

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**



**UNIVERSITÉ LARBI TEBESSI -TEBASSA-
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE
ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE**



Mémoire en vue de l'obtention d'un Diplôme de Mater L.M.D.
Domaine : Science de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie Appliquée
Option : Biochimie et Biologie Moléculaire

Thème

**EVALUATION DE QUELQUES PARAMÈTRES BIOLOGIQUES
CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE NÉPHROPATHIE
DIABÉTIQUE (région Bir El Ater et Cheria)**

Présenté par

Asma Otmani

Yamina Abdou

Devant le jury

Dr. Guedri Kamilia	MCB	Université Larbi Tebesi –Tebessa–	Examinatrice
Dr. Belghendouz Karima	MAA	Université Larbi Tebesi –Tebessa–	Présidente
Dr. Messaadia Amira	MCB	Université Larbi Tebesi –Tebessa–	Promotrice

Date de soutenance : le 27. 05.2018

Année : 2017/2018

Note /20

Remerciements

Un travail n'est jamais l'œuvre de son ou de ses auteurs...

Nous tenons à remercier tout d'abord, Dieu qui nous a donné la force et le courage pour réaliser ce travail.

Notre première pensée va tout naturellement à notre encadreur Dr. Messaadia Amira qui nous a apporté aides et conseils pour la réalisation de ce travail.

Nos sincères remerciements vont également aux membres du jury de thèse Madame Belghendouz Karima et Madame Guedri Kamilia, pour avoir accepté de nous assister et évaluer.

On exprime nos plus vifs remerciements à l'égard du responsable de Hôpital Hadam Tidjani, Maison diabétique à (Bir El Ater) et Hôpital Mst Phebouki à (Pheria) pour l'aide précieuse et l'accueil chaleureux.

On ne remercierait jamais assez notre ingénieur Souad du laboratoire de Biochimie de l'Université Larbi Tebessi -Tebessa- pour les nombreux services qu'elle nous a rendus durant la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier plus particulièrement les patients qui nous ont fournis du sang malgré leurs états critiques, sans eux une grande partie du travail n'aurait pas été accomplie.

Asma & Kamina

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A mes parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procurent santé et longue vie.

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon marié, et bien sur A mes frères et sœurs, sans oublié ma grand-mère

A toute ma famille, et mes amis.

A mon encadrée Dr Messaadia Amira

A yamina et tous mes camarades de classe/promo 2018.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Asma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents, pour leur conseils qui m'ont donné, l'envie d'apprendre et la volonté de toujours mieux faire. Ce travail est l'aboutissement de toutes les souffrances que vous avez enduré pour moi, que Dieu vous protègent.

A mon encadreur: Messaadia Amira, pour la richesse de ses conseils, et sa disponibilité. Merci surtout de nous avoir fait confiance.

A mon marie : Foucef

Ames frères, sœur et leurs petite famille, ainsi que : Farah, Tbtissem. Lamer, Goudjoud et Taha.

A mes amies intimes: Hind, Asma, Fatima-Zahra, Samira et Asma merci pour le soutien moral.

A tous mes collègues de promotion « Biochimie Appliquée »

Famina

ملخص

اعتلال الكلية السكري هو السبب الأكثر شيوعًا للفشل الكلوي في نهاية المرحلة. ومع ذلك ، نادرا ما ينظر مرضى السكري من قبل أطباء الكلى في مرحلة مبكرة من مرض الكلى.

يتم تحديد الهدف من عملنا تقييم بعض علامات الحيوية من الاكسدة، وحدثت اعتلال الكلية السكري في عدد السكان.

وتستند الدراسة في البداية على 138 مريضا مقسمة إلى ثلاث مجموعات متميزة وهي المجموعة 1، السيطرة الصحية. المجموعة 2 مرضى السكري من دون علامات سريرية من القصور الكلوي والمجموعة 3 المرضى الذين يعانون من اعتلال الكلية السكري يتعرضون لتصفية الدم ، فإن هذا الجزء هو جمع نتائج مختلف القياسات البيوكيميائية (الجلوكوز ، واليوريا، والكرياتينين وحمض اليوريك الزلال البلازما والأيونوغرام). في نهاية قياس أثر الاكسدة في تطوير مضاعفات مرض السكري، يتم جمع 60 عينة البلازما مختلف المجموعات المذكورة أعلاه إلى يودون خفض فحص الجلوتاثيون و. malondialdehyde

نتائجنا تسمح بتنفيذ اضطراب في غالبية المعلمات البيولوجية المقاسة. أظهرت المقام الأول إلى زيادة كبيرة في مستوى السكر في الدم، وتقييم الكلوي، الأيونية و MDA مع نضوب مستويات الزلال و GSH في المرضى الذين يعانون من مرض السكري واعتلال الكلية السكري عن طريق المساهمة في الضوابط

الفشل الكلوي المزمن هو أكثر المضاعفات الهائلة لمرض السكري. يتم الوصول إليها فقط بعد فترة طويلة من التطور. الكشف عن اعتلال الكلية السكري في مرحلة مبكرة من شأنه أن يضمن الحماية من القصور الكلوي.

الكلمات المفتاحية: داء السكري ، اعتلال الكلية السكري ، التعقيد ، الإجهاد التأكسدي

Résumé

La néphropathie associée au diabète est l'étiologie la plus fréquente de l'insuffisance rénale chronique terminale. Cependant, les diabétiques sont rarement consultés par les néphrologues à un stade précoce de l'atteinte rénale.

L'objectif de notre travail est de déterminer, au moyen de l'évaluation de quelques marqueurs biochimiques et de stress oxydatif, la fréquence de la néphropathie dans une population diabétique.

Cette présente étude est basée à priori, sur l'investigation des paramètres biochimiques sanguins déterminant la fonction rénale chez 138 patients lesquels ont été répartis en trois groupes distincts à savoir : groupe 1, témoin sain ; groupe 2, patients diabétiques ne présentant pas des signes cliniques d'atteinte rénale et finalement groupe 3, patients atteints de néphropathie diabétique à des séances de dialyse. Cette partie consiste en la collection des valeurs sériques de ces paramètres, à savoir la glycémie, l'urée, la créatinine, l'acide urique, l'albumine plasmatique et l'ionogramme. Par ailleurs, à fin d'évaluer l'impact du statut redox dans le développement des complications néphropathiques liées au diabète, 60 échantillons de plasma sont récupérés des différents groupes sus-cités pour effectuer le dosage de glutathion (GSH) réduit et le malondialdéhyde (MDA).

Les résultats obtenus dans cette étude ont permis de mettre en évidence une perturbation de la majorité des paramètres biologique mesurés. En effet, ce déséquilibre homéostasique est représenté essentiellement par une augmentation significative de la glycémie, du bilan rénal, ionique et du MDA avec une déplétion de l'albuminémie et du taux de GSH chez les patients souffrants de diabète et de néphropathie diabétique par rapport aux sujets témoins

L'insuffisance rénale chronique est la complication la plus redoutable du diabète sucré. Elle n'est atteinte qu'après une durée d'évolution longue. Le dépistage de néphropathie diabétique à un stade précoce permettrait d'assurer la néphroprotection.

Mots clés : Diabète, Néphropathie diabétique, Complication, Stress oxydant, bilan rénal

Abstract

Diabetic nephropathy is the most common cause of end-stage renal failure. However, diabetics are rarely seen by nephrologists at an early stage of kidney disease.

The objective of our work is to determine, through the evaluation of some biochemical markers and oxidative stress, the frequency of nephropathy in a diabetic population.

The study is based initially on 138 patients divided into three distinct groups namely group 1, healthy control; group 2, diabetic patients with no clinical signs of renal impairment and group 3, patients with dilated diabetic nephropathy, this part consists of the collection of the results of the various biochemical parameters (glycemia, urea, creatinine, uric acid plasma albumin and ionogram). At the end of the measurement of the impact of oxidative stress in the development of complications related to diabetes, 60 plasma samples are recovered from the different groups mentioned above to perform the reduced glutathione assay and malondialdehyde.

Our results allowed to implement a disturbance of the majority of the biological parameters measured. Essentially demonstrated by a significant increase in blood glucose, renal, ionic and MDA balance with depletion of albumin and GSH levels in patients with diabetes and diabetic nephropathy in control subjects

Chronic renal failure is the most formidable complication of diabetes mellitus. It is reached only after a long period of evolution. Screening for early-stage diabetic nephropathy would ensure nephroprotection.

Key words: Diabetes, Diabetic nephropathy, Complication, Oxidative stress.

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tab1	: Stades de la néphropathie diabétique d'après la classification de Mogensen	13
Tab2	: Distribution des patients selon le sexe	33
Tab3	: Variation de la glycémie (g/l) à jeun chez la population d'étude	34
Tab4	: Variation du bilan rénal « urée, créatinine et acide urique »	35
Tab5	: Variation de l'albuminémie chez la population d'étude	37
Tab6	: Variation du bilan ionique « calcium, sodium, potassium et chlore »	38
Tab7	: Variation du taux de glutathion chez la population d'étude	40
Tab8	: Variation du taux d'MDA chez la population d'étude	41

Liste des figures

Liste des Figures

Fig1	: Anatomie du rein «coupe sagittal	10
Fig2	: Vascularisation rénale	10
Fig3	: Mécanismes de libération de la rénine par AJG	12
Fig4	: structure du néphron (a) et du glomérule(b)	12
Fig5	: Localisation des causes éventuelles de l'insuffisance rénale aigue	12
Fig6	: Les six voies de production d'ERO par le glucose	17
Fig7	: Les différentes voies de métabolisation du glucose	17
Fig8	: Formation des AGEs	19
Fig9	: Effet de la fixation des AGE sur leurs récepteurs RAGE	19
Fig10	: Voie des hexosamines en conditions d'hyperglycémie	21
Fig11	: Prélèvement sanguin et préparation des échantillons	23
Fig12	: Les différentes étapes du protocole expérimental	24
Fig13	: Analyseur Medica	27
Fig14	: Mécanisme de quantification du glutathion réduit	28
Fig15	: Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique	29
Fig16	: Galerie photos de quelques étapes du dosage des biomarqueurs de SO	31
Fig17	: Variation de la glycémie en (g/l) chez les patients T, souffrant D et ND	34
Fig18	: Variation du bilan rénal chez les patients T, souffrants D et ND	36
Fig19	: Variation de l'albuminémie chez les patients T, souffrants D et ND	37
Fig20	: Variation du bilan ionique chez les patients T, souffrants D et ND	39
Fig21	: Variation du taux de GSH (nmol/ml) chez les patients T, souffrants D et ND	40
Fig22	: Variation du taux de MDA (nmol/ml) chez les patients T, souffrants D et ND	41

Liste des abréviations

Liste des abréviations

µm	:	Micromètre
AGEs	:	Advanced Glycation End Products
ATP	:	Adénosine Triphosphate
AVC	:	Accident vasculaire cérébral
BHT	:	Butyl Hydroxy Toluene
Ca²⁺	:	Calcium
Cl⁻	:	Chlore
Cm	:	Centimètre
CoA	:	Coenzyme A
DAG	:	Diacylglycérol
DFG	:	Débit de Filtration Glomérulaire
DG	:	Diabète Gestationnel
DHAP	:	Dihydroxyacétone Phosphate
DID	:	Diabète Insulino-Dépendant
DNID	:	Diabète Non Insulino-Dépendant
DSR	:	Débit Sanguin Rénal
DTNB	:	5,5'-Dithio-Bis-2- Nitrobenzoïque
EDTA	:	Acide Ethylène Diamine Tetra Acétique
EOA	:	Espèces Oxygénées Activées
ERO	:	D'espèces Réactives De L'oxygène
FID	:	Fédération Internationale du Diabète
GFAT	:	Glutamine Fructose-6phosphate Amino-Transférase
GSH	:	Glutathion Réduit
H₂O₂	:	Dioxyde Dihydrogène
H₂o₂	:	Peroxyde D'hydrogène
Ho·	:	Radical Hydroxyle
HPL	:	Hormone Lactogène Placentaire
IL-1a	:	Interleukine -1a
IL-6	:	Interleukine -6

IR	:	Insuffisance Rénale
IRA	:	Insuffisance Rénale Aigue
IRC	:	Insuffisance Rénale Chronique
K	:	Potassium
MDA	:	Malondialdéhyde
Mmol/L	:	Milimole par Litre
Na	:	Sodium
NaCl	:	Chlore de Sodium
NADP	:	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NADPH	:	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit
ND	:	Néphropathie Diabétique
NF-Kb	:	Nuclear Factor-Kappa B
NIDD	:	Diabète Non Insulinodépendant
Nm	:	Nanomètre
NO	:	Monoxyde D'azote
O₂⁻	:	Anion Superoxyde
OMS	:	Organisation mondiale de la santé
PAI-1	:	Plasminogen Activator Inhibitor-1
PKC	:	Protéine Kinase C
RAGE	:	Recepteur D' AGE
RTG	:	Rétrocontrôle Tubulo-Glomérulaire
TBA	:	Thiobarbiturique Acid

Table de matière

Table des matières

Remerciement et dédicace	
Résumé (arabe-français-anglais)	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	01
Partie I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
Premier chapitre : « le diabète »	
1.1 Définition	03
1.2 Historique	03
1.3 Epidémiologie	03
1.3.1. Dans le monde	03
1.3.2. EN Algérie	04
1.4. Classification et physiopathologie	04
1.4.1 Diabète de type 1 et facteurs influençant	04
1.4.2 Diabète de type 2 et facteurs influençant	04
1.4.3 Le diabète gestationnel	05
1.4.4 Autres types de diabètes	05
1.5 Les complications du diabète Sucré	05
1.5.1 Complications métaboliques aiguës	05
1.5.1.1 L'acidocétose diabétique	05
1.5.1.2 L'hypoglycémie diabétique	06
1.5.1.3 Le coma hyperosmolaire	06
1.5.2 Les complications chroniques	06
1.5.2.1 La macro-angiopathie diabétique	06
1.5.2.2 La micro-angiopathie diabétique	06
Deuxième chapitre : «Le rein et la néphropathie diabétique »	
2.1 Anatomie du rein	08
2.1.1 Aspect morphologique	08
2.1.2 Aspect morphologique	08
2.2 Vascularisation rénale	08

2.3	Hémodynamique du rein et régulation de la filtration glomérulaire	09
2.3.1	L'Autorégulation rénale	09
2.3.2	Rétrocontrôle Tubulo-Glomérulaire (RTG)	09
2.3.3	Médiateurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs	11
2.4	Pathologies du rein et facteurs de risques	11
2.5	La néphropathie diabétique	11
2.5.1	Epidémiologie	11
2.5.2	Classification de la néphropathie diabétique	13
2.5.3	Facteurs de risque pour la néphropathie diabétique	13
2.5.4	Physiopathologie	14
2.5.4.1	Rôle de l'hyperglycémie et du stress oxydatif	14
2.5.4.2	Rôle de l'hémodynamique intra-rénale	14

Troisième chapitre «Diabète & stress oxydant »

3.1	Voies de production d'ERO au cours des états d'hyperglycémie	16
3.1.1	La formation d'acétoaldéhyde	16
3.1.2	L'auto-oxydation du glucose	16
3.1.3	Voie de polyol	16
3.1.4	La glycosylation non enzymatique «glycation»	18
3.1.5	La voie de la protéine kinase C	20
3.1.6	Voie des hexosamines	20
3.2	Rôle du stress oxydant dans les complications associées du diabète	20

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

Quatrième chapitre : « Matériels et méthodes »

4.1	Matériels biologique et expérimental	22
4.1.1	Population étudiée	22
4.1.2	Préparation des échantillons	22
4.2	Méthodes de dosage des paramètres biologiques	25
4.2.1	Mesure de la glycémie	25
4.2.2	Mesure du bilan rénal	25
4.2.2.1	Mesure de l'urée	25
4.2.2.2	Mesure de la créatinine	26
4.2.2.3	Mesure de l'acide urique	26
4.2.3	Mesure de l'albumine	27

4.2.4	Mesure du bilan ionique	27
4.1.4.1	Calcium	27
4.1.4.2	Potassium, sodium et chlore	27
4.2.5	Mesure des paramètres du stress oxydant	28
4.2.5.1	Mesure du glutathion réduit GSH	28
4.2.5.1	Mesure de malone-dialdéhyde MDA	29
4.3.	Etude statistique	32
Cinquième chapitre : «Résultats»		
5.1	Répartition des cas pathologiques selon le sexe	33
5.2	Influence des pathologies sur les paramètres biochimiques	34
5.2.1	Exploration de la glycémie à jeun	34
5.2.2	Exploration du bilan rénal	35
5.2.3	Exploration de l'albumine	37
5.2.4	Exploration du bilan ionique	38
5.3	Influence des pathologies sur les paramètres du stress oxydant	39
5.3.1	Evaluation du glutathion réduit GSH(nmol/ml)	40
5.3.2	Evaluation du taux de malondialdéhyde MDA	41
Sixième chapitre : «Discussion»		42
Conclusion et perspective		47
Références bibliographique		48
Annexes		

Introduction générale

2Introduction générale

Le diabète est une maladie métabolique considérée par l'organisation mondiale de la santé (OMS) comme une épidémie, dont la prévalence a augmenté de façon très importante au cours des dernières années. A l'échelle mondiale, 422 millions d'adultes vivaient avec le diabète en 2014, comparé à 108 millions seulement en 1980 (**l'organisation mondiale de la santé : OMS, 2016**). Ce fléau mondial est caractérisé essentiellement par une hyperglycémie chronique, secondaire à un défaut partiel ou complet de sécrétion de l'insuline, et/ou d'une inaptitude des cellules à l'utiliser efficacement (**Ortiz-Andrade et al., 2005**).

Parallèlement à cette hyperglycémie un état de stress oxydant s'installe. Il correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières (**Favier, 2006**). De nombreuses pathologies impliquant le stress oxydant dans leurs développements, ont été recensées. Outre les maladies cardio-vasculaires et le cancer, c'est certainement dans le cadre du diabète que des avancées spectaculaires ont été réalisées au cours des dernières années (**Flamment et Foufelle, 2013**). Il est maintenant admis que des concentrations élevées de glucose dans les milieux extra et intracellulaires induisent un stress oxydant qui favorise le développement de la maladie en perturbant l'insulino-sécrétion et favorisant l'insulino- résistance (**Guebre-gziabher et al., 2010**).

Ces troubles métaboliques entraînent souvent des modifications fonctionnelles permanentes et irréversibles des cellules du corps, conduisant au développement d'entités cliniques bien définies appelées «Complications du diabète» qui typiquement concernent le système cardiovasculaire, nerveux, œil et tous particulièrement le rein (**Hasslett et al., 2005**).

La néphropathie diabétique entre dans le cadre des complications micro-angiopathiques, elle correspond à une atteinte glomérulaire qui se développe dans la majorité des cas en insuffisance rénale terminale (**Kurokawa et al., 2002**). Il s'agit de la première cause de mise en dialyse dans les pays développés et sa proportion progresse (de 25 à 50%) par augmentation de la prévalence du diabète. Or, les patients diabétiques dialysés chroniques ont un risque de décès vasculaire deux fois plus important que les dialysés non diabétiques et 100 fois plus important que la population générale (**Fédération international de diabète : FID, 2017**). Il s'agit donc d'une des complications du diabète qui conditionne le pronostic vital.

Ce manuscrit est essentiellement focalisé sur la compréhension de la maladie, dans un premier temps par une recherche bibliographique permettant de réunir quelques connaissances fondamentales concernant l'aspect physiopathologique. Par la suite, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de quelques paramètres biochimiques, ainsi que des biomarqueurs de stress oxydant, pouvant s'avérer des facteurs prédictifs de l'évolution du diabète vers les complications néphropathiques.

Dans le but d'améliorer le pronostic par le dépistage précoce, une population de patients souffrant de diabète et de néphropathie diabétique est mise en comparaison avec une population témoin saine.

Chapitre 1.

le diabète

Chapitre 1 : Le diabète

1.1. Définition

Le diabète est défini comme une affection métabolique, caractérisée par une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/l (**Grimaldi, 2009**). Cette situation survient lorsque l'organisme ne parvient pas à produire suffisamment d'insuline ou à l'utiliser de manière efficace (**DeFronzo et al., 2015**). La chronicité de l'hyperglycémie est responsable de complication à long terme touchant de nombreux organes notamment les yeux, **les reins**, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (**Joseph et Golden, 2014**).

1.2. Historique

Les signes de l'existence du diabète remontent en Egypte ancienne, mais le terme de diabète est attribué à Demetrios d'Apnée (275 avant J-C), il provient du grec «dia-baino» qui signifie «passer au travers». Avicenne (Ibn Sina) (980-1037 après J-C), est un des premiers qui a donné une classification très proche de cette maladie avec ses deux types, il a parlé notamment de son association à la gangrène (**Langlois, 2008**).

À la fin du 18^{ème} siècle, Oscar Minkowski obtient expérimentalement un diabète sucré par pancréatectomie, confirmant ainsi le rôle majeur du pancréas dans le contrôle de la glycémie. Les premières approches thérapeutiques surviendront avec la découverte de l'insuline. En 1921, un prix Nobel est attribué aux canadiens Frédéric Granbanting et Harles Herbert Best qui ont réussi à isoler et injecter l'insuline à des patients diabétiques, sauvant ainsi la vie de milliers de malades (**Perlemuter et al., 2003**).

1.3. Epidémiologie

Le diabète est considéré comme une maladie émergente qui se développe de manière épidémique depuis quelques décennies, sa prévalence augmente fortement et rapidement dans tous les pays du monde. Cela est dû essentiellement à l'accroissement démographique, au vieillissement de la population, à des régimes alimentaires déséquilibrés, à l'obésité et à un mode de vie sédentaire (**Malek, 2008**).

1.3.1. Dans le monde : Cette pandémie concerne principalement le diabète de type 2 qui représente environ 80% de l'ensemble des diabétiques, face à 15% seulement pour le diabète de type 1. Les autres formes étant plus rare ou exceptionnelles (**Chevenne et Fonfrède, 2001**). Dans son rapport intitulé «*Atlas du diabète*», la fédération internationale du diabète a estimé que 425 millions d'individus ont souffert actuellement, ce chiffre pourrait bien atteindre 629 millions d'ici 2045 (**FID, 2017**).

1.3.2. En Algérie : Le diabète type2 occupe la quatrième place parmi les maladies non transmissibles (**Belhadj, 2005**), alors que l'incidence du diabète de type1 chez l'enfant est de 9 pour 100 000 individus (**Bouziane et Touhami, 2006**). Plusieurs études épidémiologiques réalisées révèlent une réalité préoccupante, le nombre des diabétiques est passé d'un million de personnes en 1993, à plus de 2.45 million en 2017 (**FID, 2017**).

1.4. Classification et physiopathologie

La classification et le diagnostic du diabète ont fait l'objet de nombreux débats au fil des décennies. Il est aujourd'hui généralement admis qu'il existe trois grands types de diabète: le diabète de Type 1, le diabète de Type 2 et le diabète gestationnel (DG).

1.4.1. Diabète de type 1 et facteurs influençant

Le diabète de Type 1 est provoqué par une réaction auto-immune au cours de laquelle le système immunitaire de l'organisme attaque les cellules β des îlots de Langerhans. L'organisme devient alors incapable de produire l'insuline dont il a besoin, ou alors en quantité très faible, avec pour conséquence une déficience relative ou absolue en insuline (**Grimaldi, 2009 ; Allan, 2008**).

Les causes de ce processus destructeur ne sont pas totalement comprises, mais une susceptibilité génétique (**Perlemuter et al., 2003**) combinée à des facteurs déclencheurs environnementaux (**Kekreja et Maclaren, 2002**), tels qu'une infection virale, des toxines ou certains facteurs alimentaires sont impliquées (**Dubois et Tsimsit, 2000; Williams, 2009 ; Knip et al., 2010**). De par sa capacité de stimuler la sécrétion des hormones hyperglycémiantes, le stress, peut avancer le développement du diabète de type1 (**Friedman et al., 1996**).

La maladie peut se développer à tout âge, mais le Type 1 apparaît le plus souvent à l'enfance ou à l'adolescence. Les personnes atteintes de cette forme de diabète ont besoin d'insuline chaque jour pour maintenir leur glycémie sous contrôle et ne peuvent survivre sans (**You et Henneberg, 2016**).

1.4.2. Diabète de type 2 et facteurs influençant

Appelé autrefois diabète non insulino-dépendant (NIDD), de nombreuses personnes atteintes en sont longtemps inconscientes car plusieurs années peuvent s'écouler avant que les symptômes n'apparaissent ou soient reconnus. Il existe deux phénomènes distincts qui expliquent l'apparition d'un diabète de type 2. Tout d'abord, une insulino-résistance se

développe au niveau des tissus périphériques, elle se traduit par une diminution de la sensibilité des récepteurs à l'insuline une fois que celui-ci est fixé. Cette situation à elle seule n'est pas responsable du diabète (**Guillausseau et al., 2000**).

En parallèle, un déficit de la sécrétion de l'insuline s'installe, il est lié à une atteinte des cellules β de Langerhans qui perd en moyenne 50% de leur masse au moment du diagnostic. Cette destruction serait liée à des phénomènes de glucotoxicité et de lipotoxicité (**Bories, 2012**). Le diabète de type 2 est du à priori à des causes essentiellement génétiques (**Gourdi et al., 2008**) mais aussi environnementales, la suralimentation, en association avec l'obésité et la sédentarité agissent probablement comme facteurs diabétogène (**Hasslett et al., 2005**). Les adipocytes secrètent un certain nombre de produits biologiques (leptine, facteurs de nécrose tumorale α , acide gras libres) qui modulent les processus impliqués dans la résistance à l'insuline (**Brawnwald et al., 2002**).

1.4.3. Le diabète gestationnel : Le diabète gravidique est diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse vers le 2^{ème} ou 3^{ème} trimestre (**Blumental et al., 2009**). Il touche 4 à 7 % des femmes enceintes et disparaît après l'accouchement (**Buyschaert, 2006**), Ce trouble peut provenir de l'inhibition exercée par les l'hormone lactogène placentaire « HPL », sur l'action de l'insuline provoquant une insulino-résistance. Des grossesses répétées peuvent accroître le risque de développer un diabète type2 permanent en particulier chez les femmes obèses (**Hasslett et al., 2005**). Il est à noter que le contrôle du poids après l'accouchement réduit de façon conséquente ce risque (**Hod et al., 2015**).

1.4.4. Autres types de diabètes : ils sont moins fréquents, tels que le déficit génétique altérant la fonction des cellules β , le déficit génétique altérant l'action de l'insuline, les maladies du pancréas exocrine, les endocrinopathies, les diabètes induits par des médicaments ou des toxiques, les diabètes de cause infectieuse et les diabètes rentrant dans le cadre de syndromes génétiques (**Grimaldi, 2009**).

1.5. Les complications du diabète Sucré

1.5.1. Complications métaboliques aiguës

1.5.1.1. L'acidocétose diabétique : Elle se développe chez un patient diabétique qui a oublié son injection d'insuline ou pour lequel le nombre d'unités à injecter est inadapté. Le déficit en insuline provoque : Une augmentation de la lipolyse, avec une libération accrue des acides gras libre dans le sang, l'hypertrigycéridémie et d'autres perturbations rénales et gastriques (**William et al., 2005 ; Placide et al., 2014**).

1.5.1.2. L'hypoglycémie diabétique : L'hypoglycémie est une complication relativement fréquente au cours du diabète. Elle relève le plus souvent d'un apports glucidiques insuffisants ou bien un surdosage en médicaments hypoglycémiants (insulino-sécrétagogue) (Wémeau *et al.*, 2014). Cliniquement on définit l'hypoglycémie par une glycémie inférieure ou égale à 0,60 g/L (3,3 mmol/L).

1.5.1.3. Le coma hyperosmolaire : Due principalement à une hyperglycémie sévère, en association avec une déshydratation profonde et une osmolarité plasmatique très élevée. Il affecte essentiellement les diabétiques de type 2 d'un âge avancé (William *et al.*, 2005).

1.5.2. Les complications chroniques

Ces complications sont liées à l'hyperglycémie chronique et aux facteurs de risques cardiovasculaires associés (Stratton *et al.*, 2001). Elles sont nombreuses et touchent plusieurs organes, suite à une micro ou macro-angiopathie.

1.5.2.1. La macro-angiopathie diabétique

L'hyperglycémie peut fragiliser la paroi des artères de calibre supérieur à 200 μm favorisant ainsi la formation de plaque d'athérome, en parle d'athérosclérose (Ting *et al.*, 2013). A la longue, les parties qui sont mal irriguées ne reçoivent pas suffisamment d'oxygène pour leur fonctionnement normal, on parle d'ischémie (Silvestre et Lévy, 2006). La macro-angiopathie s'aggrave quand le diabète est associé à une hypertension artérielle et une dyslipidémie. Elle concerne le cœur (infarctus du myocarde), le cerveau (AVC ischémique) et les membres inférieurs avec l'artérite (Geoffroy, 2005).

1.5.2.2. La micro-angiopathie diabétique

La micro-angiopathie touche les petits vaisseaux (artérioles, veinules et capillaires de diamètre inférieur à 30 μm). Elle associe, la modification structurale de la lame basale endothéliale à une augmentation de la perméabilité pariétale originaire de la fuite des protéines plasmatiques (Duron et Heurtier, 2005), Concerne indifféremment tous les tissus et organes, mais ses manifestations cliniques ne deviennent sensibles qu'au niveau des fibres nerveuses (neuropathie), des microvaisseaux rénaux (néphropathie) et rétiniens (rétinopathie) (Geoffroy, 2005).

a. La Neuropathie diabétique : Caractérisée par une atteinte du système nerveux périphérique. Elle prédomine aux niveaux des membres inférieurs en raison de la plus grande fragilité des fibres longues sensibles peu myélinisés (Gautier *et al.*, 1997).

b. La rétinopathie diabétique : La rétinopathie diabétique touche plus d'un tiers des personnes atteintes de diabète et est la principale cause de cécité avant l'âge de 50 ans (**Boyd et al., 2013**).

c. La néphropathie diabétique : Est une complication fréquente et dangereuse du diabète. Près de la moitié des patients diabétiques ont souffert, ce qui leur confère un risque très élevé de maladies cardiovasculaires. L'état d'un certain nombre d'entre eux évoluera même vers une insuffisance rénale terminale (**Gariani et al., 2012**).

Chapitre 2:

le rein et la néphropathie diabétique

Chapitre 02: Le rein et la néphropathie diabétique

2.1. Anatomie du rein

2.1.1. Aspect morphologique

Les reins de l'adulte ont 11 à 14 cm de longueur, 7 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur, localisés dans l'abdomen supérieur de chaque côté de la colonne vertébrale. Ils ont chacun une masse comprise entre 120 et 150g (**Gauthier, 2014**). En coupe sagittale, on distingue deux zones de l'extérieur vers l'intérieur on trouve, le Cortex, et la Médullaire. Cette dernière est divisée en masses coniques constituant les pyramides de Malpighi dont la base s'appuie sur le cortex et le sommet fait saillie dans les petits calices (**figure 01**). Ces zones sont riches par des arrangements organisés en tubules microscopique appelés néphrons (**Gougoux, 2009**).

2.1.2. Aspect fonctionnelle

❖ le maintien de l'homéostasie du liquide extracellulaire (volume et composition), pour assurer sa fonction, le rein doit exposer à chaque minute une très large surface tissulaire à de très grands volumes de sang, ce qui correspond au débit de filtration glomérulaire [DFG], qui est le meilleur indice de la fonction rénale (**Levey et al., 2003**).

❖ le maintien de l'équilibre ionique et acido-basique par l'élimination de déchets produits par le métabolisme (créatinine, urée et acide urique) et les substances étrangères, telles que les médicaments et les toxines provenant de l'environnement (**Dee et al., 2007**).

❖ la production d'hormones suite à son action endocrine:

-la rénine qui régule la production des hormones impliquées dans l'homéostasie du sodium et le contrôle de la pression artérielle (**Verma et al., 2011**);

-l'érythropoïétine, produite sous l'effet de l'hypoxie, c'est une hormone de la famille des cytokines qui régule la production de globules rouge (**Gillain-Martin, 2012**);

-la 1-alpha hydroxylase qui régule l'équilibre du Ca^{2+} suite à l'hydroxylation de la vitamine D inactive (**Hewison et al., 2000 ; Hernandez et Stoermann-Chopard, 2012**).

❖ une fonction métabolique : Avec le foie, les reins sont les seuls organes capables, en cas de jeûne prolongé, d'assurer jusqu'à 50 % de la néoglucogénèse (**Girard, 2013**)

2.2. Vascularisation rénale

Chaque rein est vascularisé par une artère rénale qui se divise en artères interlobulaires, elles se ramifient entre les pyramides jusqu'à la jonction cortico-médullaire pour former les artères arciformes, puis donnent naissance à de nombreuses artères

interlobulaires corticales. Une fois ramifiées naissent les artérioles afférentes des glomérules. Ces derniers se divisent pour former le plexus capillaires entourant les tubes du cortex rénal. Les capillaires se drainent par l'intermédiaire des veines interlobulaires corticales dans les veines arciformes puis dans la veine rénale. L'appareil juxtaglomérulaire (**figure 02**) représente une zone de contact étroite entre le tubule rénal et le pôle vasculaire glomérulaire du même néphron. (**Sebe et al., 2004 ; Heath et al., 2008**).

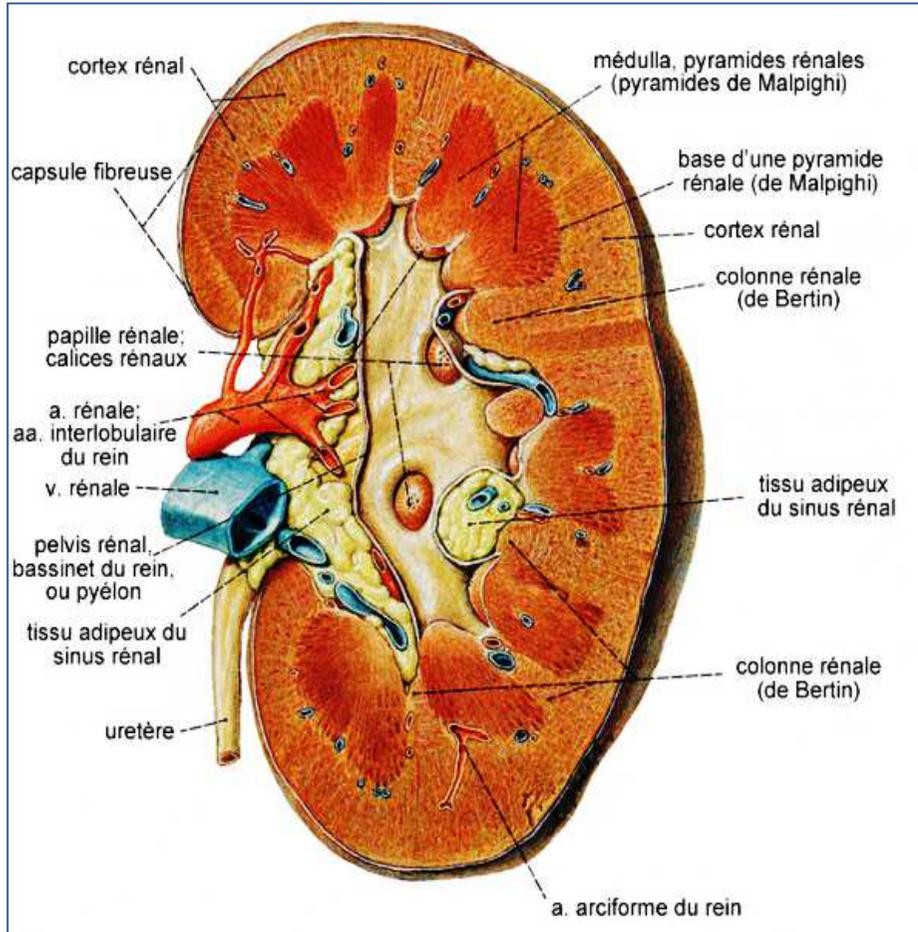
2.3. Hémodynamique du rein et régulation de la filtration glomérulaire

2.3.1. L'Autorégulation rénale

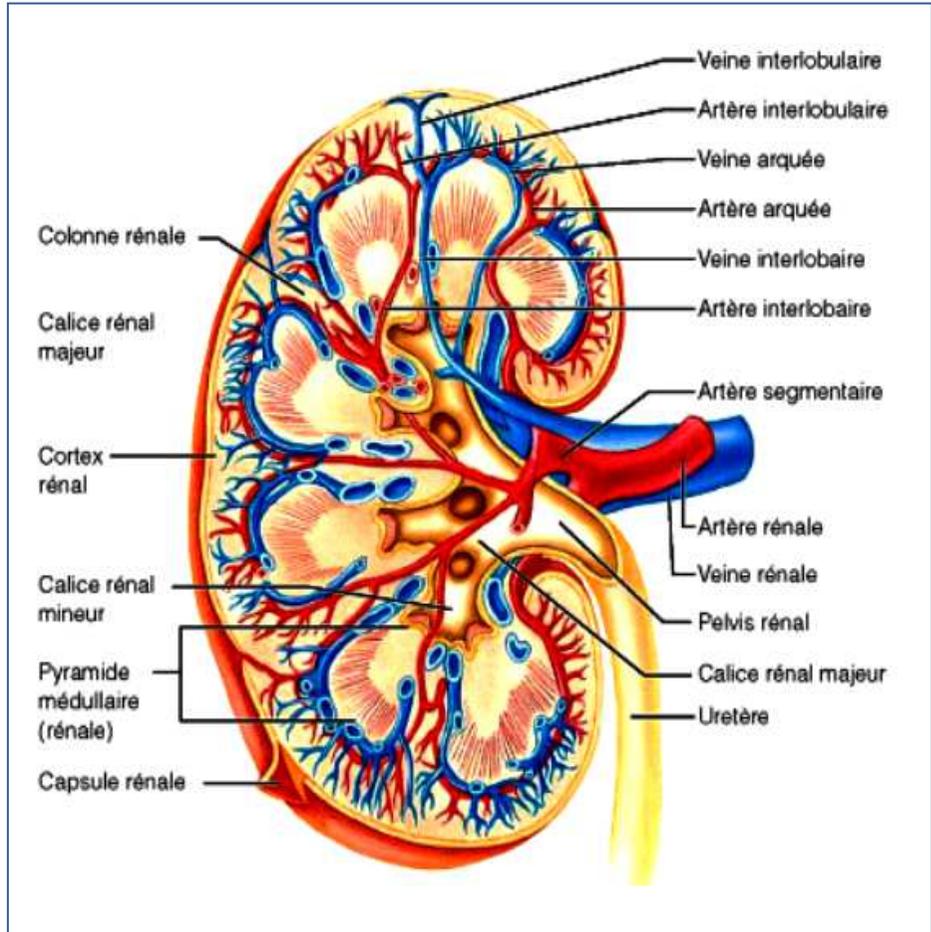
Il s'agit du maintien constant du débit sanguin rénal (DSR) et du débit de filtration glomérulaire (DFG). Cette autorégulation fait appel à des variations des résistances vasculaires des artérioles afférentes et efférentes (**Ichai et Giunti, 2005**).

2.3.2. Rétrocontrôle Tubulo-Glomérulaire (RTG)

Les modifications de concentrations de NaCl dans le liquide tubulaire transmettent un message aux cellules de la macula densa de l'appareil juxtaglomérulaire (**figure 03 et 04**). Ce phénomène induit des modifications du tonus de l'artériole afférente et de la sécrétion de rénine par les cellules granulaires (**Laurent, 2007**).



▲ Figure N°1 : Anatomie du rein «coupe sagittal» (Davison, 2005)



▲ Figure N°2 : Vascolarisation rénale (Davison, 2005)

2.3.3. Médiateurs vasoconstricteurs et vasodilatateurs

De nombreux médiateurs sont impliqués dans les mécanismes de régulation intrarénale et systémique. Certains médiateurs sont vasoconstricteurs comme l'angiotensine II, la noradrénaline ou l'endothéline (**Ichai et Giunti, 2005**). D'autres sont vasodilatateurs comme la prostaglandine rénale, les kinines et le NO (**Rodriguez et al., 2001**). En situation physiologique, il existe un équilibre entre tous ces médiateurs, qui permettent de moduler cette régulation hémodynamique rénale.

2.4. Pathologies du rein et facteurs de risques

L'insuffisance rénale est définie par une diminution du nombre de néphrons fonctionnels, estimé par la réduction du débit de filtration glomérulaire (DFG) (**Joly, 2002**).

❖ Lorsque l'atteinte rénale survient brutalement, notamment sous une forme anurique, on est en présence d'une insuffisance rénale aiguë (IRA), les causes sont généralement regroupées en trois grandes catégories, IRA Prérénale, IRA Poste-rénale et IRA Rénale (**Figure 05**) (**De la Fuente et al., 2014 ; Perrouin et al., 2014**).

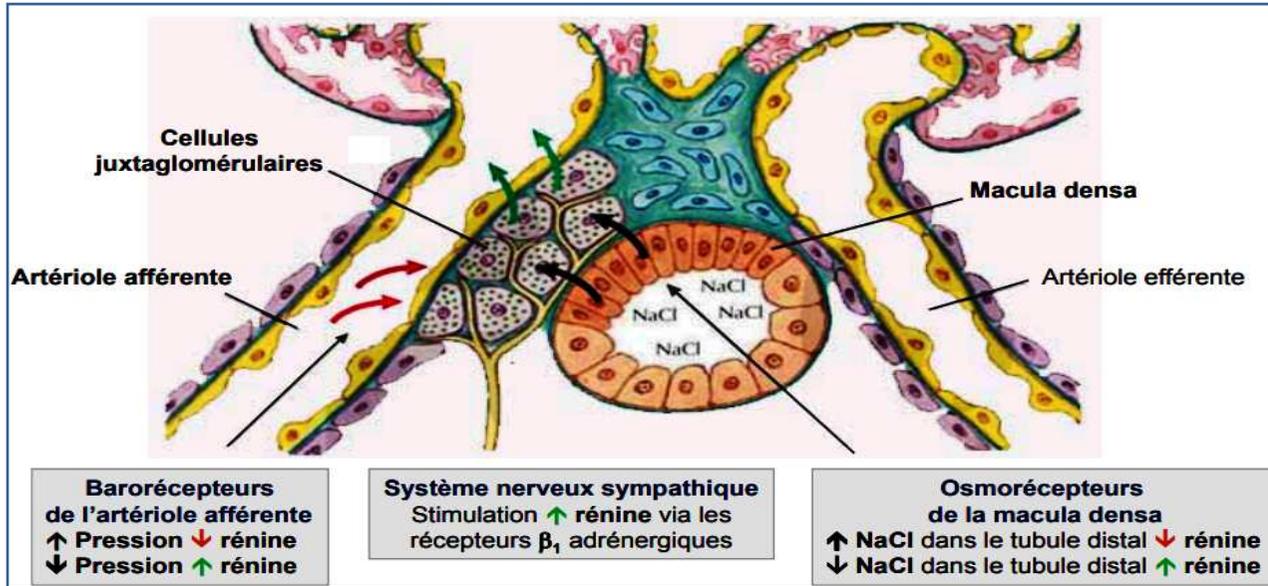
❖ Cependant, lorsque les dommages sont irréversibles se constituant lentement, sur plusieurs mois ou années, il s'agit d'une insuffisance rénale chronique (IRC). Les facteurs déclenchant sont la néphropathie diabétique, l'hypertension artérielle et la glomérulopathie (**Ramilitiana et al., 2016**).

2.5. La néphropathie diabétique

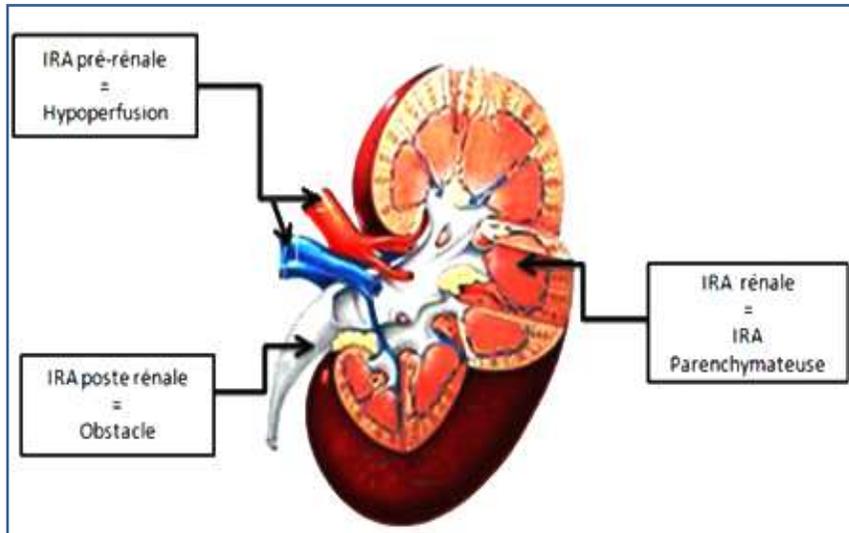
L'hyperglycémie est le plus important facteur stimulant les cellules rénales à produire les cytokines et les facteurs de croissance. Ces substances favorisent l'accumulation de matrice extracellulaire au niveau mésangial et glomérulaire, provoquant ainsi, une glomérulosclérose et une fibrose tubulo-interstitielle (**Kanwar et al., 2008**).

2.5.1. Epidémiologie

La néphropathie diabétique est actuellement la première cause d'insuffisance rénale dans la plupart des pays occidentaux (entre 10 à 50%). L'incidence de l'insuffisance rénale terminale (IRT) d'origine diabétique progresse le plus vite d'environ 10 à 15% par an, cette augmentation est attribuée à plusieurs facteurs notamment le vieillissement de la population (l'incidence du diabète type 2 avec l'âge), et à des facteurs socio. (**FID, 2107**)

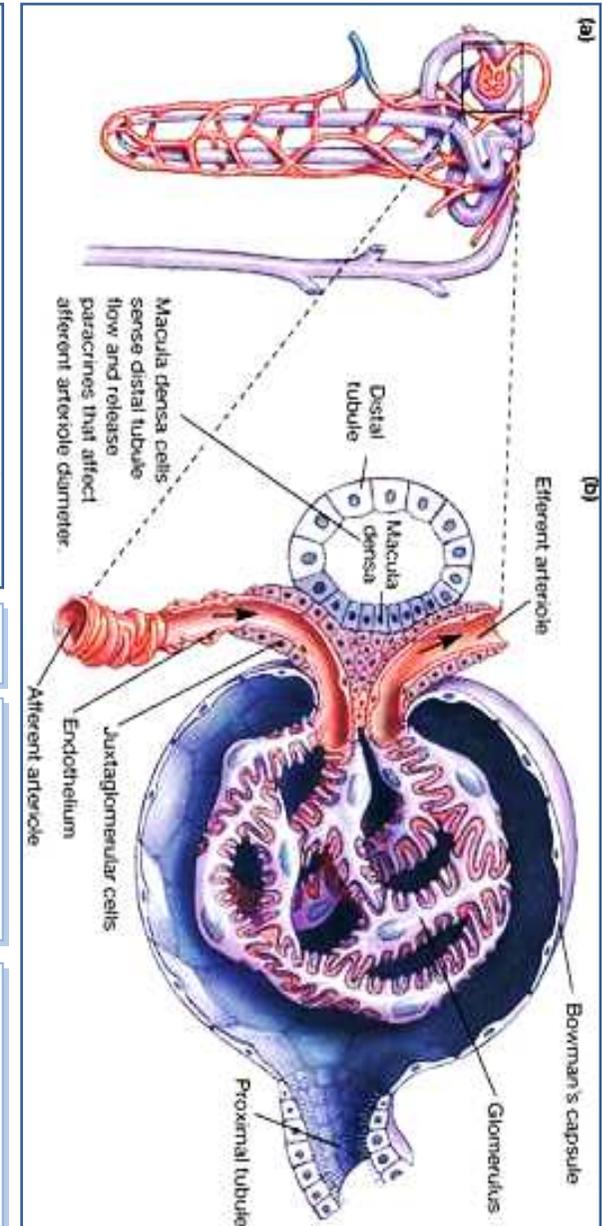


▲ **Figure 03** : Mécanismes de libération de la rénine par AJG (Godin, 2012)



► **Figure 4** : structure du néphron (a) et du glomérule (b) (Godin, 2012)

◀ **Figure5** : Localisation des causes éventuelles de l'insuffisance rénale aigue (maurizi-balzan, 2004)



2.5.2. Classification de la néphropathie diabétique

Mogensen a proposé vers la fin des années 80 une classification anatomo-fonctionnelle des stades d'évolution de la néphropathie diabétique. Cette classification est toujours d'actualité. Il a ainsi défini 5 stades de la néphropathie diabétique (**Weekers et al., 2005**).

Tableau N°1 : Stades de la néphropathie diabétique d'après la classification de Mogensen (Weekers et al., 2005).

Le stade 1 : correspond à une phase d'hypertrophie rénale et d'hyperfiltration glomérulaire présente dès la découverte du diabète.

Le stade 2 : correspond à une phase latente ou silencieuse. Il débute après quelques années d'évolution du diabète et peut persister plusieurs décennies. Il est caractérisé par l'apparition de lésions histologiques rénales minimales, sans traduction clinique.

Le stade 3 : défini par la présence d'une microalbuminurie correspondant à une augmentation de l'excrétion urinaire d'albumine supérieure à 30 mg/24 h mais inférieure à 300 mg/24 h

Le stade 4 : On retrouve la néphropathie clinique proprement dite, avec une protéinurie macroscopique supérieure à 300 mg/24 h et une insuffisance rénale chronique avec diminution du débit de filtration glomérulaire et hypertension artérielle.

Le stade 5 : correspond à l'IR préterminale ou terminale, état irréversible aboutissant à un traitement substitutif par dialyses itératives et/ou transplantation. La protéinurie diminue et la fonction rénale s'effondre. En l'absence de prise en charge, ce stade survient 10 à 15 ans après l'apparition du stade 3.

2.5.3. Facteurs de risque pour la néphropathie diabétique

Parmi ces facteurs, on distingue (**McIsaac et Jerums, 2003 ; Haslett et al., 2005**)

- hyperglycémie avec une longue durée du diabète.
- présence de complications microvasculaires.

- hypertension préexistante avec antécédents familiaux
- antécédents familiaux de néphropathie diabétique.
- Tabagisme.

2.5.4. Physiopathologie

La physiopathologie de la néphropathie diabétique (ND) peut être subdivisée en deux grands axes portant respectivement sur les rôles de la glucotoxicité/stress oxydatif et sur les modifications de l'hémodynamique intra-rénale.

2.5.4.1. Rôle de l'hyperglycémie et du stress oxydatif

Le plus grand progrès dans la compréhension des mécanismes moléculaire qui conduisent à la microangiopathie diabétique est certainement la reconnaissance du rôle central du stress oxydatif. Celui-ci résulte d'un déséquilibre entre production et dégradation des radicaux libres oxygénés (**Favier, 2006**).

Les liens avec la glucotoxicité sont étroits : les produits de glycation avancée se lient à des récepteurs spécifiques (RAGE) qui stimulent la production de radicaux libres, principalement par la mitochondrie lorsqu'elle est soumise à une surcharge en donneurs d'électrons provenant d'un cycle de Krebs dopé par l'hyperglycémie (**Carrière et al., 2006**).

Le concept de la glucotoxicité recouvre plusieurs mécanismes (**Robertson, 2004**) :

- ❖ la glycation non-enzymatique des protéines
- ❖ l'alimentation de la voie des polyols
- ❖ la glycolyse incomplète qui fournit des substrats à la voie des hexosamines
- ❖ l'auto-oxydation du glucose en céto-aldéhydes avec production de radicaux libres

2.5.4.2. Rôle de l'hémodynamique intra-rénale

Les modifications de l'hémodynamique intra-rénale, tout particulièrement l'augmentation de la pression intraglomérulaire, jouent également un rôle important dans la physiopathologie de la néphropathie diabétique. Au stade initial, l'hyperglycémie conduit à une vasodilatation préférentielle de l'artériole afférente qui se traduit, cliniquement, par une hyperfiltration glomérulaire.

Plus tard dans l'évolution de la ND, une fois le stade de la protéinurie atteint, s'installent des mécanismes auto-entretenus de dégradation de la fonction rénale, avec une réduction progressive de la masse néphronique à nouveau responsable d'une hypertension glomérulaire dans les néphrons résiduels. L'axe rénine-angiotensine joue un rôle central dans

le contrôle de la pression intraglomérulaire par l'effet vasoconstricteur préférentiel qu'exerce l'angiotensine II sur le tonus de l'artériole efférente (**Weekers *et al.*, 2005**).

chapitre 3 :

Diabète & stress oxydant

Chapitre 03: Diabète & stress oxydant

3.1. Voies de production d'ERO au cours des états d'hyperglycémie

Une fois entrée dans la cellule, le glucose est d'abord converti en glucose-6-phosphate, fructose-6-phosphate, fructose-1,6-diphosphate, puis en deux glycéraldéhyde-3-phosphate, pour être dégradé ensuite en pyruvate. Le pyruvate rejoint alors la mitochondrie et se transforme en acetyl CoA qui continue sa dégradation dans le cycle de Krebs pour sustenter le processus d'oxydation phosphorylante et la synthèse d'ATP. Cependant, lorsque le glucose est excédentaire par rapport à la demande énergétique, six voies de production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) à partir de ses métabolites sont possibles (Robertson, 2004) (Figure 06).

3.1.1. La formation d' α -cétoaldéhyde

L' α -cétoaldéhyde contribue à la glycosylation des protéines, et à la production d' H_2O_2 (Robertson, 2004).

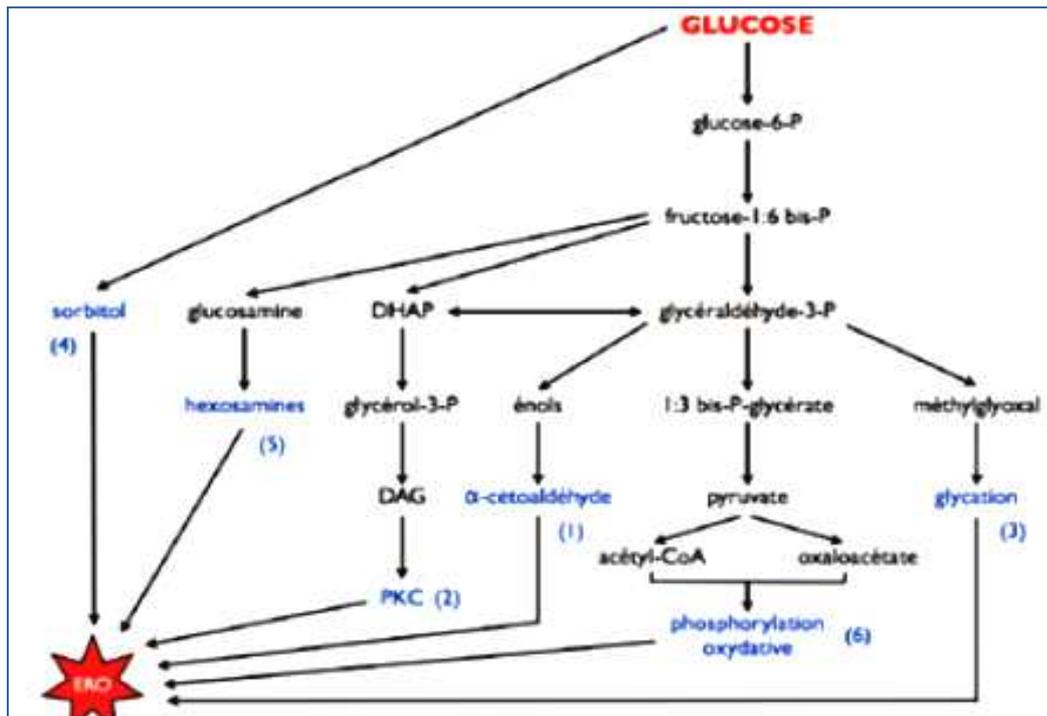
3.1.2. L'auto-oxydation du glucose

Le glucose, en présence de métaux de transition, donne naissance à un radical anionique ène-diol ; celui-ci, en réduisant l'oxygène moléculaire, libère des anions superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) ; au cours de cette réaction, il y a formation concomitante d'un composé carbonyle. L'anion superoxyde peut se dismuter en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Ce dernier, en présence de métaux de transition, produit des radicaux hydroxyle ($HO\cdot$) qui sont extrêmement réactifs (Hunt *et al.*, 1988).

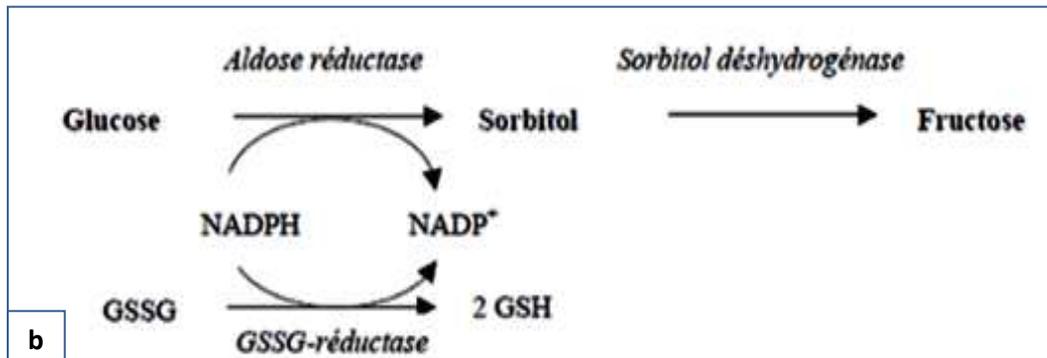
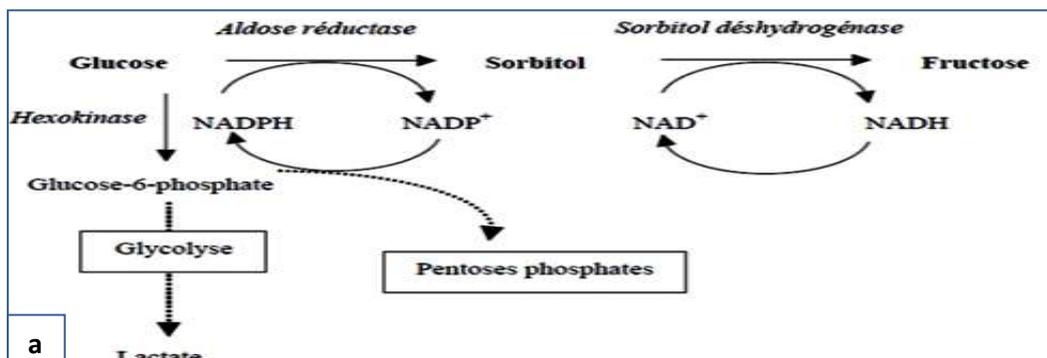
3.1.3. Voie de polyol

Dans des circonstances pathologiques comme l'hyperglycémie, l'hexokinase, enzyme activant autre fois le glucose pour être métabolisé est saturée. L'excès en glucose suscite la voie des polyols, faisant intervenir deux enzymes : l'aldose réductase qui réduit le glucose en sorbitol utilisant le NADPH comme donneur d'hydrogène, et le sorbitol déshydrogénase qui oxyde une partie du sorbitol formé en fructose utilisant le NAD^+ comme cofacteur (figure 07). L'activation de la voie des polyols conduit à :

- * L'accumulation du sorbitol (agent du stress osmotique très actif) ;
- * L'accumulation du fructose qui stimule la glycosylation non enzymatique des protéines ;
- * La diminution du rapport $NADPH, H / NADP$ et $NAD / NADH, H$ (altération du potentiel redox) ce qui affecte la régénération du GSH (Tropeano, 2003).



▲ **Figure N°6** : Les six voies de production d'ERO par le glucose (Robertson, 2004)



▲ **Figure N°7** : Les différentes voies de métabolisation du glucose (a) et Compétition de réaction pour le NADPH (b) (Régis, 2011)

3.1.4. La glycosylation non enzymatique «glycation»

Chez les diabétiques, la glycation est considérée comme la principale altération qui affecte les protéines plasmatique, parmi lesquelles l'albumine et l'hémoglobine sont les plus souvent concernées.

La structure des protéines se trouve ainsi modifiée, ce qui leurs occasionnent une altération des propriétés intrinsèques, présentant des répercussions néfastes sur la physiologie cellulaire (Vidot et al., 2014). La glycation figure aussi parmi la plus caractéristique des modifications post-traductionnelles tardives des protéines, qui fournissent les bases métaboliques à de nombreux phénomènes physiopathologiques chez l'homme, tels que le vieillissement, l'insuffisance rénale, l'athérosclérose ou le diabète sucré (Levine et al., 2000).

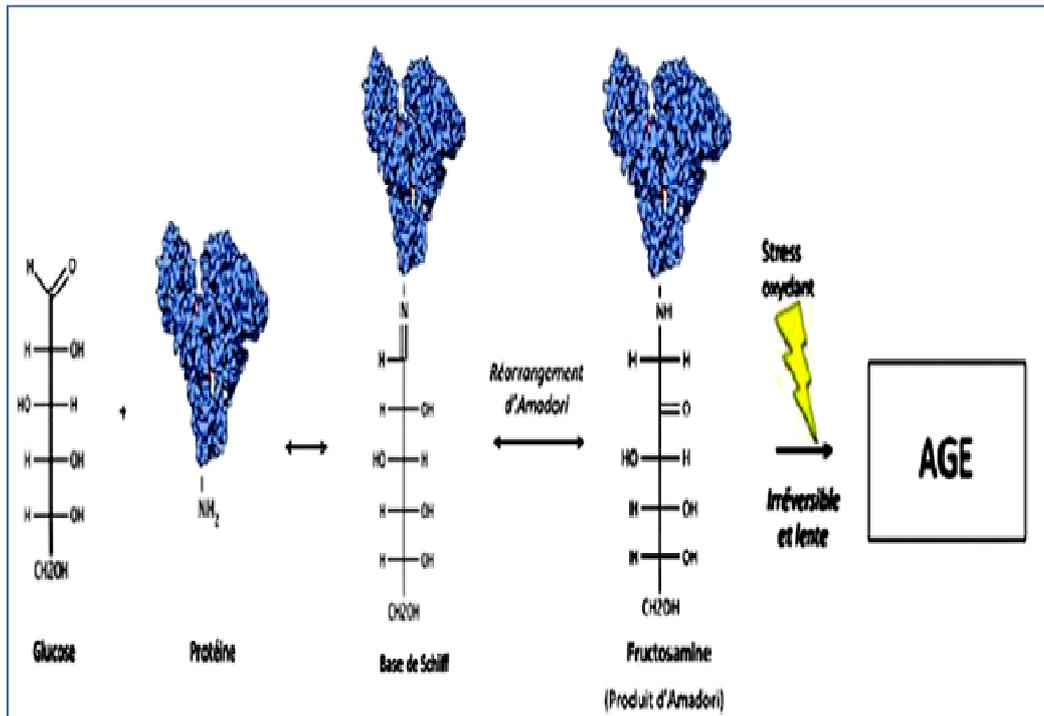
a. Formation des AGEs

La glycation des protéines est un processus se déroulant en trois étapes de différentes durées. La première étape correspondant à la formation de la base de Schiff (quelques heures) suivie de la formation des produits intermédiaires de glycation (produits d'Amadori) par réarrangement moléculaire (quelques jours). Vient ensuite, le processus lent de formation des produits finaux de glycation (AGEs) (plusieurs semaines) (Gillery, 2006) (Figure 08).

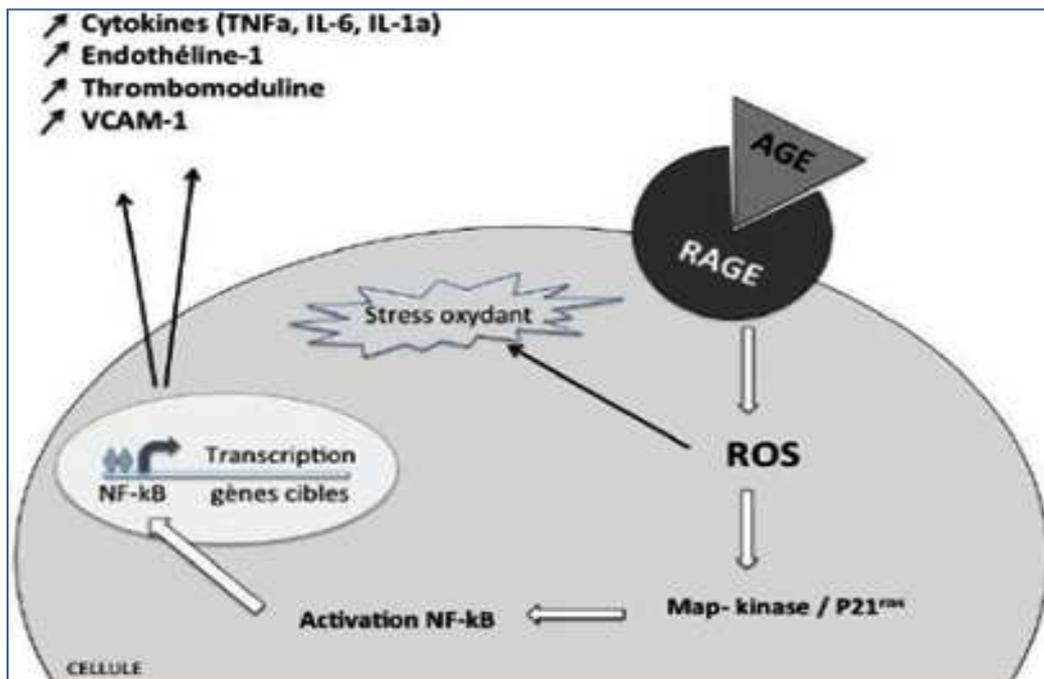
La formation des AGE est dépendante des ERO, elle est augmentée par la production de dialdéhyde malonique (MDA) et par la déplétion en glutathion réduit (GSH) (Jain et Palmer, 1997).

b. Les AGE-RAGE

Une fois formés les AGE peuvent influencer la fonction cellulaire en se liant à plusieurs sites membranaires, y compris le récepteur RAGE se qui déclenche une série de réactions en cascade débutant par la formation d'ERO induisant ainsi un stress oxydant intracellulaire favorisant l'activation de facteurs de transcription (NF-Kb) et l'expression de gènes impliqués dans : la réponse inflammatoire (IL-1a, IL-6 et TNF-a), l'adhésion cellulaire (VCAM-1), la vasoconstriction (endothéline-1) et la coagulation (thrombomoduline) (Yan et al., 1994 ; Wautier et al., 1996 ; Lander et al., 1997 ; Gillery, 2001) (Figure 09).



▲ Figure N°8 : Formation des AGEs (Meerwaldt *et al.*, 2005)



▲ Figure N°9 : Effet de la fixation des AGE sur leurs récepteurs RAGE (Yan *et al.*, 1994)

3.1.5. La voie de la protéine kinase C

Le diacylglycérol (DAG) participe avec la phosphatidylsérine et le calcium à l'activation de la protéine kinase C jouant un rôle clé dans les différentes voies de signalisation (**Huang, 1989**).

Dans un environnement diabétique, la concentration de DAG augmente en raison d'une augmentation de la Dihydroxyacétone Phosphate (DHAP), un intermédiaire de la glycolyse. Ce produit est réduit en glycérol-3-phosphate, qui est conjugué avec des acides gras (**Lazo & Fernández, 2013**).

L'activation de ces protéines kinases a plusieurs conséquences comme l'augmentation des :

- TGF- β à l'origine de l'expansion des cellules mésangiales.
- PAI-1 induisant une diminution de la fibrinolyse.
- VEGF qui augmente la perméabilité et la prolifération vasculaire. Le VEGF a un rôle important dans la rétinopathie proliférante.

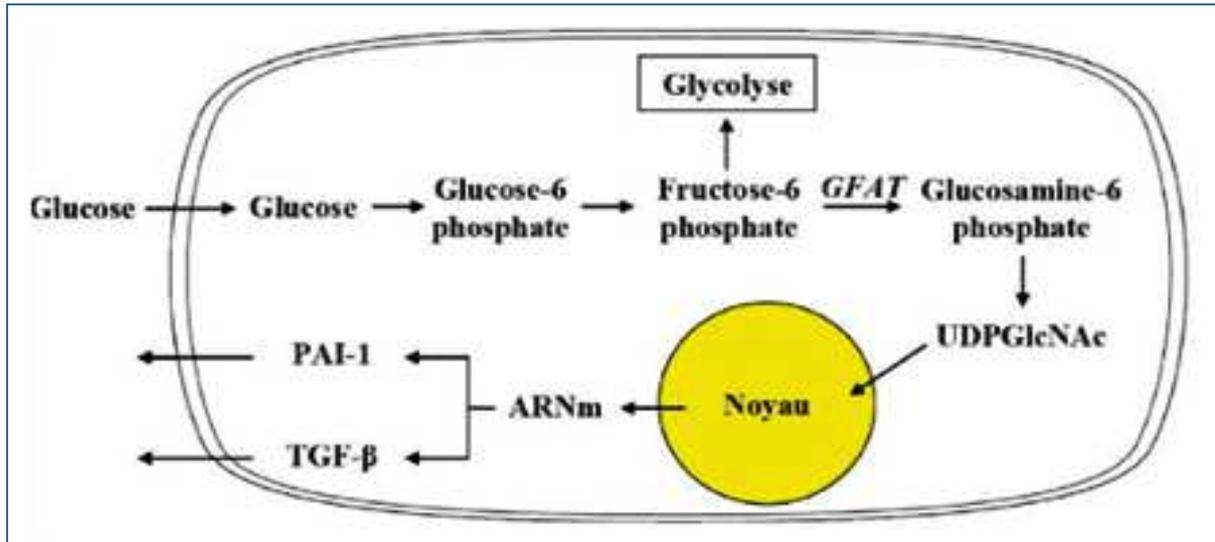
3.1.6. Voie des hexosamines

Une partie du fructose-6 phosphate produit lorsque le glucose est métabolisé via la glycolyse, est détournée de cette voie et est convertie en glucosamine-6 phosphate par la glutamine fructose- 6- phosphate amino transférase. Celui-ci est ensuite converti en uridine diphosphate N acétyl glucosamine qui va modifier différents facteurs de transcription conduisant à l'expression de gènes et à la synthèse de protéines tels que «Transforming Growth Factor- β » (TGF- β) et «Plasminogen Activator Inhibitor-1 » (PAI-1) (**Tropeano, 2003**) (**Figure 10**).

3.2. Rôle du stress oxydant dans les complications associées au diabète

Différentes études ont pu montrer que les effets du stress oxydant jouent un rôle important dans la genèse des complications vasculaires du diabète, elles sont classées en deux sortes: macrovasculaires (ex. l'athérosclérose) et microvasculaires (ex. la néphropathie, la rétinopathie et la neuropathie autonome et périphérique) (**Jenkins et al., 2007**).

La plus part des organes sont susceptibles d'être touchés par les conséquences délétères du diabète et du stress oxydant que ce soit le foie, le pancréas, les reins, la rétine, le coeur et les artères. Les mécanismes mis en jeu font intervenir les produits de glycation avancée des protéines (AGE ou advanced glycation end products) (**Brownlee, 2005**).



▲ **Figure N° 10 : Voie des hexosamines en conditions d'hyperglycémie (Brownlee, 2005).**

GFAT : glutamine fructose-6-phosphate amino-transférase ; **PAI-1** : Plasminogen activator inhibitor-1 ; **TGF-β** : Transforming growth factor-β ; **UDPGlcNAc** : Uridine diphosphate N acétylglucosamine

Chapitre 4 :

Matériels et Méthodes

Chapitre 04 : Matériels et Méthodes

Les marqueurs biochimiques tiennent une place particulière dans le diagnostic du diabète et ces complications. L'objectif de notre travail, est d'effectuer une étude comparative de quelques paramètres biologiques considérés comme facteurs prédictifs de l'évolution de la maladie. Cette étude est réalisée sur une population composée de patients : sains, diabétiques et atteints de néphropathie diabétique.

4.1. Matériels biologiques et expérimental

4.1.1. Population étudiée

Notre étude s'étale sur deux étapes :

❖ la première étape est portée sur 138 patients dont 46 témoins sains et 92 malades, réalisée dans trois structures étatiques : Hôpital Hadam Tidjani et maison diabétique à (Bir El Ater), Hôpital M^{ed} Chebouki à (Cheria).

Après un stage de formation qui a durée 30 jours, un recueillement de résultats des différents paramètres biochimique est effectué à partir du registre de l'hôpital.

❖ la deuxième partie est réalisée au niveau du laboratoire de Biochimie de l'Université Larbi Tebessi. Cette étape à nécessité la réception de 60 échantillons de plasma dans le but de réaliser le dosage de glutathion réduit GSH et le malondialdéhyde MDA.

Ces échantillons comportent: 20 patients sains en bonne santé considérés comme témoins (**groupe T**), 20 patients atteints de diabète (DID et DNID) (**groupe D**) et 20 autres atteints de néphropathie diabétique (**groupe ND**). Les prélèvements ont été réalisés avec le plein consentement des patients.

4.1.2. Préparation des échantillons

Les échantillons sanguins sont prélevés classiquement sur des patients à jeun entre 8h et 10h du matin. Une ponction veineuse au pli du coude permet de récolter 5ml de sang sur un tube contenant l'EDTA, ou l'héparine de lithium (calcémie) comme anticoagulant.

Les tubes préalablement étiquetés et numérotés pour chaque patient, sont ultérieurement centrifugés à 3000 tours/minute pendant 10 minutes, à l'aide d'une micropipette variable (100-1000 μ l) les plasmas récupérés serviront d'une part à la détermination des paramètres biochimiques (glycémie, albumine, bilan rénal et ionique), le reste est immédiatement transférés et conservés à - 80° C pour le dosage de GSH et MDA.

-Recommandations

Il est préférable d'utiliser du matériel plastique à usage unique pour toutes les manipulations. Il est conseillé aussi, d'éviter le traitement des échantillons hémolysés, contaminés ou ayant subi plus d'une décongélation. Les réactifs doivent généralement être ramenés à la température ambiante avant leur utilisation. En raison de la nature des produits, il est conseillé de les traiter avec beaucoup de soin vu qu'ils peuvent facilement se contaminer.



Figure N° 11: Prélèvement sanguin et préparation des échantillons

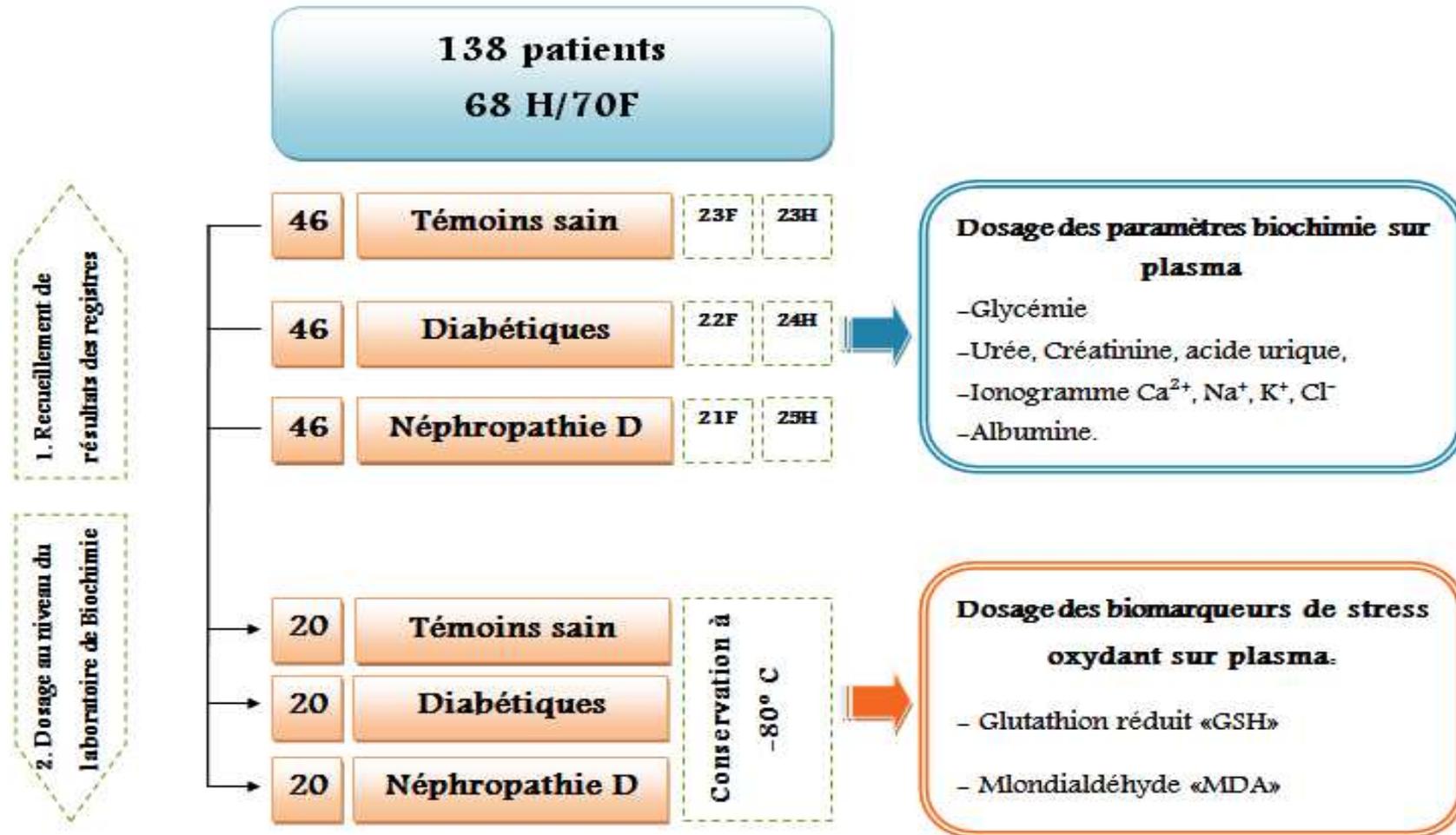


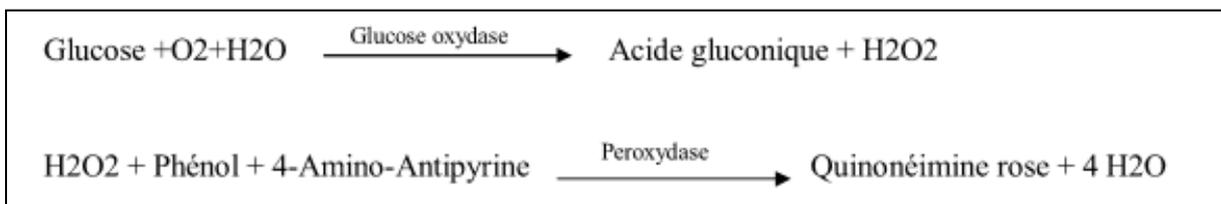
Figure N° 12: Les différentes étapes du protocole expérimental

4.2. Méthodes de dosage des paramètres biologiques

4.2.1. Mesure de la glycémie

La glycémie varie en fonction de l'activité de l'individu, de l'apport alimentaire, lors du jeun, et pendant la grossesse. Les valeurs de référence sont de 0,7-1,05 g/L soit 3,89 - 5,84 mmol/L. Pour contrôler l'équilibre glycémique chez nos patients nous avons choisi la glycémie à jeun comme critère de référence au lieu de l'hémoglobine glyquée non réalisable à l'hôpital.

Principe de méthode (Trinder, 1969) : En présence de glucose oxydase (GOD), le glucose en solution aqueuse est oxydé par le dioxygène dissout, en acide gluconique avec formation de peroxyde d'hydrogène selon l'équation suivante :



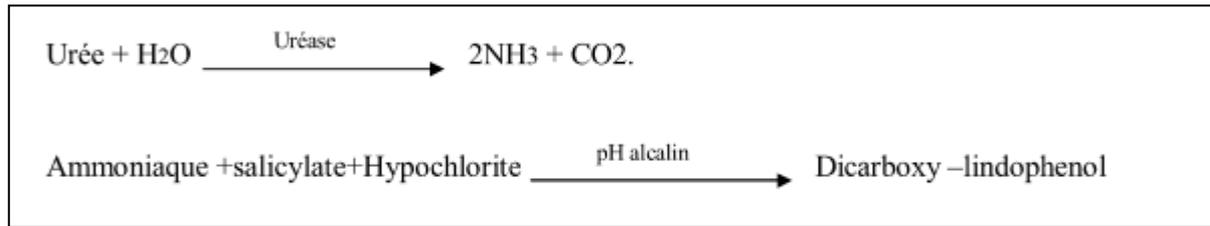
L'intensité de la coloration rose développée est proportionnelle à la concentration en glucose. Elle est mesurée par photométrie à 505 nm. La coloration reste stable pendant 30 minutes à 20°C-25°C ou 10 minutes à 37°C.

4.2.2. Mesure du bilan rénal

4.2.2.1. Mesure de l'urée

Le sang est prélevé de préférence sur l'héparine. Il est déconseillé d'utiliser l'héparinate d'ammonium ou le fluorure de sodium car ces derniers inhibent l'uréase utilisé dans cette technique. Généralement, l'urée en échantillon est stable 7 jours à 2-8°C et un an entre -15 et -25°C.

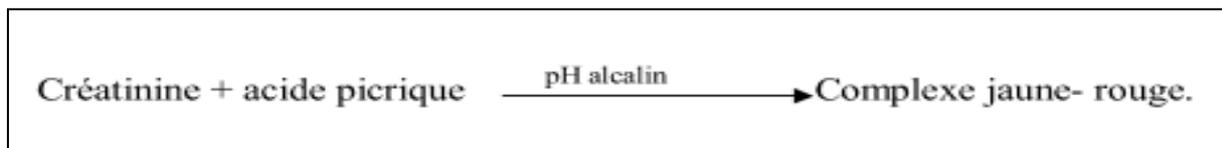
Principe de la méthode: Méthode enzymatique colorimétrique de Berthelot modifiée (**Talke et al., 1965**) : Les ions ammonium produits par l'action de l'uréase réagissent en milieu alcalin en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium en formant un composé de couleur verte (Dicarboxy - lindophenol) dont l'intensité mesurée à 590nm est proportionnelle à la concentration en urée.



4.2.2.2. Mesure de la créatinine

Une prise de sang veineux doit être faite à jeun et de préférence le patient doit éviter tout effort important avant le recueil. Le sang est prélevé de préférence sur un des anticoagulants suivants : l'héparine, l'EDTA, l'oxalate et le fluoride.

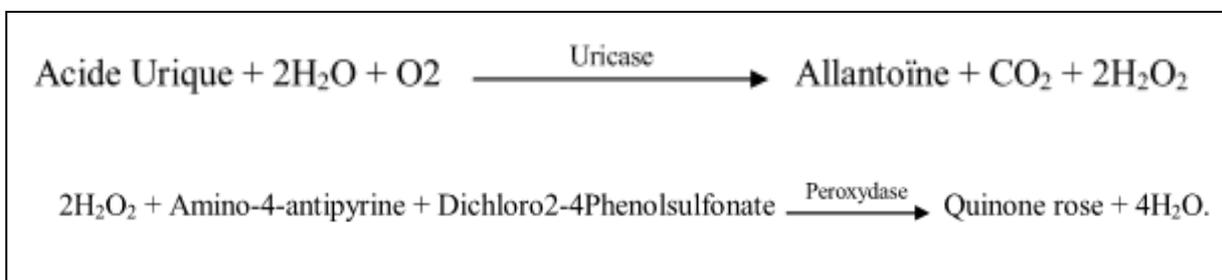
Principe de la méthode : Méthode colorimétrique de Jaffe (**Murray *et al.*, 1984**): Dans une solution alcaline, la créatinine présente dans l'échantillon, réagit avec le picrate en milieu alcalin pour donner un complexe coloré; jaune- rouge.



La vitesse de formation de la coloration est proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon. Elle est mesurée à 512 nm.

4.2.2.3. Mesure de l'acide urique

Principe de la méthode : Méthode enzymatique Uricase (**Schultz *et al.*, 1984**) : La détermination de l'acide urique par la méthode enzymatique se fait selon les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration rouge développée est proportionnelle à la concentration en acide urique, elle est mesurée par photométrie à 510 nm.

4.2.3. Mesure de l'albumine

Dans le plasma l'albumine est stable 72 heures à 2-8 °C ou 6 mois à -20°C. Le sang est prélevé de préférence sur l'héparine.

Principe de la méthode : Méthode colorimétrique BCG (**Doumas *et al.*, 1971**) : En milieu tamponné à pH 4.2, le vert de bromocrésol combine à l'albumine pour former un complexe coloré dont l'absorbance mesurée à 630 nm est proportionnelle à la concentration en albumine.

4.2.4. Mesure du bilan ionique

4.2.4.1. Calcium

Le plasma est prélevé de préférence sur héparinate de lithium, il faut éviter l'EDTA car il peut empêcher dans certains cas la formation du complexe coloré. Le calcium reste stable dans le sérum : 10 jours à 2-8°C ou 03 mois à -20°C.

Principe de la méthode : Méthode colorimétrique de Bleu de Méthylthymol (**Stern et Lewis, 1957**) : Le calcium présent dans l'échantillon réagit avec le bleu de Méthylthymol en milieu alcalin pour donner un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie à 610 nm.

4.2.4.2. Potassium, sodium et chlore

Principe : Le bilan ionique est réalisé par à un analyseur de type Medica, il permet une mesure directe à haute performance, utilisant une électrode d'ion ISE.

Le plasma est placé dans l'automate, la mesure de l'ionogramme commence. 150µL de l'échantillon sont prélevés de manière fiable, précise et rapide, plus de 60 échantillons par minutes.

Les résultats s'affichent automatiquement sur l'écran puis seront imprimés.

Les paramètres déterminés sont (Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Cl^-).



Figure N° 13 : Analyseur Medica

4.2.5. Mesure des paramètres du stress oxydant

4.2.5.1. Mesure du glutathion GSH

Principe

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **Wekbeker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique 0.25% afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

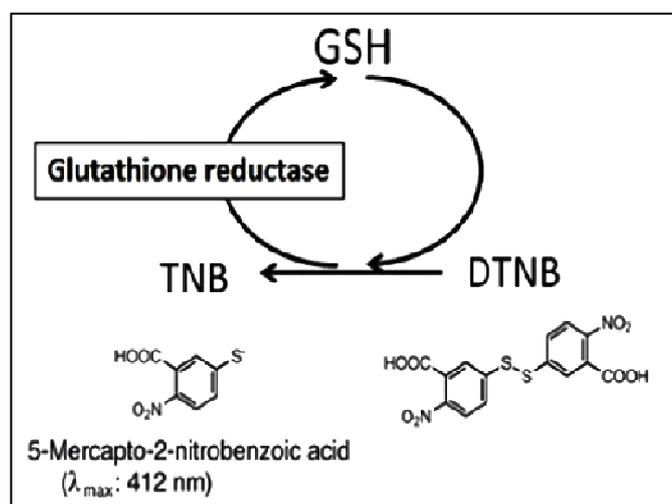


Figure N°14 : Mécanisme de quantification du glutathion réduit

Mode opératoire

- ❖ Prélever 0,8 ml de l'hémolysat
- ❖ Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique 0,25 %.
- ❖ Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ❖ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- ❖ Prélever 0,5 ml du surnageant.
- ❖ Ajouter 1 ml du tampon Tris + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
- ❖ Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- ❖ Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.
- ❖ Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

Calcul

$$[\text{GSH}] \text{ nMGSH/ml de plasma} = (\text{DO} \times 1 \times 1.525) / (13100 \times 0.8 \times 0.5)$$

- O** : Densité optique à 412 nm.
1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation
1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH
13100 : Coefficient d'absorbance du groupement (-SH) à 412 nm.
0.5 : Volume du surnagent trouvé dans 1,525 ml.
0.8 : Volume du l'homogénat trouvé dans 1 ml.

4.2.5.2. Mesure du malondialdéhyde MDA

Principe

Le dosage de malondialdéhyde (MDA) est réalisé selon la méthode **d'Esterbauer *et al.* (1992)**. Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie d'absorption à 530 nm.

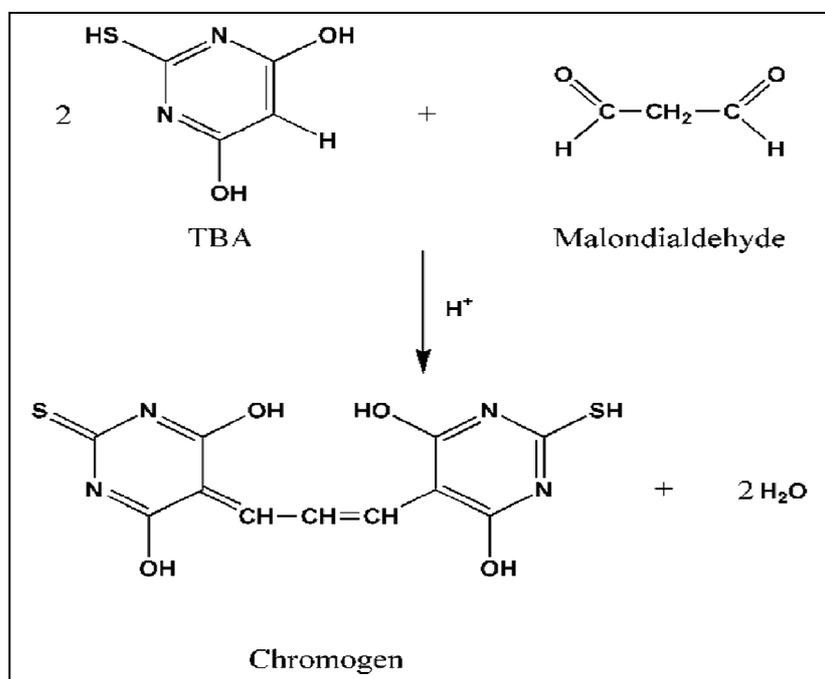


Figure N°15 : Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique

Mode opératoire

- ❖ Prélever 375 µl de l'homolysat
- ❖ Ajouter 150 µl de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4)
- ❖ Ajouter 375 µl de la solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%)
- ❖ Vortexer et Centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min
- ❖ Prélever 400 µl du surnageant
- ❖ Ajouter 80 µl du HCl 0.6 M
- ❖ Ajouter 320 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120mM)
- ❖ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.

La densité optique a été enregistrée à $\lambda = 530$ nm. L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés.

Calcul

$$[\text{MDA}]_{\text{nmol/ml de plasma}} = (\text{DO} \times 10^6) / (\epsilon \times L \times F_d)$$

- DO** : Densité optique à 530 nm.
E : Coefficient d'extinction molaire du MDA = 1.56×10^5 M cm .
L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm.
Fd : Facteur de dilution : Fd = 0.2083.



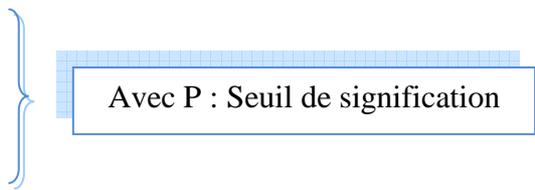
Figure N°16 : Galerie photos récapitulant quelques étapes dans la réalisation du dosage des biomarqueurs de stress oxydant

4.3. Etude statistique

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type moyen ($M \pm SD$). Ces moyennes sont comparées par un test *t* de *Student* par rapport aux valeurs témoins grâce au logiciel MINITAB (version 13.31).

Les différences sont considérées comme :

- ❖ Significatives lorsque (*P < 0,05).
- ❖ Hautement significative lorsque (**P < 0,01).
- ❖ Très hautement significative (**P < 0,001).



Avec P : Seuil de signification

Chapitre 5 :
les résultats

Chapitre 5 : Les résultats

5.1. Répartition des patients en fonction du sexe

Notre étude est portée sur une population de 138 patients réparties entre (patients sains, diabétique et souffrant de néphropathie diabétique) dont l'âge s'échelonne de 21 à 80 ans. La répartition des patients en fonction du sexe est démontré dans le tableau suivant.

Tableau N°2 : Distribution des patients selon le sexe

Sexe	Témoin (T)		Diabétique (D)		Néphropathie diabétique (ND)	
	H	F	H	F	H	F
Effectif	23	23	24	22	21	25
%	50%	50%	52.17%	47.83%	45.65%	54.35%
Total	46		46		46	

5.2. Influence des pathologies sur les Paramètres biochimiques

5.2.1. Exploration de la glycémie à jeun

Les résultats obtenus montrent une augmentation très hautement significatives ($p < 0.001$) de la glycémie à jeun chez les patients diabétiques, et atteint de néphropathie diabétiques par rapport aux témoins (**tableau N°3- figure17**).

Tableau N°3 : Variation de la glycémie (g/l) à jeun chez la population d'étude.

	T [n= 46]	D [n= 46]	ND [n= 46]
Glycémie (g/l)	0.869±0.143	2.072±0.180***	1.690±0.200***

P : Seuil de signification ** : Différence hautement significative
 * : Différence significative *** : Différence très hautement significative

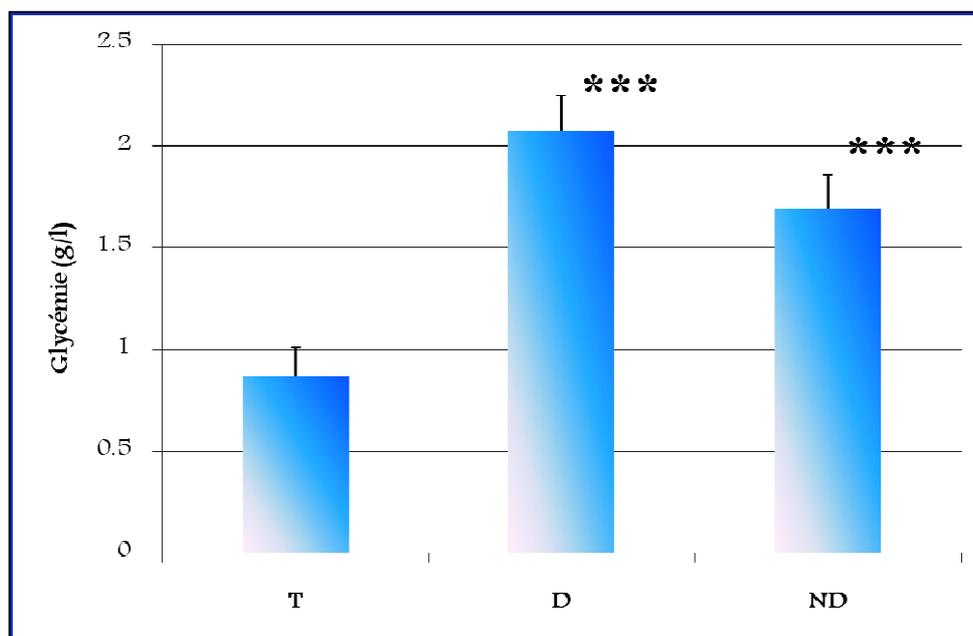


Figure N° 17 : Variation de la glycémie en (g/l) chez les patients témoins, diabétiques et souffrants de néphropathie diabétique

5.2.2. Exploration du bilan rénal

Nos résultats montrent, une légère augmentation significative ($p < 0.05$) des concentrations de l'urée (g/l) et l'acide urique (mg/l), ainsi qu'une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) de la créatinine (mg/l) chez les patients diabétiques sans complications rénales apparentes par rapport aux témoins.

Cependant, une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration du même bilan rénal est enregistré chez les patients avec une néphropathie développée par rapport aux témoins.

Tableau N°4 : Variation du bilan rénal « urée, créatinine et acide urique »

	T [n= 46]	1. D [n= 46]	ND [n= 46]
Urée (g/l)	0.224 ± 0.078	0.264 ± 0.075*	1.098 ± 0.035***
Acide urique (mg/l)	40.99 ± 6.540	44.40 ± 7.310*	62.20 ± 6.700***
Créatinine (mg/l)	9.240 ± 1.650	10.53 ± 1.750**	69.60 ± 2.700***

P : Seuil de signification

** : Différence hautement significative

* : Différence significative

*** : Différence très hautement significative

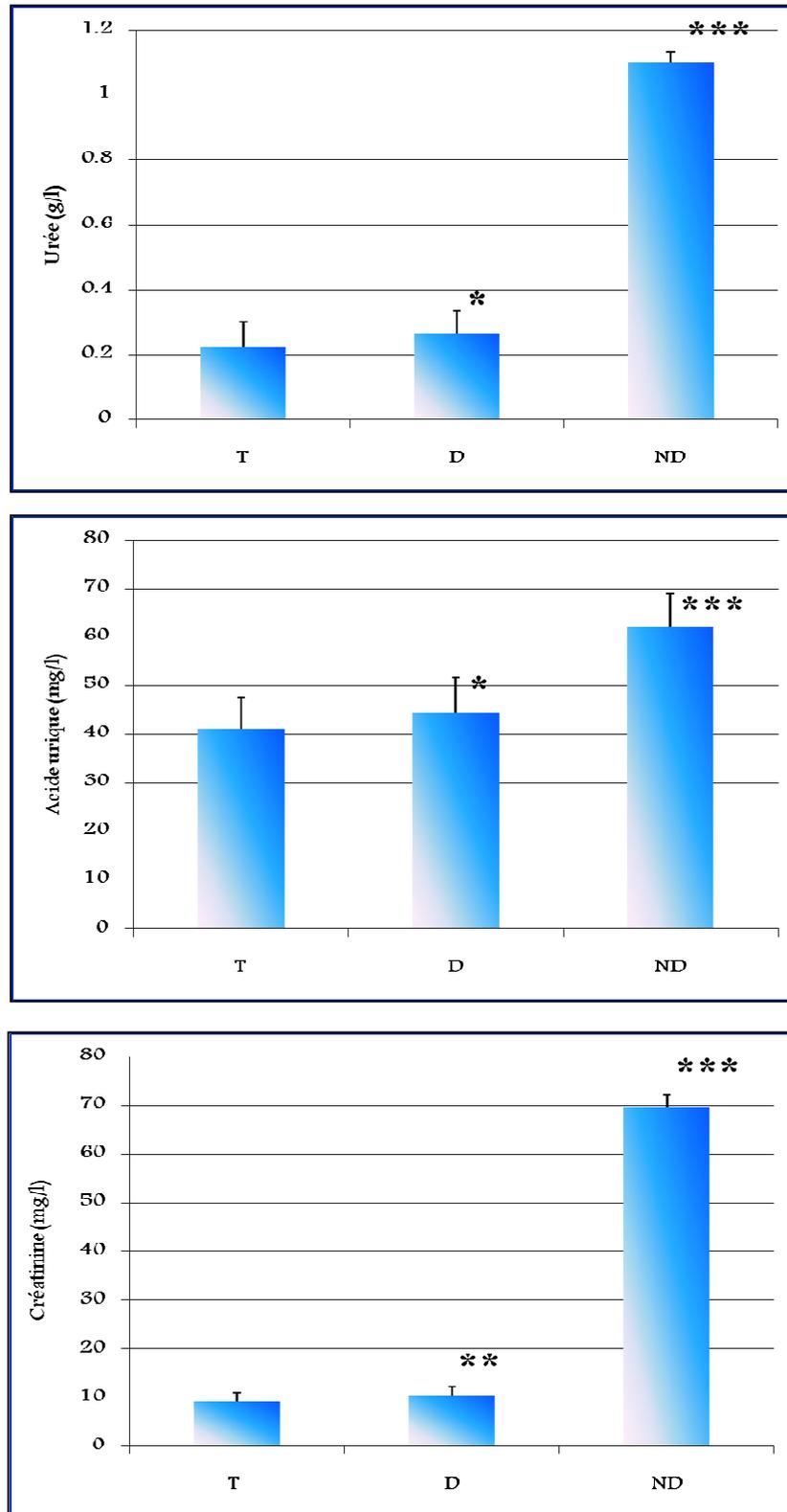


Figure N°18 : Variation du bilan rénal chez les patients témoins, diabétiques et souffrants de néphropathie diabétique

5.2.4. Exploration du bilan ionique

Les résultats obtenus dans le **tableau N°6** et la **figure N°21**, résument l'ensemble des changements enregistrés dans le bilan ionique, provoqués par le diabète et ses complications par apport aux sujets témoins.

❖ **Calcium (Ca^{2+} : mg/l)**: une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) est remarquée chez les patients diabétique et néphropathie diabétique.

❖ **Sodium (Na^+ : mmol/l)**: une augmentation significatif ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) est signalée chez les patients atteints de diabète et de néphropathie diabétique respectivement.

❖ **Potassium (K^+ : mmol/l)**: une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) est révélée chez les patients développant une néphropathie diabétique face au sujets témoins, aucune autre modification significative n'a été enregistrée.

❖ **Chlore (Cl^- : mmol/l)** : une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) est occasionnée chez les patients souffrant de néphropathie diabétique, aucune autre modification significative n'a été enregistrée par apport aux sujets sains.

Tableau N°6 : Variation du bilan ionique « calcium, sodium, potassium et chlore »

	T [n= 46]	D [n= 46]	ND [n= 46]
Calcium (mg/l)	51,52 ± 4,98	78,50 ± 14,40***	85,40 ± 12,30***
Sodium (mmol/l)	132,53 ± 4,94	134,91 ± 4,01*	135,08 ± 3,43**
Potassium (mmol/l)	3,950 ± 0,572	4,083 ± 0,712	5,124 ± 1,00***
Chlore (mmol/l)	106,34 ± 3,59	106,40 ± 5,09	109,00 ± 3,71**

P : Seuil de signification

** : Différence hautement significative

* : Différence significative

*** : Différence très hautement significative

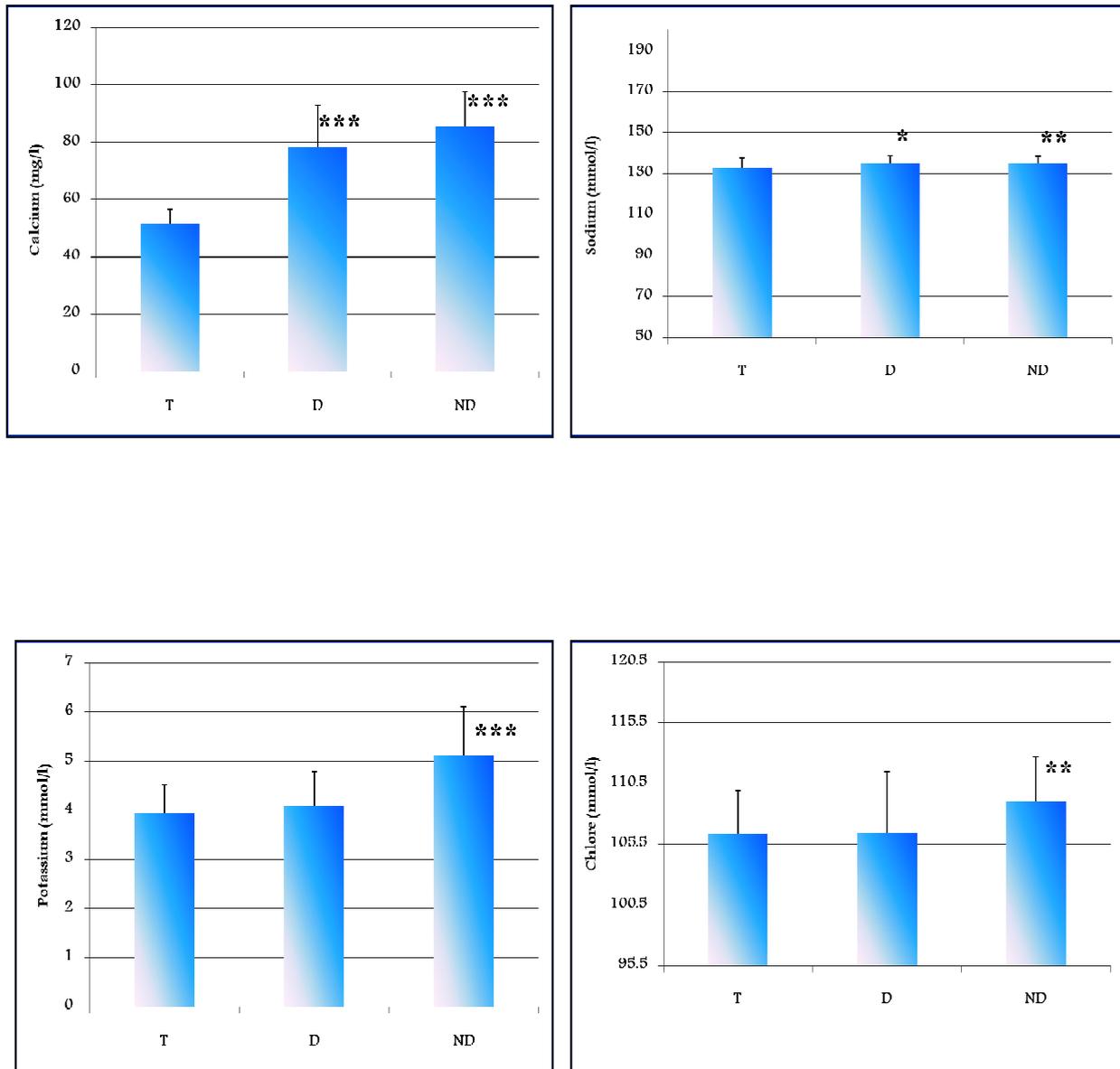


Figure N°20 : Variation du bilan ionique chez les patients témoins, diabétiques et souffrants de néphropathie diabétique

5.3. Influence des pathologies sur les paramètres du stress oxydant

5.3.1. Evaluation du glutathion réduit GSH (nmol/ml)

Les résultats obtenus montrent une diminution très hautement significatives ($p < 0.001$) du taux de GSH chez les patients atteints de diabète et de néphropathie diabétiques par rapport aux sujets témoins (tableau N° 7-figure N°21).

Tableau N°7 : Variation du taux de glutathion chez la population d'étude

	T [n= 20]	D [n= 20]	ND [n= 20]
GSH (nmol.10 ⁶ /ml)	26.93x±4x10 ⁶	15.13x10 ⁶ ±3.29x10 ⁶ ***	09.83x10 ⁶ ± 1.45x10 ⁶ ***

P : Seuil de signification

** : Différence hautement significative

* : Différence significative

*** : Différence très hautement significative

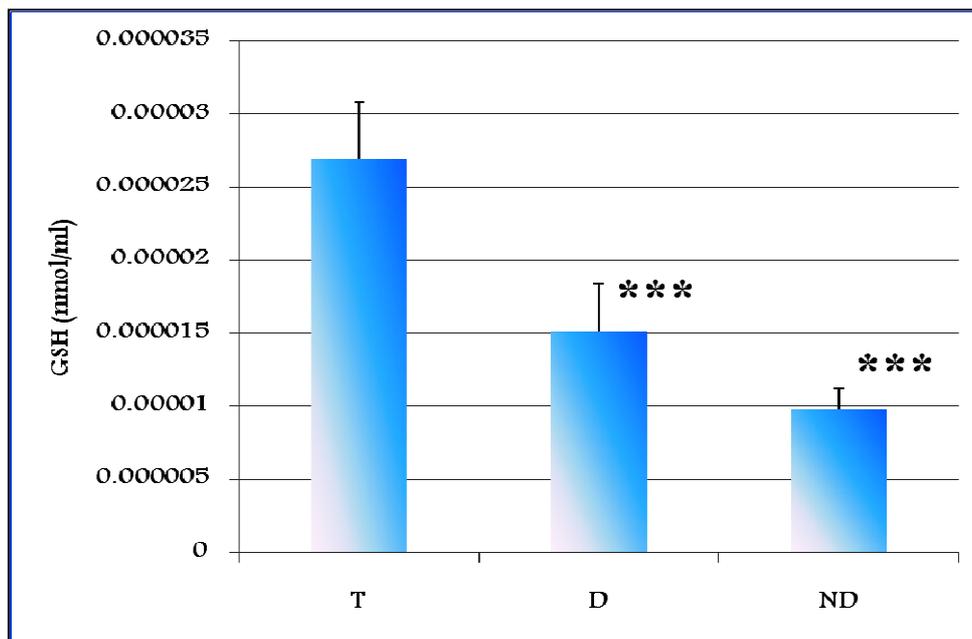


Figure N°21 : Variation du taux de GSH (nmol/ml) chez les patients témoins, diabétiques et souffrants de néphropathies diabétiques

5.3.2. Evaluation du taux de malondialdéhyde MDA (nmol/ml)

Les résultats illustrés dans le **tableau 08** et la **figure 22** signalent, une augmentation très hautement significative du taux plasmatique de MDA chez les patients diabétiques et atteints de néphropathie diabétiques par rapport aux témoins.

Tableau N°8 : Variation du taux d'MDA chez la population d'étude

	T [n= 20]	D [n= 20]	ND [n= 20]
MDA (nmol/ml)	9,99 ± 3,65	24,47 ± 6,52***	29,62 ± 8,37***

P : Seuil de signification

****** : Différence hautement significative

***** : Différence significative

******* : Différence très hautement significative

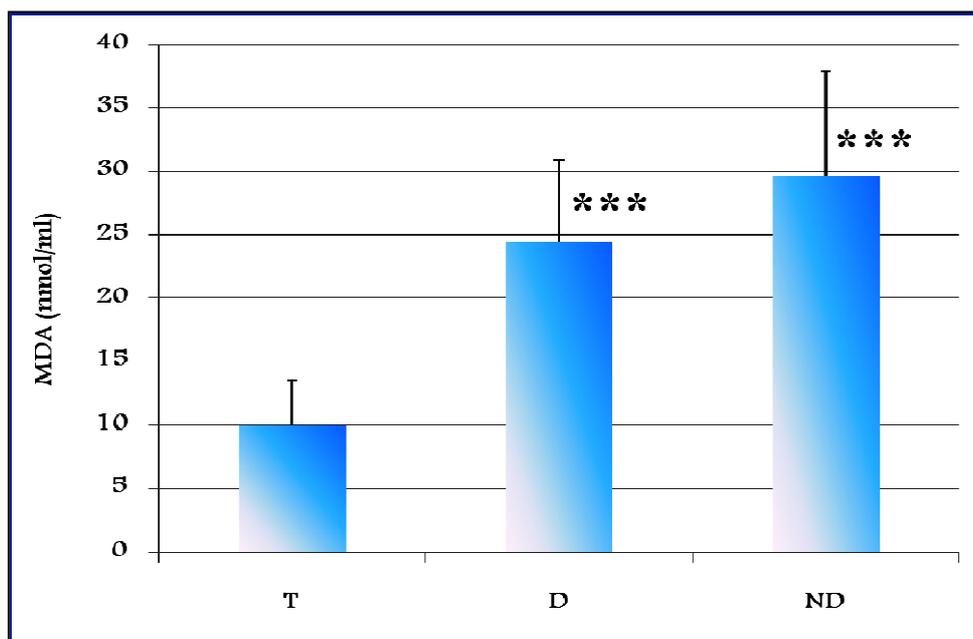


Figure N°22: Variation du taux de MDA (nmol/ml) chez les patients témoins, diabétiques et souffrants de néphropathies diabétiques

Chapitre 6 :
discussion

Chapitre 06 : La discussion

Parmi les complications microvasculaires du diabète, la néphropathie est sans doute celle qui engendre le pronostic le plus défavorable, puisqu'en plus d'exposer à un risque d'insuffisance rénale terminale, elle s'associe à une hausse importante de la morbi-mortalité cardio-vasculaire (**Foley et al., 2005**). L'incidence de cette pathologie est en constante augmentation dans notre pays, de sorte qu'elle représente un réel problème de santé publique (**FID, 2017**).

Une meilleure compréhension de la physiopathologie de cette affection ainsi qu'une identification précoce des sujets à risque, permettra de prévenir une véritable épidémie. La pathogénèse et le développement de la néphropathie diabétique ne sont pas entièrement compris, mais semblent être le résultat d'interactions entre des facteurs métaboliques et hémodynamiques (**Gariani et al., 2012**).

L'hyperglycémie

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative de la glycémie à jeun chez les patients diabétiques et atteints de néphropathie diabétiques par rapport aux sujets sains.

Il est clairement admis, que le mauvais contrôle glycémique est associé à une augmentation du risque de néphropathie diabétique (**Defraigne, 2005**). L'hyperglycémie occasionnée dans la majorité des cas, par un traitement mal adapté ou un régime alimentaire non respectée, mène à la formation des produits de glycations avancées (AGEs) qui vont se fixer sur le collagène de la membrane basale glomérulaire, sur les cellules mésangiales et endothéliales (**Makita, 1991**). Par conséquent, une production de diverses cytokines, facteurs inflammatoires et de croissances cellulaires, induisent une expansion de la matrice mésangiale, une glomérulosclérose et une élévation de l'excrétion urinaire d'albumine (**Williams, 2004**).

Une des hypothèses serait que l'accumulation d'AGEs par l'hyperglycémie provoque un dérèglement de l'enzyme eNOS et altère la production de NO. Ce phénomène provoque une dysfonction endothéliale au niveau glomérulaire et donc, un défaut d'autorégulation participant au développement de la néphropathie diabétique (**Weekers et Krzesinski, 2005**). Notre résultat est similaire à d'autres études parmi lesquelles on peut citer (**Bouattar et al., 2009 ; Roussel, 2011**).

Bilan rénal

La créatinine, l'urée et l'acide urique, sont des déchets produits par l'organisme et éliminés par les reins. Utilisés généralement comme indicateur d'une fonction rénale correcte (**Tsinalis et Binet, 2006 ; Dussol, 2011**).

Nous avons enregistré, une légère augmentation significative des concentrations de l'urée et de l'acide urique, ainsi qu'une augmentation hautement significative de la créatinine chez les patients diabétiques sans complications rénales apparentes. Ces perturbations peuvent être traduites selon le médecin traitant, par un début d'altération de la fonction rénale. Nos résultats corroborent avec ceux de (**Lasaridis et Sarafidis, 2005 ; Bouattar et al., 2009 ; Gautier, 2014**).

Parallèlement, une augmentation très hautement significative de ces paramètres est enregistrée chez les patients atteints de néphropathie diabétique. Plusieurs études ont révélées qu'une fois l'insuffisance rénale s'installe, les taux de ces paramètres augmentent significativement dans le sang traduisant un déficit de filtration voir d'excrétion rénale (**Richet, 2003**), ces métabolites se trouvent accumulés dans le sang et deviennent toxique (**Vanholder, 2003**). Ces résultats sont en accord avec l'étude (**Redouane, 2011**).

L'albumine

Une diminution modérée et statistiquement insignifiante de l'albumine est démontrés chez les patient atteints de diabète par rapport aux sujets sains, témoignant d'une albuminémie équilibré. Cependant, Les patients atteints de néphropathie diabétique présentent une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) de l'albuminémie en comparaison avec les témoins.

Cela est probablement du aux modifications de la filtration glomérulaire, entraînant une excrétion urinaire d'albumine (**Ruggenti et al., 2004**).

Plusieurs recherches renforcent l'idée qu'une insuffisance rénale chronique augmente le risque de carence en albumine (**Cano, 1990 ; Chevenne et Fonfrede, 2001**), les causes sont multiples :

-une concentration plasmatique des acides aminés fréquemment abaissée au cours de la néphropathie chronique (**Ruggenti et al., 2004**),

-une acidose métabolique responsable de l'utilisation des acides aminés, suite à une perte rénale des protéines (**Combe et al., 2004; Ruggenti et al., 2004**),

-l'insulino-résistance conduit à un effet stimulant la synthèse des protéines inflammatoires et inhibe la synthèse hépatique de l'albumine (**De Feo et al., 1993**).

De plus, l'albumine, comme de nombreuses protéines présentant une fonction thiol libre, a la capacité de piéger et de neutraliser les ROS. Ce thiol est représenté par une cystéine en position 34 de la protéine. L'albumine agit comme un tampon contre le stress oxydant au niveau plasmatique, il permet de limiter les réactions en chaîne produisant les ROS dans la circulation sanguine (**Roche et al., 2008**). Cette fonction antioxydante est mise à rude épreuve au cours du diabète, il peut être sujette à plusieurs modifications post-traductionnelles liées d'une part à des modifications de glycation sur ces résidus amines libres et d'autre part à des mécanismes oxydatifs (**Guerin-Dubourg et al., 2012**).

Le bilan ionique

On observe également une perturbation apparente dans le bilan ionique, caractérisée essentiellement par une augmentation très hautement significative des ions calcium, sodium, potassium et chlore chez les néphropathies diabétiques par comparaison avec le témoin.

Ces résultats sont en accord avec les résultats de **Redouane, (2011)**.

L'étude de ces ions permet le dépistage et la surveillance d'un déséquilibre acido-basique et le niveau d'hydratation dans le plasma. Cet équilibre est physiologiquement assuré par le rein fonctionnel, il peut être perturbé dans différentes circonstances, notamment les maladies rénales telles que la néphropathie diabétique (**Dussol, 2010**). En outre, un taux de phosphate plus élevé est associé à une mortalité cardiovasculaire plus importante et à une progression plus rapide de l'insuffisance rénale, également chez les diabétiques. Une attention spéciale à ces paramètres est donc recommandée (**KDOQI, 2007**).

Les marqueurs de stress oxydant

C'est une circonstance anormale dans laquelle sont placés les tissus de notre organisme lorsqu'ils sont face à un flux accru de radicaux libres, qu'ils n'arrivent plus à piéger ou à détruire (**favier, 2006**).

Pour évaluer un stress oxydant, trois types de marqueurs sont classiquement utilisés. Ce sont les marqueurs de la peroxydation lipidique, le pouvoir antioxydant du plasma et les systèmes de défense antioxydants.

La mesure des radicaux libres est difficile à cause de leur haute réactivité, de leur demi-vie extrêmement courte et de leur très faible concentration. C'est la raison pour laquelle on fait appel à des marqueurs indirects, qui permettent d'évaluer les produits secondaires à la peroxydation lipidique comme le malondialdéhyde (MDA).

Dans notre étude, seul le glutathion réduit (GSH) et l'MDA ont été mesurés, dans le plasma, les résultats sont comparés avec d'une population témoin mesurés dans les mêmes circonstances.

Le diabète et la néphropathie diabétique ont entraînés une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) de l'MDA par rapport aux témoins. Ces résultats corroborent avec les études de **Gallou et al. (1994)**.

Impliquant principalement les acides gras polyinsaturés, le stress oxydant endommage la structure et la fonction cellulaire responsable de la perte de l'intégrité membranaire des reins (**Ogur, 2005**). La plupart des études rapportent des taux plasmatiques en TBARS plus élevés chez les patients diabétiques qu'ils soient de type 1 ou de type 2 comparativement à une population de glycémie normal (**Greismacher, 1995**).

L'organisme se protège en permanence contre la formation et l'agression de ces oxydants grâce à divers mécanismes de défense tant enzymatiques que non enzymatiques (**Halliwell, Gutteridge, 2007**). Parmi ces derniers, on retrouve principalement le glutathion réduit (GSH).

Le glutathion, « γ -glutamyl-cystéinyl-glycine », est le plus abondant tripeptide dans le corps humain, il permet à l'organisme de se débarrasser des toxines et polluants indésirables, en formant avec eux un composé hydrosoluble susceptible d'être excrété dans l'urine ou la bile (**Favier, 2006**). Lorsque le glutathion est oxydé sous forme (GS•) il peut réagir avec un autre anion de glutathion pour former la molécule oxydée (GS-SG). Par la suite, elle peut être réduite en GSH de nouveau par la glutathion réductase NADPH- dépendante (**Valko et al., 2007**). Il est donc intéressant d'étudier le niveau de GSH dans le plasma des patients atteints de diabète et de néphropathie diabétique.

Nos résultats révèlent que les taux de GSH sont nettement diminués en comparaison avec les témoins.

Cet effondrement est peut être dû à sa conjugaison directe avec les espèces radicalaires produites au court du diabète et ces complications ou en raison de l'inhibition des enzymes antioxydantes qui sont impliquées dans sa régénération (**Tesfamariam, 1994**).

De nombreuses études ont montré que le glucose, lorsque sa concentration intracellulaire est anormalement élevée, emprunte préférentiellement la voie des polyols. Sous l'action de l'aldose réductase, il est réduit en sorbitol qui est alors oxydé en fructose par la sorbitol déshydrogénase. L'aldose réductase requiert, comme cofacteur, le NADPH (**Greene et Stevens, 1996**). De ce fait, un flux anormalement élevé de la voie des polyols entraîne une déplétion intracellulaire de NADPH. Or, des enzymes anti-oxydantes comme la glutathion réductase, qui régénère le glutathion réduit, agissent en présence de NADPH.

Ainsi, la déplétion intracellulaire de ce cofacteur, en diminuant l'activité de la glutathion réductase, a pour conséquence de diminuer le taux intracellulaire de glutathion réduit, un facteur important de protection vis-à-vis des dommages créés par les radicaux libres oxygénés (**Tropeano, 2003**).

Conclusion

Conclusion

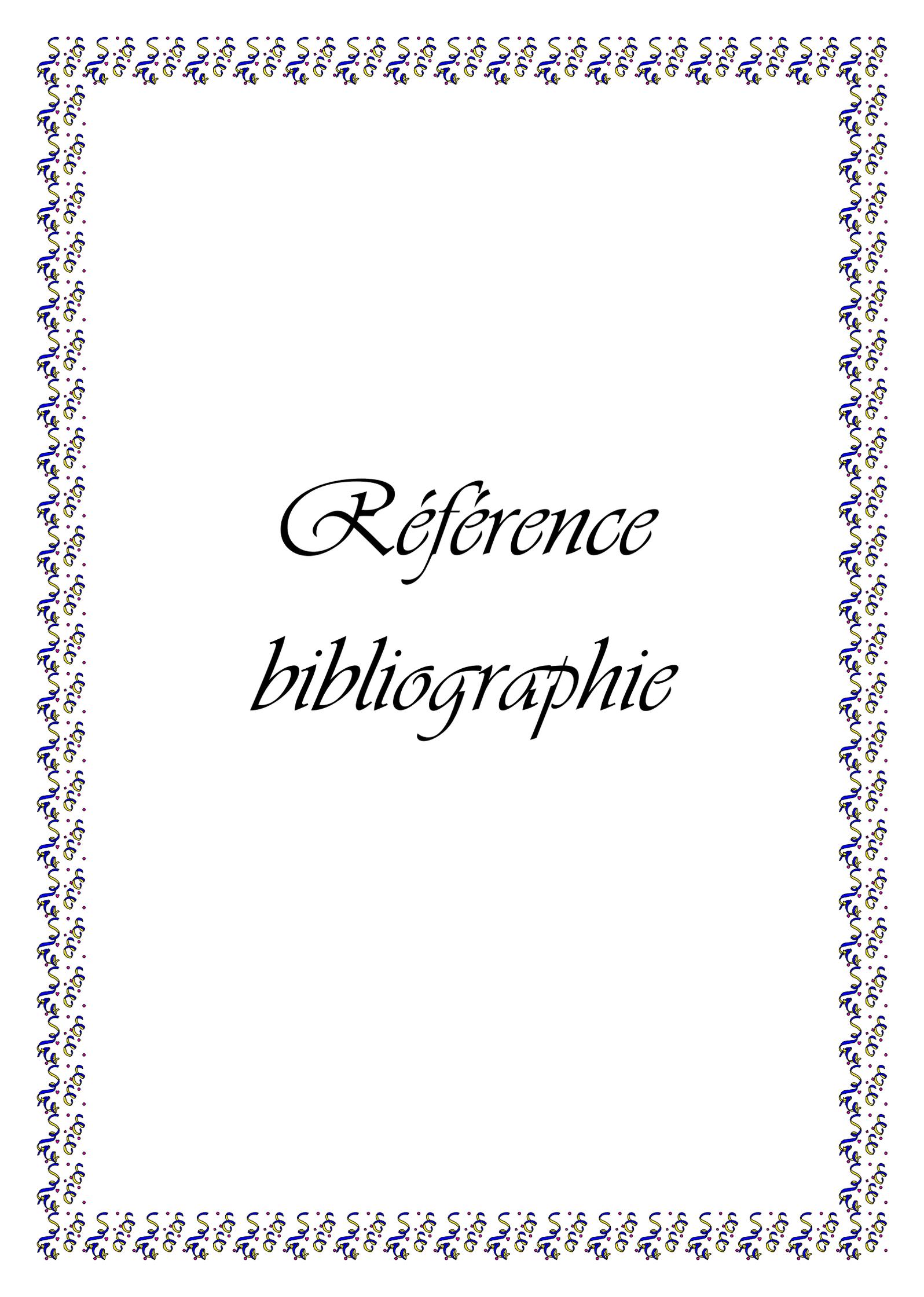
A défaut d'une prise en charge optimale, le diabète sucré engendre des complications à long terme qui font toute la gravité de la maladie. L'une des complications les plus redoutables est la néphropathie diabétique.

Au stade précoce, cette maladie passe souvent inaperçue avec un manque de techniques permettant de la mettre en évidence, l'évolution naturelle se fait le plus souvent vers une insuffisance rénale terminale. Généralement les malades tendent vers l'épuration extrarénale et la transplantation, cependant, le coût onéreux de ces solutions les rend peu accessibles.

L'objectif de ce travail est de déterminer, par l'étude de quelques biomarqueurs biologiques, la fréquence de la néphropathie dans une population diabétique. Nos résultats ont permis de mettre en œuvre une perturbation de la majorité des paramètres biologiques mesurés. Déterminé essentiellement par une augmentation significative de la glycémie, du bilan rénal, ionique et de l'MDA avec une déplétion de l'albuminémie et du taux de glutathion réduit chez les patients souffrants de diabète et de néphropathie diabétique par rapport aux sujets témoins.

La néphropathie diabétique (ND) est une pathologie en pleine croissance, aux lourdes conséquences, aussi bien physiologique que socio-économique. Elle apparaît fréquemment dans la population des diabétiques et nécessite une prise en charge adéquate afin de limiter son évolution à un stade précoce.

Cette étude reste préliminaire, nécessitant d'autres analyses approfondies et complémentaires. Dans ce contexte, et comme perspectives, il serait intéressant de poursuivre la recherche sur un modèle animal afin de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques conduisant à la dégénérescence des glomérules.



Référence

bibliographie

Références

- Allan L.** Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation: approche génétique ou pharmacologique; thèse de doctorat; Université Louis Pasteur Strasbourg I, 2008: p18-21
- Belhadj M., Aribi S., Arrada M., Ayad F., Bachaoui M., Benfenatki N., Berrah A., Berrah M., Bouchnak M., Bouderdia Z., Boudiba A., Brouri M., Cherrak A., Guermaz R., Lezzar E., Malek R., Mimouni S., Nadir-Azirou D., Oudjit S., Roula D., Zekri S.** Guide de diabétologie. la comité Médical Natrional de Diabétologie, 2005: p11.
- Blumental Y., Belghiti J., Driessen M.** Gynécologie-obstétrique. Edition Estem. Paris, 2009: p55-6
- Bouziane K., Touhami M.** Aspects cliniques et génétiques du diabète de type 1 chez l'enfant de l'ouest Algérien, 3ème congrès Maghrébin d'endocrinologie diabétologie Alger. Améliorer la prévention et les soins du diabète, *Diabetes Voice*. 2006 ; 53(2) : 19-21.
- Bories T.** Prise en charge thérapeutique des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes de l'Eure. Thèse de doctorat en médecine, 2012 : p
- Boyd SR., Advani A., Altomare F., Stockl F.** Rétinopathie. *Canadian journal of diabetes*. 2013 ; 37 (5) : S513–S517
- Braunwald E., Faussi A., Kasper D., Hanser S.** Principe de médecine interne. 15ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, 2002 : p 257.
- Brownlee M.** The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005 ; 54: 1615-1625
- Buyschaert M.** Diabétologie clinique. 3 édition de boeck. Bruxelles, 2006: p28-34C
- Parrière A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona MC., Pénicaud L., Casteilla L.** Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie. *Méd. Sci*. 2006 ; 22 : 47-53.
- Cano N.** Métabolisme des acides aminés au cours de l'insuffisance rénale chronique. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 1990 ;4(3) :151-62.
- Chevenne D., Fonfrède M.** Actualité sur les marqueurs biologiques du diabète. *Immunoanal. Biol. Spec*. 2001 ; 16 : 215-229.
- Combe C., Vendrely B., Moreau K., Lasseur C., Aparicio A.** Métabolisme protéique et insuffisante rénale chronique. *EMC –Néphrologie*. 2004 ; 1 : 2 -15.
- Davison AM.** Oxford Textbook of Clinical Nephrology. Volume 3. Oxford University Press, 2005 : 2749 pages

Defraigne JO. Un mécanisme physiopathologique central à l'origine des complications du diabète ? *Rev Med Liège.* 2005 ; 60 : 472-478.

De Feo P., Volpi E., Lucidi P., Cruiciani G., Reboldi G. Physiological increments in plasma insulin concentrations have selective and different effects on synthesis of hepatic proteins in normal humans. *Diabetes.* 1993 ; 42 (7) : 995-1002.

De Fronzo RA., Ferrannini E., Zimmet P. International Textbook of Diabetes Mellitus, 2 Volume Sept, 4th Edition. Wiley-Blackwell, 2015.

De la Fuente V., Saudan P., Stucker F. Epidémiologie de l'insuffisance rénale aiguë acquise dans la communauté. *Rev Med Suisse* 2014 ; 10 : 470-473

Doumas B et al. *Clin. Chim Acta.* 1971 ;31 : 87

Dubois LD., Timsit J. Diabète de type 1 et environnement. *Médecine/Sciences* 2000 ; 16 : 1045-50.

Duron F., Heurtier A., Complications du diabète en dehors des accidents métaboliques aigus. Faculté de Médecine, Pierre et Marie Curie. Paris-France, 2005

Dussol B. Equilibre potassique, hypokaliémie et hyperkaliémie. *Néphrologie et Thérapeutique.* 2010 ; 6 : 180-199.

Dussol B. Methodes d'exploration de la fonction rénale : intérêt et limites des formules permettant d'estimer la fonction rénale ; Immuno-analyse et biologie spécialisée. 2011 ; 26 : 6-12 .

Fernandez T., Stoermann-Chopard C. Vitamine D et insuffisance rénale chronique: regain d'intérêt pour une vitamine oubliée. *Rev Med Suisse.* 2012; 8 : 2140-2145

Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jungens, G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic. Biol. Med.* 1992 ; 13 : 341.

Favier A. Oxidative stress in human disease. *Ann. Pharm. Fr.* 2006 ; 64(6) : 390-396.

Fédération internationale du diabète. Atlas du diabète. 8^{ème} édition. 2017. [Www.Diabetesatlas.Org](http://www.Diabetesatlas.Org) [date de consultation 18.05.2018 à 16:25]

Flamment M., Foufelle F. Le stress du réticulum endoplasmique : de la physiologie à la pathogenèse du diabète de type 2. *Médecine science.* 2013 ; 29(8) : 756-764.

Foley RN., Murray AM., Li S. Chronic kidney disease and the risk for cardiovascular disease, renal replacement, and death in the United States medicare population, 1998 to 1999. *J Am Soc Nephrol* 2005;16: 489-95

Friedman S., Villa G., Christine M., Diabète insulino-dépendant, stress et troubles psychiatriques. *Encycl. Med. Chir. EMC. Psychiatrie.* 1996 ; 10 : 37-665

Gallou G., Ruelland A., Champion L. Increase in thiobarbituric acid reactive substances and vascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab* 1994 ; 20 : 258-64.

Gauthier AB. Mécanismes de calcification et de rigidité artérielle en insuffisance rénale chronique. Université laval. Québec-Canada, 2014 : p 01-72.

Gautier J.F., Cahagne B., Edan G., Balarac N., Halimi S., Allannic H. Neuropathie Diabétique Périphérique. *Diabetes et Metabolism*. 1997 ; 23(4) : 335-342.

Gariani K., de Seigneux S., Yves Martin P., Pechère-Bertschi A., Philippe J. Néphropathie diabétique. *Rev Med Suisse* 2012; 8 : 473-479.

Geoffroy K. Rôle des sphingolipides dans la modification de la prolifération des cellules mésangiales rénales en réponse au produit avancé de glycation (AGE) : implication dans le développement de la néphropathie diabétique. Thèse Doctorat en biochimie, Université Paris VII. Denis Didero, 2005: p31-39

Gillain-Martin N. Rôle physiologique et intérêt du dosage de l'érythropoïétine. *Revue de l'association belge des technologues de laboratoire*. 2012 ; 39(6) : 9-14.

Gillery P. Advanced glycation end products (AGEs), free radicals and diabetes. *J Soc Biol*, 2001 ; 195 (4) : 387-390

Gillery P. stress oxydant et glycation des protéines au cours du diabète sucré. *Ann Biol clin*. 2006 ; 64(4) : 309-314.

Girard J. Le rôle du rein dans l'homéostasie du glucose. *Médecine des Maladies Métaboliques*. 2013 ; 7(1) : 41-48

Godin-ribuot D. cours de physiologie rénale. Chapitre 4 : la filtration glomérulaire et sa régulation. Université Joseph Fourier. Grenoble-France, 2012

Gourdi P., Hanaire H., Mathis A., Martini J. Le diabète et ses complications, cours de Diabétologie. Faculté de Médecine, Université Paul Sabatier. Toulouse-France, 2008

Gourdi P. Diabète de type 2 et insuffisance rénale : une situation à haut risque cardiovasculaire. *Médecine des maladies métaboliques*. 2011 ; 5 (1): 31-37.

Guillausseau PJ., Laloi-Michelin M. Physiopathologie du diabète de type 2. *Rev Med Int*. 2003 ; 24 (11) : 730-737.

Gougoux A. Physiologie des reins et des liquides corporels. 2^{ème} édition. Multimonde, 2009 : 364 P

Greene DA., Stevens MJ. The sorbitol-osmotic and sorbitolredox hypotheses. In : *Diabetes Mellitus*. D. Le Roith, S.I. Taylor and J.M. Olefsky, Eds, Lippincott - Raven Publishers, Philadelphia, 1996.

Greismacher A., Kindhauser M., Andert SE. Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med* 1995 ; 98 : 469-75.

Grimaldi A. Traité de diabétologie 2^{ème} édition. Médecine Sciences. Flammarion. 2009.

Guebre-gziabher F., Juillard L., Kalbacher E., Bachetta J., Fouque D. Inflammation et insulino-résistance : particularités liées à la maladie rénale chronique. *Néphrologie & Thérapeutique*. 2010 ; 6(1) : 7-12.

Guerin-Dubourg A., Catan A., Bourdon E., Rondeau P. Structural modifications of human albumin in diabetes. *Diabetes & Metabolism* 2012 ; 38 : 171–178.

Casslett C., Edwin R., Boon N., Colledj NR., Hunter JAA. Davidson, Médecine interne, principe et pratique, traduit de la 19^e édition anglaise..Edition Maloine. 2005, ISBN.2-224-02789- 3. p : 578-682

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 4ed. OxfordUniversity Press : Oxford, 2007.

Heath JW., Lowe J., Stevens A., Young B. (). Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater. Edition De Boeck, 2008 : p305.

Hein KE., Tagliaferro AR. et Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2002 ; 13: 572-584.

Hewison M., Zehnder D., Bland R., Stewart PM. 1alpha-Hydroxylase and the action of vitamin D. *J. Mol. Endocrinol.* 2000 ; 25(2):141-148.

Hod M., Kapur A., Sacks DA, The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) Initiative on gestational diabetes mellitus: A pragmatic guide for diagnosis, management, and care. *Int J Gynaecol Obstet* 2015; 131 (3), 173-211;

Huang KP.The mechanism of protein kinase C activation. *TINS*. 1989 ; 12 : 425-432.

Hunt JV., Dean RT., Wolff SP. Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem J*, 1988 ; 256 : 205-12.

Chai C., Giunti C. Sur quels paramètres hémodynamiques rénaux ou de la fonction rénale doit-on agir pour protéger le rein ? *Annales Françaises d'anesthésie et de réanimation*. 2005 ; 24 : 148 - 160.

Jain SK., Palmer M. The effect of oxygen radicals metabolites and vitamin E on glycosylation of proteins. *Free Radic Biol Med*. 1997 ; 22 : 593-6.

Jenkins AJ, Hill MA, Rowley KG. Diabetes and Oxidant Stress. Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective. *Ed Holtzman J.L* 2007:123-160.

Joly D. Néphrologie, 3^{ème} édition. Vernazobre-Grego, 2002 : p228

Joseph JJ., Golden SH. Type 2 diabetes and cardiovascular disease: what next?. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2014 ; 21: 109–220.

Xanwar YS., Wada J., Sun L. Diabetic nephropathy: mechanisms of renal disease progression. *Exp Biol Med.* 2008 ; 233(1): 4-11.

KDOQI. Clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for diabetes and chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2007;49(2):S12-154.

Knip M., Virtanen SM., Seppä K., Ilonen J., Savilahti E., Vaarala O., Reunanen A., Teramo K., Hämäläinen AM., Paronen J., Dosch HM., Hakulinen T., Akerblom HK., Finnish TRIGR Study Group. Dietary Intervention in Infancy and Later Signs of Beta-Cell Autoimmunity. *N Engl J Med.* 2010 ; 363 :1900-1908

Kukreja A., Maclaren NK. NKT cells and type-1 diabetes and the "hygiene hypothesis" to explain the rising incidence rates. *Diabetes Technol Ther.* 2002 ; 4(3): 323-33. Review.

Lander HM., Tauras JM., Ogiste JS., Hori O., Moss RA. Schmidt A.M: Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras) dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant stress. *J Biol Chem,* 1997 ; 272(28):17810-17814

Langlois A. Optimisation de la revascularisation des îlots pancréatiques au cours de la transplantation, approche génétique ou pharmacologique ? Thèse Doctorat en sciences de la vie et santé. Université Louis Pasteur. Strasbourg-France, 2008

Laurent J. l'insuffisance rénale aigue. Springer Science & Business Media, 2007 : 331 pages

Lazo M., Fernández C. Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and the Role Of Vitamins with Antioxidant Actions, 2013: p 214

Levey S., Coresh J., Balk E., Kausz AT. National Kidney foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann .Intern.Med.* 2003; 139 : 137-47.

Levine RL., Wehr N., Williams JA., Stadtman ER., Shacter E. Determination of carbonyl groups in oxidized proteins. *Methods Mol Biol* 2000 ;99: 15-24

Makita Z., Radoff S., Rayfield EJ. Advanced glycation end products in patients with diabetic nephropaty. *N Engl J Med,* 1991, 325 ; 836-842.

Malek R., Belateche F., Laouamri S., Hamdi-cherif M. Prévalence du diabète de type 2 et de l'intolérance du glucose dans la région de Sétif (Algérie). *Diabètes Metab.* 2001; 27 : 164-71.

Maurizi-Balzan J., Zaoui P. Insuffisance rénale chronique. Médecine Montpellier-Nîmes. Vidéo. 2004

McIsaac R., Jerums G. Gestion de la néphropathie diabétique. *Diabetes voice.* 2003 ; 48 : 15-18.

Meerwaldt R., Links T., Graaff R., Thorpe SR., Baynes JW., Hartog J., Gans R., Smit A. Simple noninvasive measurement of skin autofluorescence. *Ann Acad Sci.* 2005 ; 10 (43): 290- 298

Murray RL. Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.

Ögür R., Coskun O., Korkmaz A., Oter S., Yaren H., Hasde M. High nitrate intake impairs liver functions and morphology in rats; protective effects of α -tocopherol. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2005 ; 20 : 161-166

Organisation mondiale de la Santé. Rapport mondial sur le diabète. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2016

Ortiz-Andrade RR., Rodriguez-Lopez V., Garduno-Ramirez b ML., Castillo-Espana P., Estrada-Soto S. Anti-diabetic effect on alloxanized and normoglycemic rats and some pharmacological evaluations of *Tournefortia hartwegiana*. *Journal of ethnopharmacology.* 2005 ; 101 :37-42.

Perlemuter L., Sélam J., Collin De L'hortet G. Diabète et maladies métaboliques. 4^{ème} édition. Elsevier/Masson -Abrégés connaissances et pratique. France, 2003 : p 408

Perrouin-Verbe MA., Phé V., Rouprêt M. Ouvrage national du collège universitaire des enseignants de néphrologie, 2014.

Placide KK., David MK., Axe MK., Prosper KK., Marcellin B., Olivier M. Acidocétose diabétique chez l'adulte à l'Hôpital Sendwe de Lubumbashi: à propos de 51 cas. *Pan Afr Med J.* 2014; 17: 324.

Ramilitiana B., Mikkelsen Ranivoharisoa E., Dodo M., Razafimandimby E., Randriamarotia WF. Une étude rétrospective sur l'incidence de l'insuffisance rénale chronique dans le service de Médecine Interne et Néphrologie du Centre Hospitalier Universitaire d'Antananarivo. *Pan Afr Med J.* 2016; 23: 141.

Redouane SA. Etude de quelque paramètre biologique et physiologique de la néphropathie diabétique. Mémoire de magister. Université Mentouri Constantine, 2011 : p 79.

Régis B. Les mécanismes toxiques liés à l'hyperglycémie chronique chez le diabétique de type 2, thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges, 2011

Richet G. Introduction du dosage de l'urée sanguine en pathologie rénale. *Néphrologie et thérapeutique.* 2003 ; 1: 265- 68.

Robertson RP. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet cells in diabetes. *J Biol Chem* 2004 ; 279 : 42351–42354.

Roche M., Rondeau P., Singh NR., Tarnus E., Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett* 2008; 582: 1783–7

Rodriguez F., Llinas MT., Gonzalez JD., Salazar FJ. : Role of cyclo-oxygenase-2 derived metabolites and NO in response to Bradikinine. *Hypertension* 2001 ; 37: 129-134.

Roussel R. Histoire naturelle de la néphropathie diabétique. *Médecine des maladies métaboliques*. 2011 ; 5(1) :8-13.

Ruggenenti P., Fassi A., Ilieva AP. Preventing microalbuminuria in type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2004 ; 351 : 1941-1951.

Schultz A., Uric acid. Kaplan A. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.

Sebe P., Chemla E., Varkarakis J., Latrémouille C. Variations anatomique de la vascularisation des reins pelviens : à propos d'un cas de revue de la littérature. *Morphologie*. 2004 ; 88 (280) : 24-46.

Silvestre JS., Lévy BI. Diabète et ischémie des membres inférieurs : bénéfice potentiel des stratégies d'angiogenèse thérapeutique. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. 2006 ; 55(2) :100-103.

Stratton IM., Kohner EM., Aldington SJ., Turner RC. Risk factors for incidence and progression of retinopathy in type II diabetes over 6 years from diagnosis : *Diabetologia*. 2001 ; 44: 713-22.

Talke H., Schubert GE., Klin. Wochschr., 19, (1965), 43, p 174

Tesfamariam B. Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction. *Free Radic Biol Med*. 1994 ; 16 : 383-91.

Ting RZ., Lau ES., Ozaki R. High risk for cardiovascular disease in Chinese type 2 diabetic patients with major depression—a 7-year prospective analysis of the Hong Kong Diabetes Registry. *J Affect Disord* 2013; 149: 129–35

Trinder P. *Ann. Clin. Biochem*. 1969 ; 6 : 24.

Tropeano AI. Mécanisme des complications du diabète : perspectives «thérapeutiques». *Annales d'Endocrinologie*. 2003 ; 64(6) : 474-476

Tsinalis D., Binet I. Appreciation de la fonction rénale : Créatinémie, Urée, et filtration glomérulaire. *Forum. Med. Suisse*. 2006 ; 6 : 414-19.

Unglaub Selverthorn D., Ober W., Claire W., Garrison., Silverthorn A., Bruce J. *Physiologie humaine*. 4^{ème} édition. Université de Texas, Austin, 2007 : p585-590.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin MTD., Mazur M., Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2007 ; 39 : 44-84.

Vanholder R. Uremic toxins. *Nephrologie*. 2003 ; 24 (07) : 373-76.

Verma S., Gupta M., Holmes DT. Plasma renin activity predicts cardiovascular mortality in the heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) study. *Eur Heart J*, 2011 ; 32 : 2135-2142.

Vidot BJ., Navarra G., Leone M., Bourdon E., Militello V., Rondeau P. Deciphering metal-induced oxidative damages on glycated albumin structure and function *Biochim Biophys Acta*. 2014 ; 1840 : 1712-1724

Wautier JL., Zoukourian C., Chappey O., Wautier MP., Guillausseau PJ., Cao R., Hori O., Stern D., Schmidt AM. Receptor-mediated endothelial cell dysfunction in diabetic vasculopathy. Soluble receptor for advanced glycation end products blocks hyperpermeability in diabetic rats. *J Clin Invest*. 1996 ; 97(1) :238-243.

Weckbercker G, Cory JG. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-dependent mouse leukaemia L 1210 cells in vitro. *Cancer Lett*. 1988 ; 40 : 257-264.

Weekers L., Krzesinski J-M. La néphropathie diabétique. *Rev Med Liege* 2005; 60 : 479-486.

Wémeau JL, Vialettes B, Schlienger JL. Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition. *Elsevier Masson SAS*. 2014 ; 239-243

William JM, Marshall S, Stephen K, Bongret. Biochimie medical physiologie et diagnostic, 2005 : P 385.

Williams BD., Can cows milk increase your diabetic risk ?, Top external factor that can cause diabetes, 2009 : p

Yan SD., Schmidt AM., Anderson GM., Zhang J., Brett J., Zou YS., Pinsky D., Stern D. Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem*. 1994 ; 269(13):9889-9897.

You WP., Henneberg M. Type 1 diabetes prevalence increasing globally and regionally: the role of natural selection and life expectancy at birth. *BMJ Open Diabetes Res Amp Care* 2016; 4; pp