



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

Université Larbi Tébessi –Tébessa-

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

Département de Biologie Appliquée



MEMOIRE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : biochimie appliquée

Thème :

**Dépistage de l'athérosclérose chez les
sujets sains, diabétiques et hypertendus
de la wilaya de Tébessa**

Présenté par :

M^{elle} : Sahli Magda

M^r : Aounallah Chamseddine

Devant le jury :

M^r Djabri Belgacem (Professeur) Université – Tébessa Président

M^{me} Hamiri Manel (MAA) Université – Tébessa Examinatrice

M^{me} Boussekine Samira (MCA) Université – Tébessa Promotrice

Date de soutenance : 23 juin 2019

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

Remerciement

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

Je tiens à exprimer mon plus grand remerciement à mes Très chers **parents et mes sœurs** : **Sara et Hadia** pour leur soutien moral et leurs encouragements. Ce travail résulte non seulement de mes efforts mais aussi de leurs encouragements, disponibilité, écoute, patience, soutien et confiance,

Je tiens à témoigner ma profonde gratitude et remerciements pour ma promotrice **Dr. BOUSSEKINE Samira** qui m'a fait confiance et donné une chance pour réaliser ce thème d'actualité et qui malgré ces occupations et ces responsabilités, elle a toujours eu le temps de m'écouter, conseiller et orienter,

Je présente mes sincères remerciements et gratitude à **Dr Salmi Aya** pour sa présence, son aide et ces précieux conseils,

Je remercie aussi **Mr Benlakhla.A** d'avoir consacré du temps pour me diriger et conseiller, malgré ces occupations et la charges qu'il avait,

Je remercie **Mr Zoghlami Tidjani** chef de service de laboratoire d'analyses médicales **L'EPH Bouguerra Boulaaress – bekaria** pour sa précieuse aide pour la réalisation des bilans biochimiques et ces bons conseils,

Je tiens à remercier aussi **DR Rezig Amel** médecin chef du centre de transfusion sanguine - Tebessa, **Mr Zemali Taher** chef de service, et tout le personnel du centre pour leurs conseils, aide et soutiens tout au long de mes deux années d'études,

J'exprime ma sincère gratitude à **Mr LABiode med ali** pour son aide, conseil et soutien, Je remercie aussi **Dr Koli-Kenouche** et son personnel pour leur bon accueil et leur aide,

J'exprime ma gratitude aux patients (les sujets de notre étude) malgré leur souffrance et douleur ils sont assez modestes pour ajouter plus de connaissance et améliorer la science, que dieu les guérisse tous,

Egalement un remerciement à tous mes collègues et étudiants de la 2^{ème} Année **Master Biochimie appliquée, promotion 2019, de l'Université Laarbi Tbessi - Tebessa.**

Enfin, remerciements aux membres de jury qui nous ont fait l'honneur de juger notre travail.

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

Magda

Dédicace

-Aounallah Chams Eddine-

Je dédie ce travail.

A Mon très cher père Aounallah Cherif : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

A Mes frères. Yassine ; Mohamed Taha ; Abir ; Chadha. Qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail.

Ils mon chaleureusement supporté et encouragé tout de long mon parcours.

A ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.

A mes ami(e)s : Samir ; Bilal ; Magda ; Takie ; salah ; Salim ; Nabiletc. qui mon toujours encouragé et à qui je souhaite plus de succès.

A TOUS CEUX QUE J'AIME.

MERCI

CHAMSEDDINE

Résumé

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses maladies en faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes. L'athérosclérose est une atteinte inflammatoire chronique des artères de gros calibre, Les facteurs de risque cardiovasculaire classiques : hypertension artérielle et diabète, sont les causes du déséquilibre pro-oxydant qui entraîne l'oxydation des lipoprotéines de basses densités, les LDL et de multiples dysfonctionnements cellulaires. L'ensemble des dysfonctionnements finalement concourt à la progression des lésions d'athéroscléroses et à leur évolution ultime qu'est la rupture de plaque.

Dans ce contexte nous avons étudié et évalué l'état du stress oxydant chez les diabétiques et les hypertendus et sa répercussion sur la genèse des complications cardiovasculaires en utilisant le dosage des différent paramètres biochimiques et marqueurs du stress oxydant. Il s'agit d'une étude expérimentale mené au laboratoire sur 240 sujets dont : 80 sujets diabétiques (type 2) ,80 sujets hypertendus et 80 sujets sains (témoins), auxquels nous avons effectué des bilans biochimiques sanguins. A partir de l'analyse des résultats, on à observer que : Chez les diabétiques il y a une diminution de la peroxydation lipidique et de la défense antioxydante non enzymatique plasmatique : glutathion réduit (GSH) et une augmentation de la défense antioxydante enzymatique plasmatique et érythrocytaire : glutathion peroxydase (GPX), glutathion S- transférase (GST).

Par contre chez les hypertendus l'hyperuricémie est considéré comme un facteur de risque cardiovasculaire, une augmentation de la peroxydation lipidique, ce qui augmente le risque des maladies cardiovasculaires, une diminution de la défense antioxydante non enzymatique plasmatique : glutathion réduit (GSH), enzymatique plasmatique et érythrocytaire : glutathion peroxydase (GPx) et une augmentation de la défense enzymatique plasmatique et érythrocytaire : glutathion S-transférase (GST). Enfin, la présente étude montre que la faiblesse de la défense antioxydante chez les hypertendus les rend plus prédisposés à développer des maladies cardiovasculaires et notamment l'athérosclérose.

Mots clés : stress oxydant, athérosclérose, diabète type 2, hypertension, paramètres biochimiques, défense antioxydante.

Abstract

Oxidative stress is involved in many diseases by revealing abnormal biological molecules and overexpressing certain genes. Atherosclerosis is a chronic inflammatory disease of large arteries. Classical cardiovascular risk factors: high blood pressure and diabetes are the causes of pro-oxidative imbalance leading to oxidation of low density lipoproteins, LDL and multiple dysfunctions cell. The set of dysfunctions ultimately contributes to the progression of atherosclerotic lesions and to their ultimate evolution, which is plaque rupture. In this context we studied and evaluated the state of oxidative stress in diabetics and hypertensives and its impact on the genesis of cardiovascular complications using the assay of different biochemical parameters and markers of oxidative stress.

This is an experimental study conducted in the laboratory on 240 subjects including: 80 diabetic subjects (type 2), 80 hypertensive subjects and 80 healthy subjects (controls), to which we performed biochemical blood tests. From the analysis of the results, it can be observed that: In diabetics there is a decrease in lipid peroxidation and non-enzymatic antioxidant plasma defense: reduced glutathione (GSH) and an increase in plasma enzymatic antioxidant defense and erythrocyte: glutathione peroxidase (GPX), glutathione S-transferase (GST).

In hypertensives, however, hyperuricemia is considered a cardiovascular risk factor, an increase in lipid peroxidation, which increases the risk of cardiovascular diseases, a decrease in the non-enzymatic antioxidant defense plasma: reduced glutathione (GSH), enzymatic plasma and erythrocyte: glutathione peroxidase (GPx) and an increase in plasma and erythrocyte enzymatic defense: glutathione S-transferase (GST). Finally, the present study shows that weak antioxidant defense in hypertensive rounds more predisposed to developing cardiovascular diseases including atherosclerosis.

Key words: oxidative stress, atherosclerosis, type 2 diabetes, hypertension, biochemical parameters, antioxidant defense.

الملخص:

يشارك الإجهاد التأكسدي في العديد من الأمراض عن طريق الكشف عن جزيئات بيولوجية غير طبيعية والإفراط في التعبير عن جينات معينة. تصلب الشرايين هو مرض التهابي مزمن في الشرايين الكبيرة. تؤدي عوامل الخطر القلبية الوعائية الكلاسيكية: ارتفاع ضغط الدم ومرض السكري الى عدم التوازن التأكسدي المؤدي إلى أكسدة البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة LDL ، وخلل وظيفي متعدد في الخلية. حيث تساهم مجموعة الخلل الوظيفي في تطور مرض تصلب الشرايين.

في هذا السياق ، قمنا بدراسة وتقييم حالة الإجهاد التأكسدي عند مرضى السكري و ارتفاع ضغط الدم وتأثيره على نشوء المضاعفات القلبية الوعائية باستخدام المعايير الكيميائية الحيوية المختلفة ومعايير الإجهاد التأكسدي. أجريت هذه الدراسة التجريبية في المختبر على 240 شخصاً من بينهم: 80 مريضاً بالسكري (النوع 2)، 80 مريض بارتفاع ضغط الدم و 80 شخصاً بصحة جيدة (كشواهد).

من خلال تحليل النتائج ، يمكن ملاحظة أنه: عند مرضى السكري هناك انخفاض في أكسدة الدهون والدفاع المضاد للأكسدة غير الإنزيمي البلازمي: الجلوتاثيون (GSH) وزيادة في الدفاع المضاد للأكسدة الأنزيمي البلازمي و في كريات الدم الحمراء: الجلوتاثيون بيروكسيداز (GPX) ، الجلوتاثيون س-ترانسفيراز (GST) ، بالمقابل عند مرضى ارتفاع ضغط الدم، يعتبر ارتفاع حمض يوريك في الدم وزيادة أكسدة الدهون عوامل خطر على القلب والأوعية الدموية ، مما يزيد خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية، وانخفاض في الدفاع المضاد للأكسدة البلازمية غير الأنزيمية: الجلوتاثيون (GSH) ، الأنزيمية البلازمية و في كريات الدم الحمراء: الجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) وزيادة في أنزيمات الدفاع المضاد للأكسدة البلازمية وفي كريات الدم الحمراء: الجلوتاثيون س- ترانسفيراز (GST) .

أخيراً، تُظهر الدراسة أن انخفاض الدفاع المضاد للأكسدة عند مرضى ارتفاع ضغط الدم يجعلهم أكثر استعداداً لتطوير أمراض القلب والأوعية الدموية بما في ذلك تصلب الشرايين.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد التأكسدي ، تصلب الشرايين ، مرض السكري من النوع 2 ، ارتفاع ضغط الدم ، المعايير الكيميائية الحيوية ، دفاع مضاد للأكسدة.

4-HNE : 4-hydroxynonanal

8-OH-DG: 8- hydroxyl-désoxyguanosine

8-OH-G: 8-hydroxy- guanosine

AGL : Acide Gras Libre

AGPI : Acides Gras Poly-Insaturés

AND: Acide Désoxyribonucléique

AVC : Accident Cardiovasculaire

CAT : Catalase

DAG : Diacylglycérol

ENOS : Espèces Réactives de l'azote

EROS : Espèces Réactives de l'Oxygène

G6PDH : Glucose 6 Phospho Déshydrogénase

GLUT4: Glucose Transporter type-4

GM-CSF: Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor

GPX : Glutathion peroxydase

GR : Glutathion réductase

GSH : Glutathion réduit

GSSG: Glutathion oxydé

GST: Glutathion S-transférase

H₂O₂: Radical hydroxyle

HDL: High Density Lipoprotein

HMG CoA réductase : 3-hydroxy 3-méthyl-glutaryl coenzyme A réductase

HO[•]: Radical hydroxyle

HTA : Hyper Tension Artérielle

ICAM : Inter Cellular Adhesion Molecule

IDM : Infarctus Du Myocarde

IL1: Interleukin 1

IRS-1/2 : Insulin Receptor Substrate-1/2

LDL: Low Density Lipoprotein

LPL: Lipoprotéine Lipase

MDA: Malon dialdéhyde

MPC-1 : Monocyte Chemoattractant Protein 1

MTs : Métallothionéine

NAD(P)H oxydase : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate oxydase

NO[•] : Monoxyde d'azote

O₂^{•-} : Radical superoxyde

PAD : Pression Artérielle Diastolique

PAI-1 : Inhibiteur de l'Activateur du Plasminogène -1

PAS : Pression Artérielle Systolique

PDGF: Platelet Derived Growth Factor

PI3 Kinase: Phosphatidyl Inositol 3 kinase

PKC : Protéine kinase C

SOD : Superoxyde Dismutase

TA : Tension Artérielle

TG : Triacylglycérol

TNF α : Tumor Necrosis Factor α

VCAM: Vascular Cell Adhesion Molecule

VLDL: Very Low Density Lipoprotein

Introduction	1
Partie theorique	1
I-Stress oxydant.....	3
I-1- Définition.....	3
I-2- Radicaux libres	3
I-2-1- Radicaux libres oxygénés	4
I-2-2- Radicaux libres nitrogènes.....	5
I-3-Cibles biologiques	6
I-3-1-Acides nucléiques	7
I-3-2-Protéines et acides aminés	7
I-3-3- Lipides	8
I-4- Système de défense antioxydants	9
I-4-1- Système de défense enzymatiques.....	9
I-4-1-1- catalase	9
I-4-1-2- Superoxydes Dismutases.....	9
I-4-1-3- Glutathion Peroxydase	10
I-4-1-4- Glutathion s-transférase.....	10
I-4-2- Système de défense non enzymatiques.....	11
I-4-2-1- Vitamines	11
I-4-2-2- Glutathion.....	11
I-4-2-3- Caroténoïdes :.....	11
I-4-2-4- Coenzyme Q10 (Co Q10):.....	12
I-5- Marqueurs biologiques du stress oxydant	12
I-6- Pathologies causée par les radicaux libres.....	12
II-Athérosclérose	13
II-1- Définition de l'athérosclérose	13
II-2-Historique.....	13
II-3-Facteurs de risque.....	13
II-4- Physiopathologie.....	14
II-4-1- Physiologie	14
II-4-2- Athérogénèse	15
II.4.2.1. Dysfonction endothéliale.....	15

II-4-2-2-Pénétration et oxydation des LDL dans l'intima	16
II-4-2-3- Recrutement des leucocytes	16
II-4-2-4- Formation des cellules spumeuses	17
II-4-2-5- Migration et prolifération des cellules musculaires lisses	17
II-4-3-Evolution de la plaque	17
II-4-4- Apoptose dans les lésions d'athérosclérose.....	18
II-4-5- Effets athérogènes des LDL oxydées	19
II-5-Complications cliniques	21
II-5-1. Complications thromboemboliques de la rupture de plaque	21
II-5-2. Infarctus du myocarde	21
II-5-3. Accidents vasculaires cérébraux.....	21
III-Diabète sucré et athérosclérose	22
III-1-Définition	22
III-2-Physiopathologie	22
III-2-1- Diabète Type 1	22
III-2-2- Diabète type2	23
III-3- Facteurs de risque associés	23
III-3- 1– Anomalies lipidiques au cours du diabète.....	24
III-3- 2– Syndrome métabolique.....	26
III-4- Complications chroniques du diabète sucré.....	27
III-4-1-Complications macrovasculaires.....	27
III-4-2- Complications microvasculaires	28
III-4-2-1- Rétinopathie diabétique	28
III-4-2-2- Néphropathie diabétique.....	29
III-4-2-3- Neuropathie diabétique.....	30
IV-l'hypertension artérielle et athérosclérose.....	30
IV-1-Définition :.....	30
IV-2-Physiopathologie	30
IV-3-Facteurs favorisant l'HTA	31
IV-4-Les complications cardiovasculaires liées à l'HTA.....	32
IV-5- Lien entre l'HTA et le diabète.....	33
Partie pratique.....	34
I-Matériels et méthodes	35
I-1-Protocol	35

I-1-1-Questionnaire	35
I-1-2-Collecte des échantillons	36
I-1-3- Bilans réalisé	36
I-2- Méthode de dosage des paramètres biochimiques	37
I-2-1- glucose sanguin	37
I-2-2- Urée sanguin	38
I-2-3- Créatinine sanguine	38
I-2-4- Cholestérol total sérique	39
I-2-5- Cholestérol HDL.....	39
I-2-6- Cholestérol LDL	40
I-2-7- Triglycérides sérique	40
I-2-8- Acide urique sanguin	41
I-2-9- Protéines totales	42
I-2-10- Hémoglobine	42
I-2-11- Glutathion réduit (GSH) plasmatique.....	43
I-2-12-Glutathion peroxydase (GPX) plasmatique et érythrocytaire.....	43
I-2-13-Glutathion-S- transférase (GST) plasmatique et érythrocytaire	45
I-2-14-Malondialdéhyde (MDA) plasmatique	46
I-3- Méthode statistique	47
II- Résultats :	48
II-1- paramètres biochimiques	48
II-1-1- variation de la concentration de glucose	48
II-1-2-bilan rénal sérique	48
.....	49
II-1-3 bilan lipidique	50
II- 1-4- Hémoglobine	51
II-2- Paramètres du stress oxydant plasmatique	52
II-3- Paramètres du stress oxydant érythrocytaire.....	53
III- Discussion	55
III-1- paramètres biochimiques	55
III-1-1- Variation de la concentration de glucose	55
III-1-2- Bilan rénal.....	56
III-1-3- Bilan lipidique.....	57

III-1-4- Hémoglobine	58
III-2- paramètres du stress oxydant plasmatiques et érythrocytaires	59
IV-Conclusion et perspectives.....	61
Références bibliographie	
Les annexes	

 **Figures**

Figure 01	La rupture d'équilibre à l'origine du stress oxydant.	03
Figure 02	Production du monoxyde d'azote.	06
Figure 03	Principaux dommages cellulaires induits par les espèces réactives de l'oxygène et provoqués sur les lipides, les protéines et l'ADN.	06
Figure 04	Mécanisme de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.	08
Figure 05	Structure de la paroi d'une artère.	15
Figure 06	Formation d'une plaque d'athérosclérose	18
Figure 07	Voies de signalisation apoptotique induites par les LDL oxydées.	20
Figure 08	Physiopathologie de Diabète de type I.	22
Figure 09	Physiopathologie de Diabète de type II.	23
Figure 10	Métabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides.	25
Figure 11	Rôle des AGL circulants dans les différentes composantes du syndrome métabolique.	27
Figure 12	Schéma illustratif d'une plaque d'athérosclérose.	28
Figure 13	La rétinopathie diabétique.	29
Figure 14	Système rénine –angiotensine –aldostérone (RAA).	31
Figure15:	le schéma récapitulatif des différentes étapes du Protocol expérimental utilisé	37
Figure 16	variation de la concentration de glucose sanguin chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	48
Figure 17	variation de la concentration de l'urée sanguine chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	48
Figure 18	variation de la concentration de la créatinine sanguine chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	49
Figure 19	variation de la concentration de l'acide urique sanguin chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	49
Figure 20	variation du taux des protéines totales chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	49
Figure 21	variation de la concentration de cholestérol total sérique chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	50

Table des illustrations

Figure 22	variation de la concentration de cholestérol- HDL chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	50
Figure 23	variation de la concentration de cholestérol-LDL chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	50
Figure 24	variation de la concentration des triglycérides sérique chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	51
Figure 25	variation de la concentration de l'hémoglobine chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	51
Figure 26	variation de l'activité enzymatique de la Glutathion-S-transférase (GST) plasmatique chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	52
Figure 27	variation de la concentration de glutathion réduit (GSH) plasmatique chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	52
Figure 28	variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPX) plasmatique chez les diabétiques , hypertendus et témoins	52
Figure 29	variation de la concentration de MDA chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	53
Figure 30	variation de l'activité enzymatique de la Glutathion-S-transférase (GST) érythrocytaire chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	53
Figure 31	variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPX) érythrocytaire chez les diabétiques, hypertendus et témoins.	54

Tableaux

Tableau 01	Facteurs de risque génétiques et environnementaux associés à l'athérosclérose.	14
Tableau 02	Récapitulatif des complications de l'HTA.	33

Introduction

Le stress oxydant résulte du déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants, au profit des premiers. Les espèces réactives de l'oxygène (Reactive oxygen species: ROS) sont capables d'endommager diverses biomolécules telles que les protéines, les acides désoxyribonucléiques (ADN) ou les acides gras polyinsaturés.

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies (cancer, diabète, maladies cardio-vasculaires, etc.) comme cause ou conséquence. (**Zerargui F, 2015**).

Les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité dans le monde selon les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS**). L'athéromatose est à l'origine de la plupart des accidents cardiovasculaires. Elle résulte de l'association de deux phénomènes, l'athérosclérose et la thrombose. Les risques d'athéromatose sont particulièrement accrus chez les diabétiques et les sujets ayant un syndrome métabolique.

Le diabète (type-1 et type-2) est associé à une hyperglycémie et à un stress oxydant accru. Le syndrome métabolique est un désordre complexe associé à une obésité abdominale, une hyperglycémie, une hypertriglycéridémie, un taux d'HDL-cholestérol bas et/ou une pression artérielle élevée (au moins trois de ces critères sont requis). Il peut évoluer vers un diabète de type-2. Ces deux états sont associés à une hyperagrégabilité des plaquettes sanguines (**Vaidya et al., 2009; Véricel et al., 2004**).

L'hypertension artérielle (HTA) est la pathologie et le facteur de risque cardiovasculaire le plus important. La régulation de la pression artérielle, indispensable à une perfusion tissulaire adaptée, dépend d'interactions fines entre les systèmes neuro-endocrinien et cardio-vasculaires. Un dysfonctionnement, suite à une affection rénale, endocrinienne, cardio-vasculaire ou nerveuse, conduit à des lésions parfois irréversibles des organes les plus sensibles. (**Adeline B, 2015**).

Le risque cardiométabolique représente tous les facteurs de risque associés au développement de maladies cardiovasculaires et du diabète de type 2, incluant les facteurs de risque traditionnels et émergents. Des concentrations circulantes faibles de glutathion ont été rapportées chez des individus obèses et obèses diabétiques de type 2 comparativement à des sujets non obèses en santé. Les évidences suggèrent qu'une altération du système

glutathion pourrait contribuer au développement des anomalies métaboliques caractéristiques du risque cardiométabolique (**Marie-Eve Lavoie, 2012**).

L'objectif principal de notre travail est d'étudier et d'évaluer l'état du stress oxydant chez les diabétiques et les hypertendus et sa répercussion sur la genèse des complications cardiovasculaires

Ce mémoire comporte deux sections :

- une première partie théorique introduisant les notions de stress oxydant, puis des chapitres sur l'athérosclérose, le diabète et enfin un chapitre sur l'hypertension artérielle.
- une seconde partie pratique décrivant les matériels et méthodes utilisés lors du travail expérimental, exposant les résultats et les discussions et une conclusion ouvrant sur plusieurs perspectives

Partie theorique

I-Stress oxydant

I-1- Définition

Le stress oxydant est défini par un déséquilibre entre la production et l'inactivation des ROS. Il peut donc être dû à une augmentation de la production des ROS, à une diminution des défenses antioxydantes ou aux deux à la fois. A faible niveau, les ROS sont indispensables dans de nombreux processus biochimiques comme la signalisation intracellulaire, la différenciation cellulaire, l'arrêt de croissance, l'apoptose, l'immunité et la défense contre les microorganismes (Bae et al., 1997, Ghosh and Myers, 1998). Cependant, à fort niveau, ils contribuent au dysfonctionnement cellulaire en réagissant avec les macromolécules cellulaires, induisant la peroxydation lipidique, l'altération de l'ADN ou encore la modification des protéines et des sucres (Dean et al., 1997).

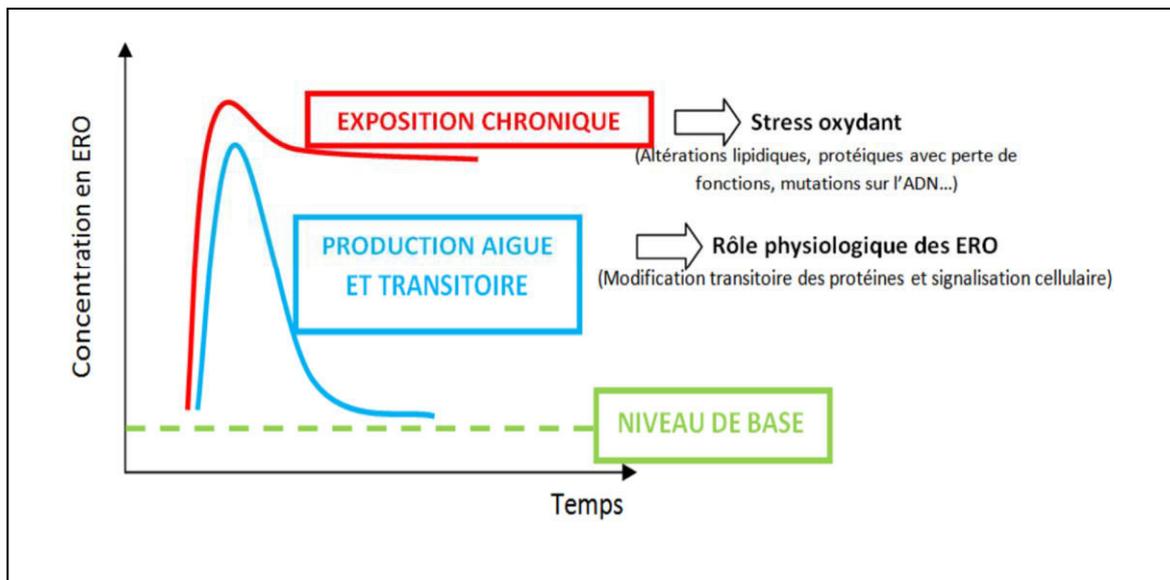


Figure 1: La rupture d'équilibre à l'origine du stress oxydant (Delattre J, et al., 2005).

I-2- Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique. Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome d'oxygène ». Ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives de l'oxygène ROS ou de l'azote NOS (Serteyn, 2002).

I-2-1- Radicaux libres oxygénés

L'instabilité des espèces oxygénées réactives rend difficile leur mise en évidence au niveau des différents milieux biologiques. Leurs constantes de vitesse réactionnelle varient selon leurs natures. La durée de vie des espèces oxygénées réactives est extrêmement très courte de la nano à la milli seconde (**Jacob, 1995**).

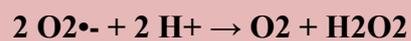
En effet, la toxicité des espèces oxygénées réactives n'est pas nécessairement corrélée avec leur réactivité, dans plusieurs cas des espèces peu réactives peuvent être à l'origine d'une grande toxicité en raison de leur demi-vie longue qui leur permet de se diffuser et gagner des locations sensibles où elles peuvent interagir et causer des dommages à longue distance de leurs sites de production (**Kohen and Nyska, 2002**).

- **Le radical superoxyde O₂^{•-}**

L'anion superoxyde est une ROS primaire, formée par l'acquisition d'un électron par l'oxygène moléculaire. Radical ayant la réactivité la plus faible parmi les radicaux libres oxygénés, il est généré à partir de différentes sources dans les conditions physiologiques et physiopathologiques où la mitochondrie est considérée comme source principale (**Gardès-Albert et al., 2005**) (**Lambert et al., 2009**).

Il est cependant hautement réactif avec certains métaux de transition comme le cuivre, le fer et le manganèse (**Abreu et al., 2010**).

Le radical superoxyde ne traverse pas rapidement la membrane plasmique et se dismute spontanément au pH physiologique en produisant du peroxyde d'hydrogène :



Bien que le radical superoxyde ne soit pas considéré comme particulièrement réactif, son principal danger est due à sa neutralisation productrice de peroxyde d'hydrogène ou d'acide hypochloreux nettement plus puissants. Au cours de l'inflammation, il est généré en grande quantité par les neutrophiles et les macrophages (**Ames et al., 1993**).

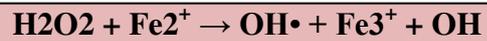
Ce processus implique l'activation de la NADPH oxydase membranaire induisant le relargage de grandes quantités des ROS. Bien que l'anion superoxyde ne soit pas les ROS la plus effective dans la lutte contre les infections, sa production continue au cours du processus inflammatoire et peut induire des atteintes tissulaires (**Kruidenier et al., 2002**).

- **Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂**

Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ n'est pas une espèce radicalaire, il n'est pas chargé et peut donc diffuser très facilement à travers les membranes. De ce fait son action n'est pas restreinte à son lieu de production mais peut se dérouler dans différents compartiments

cellulaires tel que le noyau, ce qui en fait un ROS assez toxique. C'est un oxydant impliqué notamment dans la voie de l'apoptose (**Barouki, 2006**).

Cependant, il a été montré que les dommages attribués à H₂O₂ sont en fait causés, pour la plupart, par sa réduction en radical hydroxyle HO• via la réaction de Fenton (**Wardman et al., 1996**).



- **Le radical hydroxyle HO•**

Le radical hydroxyle est produit durant l'inflammation en grande quantité lors des interactions entre l'anion superoxyde et l'acide hypochloreux, entre l'acide hypochloreux et les ions ferreux (Fe²⁺) ou entre le peroxyde d'hydrogène et le monoxyde d'azote (**Kruidenier et al., 2002**).

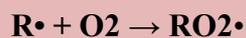
Le radical hydroxyle est formé à partir du peroxyde d'hydrogène au cours de la réaction de Fenton ou à partir de l'anion superoxyde dans la réaction d'Haber-Weiss :



HO• est considéré comme l'ROS la plus réactive (**Lubec, 1996**), inactivant la pyruvate déshydrogénase de la mitochondrie, dépolymérisant le mucus du tractus gastro-intestinal ou induisant directement des atteintes oxydatives de l'ADN.

- **Les radicaux peroxyde**

Les radicaux peroxyde sont des radicaux secondaires issus de l'addition de l'oxygène sur les radicaux centrés sur le carbone (R•). Les radicaux R• sont issus de l'action des radicaux hydroxyles sur les substrats biologiques (par arrachement d'atome d'hydrogène ou addition sur les doubles liaisons).



Plusieurs modes d'actions sont décrits pour les propriétés oxydantes des radicaux peroxyde : transfert de charge (arrachement d'un électron) ou d'un atome d'hydrogène (arrachement d'un atome H), addition sur les doubles liaisons (réactions intramoléculaires ou intermoléculaires) et formation d'endoperoxydes radicalaires ROOR•. Les radicaux RO₂• peuvent également se décomposer avant d'avoir réagi avec un substrat en donnant des radicaux superoxydes (**Gardès-Albert et al., 2005**).

I-2-2- Radicaux libres nitrogènes

Par analogie avec les espèces réactives de l'oxygène, les métabolites dérivés de l'azote sont nommés espèces réactives de l'azote ; il s'agit du monoxyde d'azote (NO•) et du

peroxynitrite (ONOO⁻) .Le monoxyde d'azote est produit de manière endogène lors du métabolisme de l'arginine par les « nitric oxide synthases » (NOS).

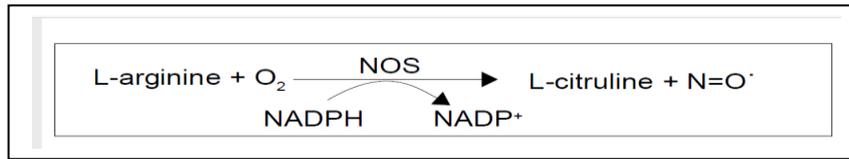
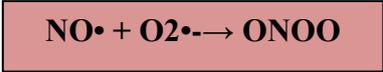


Figure 2: Production du monoxyde d'azote (Delattre J et al.,2005).

Dans des conditions physiologiques et physiopathologiques. L'isoforme inductible iNOS de l'enzyme peut être exprimée en réponse aux agents pro-inflammatoires, produisant ainsi de grandes quantités de monoxyde d'azote comparativement aux faibles quantités générées par l'isoforme endothéliale eNOS (Rao, 2004). Le monoxyde d'azote lui-même se caractérise par une diffusivité élevée, une réactivité limitée et une demi-vie qui n'excède pas quelques secondes, il n'est donc pas particulièrement délétère pour les structures cellulaires (Blanc et al., 2005). Cependant le NO• peut interagir rapidement avec l'anion superoxyde et produire du peroxynitrite beaucoup plus réactif et délétère que ses précurseurs (Murphy et al., 1998).



I-3-Cibles biologiques

En raison de leur grande réactivité, les ROS peuvent s'attaquer à de nombreuses cibles biologiques dont les lipides, les protéines et les acides nucléiques.

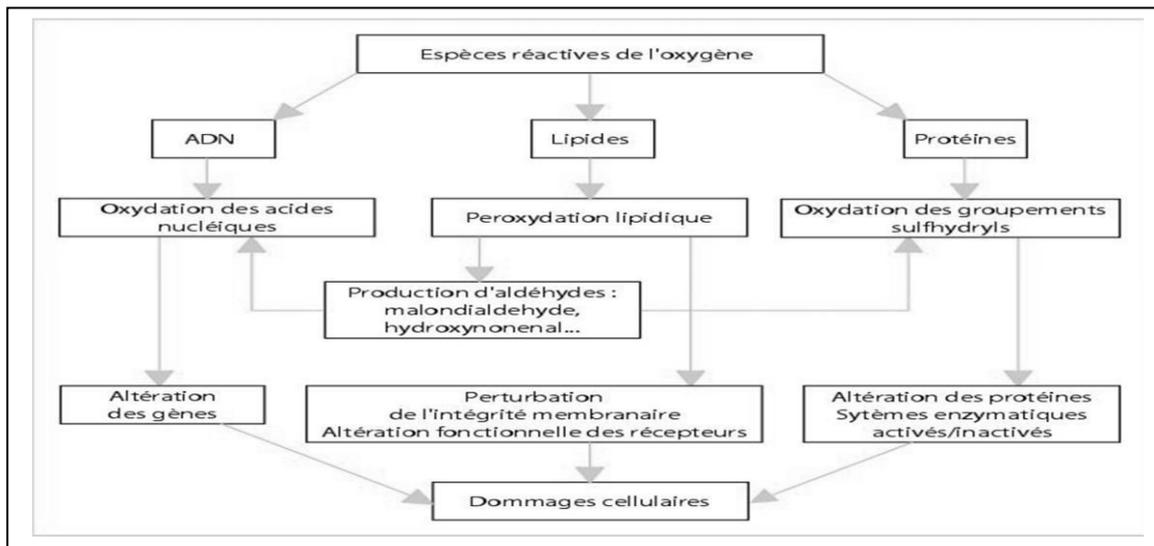


Figure 03: Principaux dommages cellulaires induits par les espèces réactives de l'oxygène et provoqués sur les lipides, les protéines et l'ADN (Monteil C et al 2004).

I-3-1-Acides nucléiques

Les ROS, et plus particulièrement le radical hydroxyle (HO), peuvent induire des cassures de l'ADN, des mutations ponctuelles (simple ou double brins) ou bien altérer les systèmes de réparation. Les ROS peuvent induire notamment des oxydations, des nitrations ou des méthylations des bases. Parmi les oxydations des bases, la guanine peut être oxydée par le radical hydroxyle en 8-hydroxy-Guanosine (8-OH-G) aboutissant à la formation de 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OH-dG) qui peut être ensuite mesuré comme marqueur de stress oxydant.

Ces modifications vont ainsi perturber la transcription et la traduction par la suite, aboutissant à la formation d'une protéine tronquée et/ou non fonctionnelle. Ces altérations sont souvent à l'origine des phénomènes de mutagénèse, carcinogénèse ou encore de vieillissement prématuré (Valko et al., 2006).

I-3-2-Protéines et acides aminés

L'oxydation des protéines et des acides aminés par les ROS aboutit à la formation de produits carbonylés et hydroxylés. Les acides aminés soufrés dont la cystéine et la méthionine, les acides aminés basiques (arginine, leucine) et les acides aminés aromatiques tels que le tryptophane, la phénylalanine et la tyrosine sont plus particulièrement sensibles à ces phénomènes.

Il existe différents types d'oxydation :

- **Attaque directe** : c'est la fragmentation des protéines et formation de produits carbonylés. Ainsi la fragmentation de l'arginine aboutit à la formation de semialdéhyde glutamique. Ces produits de fragmentation sont impliqués dans des maladies liées à des dysfonctionnements de neurotransmetteurs comme l'épilepsie (Pearl et al., 2007 ; Wong et al., 2003).
- **Lipo-oxydation** : c'est la réaction d'une protéine avec un aldéhyde produit au cours de la réaction de peroxydation lipidique. L'accumulation de lipoprotéines oxydées au niveau de la paroi vasculaire et un dysfonctionnement endothélial sont notamment à l'origine de l'athérosclérose qui est une pathologie chronique d'évolution lente de l'intima des artères.
- **Glyco-oxydation** : les protéines vont se lier avec le glucose qui est sous forme aldéhydique. Les produits de réaction sont appelés produits de glycation avancée. Dans le cas du diabète, qui se traduit par une augmentation de la glycémie ; les tissus sont, à terme, imprégnés de glucose entraînant ainsi une hyperproduction d'ROS via

notamment la formation de produits de glycation avancée. Les ROS en excès vont alors altérer la paroi des vaisseaux et induire des complications vasculaires : micro et macro angiopathies.

I-3-3- Lipides

La peroxydation lipidique correspond à l'attaque des cibles lipidiques par les ROS. La présence d'oxygène dans le milieu est nécessaire pour initier la réaction.

Les acides gras polyinsaturés, qui sont des acides gras comportant au moins deux ou trois doubles liaisons, sont très sensibles à l'oxydation.

La peroxydation lipidique est une réaction en chaîne initiée par un radical qui conduit à la formation d'hydroperoxydes qui vont se dégrader en aldéhydes et altérer la membrane cellulaire pouvant entraîner une perte d'intégrité de la cellule et de ses organites (**Valko et al., 2006**). Parmi les produits finaux formés, le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) ont un potentiel mutagène et cancérigène.

Ces deux produits d'oxydation lipidiques peuvent être utilisés comme marqueur dans le suivi de pathologie ou de traitement (**Hockenberry et al., 2013**) (**Signorini et al., 2013**).

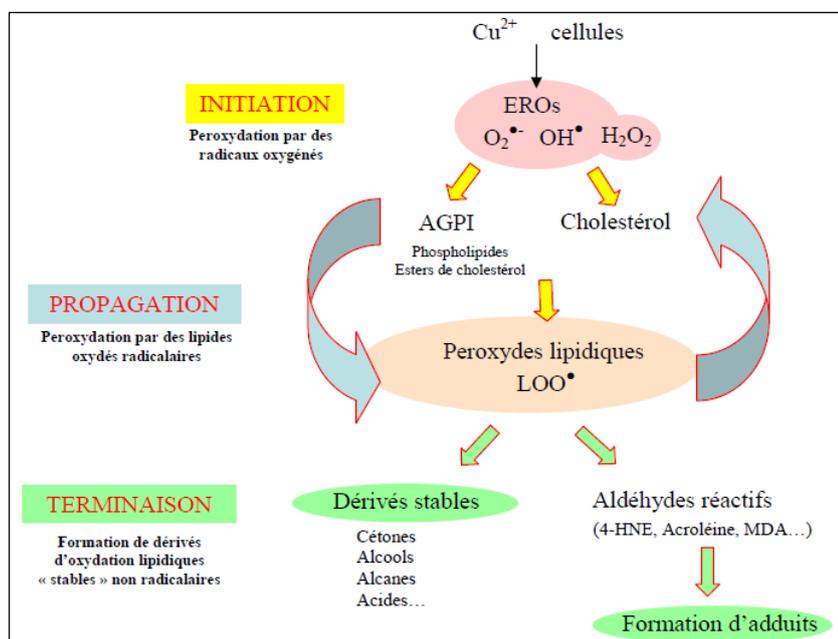


Figure 04: Mécanisme de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (**Ingueneau C, 2010**)

EROs: Espèces réactives de l'oxygène ; **AGPI :** Acides Gras Poly Insaturés ;

4-HNE : 4-HydroxyNonEnal ; **MDA:** MalonDiAldéhyde.

I-4- Système de défense antioxydants

Un antioxydant est une substance qui, à faible concentration, prévient ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat (**Halliwell et al., 1990**).

Ils ont pour rôle d'empêcher la formation de radicaux libres, de permettre leur élimination ou bien de réparer les dégâts causés par les radicaux libres.

Il existe différentes sortes d'antioxydants : des enzymes, des facteurs de transcription, des composés de bas poids moléculaire piégeant les radicaux libres. Parmi ces derniers, on distingue le glutathion, les vitamines (A, C, E), les poly phénols, les oligo-éléments comme le sélénium (Se), le zinc (Zn) ou le cuivre (Cu) mais aussi des protéines transportant le fer (la transferrine) ou le mettant en réserve (la ferritine). (**Halliwell et al., 1990**).

I-4-1- Système de défense enzymatiques

I-4-1-1- catalase

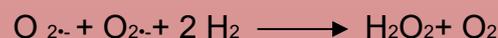
Cette enzyme, localisée dans les peroxysomes, catalyse la dismutation de H₂O₂ en eau et en oxygène moléculaire:



La catalase (CAT) est une enzyme hémique, c'est-à-dire qu'elle possède un atome de fer qui participe à la fabrication de l'hème. Sa masse molaire moléculaire est de 220 000 Da. La CAT possède 4 sous unités comprenant chacune un atome de fer sous forme Fe³⁺. Elle est majoritairement retrouvée dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. C'est une enzyme qui possède un turnover important : une molécule de CAT peut convertir en une minute environ 6 millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène (**Valko et al., 2006**).

I-4-1-2- Superoxydes Dismutases

Ce sont des métalloenzymes qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en deux produits : l'oxygène moléculaire et le peroxyde d'hydrogène:

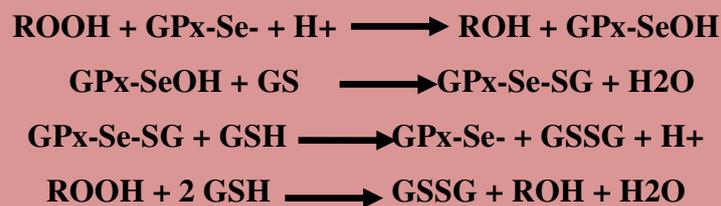


Elles sont présentes dans la majorité des organismes vivants et chez les eucaryotes, ce sont des enzymes ubiquitaires.

Il existe plusieurs superoxydes dismutases (SOD) qui diffèrent par leur cofacteur (Manganèse, Cuivre ou Zinc), leur structure et leur localisation cellulaire.

I-4-1-3- Glutathion Peroxydase

Il existe différentes isoformes de glutathion peroxydase (GPx). Leur rôle principal est d'assurer la réduction du peroxyde d'hydrogène ou des peroxydes lipidiques formés suite à l'effet du stress oxydant, sur les acides gras polyinsaturés en les couplant avec l'oxydation du glutathion selon les réactions suivantes:



Alors que la GPx catalyse la dismutation d'H₂O₂ en eau et en oxygène moléculaire, le glutathion sous forme réduite, GSH, est oxydé en GSSG (Zhu et al.,2008). La GPx est en compétition avec la CAT car elles utilisent toutes les deux le même substrat : H₂O₂, la GPx étant active pour des faibles concentrations d'ROS (Valko et al.,2006). D'un point de vue structural, les GPx présentent une ou quatre SU, selon l'isoforme. Chaque SU possède un atome de sélénium sous forme de sélélocystéine.

I-4-1-4- Glutathion s-transférase

Glutathion s-transférase est une famille des enzymes multifactorielles présentes chez tous les organismes (Renuka et al., 2003). La (GST) est un système très important dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes (Zhihua et al., 2004). En plus de l'activité de conjugaison du GSH et la réduction des peroxydes, quelques GST sont impliquées dans la modulation des canaux ioniques.

D'autres interviennent dans la synthèse des eicosanoïdes, leucotriènes et les prostaglandines. L'activité de conjugaison du GSH avec les composés électrophiles est présentée comme suit:



I-4-2- Système de défense non enzymatiques

Certaines substances ont la propriété de piéger et de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Il s'agit de composés facilement oxydables présents dans le cytoplasme (glutathion, acide ascorbique) ou dans les membranes cellulaires (alpha-tocophérol et caroténoïdes).

I-4-2-1- Vitamines

✓ Vitamine E

Sous le terme vitamine E est regroupée la famille des tocophérols (α , β , δ , γ). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant.

Seuls α et δ tocophérols possèdent les propriétés antioxydantes les plus intéressantes (**Vertuani et al., 2004**)

✓ Vitamine C

C'est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra-et extracellulaires. La vitamine C peut directement réagir avec des espèces réactives de l'oxygène comme ($\text{HO}\cdot$) ou ($\text{O}_2\cdot$). Elle peut recycler l' α -tocophérol pour aider à prévenir l'oxydation des lipides (**Vertuani et al., 2004**).

I-4-2-2- Glutathion

Le glutathion est un tri peptide, dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant réside principalement dans sa fonction de Co-substrat des glutathion peroxydases (**Vertuani et al., 2004**).

I-4-2-3- Caroténoïdes :

Les caroténoïdes, pigments de beaucoup de fruits et de légumes rouges et oranges, leur action est en tant que provitamines A. Les deux groupes majeurs de caroténoïdes (lutéine, zéaxanthine, cryptoxanthine, porteurs de substitutions oxygénées, et ceux qui sont comme l'alpha, le bêta carotène et le lycopène non oxygénés) sont de très puissants anti-radicalaires. Leur rôle protecteur dans les systèmes biologiques implique la désactivation d'espèces électroniquement activées tel les l'O_2 et la désactivation d'espèces chimiques réactives tel les

radicaux peroxy ($\text{ROO}\cdot$) et alkyles ($\text{R}\cdot$), Ils protègent également contre les réactions de photosensibilisation. (Bennamara F/Z, 2017).

I-4-2-4- Coenzyme Q10 (Co Q10):

Appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique. Cette chaîne latérale confère à la molécule un caractère lipophile qui lui permet de s'insérer dans les membranes et les lipoprotéines. Il joue un rôle essentiel dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons et est un puissant inhibiteur de peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E. (Bennamara F/Z, 2017)

I-5- Marqueurs biologiques du stress oxydant

Le Stress Oxydant étant impliqué dans de nombreuses pathologies, son évaluation est indiscutablement intéressante. L'évaluation du stress oxydant demeure compliquée. En effet, les méthodes utilisées sont peu standardisées et les techniques employées sont très diverses. De plus, les espèces radicalaires sont fugaces et instables ce qui les rend difficiles à isoler et doser. Enfin, leur présence est souvent restreinte à un tissu en particulier voire un petit nombre de cellules dans un tissu sain rendant leur dosage ardu. (Mohinder B, Naveen K,2014)

Il faut donc envisager de doser des molécules biologiquement stables produites par l'action des espèces radicalaires. Le marqueur idéal réunirait les conditions suivantes: il serait détectable même à faibles concentrations, posséderait une structure chimique qui lui est propre, aurait une demi-vie longue et sa production serait augmentée (ou diminuée) exclusivement en cas du Stress oxydant (Levine R, Stadtman E, 2001)

I-6- Pathologies causée par les radicaux libres

La production excessive d'espèces réactives a été identifiée comme étant impliquée dans certaines pathologies. Ces pathologies peuvent se diviser en deux groupes:

- ✓ le premier regroupant celles liées principalement à une production excessive des ROS au niveau mitochondrial telles que le cancer ou le diabète de type 2;
- ✓ le second concerne les cas où une stimulation excessive des NOS ou de la xanthine oxydase entraîne une augmentation de la production d'Espèces Réactives. Dans ce dernier groupe, une forte composante inflammatoire est également décrite.

Les pathologies chroniques concernées sont notamment les maladies cardiovasculaires (l'athérosclérose, maladies cardiaques ischémiques) ou neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, de Parkinson) et la polyarthrite rhumatoïde (**Valko et al., 2007**).

II-Athérosclérose

II-1- Définition de l'athérosclérose

Une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et de moyen calibre consistant en une accumulation focale des lipides, des glucides complexes, du sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôts calcaires. « **Executive Board 21. Report of the Study Group on Classification of Atherosclerotic Lesions. 1958** »

II-2-Historique

L'athérosclérose n'est pas une maladie moderne puisque des plaques d'athérome ont été identifiées sur des momies égyptiennes datant jusqu'à 1580 avant JC « **On arterial lesions found in Egyptian mummies (1580 B.C.—525 A.D.) - Ruffer - 2005 - The Journal of Pathology and Bacteriology - Wiley Online Library** »

Parmi les premiers à décrire l'athérosclérose fut Léonard de Vinci (1452–1519) qui établit que « les vaisseaux des personnes en âge compromettent la circulation du sang par l'épaississement de leurs tuniques » (**M. K. Davies et A. Eollman, 1996**).

Depuis, la dénomination de cette maladie n'a cessé d'évoluer. Le terme d'athérome, du grec **athéré** « bouillie de farine ou de gruau » est proposé pour la première fois par Albrecht von Haller en 1755.

Virchow, en 1856, parle d'enartérite déformante pour souligner le caractère inflammatoire de la maladie (**Virchow R,1856**)

Councilman, en 1891 propose artériosclérose nodulaire, adopté plus tard par Osler (1897). C'est finalement Marchand, en 1904, qui invente le terme d'athérosclérose pour refléter la dualité lésionnelle, athéromateuse et scléreuse, de la maladie (**R. Ross, 1993**).

II-3-Facteurs de risque

Les facteurs de risque comprennent des caractéristiques personnelles, de modes de vie, biochimiques et physiologiques chez les individus. Certains sont modifiables, d'autres non. Ils sont résumés dans le tableau ci-dessous (**Tableau 1**) (**George SJ, Johnson J, 2010**).

Tableau 1 : Facteurs de risque génétiques et environnementaux associés à l'athérosclérose

Facteurs de risque à composante génétique	Facteurs de risque environnementaux
Taux plasmatiques élevés de LDL/VLDL	Alimentation riche en graisses et sucres
Taux plasmatiques réduits de HDL	Tabac
Taux plasmatiques élevés de lipoprotéine(a)	Sédentarité, manque d'activité physique
Hyperhomocystéinémie	Agents infectieux (chlamydia pneumoniae)
Antécédants familiaux de maladies cardiovasculaires	Faibles taux d'anti-oxydants
Diabète et obésité	
Taux plasmatiques élevés de facteurs hémostatiques (fibrinogène, inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type I, hyper réactivité plaquettaire)	
Sexe masculin	
Marqueurs de l'inflammation plasmatiques élevés (CRP)	
Syndrome métabolique	

II-4- Physiopathologie

II-4-1- Physiologie

La figure 1 montre l'organisation d'une artère normale en trois tuniques concentriques. De la lumière du vaisseau vers l'extérieur, on distingue l'intima, la média puis l'adventice.

- **l'intima ou tunique interne** : dans la paroi artérielle saine, l'intima est fine, à peine visible en microscopie optique et constituée par une monocouche continue de cellules endothéliales reposant sur la membrane basale et plus en profondeur sur la couche sous endothéliale constituée de macromolécules de la matrice extracellulaire. La couche sous endothéliale est le site préférentiel de développement des lésions d'athérosclérose.

- **la média ou tunique moyenne** : responsable de l'essentiel de l'épaisseur de la paroi artérielle à l'état normal, la média est constituée de cellules musculaires lisses entourées de macromolécules de matrice extracellulaire et est limitée par des fibres élastiques. Les cellules musculaires lisses de la média sont de phénotype contractile.

- **l'adventice ou tunique externe** : constituée de collagène fibrillaire, d'amas de cellules musculaires lisses et de micro vaisseaux appelés vasa vasorum. (Ingueneau C, 2010)

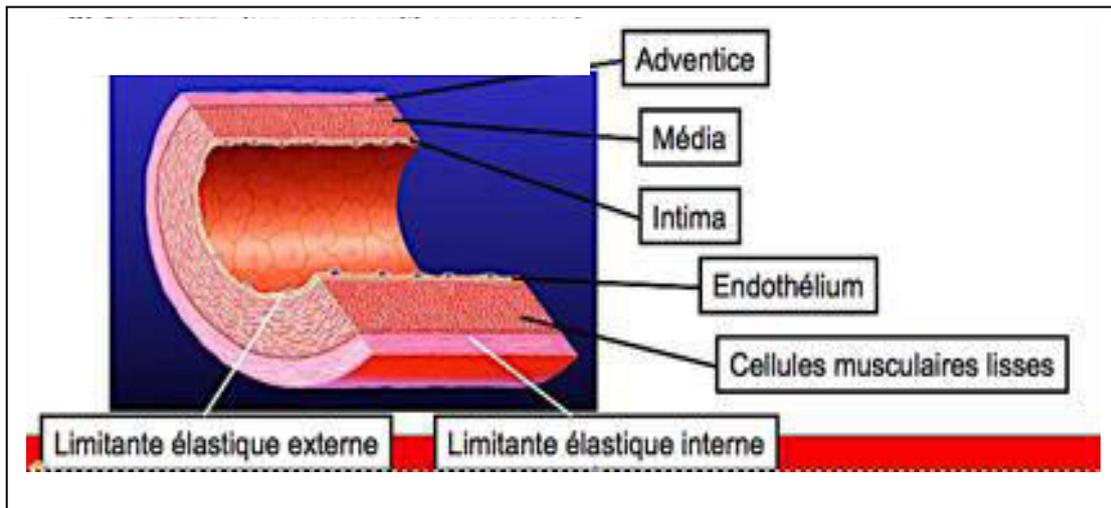


Figure 05 : Structure de la paroi d'une artère (Aurélié Leroyer, 2012.)

II-4-2- Athérogénèse

L'athérosclérose est une pathologie inflammatoire chronique multifactorielle qui se caractérise par un épaississement de la paroi des artères au niveau de l'intima. Les LDL circulantes vont pénétrer par transcytose dans l'intima où elles vont être oxydées par les ROS. Les LDL oxydées vont ensuite stimuler au niveau des cellules endothéliales la production de molécules VCAM, ICAM, MCP- 1, entraînant le recrutement de monocytes qui une fois dans l'intima vont se différencier en macrophages.

Ces derniers possèdent des récepteurs qui reconnaissent les LDL oxydées. Ils vont donc être internalisés par les macrophages formant ainsi des cellules spumeuses qui aboutiront à la formation de stries lipidiques, première étape du développement de la plaque d'athérosclérose. (Ingueneau C.2010)

II.4.2.1. Dysfonction endothéliale

Lors de son passage, le flux sanguin applique des forces de frottement contre la paroi vasculaire. Ces forces de frottement imposées directement sur l'endothélium, modulent sa structure et ses fonctions par des mécanismes de mécano-transduction. Lorsque ces forces de frottement sont constantes, cela confère à l'endothélium un statut anti-inflammatoire, anti-oxydant et anti-thrombotique (Cunningham and Gotlieb, 2005).

Certaines zones de l'arbre circulatoire telles que les bifurcations ou les courbures artérielles, imposent une contrainte physique à l'écoulement sanguin, rendant les forces de frottement faibles voire négatives. Cet événement perturbe l'homéostasie de l'endothélium vasculaire et est à l'origine de la dysfonction endothéliale (Topper and Gimbrone, 1999).

La dysfonction endothéliale contribue à la phase d'initiation de l'athérosclérose, mais il est maintenant clairement établi qu'elle participe également à la progression et l'évolution des plaques conduisant aux complications de la maladie. La présence d'une dysfonction endothéliale mesurable par différentes techniques d'imagerie serait un marqueur prédictif du risque de complications de l'athérosclérose (**Roquer et al., 2009**)

II-4-2-2-Pénétration et oxydation des LDL dans l'intima

Les forces de cisaillement conditionnent la morphologie et la perméabilité des cellules endothéliales (**Chatzizisis et al., 2007**). Dans les zones artérielles où le flux laminaire est perturbé, la diminution des forces de cisaillement augmente la perméabilité de l'endothélium et facilite l'infiltration des LDL dans l'espace sous-endothélial (**Gimbrone et al., 2000**). De plus, la diminution des forces de cisaillement entraîne une activation endothéliale des SREBP (Sterol Regulatory Element Binding Protein) qui vont réguler positivement l'expression des gènes codant pour le récepteur des LDL et la cholestérol synthase (**Liu et al., 2002b**). Ceci contribue à une augmentation de la captation et de la synthèse des LDL par les cellules endothéliales à l'origine d'une accumulation sous-endothéliale de LDL. Le passage des LDL à travers l'endothélium est facilité par une concentration circulante élevée et par la petite taille des LDL : plus elles sont petites, plus elles sont athérogènes (**Carmena et al., 2004**).

II-4-2-3- Recrutement des leucocytes

L'invasion de la paroi artérielle par les leucocytes est un des événements précoces de l'athérogénèse. L'adhérence des monocytes et des lymphocytes T à l'endothélium implique leur liaison à des molécules de structure exprimées à la surface des cellules endothéliales. Les molécules d'adhésion spécifiques (sélectines, intégrines, superfamille des immunoglobulines) contribuent aux processus de ralentissement, de « roulement » et d'extravasation des leucocytes. L'attachement et le « roulement » des monocytes à la surface des cellules endothéliales sont médiés par les sélectines (L-, P- et E- sélectines). L'interaction entre, d'une part les intégrines ($\beta 1$ et $\beta 2$ intégrines) et le ligand VLA-4 exprimées à la surface des leucocytes, et d'autre part, les molécules d'adhésion de la superfamille des immunoglobulines ICAM-1 et VCAM-1, exprimées à la surface des cellules endothéliales, permet de renforcer l'attachement des leucocytes sur l'endothélium et leur extravasation dans la paroi artérielle (**Quehenberger, 2005**).

Les sélectines et les intégrines sont fortement exprimées par l'endothélium activé à proximité des lésions athéroscléreuses (**Cybulsky and Gimbrone, 1991**). De plus, la présence de VCAM-1 et d'ICAM-1 est associée avec une augmentation de l'accumulation

intimale de leucocytes. L'expression de ces molécules d'adhésion peut être induite par les LDL oxydées, par les cytokines pro-inflammatoires secondairement synthétisées par les cellules de la plaque (Tumor Necrosis Factor α (TNF α), Interleukine 1 (IL-1)), et également sous l'influence de la perturbation du flux sanguin (**Topper and Gimbrone, 1999**).

Les monocytes qui pénètrent dans la paroi artérielle se différencient en macrophages. Leur rôle d'épuration du cholestérol de l'intima est plutôt bénéfique mais par contre ils participent au processus de l'athérogénèse en activant les cellules endothéliales et en augmentant la perméabilité aux LDL par le biais de la production de cytokines pro-inflammatoires. De plus, en se chargeant en lipides, ils se transforment en cellules spumeuses dont la formation correspond à la première étape de l'athérogénèse.

II-4-2-4- Formation des cellules spumeuses

Pour se transformer en cellules spumeuses, les macrophages internalisent des LDL modifiées (et/ou oxydées) par l'intermédiaire de récepteurs dits scavenger. A l'inverse du récepteur des LDL natives (récepteur apoB100/E), les récepteurs scavengers ne sont pas sous le contrôle inhibiteur du contenu intracellulaire en cholestérol (**De Winther et al., 2000**), ce qui permet une captation de grandes quantités de LDL oxydées. Les macrophages se surchargent en cholestérol et se transforment en cellules spumeuses qui vont s'accumuler dans la paroi artérielle (**Tontonoz et al., 1998**) pour former les stries graisseuses caractéristiques des lésions précoces de l'athérosclérose. La majorité des cellules spumeuses retrouvées dans les lésions athéroscléreuses proviennent des macrophages, mais les cellules musculaires lisses peuvent également se surcharger en lipides provenant de la captation des LDL modifiées (et/ou oxydées) par l'intermédiaire des récepteurs scavengers (**Stary et al., 1994**).

II-4-2-5- Migration et prolifération des cellules musculaires lisses

Sous l'influence de divers stimuli athérogènes, les cellules musculaires lisses vont migrer de la média vers l'intima où elles vont proliférer. On observe un changement de phénotype des cellules musculaires lisses qui passent d'un phénotype contractile à un phénotype sécrétoire. La migration, la prolifération, et la synthèse de matrice extracellulaire par les cellules musculaires lisses permettent la formation d'une chape fibreuse qui va recouvrir le cœur lipidique de la plaque (**Raines and Ross, 1993**).

II-4-3-Evolution de la plaque

La plaque se développe longtemps sans altérer le calibre vasculaire, car le vaisseau s'adapte par un élargissement compensatoire appelé remodelage vasculaire excentrique.

Lorsque la masse intimale excède 40 % de la surface totale de la paroi, le remodelage de la paroi n'est plus suffisant pour contenir la plaque. Son développement se fait alors au détriment de la lumière artérielle et conduit à une sténose progressive. La migration, la prolifération et la synthèse de matrice extracellulaire par les cellules musculaires lisses participent à l'action sténosante des plaques (**figure 06**)

Cependant, les manifestations cliniques graves de la maladie athéromateuse sont peu en rapport avec la taille de la plaque mais sont essentiellement dues à son instabilité qui augmente les risques de thrombose (**Mann and Davies, 1996**).

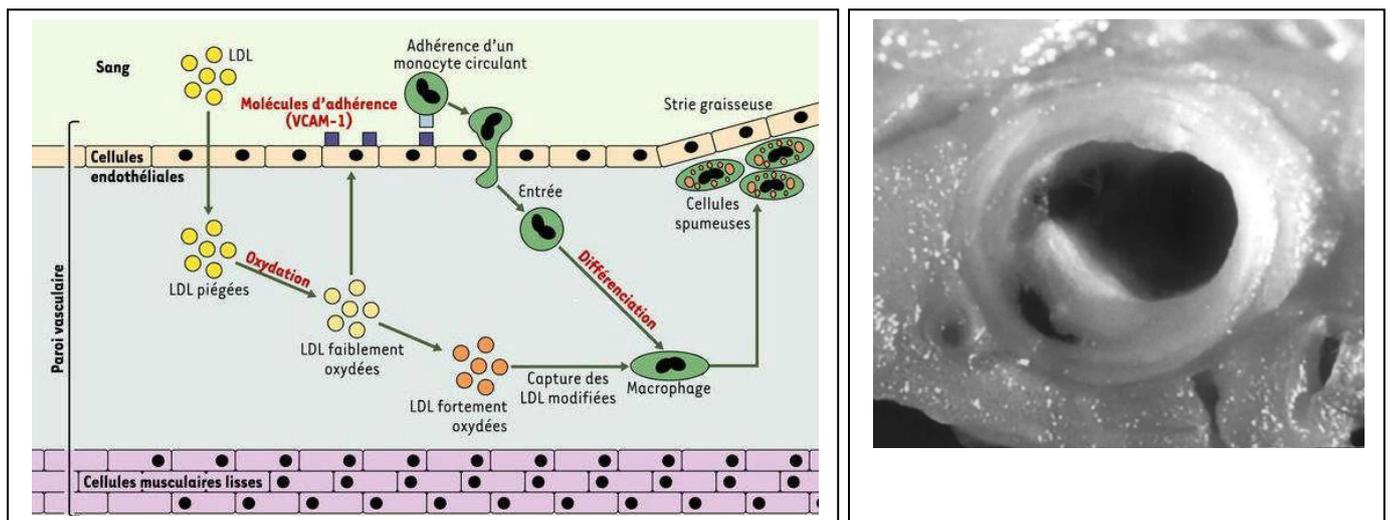


Figure 06: Formation de la plaque d'athérosclérose (**Belkheiri N. 2010**)

II-4-4- Apoptose dans les lésions d'athérosclérose

Plusieurs études ont mis en évidence des cellules apoptotiques dans des plaques d'athérosclérose humaines. L'apoptose concerne tous les types cellulaires présents dans la plaque (macrophages, lymphocytes T, cellules musculaires lisses et cellules endothéliales) (**Bjorkerud and Bjorkerud, 1996**) (**Kockx, 1998**). Alors qu'elle est indétectable dans les artères normales, elle est faiblement détectable dans les stries lipidiques, et semble plus abondante dans les lésions avancées, particulièrement dans les plaques instables prédisposées à la rupture (**Geng and Libby, 1995**). L'apoptose est donc un processus central qui survient dans toutes les étapes de l'athérogénèse, mais semble particulièrement impliquée dans la rupture de plaque.

Dans les lésions d'athérosclérose, l'élévation du taux de cellules apoptotiques peut résulter d'une augmentation de la mort cellulaire due à l'activation de voies de signalisation pro-apoptotiques par divers stimuli, mais aussi de la diminution de l'épuration des cellules

apoptosées par les macrophages. En effet, les lipides oxydés inhibent par compétition leur reconnaissance par les récepteurs scavenger et leur phagocytose par les macrophages (**Chang et al., 1999**). On observe alors une persistance de corps apoptotiques à fort pouvoir immunogénique (**Levine and Koh, 1999**). Les cellules apoptotiques vont alors subir une nécrose post-apoptotique, alimentant ainsi le centre nécrotico-lipidique et amplifiant la réaction inflammatoire (**Cai et al., 1997**).

D'autre part, l'apoptose participe à la thrombogénicité de la plaque d'athérosclérose. En effet, une des caractéristiques des cellules en apoptose est l'externalisation des phosphatidylsérines. Ces phosphatidylsérines fournissent un environnement phospholipidique anionique favorable à l'activation du facteur tissulaire et à l'assemblage et l'activation des complexes de la coagulation. La plaque d'athérome humaine contient un nombre important de microparticules apoptotiques riches en facteur tissulaire activé, responsable de la forte activité procoagulante du noyau lipidique (**Mallat et al., 1999**). La libération de ces microparticules dans la circulation sanguine lors des ruptures de plaques, déclenche les phénomènes thrombotiques (**Virmani et al., 2000**).

II-4-5- Effets athérogènes des LDL oxydées

L'oxydation des LDL par voie chimique implique des oxydants et des ions de métaux de transition. La peroxydation chimique des lipides résulte de l'attaque de substrats oxydables (les Acides Gras Poly-Insaturés (AGPI) étant plus oxydables que les acides gras saturés) par des radicaux oxydants. La dégradation en chaîne des acides gras, conduit à la formation d'hydroperoxydes instables qui vont également attaquer la composante protéique de la lipoprotéine (**Witztum and Steinberg, 1991**)

Les LDL oxydées induisent la surexpression de diverses protéines impliquées dans l'athérogénèse :

- la surexpression par l'endothélium de protéines d'adhésion (sélectines, VCAM-1) qui facilite le passage des leucocytes dans l'intima (**Ross, 1990**).

- la surexpression de récepteurs scavenger favorise la captation des LDL oxydées et la formation des cellules spumeuses (**Steinberg et al., 1989a**)

- la surexpression de facteurs de croissance et cytokines favorise l'accumulation des macrophages dans les lésions (MCP-1, Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor (GM-CSF)), la prolifération des cellules musculaires lisses (PDGF), et la réponse inflammatoire (TNF α , IL-1) (**Libby, 2000; Ross, 1990**)

-la surproduction de matrice extracellulaire est impliquée dans la fibrose, la sténose, la rétention des lipoprotéines dans la plaque et dans la stabilité de la plaque (**Kaplan and Aviram, 2001**)

- la surexpression d'enzymes oxydantes (15-lipoxygénase) pourrait aggraver le processus oxydatif (**Galle et al., 2006**)

- la surexpression de métalloprotéases stimule la migration cellulaire, le remodelage vasculaire, mais aussi fragilise la plaque (**Rajavashisth et al., 1999**)

- la modulation des protéines de l'hémostase dans un sens globalement prothrombotique avec une augmentation de production de facteur tissulaire par l'endothélium et de thromboxane par les plaquettes (**Berliner and Heinecke, 1996**).

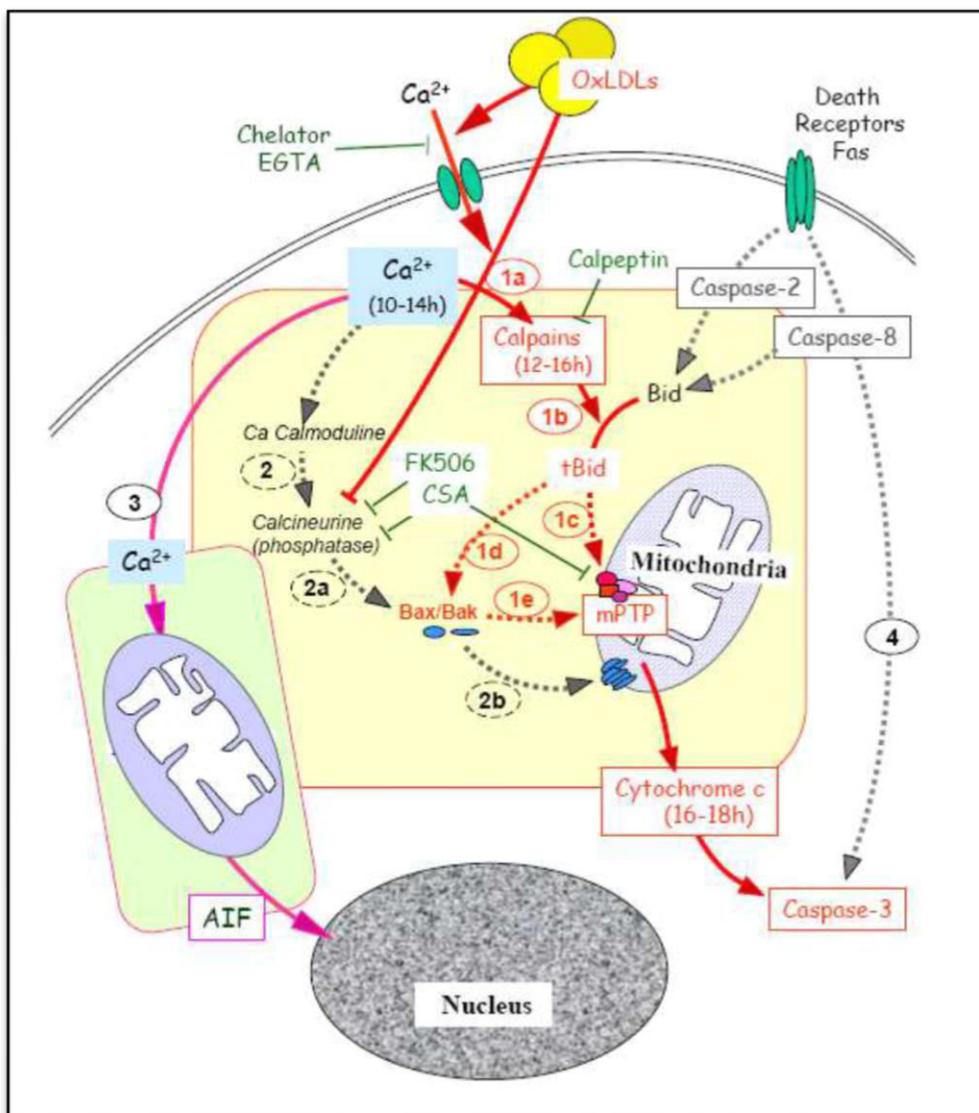


Figure 07 : Voies de signalisation apoptotique induites par les LDL oxydées. (**Vindis et al., 2005**)

II-5-Complications cliniques

II-5-1. Complications thromboemboliques de la rupture de plaque

Les conséquences cliniques de la lésion dépendent du degré d'obstruction de la lumière artérielle par le thrombus, totale ou subtotale, de l'évolution du thrombus formé, en particulier de ses possibilités de lyse, de fragmentation et de migration (risque d'embolie artérielle) ainsi que de la circulation collatérale. Le thrombus formé peut, par son volume ou sa localisation, entraîner une occlusion partielle ou complète de la lumière artérielle, se morceler ou migrer, ou être incorporé à la plaque par le processus de cicatrisation conjonctive (**Tedgui .A et Z. Mallat,1999**).

II-5-2. Infarctus du myocarde

Les accidents ischémiques aigus sont, dans la majorité des cas, consécutifs à une rupture ou à une érosion de la plaque d'athérosclérose. Dans le territoire coronaire, la thrombose survient en général in situ, au contact d'une lésion d'athérosclérose. Lorsque le thrombus n'est pas totalement occlusif, les conséquences sont une aggravation brutale de l'ischémie du territoire d'aval (d'angor instable). Les lésions responsables d'infarctus du myocarde sont fréquemment peu serrées (**Zhou J et al., 1999**).

II-5-3. Accidents vasculaires cérébraux

L'athérosclérose atteint les artères cervicales et encéphaliques plus tardivement que les coronaires et le bulbe carotidien en est le principal site lésionnel. Il a également été montré que l'athérome cervical est un marqueur d'athérosclérose coronarienne. Une sténose supérieure à 50% est identifiée chez près de 5% des sujets de plus de 60 ans (**HAS, 2007**).

La grande majorité des sténoses carotidiennes reste cependant asymptomatique. Le pathologiste Seymour Glagov fut le premier à montrer que la plaque se développe longtemps sans altérer le calibre vasculaire (**Glagov S, 1987**).

Ce processus d'adaptation des vaisseaux athéroscléreux a été dénommé remodelage vasculaire ou élargissement compensateur. Toutefois lorsque la masse intimale excède 40% de la surface totale de la paroi, le remodelage excentrique de l'artère n'est plus suffisant pour contenir la plaque, son développement se fait alors aux dépens de la lumière artérielle et conduit à son obstruction progressive.

Le risque spontané d'infarctus cérébral est corrélé au caractère symptomatique ou non de la sténose, au degré de sténose, et à l'aspect ulcéré de la plaque carotidienne. Seules les lésions à haut risque bénéficient de la chirurgie.

III-Diabète sucré et athérosclérose

III-1-Définition

Les diabètes sucrés sont des maladies associées à une perturbation du métabolisme glucidique. Chez les diabétiques, le taux de glucose sanguin est élevé. Cela est dû à une production d'insuline trop faible voir absente ou à une action de celle-ci insuffisante. Les formes les plus communes de diabète sont le diabète de type 1 (10%), qui est une maladie auto-immune et le diabète de type 2 (90%), souvent associé à l'obésité (**Ghalandari et al., 2015**). Il est à noter qu'il existe d'autres formes de diabète très rares (**Prasad and Groop, 2015**).

III-2-Physiopathologie

III-2-1- Diabète Type 1

Dans le diabète Type 1, le pancréas produit très peu ou pas l'insuline, qui est essentielle pour la survie. Cette sorte est plus rare et se développe plus fréquemment chez les enfants et adolescents, mais elle se manifeste de plus en plus tard dans la vie (**OMS, 2002**). Ce type de diabète se développe vite en quelques semaines. La perte de cellules bêta du pancréas associée au développement du diabète de type I est un prodrome infraclinique qui peut être décelé de façon fiable chez les parents du premier et du deuxième degré des personnes atteintes de diabète de type 1 par la présence d'auto-anticorps anti-cellules bêta du pancréas dans le sérum (**Bingley, 1996**) (**Canadian Journal of Diabetes, 2008**).

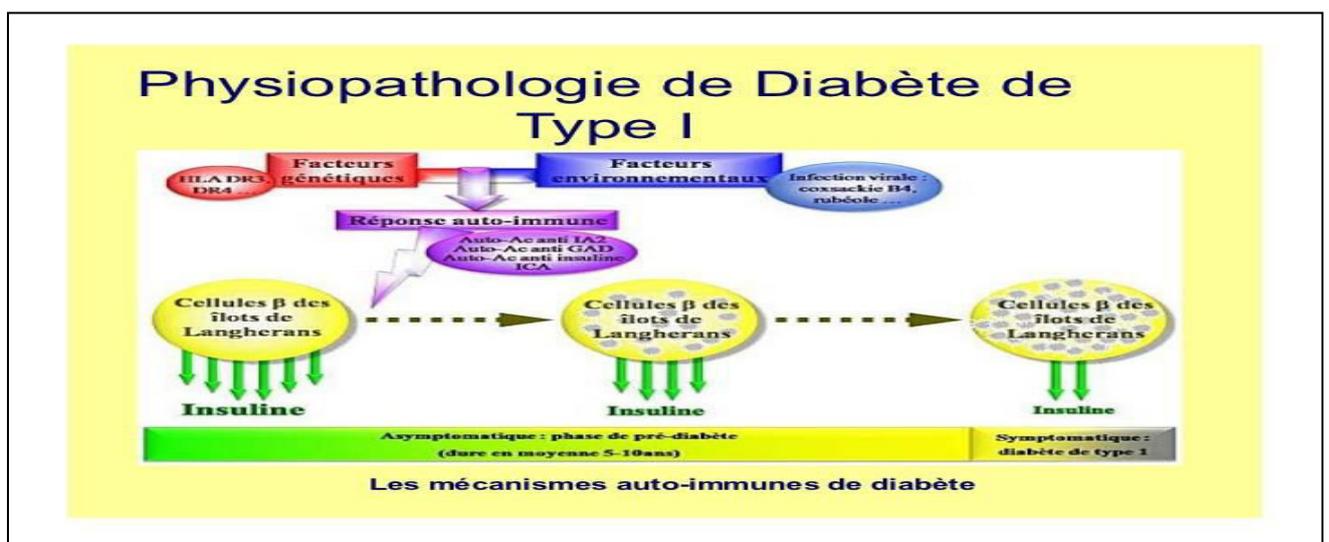


Figure 08: Physiopathologie de Diabète de type I (**Canadian Journal of Diabetes, 2008**)

III-2-2- Diabète type2

Il est caractérisé par:

*** Un déficit de sécrétion de l'insuline**

- Anomalie d'un ou plusieurs maillons des voies de régulation insulinosecretion: glucokinase, mitochondrie, canaux ioniques, facteurs de transcription
- Glucotoxicité, Lipotoxicité,

*** Un Défaut de l'action de l'insuline**

- Diminution de la capacité de l'insuline à inhiber la production hépatique du glucose.
- Augmentation de la néoglucogenèse hépatique suite à une augmentation glucagonémique, afflux des précurseurs glucoformateurs, augmentation d'acide gras circulant
- Surexpression glucose 6 phosphate et sous expression de la glucokinase.
- Tissus périphériques : muscles et tissus adipeux
- Déficit de transport de phosphorylation et de métabolisme du glucose.

(Canadian Journal of Diabetes, 2008)

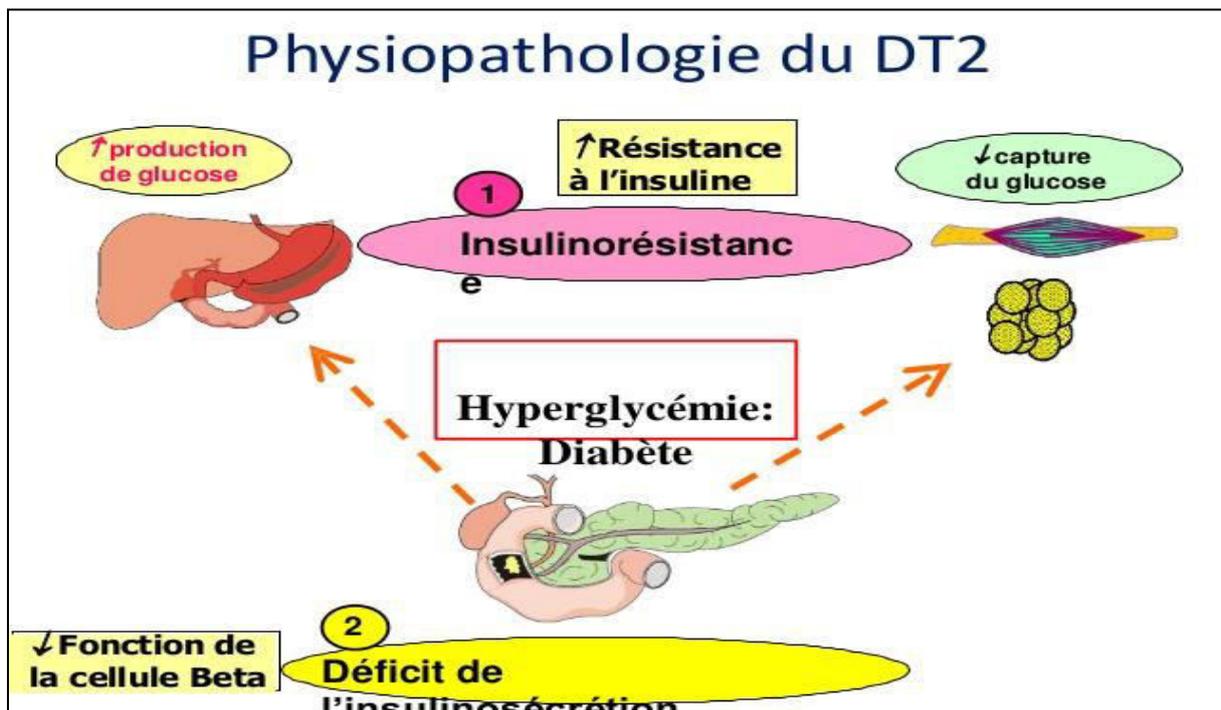


Figure 09: Physiopathologie de Diabète de type II (Canadian Journal of Diabetes, 2008)

III-3- Facteurs de risque associés

Tous les facteurs de risque cardio-vasculaire classiques sont retrouvés avec une fréquence accrue chez le diabétique et leur pouvoir pathogène est supérieur dans cette

population à celui qu'ils possèdent dans la population générale. Le niveau des facteurs de risque cardio-vasculaire s'augmente dès le stade d'hyperglycémie modérée à jeun.

III-3- 1– Anomalies lipidiques au cours du diabète

Les anomalies du métabolisme des lipides sont également plus fréquentes dans la population diabétique, si on excepte les diabétiques de type 1 bien équilibrés qui présentent les mêmes dyslipémies que la population générale.

III-3- 1–1-Au cours du diabète de type 2

❖ Anomalies quantitatives

✓ À jeun :

- on observe une augmentation des triglycérides et des lipoprotéines riches en triglycérides du fait de l'afflux d'acides gras libres provenant des adipocytes du tissu adipeux viscéral,
- L'insulinorésistance et/ou le déficit insulinaire entraînent une levée de cette antilipolyse périphérique, alors qu'une hyperinsulinémie aiguë diminue le niveau des acides gras libres plasmatiques (**Björntorp P.1994**).

Chez le diabétique, il existe, du fait de l'insulinorésistance, une perte de l'effet inhibiteur de l'insuline sur la production hépatique de VLDL1 (**Taskinen M.R., Smith 1998**).

✓ En postprandial :

- on observe une augmentation et une prolongation de l'hypertriglycéridémie postprandiale, liées à une concentration accrue des résidus des chylomicrons et des VLDL. Ce processus est renforcé par un déficit de la lipolyse des VLDL du fait de la disparition de l'activation postprandiale de la LPL. (**Durlach V. 1999, Dallongeville J et al., 1998**).

- ✓ La concentration des lipoprotéines LDL est le plus souvent normale chez le sujet diabétique. Elle peut être abaissée par défaut de conversion des VLDL en LDL, du fait de l'altération de la cascade de délipidation.
- ✓ La concentration des lipoprotéines HDL est diminuée lorsque le diabète est déséquilibré et essentiellement liée à l'augmentation de leur catabolisme.

• Anomalies qualitatives

- ✓ les anomalies des lipoprotéines riches en triglycérides sont fondamentales dans la physiopathologie des troubles du métabolisme des lipoprotéines chez le diabétique (**figure 10**) (**Vergès B, 1997**)

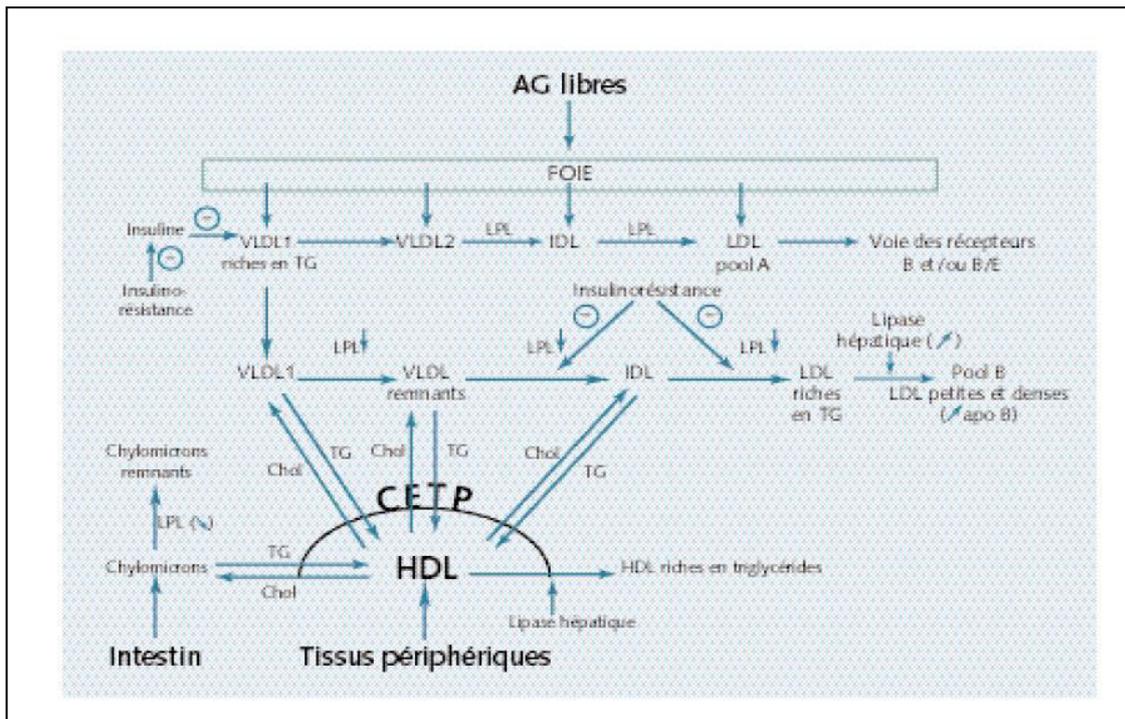


Figure 10 : Métabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides. (Vergès B,1997)

III-3- 1-2- Au cours du diabète de type 1

- **Diabète déséquilibré**
 - ❖ **Anomalies quantitatives.**
- ✓ **Lipoprotéines riches en triglycérides :** lorsque le diabète est déséquilibré, on observe les conséquences de la carence insulinique, et surtout le défaut d'activation de la LPL, qui est responsable de l'augmentation des lipoprotéines riches en triglycérides VLDL, et éventuellement des chylomicrons et des chylomicrons remnants, notamment lors de la lipémie diabétique observée en cas d'acidocétose diabétique. (Bruckert E,1994).
- ✓ **Les LDL** sont normales ou augmentées selon le niveau de production des LDL à partir des VLDL et selon le niveau de catabolisme des LDL,
- ✓ **Les HDL** sont diminuées, ce qui contribue au profil athérogène.

- **Diabète équilibré**
 - ❖ **Anomalies quantitative**

Lorsque le diabète est parfaitement équilibré, le niveau des triglycérides se normalise mais reste un peu au-dessus de la normale (Bruckert E, 1994 ; Betteridge D.J, 1996). On observe une élévation du cholestérol HDL en cas d'hyperinsulinisme exogène.

❖ Anomalies qualitative

Les anomalies qualitatives persistent même au cours du diabète de type 1 insulino-traité et équilibré. Cela aboutit à un enrichissement des VLDL en cholestérol libre et des LDL ainsi que des HDL en triglycérides. Enfin, la glycosylation des apoB, A1 et E est corrélée à l'hyperglycémie chronique et contribue aux anomalies lipidiques.

III-3- 2– Syndrome métabolique

Le syndrome métabolique est une constellation de facteurs de risque cardiométaboliques décrit pour la première fois il y a 90 ans. En 1988 apparaît la notion de syndrome X (**Reaven, 1988**). Il inclut l'obésité abdominale, la résistance à l'insuline, l'intolérance au glucose (ou l'hyperglycémie), l'hypertension et la dyslipidémie.

L'association de ces facteurs de risque est liée à une augmentation du risque de développer un diabète de type-2 et des maladies cardiovasculaires.

Le syndrome métabolique est associé à une augmentation des concentrations sériques de LDL oxydées et l'accentue chez les sujets obèses avec syndrome métabolique. (**Holvoet et al.,2004**) .(figure 11).

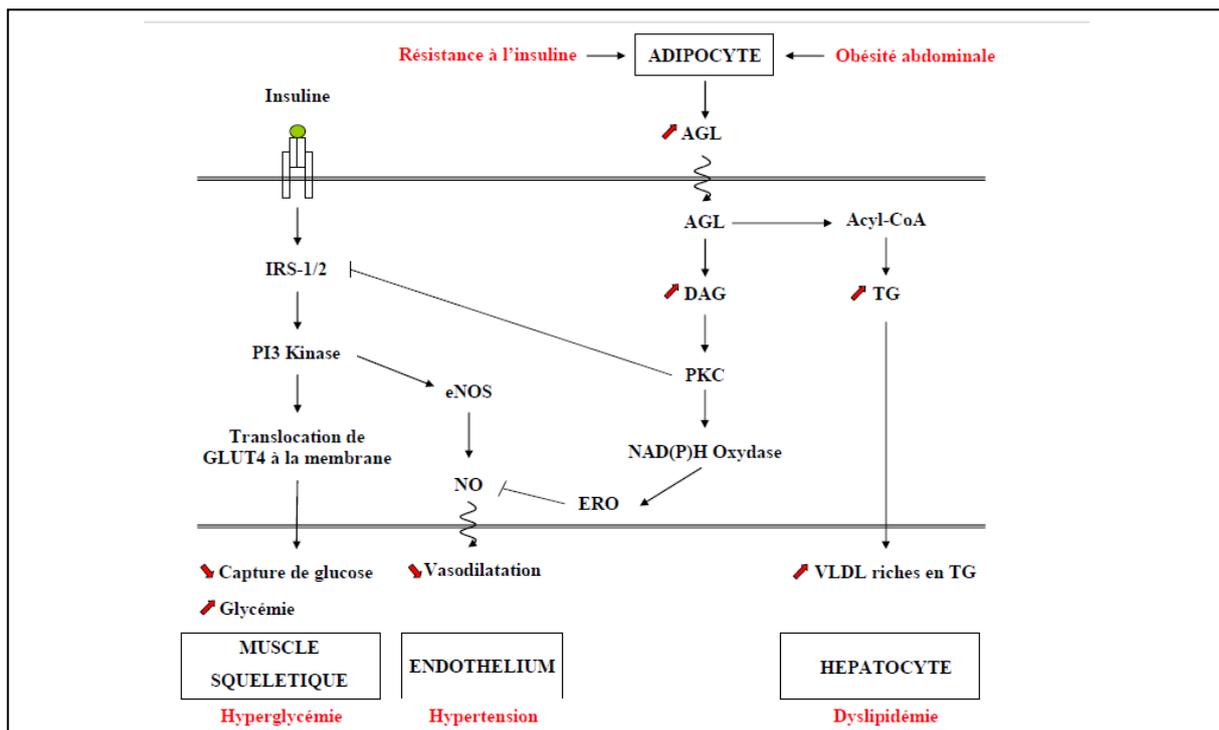


Figure 11 : Rôle des AGL circulants dans les différentes composantes du syndrome métabolique **Holvoet et al.,2004)**

AGL : acide gras libre; **DAG** : diacylglycérol; **eNOS** :« Endothéliale Nitric oxide Synthase »;
ERO, espèces réactives oxygénées; **GLUT4**, « Glucose Transporter type-4 »;
IRS-1/2 : « Insulin Receptor Substrate-1/2 »; **NAD(P)H oxydase** : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase; **NO** : monoxyde d'azote; **PKC** : protéine kinase C ;
PI3 Kinase : phosphatidyl inositol 3 kinase; **TG** : triacylglycérol; **VLDL** : lipoprotéine de très basse densité.

III-4- Complications chroniques du diabète sucré

À long terme l'hyperglycémie est délétère pour de nombreux types cellulaires, ce qui entraîne de nombreuses pathologies sur plusieurs organes (**Figures 12 et 13**). Une des principales cibles des complications liées à l'hyperglycémie chronique est l'endothélium vasculaire. On distingue les complications vasculaires du diabète en fonction du diamètre des vaisseaux atteints en macro- et micro- vasculaires.

III-4-1-Complications macrovasculaires

L'hyperglycémie est un facteur de risque des maladies cardiovasculaires majeur. Un attribut principal des complications cardiovasculaires diabétiques est une athérosclérose

accélérée associée à un stress oxydatif, une résistance à l'insuline, et un syndrome métabolique (Martin-Timon et al., 2014).

Le diabète altère les fonctions de la paroi artérielle et est ainsi à l'origine d'une dysfonction endothéliale par diminution de la production de NO (Besler et al., 2008). Il induit des phénomènes inflammatoires qui initient l'athérosclérose. De plus, les anomalies lipidiques qui accompagnent le diabète de type 2 participent majoritairement à tous les phénomènes d'athérogénèse.

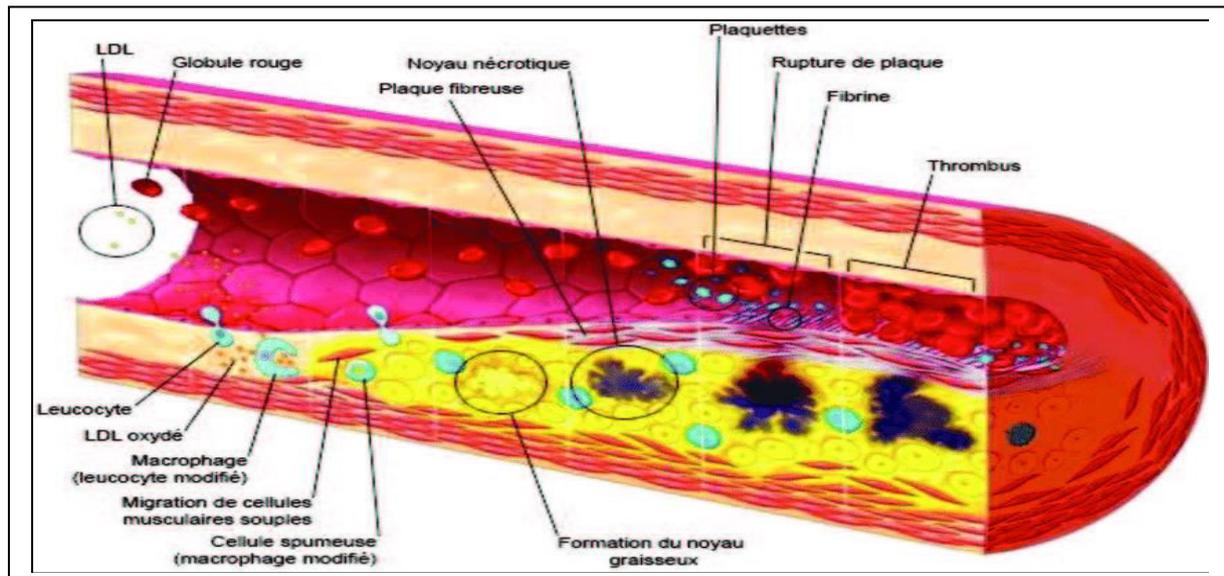


Figure 12: Schéma illustratif d'une plaque d'athérosclérose (J. Diebold Anatomie pathologique générale)

III-4-2- Complications microvasculaires

Outre les complications macro-vasculaires, le diabète peut engendrer de graves complications qui affectent plusieurs organes tels que le rein, l'œil, ou les nerfs (Golden, 2011; Jeerakathil et al., 2007). C'est l'angiogenèse, entre autres, qui est fortement perturbée dans cette pathologie.

III-4-2-1- Rétinopathie diabétique

Le diabète est associé avec le développement de nombreuses complications oculaires et parmi celles-ci la rétinopathie diabétique est la plus sévère (Frank, 2004). C'est la cause de cécité la plus fréquente parmi les adultes de 20 à 74 ans (Fong et al., 2003).

La rétinopathie diabétique est cliniquement classifiée en :

- non-proliférative : il y a seulement des modifications microvasculaires au sein de la rétine. Ces anomalies incluent des micros anévrysmes (gonflement de la paroi de l'artère), une

perméabilité des capillaires altérée, une fragilisation et éventuellement une obstruction des vaisseaux (Chew et al., 2004).

- proliférative : se caractérise par la formation de nouveaux vaisseaux sur la rétine et/ou le disque optique. Des capillaires prolifèrent dans la cavité vitreuse et peuvent subir des hémorragies dans le vitré, ce qui résulte en une certaine perte visuelle. Plus tard dans la maladie de nouveaux vaisseaux peuvent se former dans le stroma de l'iris et s'étendre (Frank, 2004).

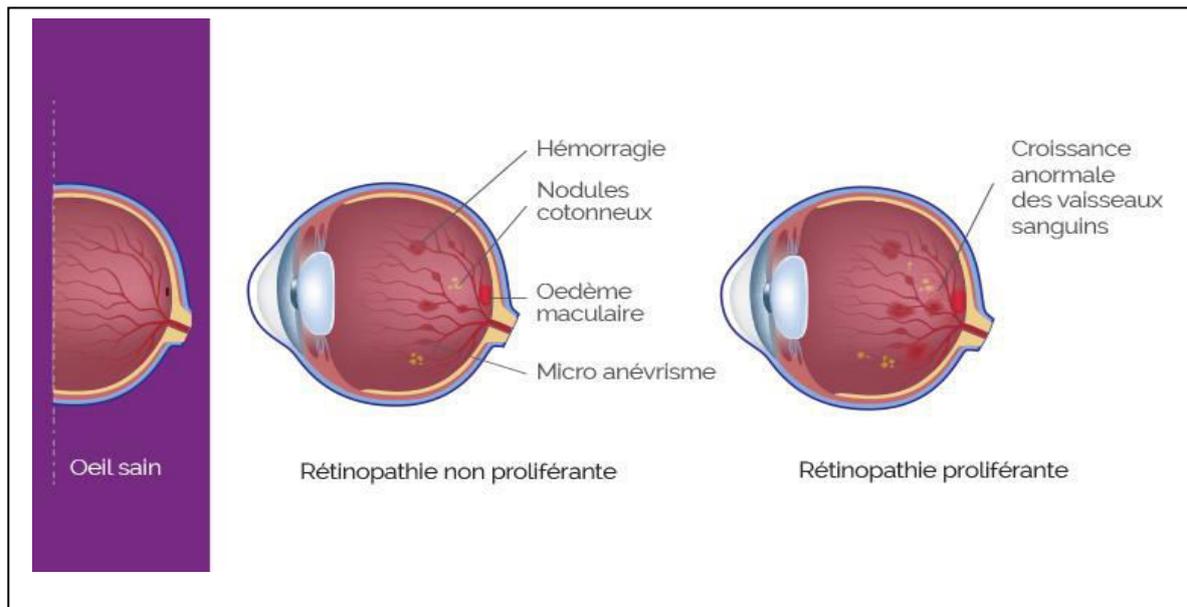


Figure 13 : La rétinopathie diabétique (Jonathan R. 2015)

III-4-2-2- Néphropathie diabétique

La néphropathie diabétique est la principale cause d'insuffisance rénale en occident. C'est la première cause de mortalité chez les patients atteints de diabète de type 1 et c'est en train de devenir un problème clinique majeur pour les patients atteints de diabète de type 2 (Cooper et al., 1998). Augmentation de l'afflux sanguin, hypertrophie, hyperfiltration glomérulaire et une hyperperfusion sont les premières modifications dans le rein. (Mauer et al., 1984). Une hyperglycémie persistante pendant plusieurs années affecte la structure du rein, y compris au niveau cellulaire. Un épaissement de la membrane glomérulaire, une hypertrophie glomérulaire et une accumulation extracellulaire de matrice (fibrose tubulo-interstitiel) sont observés. (Cooper et al., 1998)

III-4-2-3- Neuropathie diabétique

L'hyperglycémie entraîne de nombreux produits de glycation (Advanced Glycation End product (AGE)), un stress oxydatif et une production de reactive oxygen species (ROS). Ces AGEs et ces ROS entraînent une dysfonction nerveuse.

La neuropathie diabétique est caractérisée par une perte neuronale progressive, une démyélination et une régénération nerveuse altérée avec, à terme, une altération des fibres nerveuses, affectant à la fois le système nerveux autonome et somatique. Des ulcérations neuropathiques et une douleur constante sont les conséquences de la neuropathie diabétique. Dans le développement et la progression de la neuropathie diabétique, sont impliqués l'insuffisance vasculaire, l'ischémie, l'hypoxie, le syndrome métabolique et la résistance à l'insuline (Farmer et al., 2012).

IV-1'hypertension artérielle et athérosclérose

IV-1-Définition :

L'HTA est définie comme la valeur de pression artérielle pour laquelle l'excès de risque associé justifie une prise en charge thérapeutique.

Historiquement, la pression artérielle diastolique (PAD) avait été rendue responsable d'une plus forte valeur prédictive d'évènements cardiovasculaires par rapport à la pression artérielle systolique (PAS). C'est désormais au regard des deux valeurs PAD et PAS que l'on définit l'HTA.

L'HTA est donc définie par une PAS \geq 140 et/ou une PAD \geq 90 mm Hg (**World Health Organization 2016**).

IV-2-Physiopathologie

La pression artérielle est déterminée par le débit cardiaque, le volume sanguin et les résistances périphériques. Lors de l'hypertension artérielle, dans la majorité des cas, le débit cardiaque est normal et les résistances périphériques sont élevées. Il s'agit de l'hypertension artérielle permanente.

Une hypertension artérielle peut résulter d'une augmentation du débit cardiaque avec résistances périphériques normales. Il s'agit d'une hypertension hyperkinétique souvent labile du jeune sujet. Le système rénine -angiotensine- aldostérone intervient dans la régulation de la pression artérielle : l'angiotensine agit sur les résistances artériolaires, l'aldostérone sur le volume sanguin circulant (**World Health Organization 2016**).

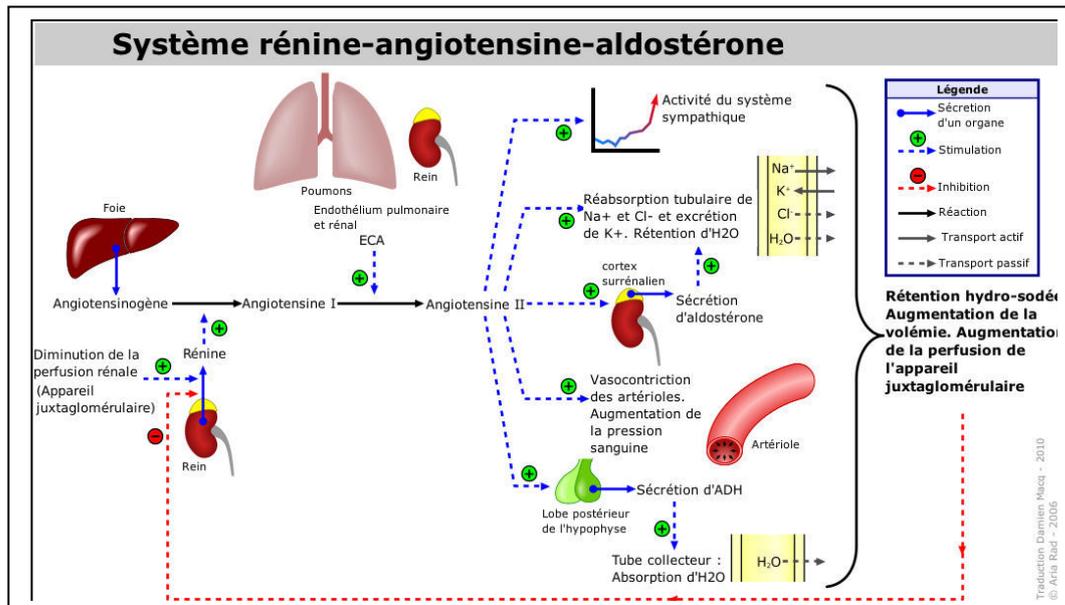


Figure 14: Système rénine –angiotensine –aldostérone (RAA) (World Health Organization 2016).

IV-3-Facteurs favorisant l'HTA

L'HTA essentielle, s'installe habituellement de façon progressive et insidieuse avec une variabilité des mesures qui est susceptible de masquer l'élévation des chiffres au fil des consultations. Les facteurs suivants jouent un rôle favorisant dans l'apparition d'une HTA essentielle :

- * Les antécédents familiaux d'HTA.
- * Le rôle du sodium : un bilan sodé positif entraîne fréquemment une hypertension artérielle par hypervolémie plasmatique. Une vasoconstriction artériolaire réflexe apparaît par la suite, pérennisée par l'augmentation du tonus sympathique et une hyperréactivité vasculaire due à l'angiotensine II.
- * Le poids: une association entre obésité, notamment abdominale et HTA a été établie (**Bauduceau B et al., 2005**). Une perte de poids permet à la fois une diminution notable de l'HTA et du risque cardio-vasculaire global (**Chrostowska M et al., 2006**).
- * L'âge s'accompagne d'une augmentation de la rigidité artérielle due à un processus fibrotique et athéromateux (**Chamontin B et al., 1994**). Après la ménopause et la disparition des œstrogènes, la pression artérielle systolique s'élève plus chez la femme que chez l'homme. L'augmentation de la pression artérielle liée à l'âge serait en rapport avec la modification d'activité physique ainsi qu'à des facteurs nutritionnels (sodium et ration calorique totale modifiés avec l'âge).

* L'alcool: le risque d'apparition d'HTA est deux fois plus grand pour les sujets qui consomment plus de 6 verres d'alcool par jour. La pression artérielle augmente dès le trois verre quotidien (**Saverio S et al., 2004**). Ce fait s'explique par l'activation orthosympathique du système rénine-angiotensine, du cortisol, l'activation du système nerveux central et une sensibilité augmentée au sel.

* Les émotions négatives sont appelées communément «stress».

IV-4-Les complications cardiovasculaires liées à l'HTA

Il ya une relation positive et continue entre l'élévation de la pression artérielle et la survenue de maladies cardio -vasculaires : accident vasculaire cérébral (AVC), maladie coronaire, insuffisance cardiaque congestive et insuffisance rénale. En effet, l'HTA cause ou accélère des altérations artérielles et artériolaires responsables de complications cliniques: sclérose artériolaire, anévrismes miliaires des artérioles cérébrales pénétrantes à l'origine d'hémorragies cérébrales, nécrose fibrinoïde et nécrose kystique des grosses artères provoquant des dissections artérielles. (**Hannedouche T et Krummel T, 2008**)

Les complications de l'HTA peuvent être classées en 2 catégories : celles directement liées à l'HTA et celles dépendant de l'athérosclérose (**Hannedouche T et Krummel T, 2008**). Le nombre des complications liées à l'athérosclérose est particulièrement important, La fréquence des complications directement liées à l'HTA a diminué avec les progrès du dépistage et du traitement. Les plaques d'athérosclérose sont à l'origine des nombreux accidents ischémiques. Le surcroît de risque est ainsi considérable, et entraîne une diminution de la durée de vie de 10 à 20 ans en l'absence de traitement. (**Tableau 2**) (**ANAES, 2000**)

Tableau 2 : Récapitulatif des complications de l'HTA

COMPLICATIONS LIÉES À L'HTA	COMPLICATIONS DE L'ATHÉROSCLÉROSE
AVC hémorragique: elle représente la plus fréquente des complications dans le cadre des affections directement dues à l'HTA.	Coronaropathie Infarctus du myocarde (IDM) qui constitue le risque principal de mortalité chez l'hypertendu.
Insuffisance cardiaque: La fonction diastolique est atteinte de façon prédominante du fait de l'hypertrophie ventriculaire gauche (HVG), elle reste assez fréquente, surtout chez les personnes âgées	Les AVC ischémiques: il existe une relation directe et continue entre les niveaux de pression artérielle et le risque d'AVC. Une diminution de la PAD de 5 mmHg permet de réduire de 1/3 le risque d'AVC à la fois chez les patients normo et hypertendus
Rétinopathie maligne: devenue très rare.	Angor
Encéphalopathie hypertensive: exceptionnelle.	Athérosclérose carotidienne Artériopathie des membres inférieurs
Insuffisance rénale (néphroangiosclérose)	Insuffisance rénale (maladie vasculo-rénale ischémique)

IV-5- Lien entre l'HTA et le diabète

L'hypertension peut être induite par l'état de résistance à l'insuline (**Ferrannini et al., 1987**) durant lequel l'effet vasodilatateur de l'insuline est perdu (**Tooke and Hannemann, 2000**). Par contre, les effets de l'insuline sur la réabsorption du sodium et l'activité du système nerveux sympathique sont maintenus. (**Kuroda et al., 1999**)

Plus de la moitié des Diabétique de type 2 sont hypertendus et les données de l'étude MRFIT montrent le pouvoir délétère de cette association : la mortalité cardio-vasculaire est supérieure chez un diabétique ayant une TA systolique entre 140 et 159 mm Hg que chez un non diabétique ayant une TA systolique entre 180 et 199 mm Hg. On comprend donc l'intérêt d'un contrôle très strict de la pression artérielle chez les patients diabétiques. (**Egan, 2003**)

Partie pratique

I-Matériels et méthodes

La présente étude a été menée dans le but de vérifier l'hypothèse suivante :

Les maladies métaboliques spécifiquement le diabète sucré et l'hypertension artérielle diminuent la défense antioxydante même s'ils sont bien suivis et équilibrés, ils peuvent favoriser les risques d'atteindre d'autres maladies telles que l'athérosclérose.

Dans le but d'évaluer l'état du stress oxydant chez les diabétiques et les hypertendus et sa répercussion sur la genèse des complications cardiovasculaires.

I-1-Protocole

Notre étude a été menée sur des sujets de différentes communes de la wilaya de **TEBESSA** (tebessa, hamamat, cheria, elkouif et bekaria), un questionnaire nous a permis de collecter 80 sujets diabétiques (type 2), 80 sujets hypertendus et 80 sujets sains (témoins), auxquels nous avons effectué des bilans biochimiques sanguins.

I-1-1-Questionnaire

Il s'agit d'enquête par entretien, après avoir expliqué à chaque sujet le but de notre étude, les sujets qui ont accepté d'être enquêtés ont fait l'objet d'un prélèvement sanguin.

Notre questionnaire a été formulé en fonction des différents facteurs de risques qui favorisent l'apparition et/ou l'aggravation de l'athérosclérose, il nous a permis de recueillir les données suivantes :

- **L'identification et information sociodémographique du sujet enquêté :** nom, prénom du sujet, âge, sexe, la profession, lieu de résidence, taille, poids, état familial, nombre d'enfants. Ce volet nous a fournis des informations importantes pour notre étude et nous a permis de nous familiariser avec les sujets pour pouvoir continuer l'enquête.
- **Mode de vie :** le régime alimentaire, l'activité physique, le tabagisme, l'alcoolisme, le stress quotidien, l'effort, le suivi périodique (chaque trois mois) chez le médecin, les analyses effectuées pour ce suivi, les maladies psychologiques et psychiatriques et leurs traitements et finalement l'administration pour les femmes de contraceptif.
- **Hérédité :** antécédents familiaux d'accident cardiovasculaire, sexe masculin et ménopause.
- **Traitement actuel :** chaque traitement pris par le sujet a sa propre influence sur l'état métabolique et les complications des maladies étudiées.

- **Maladies associées :** tel que les maladies inflammatoires, hypothyroïdie, hypercholestérolémie, la goutte.

I-1-2-Collecte des échantillons

La collecte a été effectuée au niveau des structures hospitalières et médicales suivantes:

- L'établissement Public Hospitalier (*EPH*) *BouguerraBoulaaresBekarria-Tébessa*,
- L'établissement Public Hospitalier (*EPH*) *Mohamed cheboukicheria-Tébessa*,
- *L'établissement Public de santé de proximité (EPSP) cheria-Tébessa*,
- *La maison des diabétiques cheria-Tébessa*,
- *Cabinet médical docteur Djeddi Mounir réanimateur cheria-Tébessa*,
- *La maison des diabétiques skanska-Tébessa*,
- L'établissement Public Hospitalier (*EPH*) *AliaSalah -Tébessa*,
- Cabinet médical docteur **kolikenouche** cardiologue *-Tébessa*.

Les prélèvements ont été faits sur des tubes Secs et EDTA pour le dosage des paramètres biochimiques sériques et érythrocytaires.

I-1-3- Bilans réalisés

- ✓ Le dosage des paramètres biochimiques de routine : **Glycémie, urée, créatinine, acide urique, cholestérol total, triglycéride, cholestérol HDL, cholestérol LDL, protéines totales et l'hémoglobine**, a été effectué aux niveaux de Laboratoire Centrale de *l'EPH BouguerraBoulaaresBkarria*, par un analyseur automatique de marque **Mindray BS-200**.
- ✓ alors que celui des paramètres de la défense antioxydante et du stress oxydant : **glutathion s-transférase(GST), glutathion forme réduite (GSH), glutathion peroxydase (GPX)** et un paramètre de la peroxydation lipidique : **Malondialdéhyde(MDA)** plasmatique et érythrocytaire a été réalisé au niveau de Laboratoire de biochimie de la faculté des SESNV de *L'Université LARBI TEBESSI de Tébessa*.

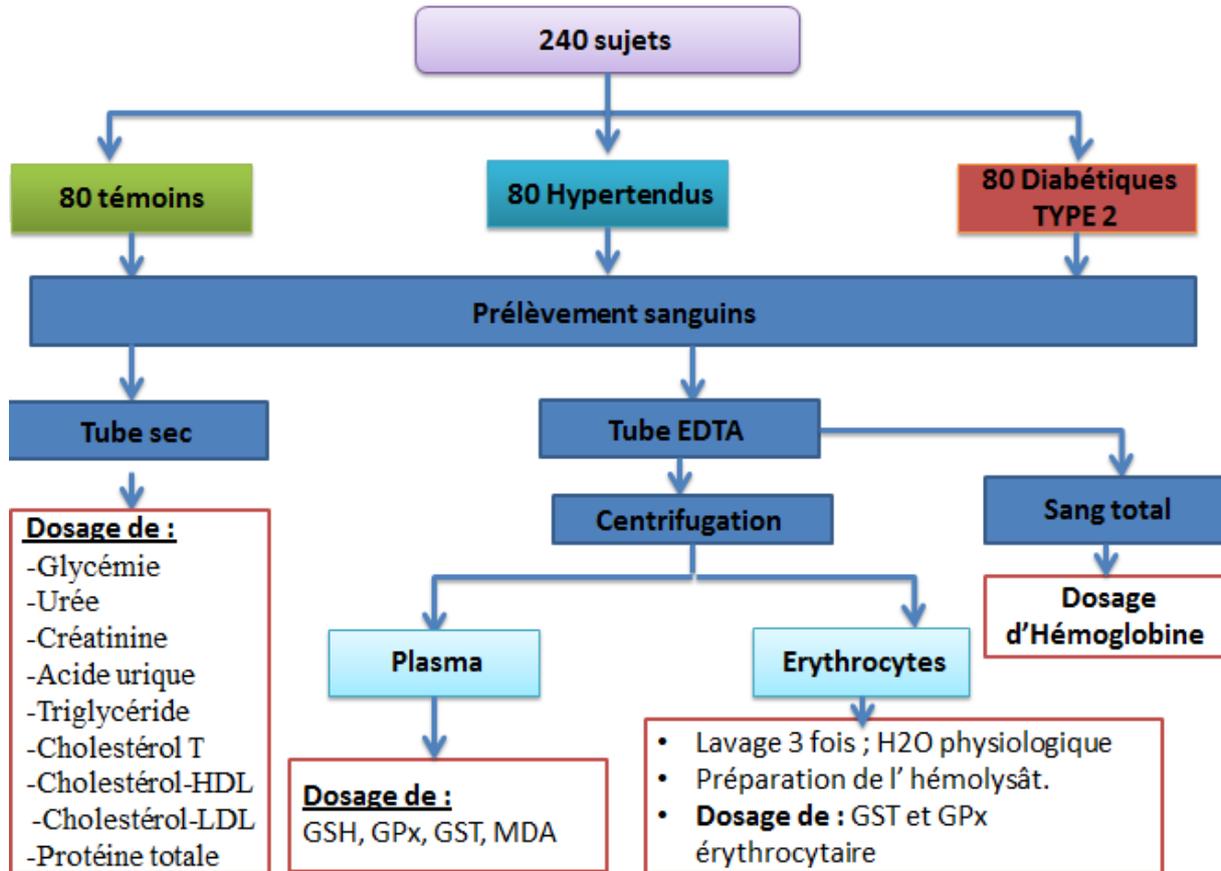


Figure15: Schéma récapitulatif des différentes étapes du Protocole expérimental utilisé.

I-2- Méthode de dosage des paramètres biochimiques

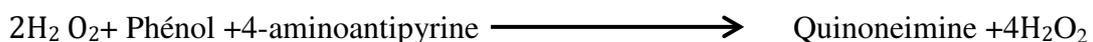
I-2-1- glucose sanguin

Les mesures sont réalisées sur du sérum par la méthode à la **Glucose oxydase** et la fiche technique BioSystems .Le glucose est transformé par la glucose oxydase (GOD) en gluconate et peroxyde d'hydrogène (H₂ O₂). Ce dernier, en présence de **Peroxydase** (POD), oxyde le chromogène incolore (4-aminoantipyrine) en un composé coloré en rouge (quinoneimine) (**Kaplan, 1984 ; Trinder, 1969**), selon les réactions suivantes :

Glucose oxydase



Peroxydase



Dans un tube sec 10 µl d'échantillon sont ajoutés à 1 ml de réactif de glucose [(GOD : 1500U/L, POD : 1000 U/L, 4-aminoantipyrine: 2.6 mmol/l) dissout dans un tampon tris

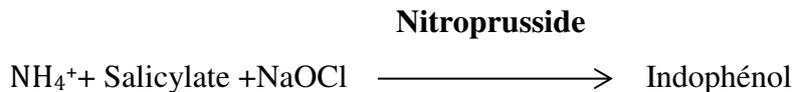
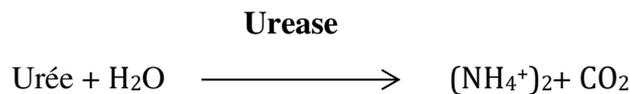
pH7.4 contenant 3mmol/l du phénol], incubation à 37°C pendant 5 minutes, lecture contre un blanc réactif a 500 nm avec utilisation d'un étalon.

$$[\text{Glucose}] \text{ (m mol/l)} = \frac{\text{Echantillon(A)}}{\text{Etalon(A)}} \times 5.55 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

I-2-2- Urée sanguin

Le dosage est réalisé sur le sérum par la méthode colorimétrique utilisant l'uréase selon la fiche technique Biomaghreb.

L'urease hydrolyse l'urée en ammoniacque (NH₄⁺) et le dioxyde de carbone (CO₂). Les ions réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite (NaClO), en présence de Nitroprusside pour former l'indophénol de couleur verte (Kaplan *et al*, 1984), selon les réactions :



Dans un tube sec 10µl d'échantillon sont additionnées a 1ml de réactif 1 [urease 30000 U/L dissoute dans un tampon phosphate pH=6.7 : 50mmol/l contenant (EDTA : 2mmol/salicylate de sodium : 400mmol/l, nitroprusside de sodium : 10mmol/l)] , agitation, incubation à 37°C pendant 5 minutes ,

Ensuite 1ml de réactif 2 (hypochlorite de sodium : 140mmol/l, hydroxyde de sodium : 150 mmol/l) est ajouté au mélange, agitation, incubation à 37°C pendant 5 minutes, lecture contre un blanc réactif a 580 nm avec utilisation d'un étalon.

$$[\text{Urée}] \text{ (m mol/l)} = \frac{\text{Echantillon(A)}}{\text{Etalon(A)}} \times 8.325 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

I-2-3- Créatinine sanguine

Ce dosage est basé sur la réaction de la créatinine avec l'acide picrique en milieu alcalin(NaOH) pour donner un composé coloré en rouge selon la réaction de Jaffé (Murray *et al*,1984) et la fiche technique Spinreact.

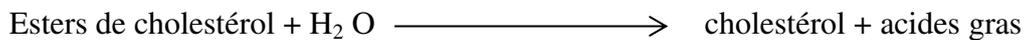
100 µl d'échantillon (sérum) sont ajoutés à 1ml de réactif de travail [V/V : R1 : 17.5 mmol/l d'acide picrique + R2 : 0.29 mmol/l d'hydroxyde de sodium], agitation, lecture de l'absorbance (A1) après 30 secondes et après 90 secondes (A2), à une longueur d'onde 492 nm. $\Delta A = A2 - A1$

$$[\text{Créatinine}] (\mu \text{ mol/l}) = \frac{\Delta \text{échantillon A}}{\Delta \text{Etalon A}} \times 88.4 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

I-2-4- Cholestérol total sérique

Méthode colorimétrique selon la fiche technique Spinreact. Le cholestérol présent dans le sérum se transforme en composé coloré selon les réactions suivantes (Naito & Kaplan, 1984)

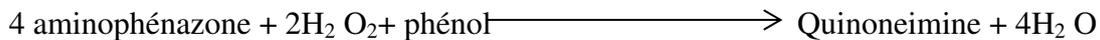
Cholestérol estérase



Cholesterol oxydase



Peroxydase



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

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

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

I-2-5- Cholestérol HDL

Les lipoprotéines de très basse densité (VLDL), et de basse densité (LDL) présentent dans le sérum ou le plasma sont précipitées par le phosphotungstate en présence des ions magnésium. Après centrifugation le surnageant contient les lipoprotéines de haute densité

(HDL). Cette fraction (HDL-C) est déterminée en utilisant le réactif et le protocole de dosage du cholestérol total (Naito & Kaplan, 1984 ; Grove, 1979).

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

I-2-6- Cholestérol LDL

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

I-2-7- Triglycérides sérique

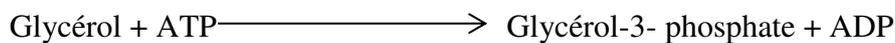
Détermination quantitative des triglycérides sériques par une méthode enzymaticolorimétrique à la GPO- POD selon la fiche technique Spinreact.

Hydrolyse des triglycérides par les lipoprotéinelipases (LPL) avec libération du glycérol et acides gras libres. Le glycérol est converti en glycérol-3- phosphate et adénosine diphosphate ADP par la glycerol kinase et l'ATP. Le G3P est converti par GPDH en dihydroxyacétone phosphate et H₂O₂. Ce dernier réagit avec le 4- aminophénazone et pchlorophénol en présence de peroxydase (POD) pour donner une coloration rouge selon les réactions (Buccolo, 1973) :

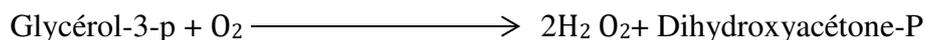
Lipoprotéinelipase



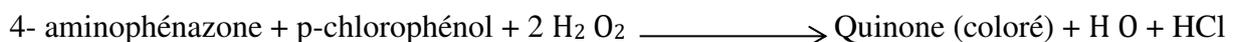
Glycerol kinase



Gly-3-P oxydase



Peroxydase



Dans un tube sec 10µl d'échantillon (sérum) sont additionnées à 1ml de réactif de travail [R2 (Lipoprotéine lipase (LPL) :150 000U/L, Glycérokinase (GK) : 800 U/L, Glycérol-3Poxydase (GPO) : 4000 U/L, Peroxydase (POD) : 440 U/L, 4- aminophénazone (4-AP) : 0.7mmol/l, ATP : 0.3mmol/l) dissout dans le tampon ; R1(GOODpH7.5 : 50 mmol/l, pchlorophénol: 2 mmol/l)], agitation, incubation à 37°C pendant 05minutes. Lecture de la densité optique à λ=505 nm contre un blanc réactif en utilisant un tube étalon.

Echantillon (A)

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

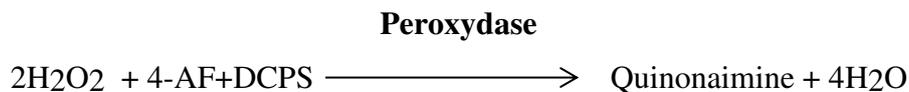
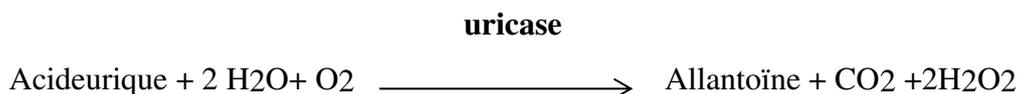
Etalon (A)

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

I-2-8- Acide urique sanguin

Détermination quantitative de l'acide urique sérique par une méthode enzymatique colorimétrique à l'uricase- POD selon la fiche technique Biomagreb.

L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène (2H₂O₂) qui, en présence de la peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AF) et du 2-4 Diclorophénolsulphonate (DCPS) forme un composé rosacé(Quinonaimine) selon les réactions (**Kaplan A et al., 1984**)



Dans un tube sec 25 µL Echantillon mélanger additionner 1ml de réactif de travail (**R 2:Uricase 70 U/L Peroxidase POD 660U/L, 4-aminophénazone 1 mmol/L, dissout dans unTamponR1 :Phosphates pH 7,4 50 mmol/L, 2-4 Diclorophénolsulphonate (DCPS) 4 mmol/L**)et incuber pendant 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à 15-25°C.Lecture de la densité optique à λ=520 nm contre un blanc réactif en utilisant un tube étalon.

Echantillon(A)

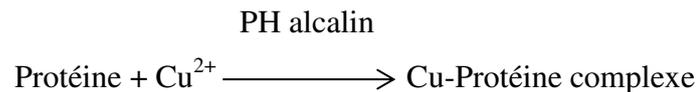
[Acide urique](µ mol/l) = $\frac{\text{Echantillon(A)}}{\text{Etalon(A)}} \times 357$ (concentration de l'étalon)

Etalon(A)

I-2-9- Protéines totales

Détermination quantitative des protéines totales sérique par une méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Biuret selon la fiche technique Biolabo.

En milieu alcalin, les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec le cuivre (Cu^{2+}) pour former un complexe coloré en violette/bleue. Le réactif de Biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivriques et maintient leur solubilité en solution alcaline selon la réaction suivant (**Tietz N.W, 1995**)



Dans un tube sec 20 μL Echantillon mélanger additionner 1ml de réactif de travail (R1 : hydroxyde de sodium 370 mmol/l, tartrate-Na-K 10 mmol/l, iodure de potassium 3 mmol/l, sulfate de cuivre 3mmol/l) bien mélanger et incubé a température ambiante pendant 10 min.Lecture de la densité optique à $\lambda=550$ nm contre un blanc réactif en utilisant un tube étalon.

$$[\text{Protéines totales}] (\text{g/l}) = \frac{\text{Echantillon(A)}}{\text{Etalon(A)}} \times 60 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

I-2-10- Hémoglobine

Détermination quantitative de l'hémoglobine par une méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Drabkin selon la fiche technique Biolabo.

Le Fe^{2+} de l'hémoglobine est oxydé en Fe^{3+} de la méthémoglobine par le ferricyanide, la méthémoglobine réagit alors avec le cyanure de potassium (KCN) pour former la cyanméthémoglobine composé colorimétrique très stable. (**Drabkin,D.L,1935**)

Dans un tube sec 20 μL Echantillon(sang total) mélanger additionner 5ml de réactif de travail (R1 : tampon phosphate 1 mmol/l, cyanure de potassium 0.75 mmol/l, ferricyanure de potassium 0.6 mmol/l, détergent 0.1 g/l,conservateur \leq 0.1%) bien mélanger , incubé à température ambiante pendant 3 min.Lecture de la densité optique à $\lambda=546$ nm contre un blanc réactif.

$$[\text{Hémoglobine}](\text{g/dl}) = (\text{A}) \times 36.77(\text{facteur})$$

I-2-11- Glutathion réduit (GSH) plasmatique

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de **Weekbeker & Cory (1988)**.

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela on réalise une déprotéinisation (par l'acide sulfosalicylique 0.25%) afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du glutathion.

- ✓ Dans un tube sec on met: 0.8 ml de plasma auquel est ajoutée 0.2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0.25%,
- ✓ agitation, incubation dans un bain de glace pendant 15 minutes,
- ✓ Centrifugation 1000rpm pendant 5 minutes,
- ✓ Prendre 0.5 ml de surnageant auquel est ajouté 1 ml de tampon Tris-HCl + EDTA(0.02M) pH 9.6. agitation et addition de 0.025 ml de DTNB à 0.01M dissout dans le méthanol absolu,
- ✓ incubation 5 minutes à température ambiante puis lecture de la DO à $\lambda = 412$ nm.

$$[\text{GSH}](\text{nmol/mg Pt T} * 10^{-3}) = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{131000 \times 0.8 \times 0.5 \text{ mg Pt T}}$$

DO : Densité optique.

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

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

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

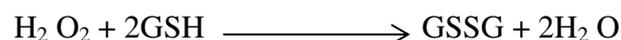
0.8: Volume de l'homogénat après déprotéinisation trouvé dans un 1 ml.

0.5 : Volume du surnageant trouvé dans un 1.525 ml.

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

I-2-12-Glutathion peroxydase (GPX) plasmatique et érythrocytaire

L'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **Flohe et Gunzler (1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène ($\text{H}_2 \text{O}_2$) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



✓ Dans un tube sec : 0.2 ml de surnageant est additionnée à 0.4 ml de GSH a 0.1 mM (réaction

enzymatique) + 0.2 ml de KNaHPO₄ à 0.067 M (tampon d'extraction pH 7.8).

✓ Le tube blanc contient 0.4 ml de GSH + 0.2 ml de KNaHPO₄ (réaction non enzymatique).

✓ Incubation au bain marie à 25° C pendant 05 min

✓ addition de 0.2 ml d'H₂ O₂ (1.3mM) pour initier la réaction.

✓ Incubation 10 min.

✓ addition de 1ml de TCA 1% T pour arrêter la réaction.

✓ Le mélange se met dans la glace pendant 30 min.

✓ Centrifugation durant 10 min à 3000t/min

✓ 0.48 ml de surnageant sont placés dans une cuve est additionnés de 2.2 ml de Na₂ HPO₄ à

0.32 M + 0.32 ml de DTNB à 1mM.

✓ Mesure de la densité optique à 412 nm dans les 05 min.

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

Activité de GSH consommée / min / gr de protéine

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

Extrait = 0.04 micro mole de GSH réduit-----DO_e

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

$$(DO_e - DO_b) \times 0.04$$

Quantité de GSH réduite disparue (oxydée) = _____

DO_b

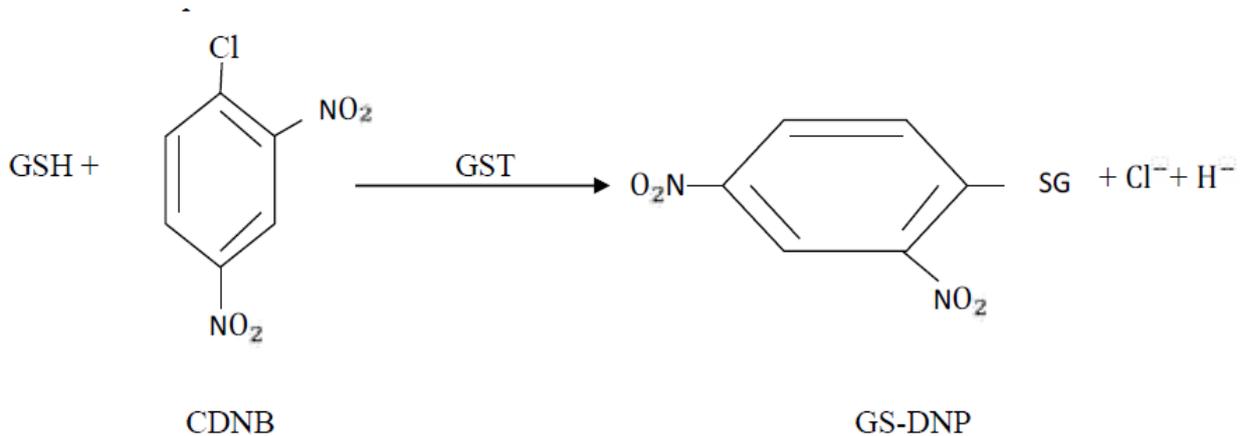
[GPX] (μ mol/min/ gr Pt T) = La quantité de GSH réduit disparue X _____ 5

La concentration de Pt T

Pour le dosage du GPX érythrocytaire nous avons procédé à une préparation de l'hémolysât avant l'analyse.

I-2-13-Glutathion-S- transférase (GST) plasmatique et érythrocytaire

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



La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

- ✓ Ledosage consiste à faire réagir 200 µl de plasma/hémolysât avec 1.2 ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26 mg CDNB, 153.65 mg GSH, 1 ml ethanol, 100 ml tampon phosphate(0.1M, p H 6)].
- ✓ lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

Le calcul de la concentration de la GST se fait comme suite :

$$[\text{GST}](\text{nmol}/\text{min}/\text{mg Pt T}) = \frac{\text{DO échantillon}/\text{min} - \text{DO blanc}/\text{min}}{9.6 \times \text{mg Pt T}}$$

* 9.6 : coefficient d'extinction du GSH-CDNB exprimé en mmolxcm

Pour le dosage du GST érythrocytaire nous avons procédé à une préparation de l'hémolysât avant l'analyse.

I-2-14-Malondialdéhyde (MDA) plasmatique

Le MDA peut être détecté par une réaction colorimétrique à l'acide thiobarbiturique (TBA). La détection du MDA issue de la dégradation des acides gras polyinsaturés à 3 ou 4 doubles liaisons peroxydées, constitue une méthode très sensible pour déterminer une lipoperoxydation in vitro.

Le dosage du MDA est réalisé selon la méthode **d'Esterbauer et al(1992)**.

Le principe de ce dosage est basé sur la condensation de MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique, pour former un pigment (rose). Ce chromogène peut être donc mesuré par spectrophotométrie à 530 nm.

✓ Dans un tube sec : 375 µl de plasma, sont additionnées à 150 µl de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4) plus 375 µl de la solution TCABHT (TCA 20%, BHT 1%),

✓ agitation puis centrifugation à 1000 tours/min pendant 10 min.

✓ Prélever 400 µl du surnageant auquel est ajoutée 80 µl d'HCl 0.6M plus 320 µl de la solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM),

✓ agitation puis incubation au bain marie à une température de 80°C pendant 10 minutes.

✓ Lecture de la densité optique à $\lambda=530$ nm.

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

$$[MDA] \text{ (nmol/mg de protéine)} = \frac{DO \times 10^6}{\epsilon \times L \times \chi \times Fd}$$

C : Concentration en nmoles /mg de protéines ;

DO : Densité optique lue à 530 nm ;

ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;

L : Longueur du trajet optique = 0.779 cm ;

X : Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml) ;

Fd : Facteur de dilution : $Fd = 0.2083$.

I-3- Méthode statistique

La saisie et le traitement des données ont été réalisés à l'aide des logiciels :

 *Microsoft Excel(2010).*

 *MINITAB (V. 13.0).*

Les résultats sont en *moyenne ± écart type moyenne*. Nous avons utilisé le test « t » de (*Student* a 2 échantillons) pour les comparaisons statistiques. Les résultats sont exprimés en moyenne ± un écart–type moyen (SEM), avec un seuil de significativité $p \leq 0,05$.

II- Résultats :

II-1- paramètres biochimiques

II-1-1- variation de la concentration de glucose

✓ Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de la glycémie a jeun chez les sujets diabétiques par rapport aux témoins et aux sujets hypertendus, alors que la concentration de glucose chez les sujets hypertendus est significatif ($P \leq 0.050$) par rapport aux témoins.

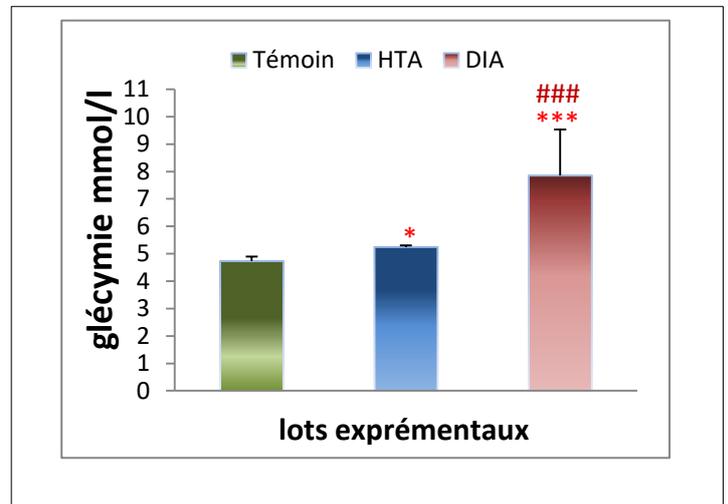


Figure 16 : variation de la concentration de glucose sanguin chez les diabétiques, hypertendus et témoins.

P= P= seuil de signification.

* = comparaison avec le témoin.

= comparaison des diabétiques avec hypertendus.

*/ # = $P \leq 0.050$ significatif.

**/### = $P \leq 0.010$ hautement significatif.

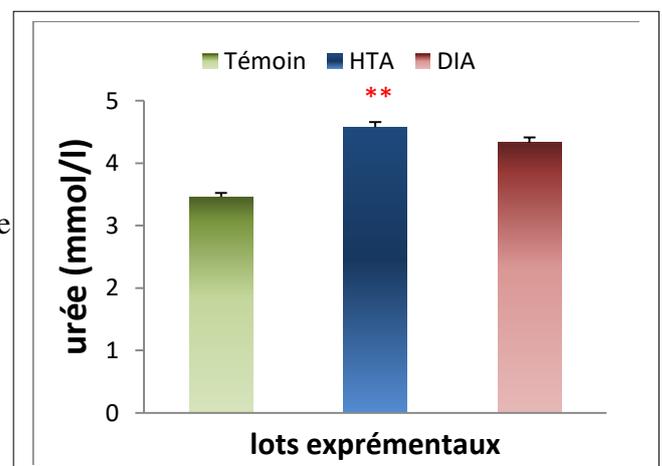
***/#### = $P \leq 0.001$ très hautement significatif

II-1-2-bilan rénal sérique

Nos résultats montrent :

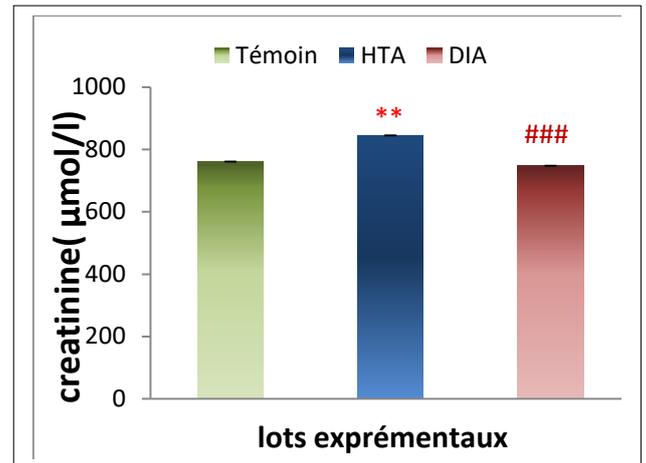
✓ Une augmentation hautement significative ($P \leq 0.010$) de l'urémie chez les sujets hypertendus par rapport aux témoins et aux sujets diabétiques, alors, il n'existe pas une différence entre les sujets diabétiques, témoins et aux hypertendus.

Figure 17 : variation de la concentration de l'urée sanguine chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



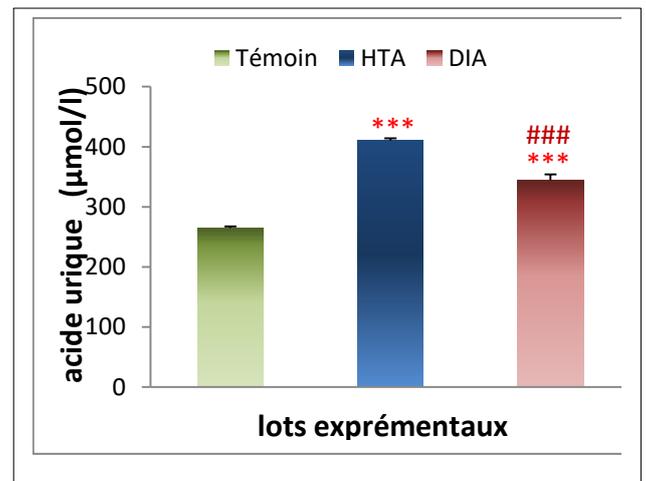
- ✓ Une augmentation hautement significative ($P \leq 0.010$) de la créatininémie chez les sujets hypertendus par rapport aux témoins et très hautement significative ($P \leq 0.001$) aux sujets diabétiques.

Figure 18 : variation de la concentration de la créatinine sanguine chez les diabétiques, hypertendus et témoins



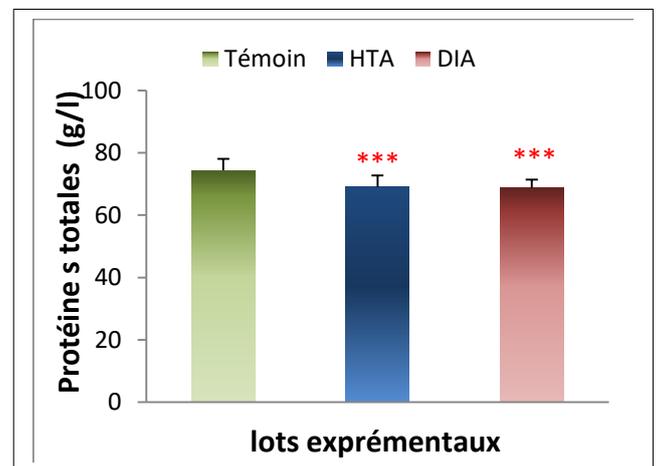
- ✓ Une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'uricémie chez les sujets hypertendus et les sujets diabétiques par rapport aux témoins, alors qu'il y a une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les sujets diabétiques par rapport aux sujets hypertendus.

Figure 19 : variation de la concentration de l'acide urique sanguin chez les diabétiques, hypertendus et témoins



- ✓ Une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de la concentration sérique des Protéines Totales chez les sujets hypertendus et les sujets diabétiques par rapport aux témoins.

Figure 20 : variation du taux des protéines totales chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



P= P= seuil de signification.

* = comparaison avec le témoin.

= comparaison des diabétiques avec hypertendus.

*/ # = $P \leq 0.050$ significatif.

**/### = $P \leq 0.010$ hautement significatif.

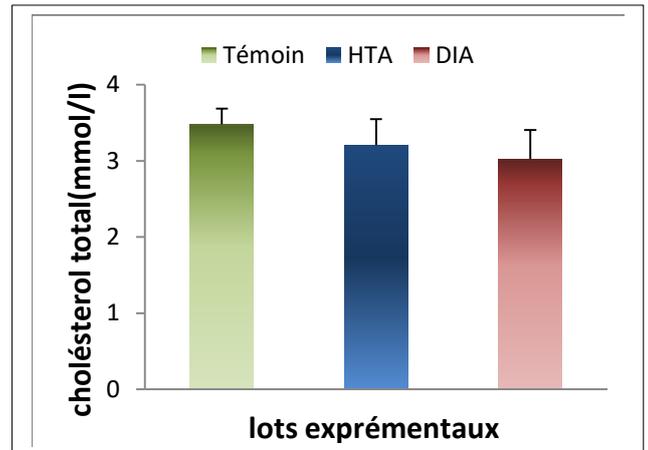
***/#### = $P \leq 0.001$ très hautement significatif

II-1-3 bilan lipidique

Nos résultats montrent :

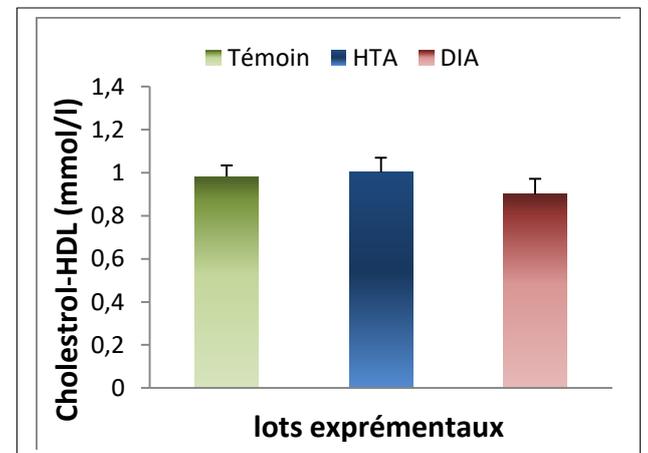
- ✓ Une diminution non significative de la cholestérolémie chez les sujets hypertendus et diabétiques par rapport aux témoins et une diminution non significative aussi chez les sujets diabétiques par rapport aux sujets hypertendus.

Figure 21 : variation de la concentration de cholestérol total sérique chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



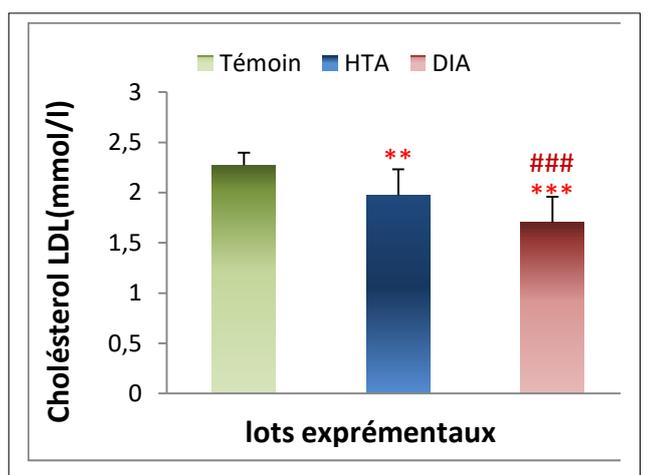
- ✓ Une augmentation non significative de la concentration de cholestérol-HDL chez les sujets hypertendus par rapport aux témoins, par contre il y a une diminution non significative chez les sujets diabétiques par rapport aux témoins et aux sujets hypertendus.

Figure 22 : variation de la concentration de cholestérol-HDL chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



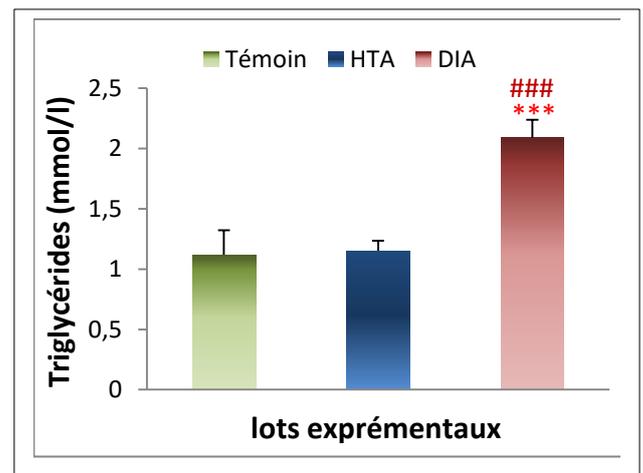
- ✓ Une diminution hautement significative ($P \leq 0.010$) de la concentration de cholestérol-LDL chez les sujets hypertendus par rapport aux témoins et une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les sujets diabétiques par rapport aux témoins et aux sujets hypertendus.

Figure 23 : variation de la concentration de cholestérol-LDL chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



- ✓ Une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de la triglycéridémie chez les diabétiques par rapport aux témoins et aux sujets hypertendus.

Figure 24 : variation de la concentration des triglycérides sérique chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



P= P= seuil de signification.

* = comparaison avec le témoin.

= comparaison des diabétiques avec hypertendus.

*/ # = $P \leq 0.050$ significatif.

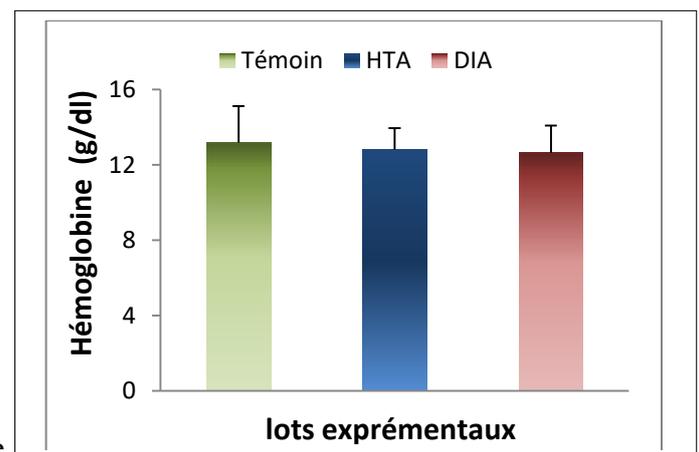
**/## = $P \leq 0.010$ hautement significatif.

***/### = $P \leq 0.001$ très hautement significatif

II- 1-4- Hémoglobine

- ✓ Nos résultats montrent une diminution non significative de la concentration de l'hémoglobine chez les sujets hypertendus et diabétiques par rapport aux témoins et une diminution non significative aussi chez des sujets diabétiques par rapport aux sujets hypertendus.

Figure 25: variation de la concentration de l'hémoglobine chez les diabétiques, hypertendus et témoins.

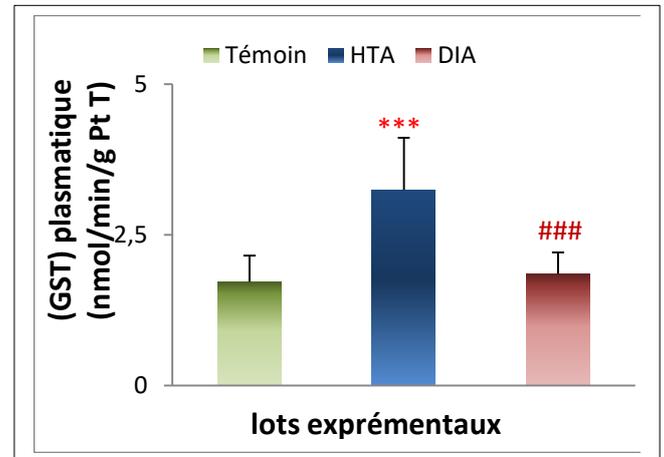


II-2- Paramètres du stress oxydant plasmatique

Nos résultats montrent :

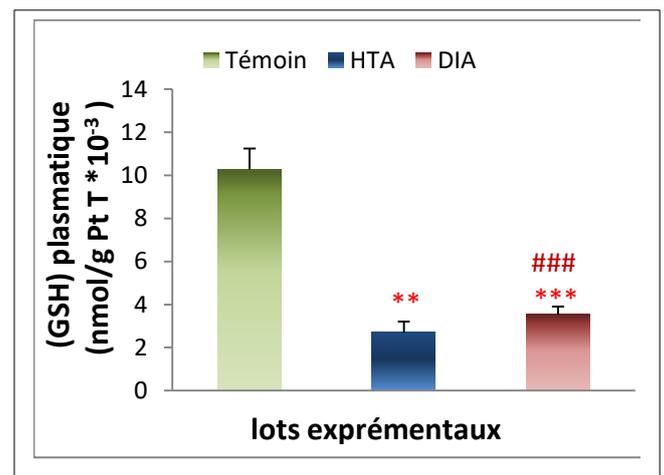
- ✓ Une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité plasmatique du GST chez les sujets hypertendus par rapports aux témoins, par contre il y a une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité du GST chez les sujets diabétiques par rapport aux sujets hypertendus.

Figure 26 : variation de l'activité enzymatique de la Glutathion-S-transférase (GST) plasmatique chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



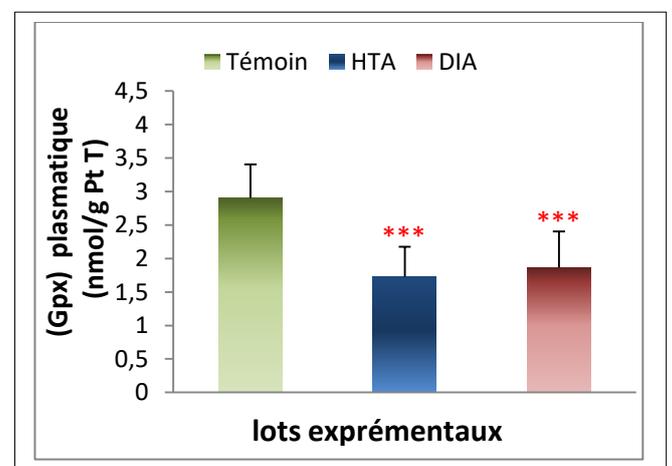
- ✓ Une diminution hautement significative ($P \leq 0.010$) de la concentration du GSH plasmatique chez les sujets hypertendus et très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les sujets diabétique par rapport aux témoins, alors qu'il y a une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de la concentration du GSH chez les sujets diabétiques par rapport aux sujets hypertendus.

Figure 27 : variation de la concentration de glutathion réduit (GSH) plasmatique chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



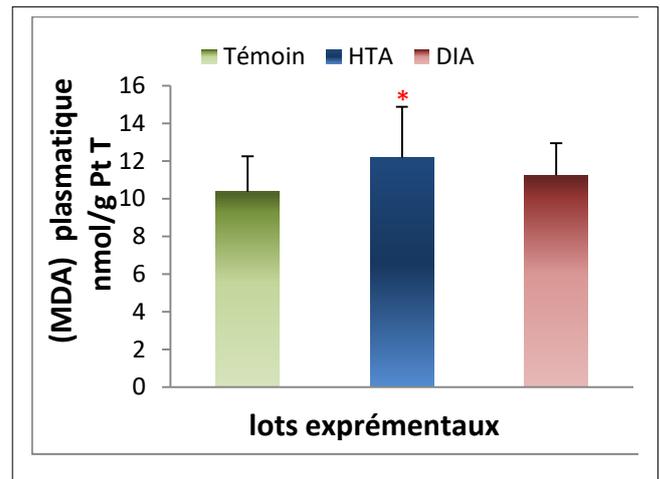
- ✓ Une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité de GPX plasmatique chez les sujets hypertendus et diabétiques par rapport aux témoins.

Figure 28 : variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPX) plasmatique chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



- ✓ Une augmentation significative ($P \leq 0.050$) de la concentration de MDA plasmatique chez les sujets hypertendus par rapport aux témoins.

Figure 29 : variation de la concentration de MDA chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



P= P= seuil de signification.

* = comparaison avec le témoin.

= comparaison des diabétiques avec hypertendus.

*/ # = $P \leq 0.050$ significatif.

**/## = $P \leq 0.010$ hautement significatif.

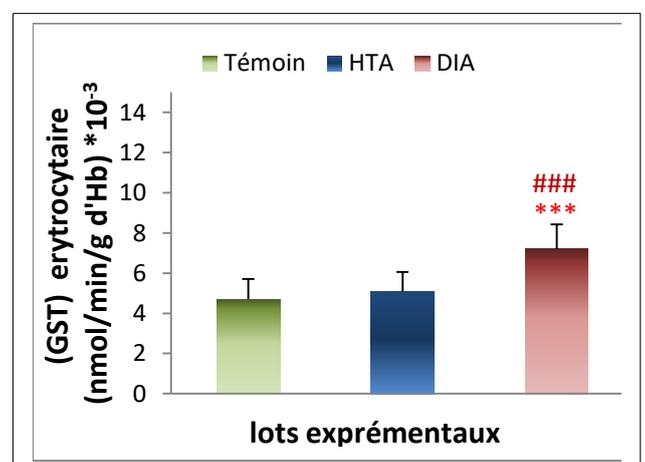
***/### = $P \leq 0.001$ très hautement significatif

II-3- Paramètres du stress oxydant érythrocytaire

Nos résultats montrent :

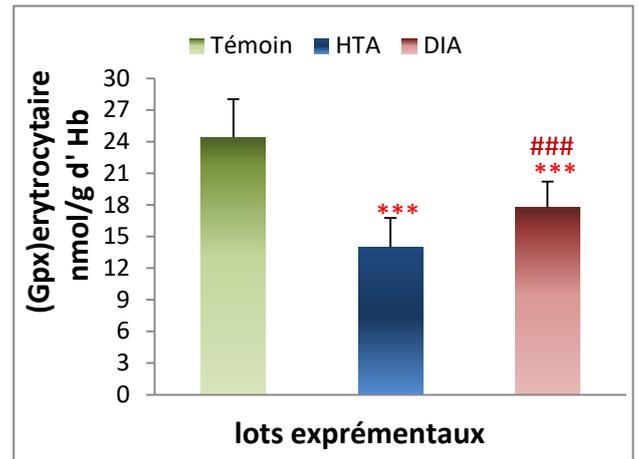
- ✓ Une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité érythrocytaire du GST chez les sujets diabétiques par rapport aux témoins et aux sujets hypertendus.

Figure 30 : variation de l'activité enzymatique de la Glutathion-S-transférase (GST) érythrocytaire chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



- ✓ Une diminution très hautement significative ($P \leq 0.001$) de l'activité érythrocytaire du GPX chez les sujets hypertendus et diabétiques par rapport aux témoins, par contre il y a une augmentation très hautement significative ($P \leq 0.001$) chez les sujets diabétiques par rapport aux sujets hypertendus.

Figure 31 : variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPX) érythrocytaire chez les diabétiques, hypertendus et témoins.



P= P= seuil de signification.

* = comparaison avec le témoin.

= comparaison des diabétiques avec hypertendus.

* / # = $P \leq 0.050$ significatif.

** / ### = $P \leq 0.010$ hautement significatif.

*** / #### = $P \leq 0.001$ très hautement significatif

III- Discussion

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications des maladies, celui-ci se localisera à un tissu et à des types cellulaires particuliers, mettra en jeu des espèces radicalaires différentes et sera associé à d'autres facteurs variables et à des anomalies génétiques spécifiques à chaque individu. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, Dans la genèse de la plaque d'athérome, l'oxydation des LDL est un des phénomènes clefs transformant les monocytes en cellules spumeuses. Le stress oxydant joue également un rôle dans l'apparition des autres facteurs athérogènes : augmentation de la résistance à l'insuline, activation des cellules endothéliales libérant des médiateurs prooxydants (prostacycline, cytokine, facteur de fibrinolyse, superoxyde, NO), augmentation de la prolifération des fibres lisses. (**Bennamara F/Z, 2017**).

III-1- paramètres biochimiques

III-1-1- Variation de la concentration de glucose

Nos résultats montrent une augmentation très hautement significative de la concentration de glucose sérique chez les sujets diabétiques par rapport aux témoins et aux sujets hypertendus, cela peut être expliqué par: le diabète de type 2 est caractérisé par un désordre métabolique, une hyperglycémie chronique et une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique. Il résulte d'une déficience de la sécrétion et/ou de l'activité de l'insuline. (**Bennamara F/Z, 2017**).

L'hyperglycémie est responsable d'une athérosclérose accélérée par l'intermédiaire de la glomérulopathie diabétique. Mais plusieurs études épidémiologiques, réalisées dans des populations diabétiques ciblées, montrent également une augmentation de mortalité cardiovasculaire en l'absence de glomérulopathie et de facteurs de risque associés. (**H. Hanaire, 2005**).

L'hyperglycémie interviendrait en favorisant : la prolifération des cellules musculaires lisses de la paroi artérielle, la glycation des lipoprotéines, la glycation de la matrice extracellulaire, la thrombose et augmentant le stress oxydatif. L'état de Stress Oxydant, implique plusieurs mécanismes: auto-oxydation du glucose, surproduction d'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) par la Chaîne respiratoire mitochondriale et par activation de la NAD(P) H oxydase vasculaire, voie des polyols, et formation des Produits de glycation avancée (**Bennamara F/Z, 2017**).

Alors que la concentration de glucose chez les sujets hypertendus est significative par rapport aux témoins. Cela peut être expliqué par le trouble du métabolisme lipidique chez les hypertendus qui augmente la Prévalence du diabète et diminue la tolérance au glucose, ce qui s'accorde avec les travaux de (A.Bachir Cherif ,2018).

III-1-2- Bilan rénal

Notre étude a montré :

- ✓ Une augmentation hautement significative de l'urémie et la créatininémie chez les sujets hypertendus par rapport aux témoins, mais cette augmentation reste toujours dans les normes ce qui explique qu'il n'y a pas d'insuffisance rénale.
- ✓ Une diminution de la protéinémie chez les sujets hypertendus et les sujets diabétiques par rapport aux témoins, mais cette diminution reste dans les normes, elle est expliquée par la variation de l'apport alimentaire des sujets et ne montre aucune anomalie. La protéinémie a été dosée pour son utilisation dans le calcul des paramètres de stress oxydant plasmatique.
- ✓ Une hyperuricémie chez les sujets hypertendus et les sujets diabétiques par rapport aux témoins, elle est expliquée comme suite : l'hypertension est fréquemment associée à l'hyperuricémie, on retrouve un taux élevé d'acide urique chez 25% des sujets hypertendus non traités, chez 50% des sujets hypertendus traités par diurétiques et chez 75% des sujets présentant une hypertension maligne (Cannon PJ et al.,1966). A l'inverse, on diagnostique une hypertension chez 30% des sujets connus pour une hyperuricémie ou une goutte. Plusieurs études expérimentales conduites par R.Johnson et coll. Suggèrent que l'hyperuricémie contribue à l'apparition d'une hypertension artérielle probablement par le biais du développement de lésions artériolaires et interstitielles rénales. (Johnson RJ et al., 2003)

Il faut relever que le rôle de l'acide urique dans la physiopathologie de l'hypertension artérielle est compliqué par le fait que plusieurs facteurs de risque sont communs, comme par exemple la consommation d'alcool, la résistance à l'insuline et l'obésité. L'acide urique est fortement associé au développement de complications cardiovasculaires et pourrait être considéré comme un facteur de risque cardiovasculaire.

Plusieurs auteurs ont démontré qu'un taux d'acide urique élevé est associé à une augmentation de la mortalité et de la morbidité cardiovasculaires dans la population générale, dans la population de patients hypertendus, diabétiques ou encore connus pour une maladie cardiovasculaire ou cardiaque. On observe fréquemment une élévation du

taux d'acide urique dans des situations à haut risque cardiovasculaire comme dans l'hypertension, l'obésité, la dyslipidémie, l'insuffisance cardiaque, l'insuffisance rénale chronique, le diabète type 2 et le syndrome métabolique (**Niskanen LK et al.,2004**) (**Deléval P,Burnier M. 2005**).

III-1-3- Bilan lipidique

Notre étude a montré :

- ✓ Une diminution de la cholestérolémie, une augmentation du taux du cholestérol-HDL et une diminution du taux du cholestérol-LDL chez les sujets hypertendus et les sujets diabétiques par rapport aux témoins, mais ces variations restent dans les normes. Ces résultats s'accordent avec l'étude de (**Arsène Tshikongo Kabamba1 et al.,2014**)
- ✓ Une baisse significative du taux de cholestérol-HDL chez les sujets diabétiques de type 2 et les sujets hypertendus est preuve d'existence du stress oxydatif chez ces individus. La diminution du cholestérol-HDL est directement liée à la baisse du bon cholestérol avec comme conséquences directes la survenue des complications liées à une hypercholestérolémie.(**Montonen J et al., 2013**), (**Sahach VF et al., 2008**)

C'est pour cela que les sujets diabétiques et hypertendus sont traités par différents hypolipémiants tel que les statines [(Simvastatine (Zocor®, Lodalés®), pravastatine (Elisor®, Vasten®), atorvastatine (Tahor®),fluvastatine (Lescol®, Fractal®), rosuvastatine (Crestor®)].

Les statines sont des inhibiteurs de 3-hydroxy 3-méthyl-glutaryl coenzyme A réductase (HMG CoA réductase), enzyme clé de la synthèse endogène du cholestérol au niveau cellulaire. La diminution de la synthèse de cholestérol stimule l'expression du gène des récepteurs au LDL par la levée du rétrocontrôle négatif exercé par le cholestérol intracellulaire. L'augmentation de la synthèse des récepteurs aux LDL entraîne une augmentation de la captation des LDL plasmatiques et de leur catabolisme par les cellules, et donc une diminution du taux de LDL circulantes. Le traitement par statine entraîne une diminution du cholestérol total portant sur le cholestérol-LDL (cholestérol contenu dans les LDL, athérogène), une augmentation modérée de la concentration de cholestérol – HDL (protecteur vis-à-vis de l'athérosclérose), et une diminution du taux de triglycérides. Ces effets sont dépendants de la dose. (**DCEM3 - Pharmacologie Chapitre 14-Traitements hypolipémiants 2008**).

- ✓ Une hypertriglycéridémie chez les sujets diabétiques par rapport aux témoins et aux hypertendus, cette augmentation est dû au désordre métabolique des lipides chez les diabétiques. L'augmentation du taux de triglycérides est associée à une augmentation du risque de maladies cardiovasculaires (**National Cholesterol Education Program (NCEP), 2002**). cela peut être expliqué comme suite:
 - *Les triglycérides circulent sous forme de lipoprotéines de très faible densité, VLDL (Very Low DensityLipoproteins), ou de chylomicrons.
 - * La lipoprotéine lipase(LPL) est synthétisée par le tissu adipeux et le muscle, elle se lie aux protéoglycanes à la surface de l'endothélium. Elle hydrolyse les triglycérides et libère des acides gras non estérifiés qui peuvent être captés par différents types cellulaires. La synthèse de cette enzyme dépend de l'insuline, et sa production est diminuée chez les diabétiques (**Semenkovich CF, Heinecke JW, 1997**). Un déficit en LPL peut donc exacerber l'hypertriglycéridémie que l'on observe chez les diabétiques.
 - *La LPL est aussi synthétisée par les macrophages au niveau des lésions d'athérosclérose. Dans ce cas, différentes études ont montré qu'elle est augmentée par le diabète de type 2 et qu'elle pourrait participer, en combinaison avec les acides gras non estérifiés, à l'aggravation des lésions d'athérosclérose (**Askari B et al., 2002**).
- * Une autre caractéristique du diabète est l'élévation des acides gras non estérifiés qui proviennent d'un excès de dégradation des lipides dans le tissu adipeux et d'une diminution de leur utilisation par le muscle. Les acides gras non estérifiés peuvent altérer l'endothélium par différents mécanismes, similaires à ceux engendrés par l'hyperglycémie. De récents travaux indiquent qu'ils pourraient aussi augmenter la prolifération des cellules musculaires lisses induite par des facteurs de croissance présents au sein des lésions d'athérosclérose (**Askari B et al.,2002**).Ils favorisent également la coagulation en augmentant les concentrations de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène -1 (PAI-1), et la vasoconstriction en réduisant la sécrétion de prostacycline vasculaire (**Toft I, Bonaa KH, Ingebretsen OC et al., 1997**),(**Dandona P et al.,2003**).

III-1-4- Hémoglobine

Nos résultats montrent une diminution non significative de la concentration de l'hémoglobine chez les sujets hypertendus et diabétiques par rapport aux témoins, cette diminution reste dans les normes et ne montre aucune anomalie, le taux de l'hémoglobine a été dosé pour le calcul des paramètres érythrocytaires du stress oxydant.

III-2- paramètres du stress oxydant plasmatiques et érythrocytaires

L'étude des paramètres du stress oxydant dans montre :

- ✓ une diminution très hautement significative du taux plasmatique de glutathion réduit (GSH) chez les sujets diabétiques et hautement significatifs chez les sujets hypertendus par rapport aux témoins. Cette diminution explique l'état du stress oxydant chez ces sujets. Dans les conditions d'hyperglycémie, le glucose est utilisé par la voie des polyols et se transforme en sorbitol, cette réaction consomme le NADPH, ce dernier est indispensable pour la régénération des molécules de glutathion par l'enzyme glutathion réductase ce qui explique la diminution de la glutathion chez les diabétiques (**West, 2000 ; Baynes, 1991**). De plus le taux de GSH est diminué chez les sujets hypertendus en raison du taux élevé des radicaux libres, le GSH étant un piègeur des radicaux libres par son groupement (SH) il est convertit en GSSG (glutathion oxydé) par la glutathion réductase (**Loven *et al.*, 1986 ; Bedwal, 1983**).il est aussi utilisé comme Co- facteur pour l'activité de la glutathion peroxydase ce qui diminue d'avantage son taux .
- ✓ Les enzymes antioxydantes sont considérées comme la première ligne de défense de l'organisme contre les radicaux libres, d'où elles préviennent l'oxydation des macromolécules biologiques. Au cours de notre étude nous avons enregistré :
 - * une diminution très hautement significative de l'activité enzymatique plasmatique et érythrocytaire de la glutathion peroxydase (GPx) chez les sujets hypertendus et diabétiques par rapport aux témoins. L'activité de l'enzyme (GPx) est liée au maintien de la production de NADPH qui est le principal réducteur cellulaire exemple : le NADPH est un cofacteur de la catalase et l'activité de cette enzyme dépend de ce cofacteur, la catalase a une activité compétitif avec la (GPx) (**Gaetani *et al.*, 1994 ; Kirkman & Gaetani, 1984 ; Kirkman *et al.*, 1999**), aussi le NADPH sert de cofacteur de la glutathion réductase qui catalyse la réduction de la forme oxydée de glutathion (GSSG). La majeure source de NADPH est la glucose-6- phosphate déshydrogénase (G6PDH) qui catalyse la 1ère réaction de la voie des pentoses phosphate (**Pandolfi *et al.*, 1995**). Une diminution de taux de NADPH par la diminution de l'activité enzymatique de la G6PDH, et par conséquent diminution de l'activité enzymatique de la GPx et la catalase.
 - *une augmentation très hautement significative de l'activité enzymatique érythrocytaire de la (GPx) chez les sujets diabétiques par rapport aux sujets

hypertendus, cette augmentation explique l'état de régénération de la défense antioxydante élevé chez les sujets diabétiques par rapport aux sujets hypertendus.

✓ L'enzyme glutathion S-transférase (GST), joue un rôle important dans la désintoxication des xénobiotiques et/ou dans la protection contre des métabolites nocifs générés après la dégradation des macromolécules suite à leur exposition au stress oxydant (Mulder et al., 1999). D'après nos résultats on observe :

* une augmentation très hautement significative de la GST plasmatique et érythrocytaire chez les sujets diabétiques et les sujets hypertendus par rapport aux témoins, l'augmentation de l'activité de cette enzyme est une réponse physiologique pour compenser les altérations qui sont dus aux radicaux libres (Nuriye & Belma, 2005). donc la GST est impliquée dans l'élimination des radicaux libres générés au cours de diabète et de l'hypertension artérielle (Xu et al., 2002).

* une diminution très hautement significative de l'activité de la GST chez les sujets diabétiques par rapport aux sujets hypertendus, ce qui explique que les altérations dus aux radicaux libres chez les sujets hypertendus sont plus importantes que chez les sujets diabétiques et demande plus d'activité enzymatique.

✓ Du fait de la difficulté de la mesure des radicaux libres (réactivité intense, demi-vie extrêmement courte, très faible concentration) ; des marqueurs indirects sont déterminés. Ces marqueurs sont les produits secondaires de la peroxydation lipidique. Il s'agit d'une substance la malondihaldéhyde (MDA) qui réagit avec l'acide thiobarbiturique (TBARS) (Lefevre et al., 1998). Au cours de notre travail nous avons enregistré une augmentation significative du taux de MDA chez les sujets hypertendus par rapport aux témoins, ce qui indique une augmentation de la peroxydation lipidique.

IV-Conclusion et perspectives

Le stress oxydant est une circonstance anormale que traversent parfois nos cellules ou un de nos tissus lorsqu'ils sont soumis à une production, endogène ou exogène, de Radicaux Libres qui dépasse leurs capacités antioxydantes. L'excès de Radicaux Libres non neutralisés par les défenses est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules. Le stress oxydant est impliqué donc dans de très nombreuses maladies en faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes. L'athérosclérose est une atteinte inflammatoire chronique des artères de gros calibre et une présentation clinique et biologique très variable selon les individus. Les facteurs de risque cardiovasculaire classiques : hypertension artérielle, et le diabète, sont les causes du déséquilibre pro-oxydant entraîne l'oxydation des lipoprotéines de basses densités, les LDL et de multiples dysfonctionnements cellulaires : libération de facteurs pro-inflammatoires et des facteurs favorisant la prolifération cellulaire, processus d'apoptose et/ou de nécrose. L'ensemble des dysfonctionnements finalement concourt à la progression des lésions d'athéroscléroses et à leur évolution ultime qu'est la rupture de plaque.

Le travail que nous avons mené est le dépistage de l'athérosclérose chez les seins, les hypertendus et les diabétiques. Notre objectif été d'étudier et d'évaluer l'état du stress oxydant chez les diabétiques et les hypertendus et sa répercussion sur la genèse des complications cardiovasculaires en utilisant le dosage des différent paramètres biochimiques et marqueurs de stress oxydant, a la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

✓ chez les diabétiques de type 2:

- l'hyperglycémie intervient en favorisant : la prolifération des cellules musculaires lisses de la paroi artérielle, la glycation des lipoprotéines, la glycation de la matrice extracellulaire, la thrombose et en augmentant le stress oxydatif,
- l'hypertriglycémie est associée à une augmentation du risque de maladies macrovasculaires,
- Une diminution de la peroxydation lipidique et de la défense antioxydante non enzymatique plasmatique : glutathion réduit (GSH),
- Une augmentation de la défense antioxydante enzymatique plasmatique et érythrocytaire : glutathion peroxydase (GPX), glutathion S- transférase (GST).

✓ Chez les hypertendus :

Conclusion et perspectives

- l'hyperuricémie est fortement associée au développement de complications cardiovasculaire et pourrait être considéré comme un facteur de risque cardiovasculaire,
- Une augmentation de la peroxydation lipidique, ce qui augmente le risque des maladies cardiovasculaires et cela malgré le traitement hypolipémiant administré,
- une diminution de la défense antioxydante non enzymatique plasmatique : glutathion réduit (GSH), enzymatique plasmatique et érythrocytaire : glutathion peroxydase (GPx),
- Une augmentation de la défense enzymatique plasmatique et érythrocytaire : glutathion S-transférase (GST) qui n'a pas pu à elle seul rééquilibré la balance du stress oxydant.

La faiblesse de la défense antioxydante chez les hypertendus les rend plus prédisposés à développer des maladies cardiovasculaires et notamment l'athérosclérose.

En perspectives, il serait intéressant de développer cette recherche par l'approfondissement de la connaissance sur :

- Le dosage d'autres paramètres de stress oxydant tel que : la glutathion réductase (GR), la catalase (CAT), Superoxydes Dismutases (SOD) et le métallothionéine (MTs),
- Compléter notre travail avec une étude épidémiologique en se basant sur les différents facteurs de risque évoqués dans le questionnaire,
- Associer au traitement des hypertendus des molécules antioxydantes sous forme d'additifs alimentaires (vitamine C, vitamine E, caroténoïdes....) et oligoéléments (magnésium, sélénium, manganèse, cuivre....).

Références bibliographiques

A.Bachir Cherif, S. Bennouarb, A. Bouamrac, A. Taleba, F. Hamidaa, M.Temmard,M.T. Bouafiaa. Prevalence of diabetes and dyslipidemia in hypertensive patients in the area of Blida (Algeria), *Annales de cardiologie et d'angéiologie* 2018:1186 p 06.

Adeline BETTING. 2015. comparaison de deux methodes de mesure noninvasives de la pression arterielle chezle chat vigile. THÈSE Présentée à l'universiteclaude-bernard -Lyon I pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire.

Ames B.N., Shigenaga M.K. and Hagen T.M. (1993) Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,90, 7915–22.

Arsène Tshikongo Kabamba1,&, Salvius Amuri Bakari1, Albert Otshudi Longanga1,2, Zet Kalala Lukumwena3 Baisse du HDL-cholestérol indicateur du stress oxydatif dans le diabète de type 2, *Pan African Medical Journal.* 2014; 19:140 doi:10.11604/pamj.2014.19.140.5279)

Askari B, Renard C, Bornfeldt K. Regulation of smooth muscle accumulation in diabetes-accelerated atherosclerosis. *Histol Pathol* 2002;17:1317-28). Aurélie Leroyer, PhD :Endothélium, pathologies vasculaires et cibles thérapeutiques; Inserm U1076 Faculté de Pharmacie, Marseille 2012.

Barouki R.(2006) Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/Sciences*, 22, 266-72.

Bauduceau B, Baigts F, Bordier L et al. Etude Epidémiologique des Facteurs de Risque et du Syndrome Métabolique en Milieu Militaire (étude EPIMIL). *Diabetes Metab* 2005; 31:353-9.

Baynes, J.W. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*; 40, 405-412.

Bedwal, R.S., Nair, N., Sharma, M.P., Mather, R.S. (1983). selenium its biological perspectives. *Med Hypothesis*; Vol 41, 150-159

Belkheiri ,N : Dérivés phénoliques a activités antiathérogènes doctorat de l'université de toulouse ;2010

Bennamara F/Z, stress oxydant et pathologies humaines, thèse pour l'obtention du doctorat en pharmacie faculté de médecine et pharmacie-rabat, 2017

Berliner, J. A., and Heinecke, J. W.(1996). The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med* 20, 707-727.

Besler, C., Doerries, C., Giannotti, G., Luscher, T.F., and Landmesser, U. (2008). Pharmacological approaches to improve endothelial repair mechanisms. *Expert review of cardiovascular therapy* 6, 1071-1082.

Betteridge D.J. Diabetic dyslipidemia. Implications for vascular risk 135-157. In :*Lipids : current perspectives*. 2. Special patient groups. D.J. Betteridge (Ed) 1996 ; Martin Dunitz (London) Ltd : 202 p.

Bingley PJ. Interactions of age, islet cell antibodies, insulin autoantibodies, and first-phase insulin response in predicting risk of progression to IDDM in JCA+ relatives: the ICARUS data set. *Islet Cell Antibody Register Users Study /diabetes*. 1996;45:1720-1728.

Bjorkerud, S., and Bjorkerud, B. (1996). Apoptosis is abundant in human atherosclerotic lesions, especially in inflammatory cells (macrophages and T cells), and may contribute to the accumulation of gruel and plaque instability. *Am J Pathol* 149, 367-380.

Björntorp P. Fatty acids, hyperinsulinemia and insulin resistance : which comes first. *Curr Opin Lipidol* 1994 ; 5 : 166-94.

Blanc M., Moinard C. and Cynober L. (2005) "Monoxyde d'azote." *Radicaux libres et stress oxydant*. Paris, Lavoisier, pp: 25-43.

Boren, J., Olin, K., Lee, I., Chait, A., Wight, T. N., and Innerarity, T. L. (1998).

Identification of the principal proteoglycan-binding site in LDL. A single-point mutation in apo-B100 severely affects proteoglycan interaction without affecting LDL receptor binding. *J Clin Invest* 101, 2658-2664

Buccolo, G. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes.(1973) *Clin Chem*: 19(5), 476-482.

Cai, W., Devaux, B., Schaper, W., and Schaper, J. (1997). The role of Fas/APO 1 and apoptosis in the development of human atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis* 131, 177-186.

Canadian Journal of Diabetes, Lignes directrices de pratique clinique 2008 de l'Association canadienne du diabète pour la prévention et le traitement du diabète au Canada ,Septembre 2008 ; SI -S225.

Cannon PJ,Stason B, Demartini FE, et al.hyperuricemia in primary and renal hypertension. *N Engl J Med* 1966 ;275 :457-64.)

Carmena, R., Duriez, P., and Fruchart, J. C. (2004). Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation* 109, III2-7.

Chamontin B, Poggi L Lang T et al. Prevalence, treatment and control of hypertension in the French population: data from a survey on high blood pressure in general practice, 1994. *Am J Hpertens* 1998; 11: 759-62.

Chang, M. K., Bergmark, C., Laurila, A., Horkko, S., Han, K. H., Friedman, P., Dennis, E. A., and Witztum, J. L. (1999). Monoclonal antibodies against oxidized low-density lipoprotein bind to apoptotic cells and inhibit their phagocytosis by elicited macrophages: evidence that oxidation-specific epitopes mediate macrophage recognition. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 6353-6358

Chatzizisis, Y. S., Coskun, A. U., Jonas, M., Edelman, E. R., Feldman, C. L., and Stone, P. H. (2007). Role of endothelial shear stress in the natural history of coronary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior. *J Am Coll Cardiol* 49, 2379-2393.

Chew, E.Y., Dowler, J., and Flynn, H. (2004). Diabetic retinopathy: should this patient receive laser treatment? *The British journal of ophthalmology* 88, 433.

Chrostowska M, Szczech R, Narkiewicz K. Antihypertensive therapy in the obese hypertensive patient. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 2006; 15: 487-92.

Cooper, M.E., Gilbert, R.E., and Epstein, M. (1998). Pathophysiology of diabetic nephropathy. *Metabolism: clinical and experimental* 47, 3-6.

Cunningham, K. S., and Gotlieb, A. I. (2005). The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis. *Lab Invest* 85, 9-23

Cybulsky, M. I., and Gimbrone, M. A., Jr. (1991). Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 251, 788-791.

Dallongeville J., Fruchart J.C. Post-prandial dyslipidemia : a risk factor for coronary heart disease. *Ann Nutr Metab* 1998 ; 42 : 1-11

Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A. Vascular reactivity and thiazolidinediones. *Am J Med* 2003;115:81S-6S).

DCEM3 - Pharmacologie Chapitre 14-Traitements hypolipémifiants 2008

De Winther, M. P., Gijbels, M. J., Van Dijk, K. W., Havekes, L. M., and Hofker, M. H. (2000). Transgenic mouse models to study the role of the macrophage scavenger receptor class A in atherosclerosis. *Int J Tissue React* 22, 85-91.

Delattre J, Beaudoux J.L, Bonnefont- Rousselot D. Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène. In : Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologique. Edt Tec Doc. Paris : Lavoisier, 2005 : 45-80).

Delattre J, Beaudoux J.L, Bonnefont- Rousselot D. Monoxyde d'azote. In : Radicaux libres et stress oxydant, Aspects biologiques et pathologiques. Edt Tec Doc. Paris : Lavoisier, 2005 : 25-41

Drabkin,D.L, and Austin,J H.,J Biol, Chem , 1935 ,112,P 51.

Durlach V. 1999, Lipémie postprandiale.Métabolismes-Hormones-Nutrition 1999 ; 3 :77-81.

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

Farmer, K.L., Li, C., and Dobrowsky, R.T. (2012). Diabetic peripheral neuropathy: should a chaperone accompany our therapeutic approach? *Pharmacological reviews* 64, 880-900.

Flohe, L., Gunzler, W.A. (1984). Analysis of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol.* 105, 114–121.

Fong, D.S., Aiello, L., Gardner, T.W., King, G.L., Blankenship, G., Cavallerano, J.D., Ferris, F.L., 3rd, Klein, R., and American Diabetes, A. (2003). Diabetic retinopathy. *Diabetes care* 26, 226-229.

Frank, R.N. (2004). Diabetic retinopathy. *The New England journal of medicine* 350, 48-58.

Friedewald W.T., Levei R.I., Fridrickson D.S. (1972). Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifugation . *Clin Chem*, 18, 499-50

Gaetani.GF, Kirkman.HN, Mangerini.R and Ferraris.AM.(1994). Importance of catalase in the disposal of hydrogen peroxide within human erythrocytes. *Blood* 84, 325 330.

Galle, J., Hansen-Hagge, T., Wanner, C., and Seibold, S. (2006). Impact of oxidized low density lipoprotein on vascular cells. *Atherosclerosis* 185, 219-226.

Gardès-Albert M. and Jore D. (2005). "Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène." *Radicaux libres et stress oxydant.* Paris, Lavoisier: pp 1-23

Geng, Y. J., and Libby, P. (1995). Evidence for apoptosis in advanced human atheroma. Colocalization with interleukin-1 beta-converting enzyme. *Am J Pathol* 147, 251-266.

George SJ, Johnson J. Atherosclerosis: Molecular and Cellular Mechanisms. John Wiley & Sons; 2010. 422 p.

Ghalandari, H., Hosseini-Esfahani, F., and Mirmiran, P. (2015). The Association of Polymorphisms in Leptin/Leptin Receptor Genes and Ghrelin/Ghrelin Receptor Genes With Overweight/Obesity and the Related Metabolic Disturbances: A Review. *International journal of endocrinology and metabolism* 13, e19073.

Gimbrone, M. A., Jr., Topper, J. N., Nagel, T., Anderson, K. R., and Garcia-Cardena, G. (2000). Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 902, 230-239; discussion 239-240

Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med.* 28 mai 1987;316(22):1371-5.

Golden, S.H. (2011). Emerging therapeutic approaches for the management of diabetes mellitus and macrovascular complications. *The American journal of cardiology* 108, 59B-67B

Grove T H. (1979). Effect of reagent pH on determination of HDL Cholesterol by precipitation with sodium phosphotungstate-magnesium *Clin Chem* 25:560.

Habig, W.H., Pabst, M.J., Jacobi, W.B. (1974). The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J.Biol. Chem.* 249, 7130-7139.

Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (1990). "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview." *Methods Enzymol* 186: 1-85..

Hannedouche T, Krummel T. Hypertension artérielle de l'adulte. *La revue du Praticien* 2008; 58.

H. Hanaire ; le diabète : facteur de risque cardiovasculaire, décembre 2005

HAS, Sténoses carotidiennes, place de la chirurgie et de l'angioplastie sept 2007

Hockenberry, M. J., Taylor, O. A., Gundy, P. M., Ross, A. K., Pasvogel, A., Montgomery, D., Ribbeck, P., McCarthy, K. and Moore, I. (2013). "F2-Isoprostanes: A Measure of Oxidative Stress in Children Receiving Treatment for Leukemia." *Biol Res Nurs* 15: 15.

Ingueneau C 2010 : Régulation de la signalisation calcique dans l'apoptose induite par les lipoprotéines oxydées. Implication dans l'athérosclérose. thèse de doctorat université de toulouse)

J. DIEBOLD Anatomie pathologique générale

Jacob R.A. (1995) The integrated antioxidant system. *Nutrition Research*, 15 (5), 755-66.

Johnson RJ, Kang DH, Feig D, Kivlighn S, et al. Is there a pathogenic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? *Hypertension* 2003;41:1183-90.)

Jonathan Ribot. Impact du diabète de type 2 sur la fonctionnalité et le potentiel angiogénique des cellules souches mésenchymateuses. 2015. THÈSE de DOCTORAT. Université de Paris. p 29

Kaplan A. (1984). Urea. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis.* Toronto.Princeton; 1257-1260 and 437 and 418.

Kaplan, M., and Aviram, M. (2001). Retention of oxidized LDL by extracellular matrix proteoglycans leads to its uptake by macrophages: an alternative approach to study lipoproteins cellular uptake. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21, 386-393.

Kaplan, L.A. (1984). Glucose. Kaplan A et al. *Clin chem. The C.V. mosby Co. Si louis.* Tronto. Princeton; 1032-1036.

Kirkman.HN and Gaetani.GF. (1984). Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proc Natl Acad Sci USA* 81. P; 4343-4347.

Kirkman.HN, Rolfo.M, Ferraris.AM and Gaetani.GF. (1999). Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichimetry. *J Biol Chem* 274 p. 13908-13914.protection

Kockx, M. M. (1998). Apoptosis in the atherosclerotic plaque: quantitative and qualitative aspects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18, 1519-1522.

Kohen R. and Nyska A. (2002) Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30, 620-650.

Kruidenier L. and Verspaget H.W. (2002) Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease -radicals or ridiculous? *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*,16,1997-2015.

Lambert J., Heath S., Even G., Campion D., Sleegers K., Hiltunen M., Combarros O., et al. (2009) Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, 41, 1094–1099.

Lefevre G, Beljean-Leymarie M and Beyerle F. (1998). Évaluation de la peroxydation lipidique par dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. *Ann Biol Clin* 56, 305–319.

Levine R, Stadtman E. Oxidative modification of proteins during aging. *Exp Gerontol*, 2001; 36:1495–1502

- Libby, P. (2000).** Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med* 247, 349-358.
- Liu, Y., Chen, B. P., Lu, M., Zhu, Y., Stemerman, M. B., Chien, S., and Shyy, J. Y. (2002b).** Shear stress activation of SREBP1 in endothelial cells is mediated by integrins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22, 76-81.
- Loven, D., Schedl, H., Wilson, H., Daabees, T.T., Stegink, L.D., Diekus, M and Oberley, L. (1986).** Effect of insulin and oral glutathione on glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin induced diabetes. *Diabetes*; 35,503-507.
- Lubec G. (1996)** The hydroxyl radical: from chemistry to human disease. *Journal of investigativemedicine*, 44, 324-346.
- M. K. Davies et A. Eollman,** « Leonardo da Vinci (1452-1519) », *Heart Br. Card. Soc.*, vol. 76, no 6, p. 464, déc. 1996.
- Mallat, Z., Hugel, B., Ohan, J., Leseche, G., Freyssinet, J. M., and Tedgui, A. (1999).** Shed membrane microparticles with procoagulant potential in human atherosclerotic plaques: a role for apoptosis in plaque thrombogenicity. *Circulation* 99, 348-353
- Mann, J. M., and Davies, M. J. (1996).** Vulnerable plaque. Relation of characteristics to degree of stenosis in human coronary arteries. *Circulation* 94, 928-931.
- Marie-Eve Lavoie. 2012.** nflammation, stress oxydant, profil métabolique: influence des apports alimentaires et de la dépense énergétique. Thèse présentée à la Faculté de MédecineEn vue de l'obtention du grade de Ph.D.en nutrition. Université de Montréal).
- Martin-Timon, I., Sevillano-Collantes, C., Segura-Galindo, A., and Del Canizo-Gomez, F.J. (2014).** Type 2 diabetes and cardiovascular disease: Have all risk factors the same strength? *World journal of diabetes* 5, 444-470.
- Mauer, S.M., Steffes, M.W., Ellis, E.N., Sutherland, D.E., Brown, D.M., and Goetz, F.C. (1984).** Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *The Journal of clinical investigation* 74, 1143-1155.
- Mohinder B, Naveen K.** Physiological markers of oxidative stress. In : *Oxidative stress mechanisms and their modulation*, Springer India 2014: 8-12.
- Monteil C, Mulder P, Thuillez C. Stress oxydant et insuffisance cardiaque : une cible thérapeutique utopique ?** *Inserm U644*, 2004. Volume 2, numéro 2 : p. 79).

Montonen J, Boeing H, Fritsche A, Schleicher E, Joost HG, Schulze MB et al.

Consumption of red meat and whole-grain bread in relation to biomarkers of obesity, inflammation, glucose metabolism and oxidative stress. *Eur J Nutr.* 2013 Feb; 52(1):337-45. PubMed | Google Scholar),

Murphy M.P., Packer M.A., Scarlett J.L. and Martin S.W. (1998) Peroxynitrite: a biologically significant oxidant. *General Pharmacology*, 31, 179-186

Murray R.L. (1984). Creatinine. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis.* Toronto. Princeton . 1261-1266 and 418.

Naito H K. (1984). High-density lipoprotein (HDL) cholesterol. Kaplan A. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton ;* 1207-1213 and 437.

Napoli, C., D'Armiento, F. P., Mancini, F. P., Postiglione, A., Witztum, J. L., Palumbo, G., and Palinski, W. (1997). Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 100, 2680-2690

National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program

NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106:3143-421)

Niskanen LK, Laaksonen DE, Nyysönen K, et al. uric acid levels as a risk factor for cardiovascular and all-cause mortality in middle-aged men :a prospective cohort study. *Arch intern med.* 2004 ;26 :1546-51.) (Deléval P, Burnier M. l'hyperuricémie dans l'hypertension artérielle :quelle implication ?. *rev med suisse* 2005 ; volume 1.30649).

Nuriye Nuray Ulusu and Belma Turan (2005). Beneficial effects of selenium on some enzymes of diabetic rats heart. *Humana Press Inc. Biological trace element research.* Vol, 103: 207-215

OMS. Le Diabète Mellitus. *Bulletin de Faits* 2002; 138. <http://www.who.int/inf-fs/en/fact138.html>

Pandolfi.PP, Sonati.F, Rivi.R, Mason.P, Grosveld.F and Luzzatto.L. (1995). Targeted pathways are involved in oxidized LDL-induced apoptosis. *Arterioscler Thromb Vasc*

Pearl, P. L., Taylor, J. L., Trzcinski, S. and Sokohl, A. (2007). "The pediatric neurotransmitter disorders." *J Child Neurol* 22(5): 606-616.

Prasad, R.B., and Groop, L. (2015). Genetics of type 2 diabetes-pitfalls and possibilities. *Genes* 6, 87-123. Prockop, D.J. (1997). Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science* 276, 71-74.

Quehenberger, O. (2005). Thematic review series: the immune system and atherogenesis. Molecular mechanisms regulating monocyte recruitment in atherosclerosis. *J Lipid Res* 46, 1582-1590.

R. Ross, « The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s », *Nature*, vol. 362, no6423, p. 801-809, avr. 1993.

Raines, E. W., and Ross, R. (1993). Smooth muscle cells and the pathogenesis of the lesions of atherosclerosis. *Br Heart J* 69, S30-37.

Rajavashisth, T. B., Xu, X. P., Jovinge, S., Meisel, S., Xu, X. O., Chai, N. N., Fishbein, M. C., Kaul, S., Cercek, B., Sharifi, B., and Shah, P. K. (1999). Membrane type 1 matrix metalloproteinase expression in human atherosclerotic plaques: evidence for activation by proinflammatory mediators. *Circulation* 99, 3103-3109.

Rao C.V. (2004). Nitric oxide signaling in colon cancer chemoprevention. *Mutation Research*, 555, 107-119.

Riddle, M.C. (2011). Glycemic control and cardiovascular mortality. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity* 18, 104-109.

Roquer, J., Segura, T., Serena, J., and Castillo, J. (2009). Endothelial dysfunction, vascular disease and stroke: the ARTICO study. *Cerebrovasc Dis* 27 Suppl 1, 25-37.

Ross, R. (1990). Mechanisms of atherosclerosis--a review. *Adv Nephrol Necker Hosp* 19, 79-86.

Sahach VF, Korkach IUP, Kotsiuruba AV, Prysiashna OD. The inhibition of oxidative and nitrosative stresses by ecdysterone as the mechanisms of its cardio- and vasoprotective action in experimental diabetes type I. *Fiziol Zh.* 2008; 54(5):46-54. PubMed | Google Scholar)

Salvayre, A., and Salvayre, R. (2005). Two distinct calcium-dependent mitochondrial **Saverio Stranges, Tiejian Wu, Joan M. Dorn.** Relationship of Alcohol Drinking Pattern to Risk of Hypertension: A Population-Based Study. *Hypertension* 2004; 44: 813-19

Semenkovich CF, Heinecke JW. The mystery of diabetes and atherosclerosis: time for a new plot. *Diabetes* 1997;46:327-34

Serteyn D., Mouithys-Mickalad A., Franck T., Grulke S., Lamy M, Deby C. and Deby-Dupont G. (2002) La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. *Annale de Médecine Vétérinaire*, 146, 137-53

Signorini, C., De Felice, C., Durand, T., Oger, C., Galano, J. M., Leoncini, S., Pecorelli, A., Valacchi, G., Ciccoli, L. and Hayek, J. (2013). "Isoprostanes and 4-hydroxy-2-nonenal: markers or mediators of disease? Focus on Rett syndrome as a model of autism spectrum disorder." *Oxid Med Cell Longev* 343824(10): 13.

Stary, H. C., Chandler, A. B., Glagov, S., Guyton, J. R., Insull, W., Jr., Rosenfeld, M. E., Schaffer, S. A., Schwartz, C. J., Wagner, W. D., and Wissler, R. W. (1994). A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 89, 2462-2478.

Steinberg, D., Carew, T. E., Fielding, C., Fogelman, A. M., Mahley, R. W., Sniderman, A. D., and Zilversmit, D. B. (1989a). Lipoproteins and the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation* 80, 719-723.

Taskinen M.R., Smith. Lipid disorders in Taskinen M.R., Smith. Lipid disorders in NIDDDM : implications for treatment. *J Intern Med* 1998 ; 244 : 361-70.

Tedgui, A., and Chapman, J. (2003). Pathogénèse de l'athérosclérose: théories et mécanismes. *L'athérosclérose: Physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques*, 245 - 256.

Tedgui. A et Z. Mallat, « [Atherosclerotic plaque formation] », *Rev. Prat.*, vol. 49, no 19, p. 2081-2086, déc. 1999.

Tietz N.W, 1976. *fundamentals of clinical chemistry.* W.B.Saunders.Philadelphia,PA 299

Toft I, Bonaa KH, Ingebretsen OC et al. Fibrinolytic function after dietary supplementation with omega3 polyunsaturated fatty acids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:814-9),

Tontonoz, P., Nagy, L., Alvarez, J. G., Thomazy, V. A., and Evans, R. M. (1998). PPARgamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell* 93, 241-252.

Topper, J. N., and Gimbrone, M. A., Jr. (1999). Blood flow and vascular gene expression: fluid shear stress as a modulator of endothelial phenotype. *Mol Med Today* 5, 40-46.

Trinder, P. (1969). *Ann. Clin. biochem.* 6, 24-33.

Vaidya, D., Yanek, L. R., Faraday, N., Moy, T. F., Becker, L. C., and Becker, D. M. (2009). Native platelet aggregation and response to aspirin in persons with the metabolic syndrome and its components. *Metab Syndr Relat Disord* 7, 289-296). **Valko, M., Leibfritz,**

D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease." *Int J Biochem Cell Biol* 39(1): 44-84

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. (2006). "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *Chem Biol Interact* 160(1): 1-40

Vergès B. Insulinorésistance et anomalies du métabolisme lipidique. *Diabétologie et facteurs de risque* 1997 ; 3 : 261-7.

Véricel, E., Januel, C., Carreras, M., Moulin, P., and Lagarde, M. (2004). Diabetic patients without vascular complications display enhanced basal platelet activation and decreased antioxidant status. *Diabetes* 53, 1046-1051).

Vertuani S, Angusti A, and Manfredini S. The Antioxidants and ProAntioxidants Network: An Overview. *Curr. Pharm.* 2004 ; 10: 1677-1694.

Vindis, C., Elbaz, M., Escargueil-Blanc, I., Auge, N., Heniquez, A., Thiers, J. C., Negre-Salvayre, A., and Salvayre, R. (2005). Two distinct calcium-dependent mitochondrial pathways are involved in oxidized LDL-induced apoptosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25, 639-645.

Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* mai 2000;20(5):1262-75. »

Wardman P. and Candeias L.P. (1996) Fenton Chemistry: An Introduction. *Radiation Research*, 145,523-531

Weckbeker, G., Cory, J.G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of Glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters.* 40, 257-264.

West, I.C. (2000). Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*; **17**: 171-180

Witztum, J. L., and Steinberg, D. (1991). Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 88, 1785-1792.

Wong, C. G., Bottiglieri, T. and Snead, O. C., 3rd (2003). "GABA, gamma-hydroxybutyric acid, and neurological disease." *Ann Neurol* 54(6): S3-12.

World Health Organization 2016

Xu.Z, Patel.K.P, Lou. M.F, and Rozanski. G.J. (2002). Up-regulation of K⁺ channels in diabetic rat ventricular myocytes by insulin and glutathione, *Cardiovasc. Res.* 53, 80-88.

ZERARGUI Fatima, 2015, *Activité antioxydante des extraits de racines Tamus communis L. et caractérisation des substances bioactives.* Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif1.

Zhou J, Chew M, Ravn HB, Falk E. Plaque pathology and coronary thrombosis in the pathogenesis of acute coronary syndromes. *Scand J Clin Lab Investig Suppl.* 1999;230:3 11.

Zhu, H., Zhang, L., Amin, A. R. and Li, Y. (2008). "Coordinated upregulation of a series of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes as a novel strategy for protecting renal tubular cells from oxidative and electrophilic stress." *Exp Biol Med (Maywood)* 233(6): 753-765.

I-Questionnaire :



Questionnaire



Date de prélèvement de l'échantillon : / /2019

n° de l'échantillon :

1- Informations générales

Nom	prénom
Age	sexe
Taille	poids
Situation familiale	Nombre d'enfants
Adresse	profession

2- Mode de vie

1 Qu'elle est votre régime alimentaire ?		
Riche en protéines (viande rouge, viande blanche, poisson, œufs, légumineuses)	oui	non
Riche en matière grâce (fritures, fastfood, beur, huiles)	oui	non
Riche en sucre (boissons gazeuses, jus industriel, confiseries)	oui	non
Riche en fruits et légumes	oui	non
Si vous suivez un autre régime alimentaire mentionnez le		
.....		

2	Avez-vous une activité physique	oui	non
	La qu'elle	La durée	Nombre de fois par semaine
3	Etes-vous fumeur ?	oui	non
4	Consommer vous de l'alcool ?	oui	non
5	Êtes-vous exposé à une tension et pression ?	oui	non
6	Etes-vous exposé à la fatigue et au stress ?	oui	non
7	Visiter vous le médecin périodiquement ?	oui	non
8	Faites vous des analyses médicales périodiquement ?	oui	non
9	Avez-vous déjà été déprimé ?	oui	non
10	Avez-vous traité des maladies neurologiques ?	oui	non
	Si oui, cité le traitement		
	Pour les femmes		
11	Prenez-vous des contraceptives ?	oui	non
	Si oui cité le		

3- facteurs génétiques et métaboliques

1	Etes-vous diabétique ?				oui	non
	Si oui cité votre traitement					
	Vous le prenez régulièrement				oui	non
2	L'un de vos parents ou membre de votre famille est-il atteint de diabète ?				oui	non
	Le quelle					
	Père	Mère	Grand père	Grand-mère	Oncle maternel	Oncle paternel
3	Avez-vous une pression artérielle élevée ?				oui	non
	Si oui cité votre traitement.....					
	Vous le prenez régulièrement				oui	non

4	L'un de vos parents ou membre de votre famille est-il atteint d'hypertension artérielle ?				oui	non	
Le quelle					oui	non	
Père	Mère	Grand père	Grand-mère	Oncle maternel	Oncle paternel		
5	Etes-vous atteint de l'une des maladies suivantes						
Les maladies inflammatoires					oui	non	
Hypothyroïdie					oui	non	
Hypercholestérolémie					oui	non	
La goutte					oui	non	
Si vous êtes atteint d'autre maladies mentionner les :.....							
Cité le traitement administré.....							
6	l'un de vos parents ou membre de votre famille a eu un infarctus du myocarde (IDM) ?				oui	non	
Le quelle							
Père	mère	Grand père	Grand-mère	Oncle maternel	Oncle paternel		
Pour les femmes							
7	Etes-vous au stade de la ménopause				oui	non	

4-résultats d'analyses biochimiques

Paramètres biochimiques	résultats	Valeurs normales
Glycémie		0.60-1.10 g/l
Urée		0.10-0.45 g/l
Créatinine		7.00-14.00 mg/l
Acide urique		22-70 mg/l
Cholestérol total		1.50-2.50 g/l
triglycérides		0.35-1.65 g/l
Cholestérol-HDL		0.35-0.65 g/l
Cholestérol-LDL		0.80-1.50 g/l
Protéines totales		50-80 g/l
hémoglobine		11-18 g/dl

**II-Variation de la concentration des paramètres biochimiques chez les témoins,
les hypertendus et les diabétiques:**

	Paramètres biochimiques	Témoin n=80	Hypertendus n=80	Diabétiques n=80
Glucose sérique	Glycémie à jeun (mmol/l)	4,734±0,163	5,25±0,057*	7,858±0,167*** ###
Bilan rénal	Urée (mmol/l)	3.463±0,062	4.578±0,078**	4.329±0,082
	Créatinine (µmol/l)	760.263±1,22	845.031±0,404**	747.371±0,796###
	Acide urique (µmol/l)	264.596±2,81	410.55±3,68***	344.326±9,96*** ###
	Protéines totales (g/l)	74,33 ± 2,71	69 ±3,68***	68,7 ±3,74***
Bilan lipidique	Cholestérol total (mmol/l)	3.480 ±0,206	3.209 ±0,341	3.023 ±0,382
	Cholestérol-HDL (mmol/l)	0.982 ±0,052	1.003 ±0,067	0.900 ±0,071
	Cholestérol-LDL (mmol/l)	2,274±0,124	1,975±0,257**	1,705±0,254*** ###
	Triglycérides (mmol/l)	1.117 ±0,149	1.152 ±0,083	2.088 ±0,284*** ###
Hémoglobine	Hémoglobine (g/dl)	13,19 ±1,93	12,81 ±1,14	12,64 ±1,45

III- Variation de la concentration des paramètres du stress oxydant plasmatique et érythrocytaire chez les témoins, les hypertendus et les diabétiques

	Paramètres du stress oxydant	Témoin n=80	Hypertendus n=80	Diabétique n=80
Paramètres plasmatiques	GST (nmol/min/g Pt T)	1,723 ±0,436	3,247 ±0,862***	1,855 ±0,354###
	GPX (nmol/g Pt T)	2,902 ±0,504	1,725 ±0,452***	1,864 ±0,541***
	GSH (nmol/g Pt T)*10 ⁻³	10,28 ±2,97	2,701 ±0,505**	3,539 ±0,371*** ###
	MDA (nmol/g Pt T)	10,38 ±1,87	12,19 ±2,7*	11,25 ±1,71
Paramètres érythrocytaires	GST (nmol/min/g d'Hb)*10 ⁻³	4,71 ±1	5,082 ±0,981	7,21 ±1,21*** ###
	GPX (nmol/g d'Hb)	24,43 ±3,59	14,01 ±2,75***	17,74 ±2,48*** ###



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : ... *A.ounallah chamseddine*

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : ... *Biologie appliquée*

N° de carte d'étudiant : ... *34019496/2013*

Année universitaire : ... *2018/2019*

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

Filière: ... *biologie appliquée*

Spécialité: ... *Biochimie appliquée*

Intitulé du mémoire : ... *dépistage de l'athérosclérose chez les sains, les hypertendus et diabétiques dans la ville de Tébessa.*

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

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

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

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

19 جوان 2019

Fait à Tébessa, le ... *19/06/2019*

Signature de l'étudiant(e) :

عن / رئيس المجلس الشعبي البلدي
 وشيخ يوسف بن
 فضلاء السيد بن عرفة نجات
 كتيب راقن القيس



Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : SAHLI MAGDA

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : BIOLOGIE APPLIQUÉE

N° de carte d'étudiant : 5022.35/1997

Année universitaire : 2018/2019

Domaine : science de la nature et vie

Filière : biologie appliquée

Spécialité : biochimie appliquée

Intitulé du mémoire : dépistage de l'athérosclérose chez les sains, les hypertendus et diabétiques dans la wilaya de tébessa

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

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

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

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

19 جوان 2019

Fait à Tébessa, le : 19-06-19

Signature de l'étudiant(e) :

المجلس العلمي البلدي
عن
عريفه
القلم
رئيس

Sahly

تبسة 2019/07/17

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

تصريح شرفي

خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية لإنجاز مذكرة ماستر

نحن الممضون ادناه

الطالبان عون الله شمس الدين . ساحلي ماجدة

المسجلان بكلية العلوم الدقيقة و علوم الطبيعة و الحياة قسم بيولوجيا تطبيقية تخصص بيو كيمياء تطبيقية و المكلفان
بإنجاز مذكرة ماستر تحت عنوان

(Dépistage de l'athérosclérose chez les sujets sains, diabétiques et hypertendus de la wilaya
de Tébessa).

نصرح بشرفنا انه تم تصحيح المذكرة وفقا للملاحظات اللجنة مع مراعات المعايير العلمية و المتوجبة و معايير
الاخلاقيات المهنية و النزاهة الأكاديمية المطلوبة في انجاز البحث .

امضاء الأستاذة المؤطرة

امضاء الطلبة

- ساحلي ماجدة

- عون الله شمس الدين