubine est conjuguée à l'acide glucuronique par le système uridine diphosphate (UDP)-glucuronyl transférase. Cette réaction entraîne la formation d'un complexe bilirubine-diglucuronide hydrosoluble qui diffuse à travers le cytoplasme jusqu'aux canalicules biliaires où il est sécrété dans la bile (Kierszenbaum, 2006).

### III-2-3- Métabolisme intestinale de la bilirubine

Dans l'intestin grêle, la bilirubine conjuguée dans la bile reste intacte jusqu'à ce qu'elle atteigne l'iléon terminal et le colon, où les bactéries de flore intestinale

génèrent de la bilirubine libre. La bilirubine non conjuguée est alors réduite en urobilinogène (**Kierszenbaum, 2006**).

### III-2-4- Circulation entérohépatique

Une partie de l'urobilinogène soluble dans l'eau est réabsorbée à partir du colon dans le sang portal et retourne au foie, pour excrétion biliaire. Toutefois, de petites quantités d'urobilinogène soluble dans l'eau passent dans la circulation systémique et sont excrétées dans l'urine (**Hughes, 2009**).

### III- Caractéristique antioxydant de la bilirubine

La bilirubine est capable de piéger  $\text{ROO}^-$  et l'oxygène singulet. Ainsi, elle protège l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires (**Haleng et al., 2007**).

Elle a été considérée comme agissant de façon catalytique au cours d'un cycle redox. Dans ce cycle, la bilirubine, est oxydée par les ROS en biliverdine puis à nouveau réduite en bilirubine. La biliverdine-réductase A (BVRA) qui catalyse la réduction de la biliverdine en bilirubine se comporte dès lors comme un antioxydant indirect (**Lyouni et al., 2007**).

# Matériel et méthodes

**I – Matériels**

**I-1- Matériel biologique**

**I-1-1-Population d'étude**

Notre étude a porté sur une population de 227 patients, les deux sexes inclus, atteints de différentes maladies chroniques admis au sein de l'établissement hospitalier de santé public Bouguerra Boulaaress à Bekkaria (Tébessa) durant la période étalée de janvier à la fin d'avril 2017. Les patients inclus dans notre étude étaient admis et traités au niveau des différents services de l'hôpital à savoir le service de médecine interne homme, le service de médecine interne femme et le service de pneumologie. En parallèle, 33 sujets sains admis au centre de transfusion sanguine ont fait partie de notre étude les considérant comme témoins.

Les différentes pathologies chroniques étudiées dans notre travail sont représentées dans le tableau 02 ainsi que l'effectif concernant chaque maladie. Certains des patients de notre population d'étude présentaient plusieurs atteintes associées qui sont soit indépendante soit une complication de la maladie à l'origine (**Tableau 03**).

Les cardiopathies incluent l'ischémie valvulaire, l'ischémie hypertensive et l'infarctus du myocarde.

**Tableau 02** : Effectifs des malades en fonction des différentes maladies étudiées

Type de maladies	Cardiopathies	AVC	HTA	Diabète type 01	Diabète type 02	Asthme	BPCO	HCV
Nombre de patients	50	14	15	20	22	18	5	5

**Tableau 03**: Les différentes associations entre les maladies chroniques

Les associations				
Diabète/HTA	Diabète/cardiopathies	Diabète/cardiopathie/HTA	HTA/cardiopathie	HTA/Asthme
13	8	10	10	5

Un dosage sérique de l'acide urique et de la bilirubine totale ainsi que celui de la bilirubine directe a été effectué pour tous les 227 patients au niveau du laboratoire central de l'hôpital Bouguerra Boulaaress à Bekkaria.

Trois autres paramètres biochimiques sériques, à savoir les nitrites, les protéines totales et le malonyldialdéhyde, ont été dosés au niveau du laboratoire de Biochimie au sein du département de Biologie à l'université de Tébessa au niveau du sérum de 208 patients. Les résultats des patients ont été comparés à ceux d'un groupe de personnes saines (33 témoins).

### **I-1-2- Les Réactifs :**

Nous avons utilisés les produits de « Sigma » pour le dosage des paramètres au niveau de laboratoire de biochimie de la faculté des sciences de la nature et de la vie-Tébessa-. Pour les paramètres dosés au niveau de laboratoire d'analyses médicales de l'établissement hospitalier Bouguerra Boulaaras, les réactifs sont des coffrets commercialisés de «Biomagreb» et nous avons suivi les instructions données par le fabricant.

#### **▪ Réactifs de l'acide urique**

- Réactif 01 : Tampon phosphate pH 7,5 : 50 mmol/l, Acide 3-5-dichloro- 2- hydroxybenzène sulfonique : 2 mmol/l
- Réactif 02 : Amino4 antipyrine 0,23 mmol/l, Peroxydase > 660 U/l, Uricase > 60 U/l
- Etalon : n = 60 mg/l = (357 µmol/l)

#### **▪ Réactifs de la bilirubine**

- Réactif 01 : Acide sulfanilique 5 g/l
- Réactif 02 : Nitrite de sodium 1 g/l
- Réactif révélateur 3 : Caféine 50 g/l, Acétate de sodium 125 g/l, Benzoate de sodium 75g/l
- Réactif 04 : Tartrate de sodium et de potassium 1 75 g/l
- Etalon : titre donné par le fabricant n = X x mg/l

## II-Méthodes

### II-1-Prélèvements

Pour réaliser un dosage des paramètres biochimique et sérique des patients, des prélèvements sanguins sont réalisés à partir des patients. Pour chaque patient, le prélèvement a été réalisé par ponction veineuse au pli du coude et à jeun sur tube sec utilisé pour le dosage. Le prélèvement sanguin a été centrifugé (Presvac DCS-16 RTV) pendant 5min à 3000 tours/min, les sérums récupérés ont été conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation.

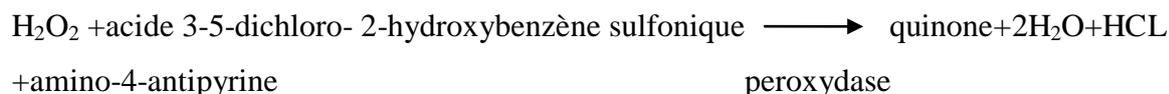
### II-2-Méthodes analytiques

#### II-2-1-Analyses des paramètres biochimiques et sérique (La défense anti oxydante)

##### II-2-1-1- Dosage sérique de l'acide urique

###### ▪ Principe de la méthode

La détermination de l'acide urique par la méthode enzymatique se fait selon les réactions suivantes :



###### ▪ Mode opératoire

Il faut s'assurer avant emploi que les réactifs et les échantillons sont à la température ambiante pendant 10 à 20 minutes.

- Longueur d'onde : 510 nm (490 à 550 nm)
- Zéro de l'appareil : blanc réactif
- Domaine de linéarité : jusqu'à 250mg/l
- Température d'incubation 37°C
- Stabilité de la coloration : 30 minutes à 20°C-25°C ou 10 minutes à 37°C
- Dissoudre le réactif 2 dans le réactif 1 pour obtenir la solution de travail.

	Blanc de réactif	Etalon de réactif	Echantillon
Echantillon	---	---	20µl
Etalon	---	20µl	---
Solution de travail	1 ml	1 ml	1 ml

- **Calcul**

Résultat = (Abs de dosage \* concentration de l'étalon) / Abs de l'étalon

- **Valeurs normales**

Elles varient selon l'âge et le sexe.

Femme : 25 - 60 mg/l

Homme : 34-70 mg/l

### II.2-1-2- Dosage sérique de la bilirubine totale et directe

- **Principe**

La bilirubine totale est dosée en présence de caféine selon une réaction de diazotation avec l'acide sulfanilique diazoté. Par ailleurs, le dosage de la bilirubine conjuguée (directe) se fait en absence de caféine.

- **Mode opératoire**

Il faut s'assurer avant emploi que les réactifs et les échantillons sont à la température

Ambiante pendant 10 à 20 minutes.

- Longueur d'onde ; 600 nm (Bilirubine totale) 530 nm (Bilirubine directe)

- Zéro de l'appareil : blanc échantillon

- Domaine de linéarité : jusqu'à 100 mg/l
- Stabilité de la coloration : 60 minutes à 20°C-25°C
- Solution du travail (BT) : Mélange 20 volume de réactif 1 avec 1 volume de réactif 3
- Solution du travail (BD) : Mélange 20volume de réactif 2 avec 1 volume de réactif 3.

	Blanc	Etalon	Echantillon
<b>Etalon R4</b>	---	<b>20 µl</b>	---
<b>Echantillon</b>	---	---	<b>20 µl</b>
<b>Réactif R1 pour la BT et réactif R2 pour la BD</b>	<b>1 ml</b>	<b>1 ml</b>	<b>1 ml</b>
<b>Réactif 03</b>	<b>50 µl</b>	<b>50 µl</b>	<b>50 µl</b>

- **Calcul**

Résultat = (Abs de dosage \* concentration de l'étalon)/ Abs de l'étalon

- **Valeurs normales**

Bilirubine totale : 2-10 mg/l

Bilirubine directe : 0-2 mg/l

### II-2-2-Détermination de l'attaque radicalaire

#### II-2-2-1-Dosage de nitrite

- **Principe**

Le dosage des nitrites est basé sur la réaction de Griess (**Belguandouz et al., 2011**) qui à l'origine faisait réagir une première amine aromatique pour former un diazoïque, qui se couplait à une seconde amine aromatique pour former un colorant rose.

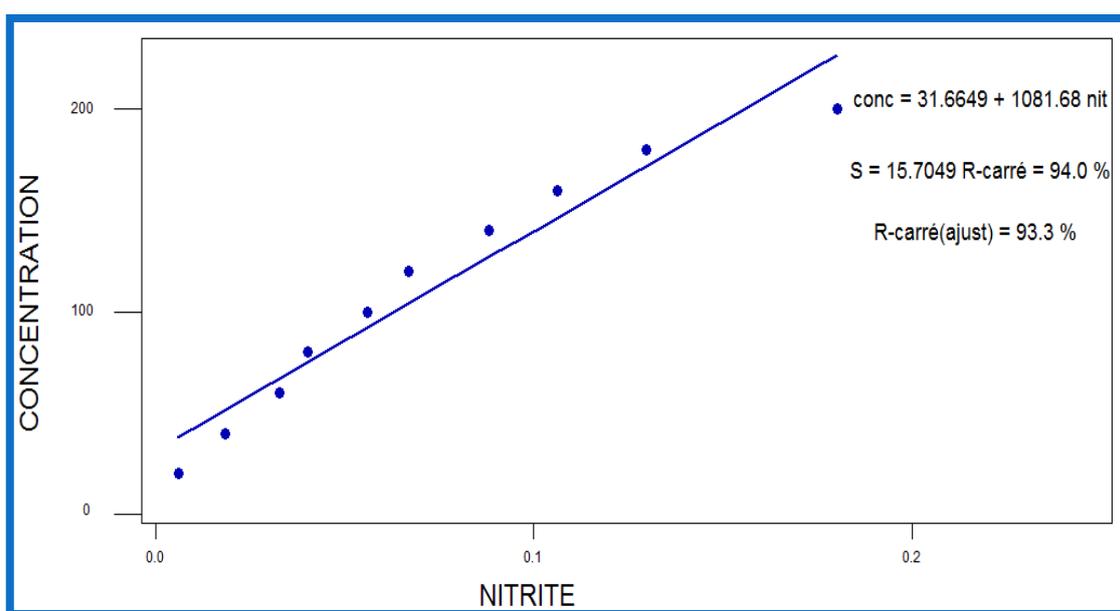
La sulfanilamide réagit avec les ions nitrites en milieu acide, pour former un diazoïque qui réagit alors avec le N-naphtyl-éthylénediamine, le composé formé absorbe à 543 nm.

### ▪ Mode opératoire

- On met 100 µl de sérum dans un tube puis on ajoute 50 µl de Griess 1 et 50 µl de Griess 2.
- Les tubes sont incubés pendant 10 minutes à T° ambiant
- Centrifugation 10 minutes.
- La densité optique est mesurée au spectrophotomètre à 543 nm.

### ▪ Calcul de la concentration de nitrite

La concentration de nitrite dans les échantillons est déterminée par comparaison aux valeurs obtenues pour une courbe standard réalisée en parallèle.



**Figure 09:** Courbe d'étalonnage des nitrites

## II-2-2-2-Dosage de protéines totales

### ▪ Principe

La concentration de protéines totales est déterminée selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Cette méthode est basée sur un dosage colorimétrique.

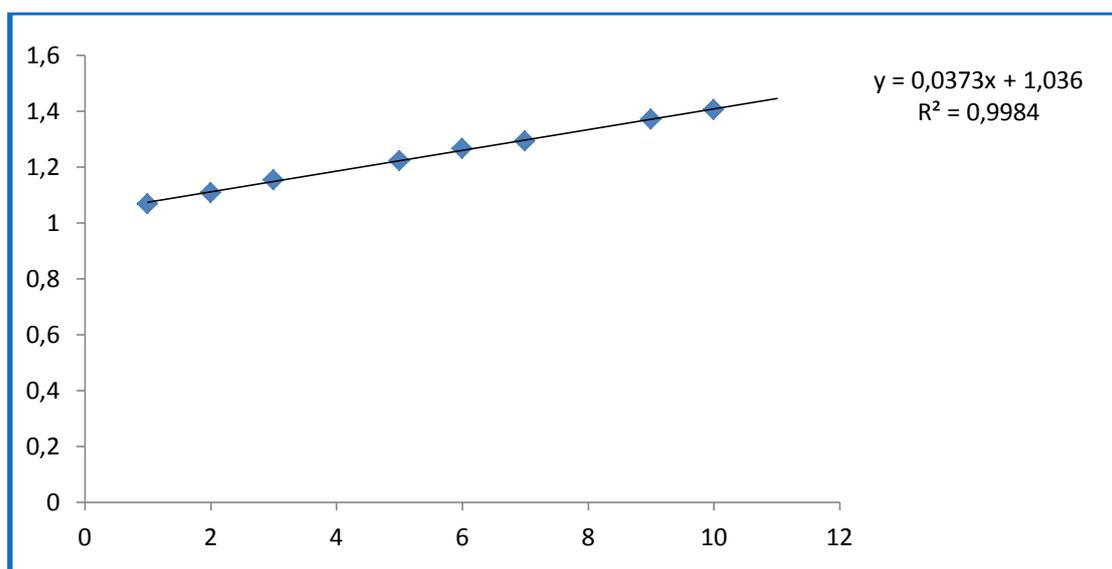
Une gamme étalon a été préparée à partir d'une solution de BSA à 0.1% un volume de 3ml de réactif de Bradford est ajoutée dans chaque tube. La lecture des DO se fait à  $\lambda=595\text{nm}$ . La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine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

### ▪ Mode opératoire

- On met 100 µl de sérum dans un tube puis on ajoute 3 ml du réactif de Bradford
- Les tubes sont incubés pendant 10 minutes à T° ambiant
- La densité optique est mesurée au spectrophotomètre à 595 nm.

### ▪ Calcul de la concentration des protéines

La concentration des protéines dans les échantillons est déterminée par comparaison aux valeurs obtenues pour une courbe standard réalisée en parallèle.



**Figure 10:** Courbe d'étalonnage des protéines totales

### II-2-2-3-Dosage de malondialdéhyde (MDA)

#### ▪ Principe

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532 nm (Bradamante *et al.*, 2008).

#### ▪ Mode opératoire

- On met 500 µl de sérum dans un tube puis on ajoute 1000 µl du réactif de TCA et 1000 µl de TBA
- Les tubes sont incubés pendant une heure à 90°C

- Les tubes sont dans un bain d'eau froide puis Centrifuger à 5000 tours/minutes pendant 10 minutes
- La densité optique est mesurée au spectrophotomètre à 532 nm.
  - **Calcul de la concentration plasmique de malondialdéhyde**

Selon la loi de beer lamber  $D = \epsilon l c$

$$C = D / \epsilon l$$

- A : absorbance

-  $\epsilon$ : le coefficient d'absorption molaire en  $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

- l : la largeur de cuve en cm

- c : la concentration de la solution en mol/L

### II-3-Analyse statistique

Pour la comparaison des résultats, on utilise le test non paramétrique de Mann-Whitney et le test de corrélation pour tous les paramètres dans tous les maladies, à l'aide des logiciels MINITAB 17 et Microsoft Excel avec une valeur de  $\alpha = 0.05$ .

Pour vérifier la significativités des corrélations entre 2 facteurs nous avons utilisé le test d'indépendance, en estimant la valeur  $t$  de discision :  $t = \frac{r}{\sqrt{1-r^2}} \sqrt{n-2}$  et en cherchant le risque correspondant dans la table de  $t$  de student à ddl-2 ( $n \geq 10$ ) ou bien la table de  $p_s$  de Spreaman ( $n \leq 10$ ) au seuil de risque  $\alpha = 0.05$ .

# Résultats

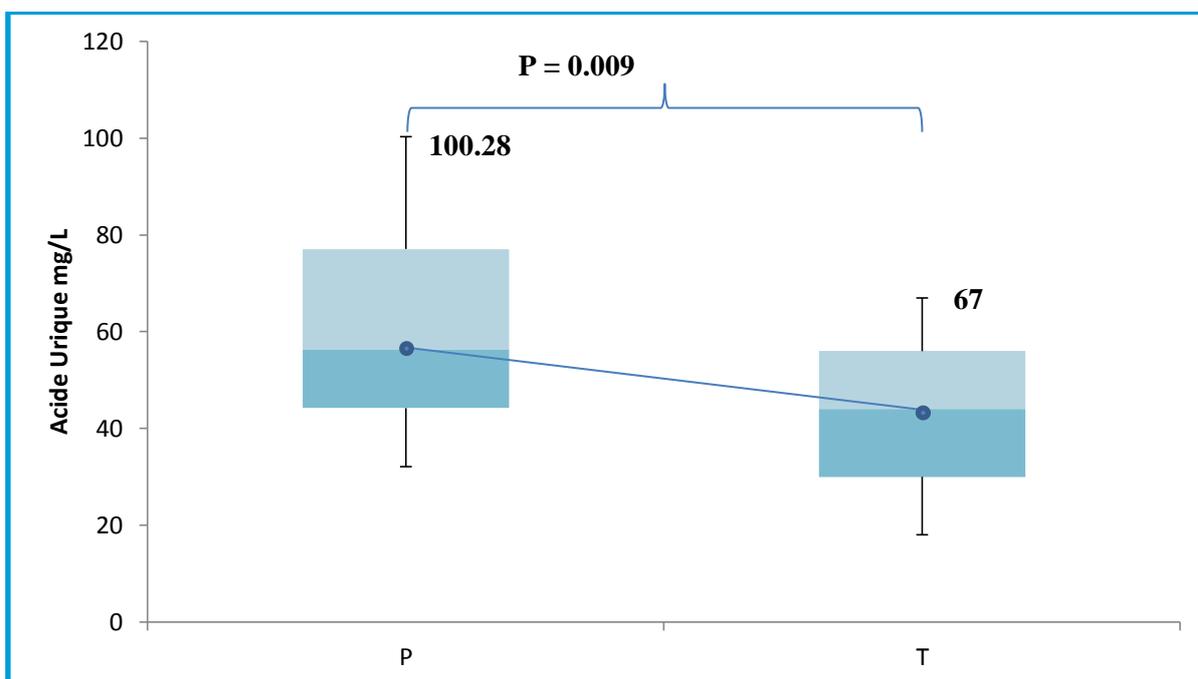
## Résultat

### I-Dosage de l'acide urique

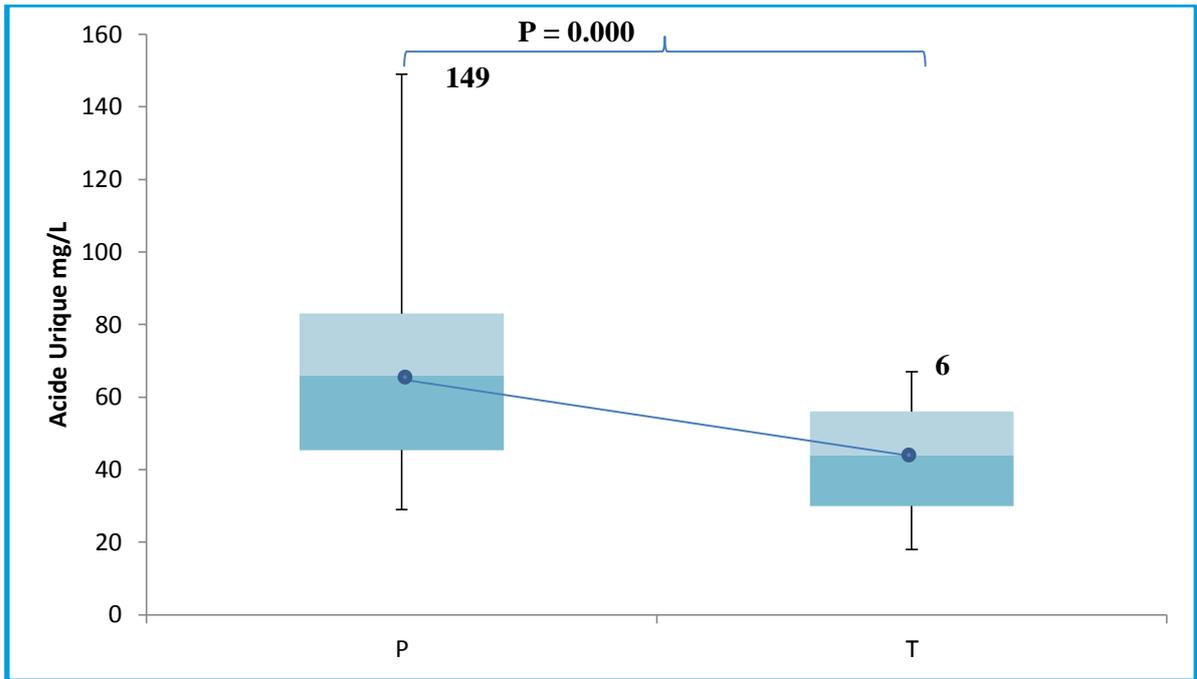
Nos résultats montrent la présence d'une différence significative dans les taux plasmatiques de l'acide urique entre les témoins et les patients atteints de l'HTA ( $P = 0.0009$ ) ainsi que ceux atteints de cardiopathies ( $P = 0.0000$ ).

Par contre, aucune différence significative n'a été observée dans le taux plasmatique de l'AU entre les témoins et les patients atteints de diabète type 1 ( $P = 0.843$ ), de diabète type 2 ( $P = 0.269$ ), de l'AVC ( $P = 0.0696$ ), de l'asthme ( $P = 0.8825$ ), de BPCO ( $P = 0.4761$ ) et de l'HCV ( $P = 0.6502$ ).

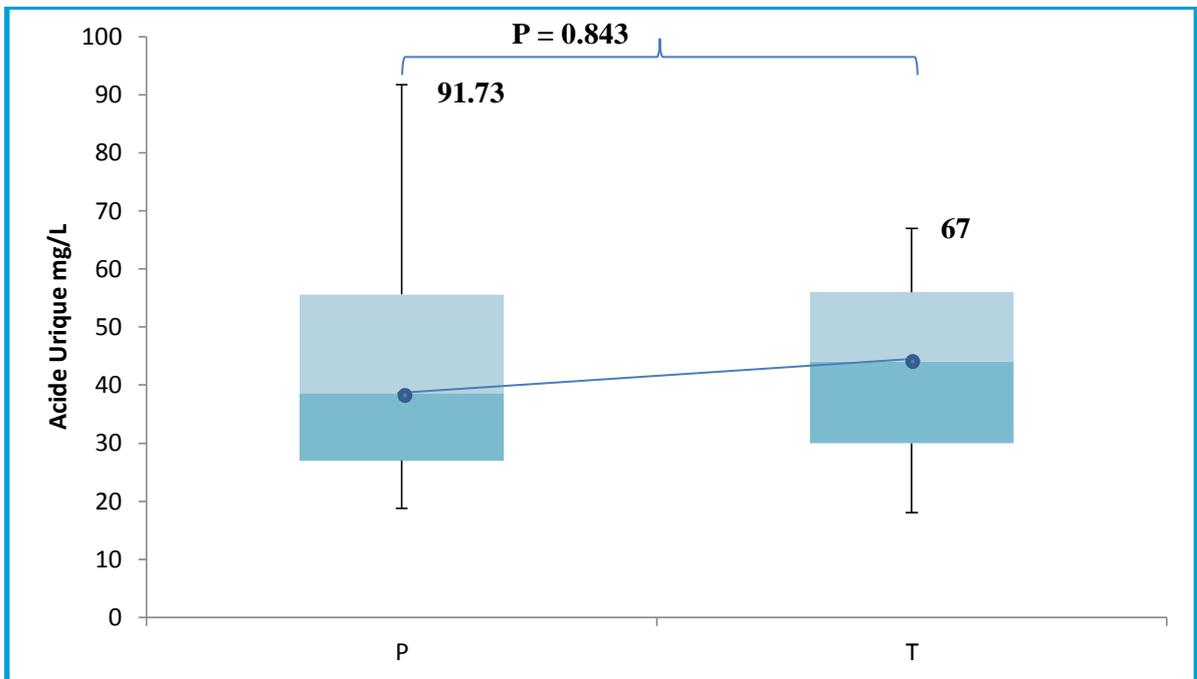
Par ailleurs, dans le cas de l'association entre plusieurs maladies une différence significative a été observée entre les témoins et les malades atteints de diabète-cardiopathies ( $P = 0.0015$ ), de diabète -cardiopathies-HTA ( $P = 0.0042$ ) et de HTA-Asthme ( $P = 0.0022$ ), contrairement aux associations diabète-HTA ( $P = 0.211$ ) et HTA-cardiopathies ( $P = 0.5460$ ) où aucune différence significative n'a été observée.



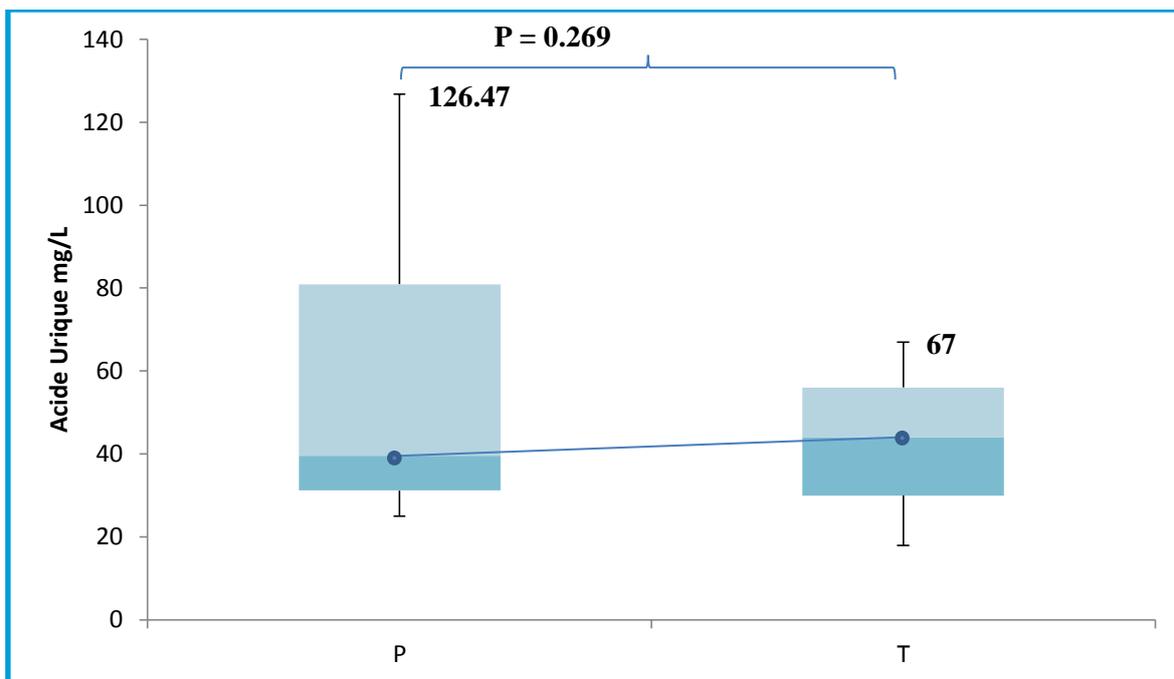
**Figure 11 :** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de l'HTA et des témoins



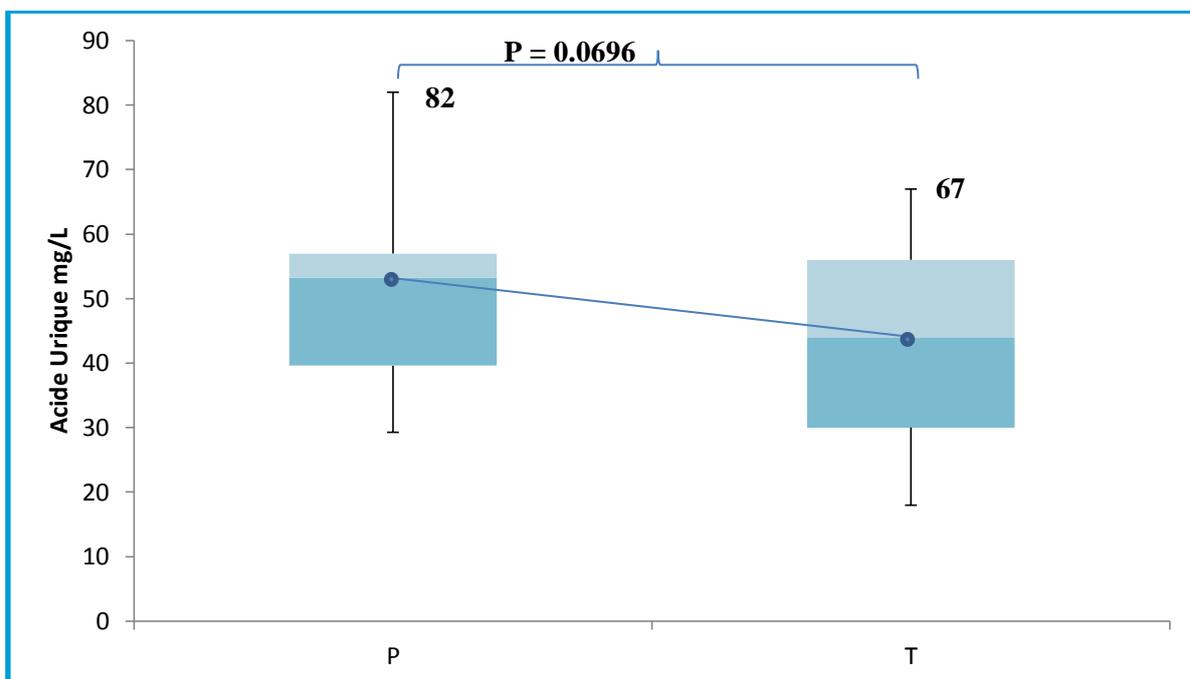
**Figure 12 :** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints des cardiopathies et des témoins



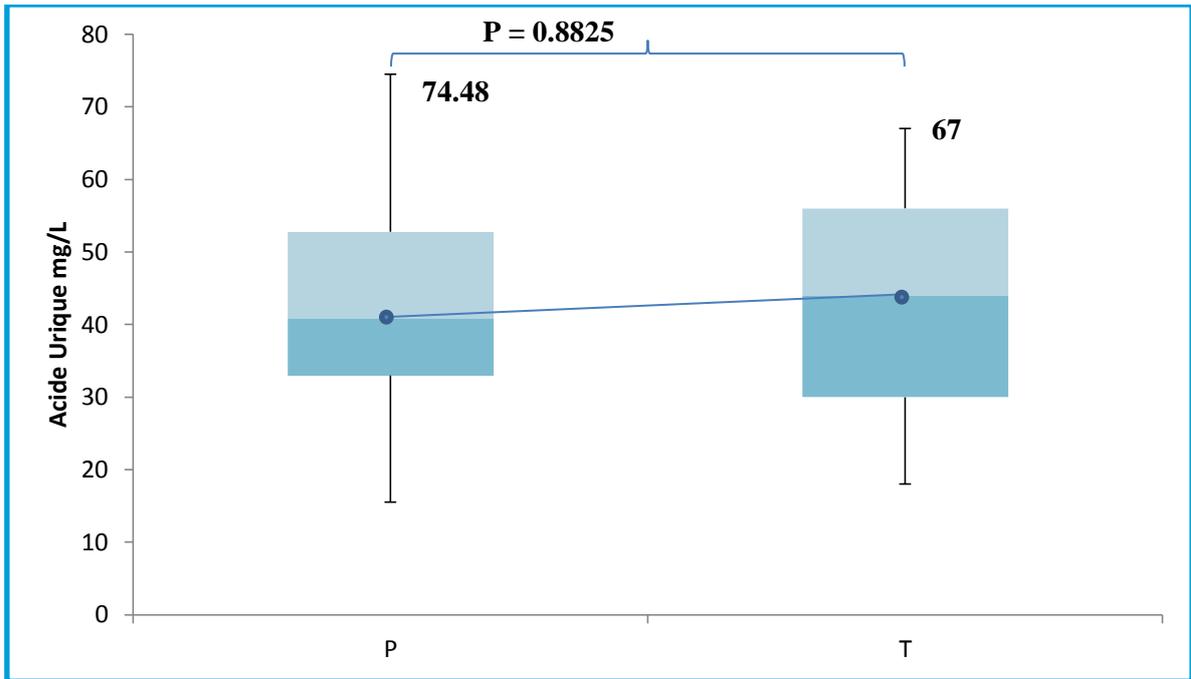
**Figure 13 :** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de diabète type 1 et des témoins



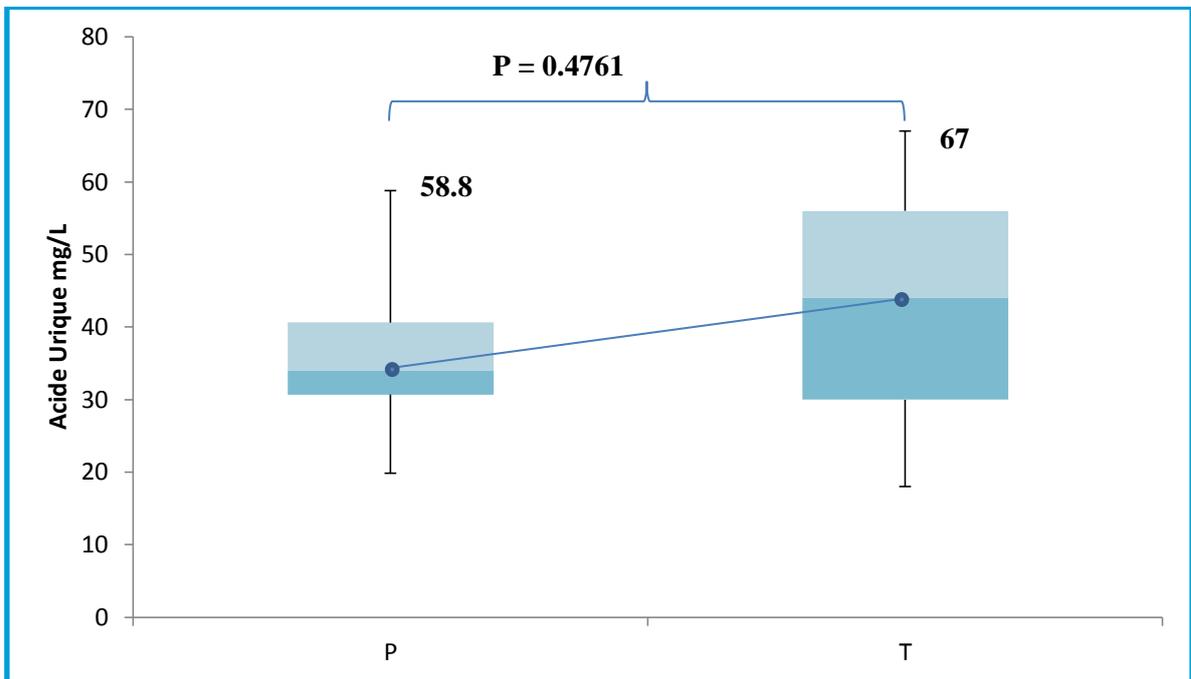
**Figure 14 :** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de diabète type 2 et des témoins



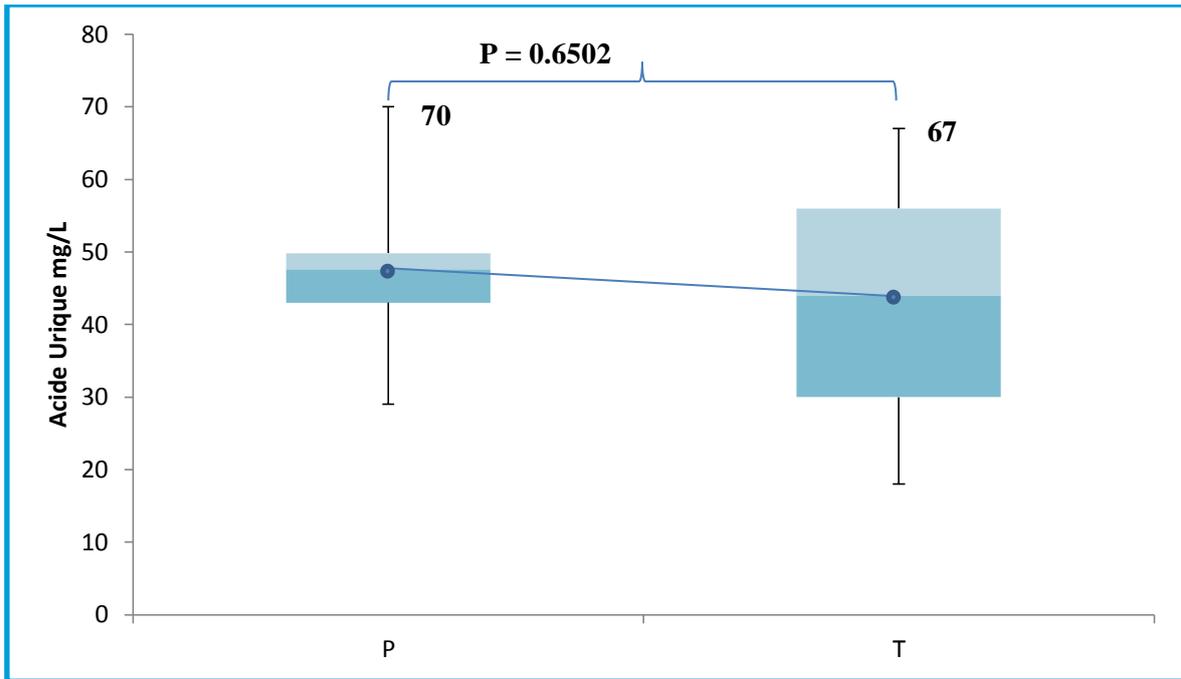
**Figure 15 :** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de l'AVC et des témoins



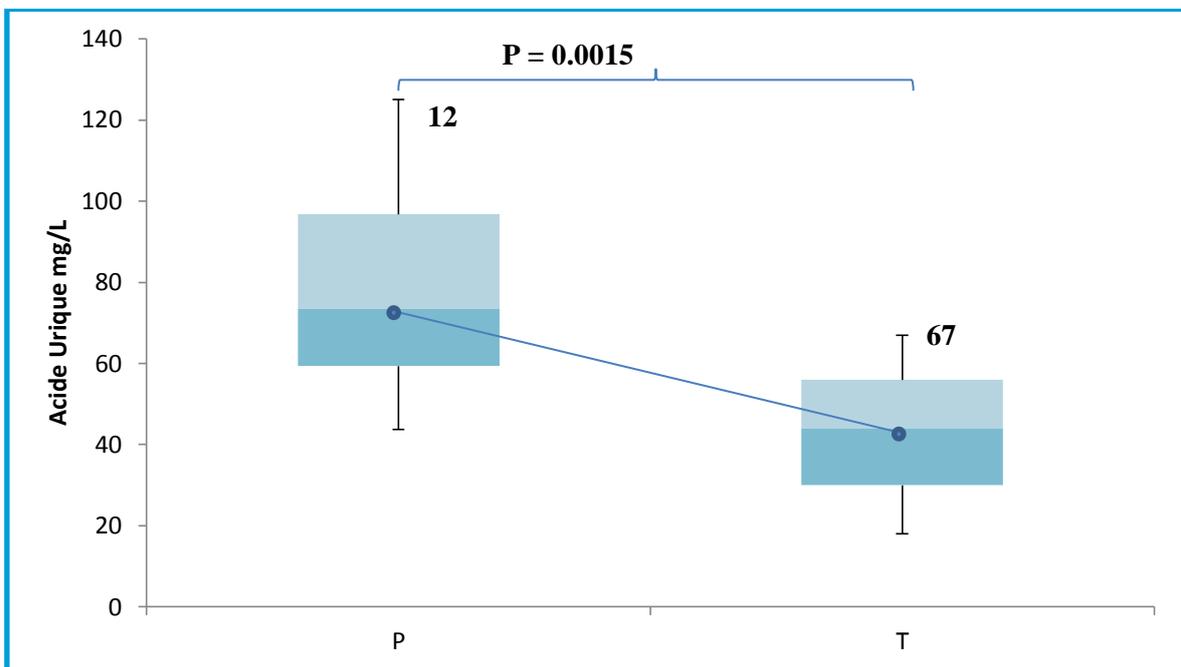
**Figure 16:** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de l'asthme et des témoins



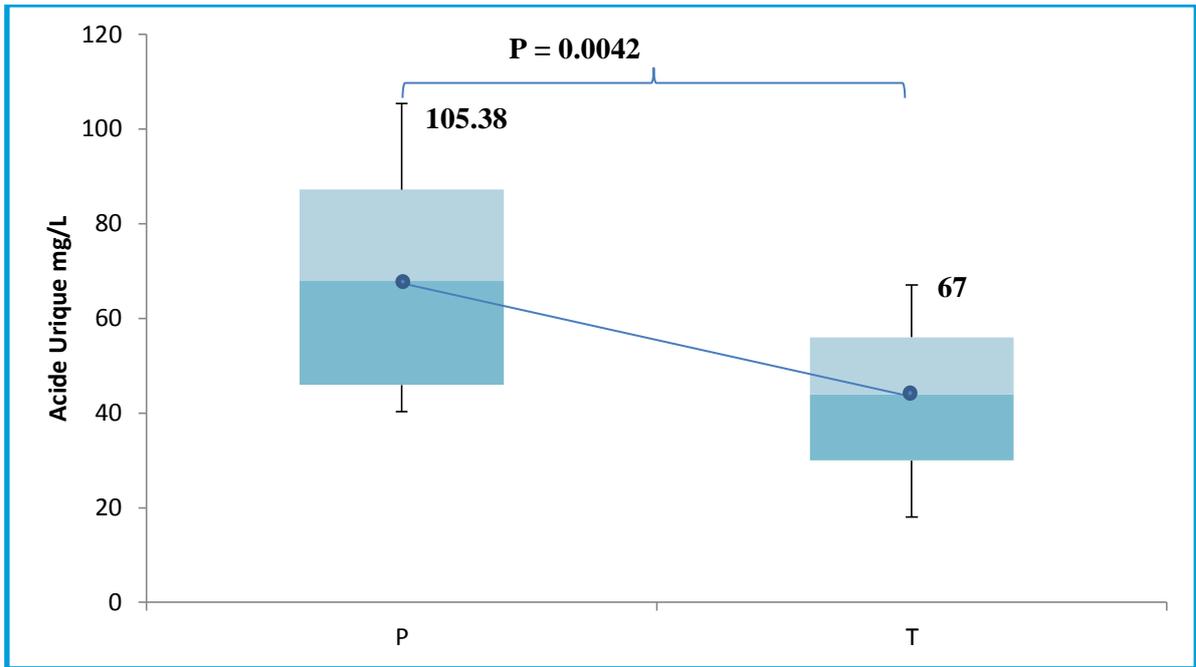
**Figure 17:** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de BPCO et des témoins



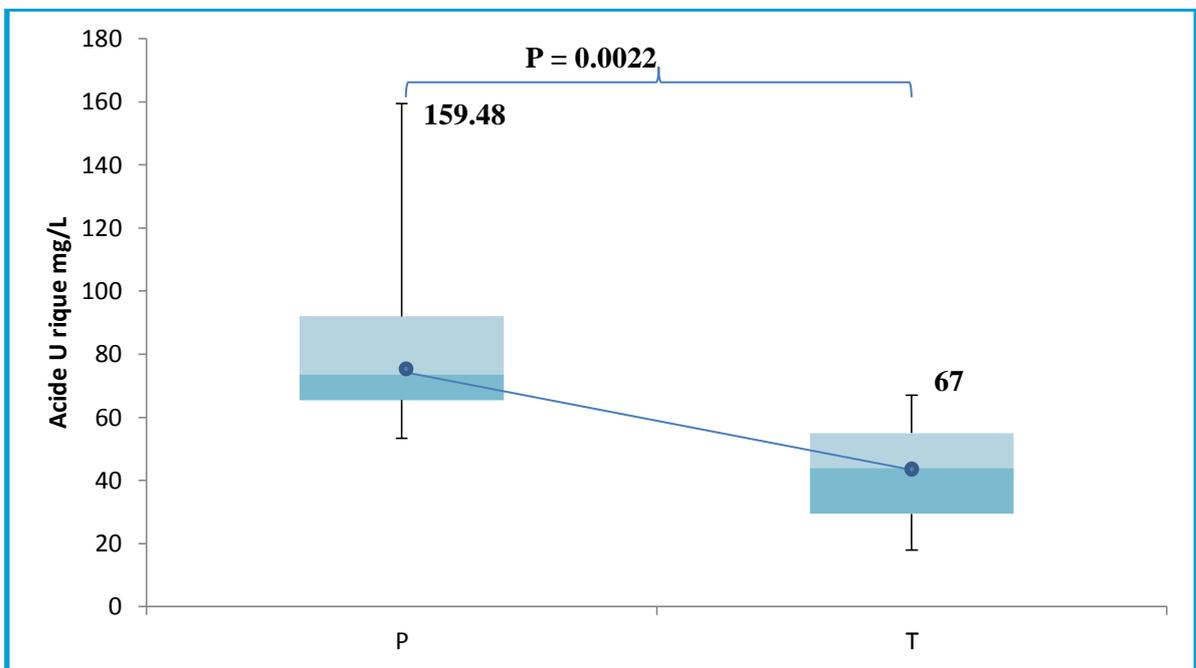
**Figure 18:** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de l'HCV et des témoins



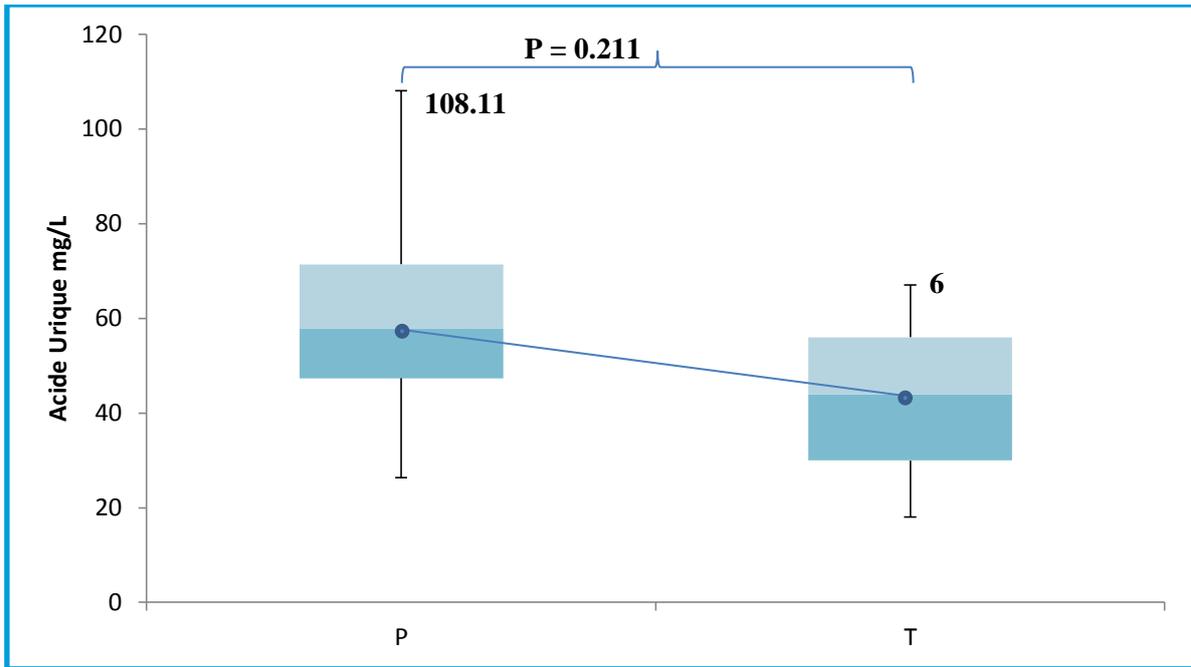
**Figure 19:** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de diabète-cardiopathies et des témoins



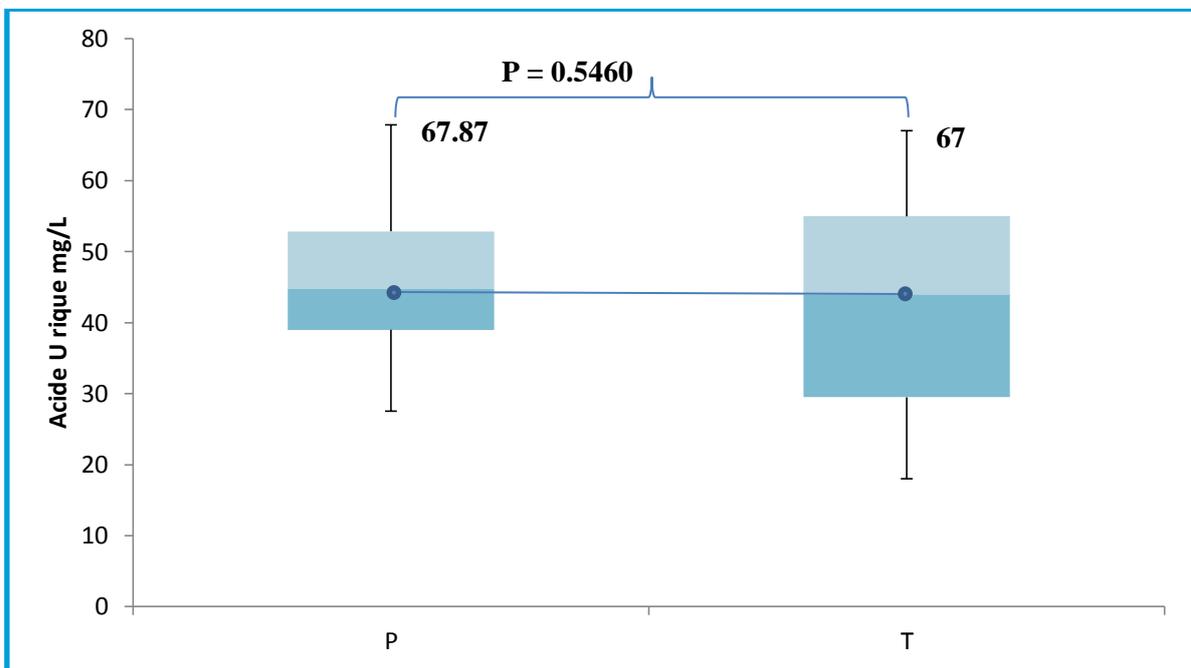
**Figure 20:** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins



**Figure 21:** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de HTA-Asthme et des témoins



**Figure 22:** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de diabète-HTA et des témoins

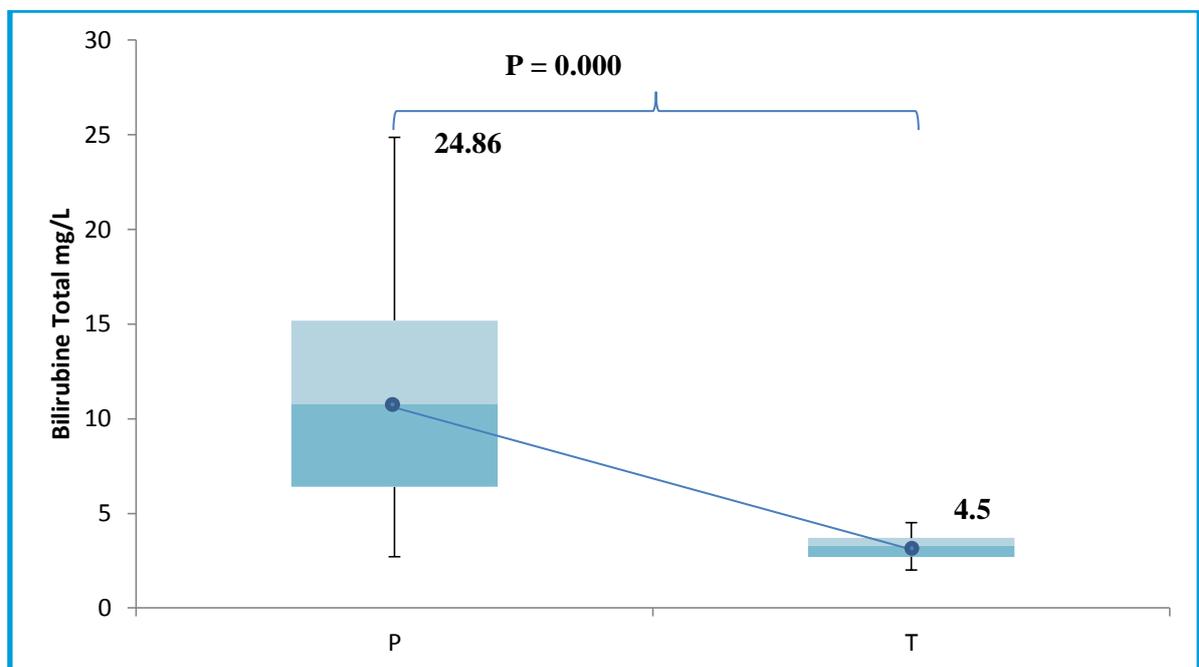


**Figure 23:** Variation du taux de l'acide urique des patients atteints de HTA-cardiopathies et des témoins

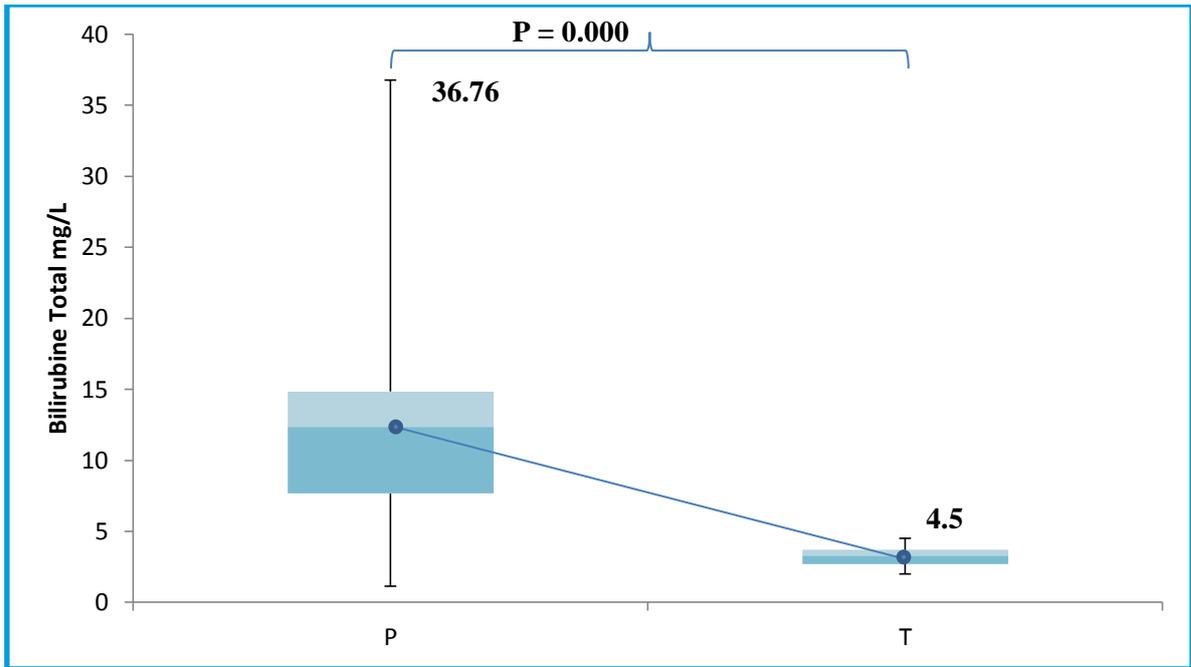
## II-Dosage de la bilirubine totale

Nos résultats montrent la présence d'une augmentation significative dans le taux de la bilirubine totale entre les témoins et les patients atteints de diabète type 1 ( $P= 0.000$ ), de cardiopathies ( $P= 0.000$ ), d'HTA ( $P= 0.000$ ), d'AVC ( $P= 0.000$ ) et d'asthme ( $P= 0.000$ ), ainsi que les patients atteints de diabète type 2 ( $P= 0.003$ ), de BPCO ( $P=0.0016$ ) et d'HCV ( $P= 0.0004$ ).

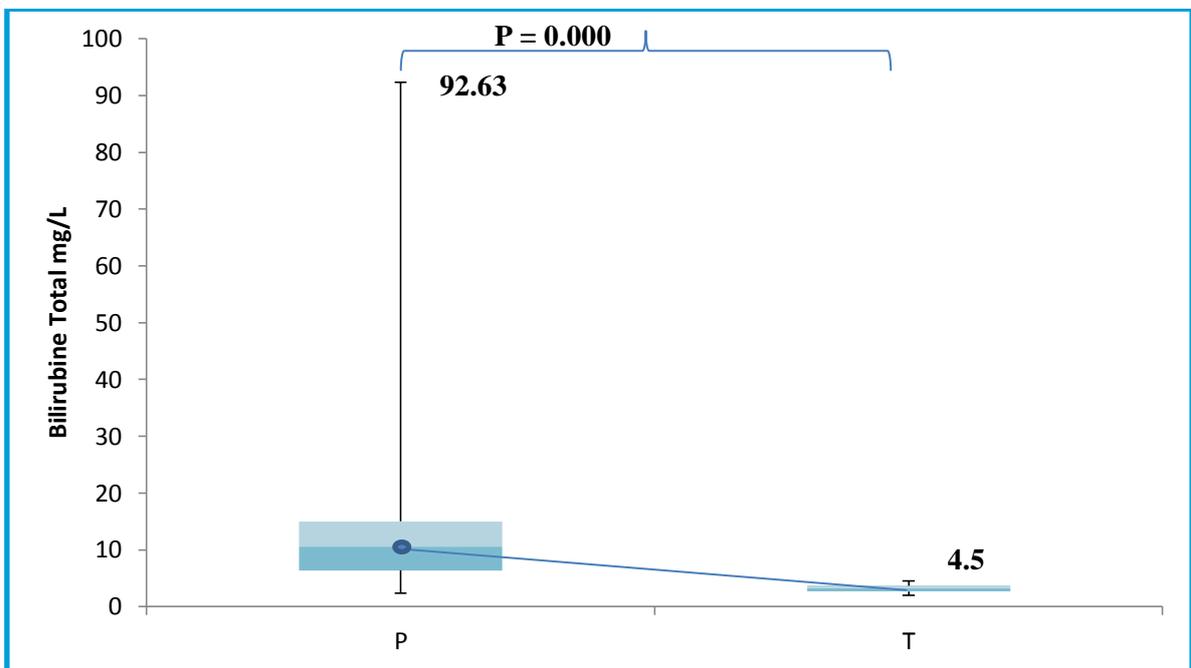
Même dans les cas des associations une augmentation significative a été observée entre les témoins et les patients atteints de diabète-HTA ( $P = 0.000$ ), de diabète-cardiopathies ( $P = 0.000$ ), de diabète-cardiopathies-HTA ( $P = 0.000$ ), d'HTA-cardiopathies ( $P = 0.000$ ) et d'HTA-Asthme ( $P = 0.0004$ ).



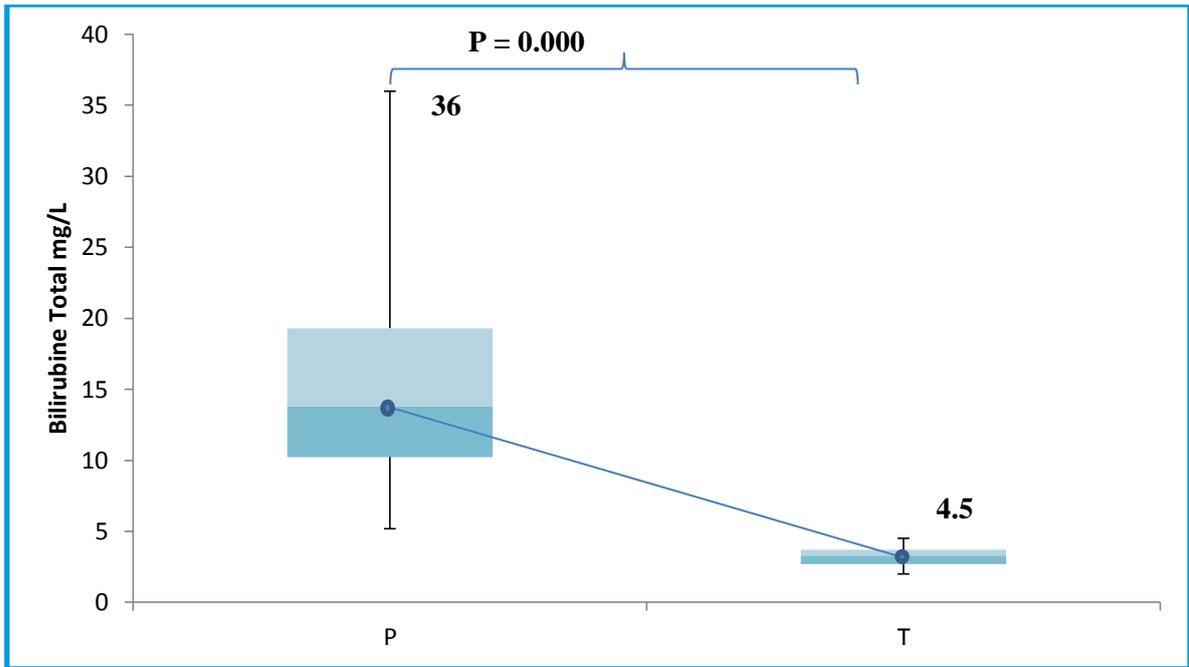
**Figure 24:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète type 1 et des témoins



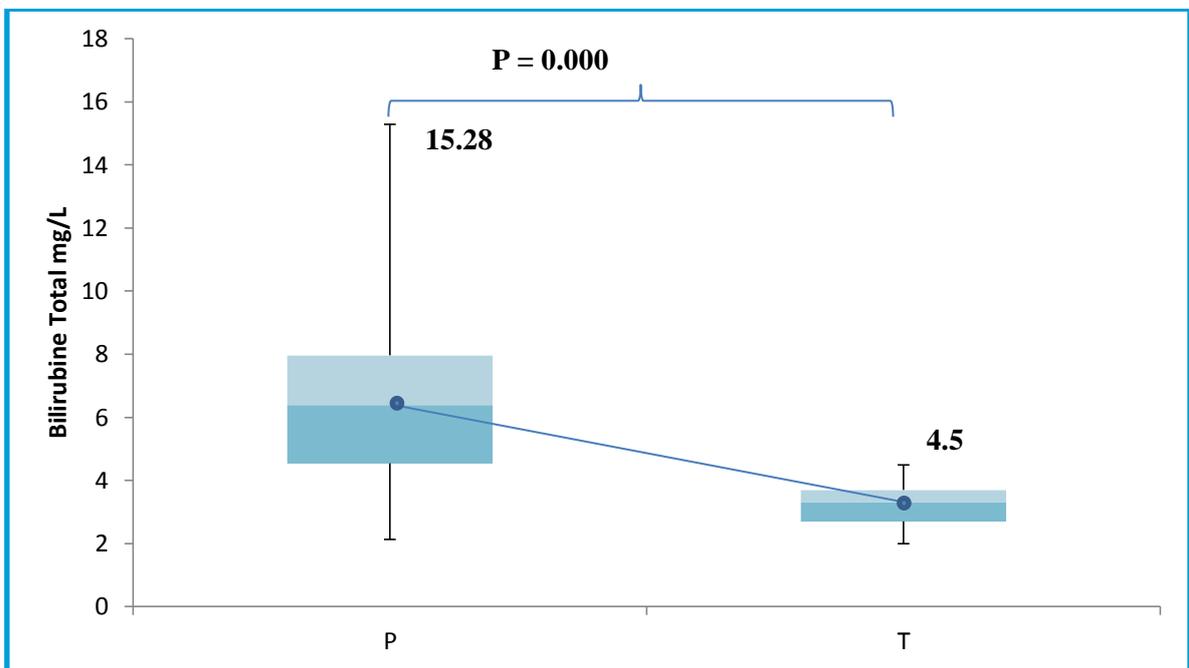
**Figure 25:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints des cardiopathies et des témoins



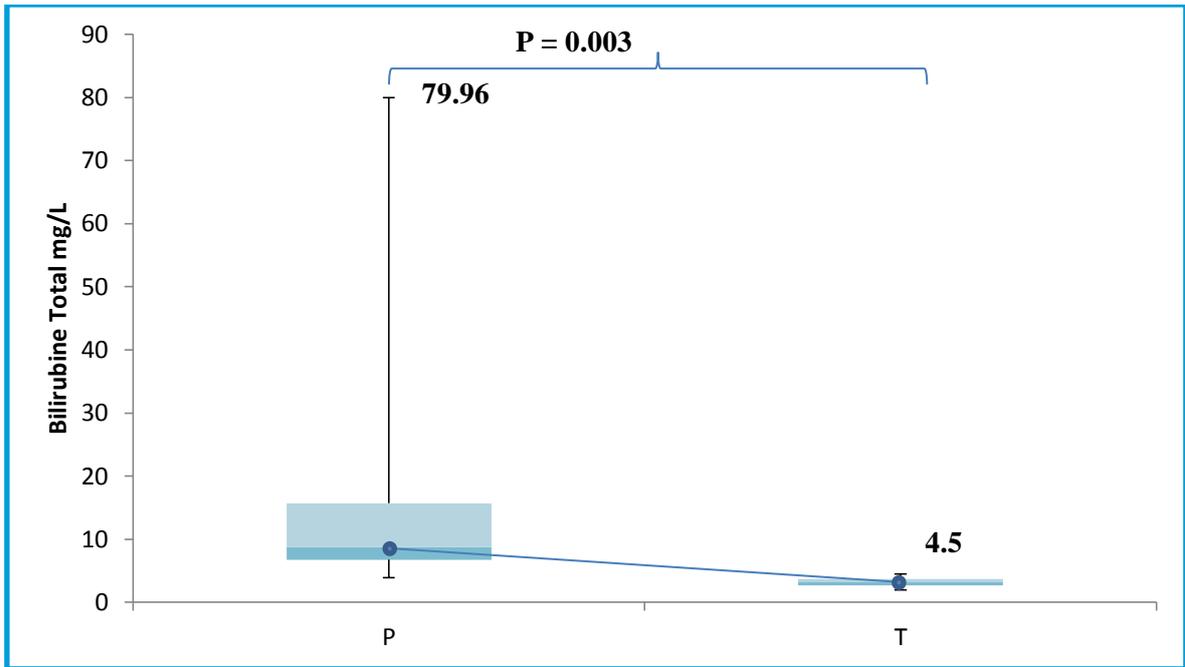
**Figure 26:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de HTA et des témoins



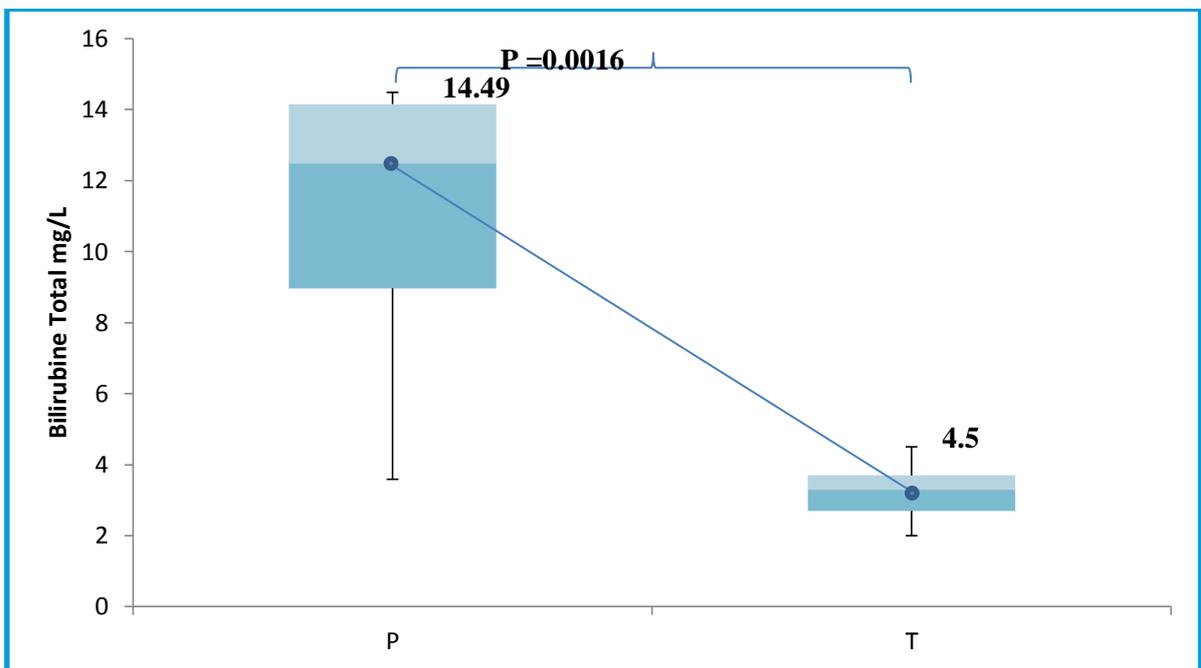
**Figure 27:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de l'AVC et des témoins



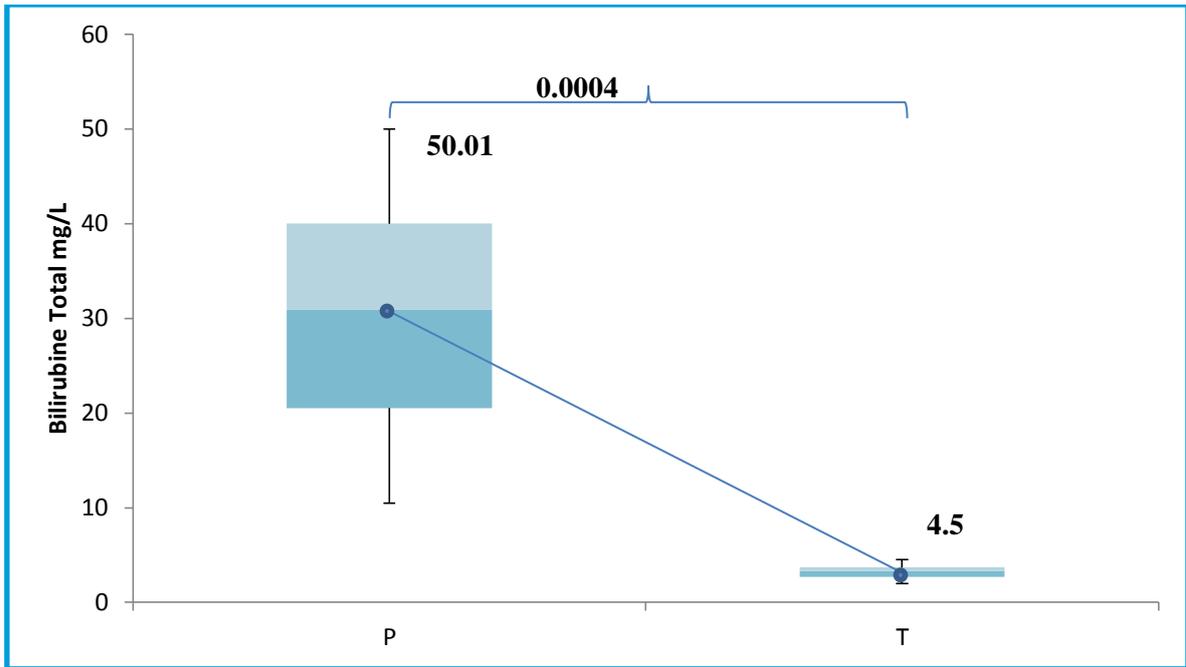
**Figure 28:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de l'asthme et des témoins



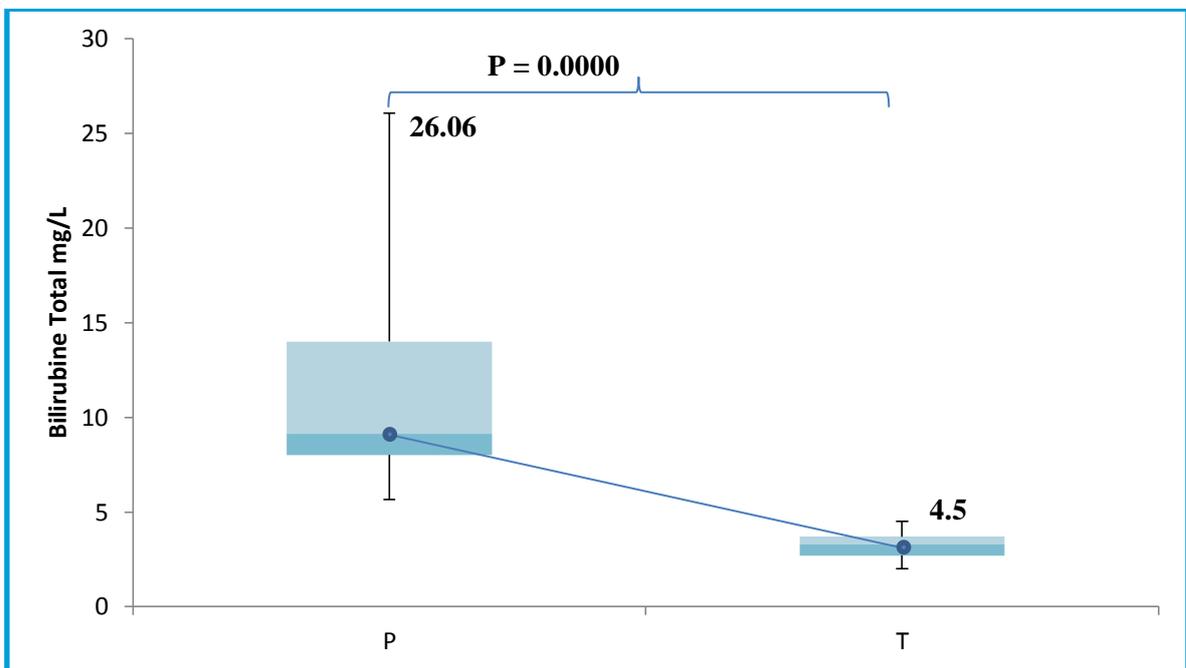
**Figure 29:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète type 2 et des témoins



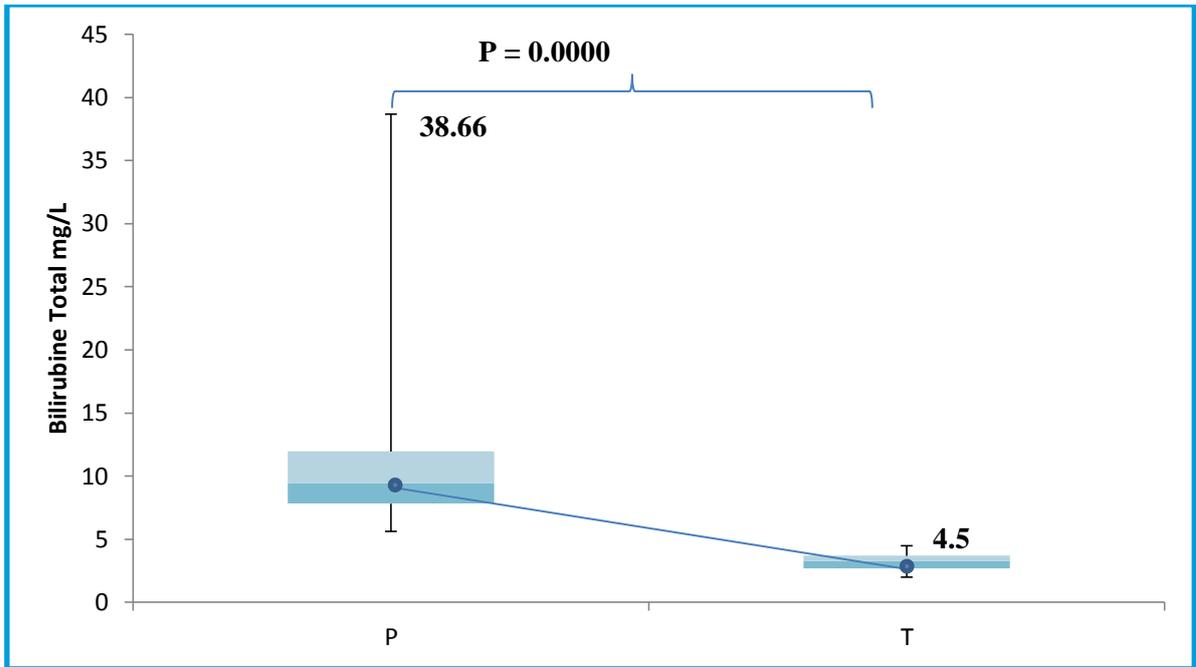
**Figure 30:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de BPCO et des témoins



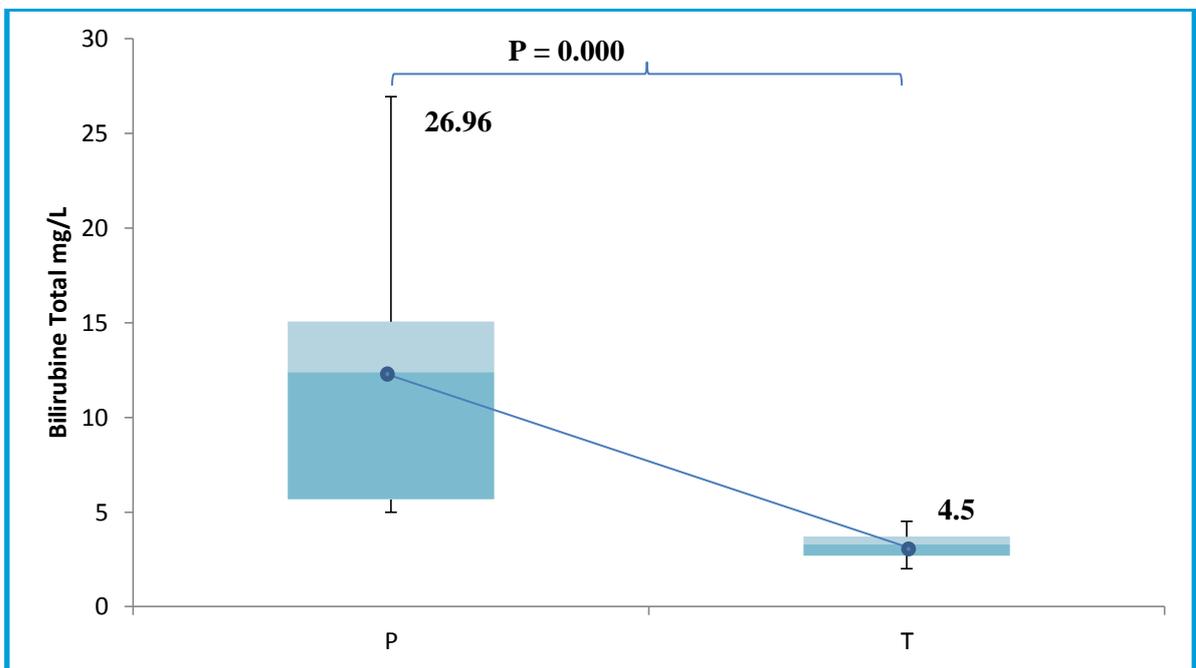
**Figure 31:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de l'HCV et des témoins



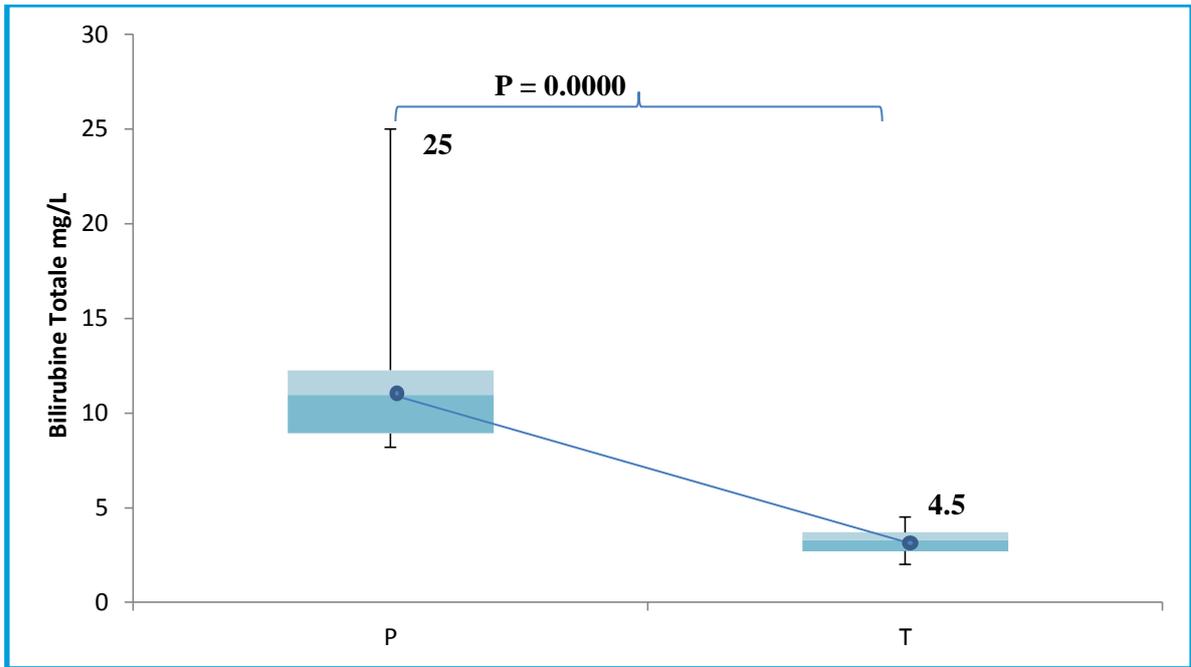
**Figure 32:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète-HTA et des témoins



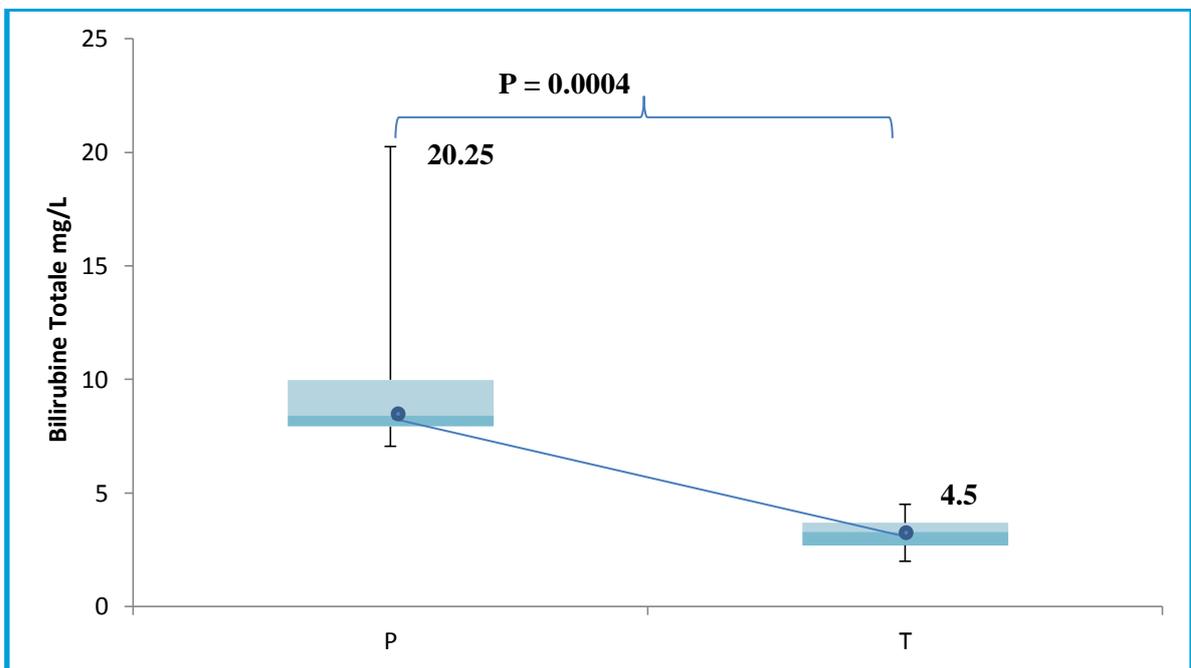
**Figure 33:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète-cardiopathies et des témoins



**Figure 34:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins



**Figure 35:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de HTA-cardiopathies et des témoins

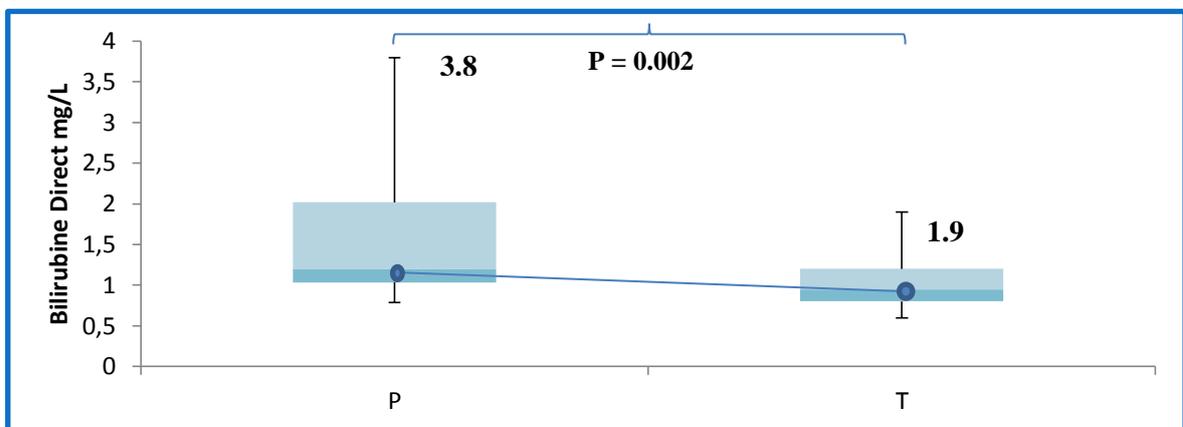


**Figure 36:** Variation du taux de la bilirubine totale des patients atteints de HTA-Asthme et des témoins

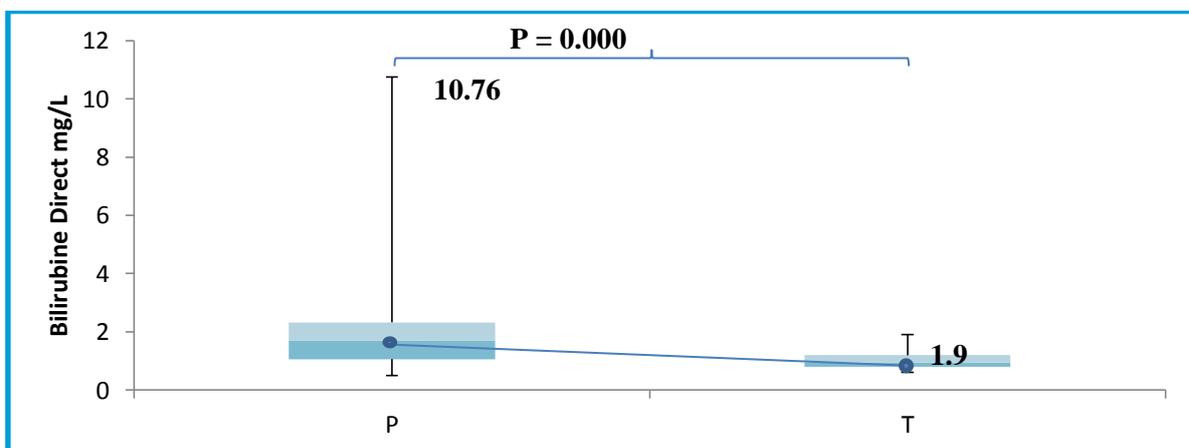
## III-Dosage de la bilirubine directe

Nos résultats montrant la présence d'une différence significative dans le taux de la bilirubine directe entre les témoins et les patients atteints de diabète type 2 ( $P= 0.002$ ), de cardiopathies ( $P= 0.000$ ), d'AVC ( $P= 0.000$ ) et d'HCV ( $P= 0.0004$ ). Par contre aucune différence significative a été observé pour les malades atteintes de diabète type 1 ( $P=0.057$ ), d'HTA ( $P= 0.159$ ), d'asthme ( $P= 0.330$ ) et de BPCO ( $P= 0.1420$ ).

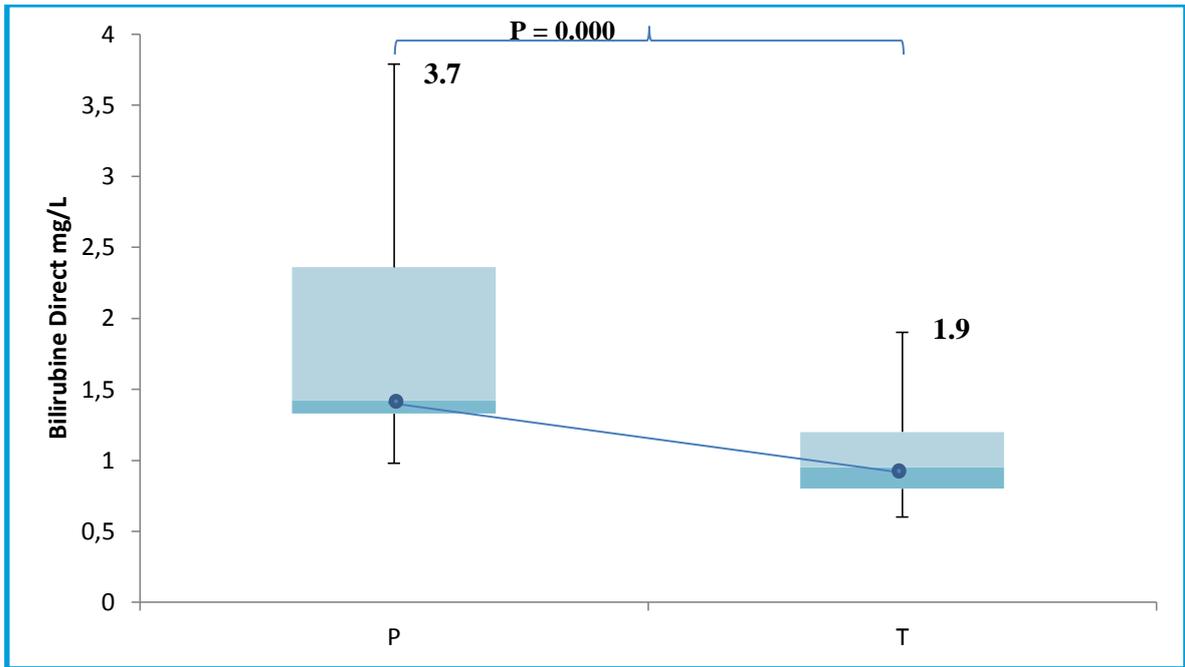
Dans les cas des associations une augmentation significative a été observée dans le taux de bilirubine directe entre les témoins et les patients atteints de diabète-cardiopathies ( $P=0.0003$ ), de diabète-cardiopathies-HTA ( $P= 0.0489$ ), d'HTA-cardiopathie ( $p= 0.0035$ ) par contre aucune augmentation significative n'a été observée dans le cas des patients atteints de diabète-HTA ( $P=0.1273$ ) et d'HTA-asthme ( $P= 0.3421$ ) en comparaison avec les témoins.



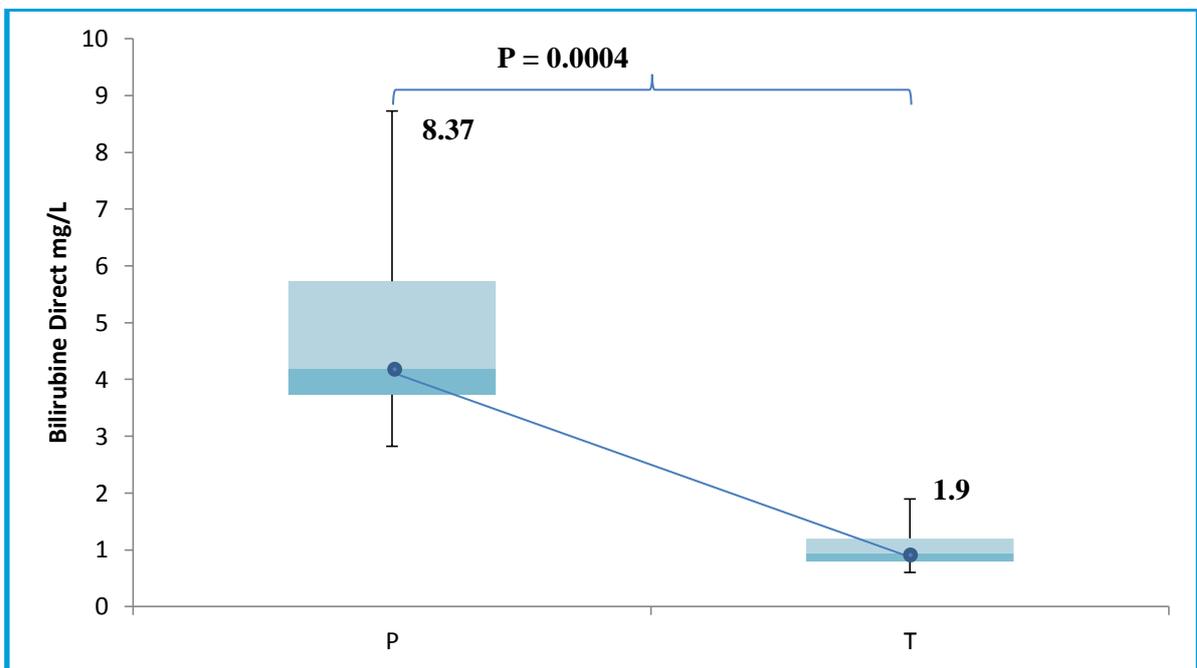
**Figure 37 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de diabète type 2 et des témoins



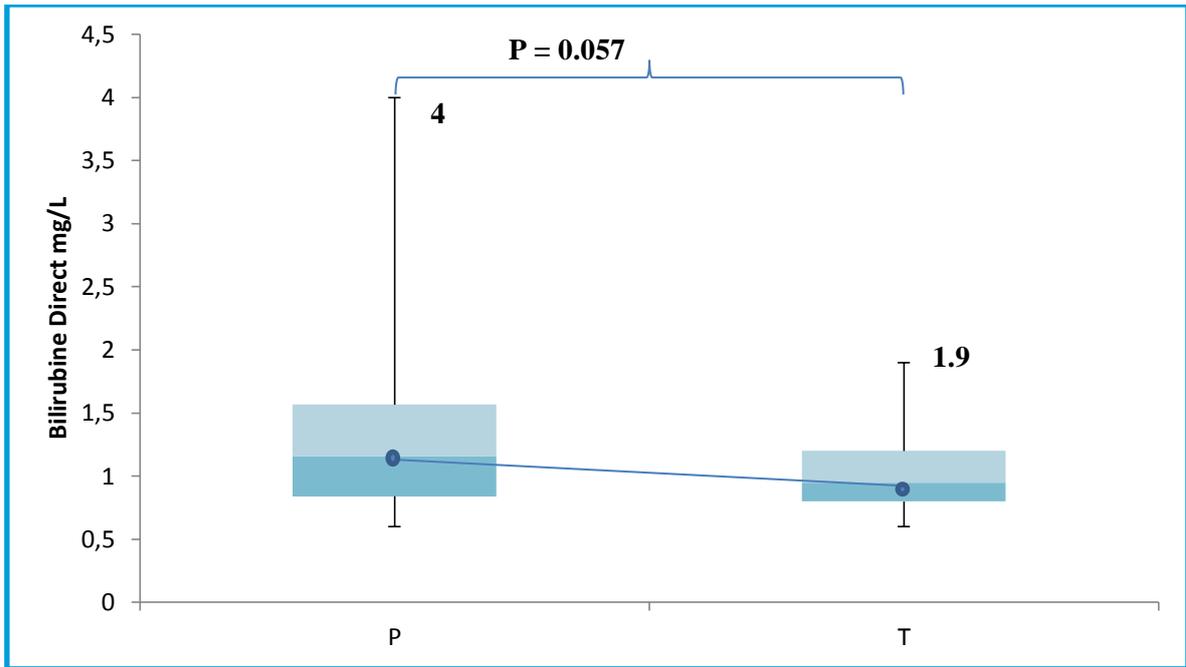
**Figure 38 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints des cardiopathies et des témoins



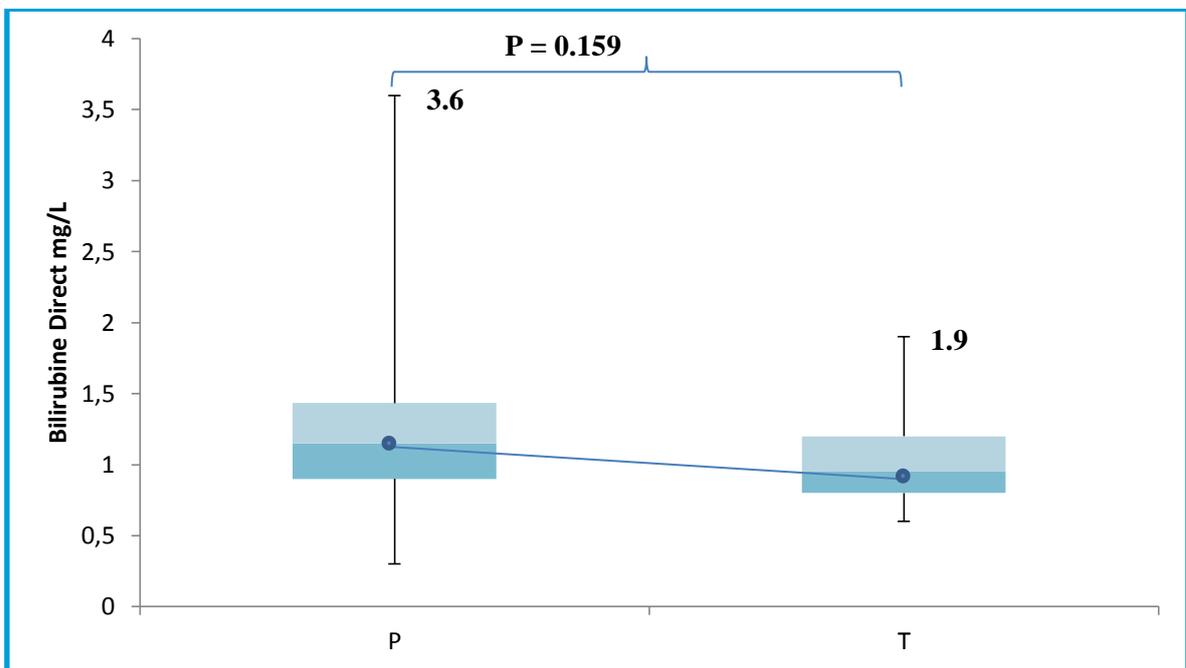
**Figure 39 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'AVC et des témoins



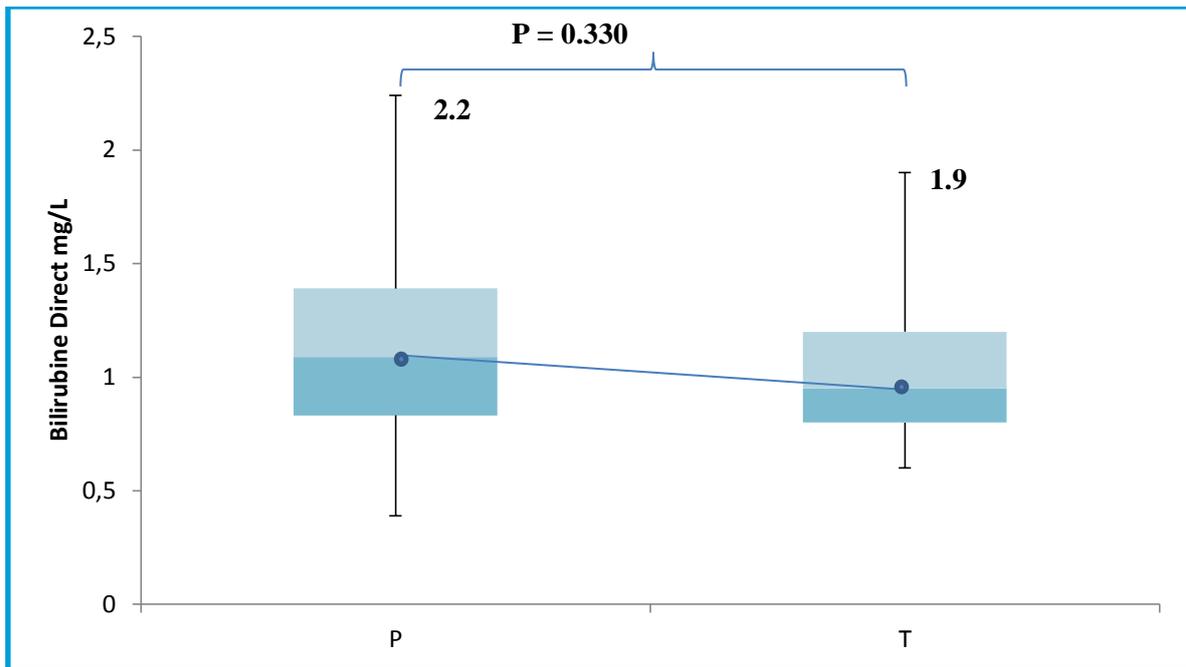
**Figure 40 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'HCV et des témoins



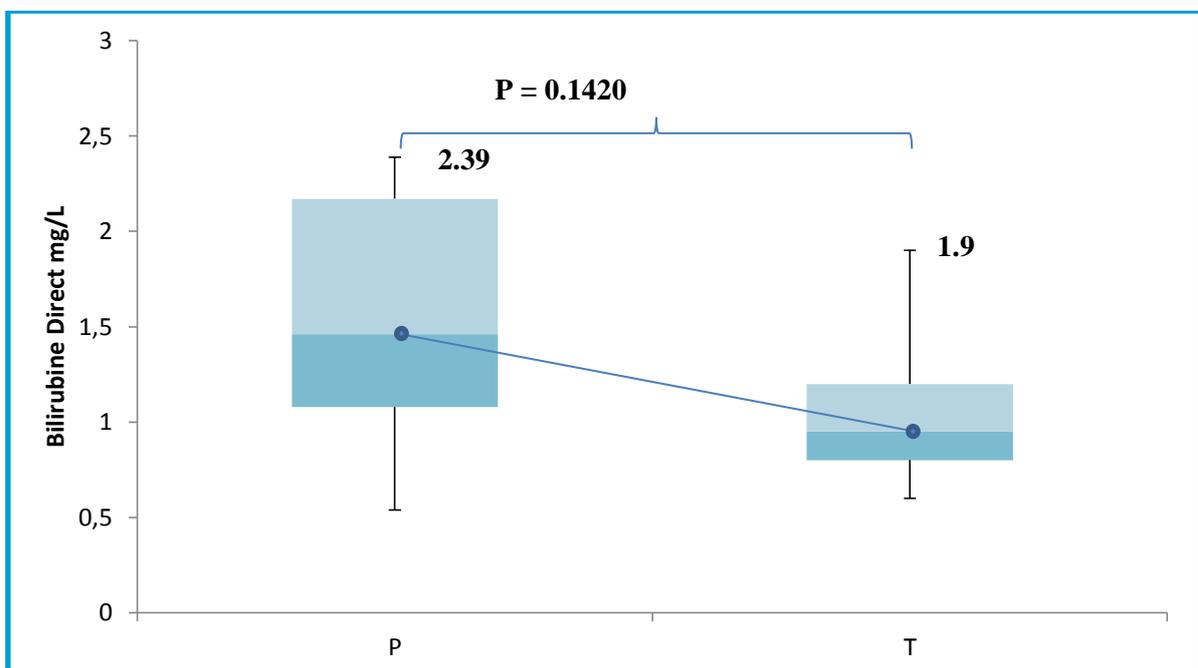
**Figure 41 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de diabète type 1 et des témoins



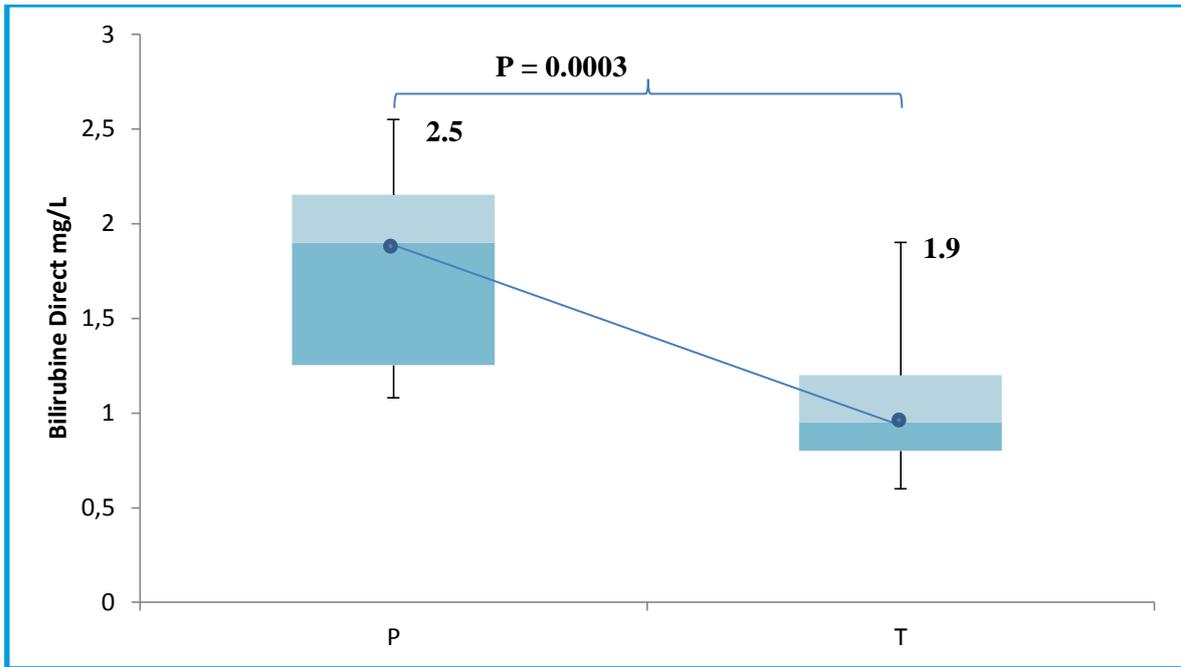
**Figure 42 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'HTA et des témoins



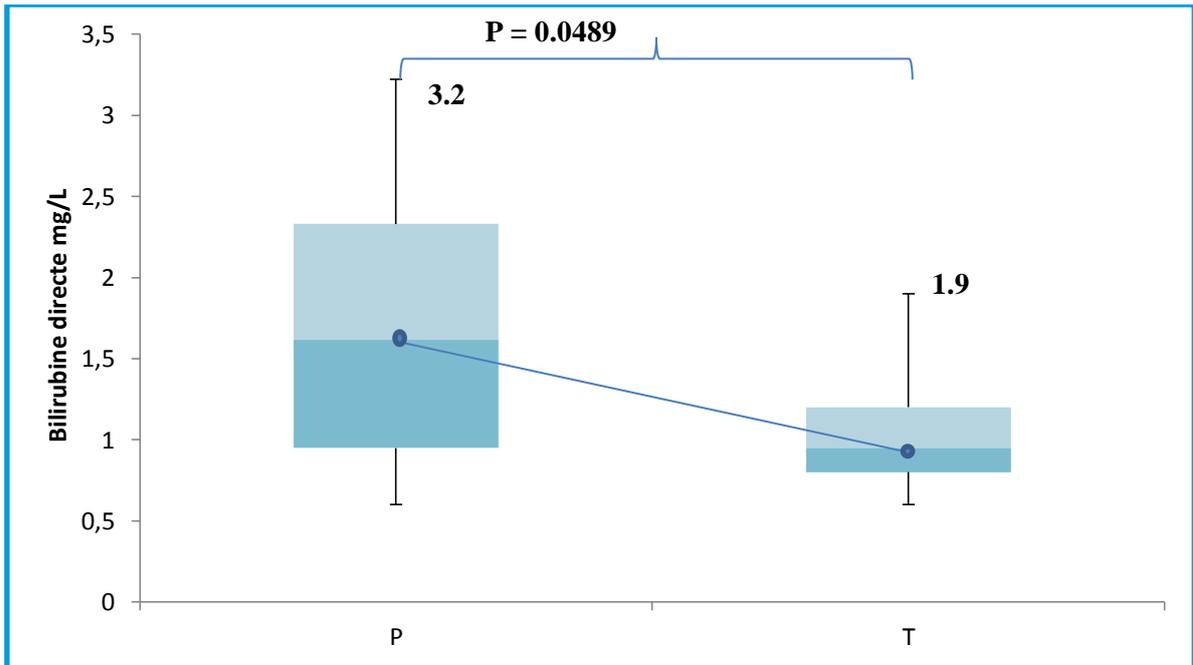
**Figure 43 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d'asthme et des témoins



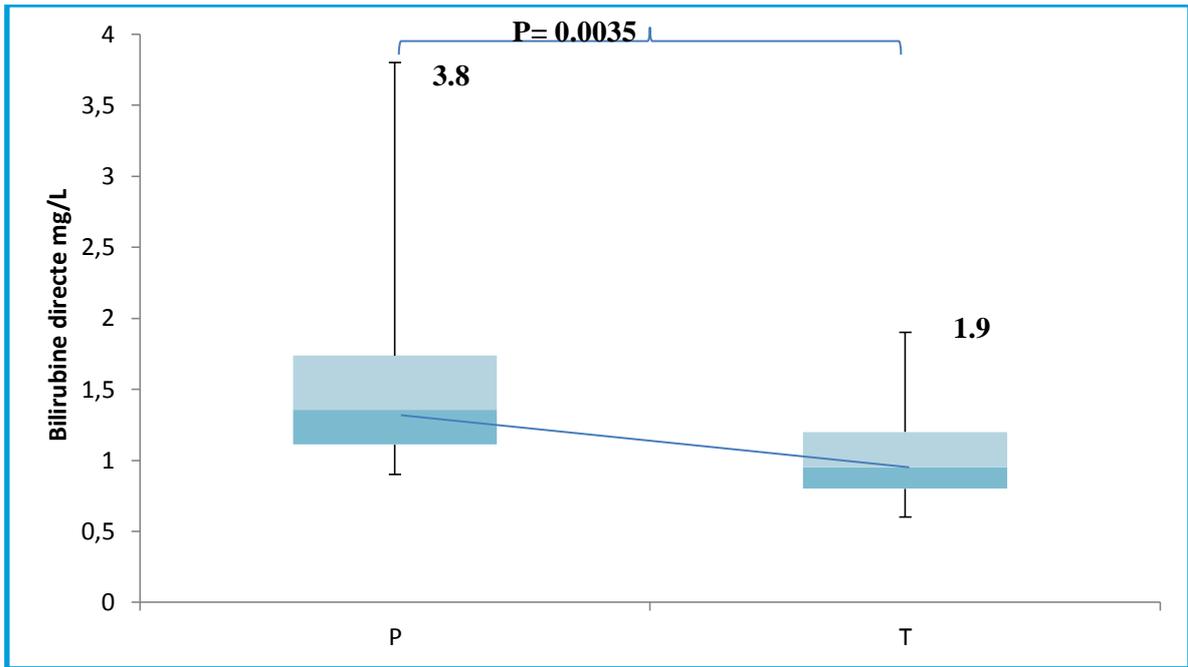
**Figure 44 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de BPCO et des témoins



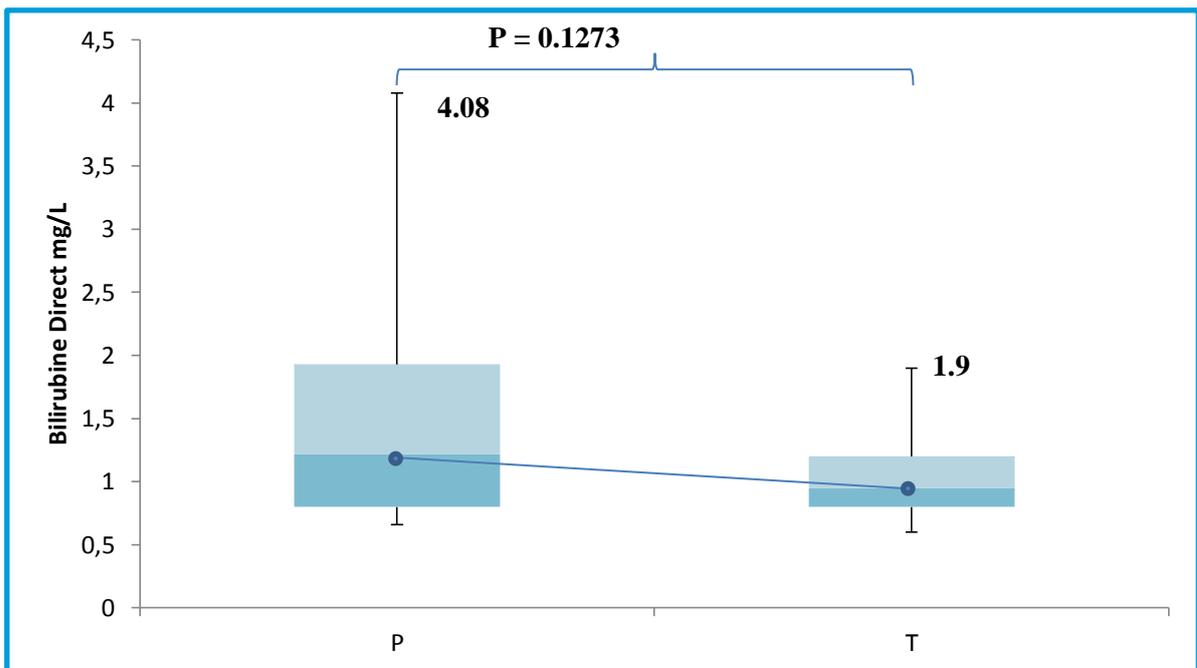
**Figure 45 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de diabète-cardiopathies et des témoins



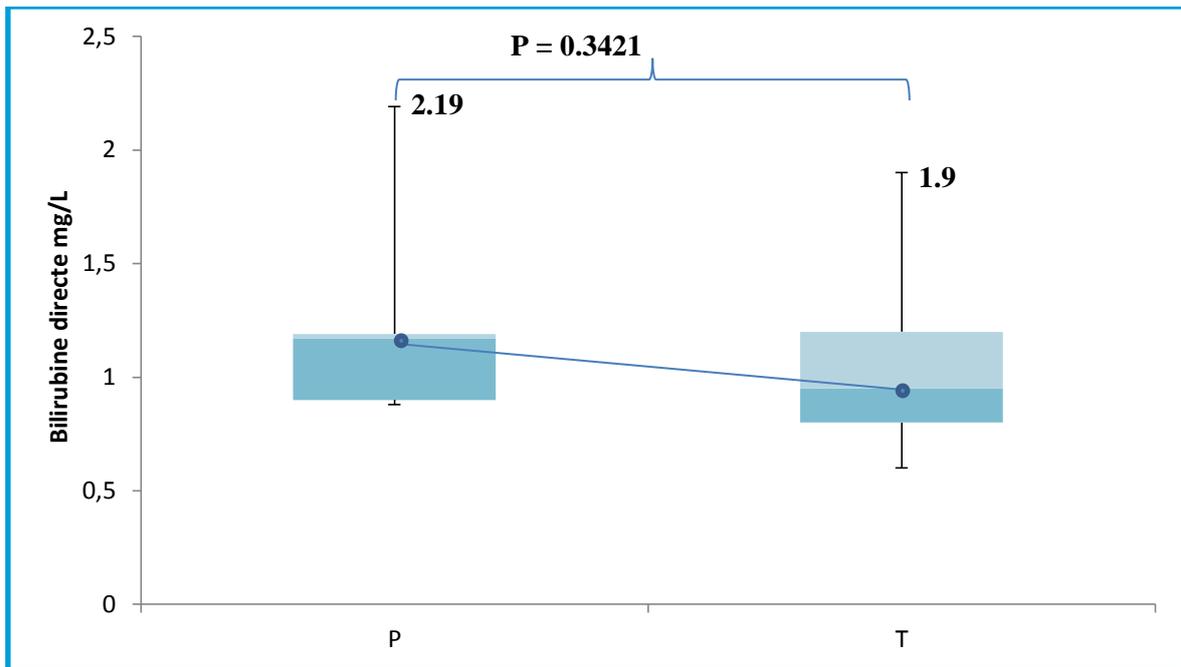
**Figure 46 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins



**Figure 47 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d’HTA-cardiopathies et des témoins



**Figure 48 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints de diabète-HTA et des témoins

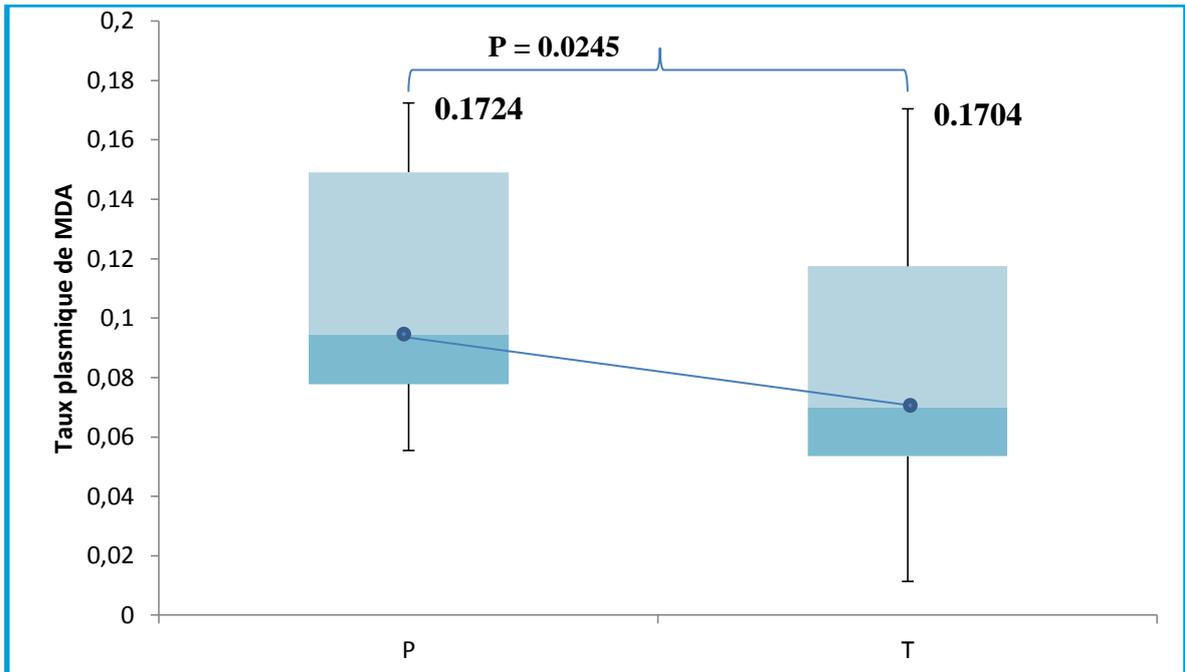


**Figure 49 :** Variation du taux de la bilirubine direct des patients atteints d’HTA-Asthme et des témoins

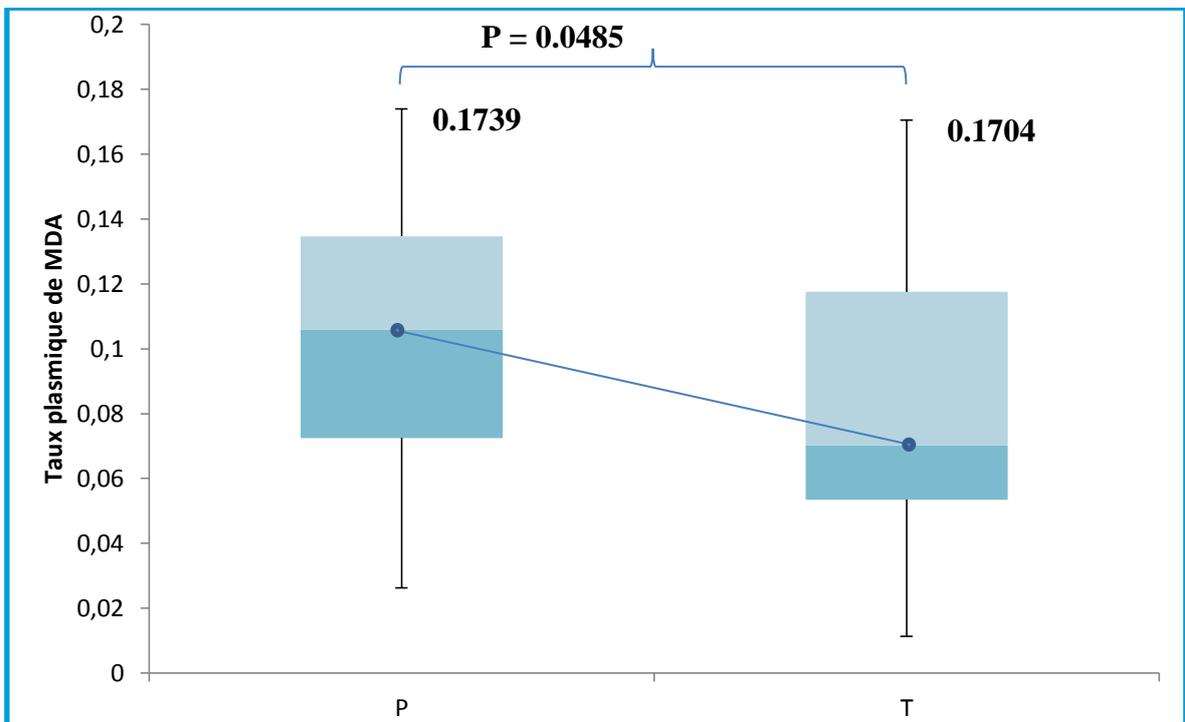
#### IV- Dosage malonyldialdéhyde :

Nos résultats du dosage de taux plasmiqme de l’MDA indiquent la présence d’une augmentation statistiquement significative par rapport aux témoins dans tous les patients atteints des maladies chroniques : diabète type 2 ( $P= 0.0245$ ), diabète type 1 ( $P= 0.0485$ ), les cardiopathies ( $P= 0.045$ ), HTA ( $P= 0.0099$ ), AVC ( $P=0.0063$ ), asthme ( $P= 0.0019$ ) et BPCO ( $P= 0.0343$ ).

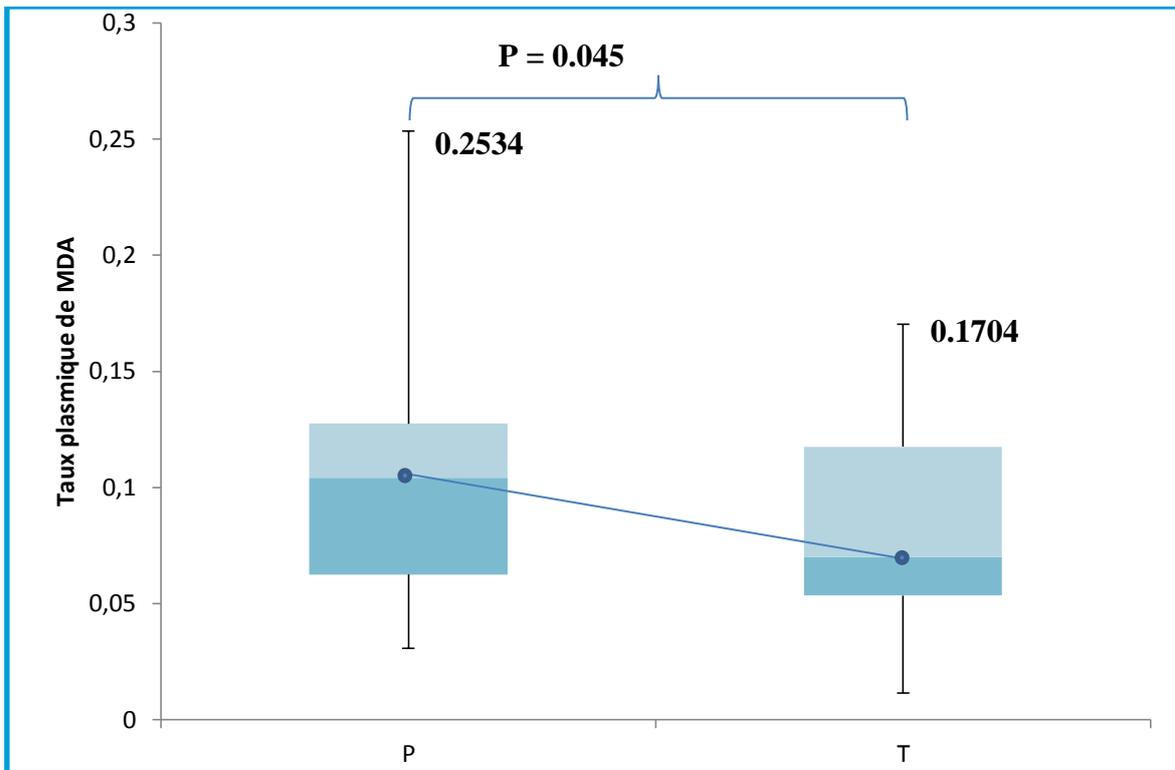
De l’autre côté les résultats des associations montrant la présence d’une augmentation significative en comparaison des témoins seulement dans le cas des patients atteints de diabète-HTA ( $P= 0.0117$ ) alors qu’aucune augmentation significative n’a été observé chez les patients atteints de diabète-cardiopathies ( $P= 0.1118$ ), de diabète-cardiopathies-HTA ( $P= 0.1547$ ), d’HTA-cardiopathies ( $P= 0.1312$ ) et d’HTA-asthme ( $P=0.2266$ ).



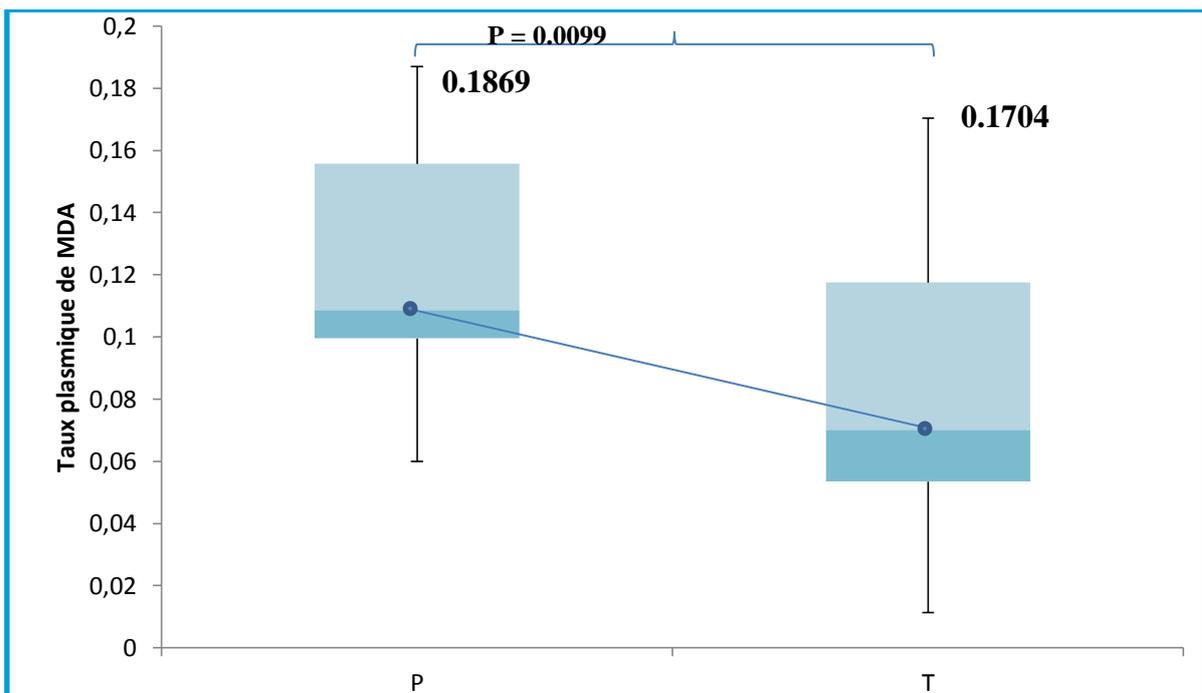
**Figure 50 :** Variation de taux plasmiq. de l'MDA des patients atteints de diabète type 2 et des témoins



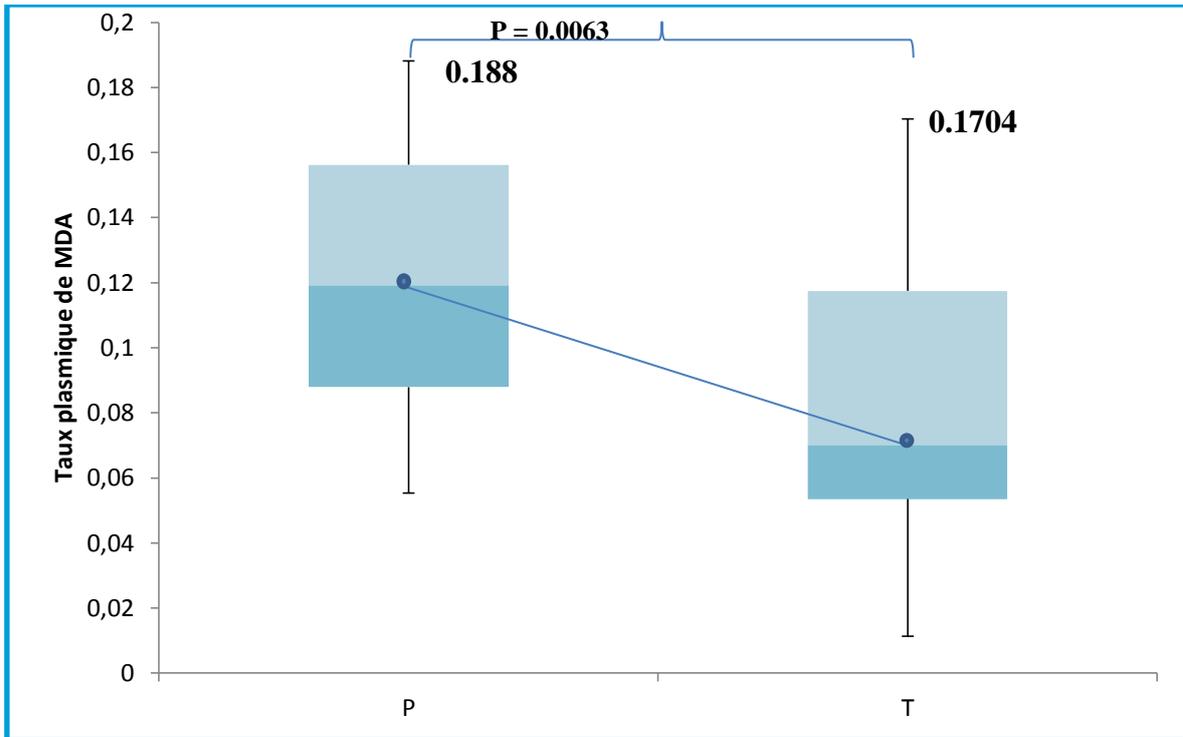
**Figure 51 :** Variation du taux plasmiq. de l'MDA des patients atteints de diabète type 1 et des témoins



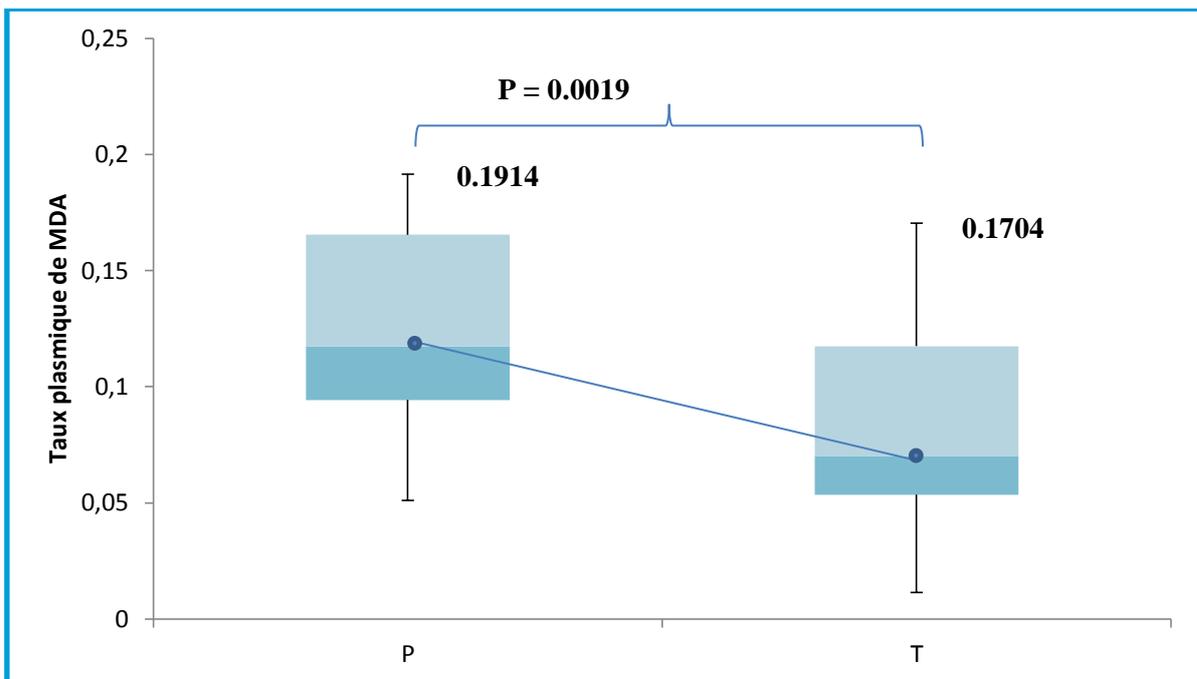
**Figure 52 :** Variation du taux plasmiqque de l'MDA des patients atteints des cardiopathies et des témoins



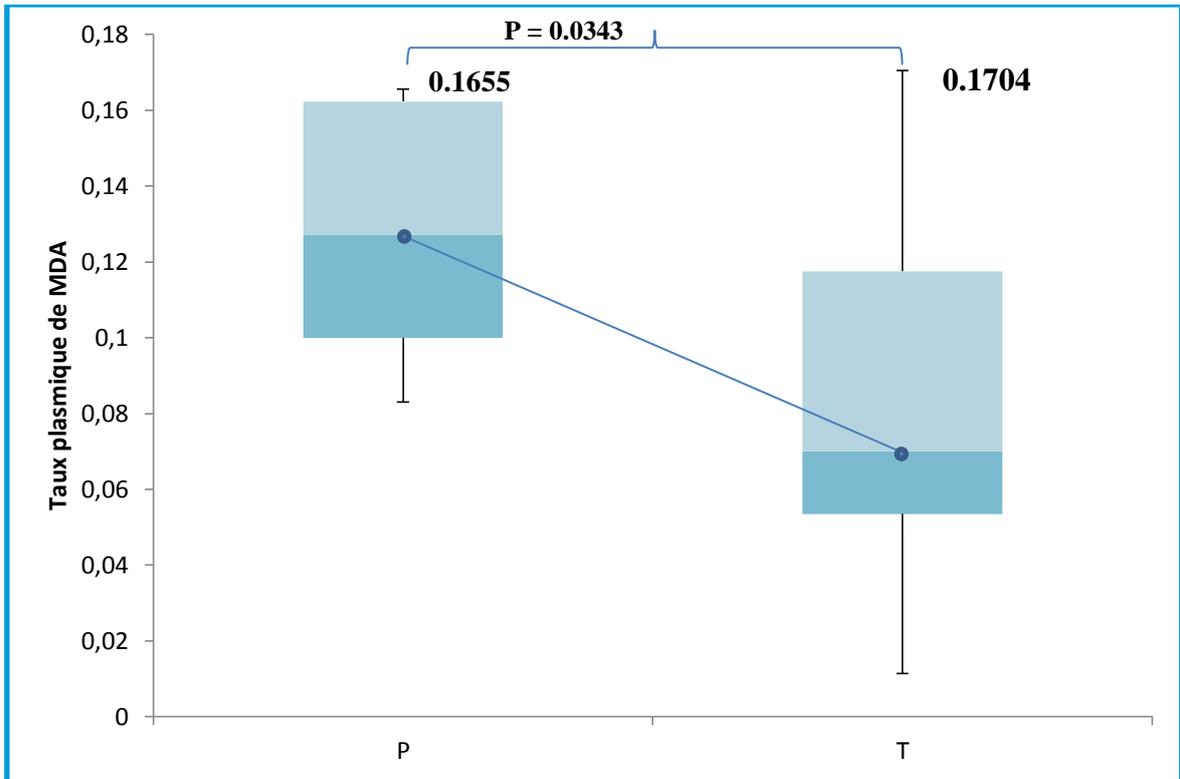
**Figure 53 :** Variation du taux plasmiqque de l'MDA des patients atteints d'HTA et des témoins



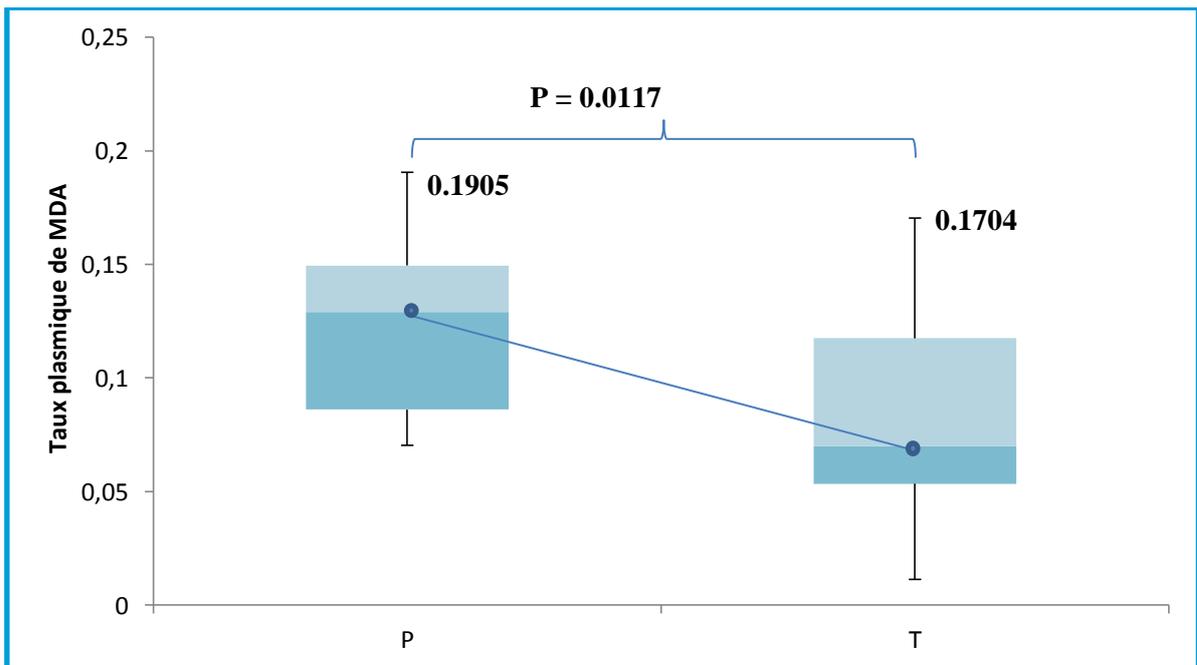
**Figure 54 :** Variation du taux plasmatique de l'MDA des patients atteints d'AVC et des témoins



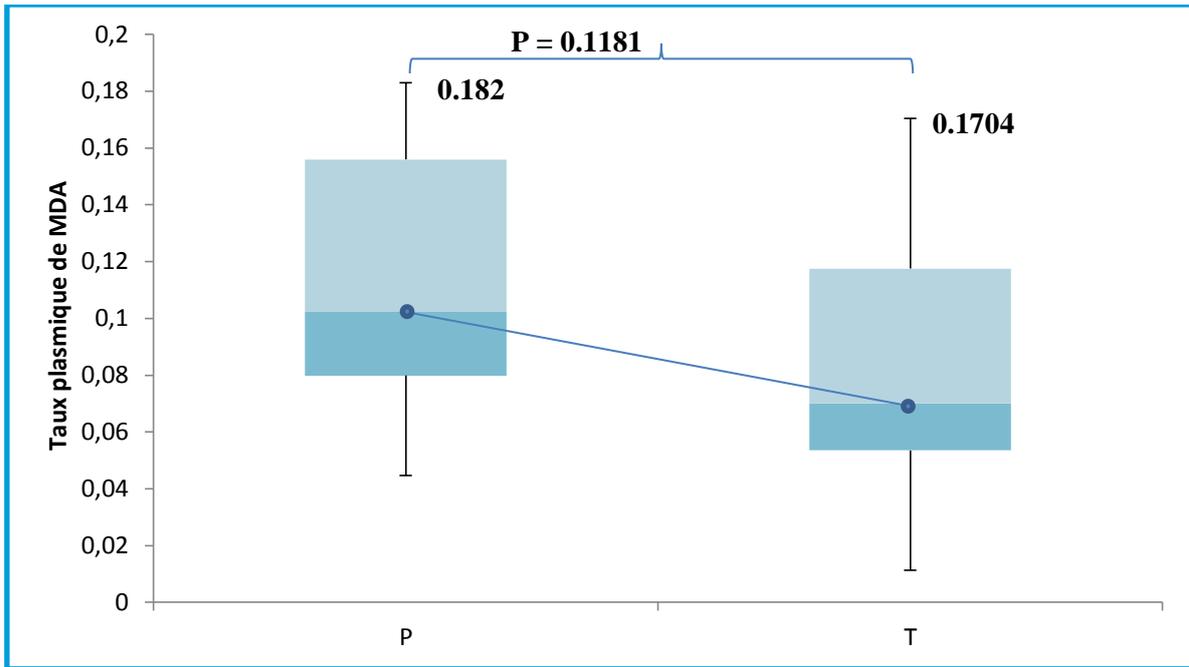
**Figure 55 :** Variation du taux plasmatique de l'MDA des patients atteints d'asthme et des témoins



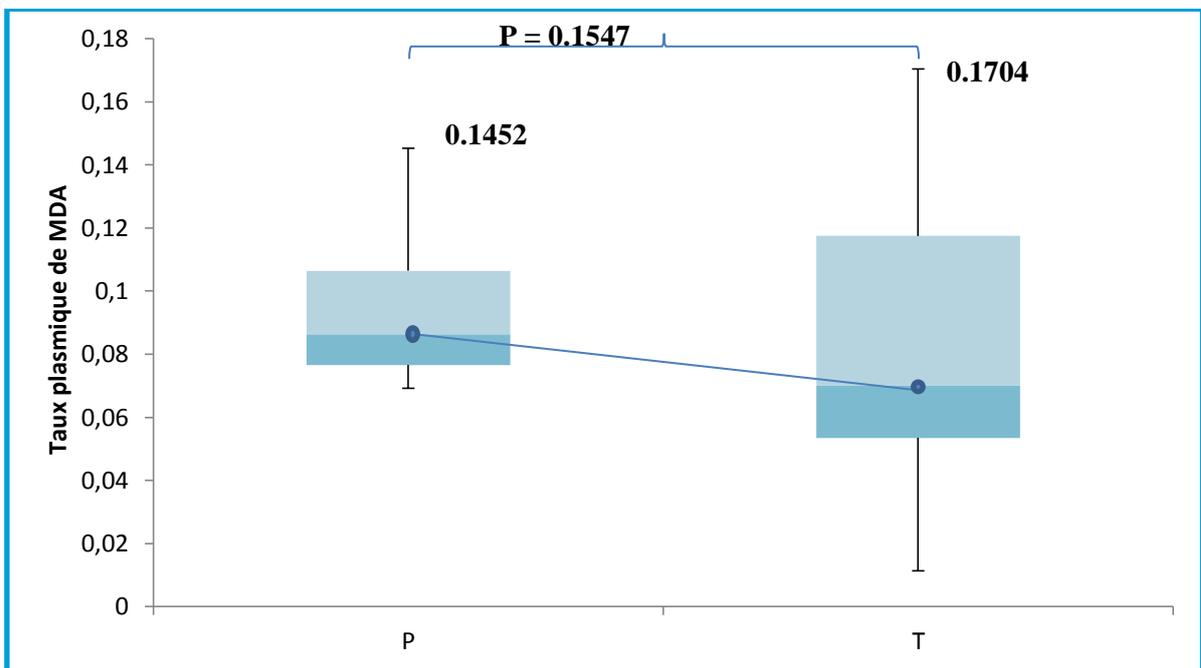
**Figure 56 :** Variation du taux plasmiq. de l'MDA des patients atteints de BPCO et des témoins



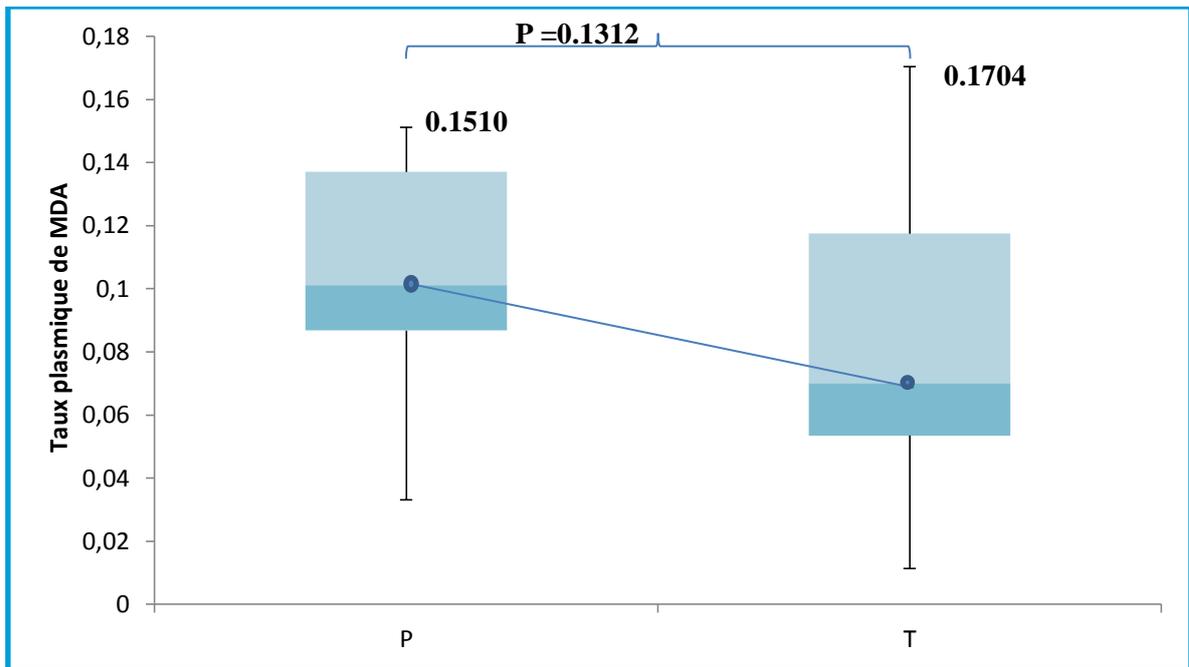
**Figure 57 :** Variation du taux plasmiq. de l'MDA des patients atteints de diabète-HTA et des témoins



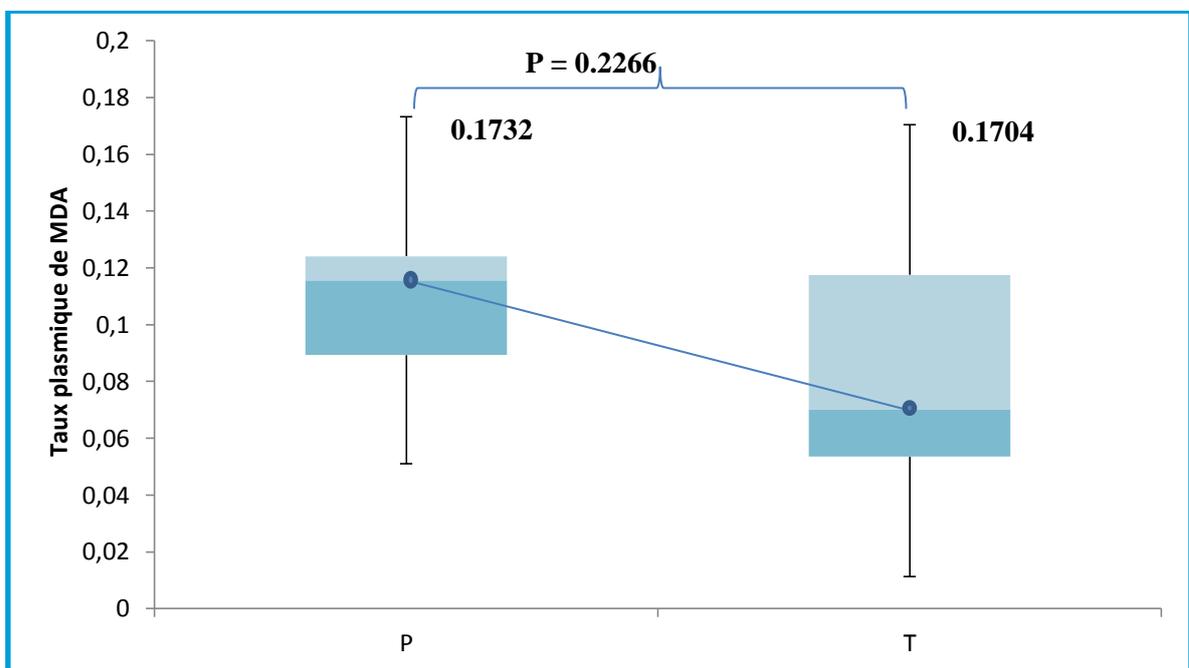
**Figure 58 :** Variation du taux plasmatique de l'MDA des patients atteints de diabète-cardiopathies et des témoins



**Figure 59 :** Variation du taux plasmatique de l'MDA des patients atteints de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins



**Figure 60 :** Variation du taux plasmatique de l'MDA des patients atteints de HTA-cardiopathies et des témoins

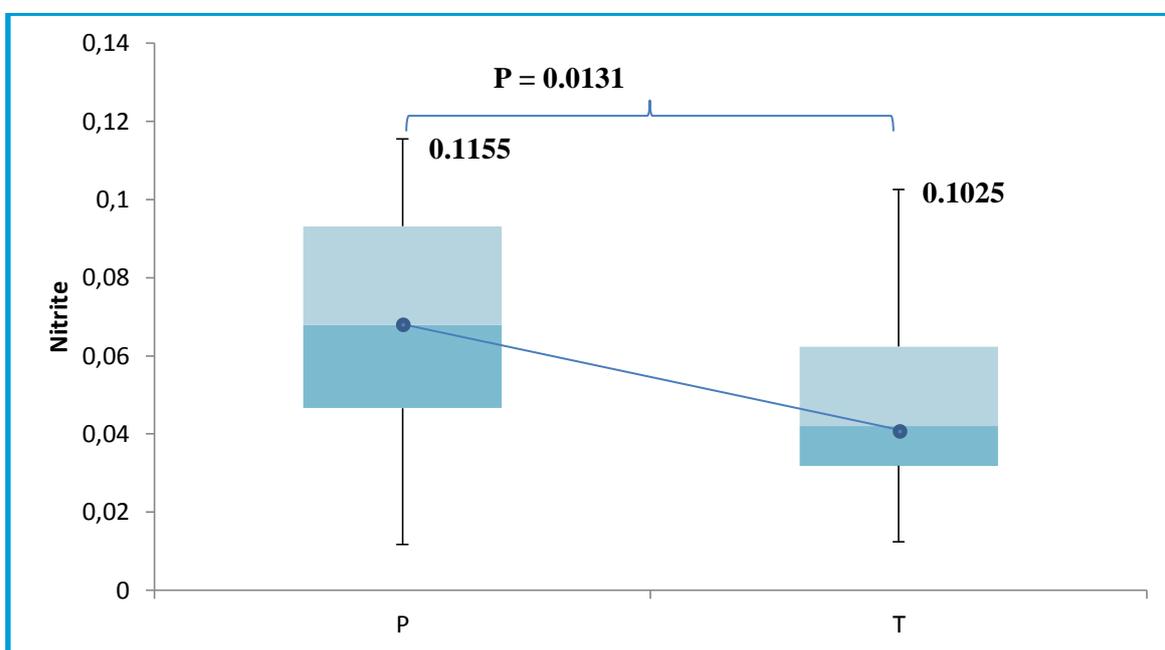


**Figure 61 :** Variation du taux plasmatique de l'MDA des patients atteints de HTA-asthme et des témoins

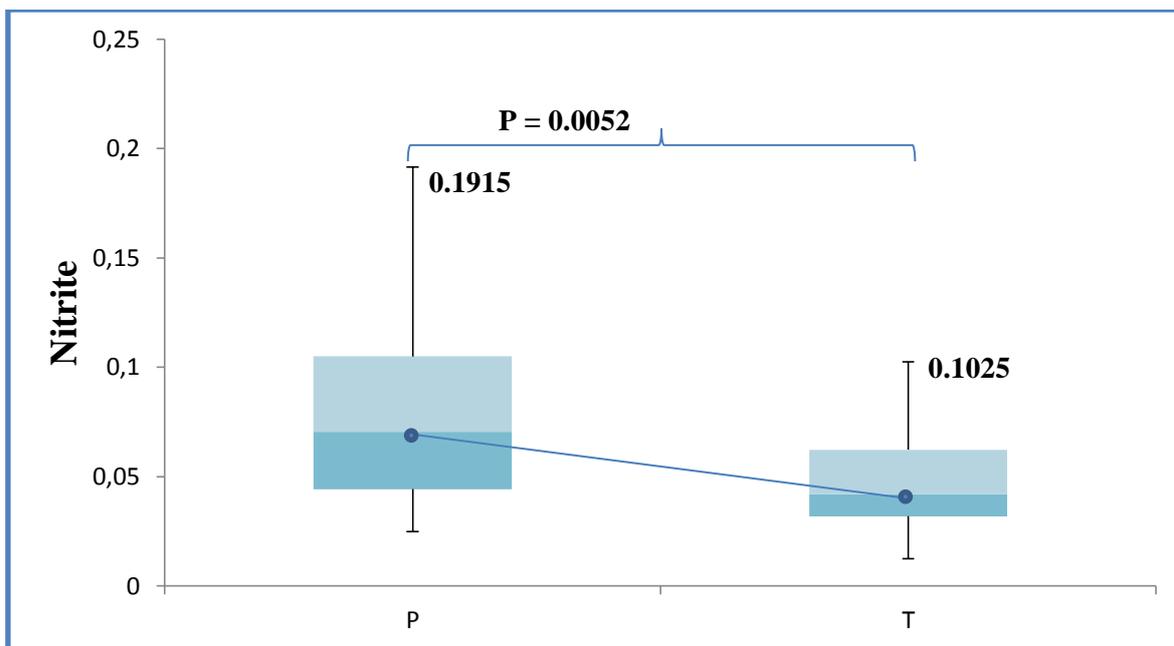
### V- Dosage des nitrites

Nos résultats du dosage de taux de nitrites indiquent la présence d'une augmentation statistiquement significative par rapport aux témoins dans tous les patients atteints des maladies chroniques : diabète type 2 ( $P= 0.0131$ ), diabète type 1 ( $P= 0.0052$ ), les cardiopathies ( $P= 0.004$ ), HTA ( $P= 0.0001$ ), AVC ( $P=0.0090$ ), asthme ( $P= 0.0176$ ) et BPCO ( $P= 0.0012$ ).

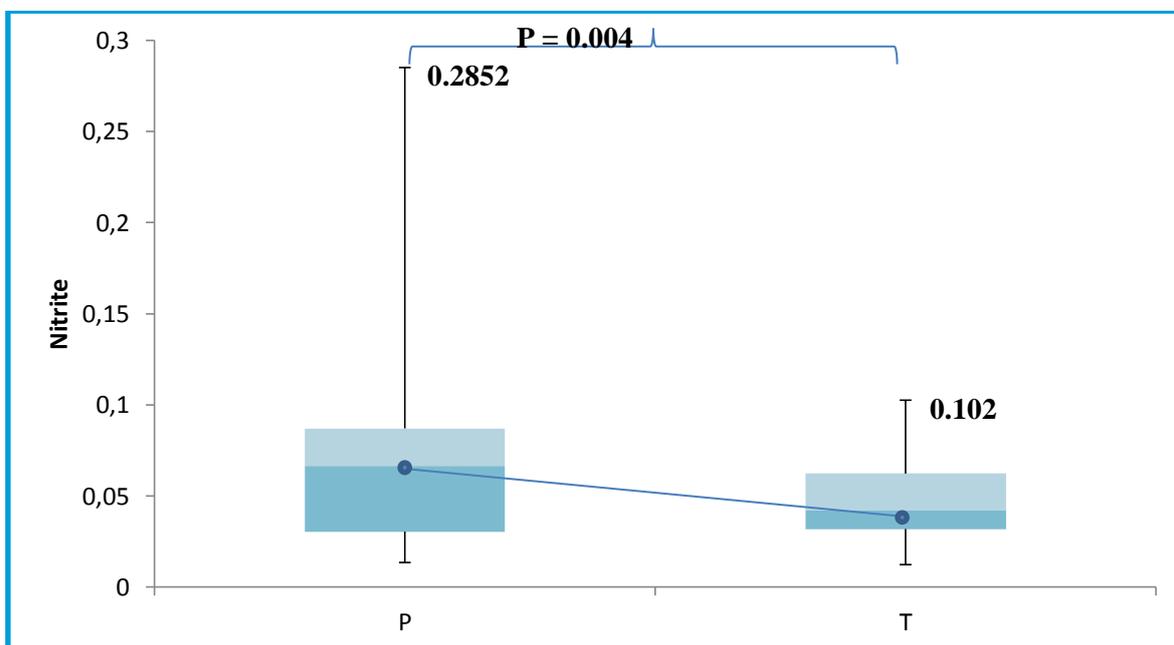
De l'autre côté les résultats des associations montrant la présence d'une augmentation significative en comparaison des témoins seulement dans le cas des patients atteints de diabète-cardiopathies ( $P= 0.0063$ ), de diabète-cardiopathies-HTA ( $P= 0.0086$ ), d'HTA-cardiopathies ( $P= 0.0134$ ) et d'HTA-asthme ( $P=0.0135$ ). Alors aucune augmentation significative n'a été observé chez les patients atteints de diabète-HTA ( $P= 0.1118$ ).



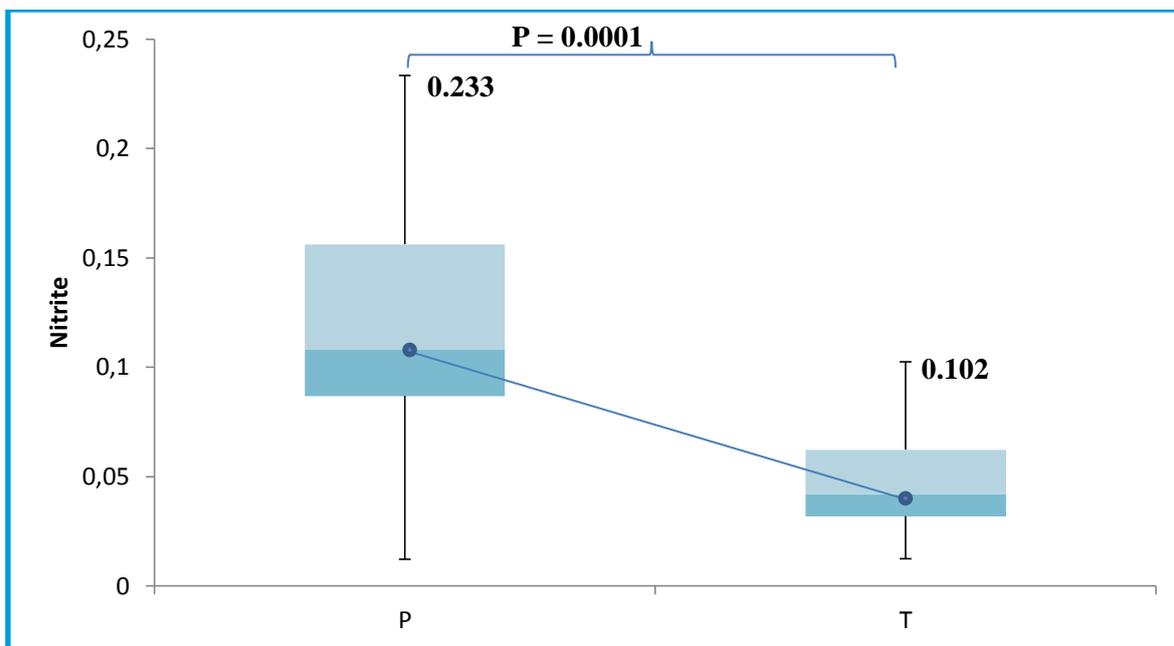
**Figure 62 :** Variation du taux des nitrites des patients atteints de diabète type 2 et des témoins



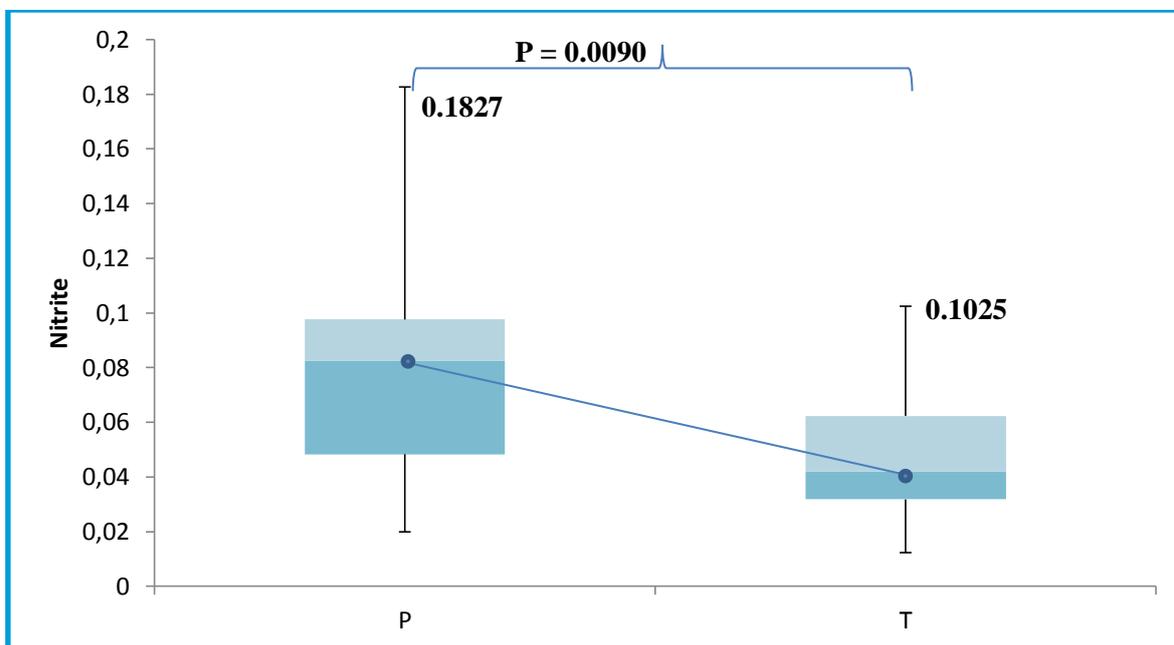
**Figure 63 :** Variation du taux des nitrites des patients atteints de diabète type 1 et des témoins



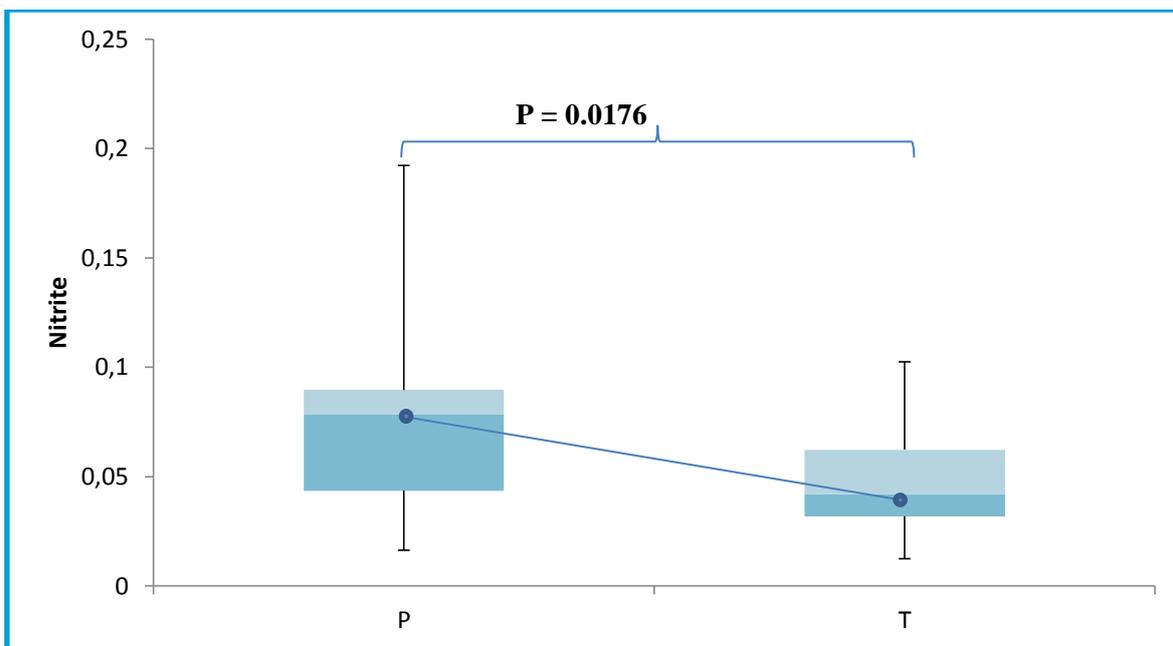
**Figure 64 :** Variation du taux des nitrites des patients atteints des cardiopathies et des témoins



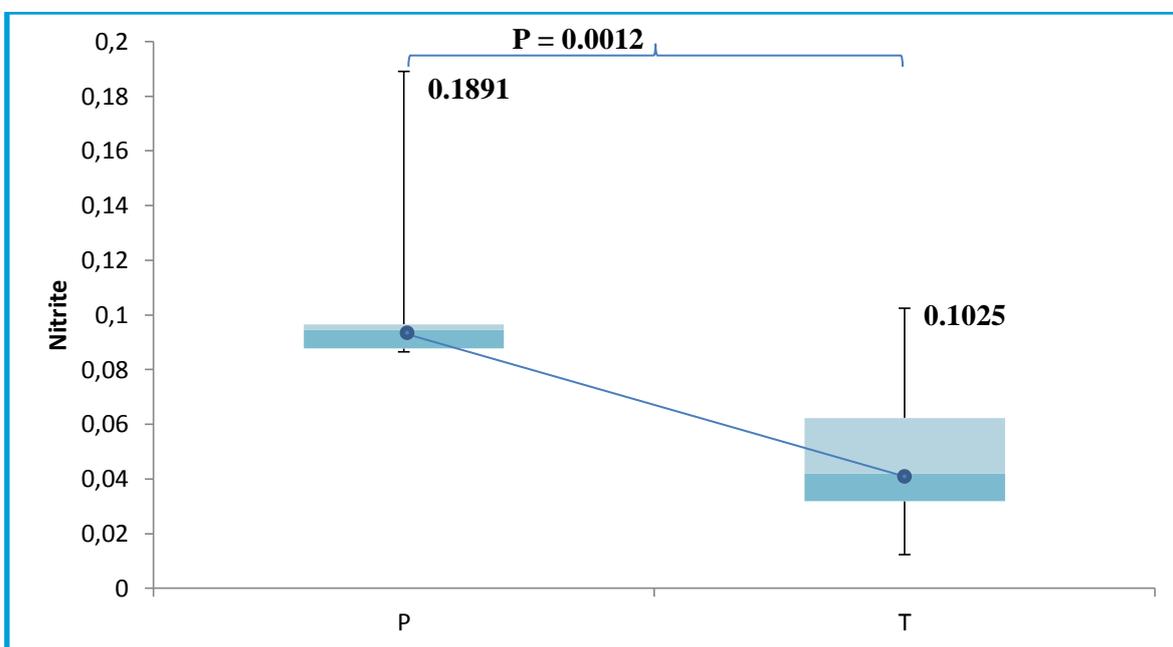
**Figure 65 :** Variation du taux des nitrites des patients atteint d'HTA et des témoins



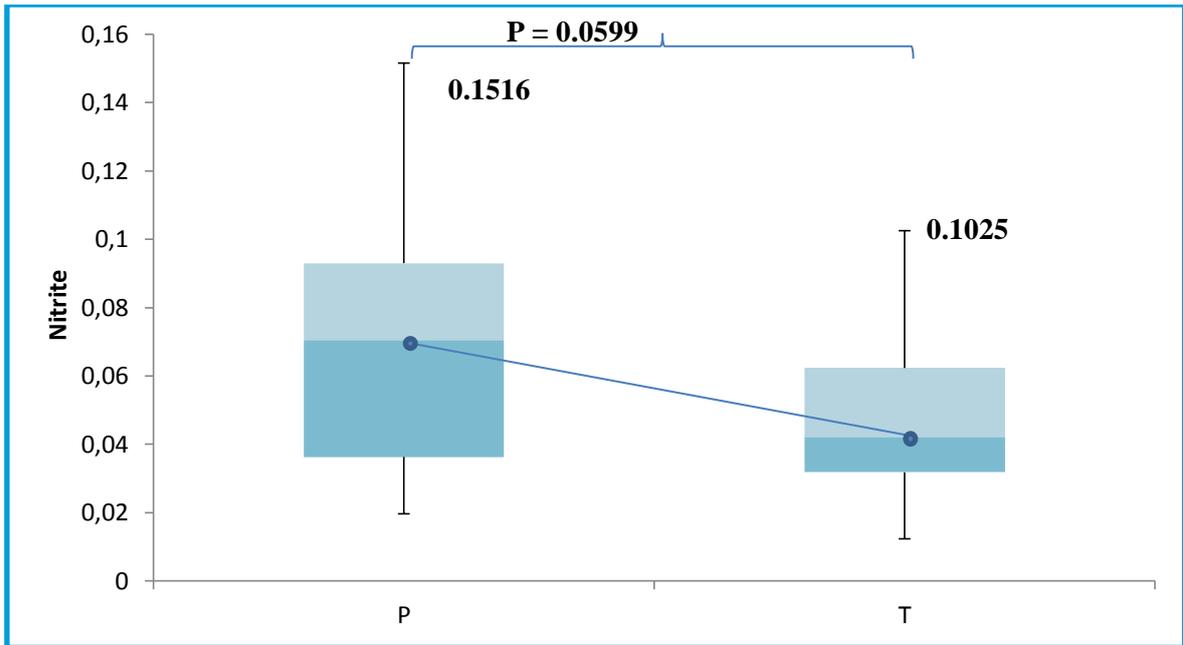
**Figure 66 :** Variation du taux des nitrites des patients atteint d'AVC et des témoins



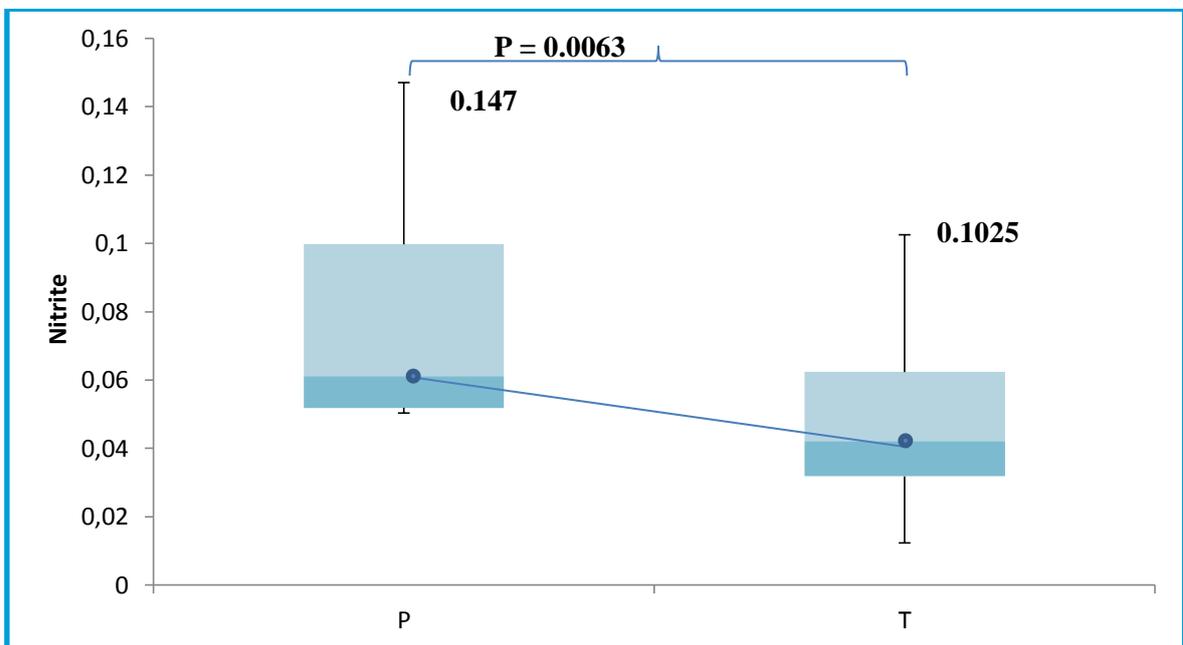
**Figure 67 :** Variation du taux des nitrites des patients atteint d'asthme et des témoins



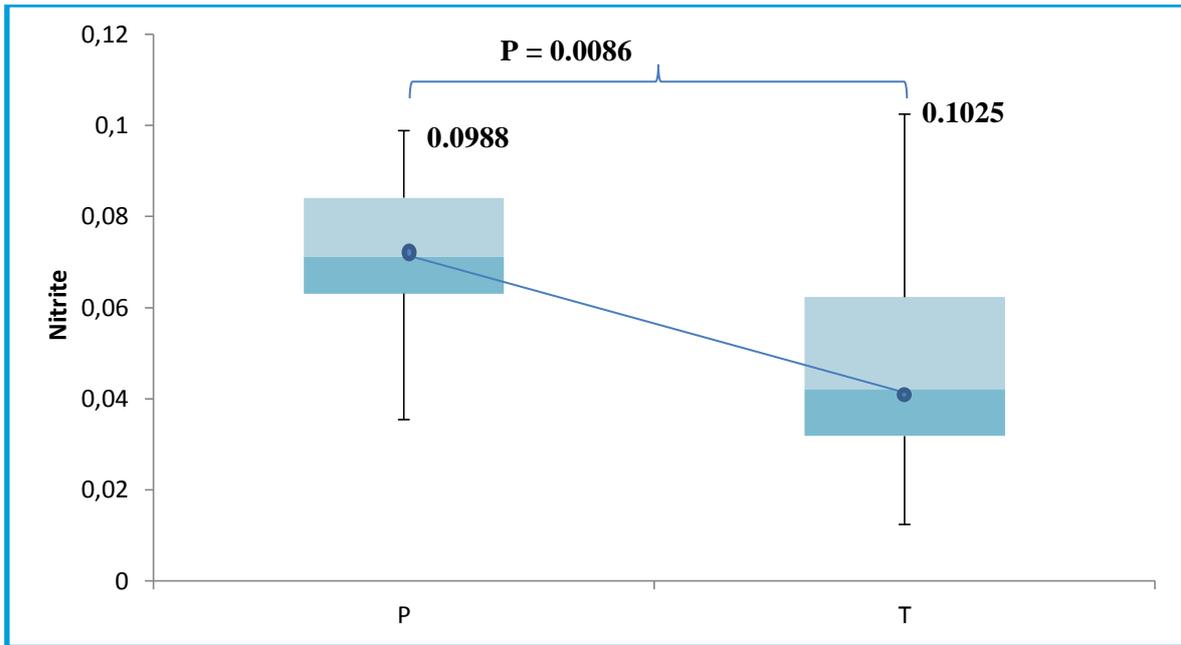
**Figure 68 :** Variation du taux des nitrites des patients atteint de BPCO et des témoins



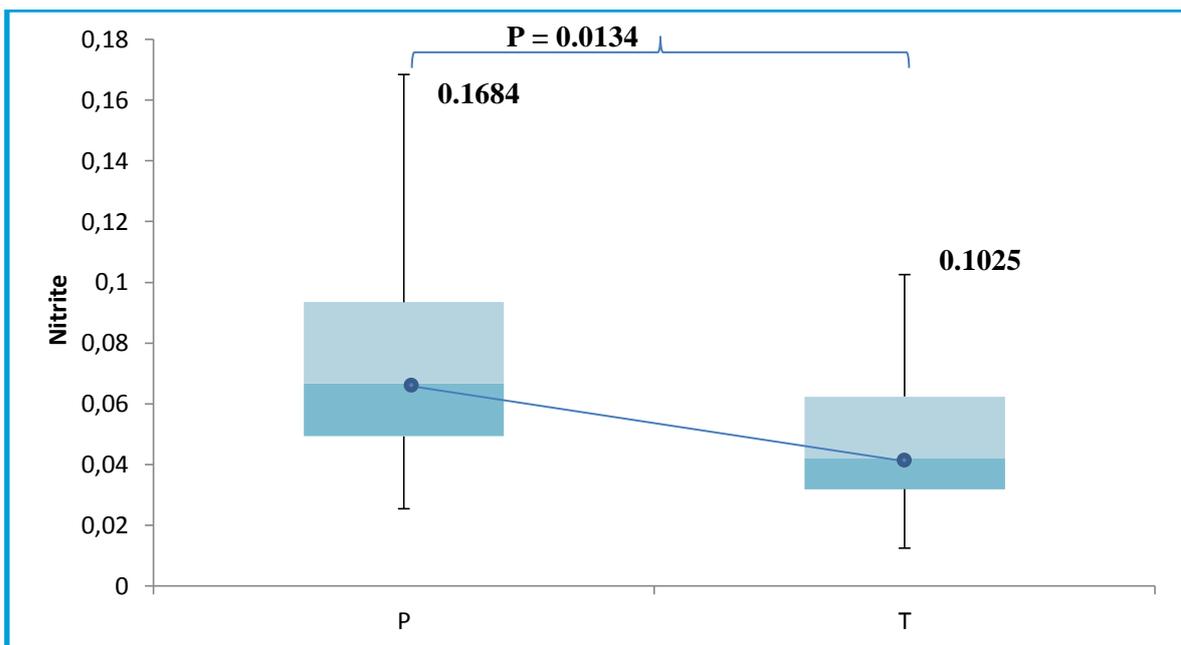
**Figure 69 :** Variation du taux des nitrites des patients atteint de diabète-HTA et des témoins



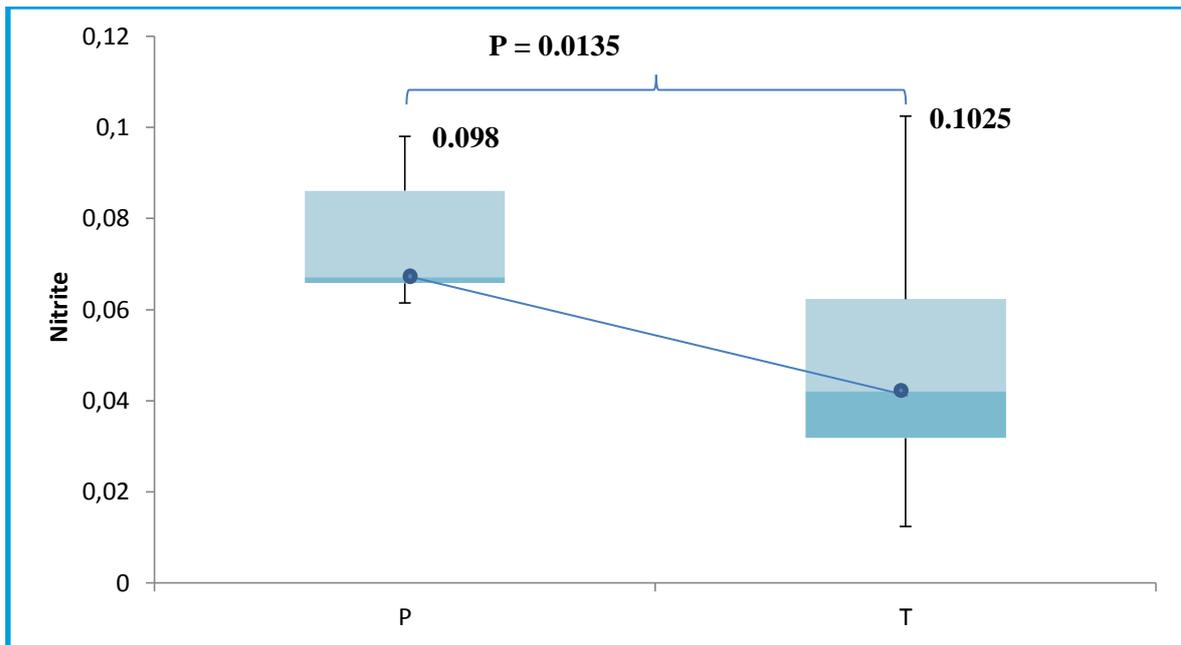
**Figure 70 :** Variation du taux des nitrites des patients atteint de diabète-cardiopathies et des témoins



**Figure 71 :** Variation du taux des nitrites des patients atteint de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins



**Figure 72 :** Variation du taux des nitrites des patients atteint d'HTA-cardiopathies et des témoins

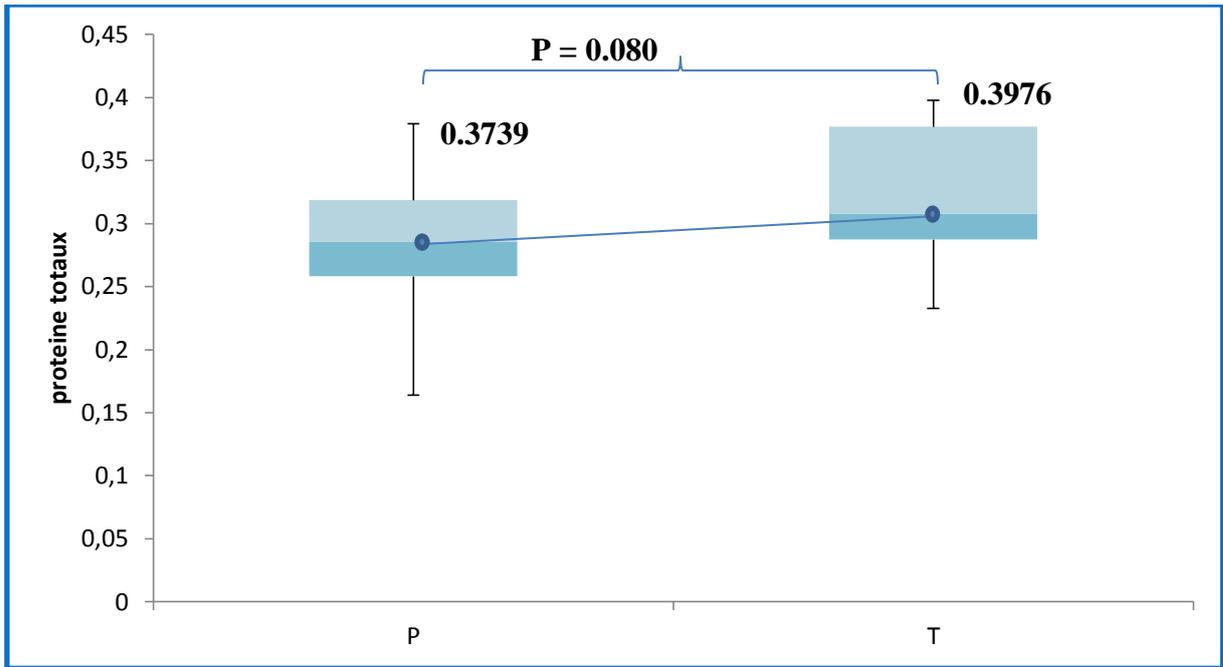


**Figure 73 :** Variation du taux des nitrites des patients atteint d'HTA-asthme et des témoins

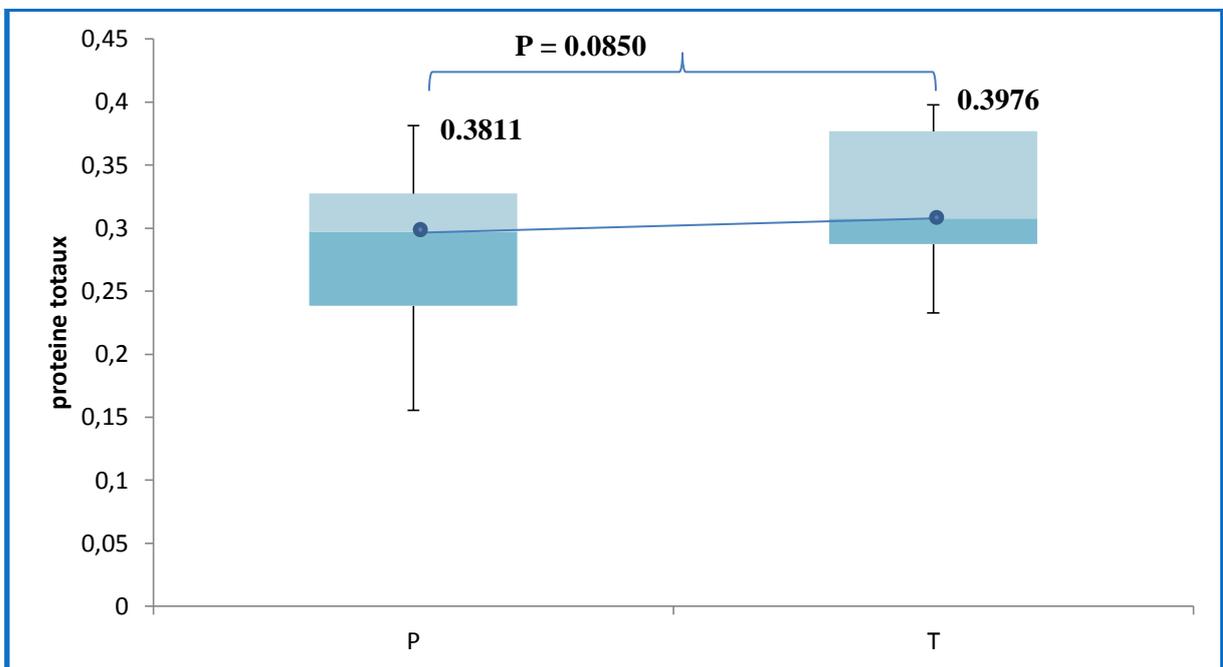
## VI-dosage de protéines totales

Nos résultats concernant le dosage des protéines affichant aucune différence significative dans toutes les maladies chroniques en comparaison avec les témoins : diabète type 2 ( $P = 0.080$ ), diabète type 1 ( $P = 0.0850$ ), cardiopathies ( $P = 0.155$ ), HTA ( $P = 0.556$ ), AVC ( $P = 0.321$ ), asthme ( $P = 0.252$ ), BPCO ( $P = 0.3859$ ).

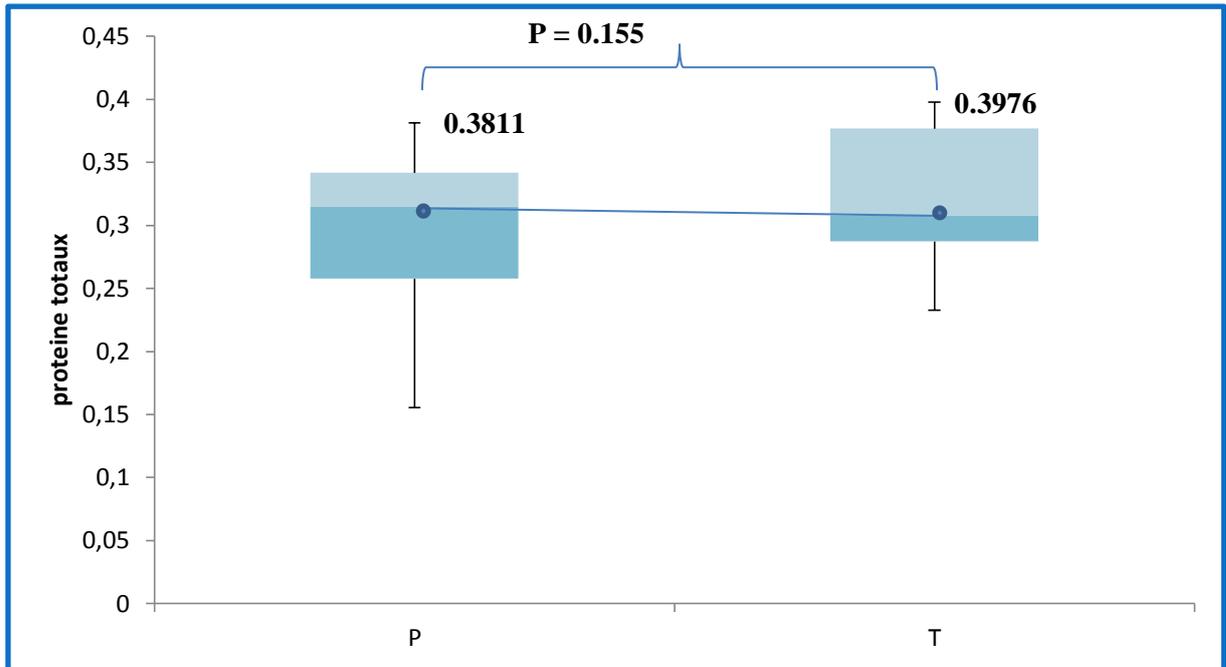
Nos résultats de dosage des protéines totaux pour les cas des associations montrant aucun différence significative en comparaison avec les témoins : diabète-HTA ( $P = 0.121$ ), diabète-cardiopathies ( $P = 0.3671$ ), diabète-cardiopathies-HTA ( $P = 0.5607$ ), HTA-cardiopathies ( $P = 0.6400$ ), HTA-asthme ( $P = 0.5357$ ).



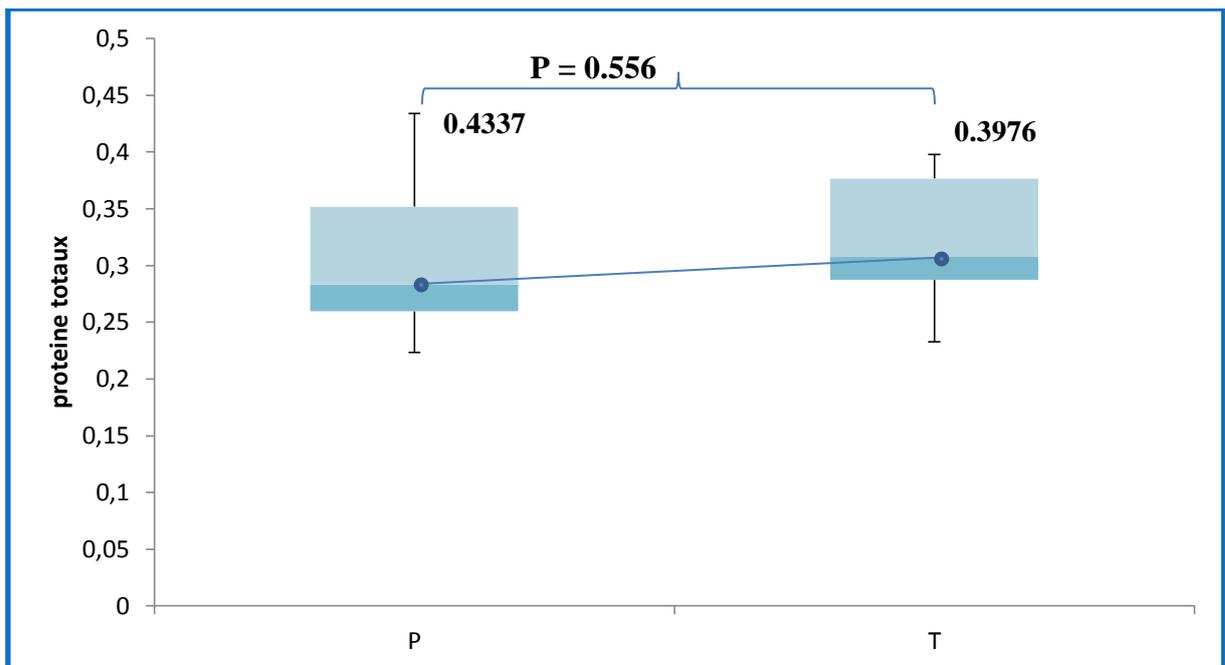
**Figure 74 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint de diabète type 2 et des témoins



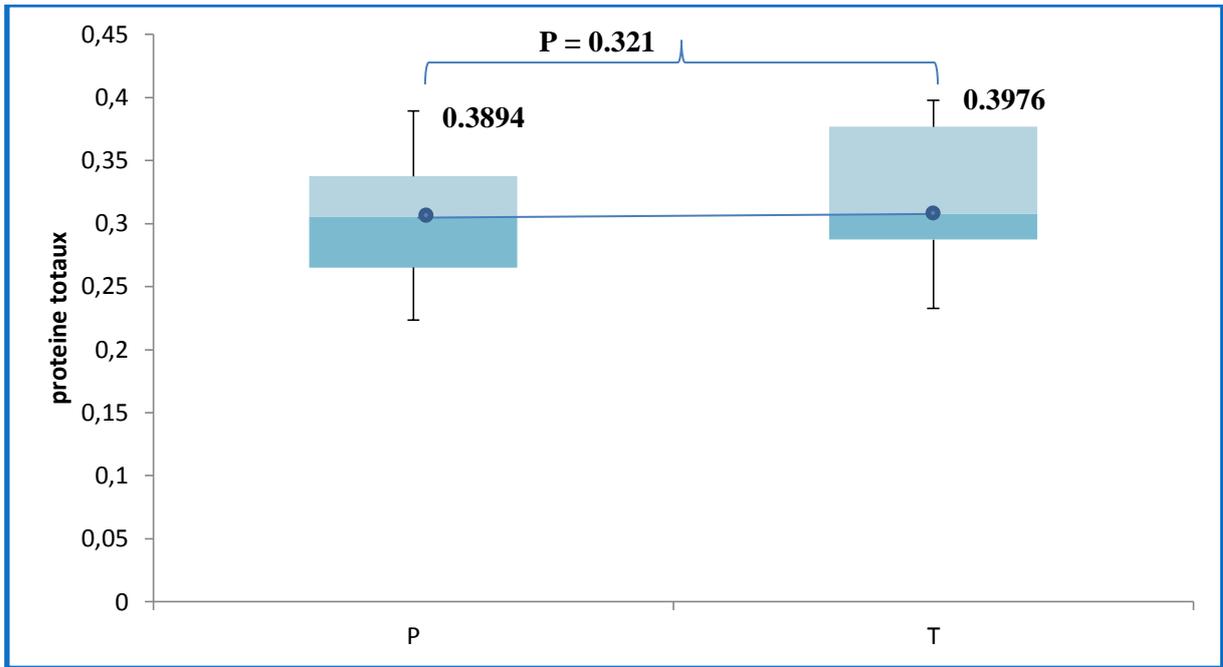
**Figure 75 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteints de diabète type 2 et des témoins



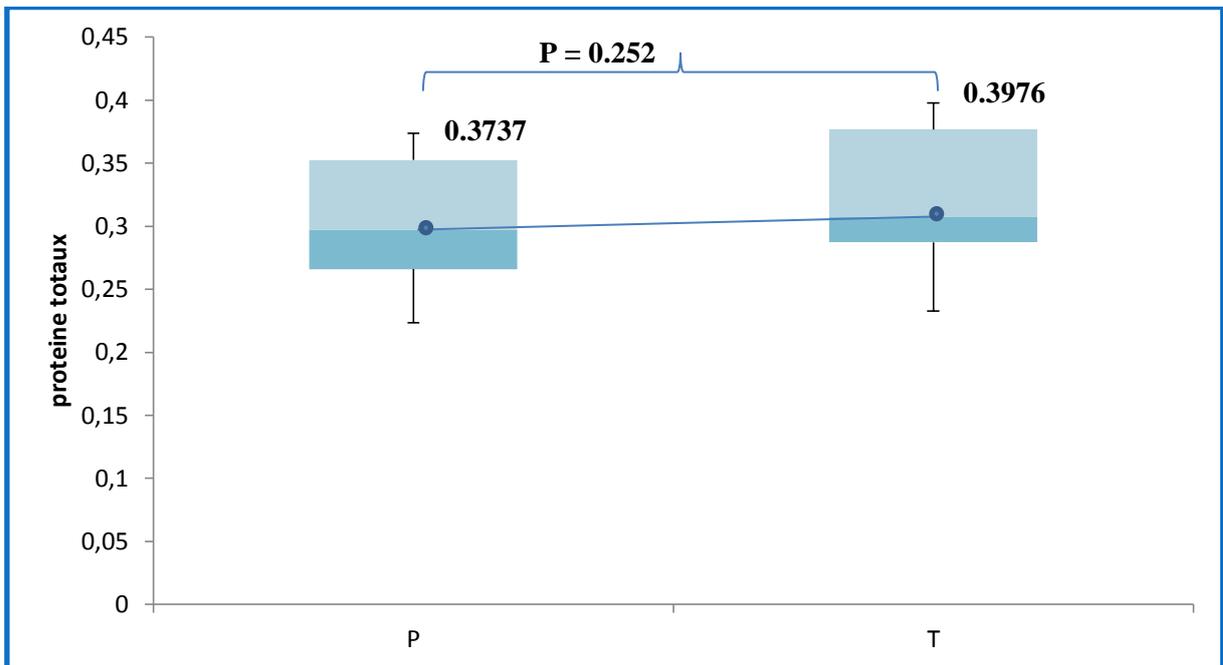
**Figure 76 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint des cardiopathies et des témoins



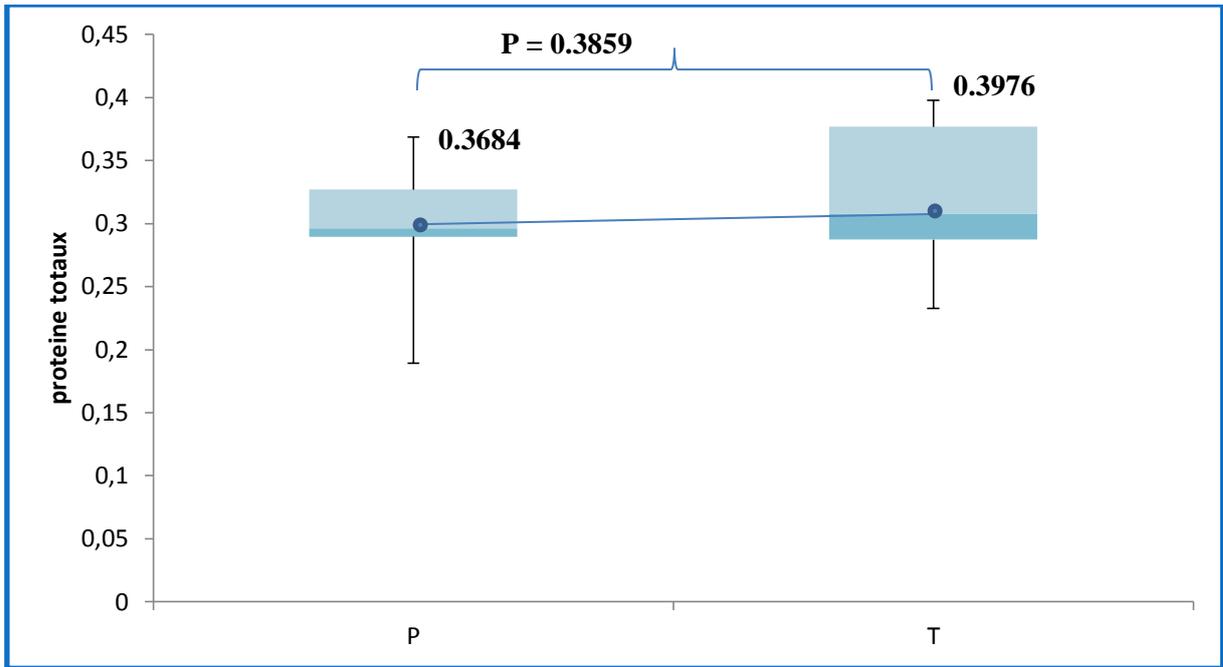
**Figure 77 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint d'HTA et des témoins



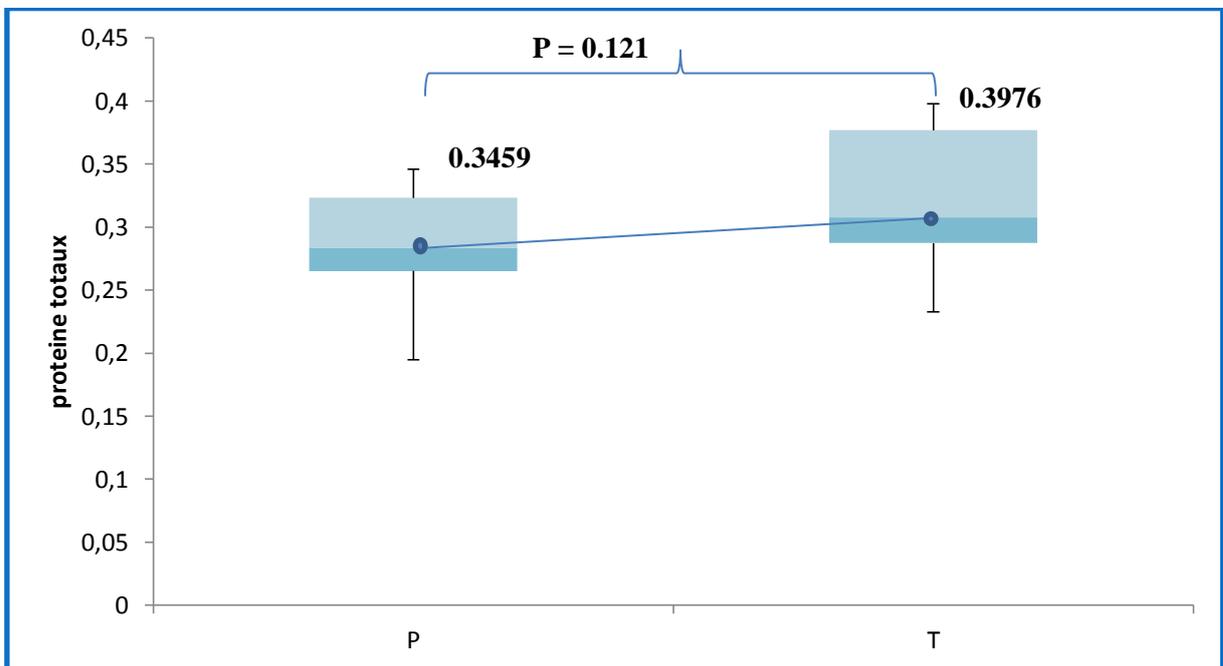
**Figure 78 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint d'AVC et des témoins



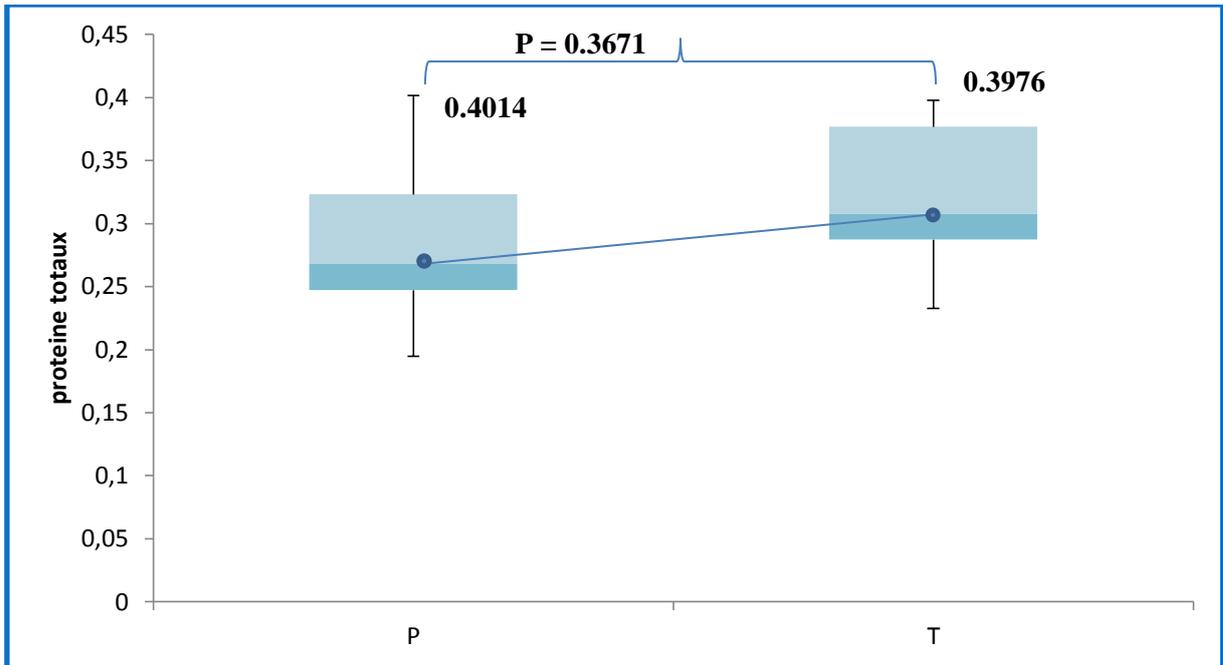
**Figure 79 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint d'asthme et des témoins



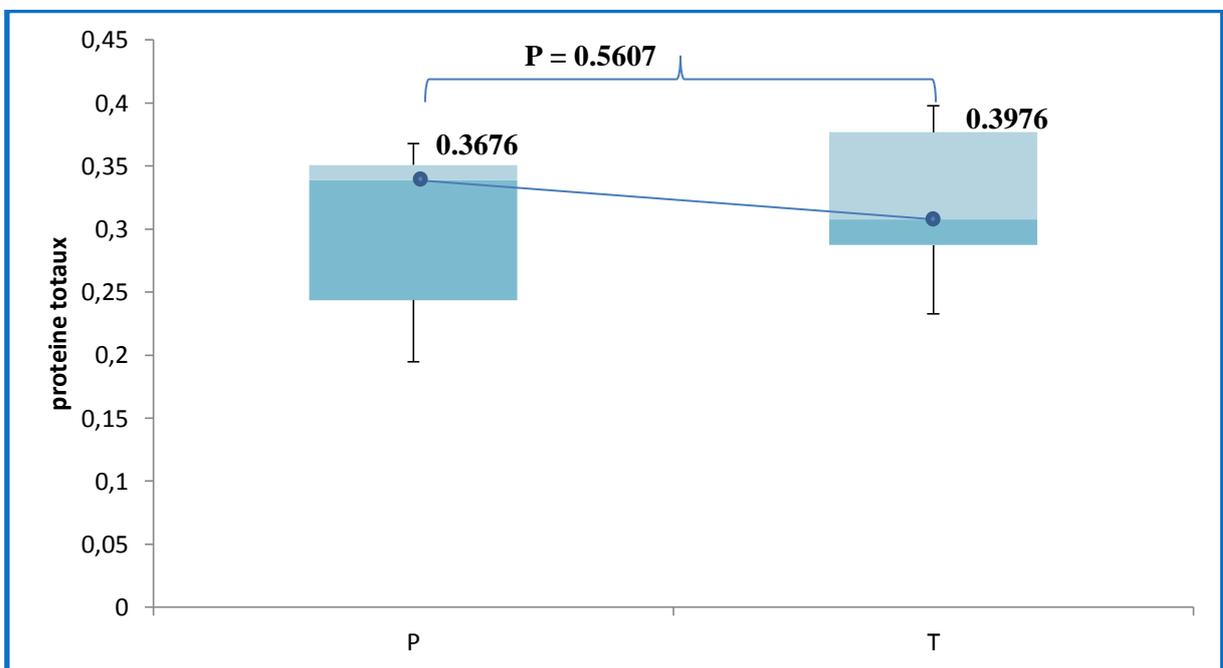
**Figure 80 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint de BPCO et des témoins



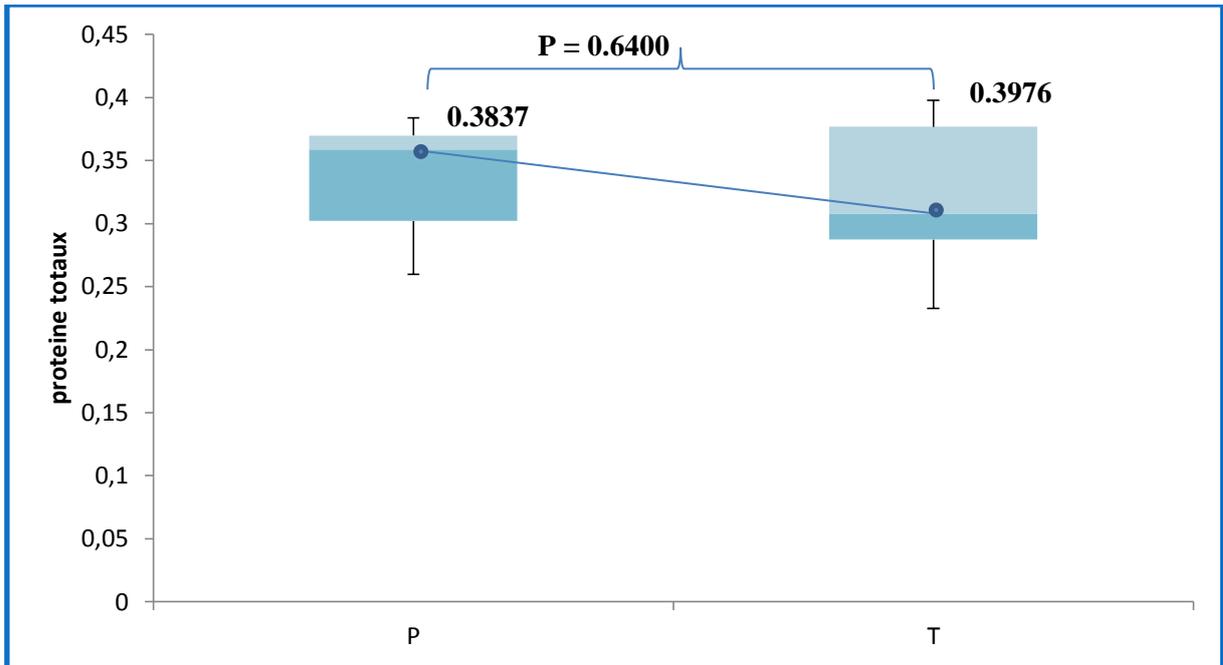
**Figure 81 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint de diabète-HTA et des témoins



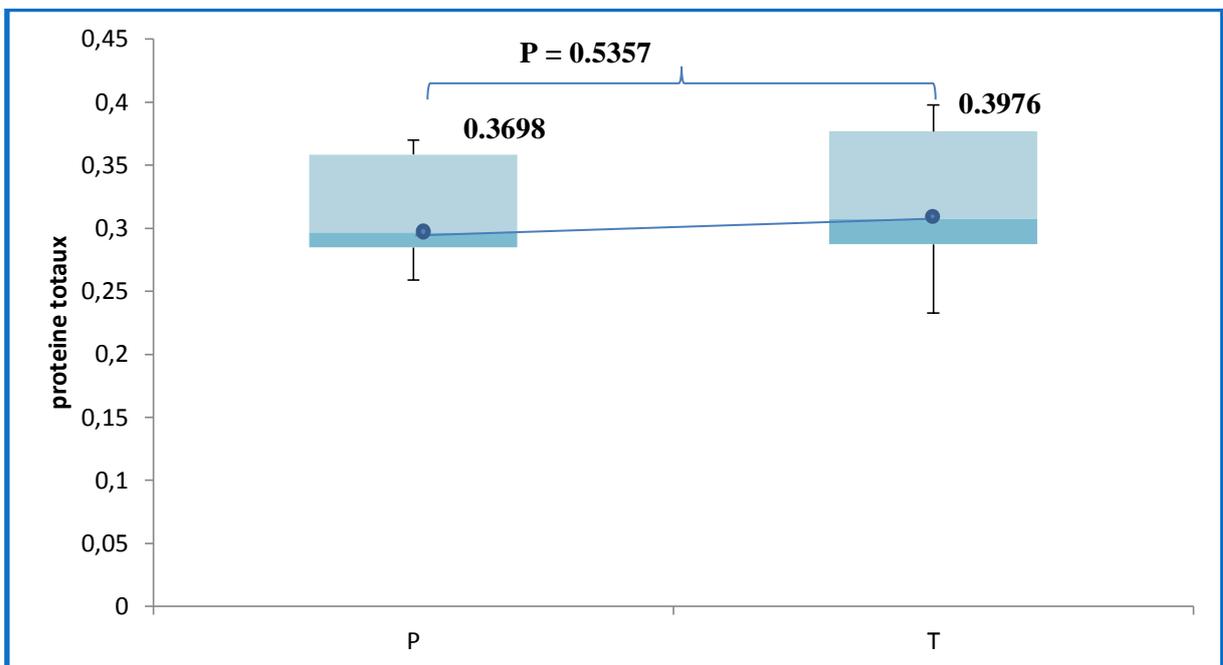
**Figure 82 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint de diabète-cardiopathies et des témoins



**Figure 83 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint de diabète-cardiopathies-HTA et des témoins



**Figure 84 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint d'HTA-cardiopathies et des témoins

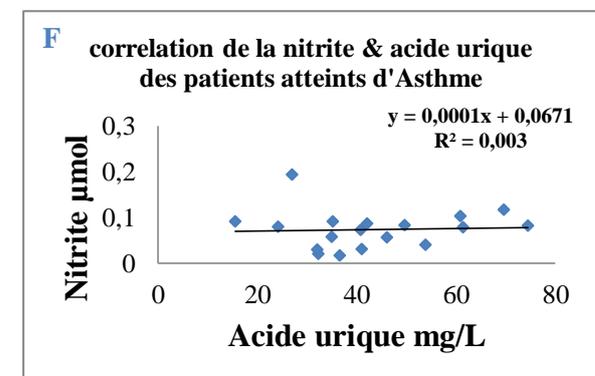
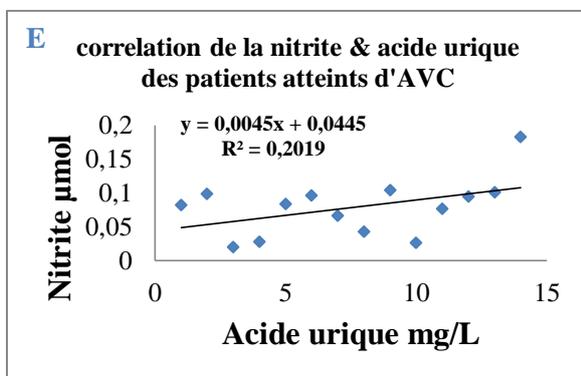
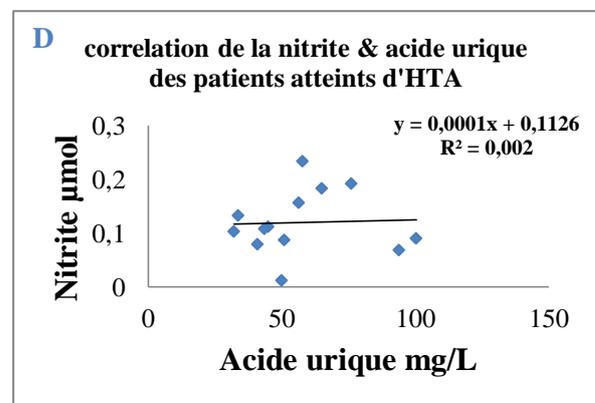
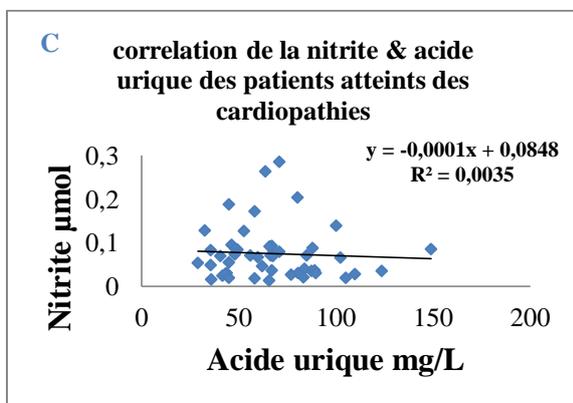
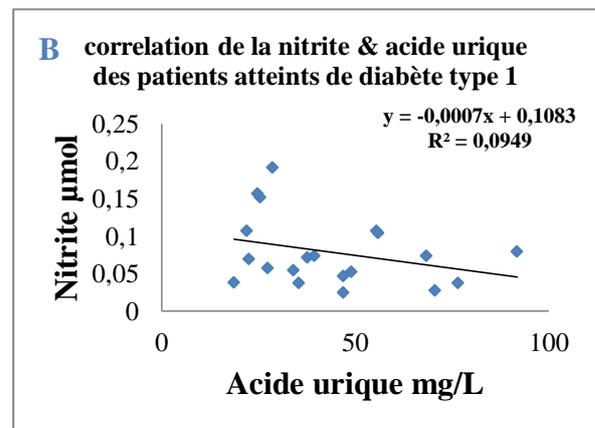
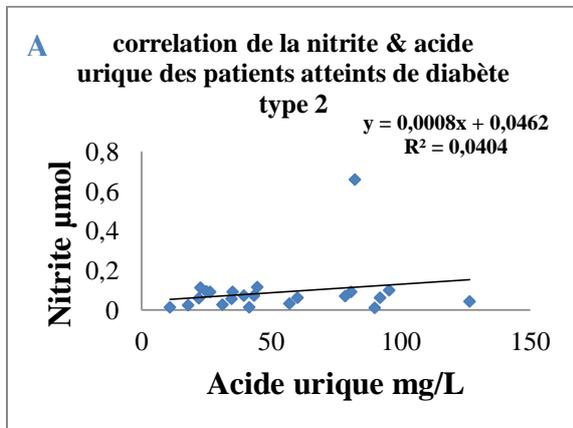


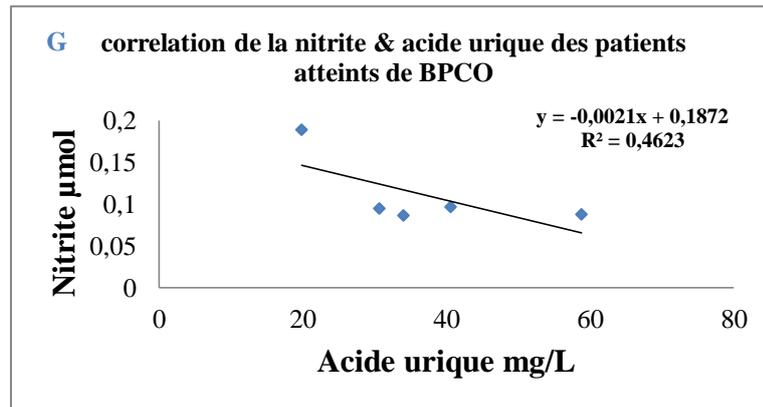
**Figure 85 :** Variation du taux des protéines totales des patients atteint d'HTA-asthme et des témoins

## VII- Les corrélations des différents paramètres

### VII-1- Les corrélations du nitrite et l'acide urique

Les résultats des corrélations entre le nitrite et l'acide urique montrent la présence d'une signification dans les cas des patients atteints de diabète de type 1, d'AVC et de BPCO

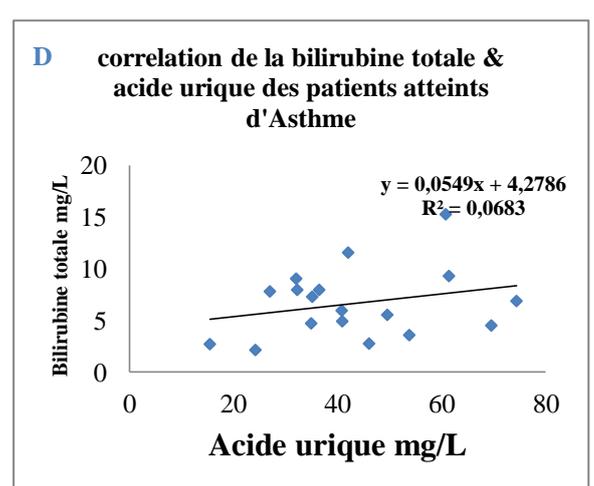
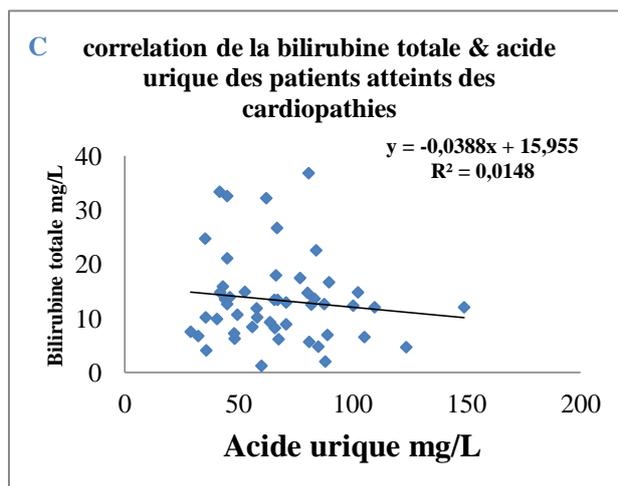
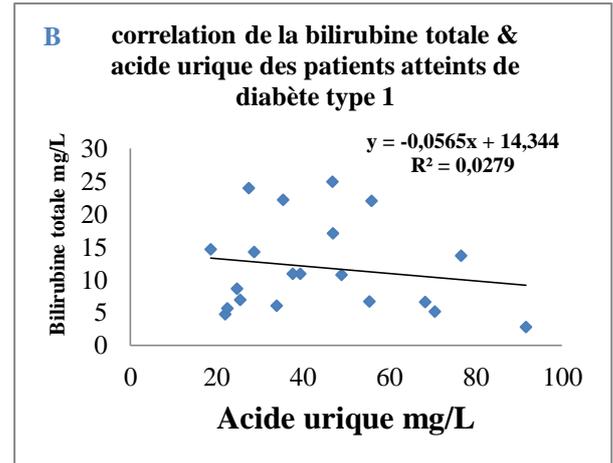
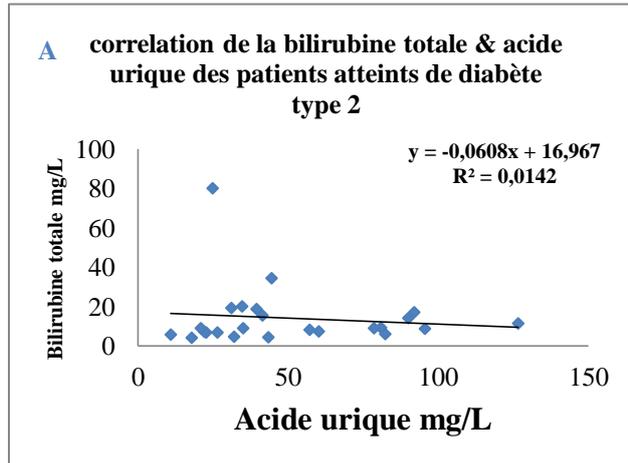


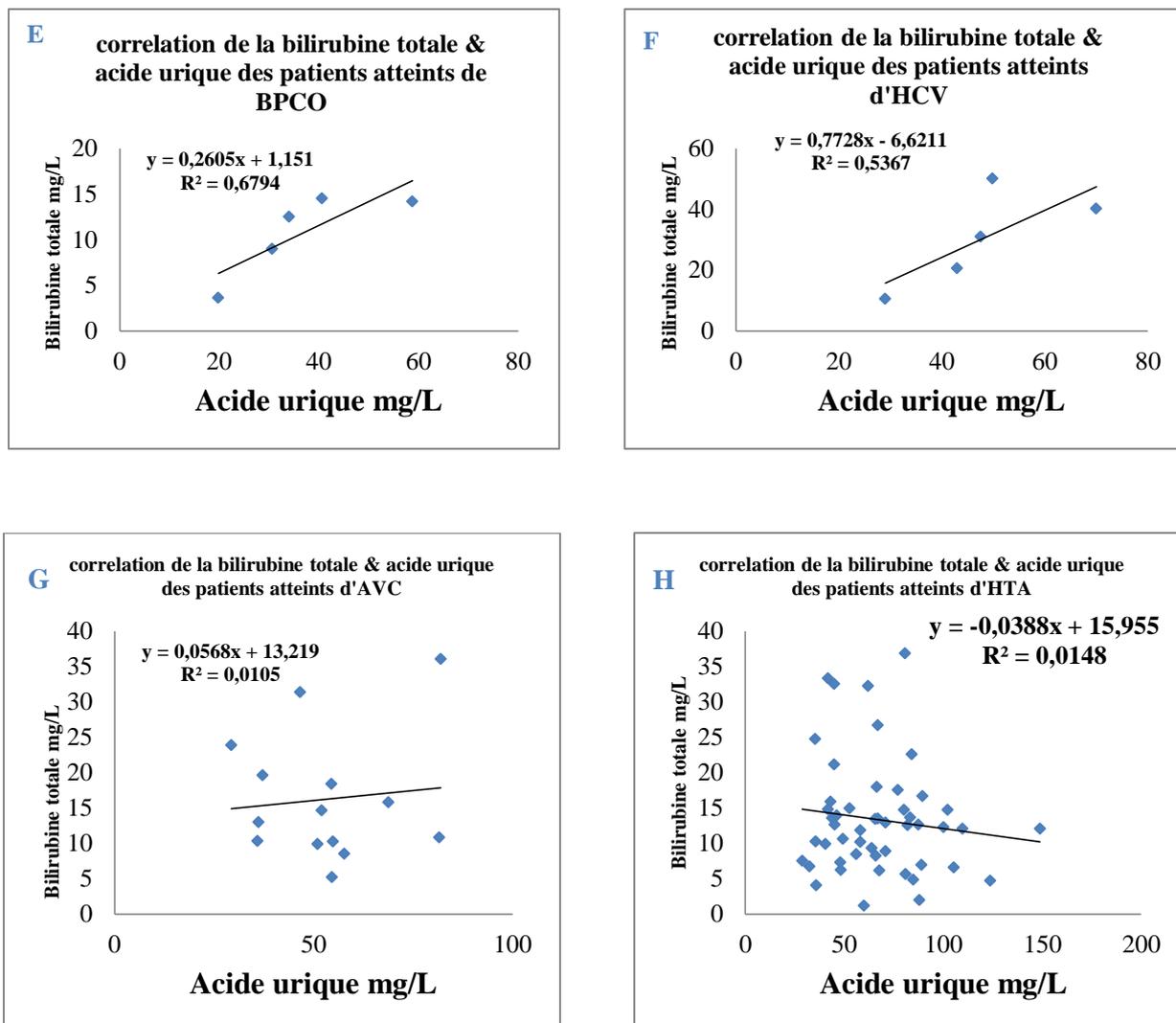


**Figure 86:** Corrélation du nitrite & acide urique dans différentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : Diabète type 1, C : les cardiopathies, D : HTA, E : AVC, F : asthme, G : BPCO)

**VII-2-Les corrélations entre la bilirubine totale et l'acide urique**

Les résultats concernant Les Corrélations entre la bilirubine totale et l'acide urique montrant la présence d'une significativité seulement dans les cas des patients atteints d'HCV et de BPCO.

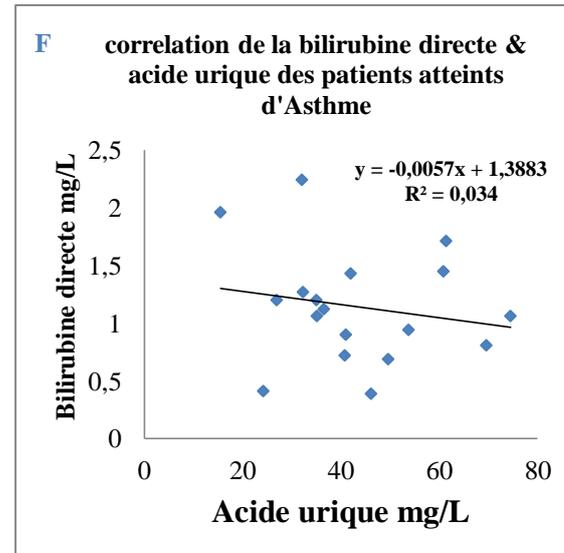
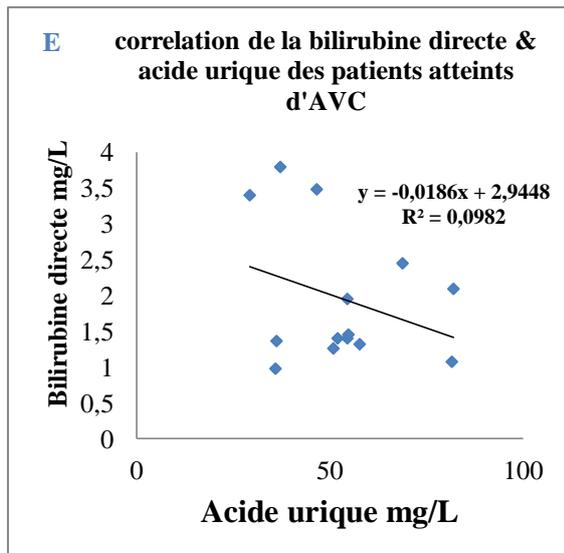
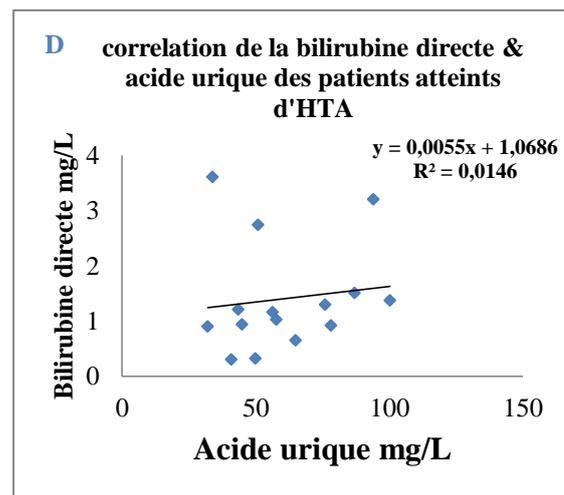
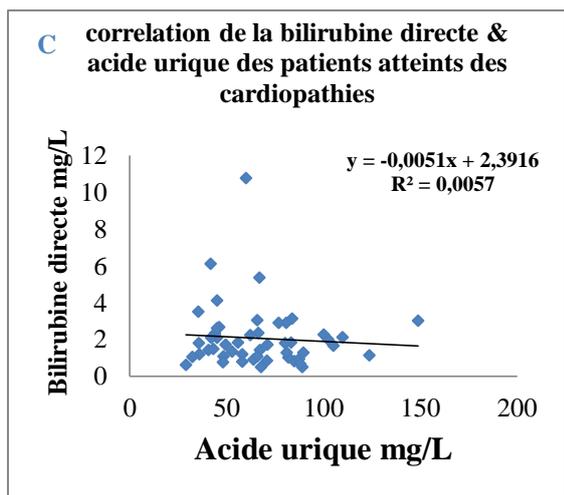
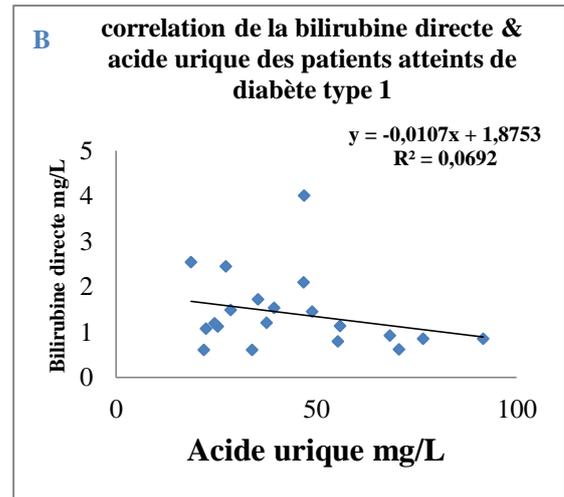
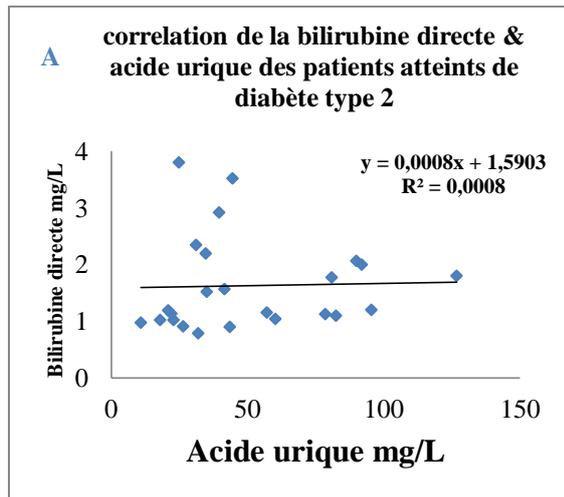


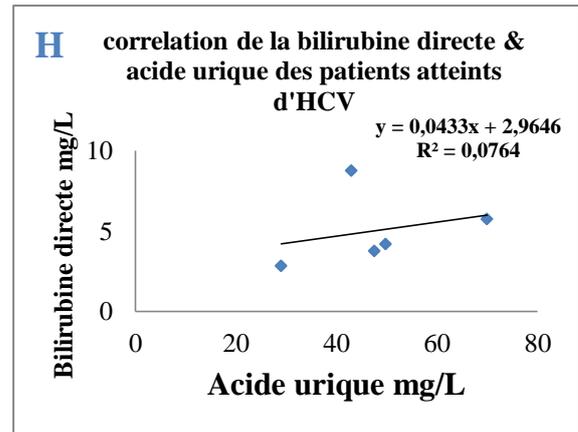
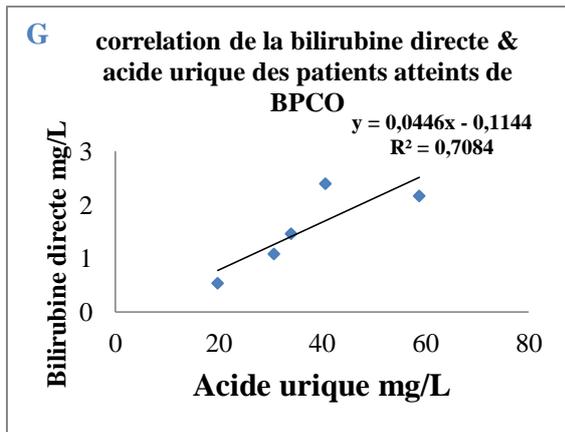


**Figure 87** : corrélation de la bilirubine totale & acide urique dans les différentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : Diabète type 2, C : cardiopathie, D : asthme, E : BPCO, F : HCV, G : AVC, H : HTA)

### VII-3- Les corrélations entre la bilirubine directe et l'acide urique

Les résultats des corrélations de la bilirubine directe et l'acide urique montrant la présence d'une significativité seulement dans les cas des patients atteints d'AVC et de BPCO.

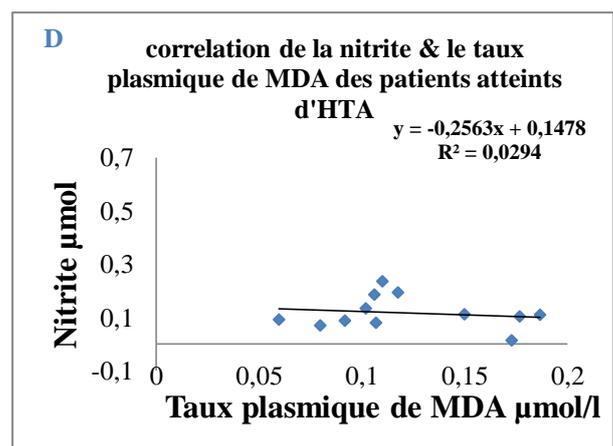
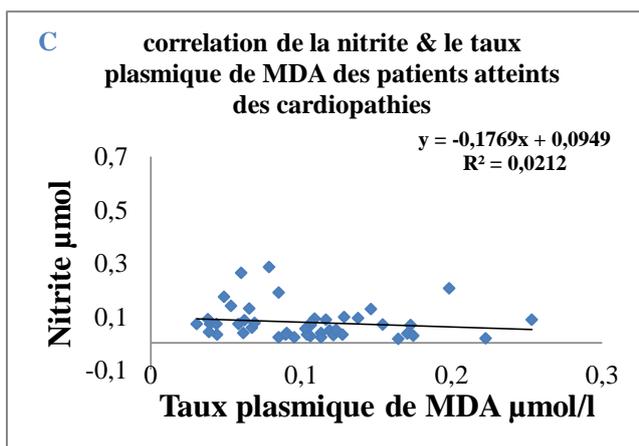
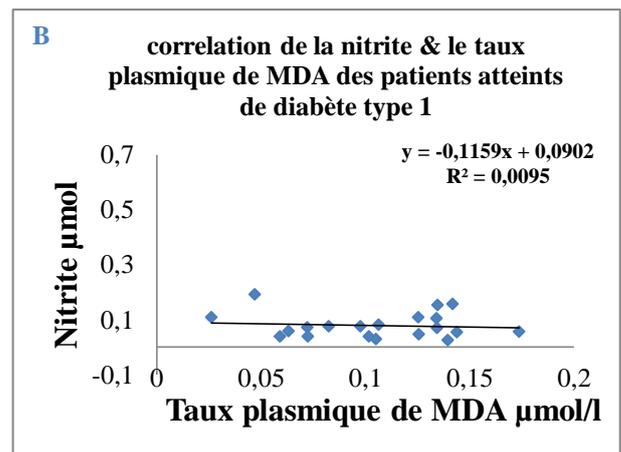
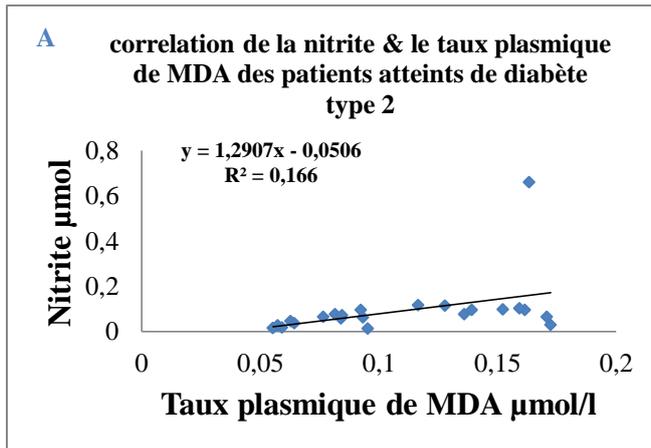


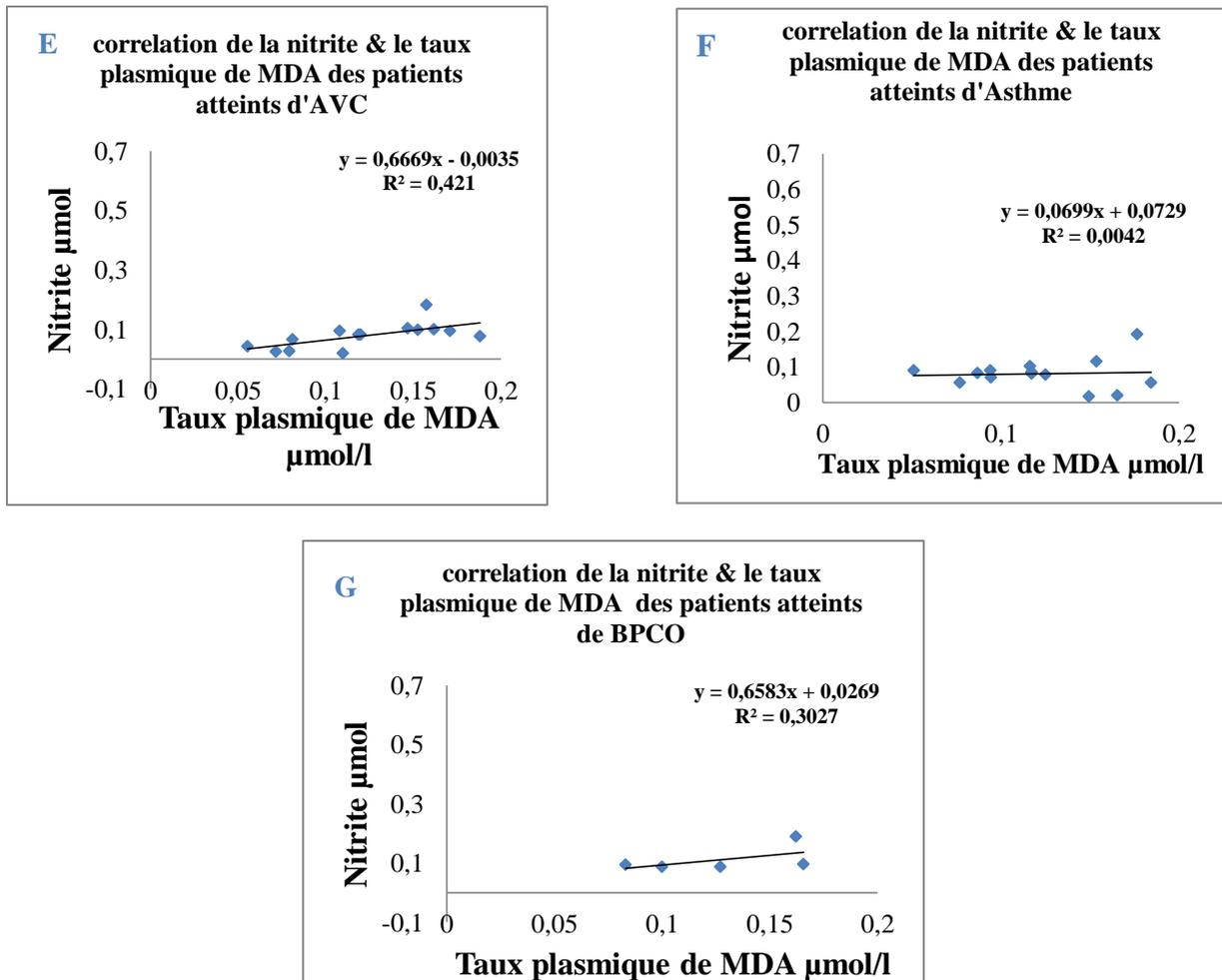


**Figure 88** : corrélation de la bilirubine directe & acide urique dans différentes maladies chroniques (A : diabète type 2, B : diabète type 1, C : cardiopathies, D : HTA, E : AVC, F : asthme, G : BPCO, H : HCV)

## VII-4- Les corrélations entre le nitrite et l'MDA

Les résultats des corrélations du nitrite et l'MDA montrant la présence d'une significativité seulement dans les cas des patients atteints de diabète type 2, d'AVC et de BPCO.

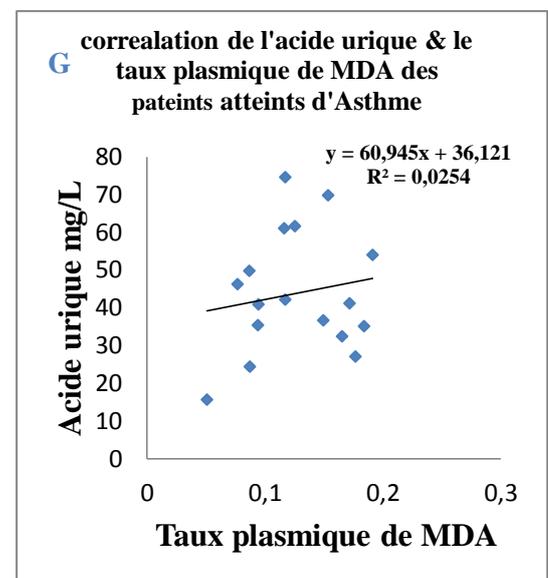
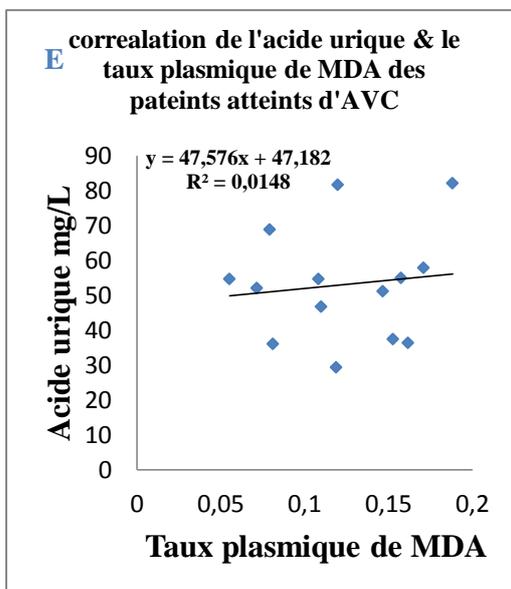
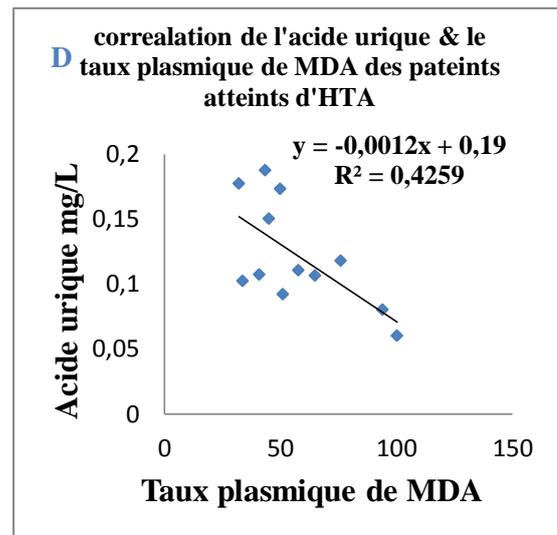
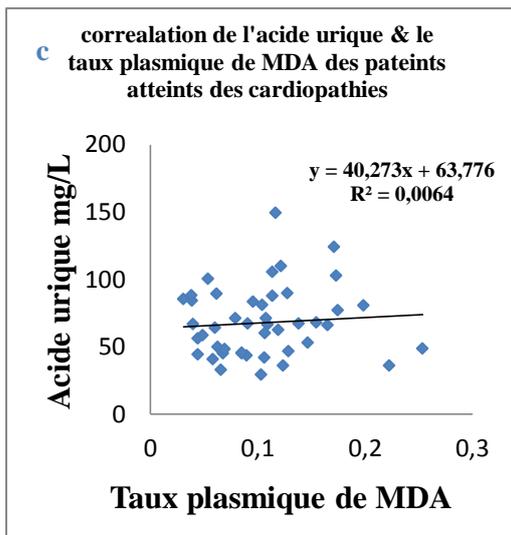
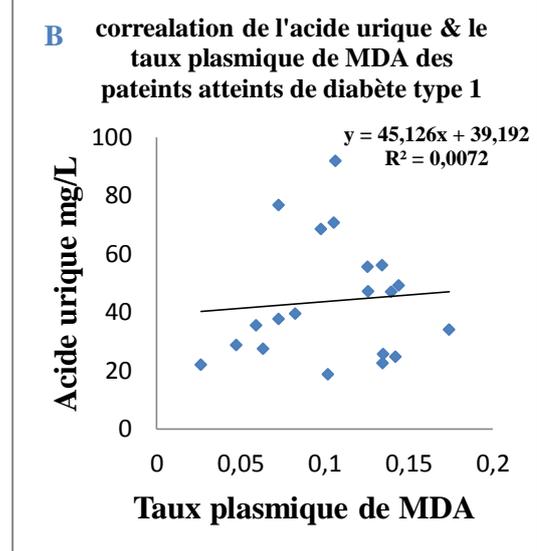
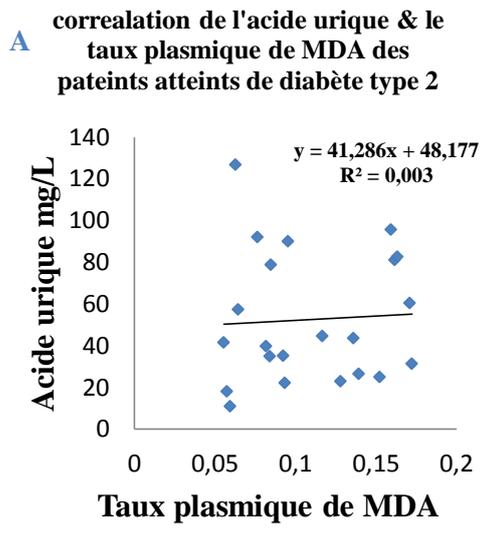


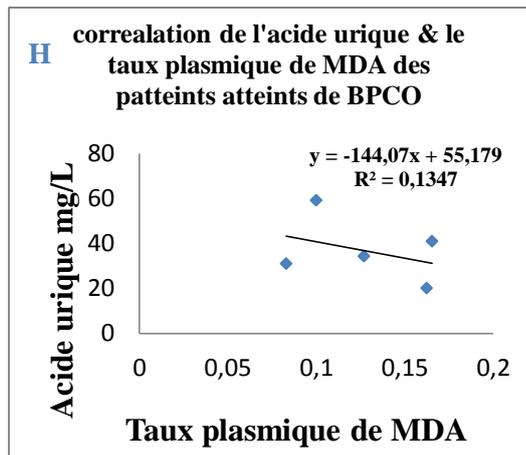


**Figure 89** : corrélation du nitrite & le taux plasmique de MDA dans différentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : diabète type1, C : cardiopathies, D : HTAE : AVC, F : asthme, G : BPCO)

## VII-5-Les corrélations entre l'acide urique et l'MDA :

Les résultats des corrélations de l'acide urique et le taux plasmique de l'MDA montrant la présence d'une signification seulement pour les malades atteints d'HTA et de BPCO.

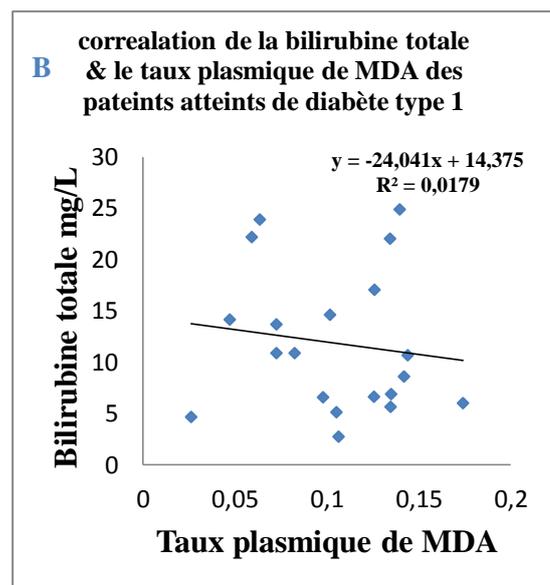
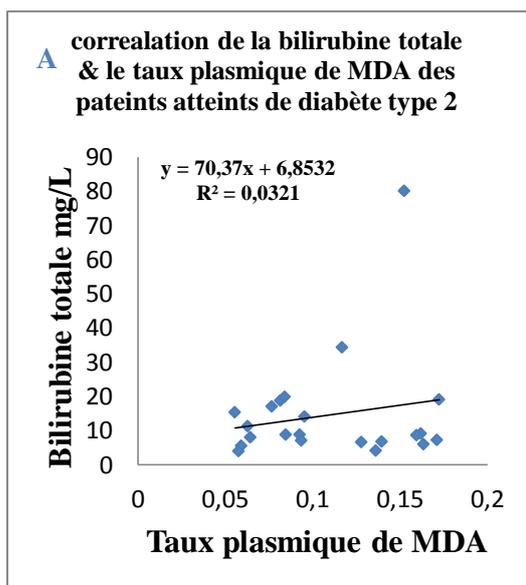


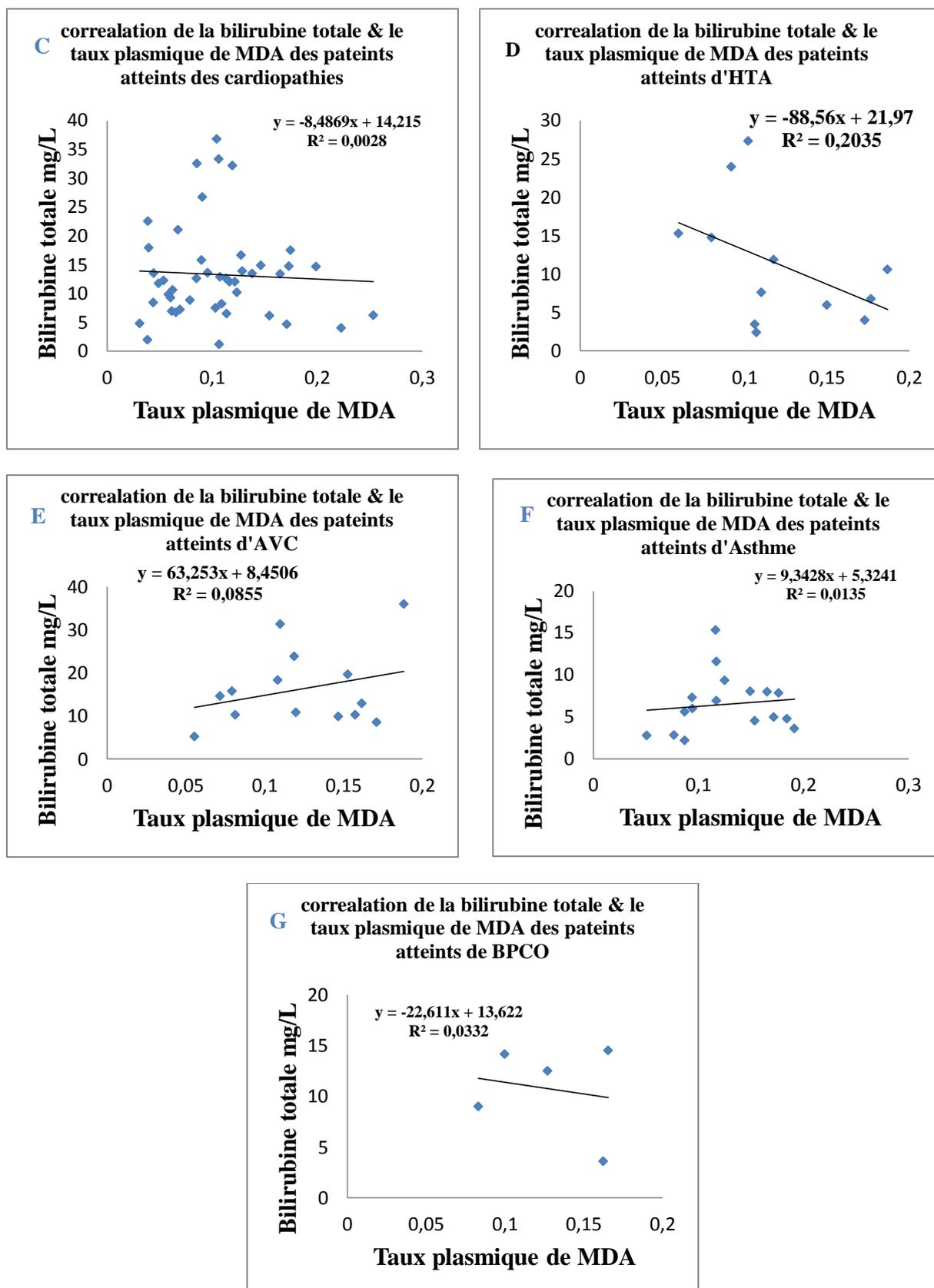


**Figure 90** : corrélation de l'acide urique & le taux plasmique de MDA dans différentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : diabète type1, C : cardiopathies, D : HTA, E : AVC, G : asthme, H: BPCO).

**VII-6- Les corrélations entre la bilirubine totale et l'MDA :**

Les résultats des corrélations de la bilirubine totale et le taux plasmique de l'MDA montrant la présence d'une signification seulement pour les malades atteints d'HTA et de d'AVC.

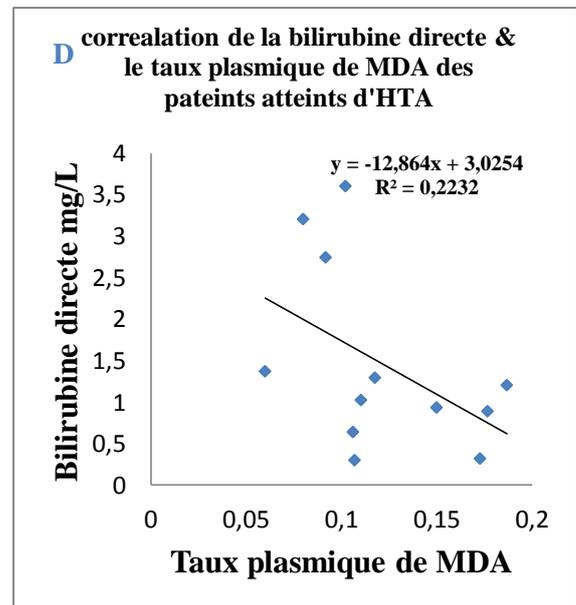
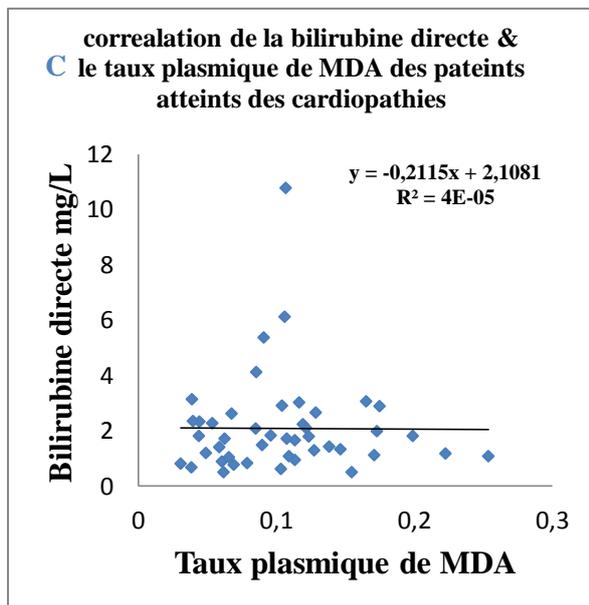
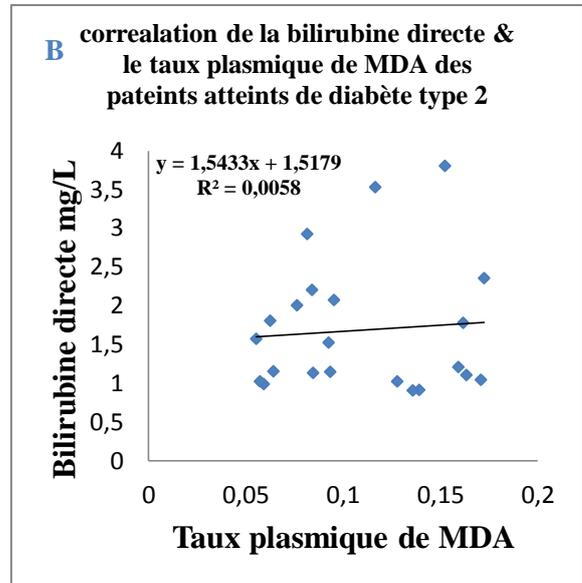
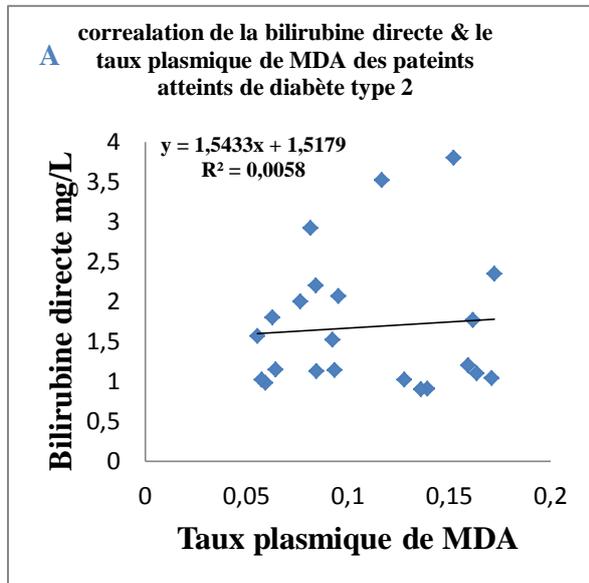


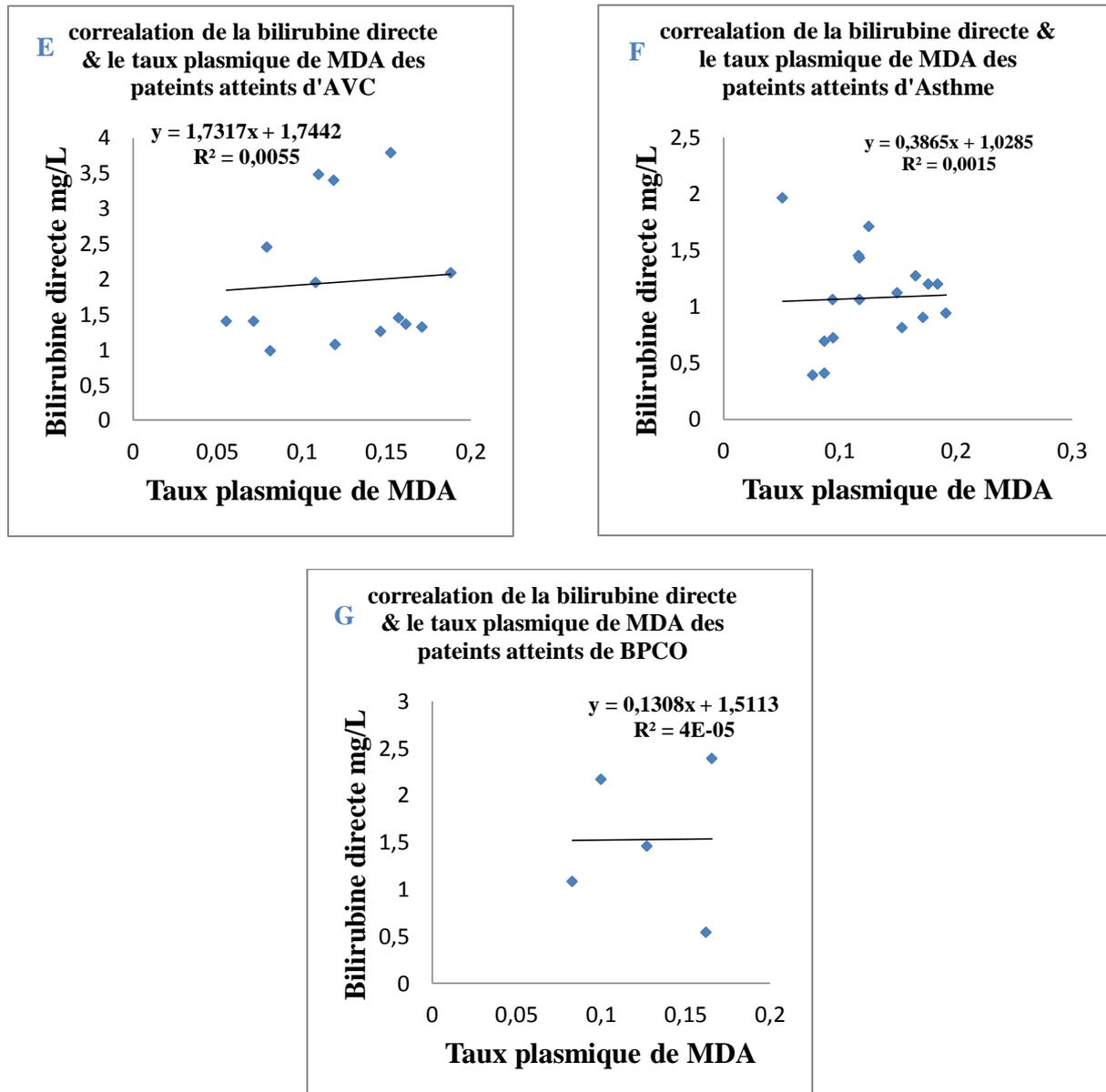


**Figure 90 :** corrélation la bilirubine totale & le taux plasmique de MDA dans différentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : diabète type1, C : cardiopathies, D : HTA, E : AVC, F : asthme, G: BPCO).

## VII-7-Les corrélations entre l'acide urique et l'MDA :

Les résultats des corrélations de La bilirubine directe et le taux plasmiqque de l'MDA montrant la présence d'une signification seulement pour les malades atteints d'HTA

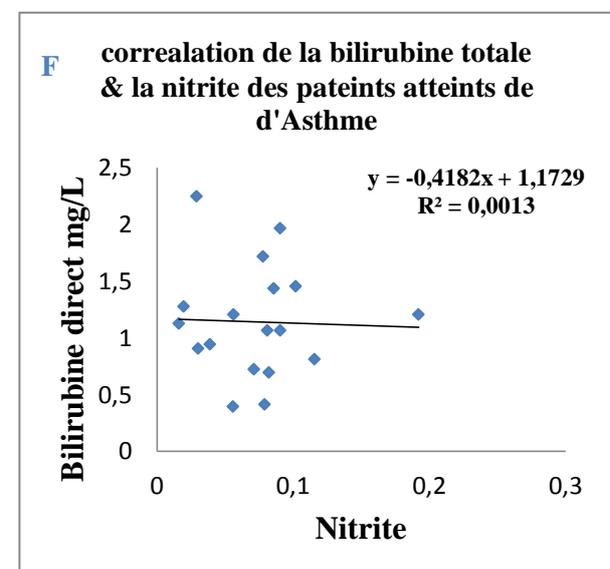
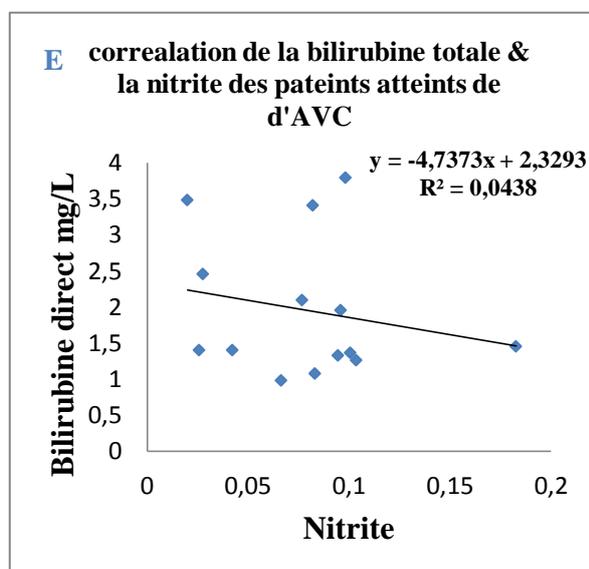
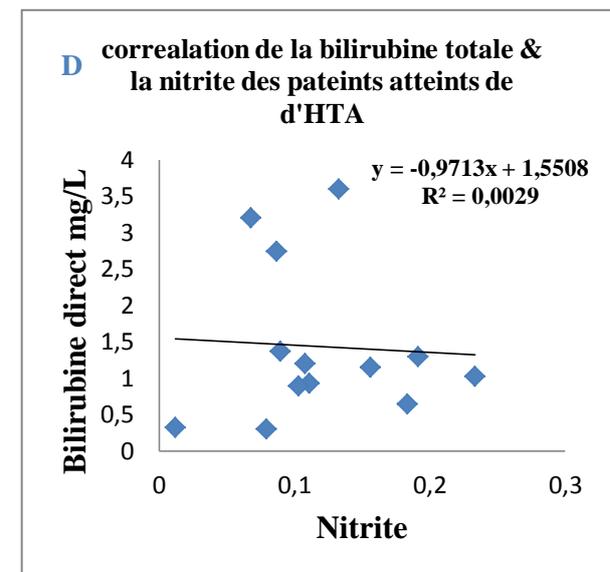
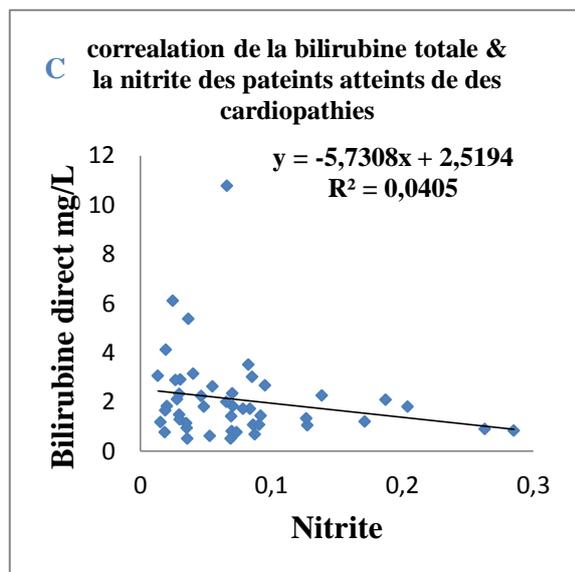
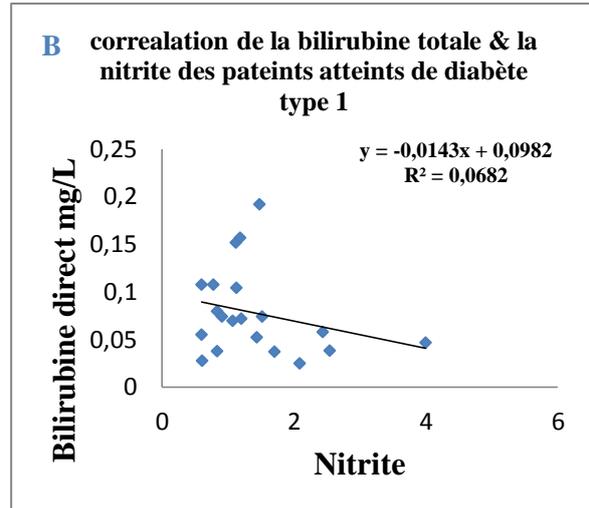
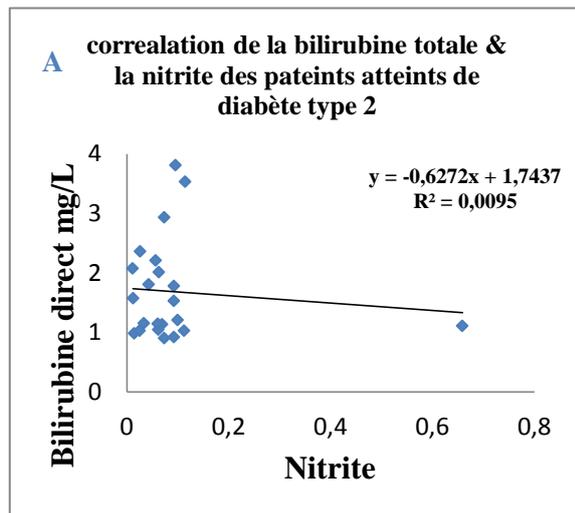


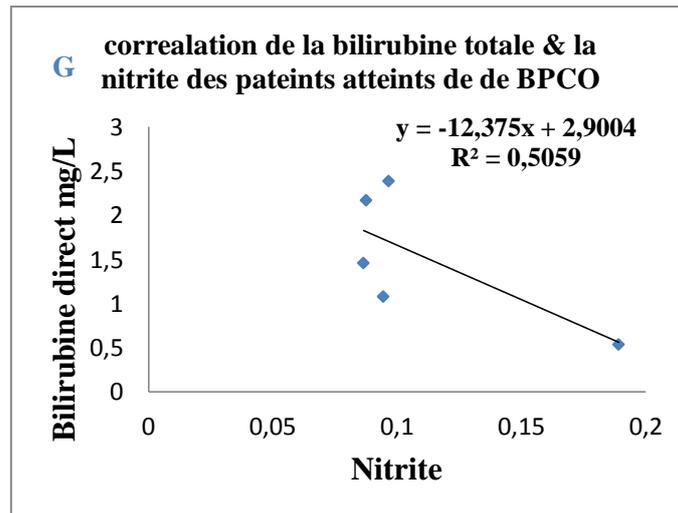


**Figure 91** : corrélation la bilirubine directe & le taux plasmique de MDA dans différentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : diabète type1, C : cardiopathies, D : HTA, E : AVC, F : asthme, G: BPCO).

## VII-8- Les corrélations entre la bilirubine directe et le nitrite

Les résultats des corrélations de La bilirubine totale et le nitrite montrant la présence d'une signification seulement pour les malades atteints de BPCO.

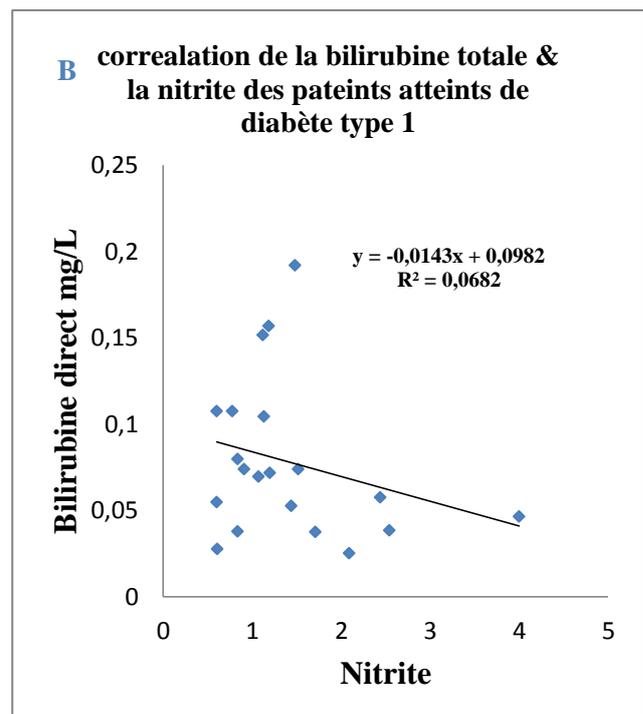
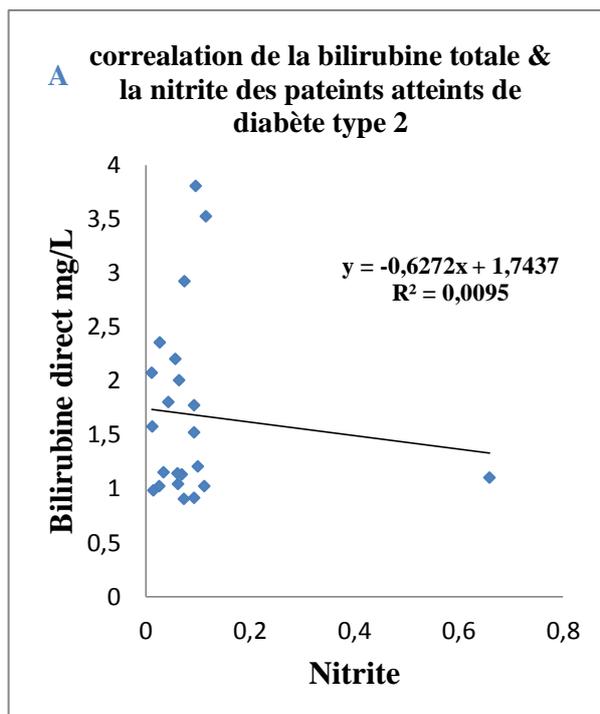


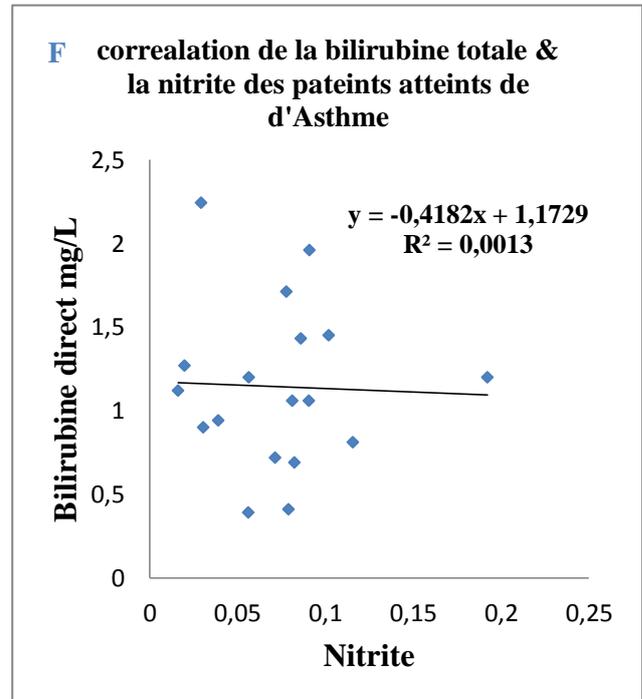
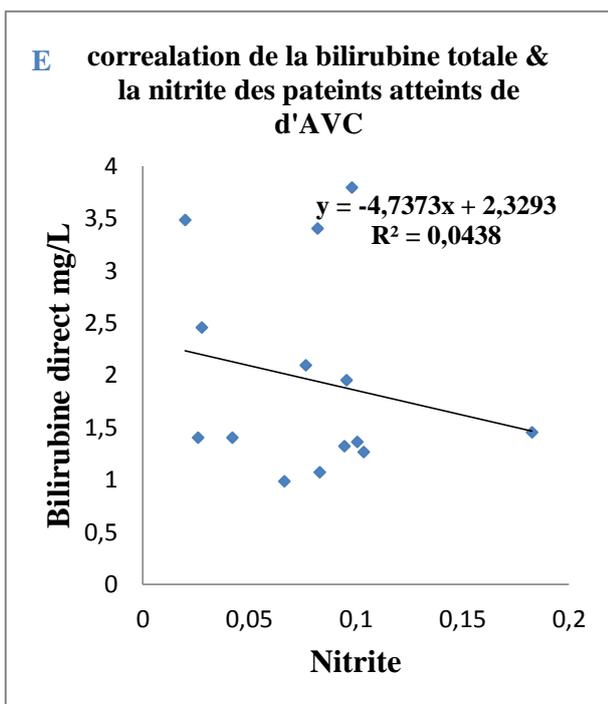
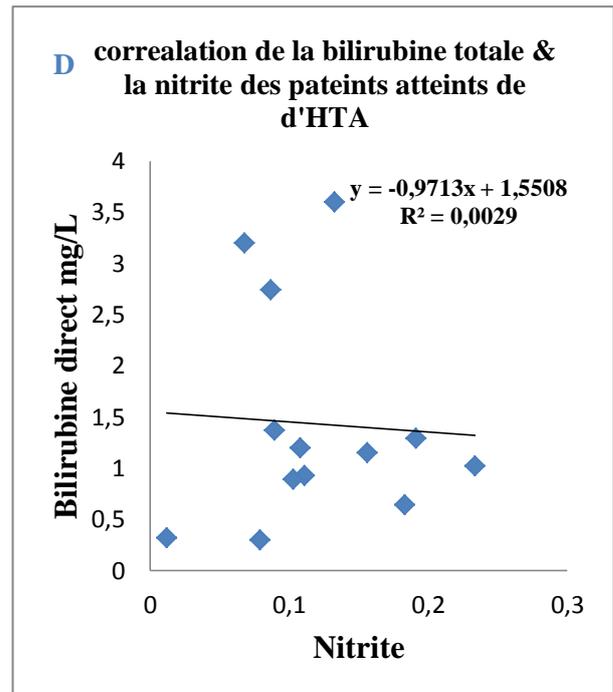
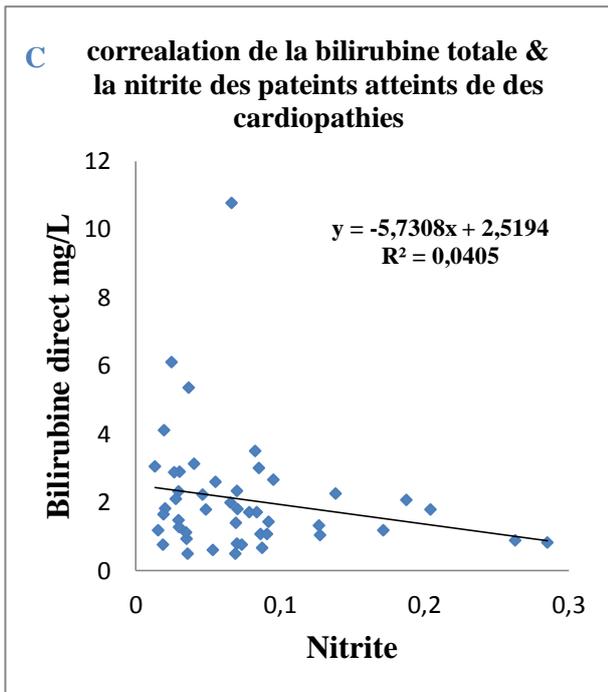


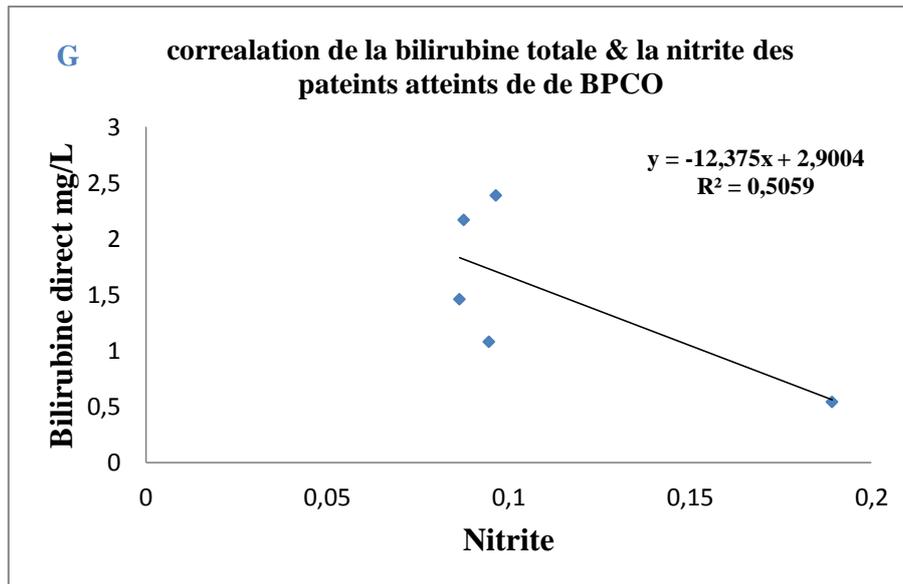
**Figure 92 :** corrélation la bilirubine directe & le nitrite dans différentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : diabète type 1, C : cardiopathies, D : HTA, E : AVC, F : asthme, G: BPCO).

**VII-9- Les corrélations entre la bilirubine totale et le nitrite**

Les résultats des corrélations de La bilirubine totale et le nitrite montrant la présence d’une signification seulement pour les malades atteints de BPCO.







**Figure 93** : corrélation la bilirubine totale & le nitrite dans différentes maladies chroniques (A : Diabète type 2, B : diabète type1, C : cardiopathies, D : HTA, E : AVC, F : asthme, G: BPCO).

# Discussion

### Discussion

Dans notre étude, nous avons estimé les variations des taux d'acide urique et de bilirubine chez des patients atteints par différentes pathologies chroniques. Ces deux molécules sont connues pour être de puissants antioxydants endogènes sériques. Pour montrer le but de notre étude, nous avons exploré la balance oxydant/ antioxydant par l'évaluation des taux des paramètres biochimiques (acide urique et bilirubine) parallèlement aux paramètres marqueurs de présence d'un stress oxydant.

Selon nos résultats, les paramètres liés au stress oxydant, à savoir les taux des nitrites et ceux du malondialdéhyde ont augmenté chez tous les patients alors que ceux des protéines totaux sont restés dans normes par rapport aux témoins. Une augmentation des taux d'acide urique et de bilirubine aussi bien totale que directe est observée chez les malades en comparaison avec les témoins sains.

#### 1-Influence de la pathologie sur les paramètres biochimique sériques

Initialement, l'acide urique a été suspecté d'avoir un rôle pathogène du fait de sa production au cours des phénomènes de lyse cellulaire et de dysfonctionnement endothélial. Ainsi, cet acide faible possède un rôle biphasique *in vitro*: à taux faible, il limite l'oxydation des acides gras libres et des LDL, mais à des taux plus élevé, il accentue cette oxydation et induit l'adhésion des plaquettes et des monocytes. L'apport en acide urique chez les cellules musculaires lisses vasculaires en culture implique le transfert membranaire par les transporteurs des anions organiques. L'augmentation des concentrations en acide urique intracellulaire active des MAP kinases responsables du transfert nucléaire du facteur de transcription NFκB ainsi que de la mise en jeu des promoteurs AP-1 des gènes des réponses inflammatoire (MCP-1, COX-2) et fibrosante (PDGF, TGFs, TIMP) au cours stress oxydant (Zaoui, 2005).

Une augmentation prédominante de la bilirubinémie non conjuguée peut provenir soit d'une destruction augmentée de l'hémoglobine, soit d'une captation ou d'une conjugaison insuffisante de la bilirubine par l'hépatocyte. Une augmentation prédominante de la bilirubine conjuguée provient d'un défaut de sécrétion canaliculaire de la bilirubine conjuguée par l'hépatocyte (Lyoumi *et al.* , 2007).

### 1-1-Variation de l'acide urique et la bilirubine dans les maladies cardiovasculaires

Dans notre étude, les patients atteints d'insuffisance cardiaque et les patients atteints d'HTA ont montré une augmentation dans le taux d'acide urique. Nos résultats sont en accord avec les travaux de différentes équipes (**Hare et Johnson, 2003 ; Caliskan M *et al.*, 2014; Kanbay *et al.*, 2012**). Par contre, les patients atteints d'AVC ne montrent pas de changement significatif en comparaison avec les témoins sains.

Les travaux de Kanbay et son équipe (**2013**) affirment que des concentrations élevées en acide urique sont concomitantes à une hypertension avec une relation directe entre le niveau de pression sanguine et l'acide urique. En effet, l'hyperuricémie a été démontrée comme provoquant une hypertension via des voies qui impliquaient une réduction de l'oxyde nitrique synthase dans la macula densa du rein, une stimulation du système rénine-angiotensine (RAAS) et une réduction de la perfusion rénale. Des travaux réalisés sur des animaux ont montré que l'hyperuricémie induit une HTA aiguë et chronique par l'intermédiaire de dommages vasculaires et glomérulaires irréversibles.

Les sujets atteints d'insuffisance cardiaque montrent une élévation des taux sériques d'acide urique associée à plusieurs facteurs tels qu'à la réduction de la capacité d'exercice, à des marqueurs d'inflammation, à un dysfonctionnement endothéliale, stress oxydatif et dysfonctionnement diastolique. Cette hyperuricémie peut être expliquée par plusieurs mécanismes dont la sur-régulation de l'activité de la XO, l'augmentation de la conversion de la XDH en XO, l'augmentation de l'hypoxanthine et de la xanthine, la diminution de la perfusion rénale et la diminution de l'excrétion par compétition avec les lactates dans le tubule proximal via un échangeur d'anions.

Contrairement à nos résultats, des travaux antérieurs ont montré qu'une augmentation des taux d'acide urique est associée à une augmentation du risque d'AVC non embolique; ceci s'explique par le fait que l'hypertension est un puissant prédicteur de l'AVC et que l'acide urique est communément associé à l'hypertension (**Lippi *et al.*, 2008**).

Nos résultats concernant le taux de la bilirubine totale montrent une augmentation dans toutes les maladies cardiovasculaires, par ailleurs les résultats de la bilirubine directe montrant la présence d'une augmentation significative seulement chez les patients hypertensifs. Nos résultats sont en accord avec des travaux précédents montrant que des taux élevés de bilirubine sérique peuvent diminuer le risque de l'hypertension par l'inactivation et

par l'inhibition de la synthèse des espèces réactives de l'oxygène dans les cellules vasculaires (**Wang et Bautista, 2014**). Aussi, Vitek et ses collaborateurs ont montré l'effet bénéfique des taux élevés de bilirubine dans la prévention des maladies cardiaques ischémiques (**Vitek et al., 2002**).

### **1-2-Variation de l'acide urique et la bilirubine dans les maladies respiratoires**

Les résultats du dosage de l'AU chez les malades atteintes d'asthme et de BPCO ne montrant aucune différence significative par rapport au groupe témoin contrairement aux taux de bilirubine directe et totale.

Les travaux concernant les taux d'acide urique dans les maladies respiratoires donnent des résultats paradoxaux selon les conditions de travail. Ainsi, l'acide urique et d'autres métabolites puriques sont fortement liés et positivement corrélés avec l'inflammation neutrophilique dans les BPCO. Par contre, Horsfall et ses collaborateurs ont montré que les taux d'acide urique sérique étaient associés à des fréquences élevées d'atteintes de BPCO et de cancer de poumon chez les fumeurs (**Horsfall et al., 2014**). D'autres travaux ont noté une augmentation des taux d'acide urique dans le liquide broncho-alvéolaire et dans des homogénats de tissus pulmonaire chez des patients asthmatiques et dans des modèles animaux (**Setiawan et al., 2016**); ceci selon le stade et la sévérité (exacerbation) de l'asthme. Ainsi, les taux d'acide urique augmentent au début d'asthme puis diminuent graduellement avec l'exacerbation de la maladie (**Li et al., 2014**). Cependant, dans l'étude métabolomique effectuée par YU et son équipe (**2016**) sur un modèle de souris BALB/c sensibilisées avec de l'ovalbumine, des taux diminués d'acide urique ont été retrouvés dans le plasma suggérant une inhibition de l'expression de la xanthine oxydase (**Yu et al., 2016**). Nos résultats pourraient être expliqués par le fait que nos malades soient dans un stade avancé de la maladie où les taux d'acide urique sont faibles.

Les travaux de Almolki montrent que l'hème oxygénase HO et les produits de dégradation de l'hème exercent des effets bénéfiques multiples dans les voies aériennes: relaxation du muscle lisse, inhibition de la prolifération et du remodelage bronchique, diminution de l'inflammation, de la sécrétion de mucus. Les mécanismes expliquant ces effets sont multiples et relèvent de l'action conjointe de la bilirubine et du CO: limitation du stress oxydant local, modulation de la signalisation redox, effet relaxant direct sur le muscle lisse ou par le biais de la baisse de l'inflammation (**Almolki, 2007**).

### 1-3-Variation de l'acide urique et la bilirubine chez les diabétiques

Dans notre étude nous avons observé que le taux de l'acide urique reste dans les normes pour les patients atteints de diabète type 1 et 2. Des résultats contradictoires sont retrouvés dans la littérature. Ainsi nos résultats corroborent les travaux de Kushiya et ses collaborateurs (2014) en ce qui concerne le diabète de type 2 alors que l'étude de Damoune *et* son équipe (2013) rapporte la présence d'une augmentation des taux d'acide urique chez les diabétiques. La diminution de l'acide urique peut être expliquée par une formation accrue de radicaux libres montrant que l'acide urique comme un antioxydant est utilisé dans la lutte contre le stress oxydatif. En outre, le niveau acide urique sérique est faible en raison de la clairance de l'urate augmenté (Kushiya *et al.*, 2014). Le faible effectif de la population étudié ainsi que le traitement médical pris par les patients pourrait également avoir un effet sur nos résultats.

Une augmentation respectivement significative a été observée dans les taux de la bilirubine totale dans les deux types de diabète. Par contre pour les résultats de la bilirubine directe l'augmentation a été observé seulement pour les diabétique de type 2. Nos résultats sont accord avec ceux de l'équipe de Kushiya (2014). La bilirubine est connue pour présenter non seulement des propriétés antioxydantes puissantes en éliminant les espèces réactives d'oxygène, mais aussi des propriétés anti-inflammatoires en inhibant l'induction de trois molécules d'adhésion endothéliale liées au TNF $\alpha$ : E-sélectine, VCAM-1 et ICAM. Aussi, des travaux ont démontré que les patients diabétiques de type 2 avec des taux élevés de bilirubine totale sérique avaient moins de complication de rétinopathie diabétiques. Ainsi, la concentration de bilirubine total est plus basse chez les patients avec un diabète de type 2 compliqué avec une sévère rétinopathie; ce qui montre l'effet protecteur de la bilirubine (Sekioka *et al.*, 2015).

### 1-4- Variation de l'acide urique et la bilirubine chez les patients atteint d'HCV

Les taux de l'acide urique chez les patients atteints d'HCV restent dans les normes que celles des témoins. Alors qu'une augmentation significative des taux de la bilirubine totale et directe a été observée chez ces patients par rapport au groupe des sujets sains.

Peu de travaux ont été réalisés sur l'uricémie chez les patients atteints de HCV. Ces dernières ne sont pas concluantes car le taux de malades ayant une uricémie élevée est faible et que plusieurs facteurs associés à la maladie ainsi que la thérapie influence les taux d'acide

urique chez les patients (**Petta et al., 2012**). L'hyperuricémie est également trouvée liée au développement d'une cirrhose ce qui pourrait expliquer nos résultats car dans le lot de patients étudiés était initialement petit et certains uniquement avaient développé une cirrhose.

En ce qui concerne la bilirubinémie, nos résultats sont confortés par les travaux de l'équipe de **Cengiz** qui ont trouvé une corrélation négative entre les niveaux de bilirubine indirecte et le degré de la fibrose hépatique causée par le HCV. Ainsi, les patients ayant un stade avancé de fibrose avaient des taux plus bas de bilirubine indirecte que ceux ayant une fibrose modérée (**Cengiz et al., 2014**). Cet effet serait lié à l'action anti-inflammatoire de la bilirubine mais aussi à son effet antioxydant.

## 2- Evaluation des marqueurs du stress oxydant dans les différentes maladies

### 2-1- Les maladies cardiovasculaires

Notre étude indique la présence d'une augmentation respective des taux des nitrites et de MDA chez tous les patients atteints par des maladies cardiovasculaires.

L'étude de **Le Corvoisier (2000)** a montré qu'il y a une augmentation de taux de nitrite chez les patients atteints de cardiopathies par rapport aux témoins sains. L'implication du monoxyde d'azote (NO) dans la physiopathologie du myocarde a été mise en évidence. Lors de l'insuffisance cardiaque, des cytokines stimulent l'activation de l'isoforme inductible des NO synthases (iNOS), ce qui entraîne la formation de quantité importante de NO. Celui-ci est responsable d'une réduction de la sensibilité du myocarde aux catécholamines, et participe à l'altération de la fonction ventriculaire gauche. Par ailleurs, il exerce des effets pro-apoptotiques. Lors de l'infarctus du myocarde, l'infiltration de celui-ci par les macrophages entraîne également une production de NO en quantité importante.

L'équipe de **Delattre (2013)** sont en accord avec nos résultats sur l'augmentation des nitrites chez les patients atteints d'AVC. L'ischémie entraîne une activation de la voie des Nitric Oxide Synthase (NOS) dont il existe trois types au sein du tissu cérébral. La NOS I se trouve au niveau du tissu neuronal, la NOS III se situe au sein de l'endothélium vasculaire. Ces enzymes sont constitutionnellement actives et  $Ca^{2+}$  dépendantes. La NOS II est induite par des cytokines au niveau de la glie et des neutrophiles. Lors de l'activation de ces enzymes par l'ischémie, il y a production d'oxyde nitrique (NO) qui va avoir plusieurs effets selon le type de cellules cibles. Les NOS I et II vont être délétères au niveau des neurones et de

l'infiltration des neutrophiles car elles entraînent la production d'un peroxy-nitrite (ONOO-) extrêmement toxique.

Nos résultats sur l'augmentation de MDA chez les patients atteints de maladies cardiovasculaires étaient en accord avec l'équipe de **Monteil (2004)**. La production d'ERO au niveau de la mitochondrie lui est dommageable et se traduit par une altération des macromolécules mitochondriales. C'est ainsi que la peroxydation lipidique, provoquée par l'oxydation des lipides au niveau des acides gras polyinsaturés des membranes, produit des aldéhydes tels que le malondialdéhyde dont il a été montré récemment qu'il pouvait inactiver l'isocitrate déshydrogénase mitochondriale. L'altération de cette enzyme clé du métabolisme énergétique myocytaire intervient précocement au cours du développement de l'hypertrophie cardiaque et suggère fortement l'implication du stress oxydant dans les altérations métaboliques observées au cours de l'insuffisance cardiaque.

### **2-2-Les maladies respiratoires**

Nos résultats indiquent la présence d'une augmentation significative dans les taux des nitrites et de MDA chez les atteints par l'asthme et BPCO

Nos résultats concernant l'augmentation de nitrite chez les patients atteints d'asthme sont en accord avec ceux de **Barnes (1999)** qui affirment que l'augmentation de l'expression d'iNOS dans les bronches de sujets asthmatiques, particulièrement dans les cellules épithéliales et dans les macrophages. Il est probable que cela provient de l'action des cytokines pro-inflammatoires, des oxydants et, peut-être, d'autres médiateurs inflammatoires. Puisque le NO est un gaz, il diffuse dans la lumière bronchique, et peut donc être détecté dans l'air expiré. Il y a une augmentation du NO dans l'air expiré par des sujets asthmatiques, qui provient des petites bronches. Cette augmentation du NO expiré dans l'asthme est associée à l'inflammation des bronches, et croît pendant la réponse tardive à l'allergène et les exacerbations.

### **2-3-Le diabète**

Notre étude montre une augmentation significative dans les taux des nitrites et de MDA chez les deux types de diabète

Les résultats de **(Ye, 2013)** ont montré que il y a une augmentation de taux de nitrite chez les diabétiques de type 2 par rapport aux témoins sains. Dans les maladies métaboliques, la iNOS semble être impliquée dans la relation entre l'obésité et le diabète de type 2. Il a en effet été démontré que l'obésité induite par un régime riche en graisses entraîne la production de cytokines par les cellules adipeuses et le TNF- $\alpha$  agit par l'intermédiaire de son récepteur p55 pour inhiber l'IRS-1 dans la voie de signalisation de l'insuline. L'activation d'IKK $\beta$  et JNK1 implique dans l'inhibition de l'IRS-1 par le TNF- $\alpha$ . En outre, le TNF- $\alpha$  inhibe également la fonction de PPAR  $\gamma$  dans l'induction de la résistance à l'insuline dans le tissu adipeux.

De l'autre côté, l'étude de **Koceir (2008)** est montrée que il y a une augmentation de taux de nitrite chez les diabétiques de type 2 par rapport aux témoins sains. Le stress oxydant conduit vers la destruction insulaire du pancréas, soit par nécrose ou apoptose de la cellule  $\beta$ . Les effets délétères à la fois de l'hyperglycémie chronique (*glucotoxicité*) et des Acides Gras Libres (*lipotoxicité*) trouvent leur impact au niveau mitochondrial. En effet, l'élévation accrue des AGL favorise la synthèse de céramides qui vont activer la NO synthase. L'excès de NO formé accentue la formation du radical du monoxyde d'azote, ce qui va inhiber le cytochrome C oxydase, entraînant l'ouverture du Pore de Transition de Perméabilité (PTP) de la membrane interne mitochondriale. Cette brèche du PTP conduit à la fuite de protons et entraîne à son tour un gonflement mitochondrial, la sortie du cytochrome C dans le cytosol et l'activation des caspases, phénomène relié à la mort de la cellule  $\beta$ .

Le travail antérieur de l'équipe **(Slatter et al., 2000)** conforte notre étude sur l'augmentation de taux de MDA chez les diabétiques. Cette étude a révélé une augmentation du taux de MDA chez les deux sexes chez les patients atteints de diabète de type 2 par rapport aux sujets non diabétiques, en soutenant les résultats par d'autres études. En tant que produit aldéhyde de la peroxydation lipidique, la MDA est un biomarqueur de la peroxydation lipidique intensifiée et des preuves indirectes de production élevée de radicaux libres dans le diabète. L'augmentation de la peroxydation lipidique altère la fonction de la membrane en diminuant la fluidité de la membrane et en modifiant l'activité des enzymes et des récepteurs liés à la membrane. L'augmentation du peroxyde de lipide peut être due à l'augmentation de la glycation des protéines dans le diabète, et les protéines glyquées peuvent elles-mêmes être une source de radicaux libres. Il existe une association claire entre le peroxyde lipidique et la concentration de glucose, qui peut également être considéré comme un rôle dans l'augmentation de la peroxydation lipidique dans le diabète. L'étude de **Bhutia et al 2011** a

noté des augmentations significatives du taux de MDA et de la glycémie à jeun dans un diabète de type 2 mal contrôlé. Dans la présente étude, les niveaux accrus de MDA montrent clairement que les patients diabétiques ont été exposés à un stress oxydatif accru par la peroxydation lipidique.

### 2-4-L'HCV

Nos résultats indiquant la présence d'une augmentation significative dans les taux des nitrites et d'MDA chez atteints par L'HCV

L'étude de (**El Sayed Zaki et al., 2010**) est sondée avec nos résultats qui ont été trouvés que le taux de nitrite ont été élevé chez les patients atteints de HCV. L'hépatite C (VHC) et de l'inflammation induite par le stress oxydatif a été impliquée en tant que facteurs de risque de lésions du foie. L'infection par le VHC induit la production d'espèces réactives d'oxygène et d'oxyde nitrique total (NO), qui comprend à la fois les nitrites (NO<sub>2</sub>) et les nitrates (NO<sub>3</sub>). L'ARN du VHC est reconnu par une réponse immunitaire innée à travers le récepteur Toll-like qui réagit avec la production d'IFN-1a et d'IFN-1b. L'IFN-1 stimule l'enzyme de l'oxyde nitrique synthase (NOS) qui est exprimée dans les hépatocytes et les macrophages comme la iNOS.

### 1-3-Le dosage des protéines totaux

Nos résultats concernant les protéines totaux ne montrent aucune différence significative par rapport aux témoins. L'albumine représente la protéine majeure du plasma et l'antioxydant prédominant. Elle contient un résidu cystéine réduit (Cys 34) qui constitue un large pool de thiol dans la circulation. A travers la Cys 34 réduite, l'albumine est capable de neutraliser l'effet des radicaux hydroxyles. Les taux protéiques plasmatiques chez les patients étudiés n'étant pas été affecté pourraient être le signe que la formation des radicaux libres n'a pas dépassé la capacité de l'albumine à les neutraliser sinon son altération aurait eu pour conséquence la diminution des taux comme c'est le cas dans la cataracte (**Adedapo et al., 2012**). L'albumine agit indirectement comme antioxydant par sa capacité à transporter la bilirubine qui se lie fortement à la molécule à la Lys 240. Le complexe formé agit comme un inhibiteur de la peroxydation lipidique (**Adedapo et al., 2012**).

# Conclusion

### Conclusion

Dans notre étude, nous avons estimé les capacités anti oxydantes sériques chez les patients atteints des différents types de maladies chroniques de la région de Tébessa. Pour cela, nous avons en premier lieu évalué les marqueurs du stress oxydatif (nitrites, protéine totaux et la peroxydation lipidiques) puis réalisé le dosage des paramètres biochimiques antioxydants sériques à savoir l'acide urique, la bilirubine directe et bilirubine totale chez des patients atteints de différentes pathologies chroniques.

Les résultats de notre étude sur les marqueurs oxydatives :

- ✓ Une augmentation des taux des marqueurs de stress oxydant : les nitrites et malondialdéhyde chez toutes les maladies chroniques étudiées.

Les résultats de notre étude sur la défense antioxydante :

- ✓ Une augmentation de taux d'acide urique dans l'hypertension artérielle et les différentes cardiopathies. Par contre aucune différence significative chez les patients atteints de diabète type 01 et 02, AVC, Asthme, BPCO et HCV par rapport aux témoins.
- ✓ Une élévation significative des taux de la bilirubine totale dans toutes les maladies étudiées. Nous avons constaté aussi des taux élevés de la bilirubine direct chez les patients à l'exception de ceux qui atteints de diabète type 01, HTA, Asthme et BPCO.
- ✓ Les associations entre les différentes maladies chroniques donnent une influence sur la perturbation de taux d'acide urique; le diabète se influence avec les cardiopathies et montrent une différence significatif et le cas de association de diabète/HTA/cardiopathie montrent une différence significative légère contrairement avec HTA/diabète ne montrent aucune différence significative. Par contre la bilirubine totales augmente avec toutes les associations. Ainsi la bilirubine directe montre une différence significative avec: diabète/cardiopathie, HTA/cardiopathie et HTA/cardiopathie/HTA.

Les résultats des études présentées dans notre travail confirmeraient la présence du stress oxydatif durant toutes les maladies étudiées et nous à permis de montré que il ya une perturbation dans la défense anti oxydante de ces maladies.

La corrélation entre les différents paramètres n'étant pas concluante, d'autres travaux seraient nécessaire avec un effectif plus large et en prenant en considération la thérapie ainsi que les caractéristiques des patients à savoir l'âge, le sexe et les particularités biochimiques sériques.

# Références bibliographiques

## Références Bibliographique

---

### A

**Adedapo; Kayode ,S ; Saudat T ; Kareem ;Charles O; Bekibele ; Nnenna ,L ;wobi,N.** 2012. Increased oxidative stress and non-enzymatic antioxidant levels in senile cataract. Archives of Applied Science Research, 4 (6):2461-2466.

**Almolki, A.**2007. Physiologie et physiopathologie de l'hème oxygénase 1 : implication dans la modulation de la contractilité et prolifération du muscle lisse bronchique et de la sécrétion de mucus dans les maladies obstructives bronchiques. Doctoral thesis in Sciences de la vie et de la santé. Physiologie et physiopathologie de l'appareil respiratoire. Université Paris-Est Créteil Val de Marne (UPEC).

**Ames, B.N; Cathcart, R; Schwiers, E; Hochstein, P.**1981.Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: A hypothesis.Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 78 (1981) 6858-6862.

**Anita, A; Noel, S; Weiss, E; Boyko; George, N.**2012. Association between serum uric acid level and chronic liver disease in the United States. ; 52:578-589.

**Arteel, G; Marsano, L; Mendez, C; Bentley, F; McClain, C.J.**2003. "Advances in alcoholic liver disease", Best Practice & Research, Clinical Gastroenterology, Vol. 17, p. 625.

**Atamer ,A,Y ; Bilici ,A ; Yenice ,N ; Selek ,S ; Ilhan ,N.**2008. The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. *J Int Med Res*36, 771-776.

**Auberval, N.**2010.Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle.pp :65.

### B

**Barnes, P.**1999.Monoxyde d'azote et asthme. La Lettre du Pneumologue, national Heart and Lung Institute, Imperial College, Londres, Grande-Bretagne, Vol. II, n° 1, pp: 25-27.

**Barton, C.H; Ni, Z; Vaziri, N.D.**2001.Enhanced nitric oxide inactivation in aorticcoarctation-induced hypertension. *Kidney Int.* 60(60): 1083-1087.

**Baudin, B.**2006.Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires; 2 (1) : 43-52.

## Références Bibliographique

---

**Belguendouz, H ; Messaoudéne, D ; Lahmar, K ; Ahmedi, L ; Medjeber, O ; Hartani, D ; Lahlou-Boukoffa, O ; Touil-Boukoffa, C.**2011. Interferon-g and Nitric Oxide Production during Behçet Uveitis: Immunomodulatory Effect of Interleukin-10. *Journal of interferon & cytokine research*. Volume 31, Number 9.643-651.

**Bhutia ,Y ; Ghosh ,A ;Sherpa ,M.L ; Pal ,R ; Mohanta ,P.K.**2011. Serum malondialdehyde level: Surrogate stress marker in the Sikkimese diabetics. *J Nat Sci Biol Med*. Jan; 2(1):107-12.

**Boyer, L.**2012. Rôle du Monoxyde d'Azote (NO) et des NO synthases dans la physiopathologie de la BPCO et de ses complications cardiovasculaires. *IMRB-Institut Mondor de recherche biomédicale*.

**Bradamante, V; Kelava, M; Koprivanac, M; Lovric, J; Macan, M; Mesic, M.**2008. Measurement of malondialdehyde (MDA) level in rat plasma after simvastatin treatment using two different analytical methods. *PERIODICUM BIOLOGORUM*. VOL. 110, No 1, 63–67.

### C

**Caliskan ,M ; Guven ,A ; Ciftci ,O ; Ozulku ,M ; Gunday ,M ; Barutcu ,I.**2014. Serum uric acid and carotid artery intima media thickness in patients with masked hypertension; *69(4):417-23*.

**Cengiz, M; Yılmaz, G; Ozenirler, S.**2014. The association between indirect bilirubin levels and liver fibrosis due to chronic hepatitis C virus infection. *Pathology - Research and Practice* Volume 210, Issue 8, Pages 488–493.7

**Cortijo, J; Marti-Cabrera, M; Asuncion, J.G; Pallardo, F.V; Esteras, A; Bruseghini, L; Vina J; Morcillo E.J.** 1999. Contraction of human airways by oxidative stress protection by N-acetylcysteine. *Free Radical Biol. Med.* 27, (3-4), 392-400.

### D

**Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., & Milzani, A. (2006).** Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin. Chem.*, 52, 601–623.

## Références Bibliographique

---

**Damoune, I ; Lahlou, A ; El Ouahabi, H; Ajdi, F ; Sy, O ; Nejjari, C.** 2013. P232 Acide urique et diabète type 2. *Diabetes & Metabolism* .Volume 40, Supplement 1, Page A83.

**Delattre, C.** 2014. Approches physiopathologiques des interactions entre accident vasculaire cérébral et démence vasculaire. Thèse. Neurosciences. Université Lille- Nord de France.

### E

**El Sayed Zaki, M; Saady, N; El Diasty, A.**2010.Study of Nitric Oxide in Patients with Chronic Hepatitis C Genotype 4: Relationship to Viremia and Response to Antiviral Therapy.*39:598–610.*

**Ellis, E.L.**1933. "*The influence of sulphhydryl groups and respiration on the rate of cell division*", *Journal of Cellular and Comparative Physiology*, Vol. 4, p. 127.

### F

**Favier, A.**2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité Chimique*, 108-15.

### G

**Griendling, K.K; Sorescu, D; Ushio-Fukai, M.**2000.NADPH oxidase: role in coarctation-induced hypertension. *Kidney Int.* 60(60): 1083-1087.

### H

**Haleng, J ; Pincemail, J ; De fraigne, D.O ; Charlier, C; Chapelle, C.**2007.Le stress oxydant. *Rev Med Liege* 2007; 62:10: 628-638.

**Halliwell, B; Gutteridge, J.**1999. *Free radicals in biology and medicine*. 3<sup>rd</sup> ed.: Oxford University Press, New York.

**Hare, J; Johnson, R.**2003.Uric acid predicts clinical outcomes in heart failure: insights regarding the role of xanthine oxidase and uric acid in disease pathophysiology circulation; 107:1951-1953.

## Références Bibliographique

---

**Harman, D.**1981. "*The aging process*", Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol. 78,p. 7124.

**Horsfall, I; Petersen, I; Nazareth, I.**2014. Serum uric acid and the risk of respiratory disease: a population-based cohort study *Thorax*; 69: 1021–1026.

**Hughes, J ; Jefferson, A ; Raynaud de Mauverger, E.**2010. Le bilan biochimique facile. RFL-Revue francophone des laboratoires. Vol 40, N° 424.

### J

**Jaspard, E.**Métabolisme des bases puriques, des bases pyrimidiques et des nucléotides. Disponible sur le site de l'université d'Angers - <http://biochimej.univ-angers.fr>. Consulté le (02.06.2014.)

**Jung-bluth, G.** 2008.Les espèces réactives de l'oxygène et leurs principales implications dans la physiopathologie canine. Thèse Méd. Vét., Lyon, n°14.

### K

**Kamoun, P ; Lavoine, A ; De Verneuil, H.**2003. Biochimie et biologie moléculaire. De la biologie à la clinique : 473. 2257101219.

**Kanbay,M ; Segale, M ;Asfar ;Kang,D.H ;Rodriguez-Iturbe ,B;J. Jonhson,R.**2013.The role uric acid in the pathogenesis of human cardiovascular disease, :1-8.doi :10,1136.

**Kapitulnik, J.**2004. An Endogenous Product of Heme Degradation with Both Cytotoxic and Cytoprotective Properties. *Mol Pharmacol* 66:773–779.

**Kierszenbaum, A.L.**2006. Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique. Bruxelles : De Boeck. 1 vol. (XVIII-619 p.) : 471-472.2-8041-4910-2.

**Kioke, R; Jackel-Cram, C; Babiuk, L.A; Liu, Q.** 2010.Hepatitis C Virus Induces Proteolytic Cleavage of Sterol Regulatory Element Binding Proteins and Stimulates Their Phosphorylation via Oxidative Stress. *J Virol*, 81(15): p. 8122-30.

## Références Bibliographique

---

**Koceir, E.A.**2008.Aspects physiopathologiques et Bioénergétiques du stress oxydant dans le diabète : Rôle de la mitochondrie.4<sup>ème</sup> journées du LBPO.

**Koechlin-Ramonatxo, C.** 2006.Oxygene, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *NutrClin Metab*; 20(4): 165–77.

**Kushiya, A; Tanaka, K; Hara, S; Kawazu, S.**2014.**Linking** uric acid metabolism to diabetic complications. 5(6): 787–795.

### L

**Le Corvoisier, P ; Lopes, M.E ; Su, J ; Hittinger, L.**2000. Rôle du monoxyde d'azote dans l'insuffisance cardiaque. *Journal de la Société de Biologie*, 194 (3-4), 143–149.

**Levrros, M.** (2006).Viral hepatitis and liver cancer: the case of hepatitis C. *Oncogene*, 25(27):p. 3834-47.

**Li, L; Wan, C; Wen, F.**2014. An unexpected role for serum uric acid as a biomarker for severity of asthma exacerbation *Asian Pac J Allergy Immunol*; **32:93**.

**Lippi, G ; Montagnana, M ; Franchini, M ; Favaloro, E ; Targher, G.**2008. The paradoxical relationship between serum uric acid and cardiovascular disease *Clinica Chimica Acta* 392 1–7

**Lyoumi, S ; Tamion, F ; Leplingard, A ; Beaumont, C ; Puy1, H ; Lebreton, J.P.**2007.Rôles protecteurs de l'hème oxygénase. *Hématologie Revue* ; 13 (4) : 251-65.

### M

**Mang, N ; Quiroz, Y ; Vaziri, N ; Rodriguez-Iturbe, B.** 2003.Melatonin reduces renal interstitial inflammation and improves hypertension in spontaneously hypertensive rats. 284(284): 447-454.

**Manuila, A ; Lewalle, P ; Nicoulin, M ; Papo, T.**2015.Dictionnaire médicale Manuila. ELSEVIER-MASSON.10<sup>ème</sup> édition. Pp: 55, 9782294750762.

## Références Bibliographique

---

**Mellitus, D.**2011.Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabete care, 27:p.S5-S10.

**Monteil, C ; Mulder, P ; Thuillez, P.**2004.Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une cible thérapeutique utopique ? .Médecine thérapeutique, Cardiologie. Vol 2.n°2.PP :78-85.

### O

**Ochoa, L.**2012.**Anatomie& pathologie.**la 5<sup>e</sup> édition .P :44.

**Organisation mondial de la santé.**2006. Prévention des maladies chroniques : un investissement vital. Trouvable sur :  
[http://www.who.int/chp/chronic\\_disease\\_report/overview\\_fr.pdf?ua=1](http://www.who.int/chp/chronic_disease_report/overview_fr.pdf?ua=1)

**Owens, k.** 1991.Stress oxydant et pathologies humaines. Ann Biol Clin, 676: 450-6.

### P

**Patterson, R.A; Horsley, E.T.M; Leake, D.S.**2003. Prooxidant and antioxidant properties of human serum ultra filtrates toward LDL: important role of uric acid. J. Lip. Res., 44 .512-520.

**Petta, S; Fabio, S; Macaluso; Cammà, C; Marco,V; Cabibi, D; Craxi, A.** 2012. Another metabolic feature affecting the severity of chronic hepatitis because of HCV infection; 32(9):1443-50.

### R

**Rahman, K.**2007. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. Clin Interv Aging, 2(2): 219–36.

### S

**Sekioka, R; Tanaka, M; Nishimura, T; Itoh, H.** 2015. Serum total bilirubin concentration is negatively associated with increasing severity of retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. Journal of Diabetes and Its Complications 29:218–221

**Sekli-Belaidi, F.**2011.Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3,4-éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin.

## Références Bibliographique

---

**Sennequier, N ; Vadon-Le Goff, S.1998.**Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO) mécanisme, régulation et contrôle. ; 14 : 1185-95.

**Setiawan, H; Nagaoka, K; Kubo, M; Fujikura, Y; Ogino, K.2016.** Involvement of Xanthine Oxidoreductase-related Oxidative Stress in a *Dermatophagoides farinae*-induced Asthma Model of NC/Nga Mice. Vol. 70, No.3, pp.175-182

**Sheikh, A.D.** 2008. Effect of vitamin E supplementation on post-exercise plasma lipid peroxidation and blood antioxidant status in smokers. 73:501–5.

**Simoneau, M.E .2011.** Les maladies cardiovasculaires. Service de surveillance, recherche et évaluation. PP: 6, 10-25

**Slatter, D.A; Bolton, C.H ; Bailey, A.J.2000.**The importance of lipid-derived malondialdehyde in diabetes mellitus.*Diabetologia*; 43(5):550-7.

### T

**Tian, N ;Thrasher, K.D ;Gundy, P.D ; Hughson, M.D ;Manning, R.D.Jr.2005.**Antioxidant treatment prevents renal damage and dysfunction and reduces arterial pressure in salt-sensitive hypertension. *Hypertension* 45(45): 934-939.

**Tremellen, K .2008.** Oxidative stress and male infertility: a clinical perspective. *Hum Reprod Update*, 14, 243-258.

### V

**Vaubourdolle, M.2007.***Biochimie, hématologie.* Collection Le Moniteur internat. 3ème édition Editions Wolters Kluwer.

**Vaziri, N.D.** 2008.Causal link between oxidative stress, inflammation, and hypertension. *Iran J. Kidney Dis.* 2(2): 1-10.

**Vitek, L; Jr, M; Brodanova, M; Kalab, M; Marecek, Z; Danzig, V; Novotny, L; Kotal, P.2002.** Gilbert syndrome and ischemic heart disease: a protective effect of elevated bilirubin levels. *Atherosclerosis* 160 449–456.

## Références Bibliographique

---

### W

**Wang, L et Boutista, E.**2015. Serum bilirubin and the risk of hypertension International Journal of Epidemiology, 142–152

**Willcox, L.K, Ash, S.L Catignani, G.L .**2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *CrU Rev Food SeiNutr*44, 275-295.

**Woodhouse, J. N; Newton, J.R; Chanter, N; Mumford, J.A. 2010.** Association between respiratory disease and bacterial and viral infections in British racehorses. *Journal of Clinical Microbiology* 43, (1), 120–126.

### Y

**Ye, J.**2013.Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med* 7(1): 14–24.

**Yu, M; Cui, F; Jia, H; Zhou, C; Yang, Y; Zhang, H; Ding, G; Zou, Z.**2016. Aberrant purine metabolism in allergic asthma revealed by plasma metabolomics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 120 181–189.

### Z

**Zaoui, P.**2005. Hyperuricémie et risque cardiovasculaire. *Néphrologie. Correspondences en Risque Cardio Vasculaire - Vol. III - n°2.*60-65.

**Zohreh, S; Kashef, R; Kapusta, D.R; Reisin, E.**2014.Potentiql role of uric acid in metabolic syndrome, Hypertension, Kidney injury and cardiovascular diseases: Is it time for reappraisal?

**Zou, Y; Qian, Z.L; Li, Y; Kim, M.M; Lee, S.H & Kim, S.K.** 2008.Antioxidant Effects of Phlorotannins Isolated from *Ishigeokamurae* in Free Radical Mediated Oxidative Systems. *J AgricFood Chem.*